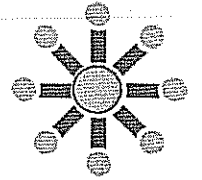




DIPARTIMENTO
POLITICHE
ANTIDROGA

NNRD
Network Nazionale
Ricerca sulle Dipendenze



DIPARTIMENTO
POLITICHE
ANTIDROGA - PCM



Mappatura cerebrale delle aree del craving e del resisting e
identificazione dei danni cerebrali in soggetti tossicodipendenti:
uno studio con risonanza magnetica funzionale ad alto campo

Ente destinatario



Ente esecutore (Centro Collaborativo)

Azienda ULSS 20 Verona
Dipartimento delle Dipendenze
Unità di Neuroscienze

In collaborazione con:



Università degli Studi di Verona
Dipartimento di Scienze Neurologiche e della Visione
Sezione di Neuroradiologia



Ernest Gallo Clinic and Research Center 
OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA, SAN FRANCISCO
"New Therapies from Discovery in Molecular Neuroscience"



INDICE

1.0	Titolo del progetto
2.0	Riassunto – Sintesi
3.0	Gruppo di lavoro
3.1	Referenti amministrativi
4.0	Organigramma generale del Progetto Brainsearch
5.0	Collaborazioni tecniche/scientifiche esterne
6.0	Problema che si vuole risolvere
6.1	Definizione e descrizione degli effetti negativi e problematici che si ha la necessità di affrontare
6.2	Dimensionamento e rilevanza (Frequenza, grado di gravità, misure epidemiologiche)
7.0	Obiettivo generale dell'intervento e risultati attesi
8.0	Premesse tecnico scientifiche (il "razionale") dell'intervento proposto
8.1	Metodologia di indagine
9.0	Sotto obiettivi specifici
9.1	Sotto obiettivi, macro-attività e indicatori
9.2	Sotto obiettivi, macro-attività e indicazioni metodologiche
9.3	Sotto obiettivi, macro-attività e prodotti tangibili
10.0	WTA Work Task Assignment – Assegnazione dei compiti principali
11.0	Scheduling
11.1	Articolazione in fasi temporali e attività
11.2	Gantt preventivo
12.0	Agenda reporting
13.0	Risorse e piano finanziario
13.1	Risorse interne da impegnare
13.2	Risorse finanziarie richieste per annualità (riparti indicativi)
13.3	Quote di finanziamento Proroghe alle attività di progetto e all'utilizzo dei finanziamenti
14.0	Voci bibliografiche di riferimento
15.0	Allegati
15.1	Allegato A - Risonanza Magnetica Funzionale: Limiti ed obiettivi
15.2	Allegato B - Dipendenza da cocaina e neuroimaging: un modello per la mappatura dell'area del craving e del controllo volontario mediante Risonanza Magnetica funzionale
15.3	Allegato C - Le neuroscienze delle dipendenze
15.4	Allegato D - La mappatura della maturazione del cervello
15.5	Allegato E - Protocollo di studio dell'encefalo mediante risonanza magnetica ad alto campo



1.0 TITOLO DEL PROGETTO

PROGETTO BRAINSEARCH

Mappatura cerebrale delle aree del Craving e del Resisting e identificazione dei danni cerebrali in soggetti tossicodipendenti: uno studio con risonanza magnetica funzionale ad alto campo.

Ente committente	Presidenza del Consiglio dei Ministri – Dipartimento Politiche Antidroga
Gruppo di coordinamento tecnico-scientifico	Direzione Tecnico-Scientifica: Presidenza del Consiglio dei Ministri Dipartimento Politiche Antidroga Azienda ULSS 20 Verona – Dipartimento delle Dipendenze Università degli Studi di Verona Dipartimento di Scienze Neurologiche e della Visione – Sezione di Neuroradiologia Comitato scientifico del DPA
Ente destinatario del finanziamento	Giunta Regionale del Veneto
Ente esecutore	Azienda ULSS 20 Verona – Dipartimento delle Dipendenze
Responsabili del Progetto per l'Ente esecutore	Dott. Francesco Bricolo - Azienda ULSS 20 – Dipartimento delle Dipendenze Dott. Maurizio Gomma – Azienda ULSS 20 – Dipartimento delle Dipendenze
Collaborazioni Tecnico - Scientifiche	Vedi gruppo di lavoro

RAPPORTI E COLLABORAZIONE CON LA REGIONE

Tutte le attività relative al progetto in essere saranno oggetto di informativa costante alla Regione da parte dell'Ente Affidatario.

Pertanto, al fine di mantenere una costante informativa sulle attività di progetto e sulle relazioni in essere tra ULSS e Dipartimento, qualsiasi corrispondenza e flusso dati tra l'Ente Committente e l'Ente Affidatario e viceversa andrà sempre inviata contestualmente, per conoscenza, alla Regione.

La Regione potrà partecipare a pieno titolo con proprio referente tecnico regionale al Gruppo Tecnico Scientifico di coordinamento del progetto, compartecipando alle analisi e alle decisioni in merito alla realizzazione delle attività e al raggiungimento degli obiettivi, nonché all'utilizzo del budget, presso il Dipartimento per le Politiche Antidroga.

La Regione avrà inoltre la possibilità di accesso in ogni momento ai dati (anche parziali) e ai risultati tecnico-scientifici relativi al territorio di propria competenza, prodotti dal progetto e residenti presso il Dipartimento per le Politiche Antidroga, potendone disporre totalmente e senza alcuna riserva secondo quanto previsto dall'accordo di collaborazione.





2.0 RIASSUNTO – SINTESI

Questo progetto si pone l'obiettivo di investire fortemente nelle attività di ricerca per la definizione di modelli sperimentali nel campo delle neuroscienze in grado di spiegare il comportamento assuntivo delle persone tossicodipendenti presenti all'interno delle comunità terapeutiche e dei Ser.T. Scopo fondamentale del progetto sarà quindi la promozione e il sostegno di attività di ricerca, i cui risultati porteranno all'acquisizione di nuove conoscenze tecnico-scientifiche nel campo delle neuroscienze applicate alla tossicodipendenza. Lo studio e l'approfondimento di queste tematiche da parte degli operatori dei dipartimenti delle dipendenze consentirà loro di acquisire informazioni importantissime sui meccanismi fisiopatologici della tossicodipendenza, e arrivare a trasformare l'attuale modello concettuale di riferimento per la realizzazione di interventi terapeutici e percorsi diagnostici mirati e più efficaci.

Il progetto si articola in 2 fasi di studio mediante utilizzo di una Risonanza Magnetica (RM) ad alto campo (3.0 Tesla): nella prima fase si propone di definire un *modello neuro-anatomico sperimentale* delle aree cerebrali coinvolte nell'attivazione del comportamento compulsivo di assunzione di droga (craving) e di controllo volontario di tale condizione (resisting). Nella seconda fase, vengono quantificati i cambiamenti morfo-strutturali, metabolici e vascolari che si manifestano nel cervello di chi assume droghe (*danni cerebrali*). Nello studio verranno reclutati soggetti con diagnosi di dipendenza da cocaina e definiti per ognuno di essi i trigger del driver e del controller. I trigger saranno rappresentati da videoclip personalizzati scelti in base alla storia clinica di ciascun soggetto, utilizzati poi durante l'esame di Risonanza Magnetica funzionale (RMF). Questo porterà a definire un modello anatomo-funzionale alla base delle varie funzioni mentali – apprendimento, memoria ed emozioni – che spiegano e sostengono l'uso compulsivo di droga.

Risulta chiaro quindi come un approfondimento ed un orientamento verso le neuroscienze anche nel campo delle tossicodipendenze possa aiutare l'operatore sanitario nel quotidiano rapporto con i pazienti; sapere infatti cosa succede durante lo scatenamento del craving e quali funzioni cerebrali vengano coinvolte e/o danneggiate aumenta il grado di autocoscienza nel paziente e nel terapeuta, alla base di una più corretta ed efficace gestione del problema.

3.0 GRUPPO DI LAVORO

Ente/Organizzazione		Coordinate
Unità Operativa di Neuroscienze ULSS 20 Verona	Dott. Francesco Bricolo	Tel 045.8622235 Cell 3490072857 Fax 045 8076272 Email Francesco.bricolo@tin.it
Unità Operativa di Neuroscienze Ospedale Civile Maggiore Verona	Dott. Franco Alessandrini	Tel 045. 976933 Fax 045. 8123413 Email f.alessandrini3@alice.it
Unità Operativa di Neuroscienze Ospedale Civile Maggiore Verona	Dott.ssa Giada Zoccatelli	Tel 045. 584632 Cell 347.8276603 Fax 045.8123413 Email giada.zoccatelli79@alice.it







Unità Operativa di Neuroscienze Ospedale Civile Maggiore Verona	Dott. Alberto Beltramello	Tel 045.8123467 Fax 045.8123413 Email alberto.beltramello@azosp.vr.it
Unità Operativa di Neuroscienze Ospedale Civile Maggiore Verona	Dott.ssa Francesca Pizzini	Tel 045.8123467 Fax 045.8123413 Email francesca.pizzini@azosp.vr.it
Unità Operativa di Neuroscienze ULSS 20 Verona	Dott. Maurizio Gomma	Tel 045. 8076264 Cell: 3316876355 Fax Email mgomma@dronet.org
Unità Operativa di Neuroscienze ULSS 20 Verona	Dott. Marco Faccio	Tel 045 8075957 Email mfaccio@dronet.org
Unità Operativa di Neuroscienze ULSS 20 Verona	Dott. Domenica Ferremi	Tel 045. 6286 Email dferremi@dronet.org
Unità Operativa di Neuroscienze ULSS 20 Verona	Dott.ssa Elisa Bellamoli	Tel 045 80876279 Email ebellamoli@dronet.org
Servizio di Medicina delle Dipendenze e Alcologia – Marzana (VR)	Dott. Giampaolo Brunetto	Tel: 045.8075477 Email: gpbrunetto@dronet.org

3.1 REFERENTI AMMINISTRATIVI

Nome	Coordinate
Per il Dipartimento Politiche Antidroga: Dir. Generale Dott.ssa Luciana Saccone	Tel Cell Fax Email: l.saccone@governo.it
Per il Dipartimento delle Dipendenze ULSS 20 Verona: Sig.a Antonella Contato	Tel : 045 8076253 Fax: 045 8076272 Email : acontato@dronet.org

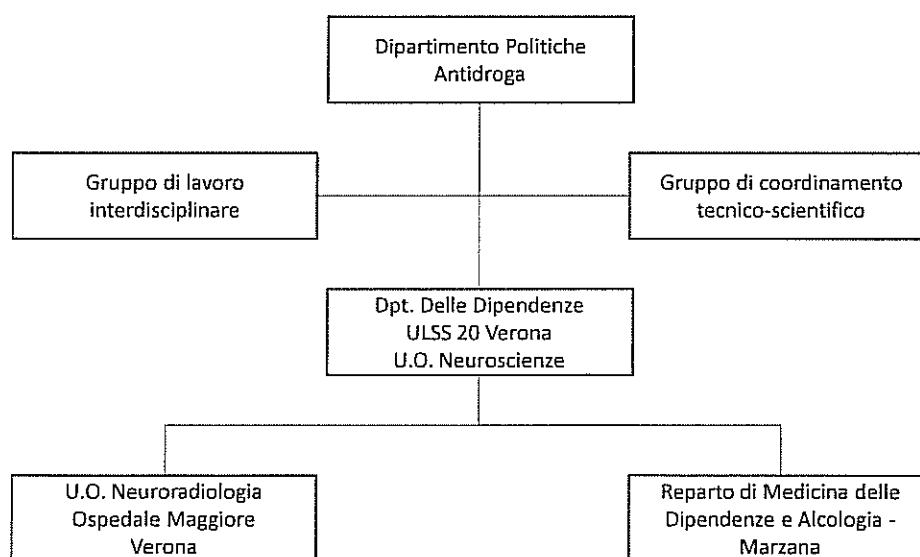
  5

4.0 ORGANIGRAMMA GENERALE DEL PROGETTO BRAINSEARCH

Viene di seguito rappresentato l'organigramma generale del Progetto BRAINSEARCH nei tre livelli previsti di direzione e coordinamento. Il Dipartimento delle Politiche Antidroga (DPA) opererà mediante gruppi di lavoro organizzati su tre livelli funzionali, sulla base di un criterio di responsabilità derivante dal ruolo istituzionale ricoperto dall'organizzazione coinvolta e dall'operatività concreta che questa svolge all'interno del progetto di ricerca:

- *Primo livello* di direzione, del Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, che si avvarrà, quali organi di staff, di un gruppo di coordinamento tecnico-scientifico, presieduto dal Capo Dipartimento Politiche Antidroga, di un'unità di project management e di una segreteria di coordinamento nell'ambito delle attività di rilevazione e di help desk ai partecipanti.
- *Secondo livello* di coordinamento operativo, affidato al Dipartimento di Scienze Neurologiche e della Visione, Sezione di Neuroradiologia dell'università degli Studi di Verona, che si avvale della consulenza di varie strutture di ricerca distribuite sul territorio nazionale ed internazionale e organizzate in un gruppo di lavoro interdisciplinare.
- *Terzo livello* operativo di ricerca, affidato all'unità operativa di neuroradiologia dell'Ospedale Civile Maggiore di Verona e al Servizio di Medicina delle Dipendenze e Alcologia di Marzana (Verona), titolari delle fasi operative del progetto.

Figura 1 - Diagramma generale del Progetto Brainsearch.





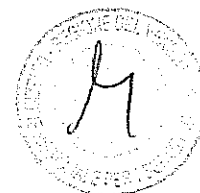
5.0 COLLABORAZIONI TECNICHE/SCIENTIFICHE ESTERNE PREVISTE

Organizzazione esterna	Referente	Compito	Coordinate
NIDA National Institute on drug abuse	Nora Volkow	Professore di Psichiatria	Email: volkow@bnl.gov
Ernest Gallo Clinic and Research Center	Antonello Bonci	Professore di Neurologia e Coordinatore del Comitato Scientifico	Email antonello.bonci@ucsf.edu
Brookhaven National Laboratory	Rita Goldstein	Professore di Psicologia	Email rgoldstein@bnl.gov
Yale University	Katheleen Carroll	Professore di Psichiatria	Email kathleen.carroll@yale.edu
University of California	Howard Fields	Professore di Fisiologia e Neurologia	Email howard.fields@phy.ucsf.edu
Mount Sinai Brain Institute	Eric Nestler	Professore di Neuroscienze	Email eric.nestler@mssm.edu
UCLA University of California of Los Angeles	Arthur Toga	Professore di Neurologia	Email arthur.toga@loni.ucla.edu

6.0 PROBLEMA CHE SI VUOLE RISOLVERE

6.1 DEFINIZIONE E DESCRIZIONE DEGLI EFFETTI NEGATIVI E PROBLEMATICI CHE SI HA LA NECESSITA' DI AFFRONTARE

- Le scoperte scientifiche degli ultimi anni hanno dimostrato che la tossicodipendenza è una malattia cronica del cervello. L'uso di sostanze stupefacenti altera irrimediabilmente le strutture cerebrali con gravi conseguenze sulla salute psicofisica del soggetto che ne fa uso. In particolare, l'uso di droga porta al danneggiamento di strutture cerebrali implicate nel ragionamento sociale, nell'apprendimento e nella gratificazione dell'individuo, con conseguenti effetti sull'adattamento sociale.
- Tra la popolazione che fa uso di droghe, e soprattutto tra i giovanissimi, sembra esserci un diminuito grado di autocoscienza dei rischi e degli effetti negativi che l'uso di tali sostanze comporta. Rendere chiari i meccanismi neuro-biologici alla base del comportamento assuntivo e dimostrare quali danni ne conseguono rappresenta il passo necessario per un corretto progetto di cura e prevenzione.
- Attualmente il sistema assistenziale italiano tende a non adottare, sia in termini organizzativi sia nei sistemi in





uso per l'allocazione delle risorse, un approccio scientificamente orientato. Tale condizione non lascia spazio al confronto e all'integrazione dei risultati delle ricerche, alle attività cliniche ed organizzative coerenti alla cui base vi siano progettualità di cura orientate da obiettivi scientifici.

6.2. DIMENSIONAMENTO E RILEVANZA (Frequenza, grado di gravità, misure epidemiologiche, ecc.)

- a. Secondo l'indagine condotta dal CNR sulla popolazione studentesca 15-19 anni e pubblicata nella Relazione al Parlamento 2008:
- Il 2,1% di questa popolazione ha dichiarato l'uso di eroina almeno una volta nella vita; lo 0,3% dichiara di usarla frequentemente.
 - Il 5,8% degli intervistati ha usato cocaina almeno una volta nella vita; lo 0,5% la usa frequentemente. La maggior prevalenza si riscontra nei maschi.
 - Il 31,5% degli studenti 15-19 anni dichiara di aver usato cannabis almeno una volta nella vita e il 2,7% di consumarla quotidianamente. Il maggior consumo si è osservato tra gli studenti 19enni (40,1%). L'uso precoce in particolare si è registrato nel 20% dei maschi con 16 anni di età.
 - Il 4,7% degli studenti 15-19 anni ha usato stimolanti almeno una volta nella vita; lo 0,9% li usa frequentemente e il maggior consumo si riscontra tra la popolazione maschile 19enne (6%).
 - Il 4,7% degli studenti 15-19 anni ha dichiarato di aver fatto uso di allucinogeni almeno una volta nella vita e lo 0,5% di usarli frequentemente. Il maggior uso è stato evidenziato tra studenti maschi 19enni con una percentuale del 5,8%.
 - Si è indagato il policonsumo di sostanze nella fascia 15-19 rilevando una forte tendenza all'aumento. In particolare, è stata riscontrata una forte associazione con alcol e tabacco di tutte le sostanze. I consumatori di cannabis associano anche la cocaina nel 14,1% dei casi, e anche eroina nel 4,4%. I consumatori di cocaina utilizzano nel 91,9% anche cannabis e nel 23,6% anche eroina. I consumatori di eroina utilizzano anche cannabis nell'82,3% dei casi e nel 66,7% anche cocaina.
- b. La rete italiana di cura ed assistenza alle persone tossicodipendenti è fortemente articolata e presente in tutte le regioni italiane. Consta di oltre 500 unità operative pubbliche e circa 1000 unità operative private e accreditate. Vengono mediamente presi in carico ogni anno circa 120.000 persone. Risulta evidente quindi che il problema della tossicodipendenza in Italia richiede un articolato sistema di intervento terapeutico. Il potenziale è quindi enorme, sia per gli aspetti relativi alla possibilità di attuare nuove strategie e metodologie di cura, sia di ricerca, potendo contare su strutture pubbliche organizzate in senso sanitario e sociale. La possibilità di sviluppare nuovi orientamenti e ricerche in campo diagnostico permetterebbe di superare le differenze organizzative e di risorse presenti oggi tra le diverse regioni.

7.0. OBIETTIVO GENERALE DELL'INTERVENTO E RISULTATI ATTESI

- a. Le più importanti funzioni psichiche, esecutive e sociali, come la capacità di giudizio, il controllo inibitorio dei comportamenti e la "social cognition" sono strettamente collegate a diverse strutture cerebrali che sottendono il normale funzionamento fisiologico del cervello. L'uso di sostanze stupefacenti può alterare in maniera anche permanente il corretto funzionamento cerebrale deviandolo dal normale percorso maturativo, soprattutto se l'uso di droghe avviene in un individuo di giovane età il cui cervello è ancora in fase di sviluppo. Scopo principale dello studio con RM è quello di dimostrare quali effetti nocivi permanenti provoca l'abuso di sostanze sullo sviluppo e funzionamento delle funzioni cerebrali, con una ricaduta sulle politiche di prevenzione mirate principalmente agli adolescenti relativamente all'uso e non solo all'abuso di sostanze stupefacenti. La possibilità inoltre di mappare con la RM 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 contemporaneamente individuare quali aree del cervello possono controllare gli impulsi assuntivi. Questo studio con Risonanza Magnetica (RM), quindi, si pone l'obiettivo primario di dimostrare con oggettività scientifica e non sola percezione soggettiva, come l'uso di droghe possa alterare il corretto funzionamento cerebrale e portare a danni cerebrali simili a vere e proprie malattie degenerative.



8.0 PREMESSE TECNICO SCIENTIFICHE (IL "RAZIONALE") DELL'INTERVENTO PROPOSTO

Di seguito si riportano alcune definizioni e spiegazioni metodologiche relative all'indagine che si intende realizzare con il presente progetto.

Craving

Per craving s'intende la pulsione che porta il soggetto ad attivare una serie di pattern comportamentali finalizzati all'assunzione della sostanza. Il resisting rappresenta invece la capacità di controllare questa pulsione arrivando a rimandarla. Ipotizziamo che a livello cerebrale il comportamento assuntivo sia la risultante di due forze che si contrappongono. Da una parte il driver e dall'altra il controller. Le aree cerebrali che rappresentano il driver sono composte dal sistema limbico (amigdala, nucleo accumbens e giro ippocampale), mentre la corteccia prefrontale (dorsolaterale e orbitofrontale) rappresenta il controller. Secondo il nostro modello il comportamento assuntivo avviene laddove il driver ha una forza maggiore del controller. A sua volta, questa forza maggiore può essere dovuta ad una oggettiva maggior attività delle aree del driver o ad una scarsa attività del controller.

Risonanza Magnetica Funzionale

L'esame di RMF studia le variazioni di ossigeno nel flusso sanguigno cerebrale e permette di definire i parametri correlati all'attività mentale, utilizzabili dal nostro modello per la descrizione e la misurazione quantitativa delle aree coinvolte durante il craving e il resisting, in modo assolutamente sicuro e non invasivo.

La RM ad alto campo rappresenta il "gold standard" dello studio encefalico, sia da un punto di vista strutturale che funzionale. La non invasività, l'altissima definizione e precisione anatomica, l'applicabilità di nuove sequenze diagnostiche, la rendono una metodica indispensabile allo studio e alla definizione di protocolli anatomo-funzionali per l'indagine scientifica e clinica del soggetto che fa uso di droga.

8.1 METODOLOGIA DI INDAGINE

L'impiego della RM nel Progetto Brainsearch

L'esame di RM ad alto campo verrà eseguito presso il Servizio di Neuroradiologia dell'Ospedale Civile Maggiore di Verona. I soggetti, reclutati e valutati secondo gli standard definiti dal protocollo di studio (colloquio clinico, testistica, esami tossicologici, ecc.) presso l'Unità Operativa di Neuroscienze dell'USL 20 di Verona, verranno accompagnati ad effettuare l'esame RM. Un medico specializzato avrà il compito di monitorare la condizione psico-fisica dei soggetti prima e dopo l'esame. Dopo compilazione del consenso informato, i soggetti verranno preparati ed istruiti all'esame RM.

Il protocollo RM verrà così definito in base allo studio di riferimento:

- studio craving/resisting: presentazione di video per i trigger del craving (da cocaina, eroina, cannabis, alcol) e resisting sincronizzata con sequenze ecoplanari, sequenza MPRAGE per l'analisi volumetrica dell'encefalo, DTI, ASL
- studio dei danni cerebrali: sequenza MPRAGE per l'analisi volumetrica dell'encefalo, DTI, MRS, ASL

La successiva analisi dei dati RM verrà effettuata da un neuropsicologo esperto di neuroimaging con software dedicati e svolta secondo diverse procedure:

- *analisi funzionale*: elaborazione del segnale di attivazione/deattivazione delle aree cerebrali dopo visione dei trigger per il craving e il resisting. Definizione delle aree di interesse e quantificazione dei parametri d'attivazione secondo mappe colorimetriche corrette in base a valori di soglia statistica.
- *analisi morfometrica*: segmentazione della sostanza cerebrale grigia e bianca. Analisi dello spessore corticale (Cortical Thickness Analysis) che consentirà l'identificazione delle aree che presentano alterazioni involutive tipo atrofia correlate con variabili socio-demografiche (sesso, età) e d'uso di sostanze (tipo di sostanze usate, modalità d'uso, anni di consumo)
- *Diffusion Tensor Imaging (DTI)*: misurazione in vivo della diffusione dell'acqua nei tessuti biologici, da cui è possibile ricostruire tridimensionalmente la microstruttura del tessuto cerebrale, in particolare dei fasci della sostanza bianca (trattografia). Per quantificare i dati DTI verranno utilizzati due parametri di misure



scalari: la diffusione media (DM) e l'anisotropia frazionale (FA). L'analisi di tali parametri nelle regioni di interesse permetterà di descrivere in modo quantitativo i cambiamenti patologici del tessuto cerebrale.

- *Spettroscopia multinucleare (MRS)*: misurazione delle anomalie metaboliche. Da informazioni strutturali e istologiche ultrastrutturali, relative all'integrità neuronale, alla proliferazione e degradazione cellulare, al metabolismo energetico.
- *Arterial Spin Labeling (ASL)*: misura non invasiva di perfusione sanguigna cerebrale. Lo studio dell'emodinamica cerebrale (flusso sanguigno) da informazioni sulla funzionalità fisiologica, il metabolismo e il flusso locale di sangue cerebrale.

All'analisi sul singolo soggetto seguirà un'analisi di gruppo e il confronto con un gruppo di controllo.

Studio dei danni cerebrali

Lo studio sui danni cerebrali si configura come un successivo completamento delle acquisizioni funzionali del craving/resisting, con acquisizioni volumetriche di RM per lo studio di parametri quantitativi (ad es. analisi dello spessore corticale del tessuto cerebrale), al fine di valutarne in vivo le caratteristiche morfometriche. Tali parametri, integrati e correlati a quelli ottenuti dagli screening neuropsicologici atti a valutare le funzioni cognitive, permetteranno di avere informazioni scientifiche su tutte le strutture corticali e sottocorticali. In particolare 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) permetterà di arrivare ad una precoce definizione dei marker neurali che caratterizzano un cervello che assume o ha assunto droghe.

Nello studio sui danni cerebrali con RM verranno inoltre reclutati due gruppi particolari di soggetti; chi è affetto da HIV/AIDS e chi fa uso di eroina inalata. Scopo dello studio sarà quello di fornire importanti informazioni sulla presenza di alterazioni della sostanza bianca cerebrale (casi di leucoencefalopatia spongiforme già segnalata in soggetti che fanno uso di eroina inalata) e alterazioni metaboliche nei processi infiammatori dell'encefalo che si sviluppano con l'uso di droghe.





9.0 SOTTO OBIETTIVI SPECIFICI

1. Creare un modello neuro-anatomico sperimentale quantitativo delle aree cerebrali coinvolte nell'attivazione del comportamento compulsivo di assunzione di droga (craving) e di controllo volontario di tale condizione (resisting)
2. Definire attraverso parametri quantitativi il danno cerebrale causato dall'uso di droghe in relazione alla tipologia di sostanze e al tempo d'uso
3. Divulgare i risultati scientifici ottenuti dalla ricerca alla comunità internazionale
4. Creare un network nazionale per la ricerca dei danni sull'organismo causati dal consumo di droghe
5. Creare un database web delle immagini da utilizzare negli interventi preventivi
6. Definire un programma che sia in grado di aiutare ragazzi e ragazze che usano droghe a migliorare la loro motivazione al trattamento utilizzando interventi di tipo neuropsicologico (immagini del cervello e test sulle funzioni cerebrali)

Handwritten signature





9.1 SOTTO OBIETTIVI, MACRO-ATTIVITA' E INDICATORI

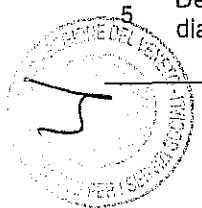
N°	SOTTO OBIETTIVI SPECIFICI	MACROATTIVITÀ	INDICATORI	BLR
1	Creare una mappatura funzionale delle aree cerebrali coinvolte nell'attivazione del comportamento compulsivo di assunzione di droga (craving) e di controllo volontario di tale condizione (resisting).	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Definire i paradigmi sperimentali da sottoporre ai pazienti ▪ Definire i protocolli operativi ▪ Definire le caratteristiche dei soggetti reclutati ▪ Selezionare i soggetti che possono rientrare nello studio ▪ Eseguire l'esame RM ▪ Raccogliere ed elaborare i dati dello studio 	<p>N. soggetti sottoposti allo studio/anno</p> <p>N. soggetti partecipanti allo studio/N. totale soggetti reclutati</p> <p>N. dati validi/N. totale dati acquisiti</p>	
2	Definire attraverso parametri quantitativi il danno cerebrale causato dall'uso di droghe in relazione alla tipologia di sostanze e al tempo d'uso.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Definire i protocolli operativi ▪ Definire le caratteristiche dei soggetti reclutati ▪ Selezionare i soggetti che possono rientrare nello studio ▪ Eseguire l'esame RM ▪ Raccogliere ed elaborare i dati dello studio 	<p>N. soggetti sottoposti allo studio/anno</p> <p>N. soggetti partecipanti allo studio/N. totale soggetti reclutati</p> <p>N. dati validi/N. totale dati acquisiti</p>	
3	Divulgare i risultati scientifici ottenuti dalla ricerca alla comunità internazionale	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sistematizzare i risultati ottenuti dalla ricerca ▪ Promuovere la divulgazione dei risultati ▪ Differenziare i contenuti dei messaggi informativi in 	<p>N. convegni organizzati /anno</p> <p>N. articoli scientifici-pubblicazioni prodotti/anno</p> <p>N. siti internet su cui i risultati dell'indagine</p>	





	relazione al target	vengono resi visibili/anno N. corsi di aggiornamento per operatori/anno
4	Creare un gruppo di lavoro internazionale per la ricerca dei danni sull'organismo causati dal consumo di droghe <ul style="list-style-type: none"> ▪ Definire le strutture operative partecipanti al gruppo di lavoro ▪ Definire gli ambiti di ricerca specifici per ciascuna struttura ▪ Definire le modalità di interazione tra le strutture e di condivisione dei risultati 	N. strutture operative coinvolte/anno N. di ricerche attivate/anno N. ricerche concluse/N. ricerche attivate
5	Creare un database web delle immagini da utilizzare negli interventi preventivi <ul style="list-style-type: none"> ▪ Definire il tipo d'immagine necessaria rispetto all'uso nell'ambito preventivo ▪ Contattare i centri nazionali ed internazionali che possono fornire le immagini necessarie ▪ Definire gli ambiti di ricerca specifici per ciascuna struttura ▪ Definire le modalità di interazione tra le strutture e di condivisione dei risultati 	N. strutture operative coinvolte/anno N. di ricerche attivate/anno N. ricerche concluse/N. ricerche attivate
6	Definire un programma che sia in grado di aiutare ragazzi e ragazze che usano droghe a migliorare la loro motivazione al trattamento utilizzando interventi di tipo neuropsicologico (immagini del cervello e test sulle funzioni cerebrali) <ul style="list-style-type: none"> ▪ Raccogliere i dati della letteratura sui danni cerebrali con particolare attenzione ai danni sul cervello in fase di maturazione ▪ Definire modalità cliniche che prevendano l'utilizzo delle tecniche motivazionali per commentare le immagini dei danni cerebrali 	N. di articoli trovati N. di procedure definite
5	Definire un protocollo standard per finalità diagnostiche e routinarie <ul style="list-style-type: none"> ▪ Raccogliere e archiviare le immagini ▪ Inserire in format comunicativi adeguati 	N. immagini raccolte

M

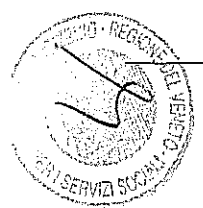




9.2 SOTTO OBIETTIVI, MACRO-ATTIVITA' E INDICAZIONI METODOLOGICHE

N°	SOTTO OBIETTIVI SPECIFICI	MACROATTIVITÀ	INDICAZIONI METODOLOGICHE GENERALI
1	Creare una mappatura funzionale delle aree cerebrali coinvolte nell'attivazione del comportamento compulsivo di assunzione di droga (craving) e di controllo volontario di tale condizione (resisting).	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Definire i paradigmi sperimentali da sottoporre ai pazienti ▪ Definire i protocolli operativi ▪ Definire le caratteristiche dei soggetti reclutati ▪ Selezionare i soggetti che possono rientrare nello studio ▪ Eseguire l'esame RM ▪ Raccogliere ed elaborare i dati dello studio 	<p>Individuare il materiale trigger, specifico per paziente, per la definizione dei paradigmi</p> <p>Definire le sequenze di RM per lo studio dell'encefalo</p> <p>Definire il profilo tossicologico del paziente</p> <p>Definire la condizione neuro-psicologica del paziente</p> <p>Definire l'idoneità del paziente all'RM, con acquisizione del consenso informato</p> <p>Identificare un format per la registrazione dei dati</p> <p>Individuare ed acquisire dei software specifici per l'elaborazione dei dati</p> <p>Fornire un feedback al paziente circa la propria condizione clinica</p>
2	Definire attraverso parametri quantitativi il danno cerebrale causato dall'uso di droghe in relazione alla tipologia di sostanze e al tempo d'uso.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Definire i protocolli operativi ▪ Definire le caratteristiche dei soggetti reclutati ▪ Selezionare i soggetti che possono rientrare nello studio ▪ Eseguire l'esame RM ▪ Raccogliere ed elaborare i dati dello studio 	<p>Definire le sequenze di RM per lo studio dell'encefalo</p> <p>Definire il profilo tossicologico del paziente</p> <p>Definire la condizione neuro-psicologica del paziente</p> <p>Definire l'idoneità del paziente all'RM, con acquisizione del consenso informato</p> <p>Identificare un format per la registrazione dei dati</p> <p>Individuare ed acquisire dei software specifici per l'elaborazione dei dati</p>

11





			Fornire un feedback al paziente circa la propria condizione clinica
3	Divulgare i risultati scientifici ottenuti dalla ricerca alla comunità internazionale	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sistematizzare i risultati ottenuti dalla ricerca ▪ Promuovere la divulgazione dei risultati ▪ Differenziare i contenuti dei messaggi informativi in relazione al target 	<p>Definire un database per la sistematizzazione dei risultati</p> <p>Individuare le modalità di promozione dei risultati</p> <p>Individuare i target di riferimento</p> <p>Differenziare i contenuti dei messaggi informativi</p>
4	Creare un gruppo di lavoro internazionale per la ricerca dei danni sull'organismo causati dal consumo di droghe	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Definire le strutture operative partecipanti al gruppo di lavoro ▪ Definire gli ambiti di ricerca specifici per ciascuna struttura ▪ Definire le modalità di interazione tra le strutture e di condivisione dei risultati 	<p>Individuare i settori di ricerca su cui articolare lo studio relativo ai danni sull'organismo causati dall'uso di droghe</p> <p>Individuare e selezionare le opportune strutture che operano nei settori individuati</p> <p>Contattare le strutture selezionate</p> <p>Definire i topics e le modalità di ricerca</p> <p>Definire le modalità di gestione e condivisione dei risultati ottenuti</p>
5	Definire un protocollo standard per finalità diagnostiche e routinarie	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Definire i parametri diagnostici di valutazione clinica ▪ Standardizzare i parametri 	<p>Individuare i parametri necessari alla valutazione diagnostica</p> <p>Indicare la sensibilità diagnostica del protocollo</p>
6	Creare un database web delle immagini da utilizzare negli interventi preventivi	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Raccogliere e archiviare le immagini ▪ Inserire in format comunicativi adeguati 	<p>Definire un set di criteri omogenei per la costruzione di un'immagine sul funzionamento/patologia cerebrale droga correlata da utilizzare in ambito preventivo</p>
7	Definire un programma che sia in grado di aiutare ragazzi e ragazze che usano droghe	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Raccogliere i dati della letteratura sui danni cerebrali con particolare attenzione ai danni sul cervello in fase di maturazione 	<p>Definire procedure che siano in grado di aiutare ragazzi e ragazze low o no responder a diminuire l'uso delle sostanze aumentando utilizzando tecniche neuropsicologiche quali la testistica sulle funzioni esecutive e la</p>





a migliorare la loro motivazione al trattamento utilizzando interventi di tipo neuropsicologico (immagini del cervello e test sulle funzioni cerebrali)

- Definire modalità cliniche che prevengano l'utilizzo delle tecniche motivazionali per commentare le immagini dei danni cerebrali

lettura delle immagini dei danni cerebrali per profilo tossicologico

[Handwritten signature]





9.3 SOTTO OBIETTIVI, MACRO-ATTIVITA' E PRODOTTI TANGIBILI

N°	SOTTO OBIETTIVI SPECIFICI	MACROATTIVITÀ	PRODOTTI TANGIBILI ATTESI
1	Creare una mappatura funzionale delle aree cerebrali coinvolte nell'attivazione del comportamento compulsivo di assunzione di droga (craving) e di controllo volontario di tale condizione (resisting).	<ul style="list-style-type: none">▪ Definire i paradigmi sperimentali da sottoporre ai pazienti▪ Definire i protocolli operativi▪ Definire le caratteristiche dei soggetti reclutati▪ Selezionare i soggetti che possono rientrare nello studio▪ Eseguire l'esame RM▪ Raccogliere ed elaborare i dati dello studio	<p>Lista dei protocolli del progetto di Craving/Resisting (definizione del paradigma) e dei danni (cortical thickness e diffusion tensor imaging)</p> <p>Referti clinici</p> <p>Immagini di presentazione delle aree corticali coinvolte nei meccanismi dell'addiction</p> <p>Pubblicazioni scientifiche (in progress e finali)</p> <p>Workshop di presentazione dei risultati</p>
2	Definire attraverso parametri quantitativi il danno cerebrale causato dall'uso di droghe in relazione alla tipologia di sostanze e al tempo d'uso.	<ul style="list-style-type: none">▪ Definire i protocolli operativi▪ Definire le caratteristiche dei soggetti reclutati▪ Selezionare i soggetti che possono rientrare nello studio▪ Eseguire l'esame RM▪ Raccogliere ed elaborare i dati dello studio	<p>Pubblicazioni scientifiche (in progress e finali)</p> <p>Referti clinici</p> <p>Immagini di presentazione dello spessore corticale, della concentrazione di metaboliti e della ricostruzione 3D delle aree cerebrali coinvolte nei meccanismi dell'addiction</p> <p>Workshop di presentazione dei risultati</p>





3	Divulgare i risultati scientifici ottenuti dalla ricerca alla comunità internazionale	<ul style="list-style-type: none">▪ Sistematizzare i risultati ottenuti dalla ricerca▪ Promuovere la divulgazione dei risultati▪ Differenziare i contenuti dei messaggi informativi in relazione al target	Database dei risultati ottenuti dalla ricerca Sito Internet dedicato alla presentazione della metodologia di indagine e dei dati ottenuti Corsi di aggiornamento/formazione per operatori/genitori Strumenti educativi: poster, slide e brochure informative, video, checklist di apprendimento, neurotraining
4	Creare un gruppo di lavoro internazionale per la ricerca dei danni sull'organismo causati dal consumo di droghe	<ul style="list-style-type: none">▪ Definire le strutture operative partecipanti al gruppo di lavoro▪ Definire gli ambiti di ricerca specifici per ciascuna struttura▪ Definire le modalità di interazione tra le strutture e di condivisione dei risultati	Protocolli di collaborazione Pubblicazioni scientifiche congiunte Workshop internazionali
5	Definire un protocollo standard per finalità diagnostiche e routinarie	<ul style="list-style-type: none">▪ Definire i parametri diagnostici di valutazione clinica▪ Standardizzare i parametri	Linee guida per l'utilizzo del protocollo
6	Creare un database web delle immagini da utilizzare negli interventi preventivi	<ul style="list-style-type: none">▪ Raccogliere e archiviare le immagini▪ Inserire in format comunicativi adeguati	N. di immagini archiviate
7	Definire un programma che sia in grado di aiutare ragazzi e ragazze che usano droghe a migliorare la loro motivazione al trattamento utilizzando interventi di tipo neuropsicologico (immagini del cervello e test sulle funzioni cerebrali)	<ul style="list-style-type: none">▪ Raccogliere i dati della letteratura sui danni cerebrali con particolare attenzione ai danni sul cervello in fase di maturazione▪ Definire modalità cliniche che prevendano l'utilizzo delle tecniche motivazionali per commentare le immagini dei danni cerebrali	N. di soggetti coinvolti N. di soggetti che hanno partecipato interamente al programma





10.0 WTA WORK TASK ASSIGNMENT – ASSEGNAZIONE DEI COMPITI PRINCIPALI

Soggetto	Compiti principali	Referenza sovra-ordinata	Risorse previste (indicative)
DPA	<ul style="list-style-type: none">• Ente committente• Indirizzo e coordinamento generale• Controllo e verifica del progetto generale sia per la rendicontazione di risultato che della rendicontazione finanziaria	Sottosegretario	Umane: 1 persona
Gruppo di coordinamento tecnico-scientifico nazionale	<ul style="list-style-type: none">• Elabora linee di indirizzo e coordinamento generale• Valuta e seleziona le strutture di ricerca da inserire nel progetto• Indirizza le attività di valutazione ex-ante, in progress ed ex-post• Fornisce supporto tecnico al DPA e alle strutture di ricerca coinvolte• Valuta le proposte del piano di studio, dei risultati preliminari e definitivi, dei prodotti realizzati• Indirizza le attività di pianificazione dello studio, di analisi dei dati e di stesura dei report in progress ed ex-post	DPA	Umane: circa 8 persone





Unità operativa di
Neuroscienze, Azienda ULSS
20 Verona

- Ente affidatario
- Acquisizione e amministrazione del finanziamento
- Controllo e verifica dell'andamento delle attività di ricerca sia per la rendicontazione di risultato che della rendicontazione finanziaria
- Titolare delle fasi operative del progetto: realizza i prodotti attesi in progress e finali
- Coordina le attività di ricerca durante le varie fasi operative
- Coordina le attività di segreteria di coordinamento in sinergia con l'unità di project management e di segreteria di coordinamento del DPA

DPA

Umane: 6 persone
(di cui 2 a contratto)

Finanziarie: 90.000 euro

Gruppo di lavoro
interdisciplinare

- Fornisce supporto tecnico-scientifico al Dipartimento delle Dipendenze, Azienda ULSS 20
- Fornisce consulenze per le proposte dei piani di studio, dei risultati preliminari e definitivi, dei prodotti realizzati

Umane: 2 persone

Unità operativa di
Neuroradiologia, Ospedale
Civile Maggiore Verona e
Servizio delle Dipendenze e
Alcolologia, Marzana - Verona

- Sviluppa ed implementa le attività di ricerca
- Elabora i dati della ricerca
- Produce i materiali per la promozione dei risultati

Umane: 4 persone





**Unità di project management e
Segreteria di coordinamento
(DPA)**

- Gestisce e controlla il regolare sviluppo del progetto
- Coordina le attività di avvio della rilevazione (trasferimento su supporto informatico del materiale per la rilevazione all'ente per la gestione degli invii dei questionari)
- Prepara sintesi e rapporti per gli incontri del gruppo di coordinamento tecnico-scientifico

DPA

Umane: 2 persone

M





11.0 SCHEDULING

11.1 ARTICOLAZIONE IN FASI TEMPORALI E ATTIVITA'

INIZIO PREVISTO: gennaio 2010

DURATA TOTALE (gg): 365

FASE 1: FASE DI MODELLIZZAZIONE DELL'INDAGINE

N°	MACRO ATTIVITA' PREVISTE	DURATA
1	Definire i paradigmi sperimentali da sottoporre ai pazienti	2 mesi
2	Definire i protocolli operativi	1 mese
3	Definire le caratteristiche dei soggetti reclutati	1 mese
4	Selezionare i soggetti che possono rientrare nello studio	Costante

FASE 2: FASE ORGANIZZATIVA

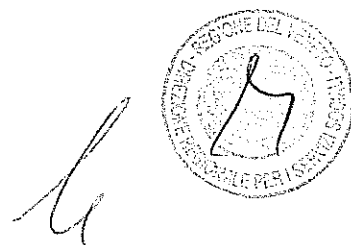
N°	MACRO ATTIVITA' PREVISTE	DURATA
1	Definire le strutture operative partecipanti al gruppo di lavoro	3 mesi
2	Definire gli ambiti di ricerca specifici per ciascuna struttura	3 mesi
3	Definire le modalità di interazione tra le strutture e di condivisione dei risultati	3 mesi

FASE 3: FASE ESECUTIVA

N°	MACRO ATTIVITA' PREVISTE	DURATA
1	Raccogliere i dati dello studio	9 mesi
2	Elaborare i dati dello studio	9 mesi
3	Definire un protocollo standard per finalità diagnostiche e routinarie	9 mesi

FASE 4: FASE DI PROMOZIONE DEI RISULTATI

N°	MACRO ATTIVITA' PREVISTE	DURATA
1	Sistematizzare i risultati ottenuti dalla ricerca	3 mesi
2	Promuovere la divulgazione dei risultati	5 mesi
3	Differenziare i contenuti dei messaggi informativi in relazione al target	5 mesi





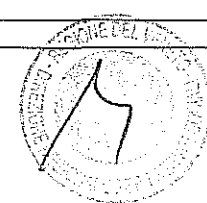
12.0 AGENDA REPORTING

SIGLA REPORT	DATA PREVISTA	TIPO DI RAPPORTO
R1	Dopo 8 settimane	Report in progress, sintetico, sui risultati della prima fase di modellizzazione
R2	Dopo 12 settimane	Report in progress, sintetico, sui risultati della fase organizzativa delle strutture di ricerca
R3	Dopo 24 settimane	Report in progress, dettagliato, sui risultati ottenuti nella fase esecutiva e rendicontazione finanziaria
R6	Dopo 48 settimane	Report finale, dettagliato, sulla base degli obiettivi raggiunti, riguardante la fase di promozione dei risultati e rendicontazione finanziaria finale

13.0 RISORSE E PIANO FINANZIARIO

13.1 RISORSE INTERNE DA IMPEGNARE

PERSONALE (H/T)	TIPOLOGIA	IMPEGNO QUANTITATIVO (N. persone)
Medici del Dipartimento Dipendenze	Psichiatra, psicologo	4
Medici del Servizio di Neuroradiologia	Neuroradiologo	2
Neuropsicologo per elaborazione e gestione dati	Neuropsicologo	1
LOGISTICA	TIPOLOGIA	IMPEGNO QUANTITATIVO
Risonanza magnetica	Macchinari	1
Lastre	Referto	6 per paziente
Software di elaborazione dati	Strumentazione informatica	3
Personal computer	Strumentazione informatica	2





ALTRO

Corsi di aggiornamento per il personale impiegato Formazione Min. 2

13.2 RISORSE FINANZIARIE RICHIESTE PER ANNUALITA' (riparti indicativi)

CAPITOLI DI SPESA

BENI E SERVIZI	20.000
PERSONALE	60.000
RIMBORSI	8.000
ALTRO	2.000
TOTALE	90.000

Riparti indicativi.
Escluso il finanziamento per il personale di ruolo.

13.3 QUOTE DI FINANZIAMENTO PREVISTE

La prima quota del 60% del totale del finanziamento previsto verrà erogata dopo la registrazione da parte dell'organo di controllo del decreto di approvazione dell'Accordo e del relativo impegno di spesa e il ricevimento della lettera di "avvio attività" di cui all'art. 2 comma 2 dell'Accordo stesso.

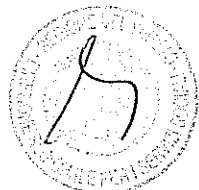

L'ulteriore 40% del finanziamento verrà erogato dopo sei mesi dall'inizio delle attività e a fronte della valutazione positiva da parte del Dipartimento dei risultati raggiunti e della rendicontazione finanziaria del primo semestre di attività che dovrà dimostrare l'effettiva spesa sostenuta e il completo utilizzo del budget assegnato con la prima tranche del finanziamento inviata dall'ente affidatario.

In caso di non completo utilizzo della prima quota erogata potrà essere detratta una quota equivalente al valore non speso, alla seconda quota di finanziamento.

13.4 PROROGHE ALLE ATTIVITA' DI PROGETTO E ALL'UTILIZZO DEI FINANZIAMENTI

Le attività di progetto potranno essere oggetto di proroga dietro richiesta dell'ente affidatario e contestuale valutazione positiva e formale autorizzazione del Dipartimento Politiche Antidroga, fermo restando la quota di finanziamento previsto ed esistendo condizioni tali da giustificare tale proroga anche in relazione ad un aumento o ad un consolidamento dei risultati ottenibili o già ottenuti.

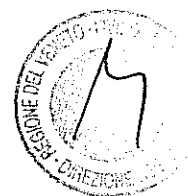






14.0 VOCI BIBLIOGRAFICHE DI RIFERIMENTO

1. Bartlett E., Mikulis D.J. (2005). Chasing "chasing the dragon" with MRI: leukoencephalopathy in drug abuse. *British Journal of Radiology*, 78: 997-1004
2. Bonson K.R., London E.D. (2002). Neural Systems and Cue-Induced Cocaine Craving. *Neuropsychopharmacology*, 3: 386-376
3. Garavan H., Stein E.A. (2000). Cue-Induced Cocaine Craving: Neuroanatomical Specificity for Drug Users and Drug Stimuli. *American Journal of Psychiatry*, 157:1789-1798
4. Hester R., Garavan H. (2004). Executive Dysfunction in Cocaine Addiction: Evidence for Discordant Frontal, Cingulate, and Cerebellar Activity. *The Journal of Neuroscience*, December, 8 :11017-11022
5. Lim K.O., Rotrosen J.P. (2008). Brain macrostructural and microstructural abnormalities in cocaine dependence. *Drug and Alcohol Dependence*, 92: 164-172
6. Lyvers M (2000). "Loss of control" in alcoholism and drug addiction: a neuroscientific interpretation. *Experimental Clinical Psychopharmacology*, 8:225-249
7. Makris N., Jordan W. (2008). Cortical Thickness Abnormalities in Cocaine Addiction—A Reflection of Both Drug Use and a Pre-existing Disposition to Drug Abuse? *Neuron*, 60: 174-188
8. Moeller F.G., Narayana P.A. (2005). Reduced Anterior Corpus Callosum white matter integrity is related to increased impulsivity and reduced discriminability in cocaine-dependent subjects: Diffusion Tensor Imaging. *Neuropsychopharmacology*, 30: 610-61
9. Pfefferbaum A., Sullivan E. (2005). Cortical NAA Deficits in HIV Infection without Dementia: Influence of Alcoholism Comorbidity. *Neuropsychopharmacology*, 30: 1392-1399
10. Xavier G., Tchouyoson L. (2005). Perfusion Imaging Using Arterial Spin Labeling. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 15: 10-27
11. Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Relazione al Parlamento 2008.



15.0 ALLEGATI

15.1 ALLEGATO A

Risonanza Magnetica Funzionale: Limiti ed obiettivi

Dott. Franco Alessandrini, Servizio di Neuroradiologia Ospedale Civile maggiore Bgo. Trento, Verona



Figura 1 – Negli ultimi anni le Neuroscienze hanno fatto notevoli passi avanti attraverso l'utilizzo di diverse tecniche di neuroimaging in grado di misurare il funzionamento cerebrale



Figura 2 –La Risonanza Magnetica funzionale (fMRI) rappresenta una tecnica assolutamente non invasiva di misurazione in vivo delle funzioni cerebrali

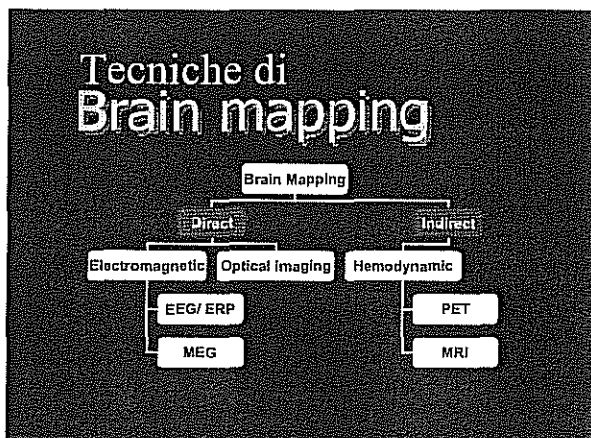


Figura 3 – Le tecniche di mappatura cerebrale sono in continua evoluzione e permettono l'analisi, la visualizzazione e l'interpretazione di nuovi risultati ottenuti dallo studio delle diverse funzioni dell'encefalo



Figura 4 – La tomografia a emissione di positroni (PET) è una tecnica di medicina nucleare e di diagnostica medica che produce immagini tridimensionali o mappe dei processi funzionali all'interno del corpo. Utilizza radiazioni ionizzanti.

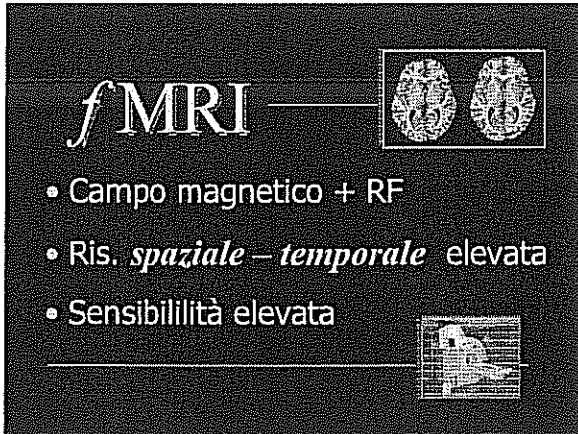


Figura 5 – La fMRI permette di misurare le funzioni cerebrali senza utilizzo di radiazioni ionizzanti, in modo sicuro e preciso dato l'alto grado di precisione spaziale e temporale delle immagini prodotte

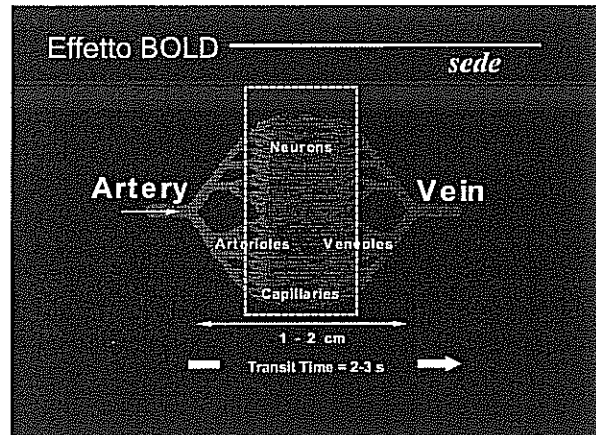


Figura 6 – La fMRI è in grado di visualizzare la risposta emodinamica (variazione dell'ossigenazione sanguigna nel cervello) correlata all'attività neuronale. La modificazione dello stato di ossigenazione dell'emoglobina nei globuli rossi (effetto BOLD) è alla base del segnale rilevato in fMRI.

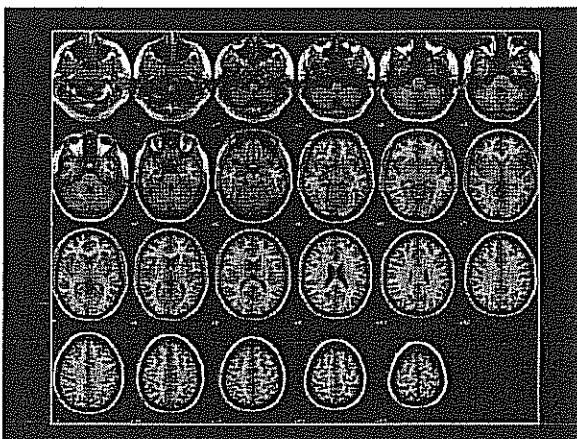


Figura 7 – Visualizzazione della sezione trasversale dell'encefalo. L'immagine anatomica mostra l'ottima risoluzione spaziale della RM per la valutazione morfologica del tessuto cerebrale (corteccia cerebrale e strutture sottocorticali)

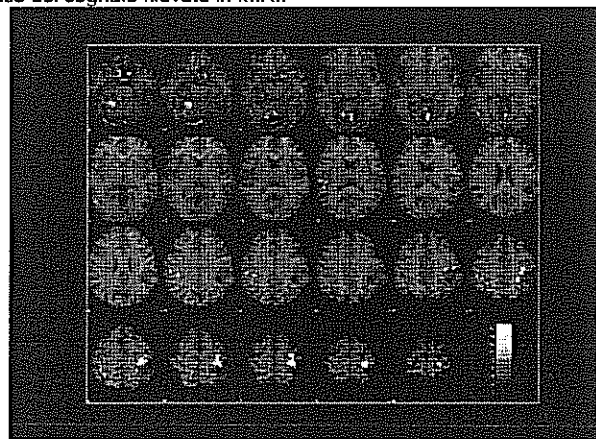


Figura 8 – Visualizzazione della sezione trasversale dell'encefalo. Coregistrazione delle mappe di attivazione funzionale (in giallo/rosso) con l'immagine anatomica. In questo caso le aree corticali si attivano durante il movimento della mano destra

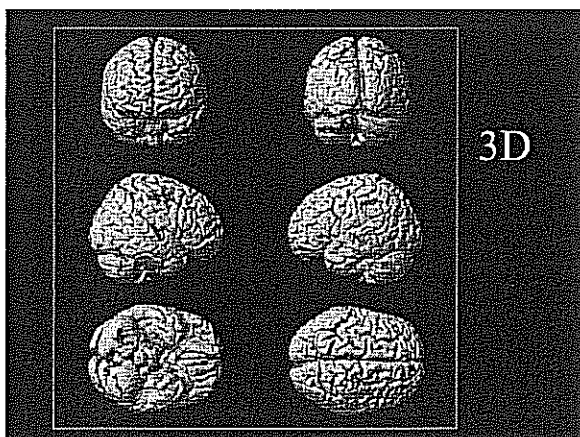


Figura 9 – Visualizzazione tridimensionale dell'encefalo nella sezione coronale, sagittale e trasversale



Figura 10 – La Risonanza Magnetica risulta quindi una metodica affidabile e d'indubbia utilità clinica, strumento elettivo della ricerca neuroscientifica, all'interno di studi che si avvalgono di team



multidisciplinari





15.2 ALLEGATO B

Dipendenza da cocaina e neuroimaging: un modello per la mappatura dell'area del craving e del controllo volontario mediante Risonanza Magnetica funzionale

Giovanni Serpelloni¹ Giada Zoccatelli^{2,3}, Francesco Bricolo^{3,4}, Franco Alessandrini^{2,3}, Francesca Pizzini^{2,3}, Alberto Beltramello^{2,3}

¹ Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza Consiglio dei Ministri, Roma g.serpelloni@palazzochigi.it

² O.O. Neuroradiologia - Ospedale Civile Maggiore Verona Borgo Trento;

³ Unità Operativa di Neuroscienze, Addiction Neuroscience Group

⁴ Dipartimento delle Dipendenze, Centro di Medicina Comunitaria, ULSS 20 Verona

Negli ultimi decenni diversi gruppi di ricerca hanno utilizzato le tecniche di *neuroimaging* quali la tomografia ad emissione di positroni (PET) e la Risonanza Magnetica funzionale (fMRI) per studiare il «craving» e il suo «fronteggiamento». Per craving s'intende la pulsione che porta il soggetto ad attivare una serie di pattern comportamentali finalizzati all'assunzione della sostanza. Il «fronteggiamento» a sua volta, consiste nella capacità di controllare questa pulsione arrivando a rimandarla. L'elemento significativo da segnalare è che il presente studio rappresenta in primo luogo uno studio sperimentale che ha come principale obiettivo quello di definire un modello e poi verificarlo. Attraverso l'uso della Risonanza Magnetica funzionale sarà possibile ottenere importanti informazioni sui meccanismi fisiopatologici alla base del comportamento assuntivo; questo significa migliorare l'efficacia della valutazione diagnostica e dei trattamenti terapeutici a diversi livelli: comportamentale, strutturale e funzionale. La modellistica che è stata proposta descrive il comportamento assuntivo come la risultante di due forze che si contrappongono. Da una parte il driver e dall'altra il controller. Il comportamento assuntivo avviene laddove il driver ha una forza maggiore del controller. A sua volta questa forza maggiore può essere dovuta ad una oggettiva maggior attività delle aree del driver o invece ad una scarsa attività del controller. In termini di network neuronale la rete del driver è composta dal sistema limbico e in particolare da amigdala, nucleo accumbens e giro ippocampale, mentre il controller ha due aree corticali quali la corteccia prefrontale dorsolaterale e la corteccia orbitofrontale. Nel nostro studio si reclutano soggetti con diagnosi di dipendenza da cocaina, si individuano i loro trigger sia per il driver che per il controller e si sottopongono ad una scansione di Risonanza Magnetica funzionale in cui si espone il soggetto prima al trigger del driver e poi al trigger del controller. Il trigger del driver è stato individuato attraverso la visione di videoclip in cui si fa uso di cocaina mentre il trigger del controller è stato individuato tramite un videoclip personalizzato per ciascun soggetto. Questi due video vengono mostrati in sequenza. I parametri utilizzabili per la descrizione e la misurazione quantitativa delle aree coinvolte durante l'evocazione mnemonica, l'attivazione del craving e il fronteggiamento volontario prevedono la precisa localizzazione delle aree di attivazione, il calcolo del volume di area attivata, le variazioni di intensità e di durata del segnale fMRI. I risultati ottenuti finora mostrano un'attivazione della Corteccia Cingolata anteriore, ossia il controller prefrontale in grado di gestire l'impulso all'assunzione di nuova droga, nei pazienti che rispondono al trattamento ("responder"), così come durante il fronteggiamento si attiva la corteccia prefrontale sinistra. Nell'induzione del craving in soggetti che non rispondono al trattamento ("non responder") si attiva invece ciò che dovrebbe essere deattivato. Nel fronteggiamento si deattiva l'area del craving. La più forte strategia difensiva parrebbe inibire le aree del craving più che rafforzare quelle del controllo.

Bibliografia

1. Fowler J.S. et al. (2007). Imaging the addicted human brain. *Science & practice perspectives*, 3 (2): 4-16.
2. Hester R., Garavan H. (2004). Executive dysfunction in cocaine addiction: evidence for discordant frontal, cingulate and cerebellar activity. *Journal of Neuroscience*. 24 (49): 11017-11022
3. Kilts CD. et al. (2001). Neural activity related to drug craving in cocaine addiction. *Archives General of Psychiatry*. 58: 334-441.
4. Scott HF., Feroze BM (2006). *Functional MRI: basic principle and clinical applications*. Springer



Neuroimmagini

1. individuare i substrati anatomici
2. costruire la mappa cerebrale



- valutazione diagnostica
- trattamenti terapeutici

Figura 1 – Le Neuroimmagini permettono di individuare i substrati anatomici del funzionamento cerebrale, nel campo della tossicodipendenza significa arrivare ad una migliore valutazione diagnostica e trattamenti terapeutici più efficaci

STUDIO PILOTA

Definire un MODELLO TEORICO

DRIVE

CONTROLLER

Assunzione di droga

Localizzazione anatomica

Analisi quantitativa

Figura 2 – Scopo di questo studio è arrivare ad una mappatura funzionale del cervello, che spieghi il comportamento assuntivo come la risultante di 2 forze contrapposte, definite da distinte aree cerebrali che entrano in gioco come "driver" e "controller" nel sostenere ed influenzare il comportamento assuntivo, che avviene laddove il driver ha maggiore forza del controller.

Ipotesi: aree che si attivano o si deattivano nel craving e nel resisting

	CRAVING	RESISTING
↑	<ul style="list-style-type: none"> • Amigdala • Cort. Prefrontale destra • Cort. Orbitofrontale sinistra • Cort. Entorinale • Cervelletto destro 	<ul style="list-style-type: none"> • Cort. Prefrontale sinistra • Cort. Cingolata Anteriore • Nucleo Striato
↓	<ul style="list-style-type: none"> • Cort. Cingolata Anteriore • Cort. Prefrontale sinistra 	<ul style="list-style-type: none"> • Amigdala • Giro Ippocampale

A.R. Chillessi "Neuroimaging of cocaine craving states" 2002

Figura 3 –E' possibile chiedersi come e quali aree si attivano/deattivano e se la dipendenza sia un meccanismo dato da un'effettiva maggiore forza delle aree del driver (sistema limbico) o da una scarsa o diminuita attività del controller.

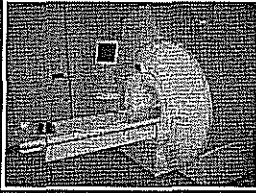

Lo studio

- tossicodipendenti: cocainomani
- inquadramento pre-scan
- responder, low responder, non responder
- videotape personalizzati
- trigger per drive
- trigger per controller

Figura 4 – I soggetti (cocainomani) sono suddivisi in 3 gruppi: responder (non usano droga da 6 mesi), low responder (hanno usato droga negli ultimi 3 mesi), non responder (hanno usato droga nell'ultimo mese). Per ognuno di loro verranno utilizzati video personalizzati come trigger per il craving e resisting

RM 3.0 Tesla

Siemens Allegra
Siemens, Erlanger (Germania)





- Sistema IFIS-SA

Figura 5 – L'esame prevede l'utilizzo di una RM ad alto campo (3.0 Tesla) e di un'apparecchiatura RM compatibile per la visualizzazione


Il paradigma

1° parte



craving

2° parte



fronteggiamento

neutra

Figura 6 – Il paradigma di studio è diviso in 2 parti. La prima per la visualizzazione di video cocaina-relati, la seconda per la

degli stimoli

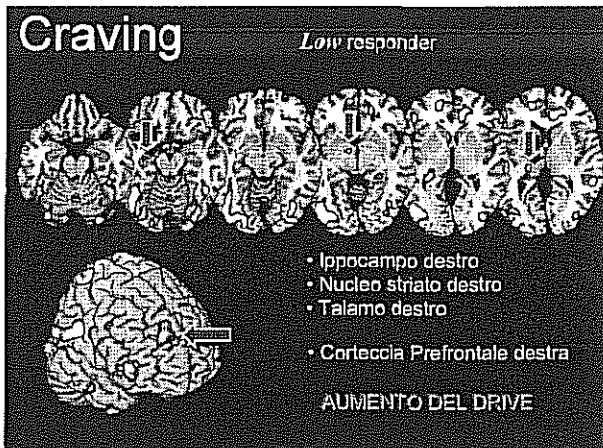


Figura 7 – Risultati preliminari di un soggetto "low responder". Durante la visione di immagini sulla cocaina si attivano aree note come coinvolte nell'induzione del craving

visualizzazione di video che favoriscono il resisting.

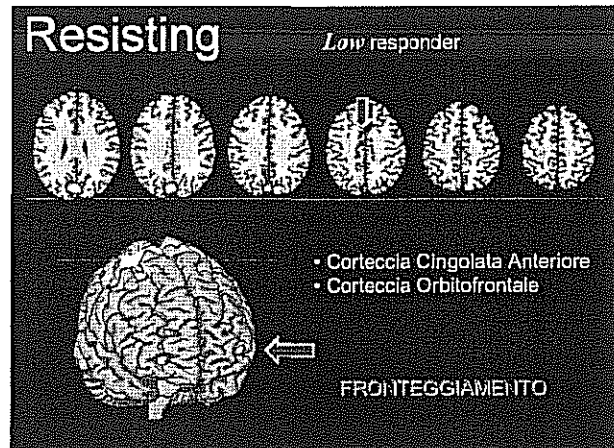


Figura 8 – Risultati preliminari di un soggetto "low responder". Durante il fronteggiamento si attivano le aree del controllo.

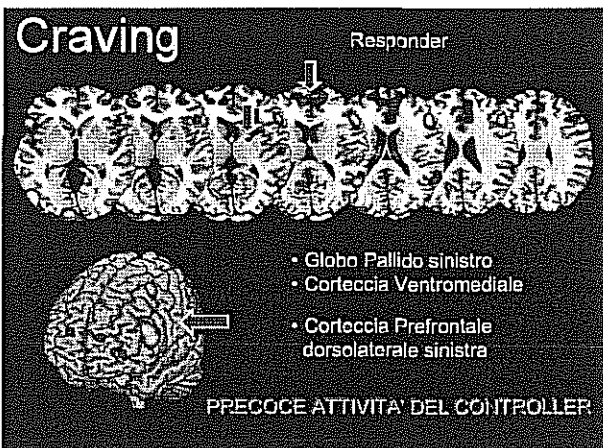


Figura 9 – Risultati preliminari di un soggetto "responder". Durante la visione di immagini sulla cocaina vi è una precoce attività delle aree di controllo

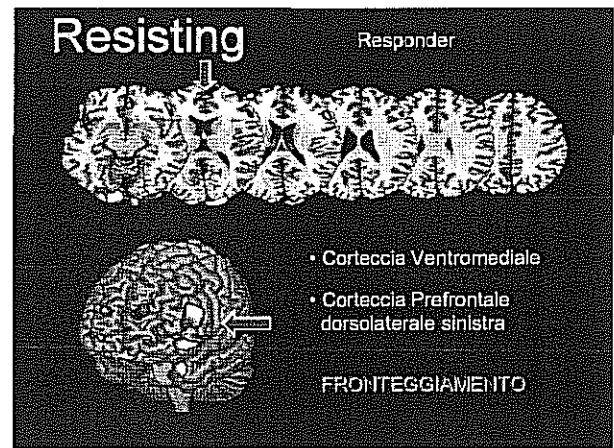


Figura 10 – Risultati preliminari di un soggetto "responder". Durante il fronteggiamento si attivano le aree del controllo

suggestivo

- Sembra che il paziente responder attivi il controller molto precocemente già durante la stimolazione del craving mediante visione di immagini con cocaina.
- Reazione di controller volontario semiautomatico per strutturazione di una strategia cognitiva di difesa dal craving?

Figura 11 – Il soggetto "responder" sembra attivare le aree del controllo precocemente durante situazioni di craving. Si può pensare

Conclusioni

	CRAVING	FRONTEGGIAMENTO
Low responder G.B.	• attiva drive (PFC ds)	• attiva controller (PFC sn e ACC)
Responder F.S.	• attiva precocemente controller (PFC sn e VMC)	• attiva controller (PFC)

La più forte strategia difensiva sembra rafforzare le aree del controllo durante l'induzione del craving

Figura 12 – Da questo studio preliminare parrebbe che la più forte strategia difensiva sembri rafforzare le aree del controllo durante

ad una strategia cognitiva di difesa dal craving?

l'induzione del craving

15.3 ALLEGATO C

Le neuroscienze delle dipendenze

Marco Mozzoni, Giovanni Serpelloni, Francesco Bricolo

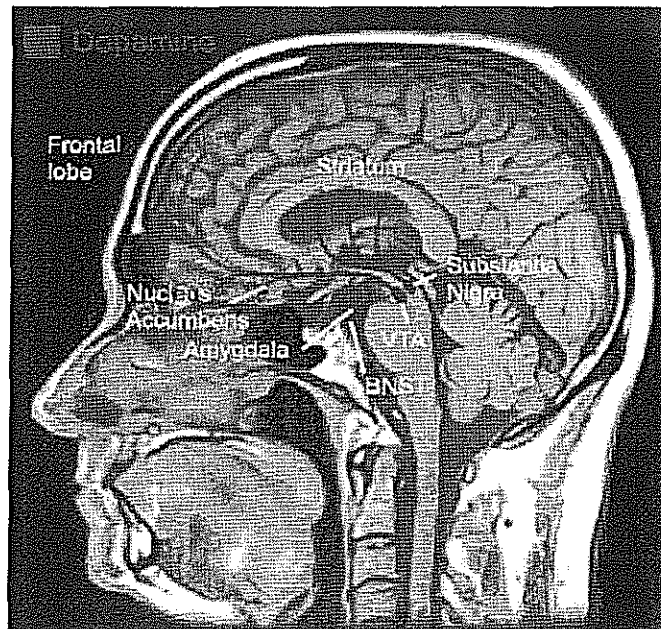
Introduzione

Le neuroscienze saranno davvero "la chiave di volta della nostra futura comprensione di come le droghe agiscono sul comportamento umano e del loro impatto sociale" (Robbins et al. 2007)?

Intanto non possiamo negare che le recenti scoperte nel campo interdisciplinare delle neuroscienze cognitive, a cui la ricerca neuropsicologica in particolare apporta linfa vitale, hanno messo in chiara luce le principali regioni cerebrali che in qualche modo hanno un ruolo nell'*addiction* e come esse operino in tale condizione patologica.

Possiamo oggi attribuire un ruolo chiave nello sviluppo delle dipendenze alle seguenti aree: **corteccia prefrontale**, deputata alla cognizione e alla pianificazione; **area tegmentale ventrale (VTA)** del mesencefalo e **nucleus accumbens (NAc)**, componenti chiave del cd. sistema della gratificazione; **amigdala** e **ippocampo**, che insieme a VTA e NAc fanno parte del sistema limbico, modulatore di impulsi, emozioni e memoria (Winslow et al. 2007).

Figura 1 – Principali strutture cerebrali coinvolte nella dipendenza.



Negli ultimi 30 anni abbiamo potuto assistere a notevoli progressi in merito alla conoscenza delle strutture e del funzionamento del cervello: è stato chiarito come il suo funzionamento dipenda – in sintesi – da segnali chimici che attraversano le cellule nervose (neuroni) nella forma di neurotrasmettitori che, una volta rilasciati dalla membrana del neurone presinaptico, si legano ai recettori ubicati sulla membrana del neurone postsinaptico, innescando caratteristici processi elettrochimici alla base delle nostre abilità cognitive e comportamentali (Kandel et al. 2000, 2005, Bear et al. 2006, Bottini et al. 2007).

Le neuroscienze hanno fatto luce sia sulle modalità di lavoro delle diverse regioni cerebrali e su come esse cooperino a livello di sistema per produrre cognizione e comportamento sia sui meccanismi d'azione delle droghe a livello molecolare e su come queste agiscano sul sistema nervoso alterando il normale equilibrio dei neurotrasmettitori o "mimando" l'azione di questi ultimi sui medesimi recettori bersaglio, con conseguenze specifiche anche a livello della fisiologia interna dei neuroni (Robbins et al. 2007).

Le principali scoperte sono state fatte lungo due direttrici (Halligan et al. 2007):



1. l'identificazione e la comprensione del funzionamento delle principali componenti del cd. "sistema della gratificazione" o del "rinforzo" con studi su modelli animali;
2. la comprensione – attraverso lo sviluppo della ricerca nel campo delle neuroscienze cognitive – del processamento dell'informazione da parte della corteccia cerebrale umana.

Una convergenza di queste aree di indagine ci dà la possibilità di comprendere sempre meglio i processi che stanno alla base degli effetti delle sostanze psicoattive sugli esseri umani, anche per quanto attiene ai risvolti del contesto sociale. Ad esempio l'area di ricerca emergente della cd. neuroeconomia si propone di studiare le basi cognitive del processo decisionale razionale all'interno di una teoria economica (Robbins et al. 2007). Allo stesso modo l'applicazione di alcuni aspetti della teoria neurale delle decisioni umane ci consente di comprendere meglio le ragioni del comportamento delle persone dipendenti da sostanze.

La nostra comprensione di come le sostanze psicoattive agiscano sulle funzioni cerebrali include una crescente chiarificazione dei loro effetti a lungo termine sia a livello neurale che comportamentale (Thomas et al. 2003). La maggiore o minore vulnerabilità all'uso e alla dipendenza da sostanze sembra avere radice nelle differenze individuali fra le persone, che dipendono tanto da fattori genetici quanto da fattori ambientali, particolarmente importanti nel periodo della maturazione cerebrale (età evolutiva).

Il futuro impatto positivo delle neuroscienze in termini di maggiore conoscenza del fenomeno per la messa a punto di programmi di prevenzione e di cura sempre più efficaci dipenderà da quanto e in che modo questa "disciplina di confine" riuscirà a mettere insieme le competenze specialistiche delle discipline più tradizionali quali le scienze cognitive, la neuropsicologia, la neurobiologia, la genomica, ma anche delle discipline più prettamente orientate allo studio del contesto sociale.

In pratica, stiamo per assistere a una rivoluzione concettuale storica: sebbene alcuni ancora considerino la dipendenza una questione esclusivamente morale o sociale, la crescente evidenza scientifica ci suggerisce invece di considerarla una **malattia del cervello**, cronica ma curabile, conseguente all'assunzione ripetuta di alcol e droghe (Volkow et al. 2003).

In questo contributo passeremo in rassegna la recente letteratura in materia di neuroscienze delle dipendenze, evidenziando gli aspetti – a nostro giudizio – più significativi dei risultati della ricerca internazionale.

Le scoperte fondamentali sul funzionamento del cervello

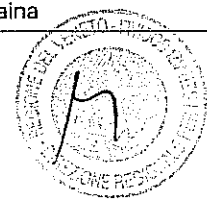
La comunicazione all'interno del cervello avviene principalmente attraverso il rilascio di neurotrasmettitori. Alcuni agenti fra cui droghe, sostanze alimentari, stimolazione magnetica ad esempio, influiscono sulla neurotrasmissione. Le sostanze psicoattive agiscono sui sistemi chimici del cervello. Questi sistemi chimici modulano il nostro comportamento ma, allo stesso tempo, vengono a loro volta modificati dal comportamento stesso, cosicché diverse tipologie di comportamento, dall'alimentazione compulsiva al gioco d'azzardo, all'apprendimento, alla meditazione per esempio possono influenzare il funzionamento dei sistemi chimici del nostro cervello (Halligan et al. 2007).

I neurotrasmettitori

Negli ultimi 50 anni l'elenco dei neurotrasmettitori chimici conosciuti si è esteso da 2 a più di 60 (Cooper et al. 2002, Feldman et al. 1997). I neurotrasmettitori includono aminoacidi, monoamine e peptidi, strutturalmente più complessi. La scoperta di nuovi neurotrasmettitori è andata di pari passo con la "mappatura" dei neuroni che li contengono, all'interno del cervello.

BOX 1 – Neurotrasmettitori e dipendenza

Neurotrasmettitori	Distribuzione nel SNC	Funzioni modulate	Droghe interferenti
Dopamina	Mesencefalo, area tegmentale ventrale (VTA), corteccia cerebrale, ipotalamo	Piacere, gratificazione, movimento, attenzione, memoria	Cocaina, metamfetamina, amfetamina NB: nella dipendenza virtualmente tutte le droghe inducono direttamente o indirettamente un aumento della dopamina nei cd. "circuiti della gratificazione"
Serotonina	Mesencefalo, VTA, corteccia cerebrale, ipotalamo	Umore, sonno, desiderio sessuale, appetito	MDMA (ecstasy), LSD, cocaina





Noradrenalina	Mesencefalo, VTA, corteccia cerebrale, ipotalamo	Processo sensoriale, movimento, sonno, umore, memoria, ansia	Cocaina, metamfetamina, amfetamina
Oppioidi endogeni (endorfine, encefaline)	Ampiamente distribuiti nel cervello (le regioni variano per tipo di recettori), midollo spinale	Analgesia, sedazione, funzioni corporee, umore	Eroina, morfina, antidolorifici
Acetilcolina	Ippocampo, corteccia cerebrale, talamo, gangli basali, cervelletto	Memoria, arousal, attenzione, umore	Nicotina
Cannabinoidi endogeni (anandamide)	Corteccia cerebrale, ippocampo, talamo, gangli basali	Movimento, cognizione, memoria	Marijuana
Glutammato	Ampiamente distribuito nel cervello	Attività neuronale (incremento), cognizione, apprendimento, memoria	Ketamina, fenciclidina, alcol
Acido gamma-aminobutirrico (GABA)	Ampiamente distribuito nel cervello	Attività neuronale (decremento), ansia, memoria, anestesia	Sedativi, tranquillanti, alcol

Sinottico adattato da Sherman et al. 2007

Queste sostanze non sono distribuite omogeneamente nel sistema nervoso centrale (SNC), ma sono contenute all'interno di tratti e gruppi di cellule specifiche che sono organizzate in architetture complesse a formare sistemi cerebrali distinguibili ma interconnessi. Inoltre, a livello sinaptico, queste sostanze interagiscono come ligandi con complesse molecole di proteine ubicate sulle membrane neuronali chiamati recettori, ai quali si legano e trasmettono i propri segnali (Kandel et al. 2000, 2005, Bear et al. 2006).

Ci sono spesso diversi sottotipi di recettore per ciascun tipo di neurotrasmettitore, ampiamente distribuiti nel cervello, generalmente ma non sempre corrispondenti alla mappatura dei sistemi neurotrasmettitoriali. Una ulteriore complessità è data dalle variazioni nelle subunità proteiche che producono i recettori. I diversi effetti funzionali di sostanze quali la nicotina o le benzodiazepine ad esempio possono essere attribuite in parte a differenti sottotipi di recettori operanti preferenzialmente in diverse regioni del cervello. In passato, la scoperta di sostanze psicoattive ha spesso anticipato la scoperta di ligandi naturali endogeni (es. le endorfine e le encefaline nel caso degli oppiacei), così come dei recettori ai quali essi si legano (Cooper et al. 2002).

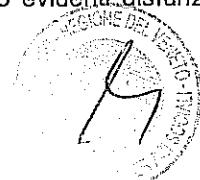
Le azioni biofisiche dei neurotrasmettitori su recettori specifici va da effetti elettrochimici veloci a livello dei canali ionici di membrana, alla più lenta segnalazione cellulare fra recettori associati a cascate biochimiche (secondi messaggeri) e alla trascrizione genica (Kandel et al. 2000, 2005, Bear et al. 2006).

I "network" neuronali

I neurotrasmettitori chimici influenzano il funzionamento di densi e altamente organizzati set di connessioni, convenzionalmente chiamati "network neuronali", in due modi: agendo sulla segnalazione rapida all'interno del network in maniera eccitatoria o inibitoria; attraverso più lente e più estese modulazioni fra i nodi del network. Ciascun neurone è soggetto a diverse influenze da sistemi neurotrasmettitoriali distinti. Diversi disturbi neurologici e neuropsichiatrici hanno alla base patologie di natura chimica per le quali negli anni sono state messe a punto strategie di compensazione farmacologica (ma non solo) dei sistemi deficitari: parliamo ad es. di Parkinson, Alzheimer, disturbi dell'umore, depressione, schizofrenia, sindrome di Korsakoff alcolica, ictus (Cools et al. 2001, Solanto et al. 2001, Citron et al. 2002, Levin et al. 2002, Lawrence et al. 2003, Walter et al. 2004).

Neuroni e apprendimento: il "potenziamento a lungo termine"

Uno degli sviluppi più promettenti della ricerca sperimentale nel campo delle neuroscienze è oggi rappresentato da un modello neuronale di apprendimento chiamato "potenziamento a lungo termine" (PLT): il PLT può avere luogo in forme differenti in diverse regioni del cervello, ma è stato studiato principalmente nell'ippocampo; il PLT dipende dal neurotrasmettitore aminoacidico glutammato, che agisce sui sottotipi recettoriali AMPA e NMDA (Thomas et al. 2003). Sono stati sviluppati numerosi agenti che hanno capacità di influire sulla trasmissione glutamatergica, i quali hanno mostrato in laboratorio di avere positivi effetti sull'apprendimento sia su modelli animali sia sull'uomo: alcuni di questi sono attualmente in fase di trial clinici preliminari (Lynch et al. 2002). Alcuni antagonisti dei recettori NMDA per il glutammato, quali la ketamina, hanno mostrato di possedere un altissimo potenziale di dipendenza (Tully et al. 2003). Il fenomeno degli effetti benefici in soggetti normali che non presentano evidenti disfunzioni





cerebrali non è ristretto alle sostanze che agiscono sui recettori del glutammato: effetti positivi sono stati riscontrati infatti anche con molecole che agiscono sui sistemi colinergici, noradrenergici, serotonergici e dopaminergici (Arnsten et al. 2002, Mignot et al. 2002, Mattay et al. 2003, Turner et al. 2004).

Alcuni di questi sistemi sono stati studiati per il ruolo fondamentale che rivestono nello sviluppo della dipendenza. Il bisogno di assumere sostanze capaci di potenziare l'attivazione del sistema di rinforzo dopaminergico (cd. della gratificazione) può spiegare perché alcune persone usano cocaina e altri stimolanti psicomotori che agiscono principalmente su questo sistema. L'euforia indotta da cocaina e droghe similari può dipendere dai bassi livelli iniziali di recettori DAD2 striatali, come ben visualizzato con tomografia a emissione di positroni (PET), corrispondente a bassi livelli basali di umore. Lo stesso accade in persone affette da dipendenze comportamentali quali il gioco d'azzardo patologico (Volkow et al. 1999, Reuter et al. 2005).

Il framework di riferimento psicologico viene confermato dalle neuroscienze

L'azione motivata e i "rinforzi"

L'azione motivata può essere esaminata studiando il condizionamento sperimentale, processo nel quale gli animali alterano il loro comportamento quando vi è corrispondenza contingente fra comportamento e rinforzo (Thorndike 1911). L'apprendimento su rinforzo, che al suo livello più semplice è la capacità di apprendere un'azione sulla base di significativi rinforzi quali gratificazioni o punizioni, è stato studiato per lunghi anni (Thorndike et al. 1905, Grindley et al. 1932, Guthrie et al. 1935, Skinner et al. 1938, Hull et al. 1943, Minsky et al. 1961, Haykin et al. 1999, Russel et al. 1995).

Gli eventi che rafforzano risposte precedenti sono considerati rinforzi positivi, mentre eventi la cui rimozione rafforza risposte precedenti sono considerati rinforzi negativi (Skinner 1953). Comunque, per spiegare e non solo descrivere il comportamento, devono essere considerati i processi interni quali la motivazione: infatti stati motivazionali centrali quali ad esempio la fame e la sete influiscono fortemente sulla variabilità comportamentale (Eerwin et al. 1979, Toates 1986, Ferguson 2000).

La moderna neuropsicologia riconosce che sono diversi i processi che contribuiscono a un singolo atto quale quello di premere una leva per ricevere cibo o droga (vedi esperimenti di laboratorio su modelli animali). Dai ratti agli umani le azioni dirette a uno scopo sono basate sulla conoscenza della relazione fra una azione e le sue prevedibili conseguenze e del valore attribuito a queste ultime: in altre parole, si agisce in funzione del valore per noi delle conseguenze dell'azione. I fattori in gioco ovviamente sono di ordine cerebrale e ambientale. Così come vi è più di un sistema di valori, vi è più di una strada all'azione e non tutte le azioni sono dirette a uno scopo (Colwill 1990, Rescorla 1990a, 1990b, Dickinson A. 1994, Dickinson R.M. 1994)

Le abitudini

Con il tempo e con l'apprendimento le azioni possono diventare abituali, cioè elicetabili da associazioni dirette fra stimolo e risposta (S-R). Le abitudini sono meno flessibili del comportamento diretto a uno scopo perché le rappresentazioni che le caratterizzano non contengono informazioni su quali saranno le conseguenze finali dell'azione e non possono essere prontamente modificate in caso di cambiamento della desiderabilità di una particolare conseguenza. Allo stesso tempo le abitudini risultano molto importanti nella vita quotidiana perché consentono in contesti familiari di ridurre il carico cognitivo richiesto dai comportamenti diretti a uno scopo, con liberazione di risorse utili ad altri processi mentali e comportamentali (Adams 1982, Garcia 1989, Balleine 1991).

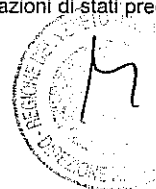
Gli stimoli che predicono una gratificazione possono diventare stimoli condizionati (SC) se associati con la gratificazione (che rappresenta lo stimolo incondizionato, SI) attraverso un processo di apprendimento associativo pavloviano: gli stimoli condizionati pavloviani possono influenzare direttamente il comportamento strumentale (pavlovian instrumental transfer, PIT) e servire come obiettivi del comportamento, cioè come rinforzo condizionato (Estes 1948, Lovicond 1983, Cardinal et al. 2002).

Le principali teorie psicologiche della dipendenza

In questo contesto, le diverse teorie (complementari) della dipendenza da alcol e droghe possono essere così riassunte:

1. **Effetti positivi (1) delle droghe, "automedicazione" impropria, tolleranza:** le sostanze vengono assunte per i loro effetti positivi quali ad es. l'euforia indotta e l'espansione del campo di esperienza (Wikler 1965, Wikler 1973); le sostanze vengono anche utilizzate quale automedicazione impropria per modificare ad es. l'umore o la performance sociale (Uhlenhut et al. 1981, Khantzian 1985, de Witt et al. 1986, Weis et

1 - Il termine "positivo" viene utilizzato non in senso valoriale ma per indicare aggiunte "produttive" e/o modificazioni di stati precedenti.





- al. 1986, Castaneda et al. 1994, Altman et al. 1996, Mitchell et al. 1996, Markou et al. 1998, Newhouse et al. 2004); la tolleranza è un fenomeno fisiologico che spinge la persona ad assumere sempre maggiore quantità di droga per ottenere lo stesso effetto, dovuto alla riduzione della biodisponibilità (tolleranza metabolica), alla riduzione della capacità di risposta dei recettori e dei processi fisiologici intracellulari (tolleranza farmacodinamica) o a un meccanismo di tipo compensatorio (tolleranza comportamentale). La tolleranza in genere si sviluppa con l'uso ripetuto delle sostanze ma per alcune sostanze, la cocaina in particolare, tale effetto si può sviluppare anche con una unica assunzione e ciò spiegherebbe le cd. "abbuffate" di cocaina (Fischman 1989). La tolleranza farmacodinamica si riscontra in generale in tutte le tipologie di droghe: oppiacei, cocaina, etanolo, amfetamine, nicotina, ecc. Una componente fondamentale della dipendenza è proprio lo sviluppo di tolleranza, comportamentale e neuroanatomica (Solomon et al. 1974, Siegel 1975, Siegel 1976, Krasnegor 1978, Dafters et al. 1982, Siegel et al. 1982, Koob et al. 1989, Epping Jordan et al. 1998, Weiss et al. 1992, Maisonneuve et al. 1994, Siegel 1999).
2. **Condizionamento e sensibilizzazione:** stimoli condizionati associati agli aspetti piacevoli dell'assunzione (ambienti, persone, stati di umore) possono agire quali promotori della stessa, inducendo craving e ricadute nelle persone dipendenti; la sensibilizzazione, che rappresenta l'inverso della tolleranza, si verifica quando l'uso ripetuto di una droga porta a un potenziamento dei suoi effetti: è legata a condizionamenti ambientali e cambiamenti farmacodinamici nell'organismo (Siegel et al. 1988, Post et al. 1988, Pettit et al. 1990, Kalivas et al. 1998, Tiffany et al. 1990, Gawin et al. 1991, Robinson et al. 1993, Kenny et al. 2003).
 3. **Astinenza e astinenza condizionata:** molte droghe, in particolare oppiacei e alcol, portano a potenti sindromi astinenziali, in un circolo vizioso che spinge ad assumere ancora droga per alleviare i sintomi dell'astinenza; in questo fenomeno hanno un ruolo chiave sia i processi fisiologici sia i processi di apprendimento: così come la fame incrementa l'impatto edonico del cibo, che insegna all'animale che il comportamento a maggiore valore in tale condizione è quello della ricerca del cibo, allo stesso modo i ratti di laboratorio imparano che l'eroina ha un valore elevato nello stato astinenziale; in pratica, durante l'astinenza l'apprendimento opererebbe per la droga alla stregua di un rinforzo naturale. In particolare la cocaina, dopo l'assunzione, induce spiacevoli effetti sul tono dell'umore che spingono a nuove assunzioni (Golberg et al. 1967, Solomon et al. 1974, O'Brien et al. 1975, O'Brien et al. 1977, Solomon et al. 1980a, Solomon et al. 1980b, Bozart et al. 1984, Koob et al. 1988, Bechara et al. 1998, Berridge et al. 1991, Markou et al. 1991, Cabanac et al. 1992, Knackstedt et al. 2002, Koob et al. 2004).
 4. **Apprendimento di abitudini:** le droghe possono attivare i sistemi di apprendimento di abitudini cosicché le azioni che portano all'assunzione vengono direttamente rinforzate creando potenti abitudini S-R; una caratteristica delle risposte abituali è che queste persistono anche in caso di riduzione del valore del rinforzo, tanto da risultare compulsive quando si verificano a livelli esageratamente alti, indipendenti dal valore dell'obiettivo. Nel caso della cocaina ad es., sebbene la ricerca della sostanza possa considerarsi azione diretta a un obiettivo, spesso la risposta a questa droga può divenire più abituale delle risposte ai rinforzi naturali (APA 1994, O'Brien et al. 1996, Tiffany et al. 1998, Robbins et al. 1999, Evrutt et al. 2001, Olmsted et al. 2001, Dickinson et al. 2002, Evrutt et al. 2002, Miles et al. 2003, Vanderschuren et al. 2004).

Alla luce di questo framework di riferimento, in una prospettiva comportamentale, le persone dipendenti da alcol e sostanze "soppeserebbero" costi e benefici dell'assunzione, mostrando processi decisionali disfunzionali quali ad es. la preferenza per obiettivi di breve periodo rispetto a obiettivi di lungo periodo e inconsistenza di scelta: in questo frangente giocherebbe un ruolo importante tanto la loro maggiore predisposizione per obiettivi a breve termine rispetto alle altre persone (vulnerabilità comportamentale) quanto i cambiamenti deficitari indotti nei loro processi decisionali da parte delle sostanze (Becker et al. 1988, Koob et al. 1998, Leshner et al. 1997, Ainslie et al. 2001).

Nessuno dei livelli esplicativi a cui si è fatto cenno risulta adeguato se considerato di per sé, ma tutti insieme (e in convergenza con i risultati delle altre discipline che andremo a considerare) possono contribuire a fare luce su una patologia particolarmente complessa qual è la dipendenza da alcol e droghe.

Le basi neurali delle dipendenze

Come le strutture neurali rispondono a eventi piacevoli e avversi

Progressi considerevoli sono stati fatti nello stabilire alcuni dei meccanismi con i quali le strutture neurali rispondono a eventi piacevoli e avversi. Queste strutture possono essere comparate direttamente con i processi fisiologici che influiscono sulle risposte alla gratificazione studiando modelli animali e l'uomo. Numerose strutture limbiche, corticali e sottocorticali del cervello sono risultate avere un ruolo chiave nella valutazione del valore dei rinforzi e degli stimoli che li prospettano e nelle azioni dirette a ottenerli (Cardinal et al. 2002).

La rilevanza di queste strutture limbiche, corticali e sottocorticali del cervello nella dipendenza è stata presa in considerazione in molti studi: le più accreditate teorie della dipendenza postulano un "cortocircuito" o "dirottamento"

dei meccanismi neurali alla base della gratificazione e della motivazione da parte delle sostanze che entrano nell'organismo (Tiffany et al. 1990, Grace et al. 1995, White et al. 1996, Phillips et al. 2003).

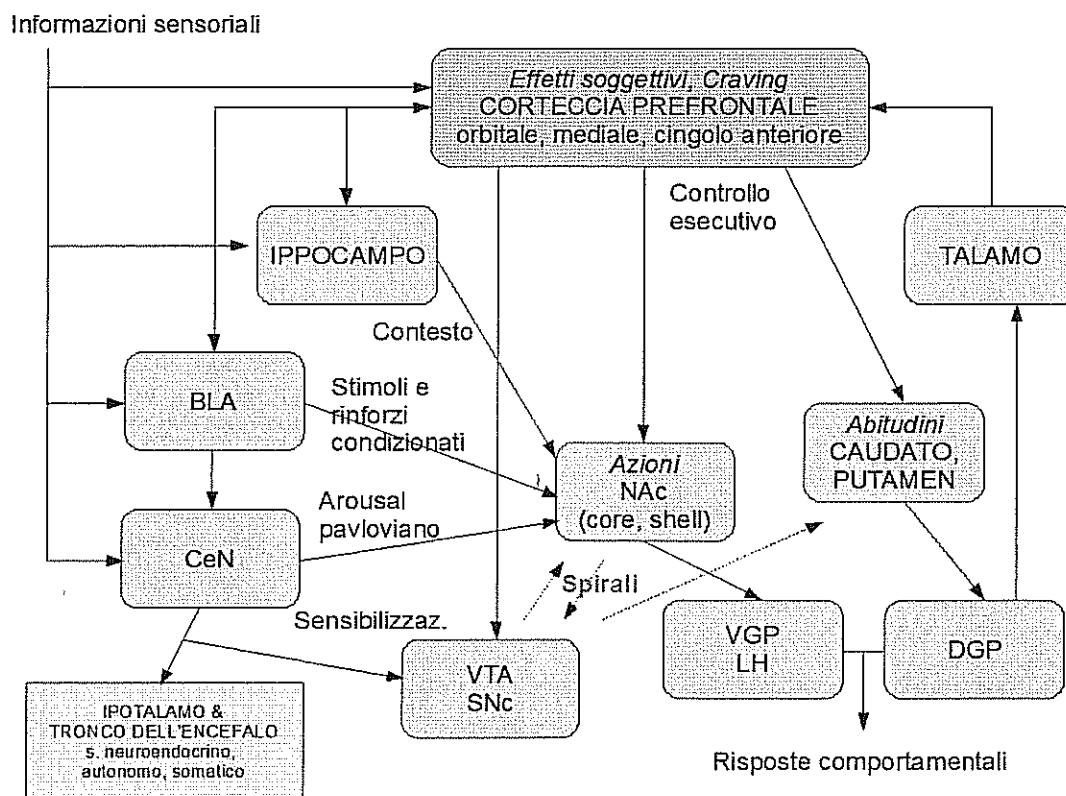
Le strutture e le funzioni coinvolte nella dipendenza

Una rappresentazione schematica dei sistemi cerebrali che localizza le strutture e le funzioni coinvolte nello sviluppo della dipendenza è mostrato in *Figura 2* (Robbins et al. 2007).

Vi possiamo distinguere:

1. **stimoli condizionati** associati alla droga: amigdala basolaterale e formazione ippocampale con un ruolo dell'amigdala basolaterale nella mediazione del rinforzo condizionato e dell'amigdala centrale nell'arousal condizionato (pavlovian arousal);
2. **azioni dirette a uno scopo** (associazione azioni – risultati): presuppongono l'interazione della corteccia prefrontale con altre strutture, quali il nucleo accumbens;
3. **abitudini** (apprendimento S-R): striato dorsale; sia il punto 2 che il punto 3 comportano interazioni modulate da dopamina fra le proiezioni corticali e lo striato;
4. **controllo esecutivo**: aree corticali prefrontali;
5. **craving** e processi soggettivi: attivano corteccia orbitale e giro del cingolo anteriore, ma anche strutture dei lobi temporali fra cui l'amigdala (dimostrato da studi fMRI);
6. **comportamento**: deflusso striatopallidale ventrale e dorsale attraverso il tronco dell'encefalo e il circuito a *loop* talamocorticale;
7. **spirali**: serie di interazioni a spirale fra striato e e neuroni dopaminergici mesencefalici organizzati in progressione ventrale-dorsale;
8. **sensibilizzazione**: potenziamento di risposte alla droga e risposte condizionate quale conseguenza esposizione precoce alle sostanze, alla base delle teorie della dipendenza e della ricaduta.

Figura 2 – Sistemi cerebrali implicati nello sviluppo della dipendenza Abbreviazioni: BLA: amigdala basolaterale; CeN: nucleo centrale dell'amigdala; VTA: area tegmentale ventrale; SNC: substantia nigra pars compacta; DGP: globo pallido dorsale; NAc: nucleo accumbens; VGP: globo pallido ventrale (²)



2 Adattato da Robbins et al. (University of Cambridge), Halligan et al. (Cardiff University), *Neuroscience and Drugs of Addiction*, Foresight Brain Science Addiction and Drugs project, UK 2007.



La scoperta che ratti, in determinate condizioni sperimentali, si prodigavano per stimolare elettricamente determinate regioni del proprio cervello (auto-stimolazione intracranica, ICSS) è risultata di portata storica (Olds et al. 1954). Molti siti di stimolazione erano localizzati nelle **vie dopaminergiche** che comprendono la **substantia nigra pars compacta (SNc)**, l'**area tegmentale ventrale (VTA)**, le **regioni limbiche** quali il **nucleo accumbens (NAc)** dello **striato ventrale** e la stimolazione veniva ridotta significativamente dopo deplezione di alcune di queste strutture (Fibiger et al. 1987). La velocità con la quale i ratti apprendevano a rispondere all'ICSS è correlata con il grado di potenziamento sinaptico degli afferenti corticali sui neuroni dello striato, potenziamento che richiede recettori per la dopamina (Reynolds et al. 2001).

La scoperta che stimolazioni profonde del cervello e la stimolazione magnetica transcranica possono influire sulle abilità cognitive, gli affetti e le performance motorie negli umani è stato un altro passo importante della ricerca sull'alterazione delle funzioni umane. Ad esempio, la stimolazione profonda dei nuclei subtalami sembra avere effetto benefico in caso di Parkinson grave e può avere applicazione anche in caso di disturbo ossessivo compulsivo e depressione clinica (George et al. 2003).

Il ruolo della dopamina e dell'accumbens

Una prima intuizione sul fatto che gli aspetti piacevoli della gratificazione sarebbero mediati dall'accumbens dopaminergico ha forti prove sperimentali (Wise 1981, 1982, 1985). La dopamina viene rilasciata in risposta a rinforzi appetibili (Fiorino et al. 1993, Wilson et al. 1995, Schultz et al. 1997, 1998a, 1998b, 2000, Berridge et al. 1998, Ito et al. 2000, Datla et al. 2002, Carrel et al. 2004, Young et al. 2004).

Gli agonisti della dopamina all'interno dell'accumbens contribuiscono al rinforzo (Phillips et al. 1994), gli animali possono modellare la propria assunzione di droga per mantenere alti i livelli di dopamina nell'accumbens (Pettit et al. 1989), alcuni aspetti delle risposte naturalmente rinforzate e/o rinforzate con la droga hanno la loro radice nell'accumbens (Pettit et al. 1984, Caine et al. 1994, Baker et al. 1998, Ikemoto et al. 1999, Dickinson et al. 2000, Parkinson et al. 2002, Salamone et al. 2002, 2003).

Comunque la dopamina dell'accumbens non medierebbe il "piacere" sebbene il suo rilascio correli con l'attivazione di altri sistemi che lo fanno (Ettnerberg et al. 1982, Fibiger et al. 1988, Robbins et al. 1992). Misurata con tecniche di microdialisi la dopamina verrebbe rilasciata anche in risposta a stimoli avversi, stimoli condizionati che li anticipano e altri stimoli salienti, cosa che farebbe supporre un suo ruolo più generale nell'ambito della motivazione (Salamone 1994, Horvitz et al. 2000).

La dopamina sarebbe coinvolta anche nell'apprendimento di questo approccio di risposta, molto probabilmente sotto il controllo del nucleo centrale dell'amigdala (Parkinson et al. 2000, Hall et al. 2001, Cardinal et al. 2002). La valutazione edonistica delle gratificazioni di per sé (*liking*), invece, non dipenderebbe dai processi dopaminergici ma da meccanismi oppioidi che hanno luogo nel guscio dell'accumbens (NAcSh) e da altri sistemi nel pallido e nel tronco dell'encefalo (Pecina et al. 1997, Berridge 2000, Kelley et al. 2002, Pecina et al. 2003).

Altri agonisti oppioidi nell'accumbens influenzano la preferenza alimentare, aumentando l'assunzione di cibi altamente gradevoli al palato quali grassi, dolci, sale ed etanolo, mentre l'ingestione cronica di cioccolato indurrebbe adattamenti all'interno del sistema oppioide dell'accumbens (Zhang et al. 2000, Kelley et al. 2002, 2003, Zhang et al. 2002, Will et al. 2003). La nozione che il piacere sarebbe mediato dai recettori di soli nuclei sottocorticali risulta eccessivamente riduttiva: l'attività in questi circuiti è probabilmente soggetta a ulteriori processi che avvengono a livello corticale (prefrontale in particolare). La nozione che la dopamina ha un ruolo chiave nell'apprendimento di connessioni S-R trova fondato sostegno. Essa modula la trasmissione corticostriatale con effetti anche di lungo periodo. La combinazione di attività presinaptica e postsinaptica normalmente induce depressioni di lungo termine delle sinapsi corticostriatali ma se lo stesso pattern di attività è appaiato con impulsi di dopamina, le sinapsi attive vengono rinforzate (Reynolds et al. 2002). I rinforzi naturali, le droghe e gli stimoli condizionati inducono incrementi nel rilascio di dopamina nell'accumbens (Datla et al. 2002, Ito et al. 2002, Carelli et al. 2004, Young et al. 2004).

I neuroni dopaminergici scaricano in risposta a gratificazioni inaspettate o stimoli inattesi che anticipano gratificazioni (Schultz et al. 2000). Questi neuroni possono essere un segnale che avvia un processo di apprendimento (*teaching signal*) in merito alle azioni che portano a gratificazioni. Allo stesso modo, l'accumbens risponde a gratificazioni anticipate (Knutson et al. 2001, de la Fuente et al. 2002, Reynolds et al. 2002, Cromwell et al. 2003, Elliott et al. 2003, Bjork et al. 2004, Zink et al. 2004, McClure et al. 2008).

I target dei neuroni dopaminergici influenzano il comportamento strumentale. Le strutture che imparano da questi teaching signals probabilmente includono lo striato dorsale e la corteccia prefrontale (PFC). Il blocco dei recettori NMDA per il glutammato all'interno dell'accumbens hanno mostrato di ritardare l'apprendimento strumentale per il cibo. Il blocco contemporaneo dei recettori NMDA e DAD1 nell'accumbens non consente apprendimento. Dopo l'apprendimento della risposta, il blocco dei recettori NMDA nell'accumbens non danneggia la performance (Kelley et al. 1997, Smith-Roe et al. 2000, Baldwin et al. 2002).





E' altresì chiaro che l'accumbens non ha un ruolo soltanto nel condizionamento strumentale semplice ma supporta la motivazione comportamentale, specialmente quando innescato da stimoli condizionati pavloviani o quando i rinforzi vengono posticipati o richiedono particolare sforzo per essere ottenuti. L'accumbens inoltre non avrebbe un ruolo essenziale nelle azioni dirette a uno scopo ma sembra essere fondamentale per alcuni aspetti motivazionali in risposta a gratificazioni in situazioni di vita reale. Le basi neurali del rinforzo condizionato sono state studiate con una procedura di "acquisizione di una nuova risposta" in quei soggetti che agivano solo per uno stimolo condizionato precedentemente associato a rinforzi naturali quali cibo o acqua. Questi studi dimostrano l'importanza dell'amigdala vasolaterale e del core dell'accumbens nella abilità di risposta normale ai rinforzi condizionati (Cador et al. 1989, Burns et al. 1994, Everitt et al. 2000).

In un contesto naturale le gratificazioni sono spesso disponibili solo dopo un certo lasso di tempo, richiedono sforzo considerevole per essere ottenute e sono segnalate da stimoli ambientali. In queste situazioni l'accumbens ha un ruolo chiave nei diversi processi che richiedono motivazione, come dimostrato anche da studi di neuroimmagine funzionale negli umani (Knutson et al. 1999, Corbit et al. 2001, Baldwin et al. 2002, de Borchgrave et al. 2002, Hernandez et al. 2002, Fiorillo et al. 2003, Schultz et al. 2004, Cardinal et al. 2005).

Il ruolo della corteccia prefrontale

La corteccia prefrontale (PFC), in particolare la PFC prelimbica, è necessaria ai ratti per rappresentare le relazioni tra le azioni e le loro conseguenze. L'acquisizione di risposte strumentali viene interrotta dal blocco dei recettori NMDA e DAD1 nella PFC (Balleine et al. 1998, Baldwin et al. 2002, Corbit et al. 2003). Le neuroscienze cognitive hanno dimostrato che la PFC è importante nei processi di volontà. La PFC è anche implicata nella estinzione della risposta quando uno stimolo condizionato o una risposta non viene più accoppiata al rinforzo. Bisogna tenere presente che estinzione non significa disapprendimento ma nuovo apprendimento di associazioni inibitorie (Mackintosh et al. 1974, Delamater et al. 2004). Lesioni della corteccia prefrontale mediale ventrale interferiscono con l'estinzione del freezing condizionato pavloviano nel ratto; la PFC interagisce con l'amigdala, un importante sito di associazione stimoli condizionati – stimoli incondizionati in questo compito e può sopprimere il freezing condizionato quando risulta non più appropriato (Garcia et al. 1999, Davis et al. 2000, LeDoux et al. 2000, Quirk et al. 2003, Rosenkranz et al. 2003).

Questi processi motivazionali e di apprendimento risultano particolarmente significativi in alcune dipendenze e la loro modificazione potrebbe avere un potenziale terapeutico. L'esistenza di sistemi cerebrali paralleli dissociabili che mediano il controllo associativo nella dipendenza si sposa con la classica dicotomia comportamentale fra apprendimento pavloviano e apprendimento strumentale.

I processi paralleli multipli

Numerose autorevoli teorie sulla dipendenza hanno postulato l'esistenza di processi paralleli multipli, ognuno con la sua propria base neurale, al contempo modulare e interattiva (Phillips et al. 2003). I sistemi dopaminergici vengono influenzati da tutti i tipi di droga (stimolanti, oppioidi, alcol, nicotina, ecc.) così come dai rinforzi naturali quali il cibo. Infatti, sia il cibo che le droghe incrementano i livelli di dopamina dell'accumbens ma la risposta della dopamina alle droghe provoca un processo di abitudine diverso rispetto a quello del cibo. La somministrazione di psicostimolanti direttamente nell'area tegmentale ventrale (VTA) produce sensibilizzazione, ipersensibilità alla dopamina nell'accumbens e potenziamento della risposta a stimoli condizionati associati alla gratificazione (Harmer et al. 1999, Taylor et al. 1999). In modelli animali di comportamento di ricerca della droga controllati da stimoli associati alla sostanza, lesioni all'interno dell'accumbens o una interruzione della sua neurotrasmissione glutammatergica riduce la ricerca di droga, probabilmente attraverso la riduzione dell'impatto motivazionale degli stimoli condizionati (Di Ciano et al. 2001, Hutcheson et al. 2001).

I recettori DAD3 sono particolarmente presenti nell'accumbens e nell'amigdala: in modelli animali è stato dimostrato che antagonisti e agonisti parziali dei recettori D3 riducono la ricerca di cocaina controllata da stimolo o la ricaduta (Pilla et al. 1999, Vorel et al. 2002, Cervo et al. 2003, Di Ciano et al. 2003).

Sensibilizzazione e rinforzi condizionati

Non è ancora perfettamente chiaro in che modo la sensibilizzazione contribuisca alla dipendenza umana ma è stato proposto che una risposta sensibilizzata a stimoli associati alla droga contribuisce al *craving* (Sax et al. 2001). Nei modelli animali la sensibilizzazione alla droga potenzia le risposte al cibo e a stimoli condizionati per il cibo, mentre nella dipendenza umana la risposta a rinforzi non legati alla droga diminuisce rispetto al rinforzo per la droga che invece aumenta (APA 2000, Olausson et al. 2003, Vezina et al. 2004). La nota capacità degli stimolanti di potenziare rinforzi condizionati dipende dall'integrità dell'innervazione dopaminergica dell'accumbens, specialmente del suo guscio (Taylor et al. 1984). Questo potrebbe spiegare perché le sostanze stimolanti risultino esse stesse un rinforzo. Allo stesso tempo, queste rinforzano gli effetti degli stimoli ambientali. L'importanza dei rinforzi condizionati è che questi consentono la mediazione e il mantenimento di lunghe "catene" comportamentali, inclusa la ricerca di droghe. L'autosomministrazione di nicotina in animali è difficile da acquisire in assenza di





rinforzi condizionati, pertanto questi ultimi potrebbero essere parte di un potente complesso di stimoli, oltre alla droga, nel mantenimento dell'uso della stessa. Analogamente, un rinforzo mantenuto da stimoli condizionati precedentemente accoppiati all'assunzione di alcol può essere persistente e la capacità di mantenere la risposta è indipendente dalla droga. Ciò ci induce a ritenere che questa modalità di ricerca di droga rappresenti un'abitudine. L'impatto del rinforzo condizionato sulla ricerca di droga è persistente e relativamente difficile da estinguere, può mantenere la risposta indipendentemente dalla droga con cui era accoppiato: ciò suggerisce che dipende da un sistema neurale separato da quello che media gli effetti della droga (Kruzich et al. 2001, Caggiola et al. 2002, Shshan et al. 2002, Deroche-Gamonet et al. 2002, 2003, Di Ciano et al. 2003, Semenova et al. 2003, Di Ciano et al. 2004, Parkinson et al. 2005).

In modelli sperimentali di comportamenti dipendenti in cui rinforzi condizionati associati alla droga supportano e mantengono periodi prolungati di comportamenti di ricerca, l'integrità funzionale del sistema neurale che comprende l'amigdala basolaterale (BLA) e l'accumbens (NAcC) è estremamente importante. Lesioni in BLA o in NAcC ma non del guscio dell'accumbens (NAcSh) compromette fortemente l'acquisizione del comportamento di ricerca della cocaina (Ito et al. 2004). In questi meccanismi vi è anche specificità neurochimica: il blocco dei recettori DA ma non quello dei recettori AMPA in BLA riduce la ricerca di cocaina controllata da stimoli. Accade il contrario in NAcC dove il blocco dei recettori AMPA ma non DA produce lo stesso effetto. Questi dati dimostrano che BLA e NAcC funzionano in modalità seriale come componenti di un sistema neurale che media queste influenze condizionate nella ricerca di droga (Di Ciano et al. 2004).

Il ruolo del sistema limbico

In studi di neuroimmagine funzionale su soggetti dipendenti da droghe è stata rilevata una forte attivazione dell'amigdala conseguente all'esposizione a stimoli associati a cocaina, eroina, cibo e sesso in una modalità correlata al *craving* (Grant et al. 1996). Altre regioni comunemente attivate da stimoli associati alla droga includono la corteccia cingolata anteriore, la corteccia orbitofrontale e, occasionalmente, l'accumbens. Questi dati dimostrano che sia negli animali che negli umani il circuito limbico striatopallidale corticale ventrale è associato ad apprendimento emozionale e processi collegati a *craving*, dipendenza e ricaduta (Sell et al. 1999, Garavan et al. 2000). Lo sviluppo di abitudini S-R può dipendere dalla plasticità striatale dorsale che può dipendere dai recettori dopaminergici. L'equilibrio tra abitudini e comportamento diretto a un obiettivo può anche essere regolato dalla corteccia prefrontale e infralimbica, suddivisioni mostrate nella PFC del ratto. Recenti dati di neuroimmagine funzionale sull'uomo confermano l'ipotesi che lo striato ventrale e dorsale sono coinvolti in modo differente nell'apprendimento pavloviano e strumentale (Killcross et al. 2003, O'Doherty et al. 2004). Il rilascio di dopamina nello striato dorsale in risposta a stimoli condizionati è un correlato di una consolidata ricerca di cocaina. Al contrario, tale rilascio di dopamina non è stato rilevato nella regione interna dell'accumbens. Dati elettrofisiologici mostrano che si osserva il rilascio di dopamina in tali aree quando lo stimolo condizionato viene presentato in un contesto inatteso. Studi sulla autosomministrazione cronica di cocaina condotti su primati mostrano un progressivo coinvolgimento dei domini striatoli limbico, associativo, sensomotorio, con cambiamenti autoradiografici evidenti prima nello striato ventrale, poi nello striato dorsale. Questi dati sostengono il concetto che può esserci una fase di apprendimento S-R o azione-risposta che precede l'apprendimento dell'abitudine. Queste fasi possono essere mediate rispettivamente dallo striato dorsale e ventrale, attraverso una "cascata" di connettività neurale che collega questi diversi loop corticostriatoli. In questo contesto, la dipendenza da droga è concepita come uno switch tra queste modalità di apprendimento, operante nel circuito corticostriatale, dal dominio striatale ventrale a quello striatale dorsale (Haber et al. 2000, Ito et al. 2000, Nader et al. 2002, Porrino et al. 2004).

Le "ricadute": cosa dicono le neuroscienze

Una caratteristica della dipendenza è la elevata probabilità di ricaduta nell'uso della sostanza, anche dopo un periodo più o meno lungo di astinenza, cioè di non assunzione volontaria o meno della droga.

Il modello animale della ricaduta: "extinction – reinstatement"

Il modello animale della ricaduta utilizza la procedura cd. di estinzione – ripresa dell'uso (extinction – reinstatement). La procedura classica prevede l'istruzione del ratto a premere una leva per autosomministrarsi della droga e poi di estinguere l'azione strumentale di pressione della leva con l'eliminazione della somministrazione della sostanza (Shaham et al. 2003). Successivamente all'estinzione (extinction) tre fattori possono precipitare la ricaduta nei soggetti dipendenti e ripristinare la ricerca di droga (reinstatement):

1. esposizione a stimoli associati alla droga;
2. somministrazione sperimentale della stessa sostanza;
3. stress; solitamente una scossa elettrica somministrata alle zampe dell'animale.

Dal punto di vista neurobiologico, questi modi di indurre ricaduta secondo il modello extinction – reinstatement sembra dipendere dal circuito striatopallidale corticoventrale. Sono stati condotti studi con cocaina, eroina, nicotina e altre sostanze (O'Brien et al. 1992, Shaham et al. 2003).



Il ripristino indotto da stimoli può essere prevenuto dall'inattivazione reversibile permanente dell'amigdala basolaterale (BLA) e della corteccia prefrontale dorsomediale. Anche l'inattivazione della corteccia orbitofrontale (OFC) attenua il ripristino di ricerca di droga indotto da stimolo. L'iniezione sistematica di antagonisti dei recettori D1 e D3 per la dopamina blocca il reinstatement, così come possono fare infusioni di antagonisti dei recettori D1 e D3 nell'amigdala basolaterale ma non nell'accumbens. Anche se l'inattivazione dell'accumbens non attenua il reinstatement indotto da stimolo, questa struttura risulta importante per il rinforzo condizionato e in altre influenze pavloviane sul comportamento strumentale, mentre il blocco dei recettori AMPA sembra attenuare la ricerca di cocaina (Shaham et al. 2003). I sistemi limbici striatopallidali corticoventrali risultano implicati nel controllo condizionato della ricerca di droga e nel reinstatement post-estinzione. Mentre la BLA media il ripristino di ricerca di droga successivamente all'esposizione a stimoli associati alla cocaina, l'ippocampo può essere alla base dell'impatto motivazionale di stimoli contestuali. La stimolazione tetanica dell'ippocampo induce un reinstatement della ricerca di cocaina precedentemente estinta in una modalità dipendente dalla trasmissione di glutammato nella VTA. Questa modalità di stimolazione potrebbe mimare il processo attraverso il quale ha luogo il reinstatement quando gli animali vengono piazzati in un contesto associato con l'assunzione di droga, più che in risposta a stimoli di cocaina. L'inattivazione ippocampale dorsale attenua il reinstatement indotto dal contesto, così come accade nel caso di inattivazione della mPFC dorsale. Dunque l'amigdala avrebbe un ruolo nel condizionamento legato alla sostanza mentre la formazione ippocampica sarebbe coinvolta nel condizionamento legato agli stimoli contestuali. (Ciccocioppo et al. 2001, See et al. 2001, Vorel et al. 2001, Kalivas et al. 2003a, 2003b, Fuchs et al. 2004, 2005). Studi elettrofisiologici e neurochimici in vivo hanno dimostrato che le proiezioni ippocampali, dell'amigdala e della PFC interagiscono nell'accumbens tramite modulazione dopaminergica mesolimbica e che, a loro volta, possono modulare il rilascio di dopamina. Perciò i meccanismi dell'ippocampo, dell'amigdala e della PFC possono influenzare la ricerca di droga attraverso le loro proiezioni convergenti all'accumbens, forse in competizione per l'accesso alle strategie di risposta sostenute da differenti loop cortico-striato-pallido-talamo corticali. Il vigore del reinstatement della ricerca di cocaina aumenta con la durata dell'astinenza: ciò ci induce a ritenere che i neuroadattamenti conseguenti all'autosomministrazione cronica di questa sostanza e l'astinenza interagiscono con la motivazione a ricercare la cocaina quando stimoli legati alla sostanza sono presenti nell'ambiente (Blaha et al. 1987, Pennert et al. 2000, Floresco et al. 2001).

L'effetto "incubazione"

Queste evidenze ci consentono di fare luce sui possibili meccanismi alla base della persistenza o della cd. "incubazione" della ricerca di cocaina che colpisce nel tempo dipendenti da cocaina astinenti. I meccanismi che stanno alla base di questo effetto di incubazione dipenderebbero dalla sovraregolazione delle vie di segnalazione della chinasi extracellulare regolata da segnale all'interno del nucleo centrale dell'amigdala (CeA) (Grimm et al. 2001, McFarland et al. 2001, Lu et al. 2005). Perciò l'esposizione a stimoli associati alla cocaina incrementano la ricerca della sostanza e la fosforilazione della chinasi regolata da segnale (ERK) nel CeA ma non nella BLA, dopo diversi giorni di astinenza, cosicché l'effetto incubazione risulta correlato alla sovraregolazione della ERK nel CeA. L'inibizione della fosforilazione della ERK in CeA, ma non in BLA, dopo 30 giorni di astinenza riduce fortemente la ricerca di cocaina, laddove la stimolazione della stessa fosforilazione della ERK in CeA ma non in BLA aumenta la ricerca di cocaina dopo un giorno di astinenza. Perciò i meccanismi che mediano la ricaduta indotta da stimolo legato alla droga e il suo potenziamento durante una astinenza prolungata sembrano dipendere da due meccanismi dissociabili, nella BLA e nel CeA rispettivamente. In studi neuroanatomici è stato dimostrato che il reinstatement indotto da droga può essere bloccato dall'inattivazione della VTA, della mPFC dorsale, del NAcC e del pallido ventrale, chiamato da alcuni ricercatori "subcircuito motorio". Inoltre gli antagonisti dei recettori dopaminergici infusi nella mPFC e nel NacSh attenuano il reinstatement indotto da droga. Antagonisti dei recettori AMPA ma non degli NMDA nell'accumbens bloccano il reinstatement indotto da cocaina e, di contro, agonisti dei recettori AMPA infusi nell'accumbens riattivano la ricerca di cocaina (reinstatement) (Cornish et al. 2000, De Vries 2001).

L'effetto "stress"

Il reinstatement può essere indotto da eventi stressanti (stressor), quali ad esempio, in situazioni sperimentali, scosse elettriche alle zampe, deprivazione alimentare, somministrazione nel sistema nervoso centrale del fattore di rilascio della corticotropina (CRF). L'inattivazione della mPFC dorsale previene il reinstatement conseguente a scosse elettriche alle zampe: questa area della PFC è generalmente coinvolta nel reinstatement indotto da stimoli, droga e stress (McFarland et al. 2004). Alcuni circuiti in particolare sembrano essere critici per l'effetto stress, quali il CeA, il nucleo della stria terminale (BNST) e il tegmento bulbare noradrenergico che innerva queste strutture (Shaham et al. 2000, Highfield et al. 2000). Vi è consenso unanime nel ritenere che lo stress attiva i neuroni noradrenergici del bulbo e porta all'attivazione del sistema CRF all'interno del BNST e possibilmente del CeA. Come questo meccanismo sottocorticale neuroendocrino si interfaccia con la mPFC non è ancora chiarito, così come questo influenzi il circuito striatopallidale corticoventrale. La principale ragione che spinge a studiare la





neurobiologia della ricaduta è la possibilità di mettere a punto in futuro trattamenti sempre più efficaci nel promuovere l'astinenza (Robbins et al. 2007).

Neuroadattamenti, "cascate" intracellulari, plasticità strutturale

Le "cascate" del circuito limbico corticostriatale

La somministrazione cronica di droghe risulta nell'induzione di "cascate" intracellulari all'interno del circuito limbico corticostriatale. Anche se droghe differenti agiscono su target recettoriali diversi sulla membrana cellulare, generalmente i loro effetti convergono su comuni vie di segnalazione. L'interazione fra la droga e il suo target induce l'apertura di canali ionici legando dipendenti oppure attiva recettori associati alla proteina G, in ogni caso dando luogo a cascate intracellulari (Koob et al. 1997). Una azione comune delle droghe è l'attivazione del fattore di trascrizione CREB e di componenti delle vie di segnalazione cAMP, quali adenilil ciclastasi (AC) e PKA (De Cesare et al. 2000, Rubino et al. 2000).

La CREB, che regola la trascrizione dei geni i cui promotori contengano l'elemento CRE, sembra essere un sito di convergenza di cascate intracellulari quando attivato dalla fosforilazione alla serina 133 da diverse protein chinasi. Perciò alterazioni delle vie di trasmissione a CREB e cAMP possono rappresentare neuroadattamenti comuni indotti dai diversi tipi di droghe (Shaw-Lutchman et al. 2000).

Oppiacei e cannabinoidi inibiscono fortemente le vie AC e cAMP, producendo diminuzioni di CREB fosforilata. Al contrario, la somministrazione acuta di etanolo e di stimolanti aumenta l'attività della via di segnalazione cAMP. In ogni caso, all'acuta risposta intracellulare alle droghe si verifica sovraregolazione cronica delle vie di segnalazione cAMP accompagnata da tolleranza. Il passaggio da una acuta inibizione a una sovraregolazione cronica delle vie cAMP con ripetuta somministrazione di oppioidi non è ancora del tutto compreso, sebbene sia chiaro che esso comprenda adattamenti nelle proprietà della proteina G conseguenti alla sua ripetuta stimolazione e cambiamenti neuroadattativi della protein chinasi. Sono stati identificati solo alcuni target che mediano gli effetti funzionali della sovraregolazione di cAMP e CREB (Yang et al. 1996, Liu et al. 2001, Pliakas et al. 2001).

Fra le proteine i cui livelli vengono incrementati da somministrazione cronica di droga in una modalità simile a quella della CREB vi sono la adenilil ciclastasi (AC), la tirosin idrossilasi (TH), l'enzima di regolazione della sintesi di dopamina (DA) e il peptide oppioide dinorfina. La dinorfina stimola i recettori k-oppioidi con conseguente inibizione del rilascio di DA; gli effetti della sovraregolazione della CREB sulla gratificazione per la droga vengono bloccati dagli antagonisti dei k-oppioidi. Studi post-mortem su pazienti cocainomani mostrano aumentati livelli di dinorfina nell'mRNA dello striato. La tolleranza può dunque essere in parte spiegata da neuroadattamenti nella segnalazione cAMP risultanti in una sovraregolazione della dinorfina (Lane-Ladd et al. 1997, Watts et al. 2002, Chao et al. 2002).

Il ruolo dell'area tegmentale ventrale

Ripetute somministrazioni di droghe portano a una sensibilizzazione, più che a una tolleranza, di alcuni effetti comportamentali e gratificatori delle droghe. L'area tegmentale ventrale (VTA) ha un ruolo chiave nell'inizio della sensibilizzazione comportamentale e adattamenti di lungo periodo nell'accumbens correlano con l'espressione della sensibilizzazione. Incrementi transitori delle subunità GluR1 dei recettori per il glutammato nella VTA risultano importanti per l'innescare del processo di sensibilizzazione. Il risultante persistente aumento della segnalazione a base di calcio e dell'attivazione della chinasi stimolata da calmodulina (CaM chinasi) detiene anch'essa un ruolo importante nella sensibilizzazione. La CaM-chinasi II stimola le vie di segnalazione della chinasi MAP (mitogen-activated protein), anch'essa coinvolta nella sensibilizzazione. La sensibilizzazione può anche essere mediata da una iporegolazione indotta da droga della famiglia di geni Homer (Vanderschuren et al. 2000, Thomas et al. 2000, Carlezon et al. 2002, Licata et al. 2003, Champiaux et al. 2004).

CREB, BDNF, delta-FosB: che cosa sono, cosa ci fanno nel cervello, cosa c'entrano con la dipendenza

Un neuroadattamento che ha interessato molti ricercatori è quello della sovraregolazione dell'antigene delta-FosB: i livelli di delta-FosB risultano aumentati nell'accumbens fino a 4 settimane dopo l'assunzione di droga, così come in caso di ripetuta assunzione. E' stato infatti dimostrato che la sovraespressione di delta-Fos nell'accumbens sensibilizza risposte comportamentali e gratificatorie a cocaina e morfina, mentre la sua riduzione inibisce le risposte alla cocaina: nell'animale è stato dimostrato che l'assenza di fosB (fosB knockout mice) non consente lo sviluppo di sensibilizzazione comportamentale (Chen et al. 2000, Keltz et al. 2000, Bibb et al. 2001, Nestler et al. 2001, Ghasemzadeh et al. 2003, Stock et al. 2003).

Topi carenti di CREB mostrano ridotta dipendenza da oppiacei: questo significa che le segnalazioni a base cAMP risultano importanti per lo sviluppo di tolleranza e dipendenza. La ricerca futura si focalizzerà sullo studio del downstream della CREB (Walters et al. 2001, Newton et al. 2002, Nestler et al. 2004, Valverde et al. 2004). Neuroadattamenti implicati nella ricaduta includono l'espressione di AGS3 (un attivatore della proteina G) – il cui blocco previene appunto ricadute nella ricerca di cocaina – e un abbassamento dei livelli extracellulari di



glutammato (attraverso la riduzione dello scambio cistina – glutammato), il riequilibrio dei quali previene anch'esso la ricaduta (Shalev et al. 2001, Baker et al. 2003, Bowers et al. 2004). Con brevi periodi di astinenza si osservano aumenti transitori dell'attività della tirosin idrossilasi e dei livelli delle proteine cdk5 in VTA e aumenti persistenti dell'attività della PKA nell'accumbens. Ricadute indotte da stimoli legati alla droga mostrano un incremento progressivo tempo relato durante l'astinenza, in un processo di incubazione di comportamenti di ricerca di droga indotti da stimoli legati a cocaina, metamfetamina, eroina ecc. I cambiamenti a livello molecolare che correlano con questo "effetto incubazione" possono rivelarsi importanti per comprendere meglio la ricaduta nella ricerca di droga indotta da stimoli legati alle sostanze (Grimm et al. 2002, Shepard et al. 2004).

Inoltre l'infusione del fattore neurotrofico BDNF in VTA induce ricerca di cocaina oltre e al di sopra del processo di incubazione illustrato poc'anzi, cioè potenzierebbe e renderebbe persistente l'incubazione più che consentirne l'inizio. E' noto il ruolo del BDNF nel potenziamento a lungo termine (LPT) che ha luogo nell'ippocampo, nell'apprendimento e nella memoria (Lu et al. 1997). Vi è una similitudine fra i meccanismi molecolari della dipendenza da droga, dell'apprendimento e della memoria, in particolare per quanto riguarda la CREB. Inoltre la droga induce cambiamenti nella VTA e nell'accumbens che ricordano i modelli cellulari di potenziamento a lungo termine (LPT) e depressione a lungo termine (LTD). Un fattore importante che accomuna i processi della dipendenza e quelli dell'apprendimento e della memoria è la loro "longevità". Però, anche se i neuroadattamenti molecolari descritti risultano di lungo periodo, non sono permanenti e non sembrano influire sulla compulsione e sulle ricadute dopo lunghi periodi di astinenza dall'uso di sostanze (Thomas et al. 2003).

Plasticità morfostrutturale e dipendenza

E' sempre più condivisa nella comunità scientifica l'ipotesi che i cambiamenti morfologici che si verificano a livello delle strutture sinaptiche siano gli unici processi attraverso i quali la plasticità alla base della dipendenza, dell'apprendimento e della memoria possa portare a una quasi permanenza dei cambiamenti stessi (Nestler et al. 2002, Robbins et al. 2007). Il BDNF è necessario per la crescita dei neuroni e il rimodellamento sinaptico associato con l'apprendimento e la memoria e il suo ruolo nell'incubazione e nella sensibilizzazione suggerisce che la plasticità morfologica può avere un ruolo chiave nello sviluppo della dipendenza da droga (Tyler et al. 2002, Grimm et al. 2003, Lu et al. 2003, 2004). Molti geni sono implicati nella plasticità sinaptica e recentemente il ruolo del cdk5 nella plasticità permanente legata alla dipendenza ha destato grande attenzione nel mondo della ricerca. La cdk5, regolata da delta-FosB (fatto che getta un ponte fra gli adattamenti molecolari di lungo periodo e la plasticità permanente), media la proliferazione delle spine dendritiche dello striato in risposta all'assunzione cronica di cocaina: questi cambiamenti strutturali coinvolgono probabilmente i neurofilamenti, elementi architetturali del citoscheletro dei neuroni. Studi post-mortem su roditori e su umani dipendenti da oppioidi mostrano iperfosforilazione delle proteine dei neurofilamenti (Ferrer-Alcon et al. 2000, Crombag et al. 2000, Norrholm et al. 2003, Chao et al. 2004). I meccanismi alla base dei neuroadattamenti della morfologia sinaptica sarà uno dei temi principali della ricerca dei prossimi anni sulla plasticità di lungo periodo che media la dipendenza.

La riduzione della neurogenesi conseguente all'assunzione di droghe

La morfologia sinaptica può anche essere alterata dalla produzione di nuovi neuroni: è sempre più evidente che la neurogenesi gioca un ruolo importante nel neuroadattamento indotto da droghe. Alcuni recenti studi hanno dimostrato che l'esposizione cronica a droghe riduce la neurogenesi nell'ippocampo, analogamente a quanto avviene nella patologia depressiva. Al contrario, l'apprendimento e la memoria sono associati a un incremento della neurogenesi ippocampale. Uno degli effetti degli antidepressivi è proprio l'incremento della neurogenesi nell'ippocampo e la crescita neuronale. Riassumendo: il BDNF è associato con incubazione, ricaduta, sensibilizzazione e plasticità permanente; inoltre i neuroadattamenti avvengono anche all'interno del circuito limbico corticostriatale (Crews et al. 2003, Norrholm et al. 2003, Castren et al. 2004, Chao et al. 2004, Eisch et al. 2004, Hughes et al. 2004, Szerman et al. 2005).

Possiamo (o potremo un domani) "manipolare" le memorie associate alla droga?

Una interessante prospettiva di ricerca è la possibile manipolazione delle memorie associate alla droga. Studi sul condizionamento alla paura hanno dimostrato che memorie precedentemente apprese di associazioni fra stimoli e risultati avversi possono essere annullate (Prybylski et al. 1999, Nader et al. 2000, Eisenberg et al. 2003, Walker et al. 2003). Questo indebolimento del riconsolidamento della traccia mnestica è stato anche osservato in diversi altri paradigmi nel contesto dell'apprendimento, anche su soggetti umani, e potrebbe essere esteso alla dipendenza. Stimoli ambientali associati alla droga elicitano forte craving e aumentano le probabilità di ricaduta in soggetti astinenti. La riduzione dell'impatto di questi stimoli attraverso l'annullamento del riconsolidamento della loro associazione con le droghe sarà una sfida importante nella ricerca futura. E' stato dimostrato che le associazioni fra stimoli e droghe hanno gli stessi substrati neuroanatomici delle associazioni che operano nel caso ad esempio del condizionamento alla paura di cui si è fatto cenno e che un incremento di Zif268 nell'amigdala è fortemente correlato con il riconsolidamento di entrambi i tipi di associazione. Inoltre sembra che i meccanismi



molecolari alla base del consolidamento della traccia mnestica e del suo riconsolidamento siano doppiamente dissociabili, almeno nell'ippocampo. In ambito clinico potrebbe dunque essere possibile in futuro intervenire sul riconsolidamento delle tracce mnestiche maladattive precedentemente apprese che risultano importanti nella dipendenza da droga (Bozon et al. 2003, Thomas et al. 2003, Lee et al. 2004, Suzuki et al. 2004, Wang et al. 2005).

La dipendenza in fase avanzata

Non solo dopamina: il ruolo della corteccia orbitofrontale e dell'amigdala nella "patologia della motivazione e della scelta"

Una recente rassegna di studi curata da Nora Volkow e Peter Kalivas gli Autori sottolineano che se da una parte la dopamina è di cruciale importanza per la gratificazione acuta e l'iniziazione alla tossicodipendenza, la dipendenza in fase avanzata è principalmente mediata da adattamenti cellulari nel giro del cingolo anteriore e nelle proiezioni glutamatergiche orbitofrontali al nucleo accumbens e può ben dirsi una "patologia della motivazione e della scelta" (Volkow & Kalivas 2005).

La plasticità patofisiologica nella trasmissione eccitatoria riduce la capacità della corteccia prefrontale di dare il via a comportamenti in risposta a gratificazioni biologiche e a fornire controllo esecutivo sulla ricerca della sostanza. Contemporaneamente la corteccia prefrontale risulta iper-reattiva rispetto allo stimolo della sostanza, che si traduce in un impulso glutamatergico sovralfisiologico nel nucleo accumbens, in cui le sinapsi eccitatorie riducono la propria capacità di regolare la neurotrasmissione. Gli adattamenti cellulari nell'innervazione glutamatergica prefrontale dell'accumbens favoriscono il carattere compulsivo di ricerca della sostanza nei soggetti dipendenti, diminuendo il valore delle gratificazioni naturali, diminuendo il controllo cognitivo (la "scelta") e incrementando l'impulso glutamatergico nella risposta allo stimolo associato alla sostanza (Volkow & Kalivas 2005). Anche l'amigdala avrebbe un ruolo di primaria importanza in questo processo patologico: essa infatti ha un ruolo chiave nello stabilire le associazioni apprese tra eventi rilevanti dal punto di vista motivazionale e stimoli altrimenti neutri che diventano predittivi dell'evento (Everitt et al. 2003). Le interazioni tra il nucleo dell'amigdala basolaterale e quello centrale coinvolgono le associazioni autonome ed endocrine attraverso vie di proiezione dal nuclei centrali al tronco encefalico, l'ipotalamo e i neuroni dopaminergici dell'area tegmentale ventrale (Georges et al. 2001, McFarland et al. 2004).

Al contrario le proiezioni glutamatergiche dall'amigdala basolaterale alla corteccia prefrontale e all'accumbens sono necessarie affinché le associazioni apprese influenzino risposte comportamentali più complesse (Cardinal et al. 2002, McFarland et al. 2003). L'integrazione funzionale tra amigdala e corteccia prefrontale è stata dimostrata in numerosi studi di neuroimmagine, in cui soggetti sani sono stati esposti a stimoli associati a eventi rilevanti dal punto di vista motivazionale quali cibo, sesso, socialità (Garavan et al. 2000, Morris et al. 2001, Rilling et al. 2002).

Vulnerabilità all'uso di droghe e alla dipendenza

Daremo solo qualche cenno al tema della vulnerabilità individuale all'uso e alla dipendenza da alcol e sostanze, rimandando per approfondimenti il lettore alla recente monografia di Serpelloni et al. *Vulnerabilità all'addiction* ⁽³⁾, che tratta in maniera estesa l'argomento sia dal punto di vista neuroscientifico e neurobiologico sia secondo la modellizzazione psicologica cognitiva e comportamentale, con un approccio che risulta di utilità non solo a chi si occupa di ricerca ma anche a chi è quotidianamente impegnato nella pratica clinica.

Differenze individuali degli effetti soggettivi e di rinforzo delle droghe

Le grandi differenze degli effetti soggettivi e di rinforzo delle droghe a livello individuale sono stati ampiamente documentati in numerosi studi. Differenze individuali in risposte condizionate e incondizionate alla droga sono state dimostrate in studi su animali: la reattività comportamentale individuale del ratto a situazioni stressanti (es. esposizione a nuovi ambienti) è risultata predittiva dell'autosomministrazione endovenosa di droghe (IVSA). Lo stesso è stato dimostrato per la differente reattività alla novità: animali con livelli di reattività sopra la media del campione di studio (high-responder, HR) mostravano una maggiore predisposizione per l'assunzione IVSA di psicostimolanti, rispetto a quelli con reattività sotto la media (low-responder, LR) (Piazza et al. 1990, 1991, 1998, 2000).

Recenti scoperte con l'utilizzo di tecniche di neuroimmagine hanno fornito interessanti informazioni in merito ai correlati neurali di queste differenze soggettive. In un recente studio si è osservato che l'intensità dell'euforia (high) percepita dopo somministrazione di uno psicostimolante era correlata significativamente con i livelli di dopamina rilasciata: i soggetti con i livelli più alti riportavano uno stato più intenso di euforia. Inoltre la magnitudo di diminuzione della disponibilità dei recettori D2 per la dopamina risultava significativamente associato con gli effetti



di rinforzo dello psicostimolante. Il rilascio di dopamina in risposta a d-amfetamina correla con tratti di personalità cd. *novelty seeking*. A sostegno di questi risultati scimmie rhesus con storia di intensiva autosomministrazione di cocaina mostrano significativi decrementi in termini di densità dei recettori D2 nello striato rispetto a controlli rinforzati con cibo. Questi dati suggeriscono che preesistenti differenze individuali nel tasso di rilascio di dopamina e/o di distribuzione dei recettori D2 possa giocare un ruolo chiave nella predisposizione del soggetto all'uso e allo sviluppo di dipendenza, anche se la natura esatta di queste differenze è ancora oggetto di studio. (Volkow et al. 1999, Marinelli et al. 2000, Leyton et al. 2002, Abi-Dargham et al. 2003, Chefer et al. 2003, Fergusson et al. 2003, Hools et al. 2004, Kalinikov et al. 2004).

Differenze individuali a livello di strutture e funzioni cerebrali

Le differenze osservate tra HR e LR sembrano essere mediate da differenze presenti nelle strutture e nelle funzioni neurali dopaminergiche. Queste differenze comportamentali e neurochimiche correlano con differenze nell'attività dell'asse ipotalamo-pituitario-adrenalinico (HPA), sistema che si attiva in presenza di situazioni stressanti. Gli animali HR mostrano alti livelli di secrezione di corticosterone in situazione di novità rispetto agli LR: l'autosomministrazione di cocaina risulta correlata positivamente ai livelli di corticosterone dopo due ore di esposizione a stress (Kosten et al. 2000, Kane et al. 2004).

Il ruolo dei fattori ambientali e genetici

Anche i fattori ambientali hanno un ruolo fondamentale nello sviluppo di differenze individuali in termini di maggiore o minore vulnerabilità. Esperienze infantili traumatiche (es. abuso, mancanza di cure materne, isolamento sociale, deprivazione sensoriale) correlano con maggiore vulnerabilità all'uso e alla dipendenza da alcol e droghe. C'è consenso nel ritenere che gli stressor ambientali influenzano non poco i sistemi neurali alla base dell'espressione delle risposte endocrine e comportamentali a stress e gratificazioni. Lo stesso dicasi, in una prospettiva multifattoriale, della componente genetica, che si stima possa "spiegare" dal 40% al 60% della vulnerabilità alla dipendenza: i fattori genetici non sembrano necessariamente entrare in gioco nella vulnerabilità al primo uso ma di certo influenzano il successivo sviluppo della dipendenza (Green et al. 2002, Brake et al. 2004, Glatt et al. 2004).

Maturazione del cervello e sviluppo cognitivo

La "mappatura" del cervello che evolve

Solitamente le prime assunzioni di alcol e droghe avvengono in prossimità dell'età adolescenziale, momento in cui il cervello si trova ancora in fase di delicata maturazione e le abilità cognitive del giovane in pieno sviluppo. E' dunque importante comprendere meglio e con sempre maggiore dovizia di particolari come questa maturazione avvenga. Un quadro di riferimento strutturale e funzionale in merito alla maturazione del cervello dell'adolescente e del suo sviluppo cognitivo lo ha fornito Tomas Paus in una recente rassegna di studi (Paus et al. 2005). La "mappatura" non invasiva delle strutture e delle funzioni cerebrali con risonanza magnetica ha consentito interessanti opportunità di studio dei substrati neurali dello sviluppo cognitivo. Secondo Paus vi sarebbe sempre maggiore consenso in merito a un continuo aumento del volume della sostanza bianca durante l'adolescenza, sia a livello globale che locale, mentre sarebbe minore l'accordo sul significato della riduzione asincrona legata all'età del volume della sostanza grigia in differenti regioni corticali.

Le tecniche di neuroimmagine ci consentono di "vedere" come cambia il nostro cervello con l'età

Studi di risonanza magnetica funzionale si sono focalizzati principalmente sulle funzioni esecutive quali memoria di lavoro e inibizione comportamentale, dedicando minore attenzione a questioni relative alla maturazione della cognizione sociale. Innovazioni tecnologiche e concettuali hanno fortemente accresciuto la nostra capacità di correlare maturazioni strutturali e funzionali del cervello con il comportamento dell'adolescente. Dal punto di vista tecnologico la risonanza magnetica rappresenta la maggiore innovazione; ci consente di misurare in vivo differenze interindividuali delle strutture cerebrali e di rilevare l'attività nei distinti circuiti neurali dalla nascita all'età adulta. Il concetto di organizzazione modulare della corteccia cerebrale dei primati è il più proficuo riferimento per mappare la funzione sulla struttura: aree distinte della corteccia si specializzano nell'elaborazione di differenti tipi di informazioni e al tempo stesso le condividono attraverso specifici circuiti neurali. In questo contesto l'importanza della connettività neurale per la comunicazione tra regioni specializzate del cervello è sempre più riconosciuta.

Le innovazioni tecnologiche e concettuali sembrano andare dunque di pari passo. La mappatura del cervello fornisce la localizzazione accurata dei cambiamenti strutturali e funzionali della sostanza grigia nelle diverse regioni specializzate così come la valutazione dell'integrità strutturale e funzionale delle fibre di materia bianca che le collegano. Negli ultimi dieci anni gli studi di risonanza magnetica strutturale hanno fornito il primo quadro complessivo dei cambiamenti legati all'età nel volume della sostanza grigia e della sostanza bianca secondo il tipico sviluppo di bambini e adolescenti.





Alla ricerca della massima efficienza: la strutturazione delle vie di sostanza bianca e i “riassetti” della sostanza grigia

Un flusso di informazioni lineare attraverso il cervello dipende per la maggior parte dall'integrità strutturale e dalla maturazione delle vie di sostanza bianca. In passato questo poteva essere valutato soltanto post-mortem. Complessivamente le conseguenze funzionali degli aumenti di volume nella sostanza bianca appaiono evidenti: maggiore e più efficiente è lo scambio di informazioni all'interno dei vari circuiti fronto-corticali, tanto più risulta lineare la comunicazione tra corteccia frontale e le altre regioni corticali e subcorticali. Questa linearità di cambiamenti nella maturazione cerebrale osservata per la sostanza bianca non sembra invece valere nel caso della sostanza grigia: diversi ricercatori hanno riportato aumenti di volume della sostanza grigia nei lobi frontali e parietali con picchi all'età di 10 anni per le femmine e 12 anni per i maschi; successivamente a questi picchi avrebbe luogo una significativa diminuzione volumetrica di sostanza grigia in questi due lobi. Ma – si chiede Paus – si tratta veramente di una perdita di materia grigia o di un acquisto di materia bianca intracorticale? La mappatura funzionale del cervello consente di misurare – nel tempo e nello spazio – l'attività neurale associata alle specifiche funzioni sensoriali motorie e cognitive.

L'approccio più comune allo studio di questi fenomeni è l'utilizzo della risonanza magnetica funzionale (fMRI): la sua elevata risoluzione spaziale rende questa tecnica ideale per determinare dove e come avvengono cambiamenti dell'attività neurale nel cervello. I risultati delle ricerche condotte con risonanza magnetica strutturale (MRI) indicano una maturazione lievemente ritardata della corteccia prefrontale dorsolaterale. Indipendentemente dal fatto che tali cambiamenti legati all'età riflettono una perdita o un guadagno di tessuto, ci dovremmo aspettare variazioni concomitanti nella funzione cerebrale. Durante l'adolescenza la maturazione del cervello continua nei sistemi fronto-parietali e all'interno del solco temporale superiore (STS).

Strutture e funzioni alla base della cognizione sociale

Secondo Paus vi sarebbero interessanti differenze regionali che potrebbero riguardare i processi alla base della cognizione sociale: un aumento significativo della mielinizzazione, in tarda adolescenza, delle vie di trasmissione cortico-ippocampali e un incremento di densità della sostanza bianca lungo la via visiva occipito-temporale ventrale. L'STS contiene una serie di regioni coinvolte durante l'elaborazione di stimoli non verbali, quali quelle del movimento degli occhi e della bocca, delle mani, del corpo, ossia di regioni coinvolte nell'elaborazione motoria biologica: le interazioni a feedback fra STS e amigdala sarebbero essenziali per la discriminazione delle espressioni facciali e per l'aumento dell'attenzione e della risposta neurale agli stimoli salienti dal punto di vista sociale.

I cambiamenti corticali e sottocorticali in bambini sani e con patologie

Un altro ricercatore che si è occupato di maturazione del cervello è Arthur W. Toga, che ha pubblicato ancor più recentemente uno studio sulla sua mappatura esaminando i progressi degli studi di neuroimmagine focalizzandosi sui cambiamenti corticali e sottocorticali osservati nei bambini sani contrapposti ai cambiamenti anomali dello sviluppo (es. schizofrenia a esordio precoce, sindrome alcolica fetale, disturbo da deficit di attenzione e iperattività, sindrome di Williams): questi cambiamenti strutturali sono stati associati ai processi cellulari che li sottendono e ai cambiamenti cognitivi e comportamentali che avvengono durante l'infanzia e l'adolescenza. In generale, la corteccia e la materia grigia subcorticale si sviluppano durante la vita fetale in una sequenza orchestrata attentamente di proliferazione di cellule, migrazione e maturazione. Il cervello del neonato, che contiene circa 100 miliardi di neuroni, è soltanto il 25% - 33% del volume del cervello dell'adulto e continua a crescere e a specializzarsi con riferimento a un programma genetico che viene modificato e riadattato alle necessità in funzione degli input ambientali (Toga et al. 2006). Con adeguata stimolazione e al crescere dell'esperienza che il bambino fa del modo, i rami dendritici dei neuroni aumentano notevolmente, così come il numero delle connessioni sinaptiche. Quando strati lipidici avvolgono gli assoni (processo di mielinizzazione), la velocità di conduzione delle fibre che mettono in relazione le diverse aree cerebrali aumenta significativamente. A questa crescita precoce ed esuberante segue un processo di sfoltimento dendritico e sinaptico, che rende ancora più efficienti le connessioni neuronali, le quali peraltro saranno continuamente rimodellate durante l'intero ciclo di vita.

Differenze morfofunzionali fra adulti e bambini

Secondo Toga gli studi istologici hanno mostrato lo sviluppo del cervello come un processo dinamico di cambiamenti progressivi e regressivi, ma il loro punto di debolezza è quello di avere fornito soltanto evidenze molto frammentate, data la scarsità di dati post-mortem relativi all'infanzia e all'adolescenza: al contrario, gli attuali studi a risonanza magnetica possono documentare questi processi su larga scala, fornendo utili informazioni anche in esperimenti longitudinali.

I primi studi di neuroimmagine strutturale (MRI) su bambini normali hanno dimostrato che i giovani adulti hanno minore quantità di sostanza grigia corticale rispetto ai primi, nonostante il loro volume cerebrale complessivo risulti



maggiore: i tempi relativi alla perdita di materia grigia erano diversi nelle varie aree cerebrali, prima nel nucleo motorio profondo (durante la prima infanzia) poi nei lobi parietali e frontali (intorno alla pubertà). Alla fine degli anni 1990 alcuni gruppi di ricerca iniziarono a elaborare mappe tridimensionali delle strutture del cervello in via di sviluppo mostrando, per esempio, il modello di cambiamento medio, correlato all'età, dello spessore di materia grigia tra l'infanzia e l'età adulta. I primi studi cerebrali pediatrici cross-sezionali con MRI sui normali cambiamenti dello sviluppo hanno dimostrato che il volume della materia grigia si riduceva dopo i 6-7 anni di età e continuava a diminuire durante l'adolescenza, mentre il volume della materia bianca aumentava linearmente nel tempo. Le aree cerebrali che maturano per prime sono quelle deputate al processamento delle funzioni di base (sensi, movimento ecc.), seguite dalle aree coinvolte nell'orientamento spaziale e nel linguaggio; le aree che gestiscono funzioni più avanzate quali ad es. le funzioni integrative e le funzioni esecutive (corteccia prefrontale) maturano per ultime, durante la tarda adolescenza. Anche lo spessore della corteccia cerebrale (sostanza grigia) varia durante lo sviluppo: in un giovane normale la corteccia risulta più spessa nelle zone dorsali dei lobi frontali e parietali (intorno a 4-5mm), sottile nelle cortecce visive dei lobi occipitali che circondano la scissura calcarina (2.0-2.5 mm). Secondo Toga, comunque, non è possibile arrivare alla conclusione che cambiamenti cellulari siano coinvolti nei processi maturazionali dinamici descritti, perché è vero che la MRI misura i cambiamenti di volume e di densità delle strutture cerebrali ma non ha sufficiente risoluzione per una analisi dei meccanismi di questi cambiamenti a livello cellulare (es. rimodellamento dendritico, morte cellulare, sfoltimento sinaptico, mielinizzazione) e anche perché il volume della sostanza grigia e il suo spessore riflettono non solo i processi dendritici e sinaptici che si verificano nei neuroni ma anche la complessa architettura di neuroni, glia (cioè la mielina) e vascolarizzazione; nonostante questo limite, la MRI utilizzata in studi sia cross-sezionali che longitudinali fornisce a oggi dati preziosi sul cervello normale e patologico dell'uomo nel suo divenire.

La neuropsicologia delle dipendenze

La neuropsicologia: disciplina rigorosa che studia la relazione fra strutture cerebrali e funzioni cognitive

Un contributo decisivo alla chiarificazione delle relazioni fra strutture del cervello e funzioni cognitive è fornito alla conoscenza umana dalla neuropsicologia, disciplina che, attraverso rigorosi metodi sperimentali e sofisticate tecniche di indagine non invasive sull'animale e sull'uomo (elettrofisiologia, neuroimmagine, stimolazione magnetica transcranica), può aiutare la comunità scientifica a sempre meglio comprendere il ruolo delle diverse regioni corticali e sottocorticali, nonché dei loro processi metabolici e della loro plasticità (Bottini et al. 2007), anche nella dipendenza da sostanze, così come rendere ragione dei danni morfofunzionali da queste ultime arrecati al sistema nervoso centrale, con indubbe positive ricadute nell'ambito clinico e nel contesto della diagnosi precoce.

Il modello neuropsicologico delle dipendenze di Yucel

Sul finire dell'anno 2007 vede la luce una rassegna di studi di portata a dir poco epocale. E' la rassegna di Yucel e colleghi (Yucel et al. 2007), che analizza e discute i risultati di 20 anni di studi su vulnerabilità prepatologiche, comorbidità, neurosviluppo evolutivo al fine di fare il punto sullo stato dell'arte della letteratura che si è occupata delle conseguenze neuropsicologiche dell'uso a lungo termine di alcol, cannabis, inalanti, oppiacei, psicostimolanti ed ecstasy. Dunque neuropsicologia delle dipendenze. Secondo Yucel gli individui con storia di uso cronico di sostanze mostrano gravi deficit neuropsicologici a livello di controllo esecutivo (inibitorio), memoria e processi decisionali, oltre ad anomalie neurobiologiche che interessano in particolare i circuiti fronto-temporali e i gangli della base. Il comportamento patologico, i tratti di personalità e i disturbi mentali, comuni fra chi fa uso di droghe, sono associati a deficit neuropsicologici simili. Yucel propone dunque un modello neuropsicologico del comportamento dipendente in cui entrano in gioco interazioni complesse fra maturazione del cervello, capacità di comprensione, psicopatologia ed esposizione a sostanze. La dipendenza è caratterizzata da una evidente perdita di autonomia e di controllo sul proprio comportamento: l'uso di sostanze da parte di soggetti dipendenti nonostante un'apparente consapevolezza delle conseguenze negative a questo associate, esprime chiaramente i deficit del controllo inibitorio, della capacità di prendere decisioni e di regolare gli affetti. In linea con questa prospettiva, recenti studi di neuroimmagine hanno messo in chiara luce l'indebolimento che si verifica in particolare a livello delle reti corticali frontali.

Alcol. Gli studi inerenti i deficit neuropsicologici di forti bevitori cronici riguardano l'attenzione, la memoria a breve termine, le abilità visuospatiali, la stabilità posturale e le funzioni esecutive (problem-solving, flessibilità metale, capacità di giudizio, la memoria, processi decisionali); studi con risonanza magnetica strutturale (MRI) indicano una chiara associazione fra assunzione di alcol e danni neuronali strutturali, con perdite di volume più evidenti nel lobo frontale, nel lobo temporale e nel cervelletto; i risultati degli studi autoptici mostrano che gli alcolisti cronici hanno un cervello di dimensioni e peso inferiori rispetto a soggetti normali di pari età e sesso.





Cannabis. Recenti studi neuropsicologici ben controllati di consumatori di cannabis hanno dimostrato la presenza in questi di deficit di rendimento relativi all'attenzione, alla memoria e alle funzioni esecutive: la capacità di focalizzare l'attenzione e di filtrare le informazioni irrilevanti verrebbe progressivamente compromessa con l'uso di cannabis, mentre la velocità di elaborazione delle informazioni risulterebbe danneggiata dall'aumento della frequenza d'uso. Studi di neuroimaging di consumatori di cannabis dimostrano un ridotto rendimento per quanto riguarda l'attenzione, la memoria verbale, la memoria di lavoro, l'inibizione della risposta e i processi decisionali, con alterazioni del flusso ematico, dell'attivazione e della densità tissutale cerebrale principalmente nelle regioni corticale prefrontale, nel cingolo anteriore, nei gangli della base, nel cervelletto e nell'ippocampo.

Inalanti. Mentre gli effetti tossici dell'uso di inalanti sono ben documentati, la letteratura che esamina gli effetti neurobiologici e neuropsicologici dell'esposizione agli inalanti è ancora oggi limitata: si può comunque dire che i consumatori di inalanti mostrano deficit di coordinamento motorio, apprendimento, memoria, funzionamento esecutivo, intelligenza verbale e complessiva.

Oppiacei. Anche la ricerca sugli effetti neuropsicologici a lungo termine dell'uso di oppiacei è relativamente limitata, ma vi è consenso sul fatto che l'uso di eroina porti a deficit diffusi nei domini dell'attenzione, della memoria, della memoria di lavoro, della memoria di lavoro spaziale, delle funzioni esecutive, dell'apprendimento, del pensiero strategico ecc. E' stato dimostrato che i consumatori cronici di oppiacei presentano disturbi dell'attività corticale prefrontale: recenti studi di neuroimmagine mostrano infatti forti diminuzioni della sostanza grigia nella corteccia prefrontale, così come in quella temporale superiore, nell'insula e nel giro fusiforme; inoltre i consumatori di lungo periodo presentano solchi e ventricoli più ampi rispetto ai controlli, cosa che porta a pensare a una atrofia cerebrale dei lobi frontali e temporali.

Cocaina, amfetamine, ecstasy. Ancora pochi studi hanno analizzato gli effetti neuropsicologici degli stimolanti quali cocaina, amfetamine, metamfetamine, ma si profila chiaramente che i soggetti che ne fanno uso incorrono spesso in deficit dei processi decisionali che coinvolgono regioni della corteccia frontale (in particolare, corteccia prefrontale ventromediale), deficit di controllo inibitorio delle informazioni irrilevanti, riduzione della velocità di elaborazione cognitiva, mancanza di controllo strategico (esecutivo), deficit di apprendimento, di richiamo ritardato, di memoria di lavoro; gli assuntori di cocaina presentano inoltre gravi anomalie del flusso ematico cerebrale, unitamente a deficit del controllo esecutivo, della percezione visiva, della velocità psicomotoria, della destrezza manuale. Studi di neuroimmagine su assuntori di metamfetamine mostrano diverse anomalie cerebrali strutturali e funzionali, con alterazioni del metabolismo frontale, temporale e sottocorticale. L'esame delle funzioni cognitive di soggetti dipendenti da cocaina in astinenza da 6 settimane a oltre 6 mesi mostra una persistenza dei deficit cognitivi in un'ampia gamma di parametri funzionali, così come delle riduzioni volumetriche della regione prefrontale. L'uso di ecstasy e di MDMA provocherebbe disfunzioni dei livelli basali di serotonina nel cervello, deficit delle funzioni esecutive e dell'autocontrollo (diminuzione del controllo inibitorio, aumento dell'impulsività), difficoltà di codifica delle tracce mnestiche nella memoria a lungo termine, problemi di apprendimento, distraibilità, inefficienza generalizzata, ma anche profonda amnesia; studi di neuroimmagine funzionale (fMRI) hanno mostrato anomalie dell'attività fronto-temporale, parietale e sottocorticale.

Le variabili neuropsicologiche individuali della vulnerabilità alle droghe

Dopo questa carrellata neuropsicopatologica per tipologie di sostanze Yucel sottolinea fra le variabili individuali che predispongono a una maggiore vulnerabilità all'uso e alla dipendenza da alcol e sostanze i problemi comportamentali precoci, ad es. comportamenti aggressivi o impulsivi in età evolutiva: disturbi devianti, disturbi della condotta e deficit di attenzione sono fattori di rischio ben noti alla comunità scientifica e clinica, inoltre numerosi disturbi mentali (es. depressione, ansia, schizofrenia, disturbo bipolare, disturbo ossessivo-compulsivo) risultano associati a più alti livelli di uso di droghe e comorbilità. Secondo Yucel le difficoltà del controllo inibitorio e della regolazione degli affetti potrebbero essere componenti di uno "stile di personalità pre-patologico" piuttosto che il risultato di processi cognitivi-affettivi correlati allo stato. In questo contesto, ad esempio, i deficit della regolazione del comportamento in età preadolescenziale sarebbero predittivi di futuri disturbi da uso di sostanze. Infine Yucel ricorda che le regioni fronto-temporali, in particolare, vanno incontro a profondi cambiamenti dall'adolescenza all'età adulta, per cui l'esposizione a sostanze in questo lasso di tempo può comprometterne la maturazione funzionale: studi sperimentali su roditori dimostrano che i ratti in età adolescenziale risultano più vulnerabili agli effetti neuropsicologici e neurobiologici delle droghe rispetto ai ratti adulti.





Il futuro: verso una prospettiva neuroscientifica sociale?

Un nuovo approccio alla comprensione dei fenomeni sociali: le neuroscienze cognitive sociali

Sino a oggi il fossato che divideva le discipline sociali da quelle neurobiologiche sembrava destinato a non avere punti di contatto. L'emergere della neuropsicologia cognitiva dagli anni settanta in poi ha preparato il terreno per lo sviluppo di un approccio innovativo nel quale confluiscono metodi e risultati di neuroscienze e studi sociali, qual è quello delle "neuroscienze cognitive sociali" (Robbins et al. 2007). Le neuroscienze cognitive sociali rappresentano un approccio sistematico utile alla comprensione dei fenomeni sociali ed emozionali in termini di interazione tra motivazioni e fattori sociali che influenzano il comportamento, con riferimento ai substrati neurali che ne sono alla base (Cacioppo et al. 2002, Blackemore et al. 2004, Ochsner et al. 2004). Sebbene le neuroscienze cognitive sociali siano ancora in una fase iniziale, il loro approccio è già stato applicato a una ampia gamma di fenomeni di interesse delle scienze sociali e alle patologie neuropsichiatriche e alla dipendenza da alcol e sostanze stupefacenti (Grady et al. 2002, Adolphs et al. 2003).

E' dunque possibile chiarire sempre meglio i "meccanismi" neurali e cognitivi che influiscono sui complessi costrutti sociali quali: volizione, valutazioni cognitive, attitudini, rappresentazioni mentali del Sé, gratificazioni, credenze, emozioni, empatia, teoria della mente, controllo e autocontrollo, intuizione, morale, processi decisionali sociali (MacDonald et al. 2000, Dolan et al. 2002, Kelley et al. 2002, Klein et al. 2002, Harmon-Jones et al. 2003, O'Doherty et al. 2003, Samson et al. 2003, 2004, Levesque et al. 2004, Spence et al. 2004, Kroll et al. 2004).

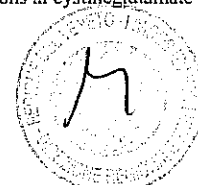
La dipendenza come disturbo della cognizione sociale

In questa nuova prospettiva la dipendenza può essere vista come un "disturbo della cognizione sociale" che si può presentare in quattro forme principali, collegate ad altrettante disfunzioni dei substrati strutturali cerebrali, come illustrato da numerosi studi (Blum et al. 2000, Drummond et al. 2001, Stuss et al. 2001, Goldstein et al. 2002, Rinn et al. 2002, Stone et al. 2002, Bolla et al. 2003, Kauffman et al. 2003, Volkow et al. 2003a, Volkow et al. 2003b, Hall et al. 2004, Hester et al. 2004, Zhu et al. 2004, Ersche et al. 2005):

1. **disturbo dei processi e della rappresentazione di salienza e gratificazione**, con ruolo preminente dei network cerebrali che interconnettono la corteccia prefrontale orbitale e mediale, l'amigdala, lo striato, il mesencefalo dopaminergico;
2. **disturbo del ragionamento sociale e dei processi decisionali**, con ruolo principale della corteccia prefrontale mediale e orbitale e del giro del cingolo;
3. **disturbo del controllo volontario**, con ruolo preminente della corteccia cingolata anteriore, della corteccia prefrontale dorsolaterale, delle aree motorie supplementari;
4. **disturbo della consapevolezza delle conseguenze avverse**, ove prende parte un network neurale esteso, che media funzioni esecutive, memoria verbale, inferenza visiva, velocità di elaborazione mentale.

Bibliografia

5. Abi-Dargham, A., Kegeles, L. S., Martinez, D., Innis, R. B. and Laruelle, M. (2003). Dopamine mediation of positive reinforcing effects of amphetamine in stimulant naive healthy volunteers: results from a large cohort. *Eur Neuropsychopharmacol* 13: Dec 459-468.
6. Adams, C. D. (1982). Variations in the sensitivity of instrumental responding to reinforcer devaluation. *Quarterly Journal of Experimental Psychology, Section B - Comparative and Physiological Psychology* 34: 77-98.
7. Ainslie, G. (1974). Impulse control in pigeons. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 21: 485-489.
8. Ainslie, G. (1975). Specious reward: a behavioral theory of impulsiveness and impulse control. *Psychological Bulletin* 82: 463-496.
9. Ainslie, G. (1992). *Picoeconomics: the strategic interaction of successive motivational states within the person*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
10. Ainslie, G. (2001). *Breakdown of Will*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
11. Ainslie, G. and Herrnstein, R. J. (1981). Preference reversal and delayed reinforcement. *Animal Learning and Behavior* 9: 476-482.
12. Ainslie, G. and Monterosso, J. (2003). Hyperbolic discounting as a factor in addiction: a critical analysis. In *Choice, Behavioral Economics and Addiction* (Heather, N. and Vuchinich, R. E., eds.), pp. 35-61, 67-69. Elsevier, Oxford.
13. Altman, J. and Das, G. D. (1966). Behavioral manipulations and protein metabolism of the brain: effects of motor exercise on the utilization of leucine-H 3. *Physiology and Behavior* 1: 105.
14. Altman, J., Everitt, B. J., Glautier, S., Markou, A., Nutt, D., Oretti, R., Phillips, G. D. and Robbins, T. W. (1996). The biological, social and clinical bases of drug addiction: commentary and debate. *Psychopharmacology* 125: 285-345.
15. American Psychiatric Association (2000). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition, text revision (DSM-IVTR)*, American Psychiatric Association, Washington DC.
16. appetitive conditioning and drug addiction. In *The amygdala: a functional analysis*, 2nd edition (Aggleton, J. P., ed.), pp. 353-390. Oxford
17. Arnsten, A. F. and Robbins, T. W. (2002). Neurochemical modulation of prefrontal cortical function in humans and animals. In *Principles of frontal lobe function* (Stuss, D. T. and Knight, R. T., eds.), pp. 51-84. Oxford University Press, New York.
18. Baker, D. A., Fuchs, R. A., Specio, S. E., Khroyan, T. V. and Neisewander, J. L. (1998). Effects of intraaccumbens administration of SCH-23390 on cocaine-induced locomotion and conditioned place preference. *Synapse* 30: Oct 181-193.
19. Baker, D. A., McFarland, K., Lake, R. W., Shen, H., Tang, X. C., Toda, S. and Kalivas, P. W. (2003). Neuroadaptations in cystineglutamate



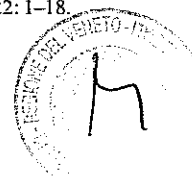


- exchange underlie cocaine relapse. *Nat Neurosci* 6: Jul 743–749.
20. Baldwin, A. E., Sadeghian, K. and Kelley, A. E. (2002). Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 22: 1 Feb 1063–1071.
 21. Baldwin, A. E., Sadeghian, K., Holahan, M. R. and Kelley, A. E. (2002). Appetitive instrumental learning is impaired by inhibition of cAMP-dependent protein kinase within the nucleus accumbens. *Neurobiol Learn Mem* 77: Jan 44–62.
 22. Balleine, B. (1992). Instrumental performance following a shift in primary motivation depends on incentive learning. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 18: 236–250.
 23. Balleine, B. and Dickinson, A. (1991). Instrumental performance following reinforcer devaluation depends upon incentive learning. *Quarterly Journal of Experimental Psychology, Section B – Comparative and Physiological Psychology* 43: 279–296.
 24. Balleine, B. and Killcross, S. (1994). Effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on instrumental action. *Behavioural Brain Research* 65: 181–193.
 25. Balleine, B. W. and Dickinson, A. (1998). Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology* 37: 407–419.
 26. Balleine, B. W. and Dickinson, A. (2000). The effect of lesions of the insular cortex on instrumental conditioning: evidence for a role in incentive memory. *Journal of Neuroscience* 20: 8954–8964.
 27. Balleine, B. W., Killcross, A. S. and Dickinson, A. (2003). The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. *J Neurosci* 23: 15 Jan 666–675.
 28. Bear, M.F., Connors, W., Paradiso, M.A. (2006). *Neuroscience: Exploring the Brain*, Lippincott Williams
 29. & Wilkins
 30. Bechara, A. and Damasio, H. (2002). Decision-making and addiction (part I): impaired activation of somatic states in substance dependent individuals when pondering decisions with negative future consequences. *Neuropsychologia* 40: 1675–1689.
 31. Bechara, A., Nader, K. and van der Kooy, D. (1998). A two-separate-motivational-systems hypothesis of opioid addiction. *Pharmacol Biochem Behav* 59: 1–17.
 32. Becker, G. S. and Murphy, K. M. (1988). A theory of rational addiction. *Journal of Political Economy* 96: 675–700.
 33. Becker, J. B. (1999). Gender differences in dopaminergic function in striatum and nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav* 64: Dec 803–812.
 34. Berridge, K. C. (1991). Modulation of taste affect by hunger, caloric satiety, and sensory-specific satiety in the rat. *Appetite* 16: 103–120.
 35. Berridge, K. C. (1996). Food reward: Brain substrates of wanting and liking. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 20: 1–25.
 36. Berridge, K. C. (2000). Measuring hedonic impact in animals and infants: microstructure of affective taste reactivity patterns. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 24: 173–198.
 37. Berridge, K. C. and Robinson, T. E. (1998). What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Research Reviews* 28: 309–369.
 38. Bibb, J. A., Chen, J., Taylor, J. R., Svenningsson, P., Nishi, A., Snyder, G. L., Yan, Z., Sagawa, Z. K., Ouimet, C. C., Nairn, A. C., Nestler, E. J. and Greengard, P. (2001). Effects of chronic exposure to cocaine are regulated by the neuronal protein Cdk5. *Nature* 410: 15 Mar 376–380.
 39. Bjork, J. M., Knutson, B., Fong, G. W., Caggiano, D. M., Bennett, S. M. and Hommer, D. W. (2004). Incentive-elicited brain activation in adolescents: similarities and differences from young adults. *J Neurosci* 24: 25 Feb 1793–1802.
 40. Blaha, C. D., Yang, C. R., Floresco, S. B., Barr, A. M. and Phillips, A. G. (1997). Stimulation of the ventral subiculum of the hippocampus evokes glutamate receptor-mediated changes in dopamine efflux in the rat nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 9: May 902–911.
 41. Bottini, G., Berti, A., Neppi-Modona, M. (2007). *Elementi di neuroscienze cognitive*, Ed. Carocci
 42. Bowers, M. S., McFarland, K., Lake, R. W., Peterson, Y. K., Lapish, C. C., Gregory, M. L., Lanier, S. M. and Kalivas, P. W. (2004). Activator of G protein signaling 3: a gatekeeper of cocaine sensitization and drug seeking. *Neuron* 42: 22 Apr 269–281.
 43. Bozarth, M. A. and Wise, R. A. (1981). Intracranial self-administration of morphine into the ventral tegmental area in rats. *Life Sci* 28: 2 Feb 551–555.
 44. Bozarth, M. A. and Wise, R. A. (1984). Anatomically distinct opiate receptor fields mediate reward and physical dependence. *Science* 224: 4 May 516–517.
 45. Brake, W. G., Zhang, T. Y., Diorio, J., Meaney, M. J. and Gratton, A. (2004). Influence of early postnatal rearing conditions on mesocorticolimbic dopamine and behavioural responses to psychostimulants and stressors in adult rats. *European Journal of Neuroscience* 19: 1863–1874.
 46. Bums, L. H., Everitt, B. J., Kelley, A. E. and Robbins, T. W. (1994). Glutamate–dopamine interactions in the ventral striatum: role in locomotor activity and responding with conditioned reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)* 115: 516–528.
 47. Cabanac, M. (1992). Pleasure: the common currency. *J Theor Biol* 155: 21 Mar 173–200.
 48. Cacioppo, J. T. and Berntson, G. G. (2002). Social neuroscience. In *Foundations in social neuroscience* (Cacioppo, J. T., Berntson, G. G., Adolphs, R., Carter, C. S., Davidson, R. J., McClintock, M., McEwen, B. S., Meaney, M. J., Schacter, D. L., Sternberg, E. M., Suomi, S. S. and Taylor, S. E., eds.), pp. MIT Press, Cambridge, MA.
 49. Cador, M., Bjijou, Y. and Stinus, L. (1995). Evidence of a complete independence of the neurobiological substrates for the induction and expression of behavioral sensitization to amphetamine. *Neuroscience* 65: 385–395.
 50. Cador, M., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (1989). Involvement of the amygdala in stimulus–reward associations: interaction with the ventral striatum. *Neuroscience* 30: 77–86.
 51. Caggiula, A. R., Donny, E. C., White, A. R., Chaudhri, N., Booth, S., Gharib, M. A., Hoffman, A., Perkins, K. A. and Sved, A. F. (2002). Environmental stimuli promote the acquisition of nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 163: Sep 230–237.
 52. Campbell, W. G. (2003). Addiction: a disease of volition caused by a cognitive impairment. *Can J Psychiatry* 48: Nov 669–674.
 53. Cardinal, R. N. and Cheung, T. H. C. (2005). Nucleus accumbens core lesions retard instrumental learning and performance with delayed reinforcement in the rat. *BMC Neuroscience* 6: 9.
 54. Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Hall, J. and Everitt, B. J. (2002). Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 26: 321–352.
 55. Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Lachenal, G., Halkerston, K. M., Rudarakanchana, N., Hall, J., Morrison, C. H., Howes, S. R., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2002). Effects of selective excitotoxic lesions of the nucleus accumbens core, anterior cingulate cortex, and central nucleus of the amygdala on autoshaping performance in rats. *Behav Neurosci* 116: Aug 553–567.
 56. Cardinal, R. N., Pennicott, D. R., Sugathapala, C. L., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2001). Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science* 292: 2499–2501.
 57. Cardinal, R. N., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2003). Choosing delayed rewards: perspectives from learning theory, neurochemistry, and neuroanatomy. In *Choice, Behavioral Economics and Addiction* (Heather, N. and Vuchinich, R. E., eds.), pp. 183–213, 217–218. Elsevier, Oxford.
 58. Carelli, R. M. and Wightman, R. M. (2004). Functional microcircuitry in the accumbens underlying drug addiction: insights from real-time signaling during behavior. *Curr Opin Neurobiol* 14: Dec 763–768.





59. Carlezon, W. A., Jr. and Nestler, E. J. (2002). Elevated levels of GluR1 in the midbrain: a trigger for sensitization to drugs of abuse? *Trends Neurosci* 25: Dec 610–615.
60. Carlezon, W. A., Jr., Thome, J., Olson, V. G., Lane-Ladd, S. B., Brodtkin, E. S., Hiroi, N., Duman, R. S., Neve, R. L. and Nestler, E. J. (1998). Regulation of cocaine reward by CREB. *Science* 282: 18 Dec 2272–2275.
61. Castaneda, R., Lifshutz, H., Galanter, M. and Franco, H. (1994). Empirical assessment of the self-medication hypothesis among dually diagnosed inpatients. *Compr Psychiatry* 35: May–Jun 180–184.
62. Castren, E. (2004). Neurotrophic effects of antidepressant drugs. *Curr Opin Pharmacol* 4: Feb 58–64.
63. Cervo, L., Carnovali, F., Stark, J. A. and Mennini, T. (2003). Cocaine-seeking behavior in response to drug-associated stimuli in rats: involvement of D3 and D2 dopamine receptors. *Neuropsychopharmacology* 28: Jun 1150–1159.
64. Chao, J. and Nestler, E. J. (2004). Molecular neurobiology of drug addiction. *Annu Rev Med* 55: 113–132.
65. Chao, J. R., Ni, Y. G., Bolanos, C. A., Rahman, Z., DiLeone, R. J. and Nestler, E. J. (2002). Characterization of the mouse adenylyl cyclase type VIII gene promoter: regulation by cAMP and CREB. *Eur J Neurosci* 16: Oct 1284–1294.
66. Chefer, V. I., Zakharova, I. and Shippenberg, T. S. (2003). Enhanced responsiveness to novelty and cocaine is associated with decreased basal dopamine uptake and release in the nucleus accumbens: quantitative microdialysis in rats under transient conditions. *The Journal of Neuroscience* 23: 3076–3084.
67. Chen, J., Zhang, Y., Kelz, M. B., Steffen, C., Ang, E. S., Zeng, L. and Nestler, E. J. (2000). Induction of cyclin-dependent kinase 5 in the hippocampus by chronic electroconvulsive seizures: role of [Delta]FosB. *J Neurosci* 20: 15 Dec 8965–8971.
68. Chen, W. J., Maier, S. E. and West, J. R. (1997). Prenatal alcohol treatment attenuated postnatal cocaine-induced elevation of dopamine concentration in nucleus accumbens: a preliminary study. *Neurotoxicology and Teratology* 19: 39–46.
69. Ciccocioppo, R., Sanna, P. P. and Weiss, F. (2001). Cocaine-predictive stimulus induces drug-seeking behavior and neural activation in limbic brain regions after multiple months of abstinence: reversal by D(1) antagonists. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 1976–1981.
70. Citron, M. (2002). Alzheimer's disease: treatments in discovery and development. *Nat Neurosci* 5 Suppl: Nov 1055–1057.
71. Colwill, R. M. and Rescorla, R. A. (1990). Evidence for the hierarchical structure of instrumental learning. *Animal Learning and Behavior* 18: 71–82.
72. Cools, R., Barker, R., Sahakian, B. J. and Robbins, T. W. (2001). Enhanced or impaired cognitive function in Parkinson's disease as a function of dopaminergic medication and task demands. *Cerebral Cortex* 11: 1136–1143.
73. Cooper, J. R., Bloom, F. E. and Roth, R. H. (2002). *The biochemical basis of neuropharmacology*, 8th edition. Oxford University Press, New York.
74. Corbit, L. H. and Balleine, B. W. N. (2003). The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 146: 145–157.
75. Corbit, L. H., Muir, J. L. and Balleine, B. W. (2001). The role of the nucleus accumbens in instrumental conditioning: evidence of a functional dissociation between accumbens core and shell. *Journal of Neuroscience* 21: 3251–3260.
76. Cornish, J. L. and Kalivas, P. W. (2000). Glutamate transmission in the nucleus accumbens mediates relapse in cocaine addiction. *The Journal of Neuroscience* 20: RC89 81–85.
77. Cornish, J. L., Duffy, P. and Kalivas, P. W. (1999). A role for nucleus accumbens glutamate transmission in the relapse to cocaine-seeking behavior. *Neuroscience* 93: 1359–1367.
78. Crews, F. T. and Nixon, K. (2003). Alcohol, neural stem cells, and adult neurogenesis. *Alcohol Res Health* 27: 197–204.
79. Crombag, H. S., Jedynek, J. P., Redmond, K., Robinson, T. E. and Hope, B. T. N. (2002). Locomotor sensitization to cocaine is associated with increased Fos expression in the accumbens, but not in the caudate. *Behav Brain Res* 136: 455–462.
80. Dafters, R. and Anderson, G. (1982). Conditioned tolerance to the tachycardia effect of ethanol in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 78: 365–367.
81. Datla, K. P., Ahier, R. G., Young, A. M., Gray, J. A. and Joseph, M. H. N. (2002). Conditioned appetitive stimulus increases extracellular dopamine in the nucleus accumbens of the rat. *Eur J Neurosci* 16: 1987–1993.
82. Davis, M. (2000). The role of the amygdala in conditioned and unconditioned fear and anxiety. In *The amygdala: a functional analysis*, 2nd edition (Aggleton, J. P., ed.), pp. 213–287. Oxford University Press, New York.
83. de Borchgrave, R., Rawlins, J. N., Dickinson, A. and Balleine, B. W. M. (2002). Effects of cytotoxic nucleus accumbens lesions on instrumental conditioning in rats. *Exp Brain Res* 144: 50–68.
84. De Cesare, D. and Sassone-Corsi, P. (2000). Transcriptional regulation by cyclic AMP-responsive factors. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 64: 343–369.
85. De Vries, T. J., Shaham, Y., Homberg, J. R., Crombag, H., Schuurman, K., Dieben, J., Vanderschuren, L. J. and Schoffelmeer, A. N. O. (2001). A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med* 7: 1151–1154.
86. de Wit, H., Uhlhuth, E. H. and Johanson, C. E. F. (1986). Individual differences in the reinforcing and subjective effects of amphetamine and diazepam. *Drug Alcohol Depend* 16: 341–360.
87. Delamater, A. R. A. (2004). Experimental extinction in Pavlovian conditioning: behavioural and neuroscience perspectives. *Q J Exp Psychol B* 57: 97–132.
88. Deroche-Gamonet, V., Piat, F., Le Moal, M. and Piazza, P. V. (2002). Influence of cue-conditioning on acquisition, maintenance and relapse of cocaine intravenous self-administration. *Eur J Neurosci* 15: 1363–1370.
89. Di Chiara, G. (1998). A motivational learning hypothesis of the role of mesolimbic dopamine in compulsive drug use. *Journal of Psychopharmacology* 12: 54–67.
90. Di Chiara, G. (2002). Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behav Brain Res* 137: 75–114.
91. Di Ciano, P. and Everitt, B. J. (2001). Dissociable effects of antagonism of NMDA and AMPA/KA receptors in the nucleus accumbens core and shell on cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology* 25: 341–360.
92. Di Ciano, P. and Everitt, B. J. (2003). Differential control over drug-seeking behavior by drug-associated conditioned reinforcers and discriminative stimuli predictive of drug availability. *Behav Neurosci* 117: 952–960.
93. Di Ciano, P. and Everitt, B. J. (2004). Conditioned reinforcing properties of stimuli paired with self-administered cocaine, heroin or sucrose. *Neuropharmacology* 47: 202–213.
94. Di Ciano, P. and Everitt, B. J. (2004). Direct interactions between the basolateral amygdala and nucleus accumbens core underlie cocaine seeking behavior by rats. *The Journal of Neuroscience* 24: 7167–7173.
95. Di Ciano, P., Blaha, C. D. and Phillips, A. G. (1998). Conditioned changes in dopamine oxidation currents in the nucleus accumbens of rats by stimuli paired with self-administration or yoked-administration of d-amphetamine. *Eur J Neurosci* 10: 1121–1127.
96. Di Ciano, P., Underwood, R. J., Hagan, J. J. and Everitt, B. J. (2003). Attenuation of cue-controlled cocaine-seeking by a selective D3 dopamine receptor antagonist SB-277011-A. *Neuropsychopharmacology* 28: 329–338.
97. Dickinson, A. (1994). Instrumental conditioning. In *Animal Learning and Cognition* (Mackintosh, N. J., ed.), pp. 45–79. Academic Press, San Diego.
98. Dickinson, A. and Balleine, B. (1994). Motivational control of goal-directed action. *Animal Learning and Behavior* 22: 1–18.



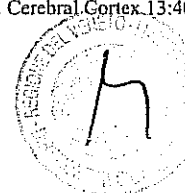


99. Dickinson, A., Smith, J. and Mirenowicz, J. (2000). Dissociation of Pavlovian and instrumental incentive learning under dopamine antagonists. *Behavioral Neuroscience* 114: 468-483.
100. Dickinson, A., Wood, N. and Smith, J. W. (2002). Alcohol seeking by rats: action or habit? *Q J Exp Psychol B* 55: 331-348.
101. Eisch, A. J. and Mandyam, C. D. (2004). Drug dependence and addiction, II: Adult neurogenesis and drug abuse. *Am J Psychiatry* 161:426.
102. Eisenberg, M., Kobilov, T., Berman, D. E. and Dudai, Y. (2003). Stability of retrieved memory: inverse correlation with trace dominance. *Science* 301: 1102-1104.
103. Elliott, R., Newman, J. L., Longe, O. A. and Deakin, J. F. (2003). Differential response patterns in the striatum and orbitofrontal cortex to financial reward in humans: a parametric functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci* 23: 303-307.
104. Epping-Jordan, M. P., Watkins, S. S., Koob, G. F. and Markou, A. (1998). Dramatic decreases in brain reward function during nicotine withdrawal. *Nature* 393: 76-79.
105. Erwin, R. J. and Ferguson, E. D. (1979). The effect of food and water deprivation and satiation on recognition. *American Journal of Psychology* 92: 611-626.
106. Estes, W. K. (1948). Discriminative conditioning. II. Effects of a Pavlovian conditioned stimulus upon a subsequently established operant response. *Journal of Experimental Psychology* 38: 173-177.
107. Ettenberg, A., Pettit, H. O., Bloom, F. E. and Koob, G. F. (1982). Heroin and cocaine intravenous self-administration in rats: mediation by separate neural systems. *Psychopharmacology (Berl)* 78: 204-209.
108. Everitt, B. J. and Robbins, T. W. (2000). Second-order schedules of drug reinforcement in rats and monkeys: measurement of reinforcing efficacy and drug-seeking behaviour. *Psychopharmacology (Berl)* 153: 17-30.
109. Everitt, B. J. and Wolf, M. E. (2002). Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective. *J Neurosci* 22: 3312-3320.
110. Everitt, B. J., Cardinal, R. N., Hall, J., Parkinson, J. A. and Robbins, T. W. (2000). Differential involvement of amygdala subsystems in
111. Everitt, B. J., Dickinson, A. and Robbins, T. W. (2001). The neuropsychological basis of addictive behaviour. *Brain Research Reviews* 36: 129-138.
112. Feldman, R. S., Meyer, J. S. and Quenzer, L. F. (1997). *Principles of neuropsychopharmacology*, Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
113. Ferguson, E. D. (2000). *Motivation: a biosocial and cognitive integration of motivation and emotion*, Oxford University Press, Oxford.
114. Fergusson, D. M., Horwood, L. J., Lynskey, M. T. and Madden, P. A. (2003). Early reactions to cannabis predict later dependence. *Archives of General Psychiatry* 60: 1033-1039.
115. Ferrer-Alcon, M., Garcia-Sevilla, J. A., Jaquet, P. E., La Harpe, R., Riederer, B. M., Walzer, C. and Guimon, J. (2000). Regulation of nonphosphorylated and phosphorylated forms of neurofilament proteins in the prefrontal cortex of human opioid addicts. *J Neurosci Res* 61: 338-349.
116. Fibiger, H. C. and Phillips, A. G. (1988). Mesocorticolimbic dopamine systems and reward. *Ann N Y Acad Sci* 537: 206-215.
117. Fibiger, H. C., LePiane, F. G., Jakubovic, A. and Phillips, A. G. (1987). The role of dopamine in intracranial self-stimulation of the ventral tegmental area. *J Neurosci* 7: 3888-3896.
118. Fiorillo, C. D., Tobler, P. N. and Schultz, W. (2003). Discrete coding of reward probability and uncertainty by dopamine neurons. *Science* 299: 1898-1902.
119. Fiorino, D. F., Coury, A., Fibiger, H. C. and Phillips, A. G. (1993). Electrical stimulation of reward sites in the ventral tegmental area increases dopamine transmission in the nucleus accumbens of the rat. *Behav Brain Res* 55: 131-141.
120. Fischman, M. W. (1989). Relationship between self-reported drug effects and their reinforcing effects: studies with stimulant drugs. *NIDA Res Monogr* 92: 211-230.
121. Floresco, S. B., Todd, C. L. and Grace, A. A. (2001). Glutamatergic afferents from the hippocampus to the nucleus accumbens regulate activity of ventral tegmental area dopamine neurons. *J Neurosci* 21: 4915-4922.
122. Fuchs, R. A., Evans, K. A., Ledford, C. C., Parker, M. P., Case, J. M., Mehta, R. H. and See, R. E. (2005). The role of the dorsomedial prefrontal cortex, basolateral amygdala, and dorsal hippocampus in contextual reinstatement of cocaine seeking in rats. *Neuropsychopharmacology* 30: 296-309.
123. Fuchs, R. A., Evans, K. A., Parker, M. P. and See, R. E. (2004). Differential involvement of orbitofrontal cortex subregions in conditioned cue-induced and cocaine-primed reinstatement of cocaine seeking in rats. *J Neurosci* 24: 6600-6610.
124. Garavan, H., Pankiewicz, J., Bloom, A., Cho, J. K., Sperry, L., Ross, T. J., Salmeron, B. J., Risinger, R., Kelley, D. and Stein, E. A. (2000). Cue-induced cocaine craving: Neuroanatomical specificity for drug users and drug stimuli. *American Journal of Psychiatry* 157:1789-1798.
125. Garcia, J. (1989). Food for Tolman: Cognition and cathexis in concert. In *Aversion, avoidance and anxiety* (Archer, T. and Nilsson, L.-G., eds.), pp. 45-85. Erlbaum, Hillsdale, New Jersey.
126. Garcia, R., Vouimba, R. M., Baudry, M. and Thompson, R. F. (1999). The amygdala modulates prefrontal cortex activity relative to conditioned fear. *Nature* 402: 294-296.
127. Gawin, F. H. (1991). Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. *Science* 251: 1580-1586.
128. George, M. S. (2003). Stimulating the brain. *Sci Am* 289: 66-73.
129. Ghasemzadeh, M. B., Permenter, L. K., Lake, R. W. and Kalivas, P. W. (2003). Nucleus accumbens Homer proteins regulate behavioral sensitization to cocaine. *Ann N Y Acad Sci* 1003: 395-397.
130. Gjelsvik, O. (2003). Reason and addiction. In *Choice, Behavioral Economics and Addiction* (Heather, N. and Vuchinich, R. E., eds.), pp. 219-238, 245-247. Elsevier, Oxford.
131. Glatt, S. J., Trksak, G. H., Cohen, O. S., Simeone, B. P. and Jackson, D. (2004). Prenatal cocaine exposure decreases nigrostriatal dopamine release in vitro: effects of age and sex. *Synapse* 53: 74-89.
132. Goldberg, S. R. and Schuster, C. R. (1967). Conditioned suppression by a stimulus associated with nalorphine in morphine-dependent monkeys. *J Exp Anal Behav* 10: 235-242.
133. Grace, A. A. (1995). The tonic/phasic model of dopamine system regulation: its relevance for understanding how stimulant abuse can alter basal ganglia function. *Drug and Alcohol Dependence* 37: 111-129.
134. Grace, R. C. (1996). Choice between fixed and variable delays to reinforcement in the adjusting-delay procedure and concurrent chains. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 22: 362-383.
135. Grady, C. L. and Keightley, M. L. (2002). Studies of altered social cognition in neuropsychiatric disorders using functional neuroimaging. *Can J Psychiatry* 47: 327-336.
136. Grant, S., London, E. D., Newlin, D. B., Villemagne, V. L., Liu, X., Contoreggi, C., Phillips, R. L., Kimes, A. S. and Margolin, A. (1996). Activation of memory circuits during cue-elicited cocaine craving. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 12040-12045.
137. Green, L. and Fisher, E. B. (2000). Economic substitutability: some implications for health behavior. In *Reframing health behavior change with behavioral economics* (Bickel, W. K. and Vuchinich, R. E., eds.), pp. 115-144. Erlbaum, Mahwah, NJ.
138. Green, T. A., Gehrke, B. J. and Bardo, M. T. (2002). Environmental enrichment decreases intravenous amphetamine self-administration in rats: dose-response functions for fixed- and progressive-ratio schedules. *Psychopharmacology* 162: 373-378.





139. Grimm, J. W., Hope, B. T., Wise, R. A. and Shaham, Y. (2001). Neuroadaptation. Incubation of cocaine craving after withdrawal. *Nature* 412: 141–142.
140. Grimm, J. W., Lu, L., Hayashi, T., Hope, B. T., Su, T. P. and Shaham, Y. (2003). Time-dependent increases in brain-derived neurotrophic factor protein levels within the mesolimbic dopamine system after withdrawal from cocaine: implications for incubation of cocaine craving. *J Neurosci* 23: 742–747.
141. Grimm, J. W., Shaham, Y. and Hope, B. T. (2002). Effect of cocaine and sucrose withdrawal period on extinction behavior, cue-induced reinstatement, and protein levels of the dopamine transporter and tyrosine hydroxylase in limbic and cortical areas in rats. *Behav Pharmacol* 13: 379–388.
142. Grindley, G. C. (1932). The formation of a simple habit in guinea pigs. *British Journal of Psychology* 23: 127–147.
143. Guthrie, E. R. (1935). *The psychology of learning*, Harper, New York.
144. Haber, S. N., Fudge, J. L. and McFarland, N. R. (2000). Striatonigrostriatal pathways in primates form an ascending spiral from the shell to the dorsolateral striatum. *Journal of Neuroscience* 20: 2369–2382.
145. Hall, F. S. (1998). Social deprivation of neonatal, adolescent, and adult rats has distinct neurochemical and behavioural consequences. *Critical Reviews in Neurobiology* 12: 129–162.
146. Hall, J., Thomas, K. L. and Everitt, B. J. (2001). Cellular imaging of *zif268* expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories. *J Neurosci* 21: 2186–2193.
147. Harmon-Jones, E. and Devine, P. G. (2003). Introduction to the special section on social neuroscience: promise and caveats. *J Pers Soc Psychol* 85: 589–593.
148. Haykin, S. (1999). *Neural Networks: A Comprehensive Foundation*, Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
149. Hernandez-Avila, C. A., Rounsaville, B. J. and Kranzler, H. R. (2004). Opioid-, cannabis- and alcohol-dependent women show more rapid progression to substance abuse treatment. *Drug and Alcohol Dependence* 74: 265–272.
150. Hernandez, P. J., Sadeghian, K. and Kelley, A. E. (2002). Early consolidation of instrumental learning requires protein synthesis in the nucleus accumbens. *Nat Neurosci* 5: 1327–1331.
151. Higgins, S. T., Alessi, S. M. and Dantona, R. L. (2002). Voucher-based incentives. A substance abuse treatment innovation. *Addict Behav* 27: 887–910.
152. Hooks, M. S., Jones, G. H., Neill, D. B. and Justice, J. B., Jr. (2004). Individual differences in amphetamine sensitization: Dose-dependent effects. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 41: 203–210.
153. Horvitz, J. C. (2000). Mesolimbocortical and nigrostriatal dopamine responses to salient non-reward events. *Neuroscience* 96: 651–656.
154. Hughes, J., Stead, L. and Lancaster, T. (2004). Antidepressants for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev*: CD000031.
155. Hull, C. L. (1943). *Principles of behavior*, Appleton-Century-Crofts, New York.
156. Hutcheson, D. M., Everitt, B. J., Robbins, T. W. and Dickinson, A. (2001). The role of withdrawal in heroin addiction: enhances reward or promotes avoidance? *Nat Neurosci* 4: 943–947.
157. Hutcheson, D. M., Parkinson, J. A., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2001). The effects of nucleus accumbens core and shell lesions on intravenous heroin self-administration and the acquisition of drug-seeking behaviour under a second-order schedule of heroin reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)* 153: 464–472.
158. Ikemoto, S. and Panksepp, J. (1999). The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Research Reviews* 31: 6–41.
159. Ito, R., Dalley, J. W., Howes, S. R., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2000). Dissociation in conditioned dopamine release in the nucleus accumbens core and shell in response to cocaine cues and during cocaine-seeking behavior in rats. *Journal of Neuroscience* 20: 7489–7495.
160. Ito, R., Dalley, J. W., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2002). Dopamine release in the dorsal striatum during cocaine-seeking behavior under the control of a drug-associated cue. *J Neurosci* 22: 6247–6253.
161. Ito, R., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2004). Differential control over drug seeking behavior by nucleus accumbens core and shell. *Nature Neuroscience* 17: 389–397.
162. Kalinichev, M., White, D. A. and Holtzman, S. G. (2004). Individual differences in locomotor reactivity to a novel environment and sensitivity to opioid drugs in the rat. I. Expression of morphine-induced locomotor sensitization. *Psychopharmacology* 177: 61–67.
163. Kalivas, P. W. and McFarland, K. (2003). Brain circuitry and the reinstatement of cocaine-seeking behavior. *Psychopharmacology (Berl)* 168: 44–56.
164. Kalivas, P. W., McFarland, K., Bowers, S., Szumlanski, K., Xi, Z. X. and Baker, D. (2003). Glutamate transmission and addiction to cocaine. *Ann N Y Acad Sci* 1003: 169–175.
165. Kalivas, P. W., Pierce, R. C., Cornish, J. and Sorg, B. A. (1998). A role for sensitization in craving and relapse in cocaine addiction. *Journal of Psychopharmacology* 12: 49–53.
166. Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessel, T.M. (2000). *Principles of Neural Science, 4/e*, McGraw Hill.
167. Kandel, E.R. (2005). *Psychiatry, Psychoanalysis, and the New Biology of Mind*. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, Inc.
168. Kane, V. B., Fu, Y., Matta, S. G. and Sharp, B. M. (2004). Gestational nicotine exposure attenuates nicotine-stimulated dopamine release in the nucleus accumbens shell of adolescent Lewis rats. *Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics* 308: 521–528.
169. Kelley, A. E. and Berridge, K. C. (2002). The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci* 22: 3306–3311.
170. Kelley, A. E., Bakshi, V. P., Haber, S. N., Steininger, T. L., Will, M. J. and Zhang, M. (2002). Opioid modulation of taste hedonics within the ventral striatum. *Physiol Behav* 76: 365–377.
171. Kelley, A. E., Schochet, T. and Landry, C. F. (2004). Risk taking and novelty seeking in adolescence. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1021: 27.
172. Kelley, A. E., Smith-Roe, S. L. and Holaban, M. R. (1997). Response-reinforcement learning is dependent on N-methyl-D-aspartate receptor activation in the nucleus accumbens core. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 12174–12179.
173. Kelley, A. E., Will, M. J., Steininger, T. L., Zhang, M. and Haber, S. N. (2003). Restricted daily consumption of a highly palatable food (chocolate Ensure(R)) alters striatal enkephalin gene expression. *Eur J Neurosci* 18: 2592–2598.
174. Kelley, B. M. and Rowan, J. D. (2004). Long-term, low-level adolescent nicotine exposure produces dose-dependent changes in cocaine sensitivity and reward in adult mice. *International Journal of Developmental Neuroscience* 22: 339–348.
175. Kelley, W. M., Macrae, C. N., Wyland, C. L., Caglar, S., Inati, S. and Heatherton, T. F. (2002). Finding the self? An event-related fMRI study. *J Cogn Neurosci* 14: 785–794.
176. Kenny, P. J., Koob, G. F. and Markou, A. (2003). Conditioned facilitation of brain reward function after repeated cocaine administration. *Behav Neurosci* 117: 1103–1107.
177. Khantzian, E. J. (1985). The self-medication hypothesis of addictive disorders: focus on heroin and cocaine dependence. *Am J Psychiatry* 142: 1259–1264.
178. Killcross, A. S. and Coutureau, E. (2003). Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cerebral Cortex* 13:400–408.





179. Klein, S. B., Rozendal, K. and Cosmides, L. (2002). A social-cognitive neuroscience analysis of the self. *Social Cognition* 20: 105–135.
180. Knackstedt, L. A., Samimi, M. M. and Ettenberg, A. (2002). Evidence for opponent-process actions of intravenous cocaine and cocaine/hydrocortisone. *Pharmacol Biochem Behav* 72: 931–936.
181. Knutson, B., Adams, C. M., Fong, G. W. and Hommer, D. (2001). Anticipation of increasing monetary reward selectively recruits nucleus accumbens. *J Neurosci* 21: RC159.
182. Knutson, B., Burgdorf, J. and Panksepp, J. (1999). High-frequency ultrasonic vocalizations index conditioned pharmacological reward in rats. *Physiology and Behavior* 66: 639–643.
183. Koob, G. F. and Bloom, F. E. (1988). Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science* 242: 715–723.
184. Koob, G. F. and Nestler, E. J. (1997). The neurobiology of drug addiction. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 9: 482–497.
185. Koob, G. F., Ahmed, S. H., Boutrel, B., Chen, S. A., Kenny, P. J., Markou, A., O'Dell, L. E., Parsons, L. H. and Sanna, P. P. (2004). Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 739–749.
186. Koob, G. F., Caine, S. B., Parsons, L., Markou, A. and Weiss, F. (1997). Opponent process model and psychostimulant addiction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 57: 513–521.
187. Koob, G. F., Rocio, M., Carrera, A., Gold, L. H., Heyser, C. J., Maldonado-Irizarry, C., Markou, A., Parsons, L. H., Roberts, A. J., Schulteis, G., Stinus, L., Walker, J. R., Weissborn, R. and Weiss, F. (1998). Substance dependence as a compulsive behavior. *Journal of Psychopharmacology* 12: 39–48.
188. Koob, G. F., Stinus, L., Le Moal, M. and Bloom, F. E. (1989). Opponent process theory of motivation: neurobiological evidence from studies of opiate dependence. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 13: 135–140.
189. Kosten, T. A., Miserendino, M. J. and Kehoe, P. (2000). Enhanced acquisition of cocaine self-administration in adult rats with neonatal isolation stress experience. *Brain Res* 875: 44–50.
190. Kosten, T. A., Miserendino, M. J. D., Haile, C. N., DeCaprio, J. L., Jatlow, P. I. and Nestler, E. J. (1997). Acquisition and maintenance of intravenous cocaine self-administration in Lewis and Fischer inbred rat strains. *Brain Research* 778: 418–429.
191. Kosten, T. A., Miserendino, M. J., Chi, S. and Nestler, E. J. (1994). Fischer and Lewis rat strains show differential cocaine effects in conditioned place preference and behavioral sensitization but not in locomotor activity or conditioned taste aversion. *J Pharmacol Exp Ther* 269: 137–144.
192. Krasnegor, N. A. (1978). Behavioral tolerance: research and treatment implications: introduction. *NIDA Res Monogr*: 1–3.
193. Kroll, J. and Egan, E. (2004). Psychiatry, moral worry, and the moral emotions. *J Psychiatr Pract* 10: 352–360.
194. Kruzich, P. J., Congleton, K. M. and See, R. E. (2001). Conditioned reinstatement of drug-seeking behavior with a discrete compound stimulus classically conditioned with intravenous cocaine. *Behav Neurosci* 115: 1086–1092.
195. Lane-Ladd, S. B., Pineda, J., Boundy, V. A., Pfeuffer, T., Krupinski, J., Aghajanian, G. K. and Nestler, E. J. (1997). CREB (cAMP response element-binding protein) in the locus coeruleus: biochemical, physiological, and behavioral evidence for a role in opiate dependence. *J Neurosci* 17: 7890–7901.
196. Lawrence, A. D., Evans, A. H. and Lees, A. J. (2003). Compulsive use of dopamine replacement therapy in Parkinson's disease: reward systems gone awry. *Lancet Neurol* 2: 595–604.
197. LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience* 23: 155–184.
198. LeDoux, J. E. (2000). The amygdala and emotion: a view through fear. In *The Amygdala: a functional analysis*, 2nd edition (Aggleton, J. P., ed.), pp. 289–310. Oxford University Press, New York.
199. Lee, J. L., Everitt, B. J. and Thomas, K. L. (2004). Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* 304: 839–843.
200. Lee, M. K. and Cleveland, D. W. (1996). Neuronal intermediate filaments. *Annu Rev Neurosci* 19: 187–217.
201. Leshner, A. I. (1997). Addiction is a brain disease, and it matters. *Science* 278: 45–47.
202. Levesque, J., Joannette, Y., Mensour, B., Beaudoin, G., Leroux, J. M., Bourgoin, P. and Beauguard, M. (2004). Neural basis of emotional self-regulation in childhood. *Neuroscience* 129: 361–369.
203. Levin, E. D. (2002). Nicotinic receptor subtypes and cognitive function. *J Neurobiol* 53: 633–640.
204. Leyton, M., Boileau, I., Benkelfat, C., Diksic, M., Baker, G. and Dagher, A. (2002). Amphetamine-induced increases in extracellular dopamine, drug wanting, and novelty seeking: a PET/[11C]raclopride study in healthy men. *Neuropsychopharmacology* 27: 1027.
205. Licata, S. C. and Pierce, R. C. (2003). The roles of calcium/calmodulin-dependent and Ras/mitogen-activated protein kinases in the development of psychostimulant-induced behavioral sensitization. *J Neurochem* 85: 14–22.
206. Liu, J. G. and Anand, K. J. (2001). Protein kinases modulate the cellular adaptations associated with opioid tolerance and dependence. *Brain Res Brain Res Rev* 38: 1–19.
207. Lovibond, P. F. (1983). Facilitation of instrumental behavior by a Pavlovian appetitive conditioned stimulus. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 9: 225–247.
208. Lu, B. and Chow, A. (1999). Neurotrophins and hippocampal synaptic transmission and plasticity. *Journal of Neuroscience Research* 58: 76–87.
209. Lu, L., Dempsey, J., Liu, S. Y., Bossert, J. M. and Shaham, Y. (2004). A single infusion of brain-derived neurotrophic factor into the ventral tegmental area induces long-lasting potentiation of cocaine seeking after withdrawal. *J Neurosci* 24: 1604–1611.
210. Lu, L., Grimm, J. W., Shaham, Y. and Hope, B. T. (2003). Molecular neuroadaptations in the accumbens and ventral tegmental area during the first 90 days of forced abstinence from cocaine self-administration in rats. *J Neurochem* 85: 1604–1613.
211. Lu, L., Hope, B. T., Dempsey, J., Liu, S. Y., Bossert, J. M. and Shaham, Y. (2005). Central amygdala ERK signaling pathway is critical to incubation of cocaine craving. *Nat Neurosci* 8: 212–219.
212. Lynch, G. (2002). Memory enhancement: the search for mechanism-based drugs. *Nat Neurosci* 5 Suppl: 1035–1038.
213. Lynch, W. J. and Carroll, M. E. (1999). Sex differences in the acquisition of intravenously self-administered cocaine and heroin in rats. *Psychopharmacology* 144: 77–82.
214. Lynch, W. J. and Carroll, M. E. (2000). Reinstatement of cocaine self-administration in rats: sex differences. *Psychopharmacology* 148: 196–200.
215. Lynch, W. J., Roth, M. E., Mickelberg, J. L. and Carroll, M. E. (2001). Role of estrogen in the acquisition of intravenously self-administered cocaine in female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 68: 641–646.
216. Mackintosh, N. J. (1974). *The Psychology of Animal Learning*, Academic Press, London.
217. Maisonneuve, I. M. and Kreek, M. J. (1994). Acute tolerance to the dopamine response induced by a binge pattern of cocaine administration in male rats: an in vivo microdialysis study. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 268: 916–921.
218. Marinelli, M. and White, F. J. (2000). Enhanced vulnerability to cocaine self-administration is associated with elevated impulse activity of midbrain dopamine neurons. *J Neurosci* 20: 8876–8885.
219. Markou, A. and Koob, G. F. (1991). Postcocaine anhedonia. An animal model of cocaine withdrawal. *Neuropsychopharmacology* 4: 17–26.
220. Markou, A., Kosten, T. R. and Koob, G. F. (1998). Neurobiological similarities in depression and drug dependence: a self-medication hypothesis. *Neuropsychopharmacology* 18: 135–174.
221. Mattay, V. S., Goldberg, T. E., Fera, F., Hariri, A. R., Tessitore, A., Egan, M. F., Kolachana, B., Callicott, J. H. and Weinberger, D. R. (2003).



- 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.
222. McClure, S. M., Berns, G. S. and Montague, P. R. (2003). Temporal prediction errors in a passive learning task activate human striatum. *Neuron* 38: 339–346.
223. McClure, S. M., Laibson, D. I., Loewenstein, G. and Cohen, J. D. (2004). Separate neural systems value immediate and delayed monetary rewards. *Science* 306: 503–507.
224. McFarland, K. and Kalivas, P. W. (2001). The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J Neurosci* 21:8655–8663.
225. McFarland, K., Davidge, S. B., Lapish, C. C. and Kalivas, P. W. (2004). Limbic and motor circuitry underlying footshock-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior. *J Neurosci* 24: 1551–1560.
226. Mignot, E., Taheri, S. and Nishino, S. (2002). Sleeping with the hypothalamus: emerging therapeutic targets for sleep disorders. *Nat Neurosci* 5 Suppl: 1071–1075.
227. Miles, F. J., Everitt, B. J. and Dickinson, A. (2003). Oral cocaine seeking by rats: Action or habit? *Behav Neurosci* 117: 927–938.
228. Minsky, M. L. (1961). Steps towards artificial intelligence. *Proceedings of the Institute of Radio Engineers* 9: 8–30.
229. Mitchell, S. H. (2003). Discounting the value of commodities according to different types of cost. In *Choice, Behavioral Economics and Addiction* (Heather, N. and Vuchinich, R. E., eds.), pp. 339–357. Elsevier, Oxford.
230. Mitchell, S. H., Laurent, C. L. and de Wit, H. (1996). Interaction of expectancy and the pharmacological effects of d-amphetamine: subjective effects and self-administration. *Psychopharmacology (Berl)* 125: 371–378.
231. Myers, K. M. and Davis, M. (2002). Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron* 36: 567–584.
232. Nader, K. (2003). Memory traces unbound. *Trends Neurosci* 26: 65–72.
233. Nader, K., Schafe, G. E. and Le Doux, J. E. (2000). Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406: 722–726.
234. Nader, M. A., Daunais, J. B., Moore, T., Nader, S. H., Moore, R. J., Smith, H. R., Friedman, D. P. and Porrino, L. J. (2002). Effects of cocaine self-administration on striatal dopamine systems in rhesus monkeys: Initial and chronic exposure. *Neuropsychopharmacology* 27:35–46.
235. Nestler, E. J. (2001). Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci* 2: 119–128.
236. Nestler, E. J. (2002). Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiol Learn Mem* 78: 637–647.
237. Nestler, E. J. and Malenka, R. C. (2004). The addicted brain. *Sci Am* 290: 78–85.
238. Newhouse, P. A., Potter, A. and Singh, A. (2004). Effects of nicotinic stimulation on cognitive performance. *Curr Opin Pharmacol* 4: 36–46.
239. Newton, S. S., Thome, J., Wallace, T. L., Shirayama, Y., Schlesinger, L., Sakai, N., Chen, J., Neve, R., Nestler, E. J. and Duman, R. S. (2002). Inhibition of cAMP response element-binding protein or dynorphin in the nucleus accumbens produces an antidepressant-like effect. *J Neurosci* 22: 10883–10890.
240. Norrholm, S. D., Bibb, J. A., Nestler, E. J., Ouimet, C. C., Taylor, J. R. and Greengard, P. (2003). Cocaine-induced proliferation of dendritic spines in nucleus accumbens is dependent on the activity of cyclin-dependent kinase-5. *Neuroscience* 116: 19–22.
241. O'Brien, C. P. (1997). A range of research-based pharmacotherapies for addiction. *Science* 278: 66–70.
242. O'Brien, C. P. and McLellan, A. T. (1996). Myths about the treatment of addiction. *Lancet* 347: 237–240.
243. O'Brien, C. P., Childress, A. R., Ehrman, R. and Robbins, S. J. (1998). Conditioning factors in drug abuse: can they explain compulsion? *Journal of Psychopharmacology* 12: 15–22.
244. O'Brien, C. P., Childress, A. R., McLellan, T. and Ehrman, R. (1990). Integrating systemic cue exposure with standard treatment in recovering drug dependent patients. *Addict Behav* 15: 355–365.
245. O'Brien, C. P., Ehrman, R. N. and Ternes, J. W. (1986). Classical conditioning in human opioid dependence. In *Behavioural analysis of drug dependence* (Goldberg, S. R. and Stolerman, I. P., eds.), pp. 329–356. Academic Press, London.
246. O'Brien, C. P., O'Brien, T. J., Mintz, J. and Brady, J. P. (1975). Conditioning of narcotic abstinence symptoms in human subjects. *Drug Alcohol Depend* 1: 115–123.
247. O'Brien, C. P., Testa, T., O'Brien, T. J. and Greenstein, R. (1976). Conditioning in human opiate addicts. *Pavlov J Biol Sci* 11: 195–202.
248. O'Brien, C. P., Testa, T., O'Brien, T. J., Brady, J. P. and Wells, B. (1977). Conditioned narcotic withdrawal in humans. *Science* 195: 1000–1002.
249. O'Brien, C., Childress, A. R., Ehrman, R., Robbins, S. and McLellan, A. T. (1992). Conditioning mechanisms in drug dependence. *Clin Neuropharmacol* 15 Suppl 1 Pt A: 66A–67A.
250. O'Doherty, J. P. (2004). Reward representations and reward-related learning in the human brain: insights from neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol* 14: 769–776.
251. O'Doherty, J. P., Dayan, P., Friston, K., Critchley, H. and Dolan, R. J. (2003). Temporal difference models and reward-related learning in the human brain. *Neuron* 38: 329–337.
252. O'Doherty, J., Critchley, H., Deichmann, R. and Dolan, R. J. (2003). Dissociating valence of outcome from behavioral control in human orbital and ventral prefrontal cortices. *J Neurosci* 23: 7931–7939.
253. O'Doherty, J., Dayan, P., Schultz, J., Deichmann, R., Friston, K. and Dolan, R. J. (2004). Dissociable roles of ventral and dorsal striatum in instrumental conditioning. *Science* 304: 452–454.
254. Olsson, P., Jentsch, J. D. and Taylor, J. R. (2003). Repeated Nicotine Exposure Enhances Reward-Related Learning in the Rat. *Neuropsychopharmacology* 28: 1264–1271.
255. Olds, J. and Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 47: 419–427.
256. Olmstead, M. C., Lafond, M. V., Everitt, B. J. and Dickinson, A. (2001). Cocaine seeking by rats is a goal-directed action. *Behav Neurosci* 115: 394–402.
257. Parkinson, J. A., Cardinal, R. N. and Everitt, B. J. (2000). Limbic cortical-ventral striatal systems underlying appetitive conditioning. *Progress in Brain Research* 126: 263–285.
258. Parkinson, J. A., Dalley, J. W., Cardinal, R. N., Bamford, A., Fehnert, B., Lachenal, G., Rudarakanchana, N., Halkerston, K. M., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2002). Nucleus accumbens dopamine depletion impairs both acquisition and performance of appetitive Pavlovian approach behaviour: implications for mesoaccumbens dopamine function. *Behavioural Brain Research* 137: 149–163.
259. Parkinson, J. A., Olmstead, M. C., Burns, L. H., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (1999). Dissociation in effects of lesions of the nucleus accumbens core and shell on appetitive Pavlovian approach behavior and the potentiation of conditioned reinforcement and locomotor activity by d-amphetamine. *Journal of Neuroscience* 19: 2401–2411.
260. Parkinson, J. A., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (1999). Selective excitotoxic lesions of the nucleus accumbens core and shell differentially affect aversive Pavlovian conditioning to discrete and contextual cues. *Psychobiology* 27: 256–266.
261. Parkinson, J. A., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2000). Dissociable roles of the central and basolateral amygdala in appetitive emotional learning. *European Journal of Neuroscience* 12: 405–413.



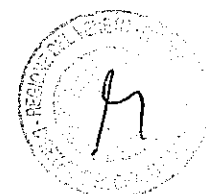


262. Parkinson, J. A., Roberts, A. C., Everitt, B. J. and Di Ciano, P. (2005). Acquisition of instrumental conditioned reinforcement is resistant to the devaluation of the unconditioned stimulus. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology* 58B: 19–30.
263. Parkinson, J. A., Willoughby, P. J., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (2000). Disconnection of the anterior cingulate cortex and nucleus accumbens core impairs Pavlovian approach behavior: Further evidence for limbic cortical-ventral striatopallidal systems. *Behavioral Neuroscience* 114: 42–63.
264. Paus, T. (2005). Mapping brain maturation and cognitive development during adolescence. *Trends in Cognitive Sciences* Vol.9 No.2
265. Pecina, S., Berridge, K. C. and Parker, L. A. (1997). Pimozide does not shift palatability: Separation of anhedonia from sensorimotor suppression by taste reactivity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 58: 801–811.
266. Pecina, S., Cagniard, B., Berridge, K. C., Aldridge, J. W. and Zhuang, X. (2003). Hyperdopaminergic mutant mice have higher 'wanting' but not 'liking' for sweet rewards. *J Neurosci* 23: 9395–9402.
267. Pennartz, C. M., McNaughton, B. L. and Mulder, A. B. (2000). The glutamate hypothesis of reinforcement learning. *Prog Brain Res* 126:231–253.
268. Pettit, H. O. and Justice, J. B., Jr. (1989). Dopamine in the nucleus accumbens during cocaine self-administration as studied by in vivo microdialysis. *Pharmacol Biochem Behav* 34: 899–904.
269. Pettit, H. O., Ettenberg, A., Bloom, F. E. and Koob, G. F. (1984). Destruction of dopamine in the nucleus accumbens selectively attenuates cocaine but not heroin self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 84: 167–173.
270. Pettit, H. O., Pan, H. T., Parsons, L. H. and Justice, J. B., Jr. (1990). Extracellular concentrations of cocaine and dopamine are enhanced during chronic cocaine administration. *J Neurochem* 55: 798–804.
271. Phillips, A. G., Ahn, S. and Howland, J. G. (2003). Amygdalar control of the mesocorticolimbic dopamine system: parallel pathways to motivated behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 543–554.
272. Phillips, G. D., Howes, S. R., Whitelaw, R. B., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (1994). Isolation Rearing Impairs the Reinforcing Efficacy of Intravenous Cocaine or Intraaccumbens D-Amphetamine – Impaired Response to Intraaccumbens D1 and D2/D3 Dopamine-Receptor Antagonists. *Psychopharmacology* 115: 419–429.
273. Phillips, G. D., Howes, S. R., Whitelaw, R. B., Wilkinson, L. S., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (1994). Isolation rearing enhances the locomotor response to cocaine and a novel environment, but impairs the intravenous self-administration of cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 115: 407–418.
274. Phillips, G. D., Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (1994). Bilateral intra-accumbens self-administration of d-amphetamine: antagonism with intra-accumbens SCH-23390 and sulpiride. *Psychopharmacology (Berl)* 114: 477–485.
275. Piazza, P. V. and Le Moal, M. L. (1996). Pathophysiological basis of vulnerability to drug abuse: role of an interaction between stress, glucocorticoids, and dopaminergic neurons. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36: 359–378.
276. Piazza, P. V., Deminiere, J. M., Maccari, S., Mormede, P., Le Moal, M. and Simon, H. (1990). Individual reactivity to novelty predicts probability of amphetamine self-administration. *Behav Pharmacol* 1: 339–345.
277. Piazza, P. V., Deroche-Gamont, V., Rouge-Pont, F. and Le Moal, M. (2000). Vertical shifts in self-administration dose-response functions predict a drug-vulnerable phenotype predisposed to addiction. *The Journal of Neuroscience* 20: 4226–4232.
278. Piazza, P. V., Deroche, V., Rouge-Pont, F. and Le Moal, M. (1998). Behavioral and biological factors associated with individual vulnerability to psychostimulant abuse. *NIDA Research Monographs* 169: 105–133.
279. Piazza, P. V., Maccari, S., Deminiere, J. M., Le Moal, M., Mormede, P. and Simon, H. (1991). Corticosterone levels determine individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 2088–2092.
280. Piazza, P. V., Rouge-Pont, F., Deminiere, J. M., Kharoubi, M., Le Moal, M. and Simon, H. (1991). Dopaminergic activity is reduced in the prefrontal cortex and increased in the nucleus accumbens of rats predisposed to develop amphetamine self-administration. *Brain Res* 567:169–174.
281. Pilla, M., Perachon, S., Sautel, F., Garrido, F., Mann, A., Wermuth, C. G., Schwartz, J. C., Everitt, B. J. and Sokoloff, P. (1999). Selective inhibition of cocaine-seeking behaviour by a partial dopamine D3 receptor agonist. *Nature* 400: 371–375.
282. Pliakas, A. M., Carlson, R. R., Neve, R. L., Konradi, C., Nestler, E. J. and Carlezon, W. A., Jr. (2001). Altered responsiveness to cocaine and increased immobility in the forced swim test associated with elevated cAMP response element-binding protein expression in nucleus accumbens. *J Neurosci* 21: 7397–7403.
283. Porrino, L. J., Lyons, D., Smith, H. R., Daunais, J. B. and Nader, M. A. (2004). Cocaine self-administration produces a progressive involvement of limbic, association, and sensorimotor striatal domains. *J Neurosci* 24: 3554–3562.
284. Post, R. M. and Weiss, S. R. (1988). Psychomotor stimulant vs. local anesthetic effects of cocaine: role of behavioral sensitization and kindling. *NIDA Res Monogr* 88: 217–238.
285. Przybylski, J. and Sara, S. J. (1997). Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behavioural Brain Research* 84: 241–246.
286. Przybylski, J., Roulet, P. and Sara, S. J. (1999). Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: role of beta adrenergic receptors. *Journal of Neuroscience* 19: 6623–6628.
287. Quirk, G. J., Likhtik, E., Pelletier, J. G. and Pare, D. (2003). Stimulation of medial prefrontal cortex decreases the responsiveness of central amygdala output neurons. *J Neurosci* 23: 8800–8807.
288. Rachlin, H. (2000). *The science of self-control*, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
289. Rescorla, R. A. (1990). Evidence for an association between the discriminative stimulus and the response-outcome association in instrumental learning. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 16: 326–334.
290. Rescorla, R. A. (1990). The role of information about the response-outcome relation in instrumental discrimination learning. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 16: 262–270.
291. Reuter, J., Raedler, T., Rose, M., Hand, I., Glascher, J. and Buchel, C. (2005). Pathological gambling is linked to reduced activation of the mesolimbic reward system. *Nat Neurosci* 8: 147–148.
292. Reynolds, J. N. and Wickens, J. R. (2002). Dopamine-dependent plasticity of corticostriatal synapses. *Neural Netw* 15: 507–521.
293. Reynolds, J. N., Hyland, B. I. and Wickens, J. R. (2001). A cellular mechanism of reward-related learning. *Nature* 413: 67–70.
294. Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (1992). Functions of dopamine in the dorsal and ventral striatum. *Seminars in the Neurosciences* 4: 119–127.
295. Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (1999). Drug addiction: bad habits add up [news]. *Nature* 398: 567–570.
296. Robinson, T. E. and Berridge, K. C. (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Reviews* 18: 247–291.
297. Robinson, T. E. and Kolb, B. (1999). Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. *Eur J Neurosci* 11: 1598–1604.
298. Rosenkranz, J. A., Moore, H. and Grace, A. A. (2003). The prefrontal cortex regulates lateral amygdala neuronal plasticity and responses to previously conditioned stimuli. *J Neurosci* 23: 11054–11064.
299. Rubino, T., Vigano, D., Massi, P., Spinello, M., Zagato, E., Giagnoni, G. and Parolaro, D. (2000). Chronic delta-9-tetrahydrocannabinol treatment increases cAMP levels and cAMP-dependent protein kinase activity in some rat brain regions. *Neuropharmacology* 39: 1331–1336.
300. Russell, S. J. and Norvig, P. N. (1995). *Artificial Intelligence: a modern approach*, Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey.





301. Salamone, J. D. (1994). The involvement of nucleus accumbens dopamine in appetitive and aversive motivation. *Behavioural Brain Research* 61: 117-133.
302. Salamone, J. D. and Correa, M. (2002). Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behav Brain Res* 137: 3-25.
303. Salamone, J. D., Correa, M., Mingote, S. M. and Weber, S. M. (2003). Nucleus accumbens dopamine and the regulation of effort in foodseeking behavior: implications for studies of natural motivation, psychiatry, and drug abuse. *J Pharmacol Exp Ther* 305: 1-8.
304. Sax, K. W. and Strakowski, S. M. (2001). Behavioral sensitization in humans. *J Addict Dis* 20: 55-65.
305. Schultz, W. (1998). Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol* 80: 1-27.
306. Schultz, W. (2004). Neural coding of basic reward terms of animal learning theory, game theory, microeconomics and behavioural ecology. *Curr Opin Neurobiol* 14: 139-147.
307. Schultz, W. and Dickinson, A. (2000). Neuronal coding of prediction errors. *Annual Review of Neuroscience* 23: 473-500.
308. Schultz, W., Apicella, P., Scarnati, E. and Ljungberg, T. (1992). Neuronal activity in monkey ventral striatum related to the expectation of reward. *Journal of Neuroscience* 12: 4595-4610.
309. Schultz, W., Dayan, P. and Montague, P. R. (1997). A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275: 1593-1599.
310. Schultz, W., Tremblay, L. and Hollerman, J. R. (1998). Reward prediction in primate basal ganglia and frontal cortex. *Neuropharmacology* 37: 421-429.
311. Schultz, W., Tremblay, L. and Hollerman, J. R. (2000). Reward processing in primate orbitofrontal cortex and basal ganglia. *Cereb Cortex* 10: 272-284.
312. See, R. E., Kruzich, P. J. and Grimm, J. W. (2001). Dopamine, but not glutamate, receptor blockade in the basolateral amygdala attenuates conditioned reward in a rat model of relapse to cocaine-seeking behavior. *Psychopharmacology (Berl)* 154: 301-310.
313. Sell, L. A., Morris, J., Bearn, J., Frackowiak, R. S., Friston, K. J. and Dolan, R. J. (1999). Activation of reward circuitry in human opiate addicts. *Eur J Neurosci* 11: 1042-1048.
314. Semenova, S. and Markou, A. (2003). Cocaine-seeking behavior after extended cocaine-free periods in rats: role of conditioned stimuli. *Psychopharmacology (Berl)* 168: 192-200.
315. Shaham, Y. and Stewart, J. (1996). Effects of opioid and dopamine receptor antagonists on relapse induced by stress and re-exposure to heroin in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 125: 385-391.
316. Shaham, Y., Erb, S. and Stewart, J. (2000). Stress-induced relapse to heroin and cocaine seeking in rats: a review. *Brain Research Reviews* 33: 13.
317. Shaham, Y., Highfield, D., Delfs, J., Leung, S. and Stewart, J. (2000). Clonidine blocks stress-induced reinstatement of heroin seeking in rats: an effect independent of locus coeruleus noradrenergic neurons. *Eur J Neurosci* 12: 292-302.
318. Shaham, Y., Shalev, U., Lu, L., De Wit, H. and Stewart, J. (2003). The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology (Berl)* 168: 3-20.
319. Shahan, T. A. (2002). The observing-response procedure: a novel method to study drug-associated conditioned reinforcement. *Exp Clin Psychopharmacol* 10: 3-9.
320. Shahan, T. A., Magee, A. and Dobberstein, A. (2003). The resistance to change of observing. *J Exp Anal Behav* 80: 273-293.
321. Shalev, U., Morales, M., Hope, B., Yap, J. and Shaham, Y. (2001). Time-dependent changes in extinction behavior and stress-induced reinstatement of drug seeking following withdrawal from heroin in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 156: 98-107.
322. Shaw-Lutchman, T. Z., Impey, S., Storm, D. and Nestler, E. J. (2003). Regulation of CRE-mediated transcription in mouse brain by amphetamine. *Synapse* 48: 10-17.
323. Shepard, J. D., Bossert, J. M., Liu, S. Y. and Shaham, Y. (2004). The anxiogenic drug yohimbine reinstates methamphetamine seeking in a rat model of drug relapse. *Biol Psychiatry* 55: 1082-1089.
324. Siegel, S. (1975). Evidence from rats that morphine tolerance is a learned response. *J Comp Physiol Psychol* 89: 498-506.
325. Siegel, S. (1976). Morphine analgesic tolerance: its situation specificity supports a Pavlovian conditioning model. *Science* 193: 323-325.
326. Siegel, S. (1988). Drug anticipation and the treatment of dependence. *NIDA Res Monogr* 84: 1-24.
327. Siegel, S. (1999). Drug anticipation and drug addiction. The 1998 H. David Archibald Lecture. *Addiction* 94: 1113-1124.
328. Siegel, S., Hinson, R. E., Krank, M. D. and McCully, J. (1982). Heroin 'overdose' death: contribution of drug-associated environmental cues. *Science* 216: 436-437.
329. Skinner, B. F. (1938). *The behavior of organisms: an experimental analysis*, Appleton, New York.
330. Skinner, B. F. (1953). *Science and Human Behavior*, Macmillan, New York.
331. Smith-Roe, S. L. and Kelley, A. E. (2000). Coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the nucleus accumbens core is required for appetitive instrumental learning. *J Neurosci* 20: 7737-7742.
332. Solanto, M. V., Arnsten, A. F. and Castellanos, F. X. (2001). *Stimulant drugs and ADHD: Basic and clinical neuroscience*, Oxford University Press, New York.
333. Solomon, R. L. (1980). Recent experiments testing an opponent-process theory of acquired motivation. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 40:271-289.
334. Solomon, R. L. (1980). The opponent-process theory of acquired motivation: the costs of pleasure and the benefits of pain. *Am Psychol* 35: 691-712.
335. Solomon, R. L. and Corbit, J. D. (1973). An opponent-process theory of motivation. II. Cigarette addiction. *J Abnorm Psychol* 81: 158-171.
336. Solomon, R. L. and Corbit, J. D. (1974). An opponent-process theory of motivation. I. Temporal dynamics of affect. *Psychol Rev* 81: 119-145.
337. Suzuki, A., Josselyn, S. A., Frankland, P. W., Masushige, S., Silva, A. J. and Kida, S. (2004). Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *Journal of Neuroscience* 24: 4787-4795.
338. Suzuki, T., George, F. and Meisch, R. (1988). Differential establishment and maintenance of oral ethanol reinforced behavior in Lewis and Fisher 344 inbred rat strains. *Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics* 245: 164-170.
339. Suzuki, T., George, F. and Meisch, R. (1992). Etonitazene delivered orally serves as a reinforcer for Lewis but not Fischer 344 rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 42: 579-586.
340. Suzuki, T., Otani, Y., Koike, M. and Misawa, M. (1998). Genetic differences in preferences for morphine and codeine in Lewis and Fischer 344 inbred rat strains. *Japanese Journal of Pharmacology* 47: 425-431.
341. Szymanski, N., Peris, L., Mesias, B., Colis, P., Rosa, J. and Prieto, A. (2005). Reboxetine for the treatment of patients with Cocaine Dependence Disorder. *Hum Psychopharmacol* 20: 189-192.
342. Taylor, J. R. and Horgor, B. A. (1999). Enhanced responding for conditioned reward produced by intra-accumbens amphetamine is potentiated after cocaine sensitization. *Psychopharmacology* 142: 31-40.
343. Taylor, J. R. and Robbins, T. W. (1984). Enhanced behavioural control by conditioned reinforcers following microinjections of amphetamine into the nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 84: 405-412.
344. Thomas, K. L., Arroyo, M. and Everitt, B. J. (2003). Induction of the learning and plasticity-associated gene Zif268 following exposure to a discrete cocaine-associated stimulus. *European Journal of Neuroscience* 17: 1964-1972.





345. Thomas, M. J. and Malenka, R. C. (2003). Synaptic plasticity in the mesolimbic dopamine system. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358: 815–819.
346. Thomas, M. J., Beurrier, C., Bonci, A. and Malenka, R. C. (2001). Long-term depression in the nucleus accumbens: a neural correlate of behavioral sensitization to cocaine. *Nat Neurosci* 4: 1217–1223.
347. Thorndike, E. L. (1905). *The Elements of Psychology*, Seiler, New York.
348. Thorndike, E. L. (1911). *Animal intelligence: experimental studies*, Macmillan, New York.
349. Tiffany, S. T. (1990). A cognitive model of drug urges and drug-use-behavior: Role of automatic and nonautomatic processes. *Psychological Review* 97: 147–168.
350. Tiffany, S. T. and Carter, B. L. (1998). Is craving the source of compulsive drug use? *J Psychopharmacol* 12: 23–30.
351. Tiffany, S. T. and Drobes, D. J. (1990). Imagery and smoking urges: the manipulation of affective content. *Addict Behav* 15: 531–539.
352. Toates, F. (1986). *Motivational systems*, Cambridge University Press, Cambridge.
353. Toga, A.W. et al. (2006). Mapping Brain Maturation, *Trends in Neurosciences* Vol.29 No.3
354. Tully, T., Bourchouladze, R., Scott, R. and Tallman, J. (2003). Targeting the CREB pathway for memory enhancers. *Nat Rev Drug Discov* 2: 267–277.
355. Turner, D. C., Clark, L. J., Robbins, T. W. and Sahakian, B. J. (2004). Mofafinil improves cognition and response inhibition in adult ADHD. *Biological Psychiatry* 55: 1031–1039.
356. Tyler, W. J., Alonso, M., Bramham, C. R. and Pozzo-Miller, L. D. (2002). From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learning and Memory* 9: 224–237.
357. Uhlénhuth, E. H., Johanson, C. E., Kilgore, K. and Kobasa, S. C. (1981). Drug preference and mood in humans: preference for d-amphetamine and subject characteristics. *Psychopharmacology (Berl)* 74: 191–194.
358. Umiltà, C. et al. (2007). *Il cervello*. Ed. Il Mulino
359. University Press, New York.
360. Valverde, O., Mantamadiotis, T., Torrecilla, M., Ugedo, L., Pineda, J., Bleckmann, S., Gass, P., Kretz, O., Mitchell, J. M., Schutz, G. and Maldonado, R. (2004). Modulation of anxiety-like behavior and morphine dependence in CREB-deficient mice. *Neuropsychopharmacology* 29: 1122–1133.
361. Vanderschuren, L. J. and Everitt, B. J. (2004). Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science* 305: 1017–1019.
362. Vanderschuren, L. J. M. J. and Kalivas, P. W. (2000). Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology* 151: 99–120.
363. Vezina, P. (2004). Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 827–839.
364. Volkow, N. D. and Li, T. K. (2004). Drug addiction: the neurobiology of behaviour gone awry. *Nat Rev Neurosci* 5: 963–970.
365. Volkow, N. D. and Li, T. K. (2004). Science and Society: Drug addiction: the neurobiology of behaviour gone awry. *Nat Rev Neurosci* 5: 963–970.
366. Volkow, N. D., Fowler, J. S. and Wang, G. J. (1999). Imaging studies on the role of dopamine in cocaine reinforcement and addiction in humans. *J Psychopharmacol* 13: 337–345.
367. Volkow, N. D., Fowler, J. S. and Wang, G. J. (2003). Positron emission tomography and single-photon emission computed tomography in substance abuse research. *Semin Nucl Med* 33: 114–128.
368. Volkow, N. D., Fowler, J. S. and Wang, G. J. (2003). The addicted human brain: insights from imaging studies. *J Clin Invest* 111: 1444–1451.
369. Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Logan, J., Gatley, S. J., Gifford, A., Hitzemann, R., Ding, Y. S. and Pappas, N. (1999). Prediction of reinforcing responses to psychostimulants in humans by brain dopamine D2 receptor levels. *Am J Psychiatry* 156: 1440–1443.
370. Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Logan, J., Gatley, S. J., Wong, C., Hitzemann, R. and Pappas, N. (1999). Reinforcing effects of psychostimulants in humans are associated with increases in brain dopamine and occupancy of D2 receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 291: 409–415.
371. Volkow, N., Kalivas, W. (2005). The Neural Basis of Addiction: A Pathology of Motivation and Choice, *Am J Psychiatry*, 162:8
372. Vorel, S. R., Ashby, C. R., Jr., Paul, M., Liu, X., Hayes, R., Hagan, J. J., Middlemiss, D. N., Stemp, G. and Gardner, E. L. (2002). Dopamine D3 receptor antagonism inhibits cocaine-seeking and cocaine-enhanced brain reward in rats. *J Neurosci* 22: 9595–9603.
373. Vorel, S. R., Liu, X., Hayes, R. J., Spector, J. A. and Gardner, E. L. (2001). Relapse to cocaine-seeking after hippocampal theta burst stimulation. *Science* 292: 1175–1178.
374. Walker, M. P., Brakefield, T., Hobson, J. A. and Stickgold, R. (2003). Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. *Nature* 425: 616–620.
375. Walter, B. L. and Vitek, J. L. (2004). Surgical treatment for Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 3: 719–728.
376. Walters, C. L. and Blendy, J. A. (2001). Different requirements for cAMP response element binding protein in positive and negative reinforcing properties of drugs of abuse. *J Neurosci* 21: 9438–9444.
377. Wang, S. H., Ostlund, S. B., Nader, K. and Balleine, B. W. (2005). Consolidation and reconsolidation of incentive learning in the amygdala. *J Neurosci* 25: 830–835.
378. Watts, V. J. (2002). Molecular mechanisms for heterologous sensitization of adenylate cyclase. *J Pharmacol Exp Ther* 302: 1–7.
379. Weiss, F., Markou, A., Lorang, M. T. and Koob, G. F. (1992). Basal extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens are decreased during cocaine withdrawal after unlimited-access self-administration. *Brain Research* 593: 314–318.
380. Weiss, R. D. and Mirin, S. M. (1986). Subtypes of cocaine abusers. *Psychiatr Clin North Am* 9: 491–501.
381. White, A. M. and Swartzwelder, H. S. (2004). Hippocampal function during adolescence: a unique target of ethanol effects. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1021: 206.
382. White, N. M. (1996). Addictive drugs as reinforcers: multiple partial actions on memory systems. *Addiction* 91(7): 921–949.
383. White, T. L., Justice, A. J. and de Wit, H. (2002). Differential subjective effects of D-amphetamine by gender, hormone levels and menstrual cycle phase. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 73: 729–741.
384. Wikler, A. (1965). Conditioning factors in opiate addiction and relapse. In *Narcotics* (Wilner, D. I. and Kessenbaum, G. G., eds.), pp. 85–100 McGraw-Hill, New York.
385. Will, M. J., Franzblau, E. B. and Kelley, A. E. (2003). Nucleus accumbens mu-opioids regulate intake of a high-fat diet via activation of a distributed brain network. *J Neurosci* 23: 2882–2888.
386. Wilson, C., Nomikos, G. G., Collu, M. and Fibiger, H. C. (1995). Dopaminergic correlates of motivated behavior: importance of drive. *J Neurosci* 15: 5169–5178.
387. Wilson, J. M., Kalasinsky, K. S., Levey, A. I., Bergeron, C., Reiber, G., Anthony, R. M., Schmunk, G. A., Shannak, K., Haycock, J. W. and Kish, S. J. (1996). Striatal dopamine nerve terminal markers in human, chronic methamphetamine users. *Nat Med* 2: 699–703.
388. Wise, R. A. (1981). Brain dopamine and reward. In *Theory in Psychopharmacology* Volume 1 (Cooper, S. J., ed.), pp. 103–122. Academic Press,



London.

389. Wise, R. A. (1982). Neuroleptics and operant behavior: the anhedonia hypothesis. *Behavioral and Brain Sciences* 5: 39-87.
390. Wise, R. A. and Bozarth, M. A. (1985). Brain mechanisms of drug reward and euphoria. *Psychiatr Med* 3: 445-460.
391. Yang, X., Diehl, A. M. and Wand, G. S. (1996). Ethanol exposure alters the phosphorylation of cyclic AMP responsive element binding protein and cyclic AMP responsive element binding activity in rat cerebellum. *J Pharmacol Exp Ther* 278: 338-346.
392. Young, A. M. (2004). Increased extracellular dopamine in nucleus accumbens in response to unconditioned and conditioned aversive stimuli: studies using 1 min microdialysis in rats. *J Neurosci Methods* 138: 57-63.
393. Yucel, M. et al. (2007). Understanding drug addiction: a neuropsychological perspective. *Aust N Z J Psychiatry*. 2007 Dec;41(12):957-68.
394. Zhang, M. and Kelley, A. E. (2000). Enhanced intake of high-fat food following striatal mu-opioid stimulation: microinjection mapping and fos expression. *Neuroscience* 99: 267-277.
395. Zhang, M. and Kelley, A. E. (2002). Intake of saccharin, salt, and ethanol solutions is increased by infusion of a mu opioid agonist into the nucleus accumbens. *Psychopharmacology (Berl)* 159: 415-423.
396. Zhang, M., Gosnell, B. A. and Kelley, A. E. (1998). Intake of high-fat food is selectively enhanced by mu opioid receptor stimulation within the nucleus accumbens. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 285: 908-914.
397. Zhu, J. (2004). Understanding volition. *Philosophical Psychology* 17: 247-273.
398. Zink, C. F., Pagnoni, G., Martin-Skurski, M. E., Chappelow, J. C. and Berns, G. S. (2004). Human striatal responses to monetary reward depend on saliency. *Neuron* 42: 509-517.





15.4 ALLEGATO D

La mappatura della maturazione del cervello

Arthur W. Toga, Paul M. Thompson, Elizabeth R. Sowell

La maturazione del cervello umano è un processo complesso, che dura tutta la vita, che può essere ora esaminato in dettaglio attraverso tecniche di neuroimaging. Progetti in corso scannerizzano soggetti longitudinalmente con l'imaging a risonanza magnetica strutturale (MRI), consentendo il corso del tempo e la sequenza anatomica dello sviluppo da ricostruire. Qui vengono esaminati i recenti progressi degli studi di imaging sullo sviluppo. Ci focalizziamo sui cambiamenti corticali e subcorticali osservati nei bambini sani, e li contrapponiamo con cambiamenti anomali dello sviluppo nella schizofrenia con esordio precoce, nella sindrome alcolica fetale, nel disturbo da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) e nella sindrome di Williams. Noi associamo questi cambiamenti strutturali ai processi cellulari che li sottendono, e ai cambiamenti cognitivi e comportamentali che avvengono durante l'infanzia e l'adolescenza.

Introduzione

Il corso dinamico della maturazione del cervello è uno degli aspetti più affascinanti della condizione umana. Nonostante il cambiamento e l'adattamento del cervello siano parte di un processo lungo tutta la vita, le prime fasi di maturazione – durante lo sviluppo fetale e l'infanzia – sono forse i più sensazionali e i più importanti. Infatti, molto del potenziale e molte delle vulnerabilità del cervello potrebbero, in parte, dipendere dai primi due decenni di vita. La corteccia e la materia grigia subcorticale del nucleo sviluppano durante la vita fetale in una sequenza orchestrata attentamente di proliferazione di cellule, migrazione e maturazione. Questo porta al cervello umano con circa 100 miliardi di neuroni alla nascita. Comunque, il cervello di un bambino appena nato è soltanto da un quarto ad un terzo del suo volume adulto, e continua a crescere e a specializzarsi secondo un preciso programma genetico, con modifiche guidate dalle influenze ambientali, sia positive che negative. Con stimolazione ed esperienza, i rami dendritici di neuroni aumentano notevolmente, al pari del numero delle connessioni sinaptiche. Quando gli strati di lipidi si sovrappongono sugli assoni attraverso il processo di mielinazione, la velocità di conduzione delle fibre che mette in relazione le diverse aree cerebrali aumenta di circa 100 fold. Questo aumento esuberante delle connessioni del cervello è seguito da un processo enigmatico di "pruning" dendritico e di eliminazione della sinapsi, che porta ad una più efficiente serie di connessioni che sono continuamente rimodellate per tutta la vita.

I cambiamenti sinaptici e la mielinazione

Quando Huttenlocher iniziò a dimostrare questa successione di eventi nel cervello umano, l'imaging a risonanza magnetica (MRI) era ancora ai suoi esordi. Il suo lavoro istologico negli anni 1980 aprirono la strada mostrando che il corso-tempo per lo sviluppo sinaptico e la potatura nel cervello umano varia enormemente a seconda dell'area cerebrale. Per esempio, nella corteccia visiva, l'overproduzione sinaptica raggiunge un massimo al quarto mese postnatale circa. In seguito ha inizio l'eliminazione della sinapsi, e questo continua fino all'età prescolare, attraverso la quale la densità sinaptica ha raggiunto il livello adulto. Ma nella corteccia prefrontale mediale, un'area del cervello coinvolta nelle funzioni esecutive, attentive e regolatorie, il picco ha luogo a 3-4 anni di età, e un declino notevole che non ha luogo fino all'adolescenza media-tarda [1].

Un primo lavoro di Yakovlev e Lecours ha documentato la progressione della mielinazione nello sviluppo del cervello umano [2]. Un lavoro più recente di Benes et al. con campioni più ampi ha mostrato risultati simili, con la mielinazione che continua bene nel terzo decennio di vita [3]. In modo interessante, il modello spaziale e temporale di questi cambiamenti cellulari sembrava essere parallelo ai cambiamenti dello sviluppo nella densità sinaptica. Posto semplicemente, la mielinazione delle aree del cervello più dorsali responsabili delle funzioni cognitive più elevate sembrava continuare bene nell'adolescenza, e più strutture ventrali e profonde – alcune delle quali sono responsabili delle funzioni relativamente più primitive – erano mielinate precedentemente.

In ogni caso, la successione della mielinazione potrebbe essere più complessa di questa. Un problema con molte interpretazioni del lavoro di Yakovlev e Lecours [2], e di simili studi di mielogenesi, è che i sistemi dorsale e ventrale non mielinano alla fine allo stesso grado: in media, la corteccia dorsale, al culmine della sua maturità, è meno mielinata della corteccia ventrale. Perciò, se la mielinazione ha preso lo stesso tempo-corso, poi a qualsiasi momento le aree che mielinano più pienamente apparirebbero più mielinate di quelli che mielinano meno. Perciò, quando il livello di mielinazione viene osservato su sezioni macchiate istologicamente o in scansioni MRI del cervello, uno deve inoltre considerare l'ultimo grado di mielinazione per ciascun sistema. Recenti ricerche di studio



di modelli di molecole, e i livelli di proliferazione e di migrazione neuronale, mostrano un modello più complesso di maturazione corticale, che hanno luogo principalmente da un polo rostrale-laterale-ventrale verso un polo dorsale-mediale-caudale [ref. 4].

Questa evidenza istologica ha indicato che lo sviluppo del cervello è un processo dinamico di cambiamenti progressivi e regressivi. Ma l'istologia ha fornito soltanto evidenze molto frammentate della maturazione tarda del cervello, data la scarsità di dati post-mortem derivanti dall'infanzia e dall'adolescenza. Al contrario, la MRI può documentare in modo non invasivo questi processi su larga scala dello sviluppo del cervello, può fornire informazioni nella sequenza e nel tempo di questi processi di sviluppo negli esperimenti longitudinali, e può documentare in che modo questi hanno luogo negli esseri viventi.

Studi iniziali di brain-imaging

I primi studi di brain-imaging strutturale quantitativi nei bambini normali attraverso MRI sono stati condotti alla fine degli anni 1980 e nei primi anni 1990. Terry Jernigan e colleghi dimostrarono che i giovani adulti avevano effettivamente meno materia grigia corticale rispetto ai bambini, nonostante gli adulti avessero in qualche modo un volume cerebrale complessivo maggiore [5]. Riconstrarono che il volume della materia grigia in genere diminuisce dopo i 7 anni, forse perché l'aumento della materia bianca (ossia la mielinazione) durante tutta l'infanzia cominciava a raggiungere il livello complessivo di espansione del volume cerebrale, determinando una netta diminuzione della quantità di tessuto che appare grigio (o non melinata) su MRI. Determinarono poi, che i tempi relativi alla perdita di materia grigia erano diversi nelle varie aree cerebrali: venne osservata dapprima una perdita del nucleo motorio profondo nella prima infanzia, successivamente nei lobi parietali e frontali intorno alla pubertà [6]. Nonostante la MRI non abbia valutato la densità sinaptica di per sé, questa era la prima prova in vivo che supportava i risultati post-mortem di Huttenlocher e di Yakivlev e Lecours.

Parcellazione anatomica e mappatura

Gli studi sopra menzionati hanno utilizzato un metodo chiamato parcellazione volumetrica. In questo approccio, il cervello viene suddiviso in diverse aree anatomiche separate con diverse funzioni (ad es. il lobo frontale, il nucleo motorio profondo o l'ippocampo), e i loro volumi vengono misurati (figura 1).

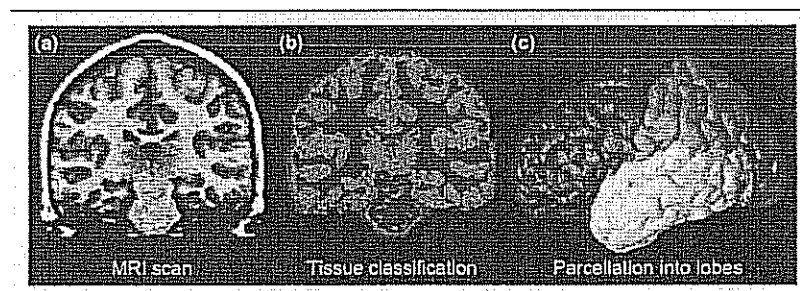


Figura 1.

Tipiche fasi di elaborazione in una analisi delle scansioni del cervello con MRI. (a) Una tipica sezione coronale da una scansione T1 appesantita del cervello con MRI. (b) Il risultato dell'applicazione di un approccio che prevede la classificazione del tessuto per classificare i voxel dell'immagine come materia grigia (verde), materia bianca (blue) o fluido cerebrospinale (CSF; rosso). Tessuti non cerebrali quali la cotenna e le meningi intorno al cervello sono stati compilati digitalmente dall'immagine. (c) Parcellazione del cervello in lobo frontale (blu), lobo parietale (verde), lobo occipitale (rosso) e lobo temporale (giallo). Questa suddivisione anatomica viene effettuata con l'aiuto di un modello di superficie corticale sul quale le pietre del sulcus che separano i lobi possono essere identificati in maniera affidabile. Una volta parcellizzata in questo modo, i volumi di ciascun tipo di tessuto nei lobi principali possono essere computerizzati e i diagrammi di crescita stabiliti per ciascun lobo principale. La quantità di materia grigia e bianca nel cervello e di CSF nei ventricoli e nei sulci corticali può essere computerizzata e confrontata tra i soggetti e nel tempo. Le mappe di questi tipi di tessuti (b) possono essere utilizzate per calcolare la forma, la misura e altre statistiche, e possono essere suddivisi in aree più piccole per determinare la quantità di ciascun tipo di tessuto in ciascun lobo (c).

La parcellazione consente la compilazione di curve di crescita che documentano il modo in cui i volumi delle aree variano con l'età. I risultati vengono illustrati attraverso l'utilizzo di diagrammi a dispersione ma le misurazioni delle aree sono limitate dalle strutture anatomiche e possono anche essere visualizzate in maniera affidabile e definite attraverso la MRI.

Alla fine degli anni 1990, alcuni gruppi iniziarono a creare mappe tridimensionali delle strutture del cervello in via di sviluppo [4,7-12] mostrando, per esempio, il modello di cambiamento medio, correlato all'età, dello spessore di materia grigia tra l'infanzia e l'età adulta. Più di recente, queste tecniche di mappatura sono diventate più popolari perché in grado di fornire maggiori dettagli visivi e statistiche di gruppo relative ai livelli di cambiamento e alla loro



variazione nelle varie aree. Possono essere anche effettuate delle animazioni relative al trascorrere del tempo per illustrare i cambiamenti.

Numerose delle funzioni base del cervello, quali la vista, l'udito, il linguaggio, la pianificazione ed il controllo emotivo vengono gestiti principalmente nella corteccia, così come molto del lavoro di mappatura dello sviluppo del cervello è stato focalizzato sulla corteccia, nonostante alcuni gruppi abbiano studiato la materia grigia corticale. L'obiettivo della mappatura corticale è quello di creare mappe di caratteristiche corticali di interesse quali lo spessore della materia grigia, la densità della materia grigia, la forma corticale, il modello medio sulcale e asimmetrie emisferiche, le quali cambiano tutte durante lo sviluppo (per metodi, vedi [13]). Successivamente, vengono definite le statistiche che aiutano a localizzare gli effetti su queste misure, quali quelle delle riduzioni localizzate o aumenti nella densità di materia grigia o spessore e crescita del cervello.

Cambiamenti della materia grigia e bianca

I primi studi cross-sezionali cerebrali pediatrici con MRI sui normali cambiamenti dello sviluppo hanno dimostrato che il volume della materia grigia si riduceva dopo i 6-7 anni di età e continuava a diminuire durante l'adolescenza, mentre il volume della materia bianca aumentava linearmente nel tempo. In uno dei primi studi tuttavia, che prevedeva la compilazione di diagrammi di crescita relativi al volume dei diversi lobi del cervello in relazione all'aumento dell'età (cioè studi longitudinali piuttosto che cross-sezionali) *l' cambiamenti sinaptici e la mielinazione* Quando Huttenlocher iniziò a dimostrare questa successione di eventi nel cervello umano, l'imaging a, c'è stato un chiaro aumento lineare della materia bianca fino a 20 anni, mentre nella materia grigia corticale ci sono stati cambiamenti non-lineari. Giedd et al. hanno dimostrato un aumento nella preadolescenza, con picchi intorno ai 12 anni per il lobo frontale e parietale, e intorno ai 16 anni per il lobo temporale. Dopo di questo, si verifica una perdita di materia grigia.

Più di recente, un altro studio sull'età evolutiva ha quantificato lo sviluppo corticale umano misurando la densità della materia grigia in ciascun lobo, punto per punto [14]. Questa mappa è stata costruita da scansioni del cervello seriali con MRI di 13 bambini seguiti per un periodo di 10 anni. I bambini sono stati sottoposti a scansioni ogni due anni per otto anni dal momento del reclutamento, e ad un colloquio diagnostico strutturato per ogni visita per confermare l'assenza di un disturbo psichiatrico.

Questo studio ha misurato quali aree cerebrali si modificano tra i 4 e i 21 anni di età e ha illustrato queste statistiche come un filmato del passare del tempo. Questo ha rivelato un cambiamento della perdita di materia grigia, che compare dapprima (intorno ai 4-8 anni di età) nelle aree dorsale parietale e nel sensorio motore principale vicino al margine interemisferico, e si diffonde lateralmente e caudalmente nelle corteccie temporali e anteriormente nelle aree prefrontali dorsolaterali. Le prime aree a maturare erano quelle con la maggior parte delle funzioni base, quale quelle che elaborano i sensi e il movimento. Seguivano le aree coinvolte nell'orientamento spaziale e nel linguaggio (lobi parietali), circa nell'età della pubertà (11-13 anni). Le aree con più funzioni avanzate – l'integrazione delle informazioni dai sensi, il ragionamento ed altre funzioni esecutive (per esempio la corteccia prefrontale) - maturavano per ultime, in tarda adolescenza. Questa successione forniva inoltre la prova che le aree corticali filogeneticamente più vecchie maturavano prima delle corteccie sviluppatesi più di recente, che integrano informazioni dalla corteccia che matura prima.

Spessore corticale

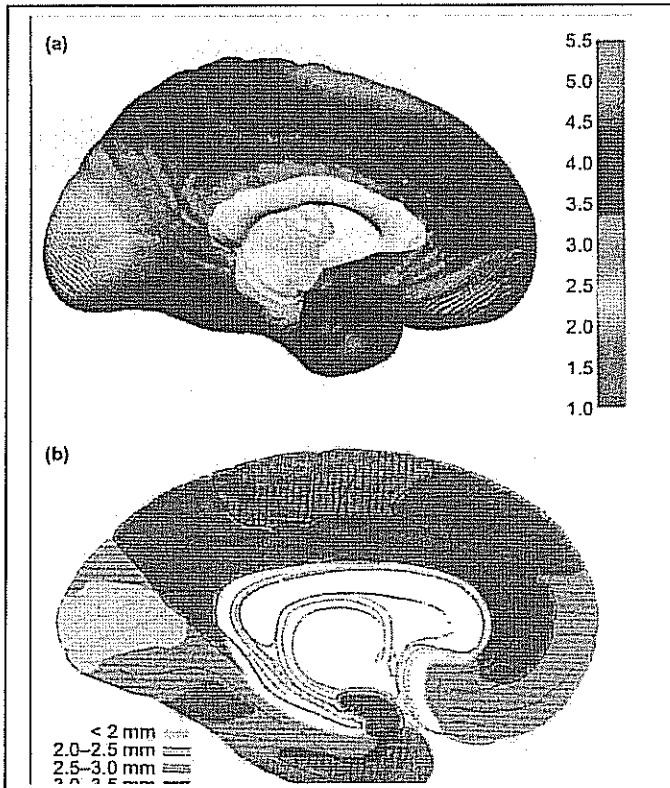
In un altro studio longitudinale, i cambiamenti dello spessore corticale sono stati misurati (in millimetri) in un gruppo di 45 bambini in normale via di sviluppo studiati tra i 5 e gli 11 anni di età [12]. Ciascun bambino veniva sottoposto a scannerizzazione per due volte a distanza di due anni. Sono state create delle mappe relative allo spessore corticale per ciascuno e la media dello spessore corticale delle mappe risultava notevolmente simile alle mappe create dai dati post-mortem di von Economo [15]. Lo spessore medio medio corticale dei ragazzi in normale via di sviluppo e derivante dai dati post-mortem è evidenziato nella figura 2.

Come si può osservare sulla superficie mediale del cervello, la corteccia è assai spessa negli aspetti più dorsali dei lobi frontali e parietali (intorno a 4-5mm), e molto sottile nelle corteccie visive dei lobi occipitali intorno al sulcus calcarine (2.0-2.5 mm). Questi dati rivelavano un assottigliamento corticale di circa 0.15-0.30 mm all'anno in bambini in normale via di sviluppo, la maggior parte per lo più nelle aree dorsale frontale a destra e bilaterale parietale. E' stato osservato un' ispessimento corticale con un aumento di circa 0.10-0.15 mm all'anno nelle aree del linguaggio classiche dei lobi temporali e frontali (figura 3).

Il cervello cresceva ad un livello di circa 0.4-1.5 mm all'anno in molte aree, per lo più nelle aree frontali e occipitali. Questo modello di risultati è simile a quello osservato nei dati cross-sezionali e longitudinali della normale maturazione del cervello [4-16], ma i nuovi metodi hanno permesso di valutare i cambiamenti dello spessore corticale in millimetri per la prima volta. Inoltre, questo studio ha confermato che cambiamenti dinamici ma distinti si verificano nelle regioni del linguaggio posteriori temporali e frontali, in cui la materia grigia continua a crescere in spessore. Noi ipotizziamo che i cambiamenti corticali in queste regioni potrebbero essere riferiti a capacità nel

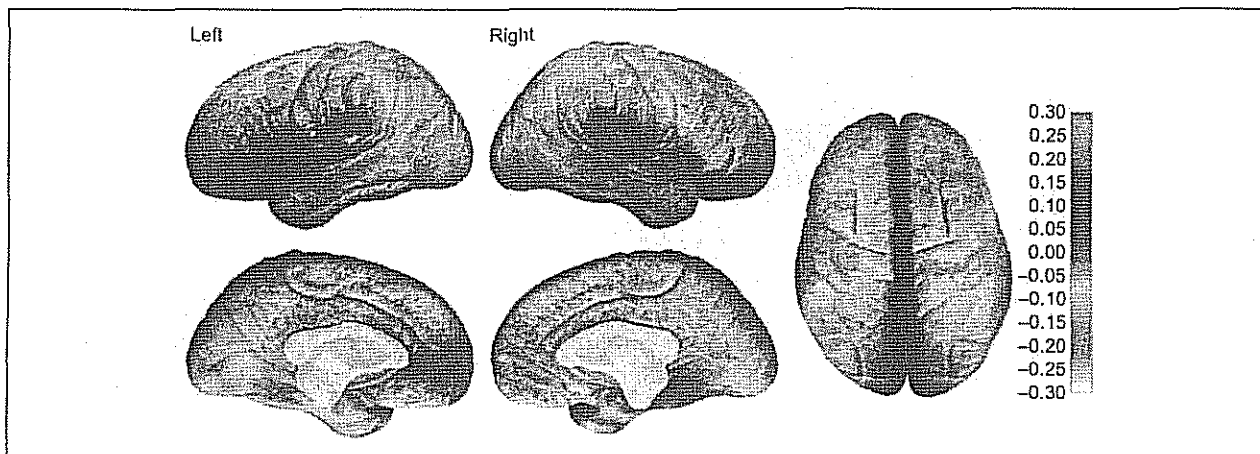
cambiamento del linguaggio che continuano dopo 5 anni di età (es. cambiamenti nella capacità di lettura) [12]. Sono in corso studi di imaging funzionale e strutturale per testare

Figura 2



Mappe relative allo spessore corticale. (a) Una mappa in vivo relativa allo spessore medio corticale creato da bambini in normale via di sviluppo alla loro prima scansione (12). La superficie del cervello è codificata con il colore secondo la barra a destra, dove viene mostrato lo spessore in millimetri. Lo spessore medio della mappa può essere confrontato con una versione adattata del 1929 alla mappa dello spessore corticale di von Economo (15). (b) La codificazione con il colore è stata applicata nel suo modello originale di incisione a retino, rispettando i limiti del suo lavoro originale, per evidenziare le somiglianze tra le due mappe. Riprodotto previa autorizzazione, da (12).

Figura 3



Grado di cambiamento annualizzato dello spessore corticale. Il livello medio di cambiamento dello spessore corticale viene presentato in millimetri a seconda della barra di colore sulla destra (la massima perdita di materia grigia viene mostrata in ombre di rosso e il massimo acquisto di materia grigia in ombre di blu). Sono stati sottoposti a scansione per due volte (a distanza di due anni) 45 bambini tra i 5 e gli 11 anni di età. Riproduzione autorizzata da (12).

Correlazioni cognitive

Cambiamenti dello spessore corticale durante il normale sviluppo si riferiscono a cambiamenti cognitivi che si verificano quando i bambini e gli adolescenti maturano. Negli stessi 45 bambini in via di sviluppo normale già descritti, l'assottigliamento corticale nei lobi sinistro dorsale frontale e parietali era correlato con un miglioramento della rendimento su un test di funzionamento generale verbale intellettuale [12-16]. Un assottigliamento maggiore della materia grigia dell'emisfero sinistro è stato associato ad un miglioramento del rendimento su un sottotest di vocabolario standardizzato per misurare il QI [17] (figura 4).

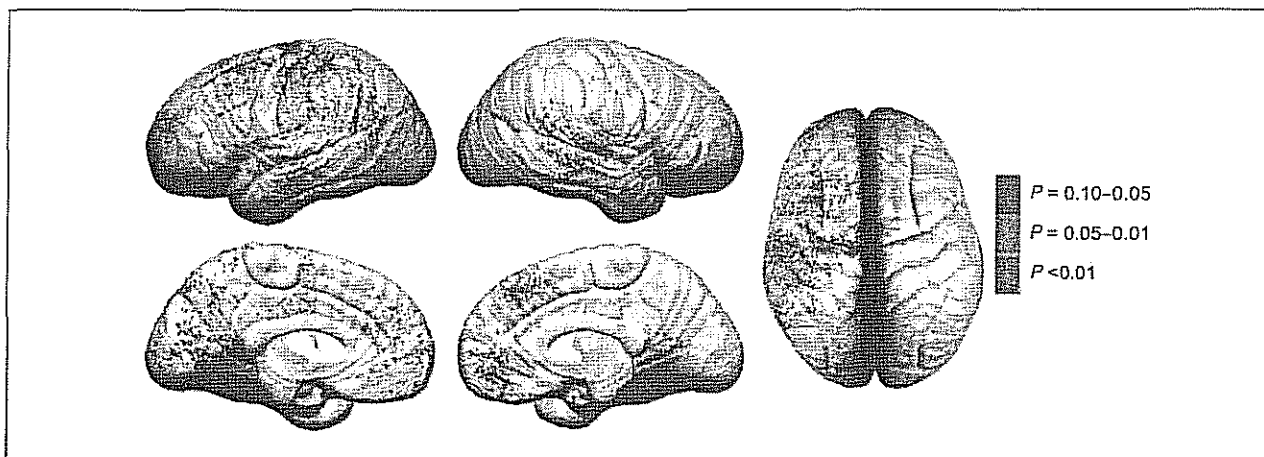


Figura 4

Mappe del comportamento cerebrale per il vocabolario e lo spessore corticale. I valori P sono per le correlazioni negative tra il cambiamento dello spessore corticale (tempo 2 meno tempo 1, come indicato nella figura 2 di (12) e i punteggi relativi al cambiamento del vocabolario (tempo 2 meno tempo 1). I valori P negativi (cioè le regioni in cui un maggiore assottigliamento è stato associato ad un maggiore assottigliamento del vocabolario) sono codificate attraverso il colore, e le regioni in bianco non hanno mostrato alcuna associazione significativa. Le correlazioni positive non risultavano significative nelle analisi di permutazione per ciascuna delle regioni di interesse, e non sono qui indicate. Riproduzione autorizzata da (12).

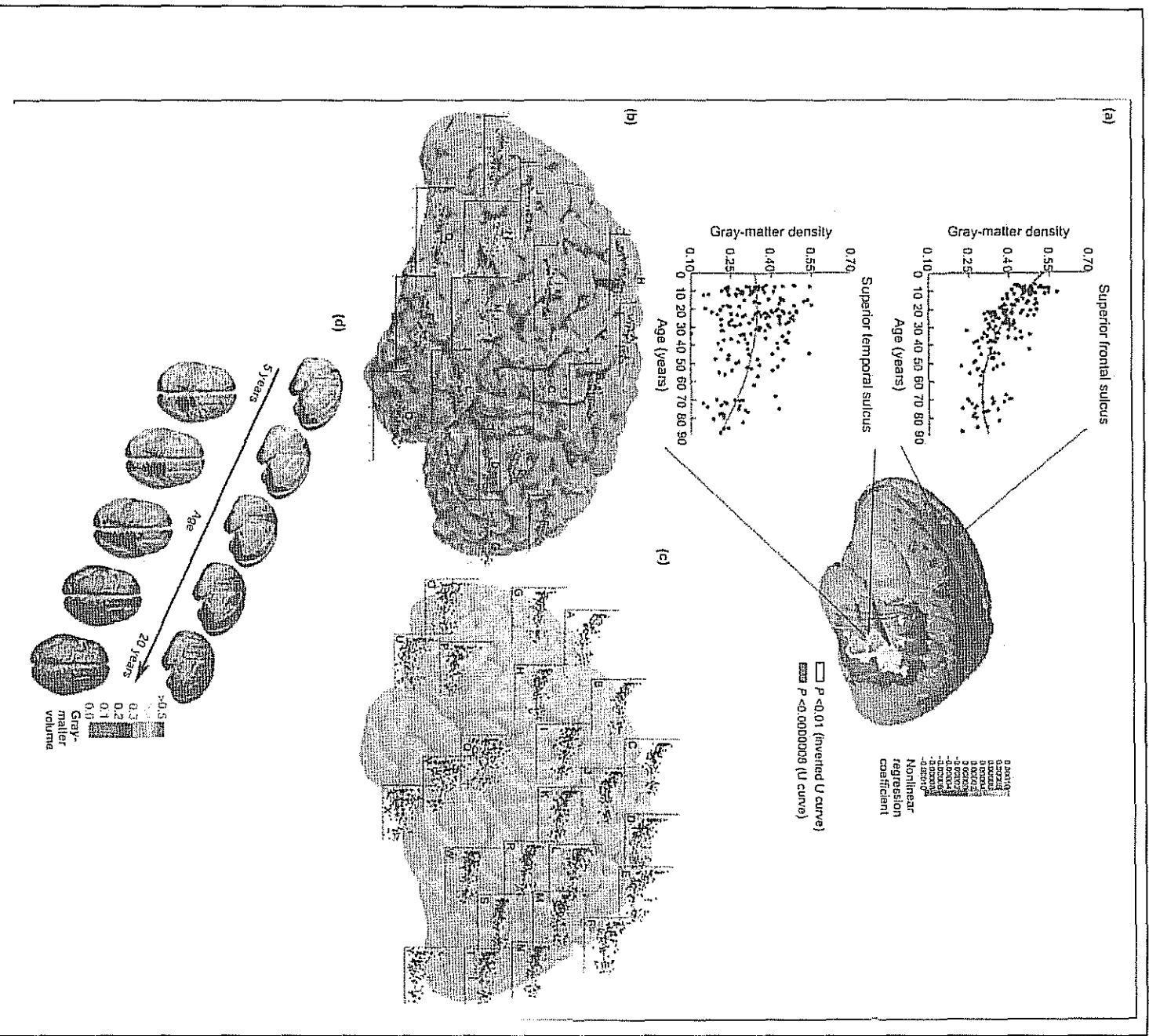
Quando le analisi di permutazione sono state condotte per correggere i confronti multipli nelle analisi cervello-comportamento, il cambiamento dello spessore corticale era correlato con il cambiamento della misura comportamentale soltanto nella corteccia dorsale frontale e parietale dell'emisfero sinistro. La corteccia in queste



regioni tende ad assottigliarsi con l'aumentare dell'età. In questo modo, i risultati della relazione negativa tra lo spessore corticale ed i miglioramenti del vocabolario sono coerenti con ciò che ci si aspetterebbe. Considerando questi dati, sembra ragionevole ipotizzare che i cambiamenti del cervello si riferiscano a cambiamenti cognitivi durante lo sviluppo, anche se alcuni studi hanno trattato questo aspetto.

Cambiamenti corticali nel corso della vita

Gli studi di mappatura del cervello della normale maturazione del cervello descritti qui sono stati limitati dai gradi di età dei soggetti studiati. Hanno mostrato chiaramente i modelli regionali e temporali dei cambiamenti dinamici di maturazione che continuano attraverso l'infanzia e l'adolescenza. In ogni caso, potrebbero permettere di arrivare alla conclusione sul punto finale nella scultura corticale (che probabilmente è il risultato di un aumento della mielinazione e dello sfondamento sinaptico) poiché non valutavano gli individui < 30 anni di età. Questo argomento è stato preso in esame in uno studio di un ampio campione di individui normali (n = 176) nel corso della vita (7-87 anni di età) [11]. Effetti significativi, non in linea con l'età sono stati osservati in ampie aree degli aspetti più dorsali delle regioni frontali e parietali su entrambe le superfici laterali e interemisferiche e nella corteccia orbitofrontale. I diagrammi di questi effetti rivelavano un notevole declino nella densità della materia grigia tra i 7 e i 60 anni di età, con un declino successivo minimo o addirittura nullo. Un esempio di grafico dell'effetto quadratico dell'età sulla densità della materia grigia ad un punto della superficie cerebrale sul sulco superiore frontale viene indicato nella figura 5, ed è simile alle mappe delle regioni dorsali frontali e parietali. In particolare, gli aspetti più laterali del cervello nei lobi posteriori laterali e inferiori parietali mostravano bilateralmente un modello distinto di cambiamento della materia grigia, uno nel quale gli effetti non lineari all'età erano inversamente proporzionali agli effetti dell'età nelle corteccie più dorsali. Un lieve aumento della densità della materia grigia è stato osservato fino a circa 30 anni di età, e poi è rimasto stabile fino a declino precipitoso nel decennio successivo. Come indicano questi dati, la traiettoria dei cambiamenti maturazionali potrebbero continuare oltre l'adolescenza e nella giovinezza, e può essere valutata soltanto usando una gamma di età estesa. La questione di quando i cambiamenti maturazionali del cervello diventano cambiamenti più degenerativi dell'invecchiamento diventa anche più toccante quando si considerano questi dati (per una discussione dettagliata, vedi [18]). Gli ultimi sistemi che maturano sono anche tra i primi a degenerare in malattie quali l'Alzheimer; il loro più elevato grado di plasticità durante la vita potrebbe renderli più vulnerabili alla neurodegenerazione [19-21]



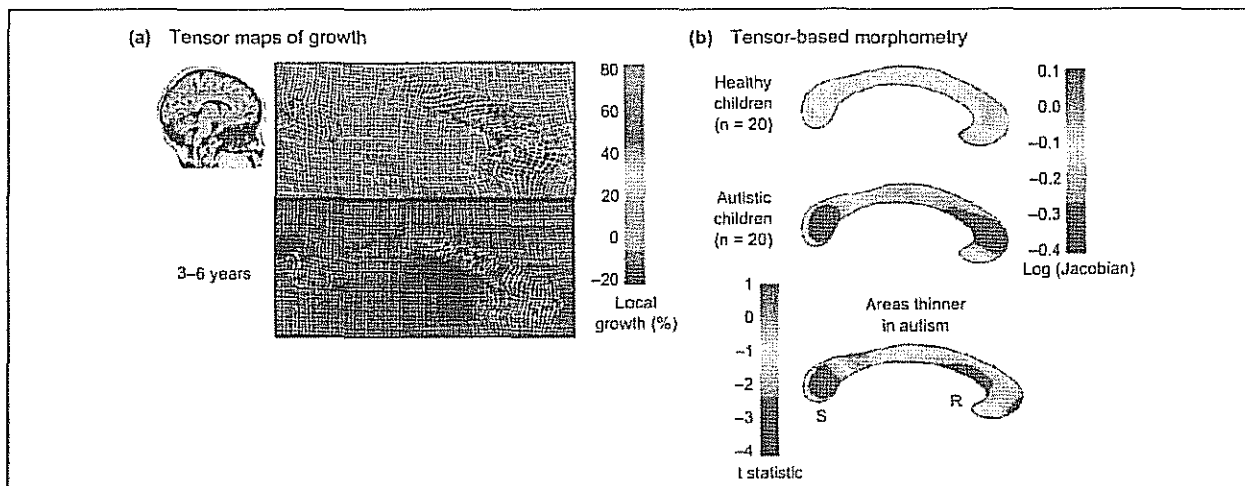


Figura 5. Mappe del comportamento cerebrale nel tempo. I cambiamenti cerebrali durante lo sviluppo possono essere identificati inserendo modelli statistici dipendenti dal tempo a i dati raccolti dai soggetti in modo cross-sezionale (cioè tra un gruppo di soggetti in un particolare momento), in modo longitudinale (cioè seguendo singoli soggetti durante la crescita), o entrambi. Misure quali lo spessore corticale vengono successivamente tracciate sopra la corteccia usando un colore codificato. (a,b) Traiettorie della perdita di materia grigia nel corso della vita umana, basata su una coorte di 176 soggetti di 7-87 anni (11). I tracciati sovrapposti sul cervello in (b) mostrano in che modo la densità di materia grigia diminuisce in determinate aree; (a) mette in evidenza esempi di aree in cui la densità di materia grigia diminuisce rapidamente durante l'adolescenza (nel sulcus frontale superiore) o segue un percorso di tempo con un declino più costante durante la vita (il sulco temporale superiore). (c,d)

Cambiamenti subcorticali durante lo sviluppo

La maggior parte degli studi di mappatura del cervello si sono focalizzati, ma i cambiamenti dello sviluppo nelle strutture subcorticali sono state caratterizzate. Per esempio, uno studio ha mappato un'onda di crescita fronto-retro attraverso il corpo calloso a 3-5 anni di età [22] (Figura 6). La continua mielinizzazione delle fibre interemisferiche è il risultato di un'aumento della velocità di conduzione assonale e della trasmissione di informazioni tra gli emisferi cerebrali. Forse la principale sorpresa derivante dagli studi subcorticali è la perdita di volume progressivo nel nucleo profondo della materia grigia-specialmente il caudato - intorno alla pubertà. In contrapposizione ai gangli basali, le strutture di materia grigia del lobo temporale (l'amigdala e l'ippocampo) sembra crescere in volume durante l'infanzia e l'adolescenza.

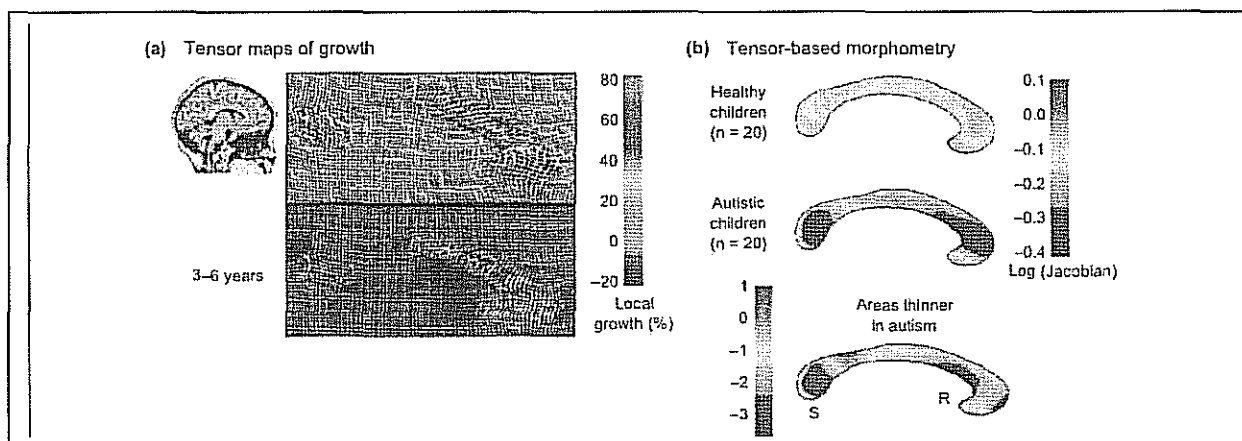
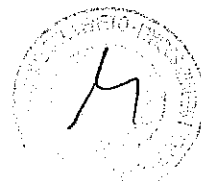


Figura 6. Mappe del tensore di crescita morfometria basata sul tensore. (a) Il corpo calloso (indicato dalla casella verde) di una bambina sana di tre anni in una sezione sagittale proveniente da una scannerizzazione con MRI tridimensionale. Utilizzando una scannerizzazione di follow up tre anni dopo, viene calcolato un campo di deformazione elastica che allinea digitalmente o deforma l'anatomia del punto del momento precedente per unire la sua forma al punto del tempo successivo. La quantità di allungamento locale dell'anatomia è codificata dal colore, cosa che indica i gradi di crescita più veloci (rosso) nel corpo calloso anteriore. In un approccio correlato (b), le mappe possono essere compilate per rappresentare il fattore di espansione media richiesto per deformare la forma di un corpo calloso medio in modo elastico su ciascun soggetto in un gruppo di bambini sani e di bambini artistici a confronto. Questo identifica le aree del corpo calloso che sono più sottili nei bambini artistici, individuando dove la crescita di materia bianca anomala potrebbe portare al disturbo nella prima infanzia. La lettera S e R denotano lo splenio e il rostro del corpo calloso rispettivamente. I dati in (a) sono adattati con l'autorizzazione di [22]; (b) è adattato con l'autorizzazione di [53].





Relazione con i cambiamenti cellulari

Non possiamo concludere direttamente quali sono i cambiamenti cellulari coinvolti nei processi maturazionali dinamici qui descritti. La MRI misura i cambiamenti nel volume e nella densità delle strutture cerebrali, ma manca della risoluzione per caratterizzare il meccanismo cellulare (es. il rimodellamento dendritico, la morte cellulare, lo sfondamento sinaptico o mielinazione) di tali cambiamenti. Inoltre, il volume della materia grigia e lo spessore riflettono non solo i processi dendritici e sinaptici che si verificano nei neuroni ma anche la complessa architettura di neuroni, glia (cioè la mielina) la vascolarizzazione. Possiamo comunque, dire che i cambiamenti della materia grigia descritti in questo articolo sono ben correlati con la successione post-mortem dell'aumento dello sfondamento sinaptico variabile a seconda delle aree e della mielinazione durante l'adolescenza e la giovinezza.

L' MRI fetale e neonatale

La mappatura dei cervelli fetale e neonatale presenta un'altra serie di sfide pratiche e tecniche. A parte l'ovvia difficoltà di ottenere immagini libere da movimento artefatto, a queste età il grado di mielinazione produce molto meno contrasto nelle immagini ottenute attraverso la sequenza di pulsazioni più comunemente sequenze applicate T1 e T2 . Tuttavia, notevoli informazioni nella precedente mielinazione e differenziazione del telencefalo e diencefalo possono essere viste attraverso l'imaging di fasi fetali in utero attraverso i primi sei mesi dopo la nascita [23]. Questi risultati di imaging sono coerenti con le misure post-mortem dell'aumentata mielinazione prima della nascita [24-26]. Una generale progressione caudale-rostrale può essere apprezzata in questo gruppo. Inoltre, la differenziazione morfologica di diverse strutture quali le capsule interne (una struttura di materia bianca che separa il nucleo lentiforme dal caudato e dal talamo dorsale) precede cambiamenti nella materia bianca, spesso da numerosi mesi. L'utilizzo di una sequenza di impulsi specifica della risonanza magnetica, in un approccio chiamato imaging del tensore di diffusione (DTI), può anche aiutare a caratterizzare i cambiamenti associati alla mielinazione . Neil et al. [27] hanno riscontrato notevoli cambiamenti generalizzati nei coefficienti di diffusione apparente dell'acqua e di diffusione anisotropa. Questi parametri di diffusione, misurabili attraverso il DTI, sono sensibili localmente al livello di mielinazione (che fornisce la resistenza alla diffusione dell'acqua) e all'orientamento delle fibre (che costringe le principali direzioni della diffusione dell'acqua ad allinearsi con gli asoni). Gli more et al. [28] hanno riscontrato significativi aumenti nell'anisotropia frazionale nelle regioni anteriore e posteriore (genu e splenio) del corpo calloso durante lo sviluppo che riflette cambiamenti al contenuto d'acqua e alla citoarchitettura durante la maturazione.

Malattie dello sviluppo

Possono anche essere create delle mappe statistiche per valutare effetti di gruppo quali differenze nella struttura del cervello tra i bambini sani e quelli con disturbi neuropsichiatrici quali schizofrenia, il disturbo bipolare o da deficit di attenzione-iperattività (ADHD), quelli con disturbi genetici dello sviluppo del cervello quali la sindrome di Williams (WS; un disturbo del ritardo mentale), e quelli esposti ai teratogeni durante lo sviluppo del cervello, come i bambini con la sindrome alcolica fetale (FAS). Le mappe risultanti possono rivelare dove sono localizzate le differenze del cervello, quanto significative esse sono, e – a seconda del disegno di studio – se sono stabili o progressive [29].

Riduzioni significative dal punto di vista statistico o incrementi nelle strutture misurate di materia grigia o bianca vengono comunemente riscontrate in bambini con disturbi dello sviluppo, e sono state osservate diverse anomalie del cervello in diversi disturbi. Tuttavia, la maggior parte delle anomalie osservate negli studi quantitativi con MRI con disturbi dello sviluppo sono state relativamente sottili. Le anomalie strutturali del cervello non potrebbero essere osservate nei singoli bambini, ma piuttosto soltanto quando studiati in gruppi di bambini con un particolare disturbo a confronto con bambini non affetti o gruppi di controllo trattati.

Schizofrenia dalla nascita

A partire dal 1992, gli scienziati guidati da Judith Rapoport al National Institute of Mental Health ha adottato l'apparecchiatura per la MRI per scannerizzare un gruppo di circa 50 adolescenti in maniera ripetuta mentre si sviluppava la loro schizofrenia e un gruppo di >500 bambini sani come gruppi di controllo. I dati raccolti sono stati analizzati utilizzando metodi di mappatura del cervello sviluppati per analizzare lievi cambiamenti nella corteccia [30]. Bambini sani hanno perso la materia grigia ad un lieve livello dell'1-2% all'anno nelle cortecce parietali, con cambiamenti rilevabili molto piccoli negli altri lobi del cervello. Al contrario, i pazienti affetti da schizofrenia dalla nascita mostravano una rapida perdita progressiva di materia grigia nelle cortecce superiori frontali e temporali, raggiungendo il 3-4% all'anno in alcune regioni. Questo modello è stato osservato sia nei ragazzi che nelle ragazze. Deficit nelle regioni parietali cerebrali che supportano il linguaggio e il pensiero associativo interessavano i lobi temporali, le cortecce motorie supplementari e i campi visivi frontali. I deficit si presentavano dal punto di vista anatomico per un periodo di 5 anni, coerentemente con le caratteristiche disabilità neuromotorie, sensorie e visive della malattia. Nelle cortecce temporali, incluse le aree uditive principali, era assente una grave perdita di materia grigia all'insorgere della malattia ma diventava successivamente pervasiva. I pazienti con la peggiore perdita di



tessuto cerebrale aveva anche i peggiori sintomi, che includevano allucinazioni, delusioni, pensieri bizzarri e psicotici, illusione uditiva di voci e depressione.

Il concetto di schizofrenia come malattia del neurosviluppo che si presenta in maniera dinamica è ancora controversa. I modelli di diffusione dei deficit rinforzano l'idea che il normale processo di sviluppo dello sfondamento dendritico e sinaptico potrebbe essere accelerato in modo anomalo o deragliato nella schizofrenia [31]. Potrebbero rappresentare un processo interamente separato che ha inizio nell'adolescenza – studi sui gemelli hanno suggerito che i primi deficit, che hanno luogo nella corteccia parietale, potrebbero avere un imput nongenetico [32]. Alcuni studi istologici indicano che nella schizofrenia c'è una diminuzione di neuropil, ma il materiale dell'autopsia è scarso e i risultati degli studi non sono coerenti. Come nello sviluppo normale, i cambiamenti corticali osservati potrebbero anche essere di origine gliale o vascolare, piuttosto che puramente neuronale [33]. Il contrasto intracorticale potrebbe anche essere affetto da cambiamenti nella mielinazione [33], e da cambiamenti nel metabolismo lipidico durante l'uso di agenti antipsicotici atipici. E' possibile che nella schizofrenia, cambiamenti nella densità di materia grigia riflettano anche, almeno in parte, un aumento della mielinazione intracorticale. Ancora, quattro mappe dimensionali come queste offrono un marker biologico della progressione della malattia per i test sulla droga, in cui la mappatura del cervello può valutare quanto i farmaci antipsicotici si oppongono all'avanzare della malattia [35].

Sindrome di Williams

L'imaging del cervello ci ha aiutato anche ad identificare alterazioni circoscritte nella struttura del cervello che sono associate a disturbi dello sviluppo che hanno una causa genetica. La sindrome di Williams (WS), per esempio, è un disturbo dello sviluppo associato ad una delezione di circa 20 geni nella regione 7q11.23 del cromosoma 7. I soggetti con WS hanno un lieve/moderato ritardo mentale, ma hanno notevoli competenze nelle abilità linguistiche, abilità sociali e musicali. La figura 7 mostra una gamma di aree cerebrali affette da questa delezione genetica: in generale, la corteccia è più sottile, ad eccezione delle aree perisilviane del linguaggio, in cui risulta più spessa del 5-10%; anche la complessità corticale risulta notevolmente aumentata [36].

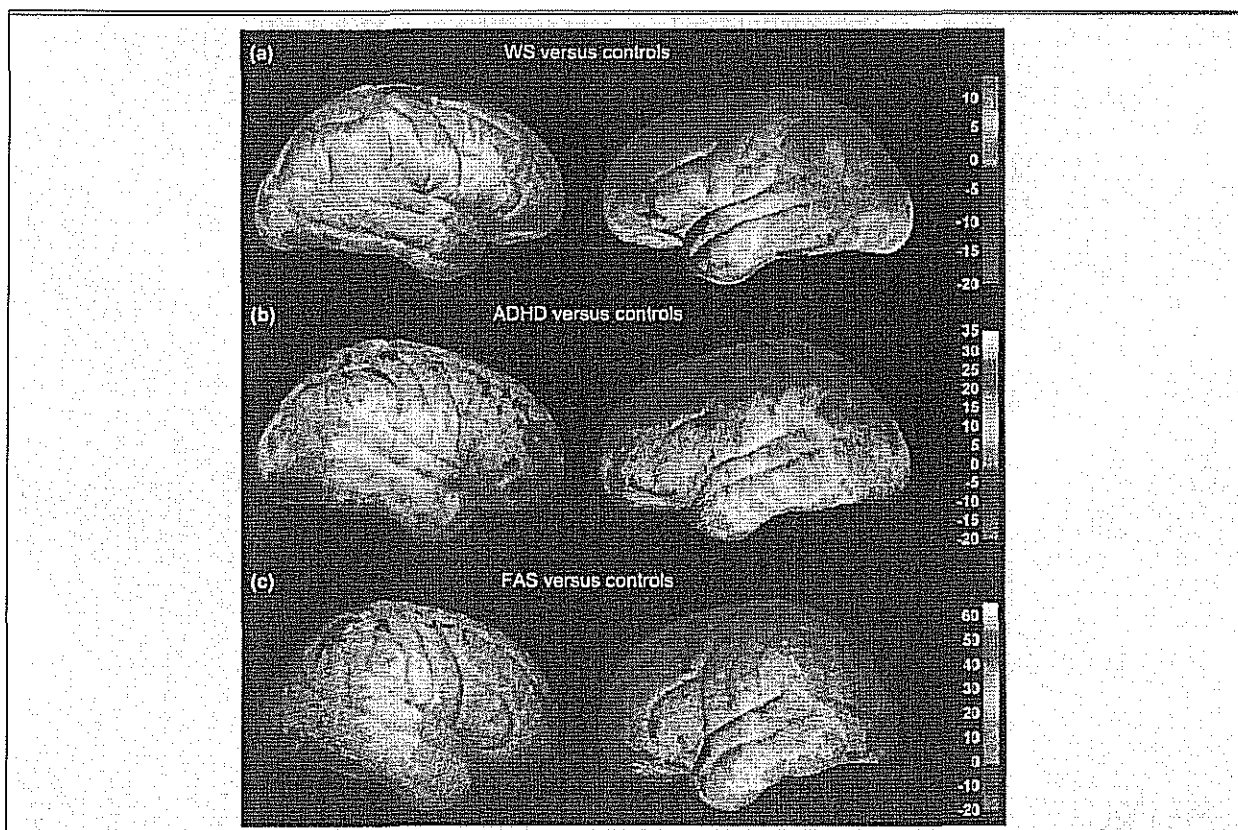


Figura 7. Differenze della densità di materia grigia tra i soggetti con tre disturbi dello sviluppo neurologico. Le differenze in percentuale nella densità della materia grigia tra soggetti con sindrome di Williams (WS) (a) disturbo da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) (b), sindrome fetale alcolica (FAS) (c) e i loro rispettivi gruppi di controllo in normale via di sviluppo sono codificati con il colore. In tutte le mappe, i colori più caldi rappresentano differenze positive, indicando un aumento nel gruppo di pazienti (arbitrariamente codificati come 1) rispetto al gruppo di controllo (arbitrariamente codificato come 0,) il rosso rappresenta la maggiore differenza più del gruppo. Va notato come il valore massimo vari sulle tre barre di colori, a seconda della differenza massima del gruppo dal gruppo di controllo. Adattamento autorizzato da [36, 41,46].



Nei dati post-mortem tratti da soggetti WS, Holinger et al. [37] hanno osservato cellule più grandi nel giro di Heschl nell'area uditiva principale – dato questo coerente con l'ispessimento corticale visto qui. I soggetti con WS hanno ridotto anche in maniera sproporzionata la materia bianca, in modo tale che le cellule corticali che si sono adattate su un'area di materia bianca più piccola possono "accumularsi", e la corteccia può ispessirsi a causa di un effetto di sovrappollamento. Alcuni segnali di geni Wnt, che dirigono la prima differenziazione cellulare e segmentazione, sono nella regione delezionata cromosomale 7q11.23, indicando un'abse genetica della dismorfologia corticale osservata su MRI. Altri geni delezionati nella WS potrebbero contribuire normalmente alla formazione della fessura nella corteccia umana, e la loro assenza potrebbe essere responsabile dell'ispessimento corticale anomalo. Lavori in corso stanno esaminando i cambiamenti nella complessità di avvolgimento nelle stesse regioni che mostrano l'ispessimento della corteccia, per garantire che questo ispessimento non è semplicemente una conseguenza dell'aumentata formazione del giro (cioè la microgiria appare spesso come corteccia ispessita, quando di fatto è più sottile, la corteccia a quattro strati). Se l'ispessimento corticale e la complessità fossero correlati positivamente in generale, ci si aspetterebbe che le regioni frontali e parietali di maggiore girificazione riscontrata in studi relativi alla WS (per es. [38]) mostrassero un maggiore ispessimentocorticale, ma questo non è stato riscontrato. Non c'è perciò, alcuna semplice relazione tra lo spessore e la complessità, ed uno studio attento di queste misure in campioni più ampi è assicurato. In alternativa, l'ispessimento corticale potrebbe rappresentare una risposta adattiva alla delezione genetica, forse derivante da un aumentato uso o sovrauso di reti corticali specifiche. L'identificazione di tali caratteristiche neuroanatomiche della WS è importante per una migliore comprensione dello scopo e della tempificazione dell'anomalia corticale nella WS.

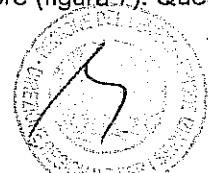
Il disturbo da deficit di attenzione-iperattività

L'ADHD è un disturbo molto più comune e meno debilitante dell'infanzia rispetto alla schizofrenia e alla WS che hanno origine nell'infanzia. Tuttavia gli studi di imaging volumetrici strutturali del cervello su pazienti affetti da ADHD hanno dimostrato lievi riduzioni del volume totale del cervello totale, e dei volumi del lobo destro frontale e del nucleo caudato [39-40]. Per comprendere ulteriormente le anomalie del cervello nell'ADHD, sono stati condotti studi di mappatura del cervello in 27 bambini e adolescenti con ADHD e in 46 soggetti accoppiati per età e per genere del gruppo di controllo [41]. Come predetto, nelle cortecce frontali di soggetti ADHD è stata osservata una morfologia anomala, con una ridotta dimensione della regione cerebrale localizzata principalmente alle porzioni inferiori delle cortecce dorsali prefrontali bilateralmente. La densità della materia grigia era notevolmente aumentata in ampie porzioni delle cortecce posteriore temporale e inferiore parietale in maniera bilaterale (figura 7). L'eziologia e la sequenza cognitiva e comportamentale di questa aumentata densità della materia grigia e della ridotta dimensione del cervello localmente non sono ancora ben comprese, ma queste regioni del cervello sono noti come parte di una rete azione-attenzione probabilmente coinvolta nella sintomatologia dell'ADHD (discussa in [41]).

Sindrome fetale alcolica

La mappatura del cervello ha anche identificato delle anomalie nei disturbi dello sviluppo con note cause ambientali. La sindrome fetale alcolica (FAS) è un grave disturbo dello sviluppo neurologico osservato in bambini le cui madri avevano abusato di alcol durante la gravidanza [42-43]. Non tutte le donne che abusano di alcol durante la gravidanza hanno bambini con FAS, ma sta diventando velocemente più evidente, negli animali e negli studi umani sia post mortem che in vivo, che il cervello è particolarmente vulnerabile agli effetti teratogenici dell'alcol. I bambini affetti da FAS mostrano deficienze nella crescita prenatale, ritardi nello sviluppo, anomalie craniofacciali (cioè microcefalia, pieghe epicantali e brevi fessure palpebrali) e difetti degli arti. I deficit cognitivi in questi bambini sono significativi e viene osservato di frequente un ritardo mentale, ma deve ancora essere scoperto un chiaro profilo neuropsicologico [44].

Studi quantitativi in vivo con MRI hanno confermato anomalie morfologiche del cervello in bambini esposti prima della nascita all'alcol. Oltre alla microcefalia osservata di frequente in questi bambini, gli studi volumetrici con MRI hanno dimostrato che all'interno della corteccia soltanto i lobi parietali risultavano notevolmente ridotti nel volume al di sopra e oltre la riduzione della misura del cervello generale. L'ipoplasia della materia bianca (cioè uno sviluppo incompleto) era più significativo dell'ipoplasia della materia grigia, ed il volume ippocampale risultava relativamente intatto [45]. Questi risultati volumetrici stimolavano l'uso di tecniche di mappatura corticale per valutare le anomalie del cervello o un livello più locale. Anomalie localizzate nella misura del cervello e nella densità della materia grigia venivano identificate in un gruppo di 21 bambini, adolescenti e giovani adulti con grave esposizione alcolica prenatale rispetto ai 21 soggetti associati per età e genere non esposti [46]. Le mappe del cervello risultanti hanno confermato riduzioni della misura del lobo parietale che non erano state osservate precedentemente. In fatti, le anomalie del lobo frontale sono state predette considerati i deficit dei bambini riscontrati nei test neuropsicologici relativamente al funzionamento esecutivo [47]. Inoltre, incrementi della densità della materia grigia sono stati osservati bilateralmente nei lobi parietale inferiore e temporale posteriore (figura 7). Questi





studi di mappatura indicano che la crescita del cervello continua ad essere negativamente influenzata anche molto tempo dopo l'insulto prenatale dell'esposizione all'alcool al cervello in via di sviluppo, e le regioni interessate maggiormente sono coerenti con i deficit comportamentali e neuropsicologici in questi bambini.

Somiglianze tra i disturbi dello sviluppo

E' interessante notare la corrispondenza regionale delle anomalie della densità della materia grigia osservata in tre dei quattro disturbi dello sviluppo neurologico qui considerati. Come indicato nella figura 7, gli incrementi della densità della materia grigia sono stati osservati nelle cortece perisilviane del linguaggio nell'ADHD [41], nella WS [36], e nella FAS [46]. L'estensione spaziale di questi incrementi di densità della materia grigia varia tra i vari disturbi, ed è bilaterale nell'ADHD e nella FAS, ma in maniera più rilevante nell'emisfero destro nella WS. Questi disturbi sono distinti in termini delle loro eziologie e profili di deficit neurocognitivi, anche se vari livelli di problemi di linguaggio vengono osservati in tutti e tre i disturbi. La dismorfologia facciale è presente sia nella FAS che nella WS. Di particolare rilevanza potrebbe essere che le diagnosi di ADHD sono comuni tra i bambini con FAS [48] e con WS [49]. Forse il profilo simile di anomalie nella densità di materia grigia osservato in questi tre gruppi sono relativi ai sintomi comuni dell'ADHD. Gli studi funzionali e strutturali di imaging che valutano i bambini con ADHD, WS con ADHD, WS senza ADHD, FAS con ADHD, e FAS senza ADHD potrebbe portare a risultati interessanti, anche se sarebbe difficile attribuirgli la rarità relativa della WS in particolare. Questi esempi sono soltanto indicativi e sintetizzano le visualizzazioni derivanti da diversi studi (ad es. gli studi caso-controllo di FAS, WS e ADHD). Sono necessari ulteriori studi nei quali le grandezze e i modelli spaziali degli effetti nei diversi gruppi di pazienti sono confrontati direttamente. Tali confronti diretti dovrebbero aver preso in esame possibili fattori che creano confusione, perché i bambini venivano valutati su scanner diversi i diversi centri di imaging.

Influenze genetiche sul cervello in via di sviluppo

Nella ricerca per capire quali fattori contribuiscono alla traiettoria dello sviluppo del cervello in bambini in normale via di sviluppo e in quelli con disturbi dello sviluppo neurologico, i metodi genetici e di imaging possono essere combinati per rispondere a domande sull'influenza dei geni e dell'ambiente sulla struttura cerebrale – il cosiddetto dibattito natura-nutrimiento. Tenendo questo in mente, possono essere confrontati i gemelli o i membri della famiglia con diversi gradi di affinità genetica. Certamente, le influenze della natura e del nutrimento nella determinazione della struttura cerebrale individuale non sono indipendenti. Tuttavia, gli studi sui gemelli possono rivelare il grado con cui è coinvolta l'eredità.

Studi sui gemelli

Probabilmente il più noto database sui gemelli è il registro dei gemelli Finlandese che riguarda informazioni sui parti gemellari in Finlandia dal 1940 ed ha costituito una risorsa per numerosi studi epidemiologici a livello mondiale. Questi dati hanno permesso di indagare quali regioni cerebrali si sviluppano sotto lo stretto controllo genetico e quali sono maggiormente influenzate dall'ambiente. Prima di allora, i gemelli erano stati studiati attraverso la MRI e alcune somiglianze nei volumi delle strutture cerebrali erano state osservate in gemelli identici. Nel 2001, attraverso questo database, il primo studio di gemelli che ha utilizzato la mappatura cerebrale ha rivelato aspetti della struttura cerebrale che vengono ereditati in larga misura [50].

40 soggetti adulti sani, comprendenti 10 coppie di gemelli monozigoti e 10 dizigoti (5 coppie di maschi e 5 di femmine in ciascun gruppo) sono stati presi da una coorte di gemelli composta da tutti i gemelli dello stesso sesso nati in Finlandia tra il 1940 e il 1957 per i quali entrambi i membri di ciascuna coppia risultavano viventi e ancora residenti in Finlandia: Tutti i soggetti sono stati sottoposti a indagine con scanner e ne sono derivate 3 mappe tridimensionali di materia grigia e modelli di superficie corticale. Sono state poi accoppiate coppie monozigotiche con coppie di zigotiche. I volumi di materia grigia nelle parti frontali del cervello sono stati accoppiati strettamente in gemelli identici rispetto a gemelli che erano meno simili geneticamente. Un'interpretazione dei risultati è che le aree del cervello coinvolte nel processo e nell'apprendimento delle regole (ad es. le strutture del lobo frontale) sono sotto controllo genetico più stretto, almeno in termini di sviluppo strutturale generale, rispetto alle aree del cervello che mappano l'esperienza di vita ed il contenuto (i lobi temporali e parietali).

La scoperta che l'anatomia generale della corteccia frontale si sviluppa sotto un forte controllo genetico risulta anche di uso pratico per gli studi genetici delle malattie. Queste differenze strutturali mediate geneticamente sono state anche correlate, attraverso metodi di mappatura genetica del cervello, con noti marcatori genetici che sono presenti in pazienti con deficit del lobo frontale [51]).

Limitazioni degli studi di imaging del cervello

Come abbiamo mostrato, La MRI utilizzata negli studi sia cross-sezionali che longitudinali fornisce dati preziosi sullo sviluppo del cervello normale e patologico. Le informazioni chiave provengono ora da un'analisi su larga scala di dati provenienti da bambini sottoposti a scanner longitudinalmente attraverso l'utilizzo di MRI. Inoltre, progressi nelle tecniche con MRI diversi dalla MRI anatomica stanno ora offrendo prospettive aggiuntive sullo sviluppo



funzionale del cervello. Gli studi funzionali con MRI stanno ora emergendo come strumento per studiare lo sviluppo del cervello, come lo stanno facendo studi sulla mappatura delle fibre che utilizzano il DTI per rintracciare le connessioni e come si sviluppano durante la maturazione.

In ogni caso, devono essere ancora confermate diverse limitazioni. Per esempio, poiché richiede notevole potere statistico determinare le differenze sistematiche della struttura del cervello, la dimensione del campione è una questione di grande interesse specialmente quando vengono considerati disturbi rari. I dati con MRI possono essere eterogenei. I database di immagini con scanner stano soltanto ora diventando abbastanza ampi da stratificare le immagini dello sviluppo del cervello per profili di sintomi, per risposta terapeutica e per fattori di rischio attualmente identificati.

La MRI ha alcuni limiti nel risolvere le distinzioni tra la materia grigia e la materia bianca che sono pertinenti nel valutare i cambiamenti legati alla maturazione. Recenti algoritmi per misurare lo spessore corticale [13] fanno affidamento sulla definizione di un confine tra la materia grigia e quella bianca, o almeno su una porzione di tessuto identificato come materia grigia (nel caso della densità di materia grigia). Finché la materia grigia diventa più melinata, il confine tra i cambiamenti della grigia e quella bianca, e può essere mostrata verso la pia. Un fattore nell'assottigliamento corticale osservato nell'adolescenza non è la diminuzione assoluta della materia grigia corticale, ma piuttosto un cambiamento del confine della segmentazione grigio-bianca a causa dell'aumento intracorticale milenico con l'età, che potrebbe spostare la congiunzione ulteriormente nel mantello corticale. Altre caratteristiche anatomiche potrebbero anche influenzare la segmentazione accurata della materia grigia e di quella bianca sulle immagini della risonanza magnetica. La banda più interna di Baillarger, per esempio, è così riccamente melinata che nelle sezioni del cervello è visibile ad occhio nudo, vicino all'interfaccia grigio-bianco nello strato 5b; questo potrebbe influenzare la capacità di definire un accurato confine corticale nelle immagini di risonanza magnetica convenzionale. Ulteriori studi con migliori algoritmi per la classificazione dei tessuti, la rilassometria del tessuto e l'imaging ad alto campo (che fornisce un aumento della risoluzione e del rapporto contrasto-rumore) è probabile che risolvano alcune di queste limitazioni.

Altre questioni riguardano l'interpretazione attribuita ad alcuni dati. La questione chiave è: che cosa significa un cambiamento nel volume di un'area cerebrale, in particolare quando uno la considerata patologia (figura 8)? Anche se vengono determinate il volume e la forma delle strutture cerebrali, per identificare la causa cellulare di queste differenze, uno deve confidare su fonti aggiuntive di informazioni, quali un tessuto post mortem. Tuttavia, questi studi con MRI è probabile che ci aiutino a capire meglio le correlazioni tra i cambiamenti nel cervello e lo sviluppo cognitivo, in aggiunta al corso clinico di sviluppo e trattamento delle malattie.

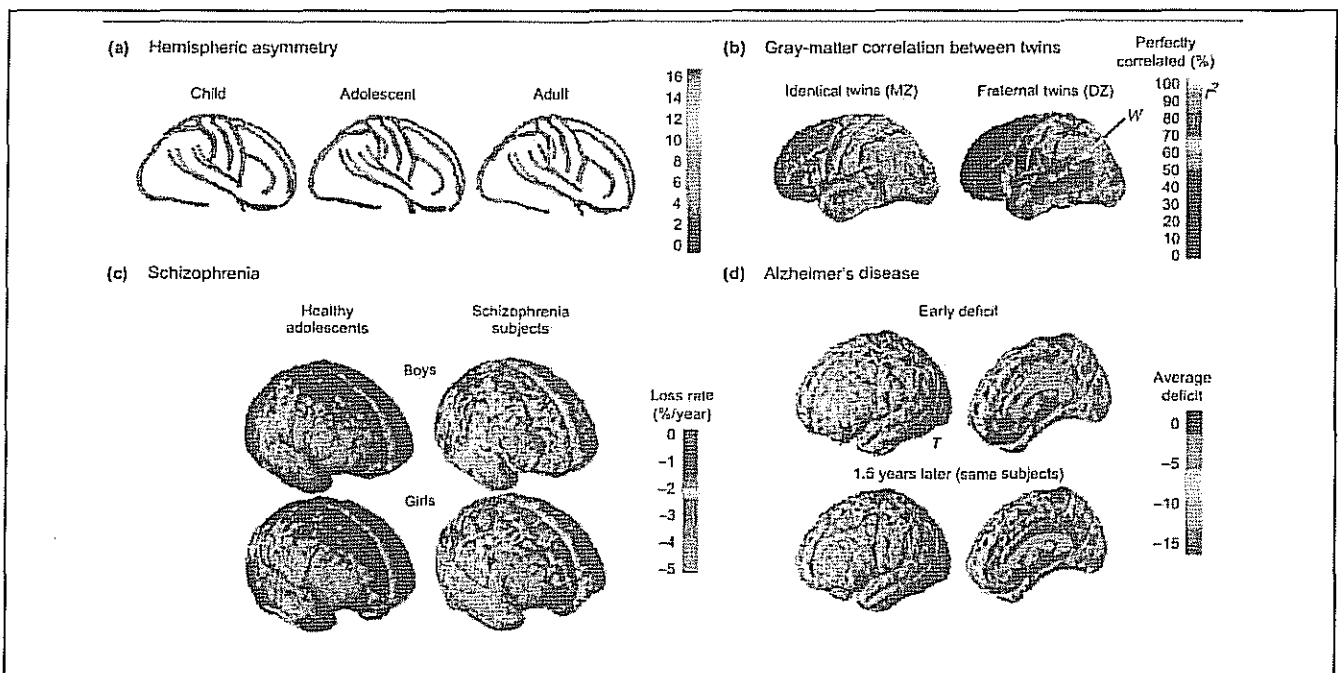


Figura 8 Mappe statistiche della struttura corticale. Possono essere fatte varie mappe per descrivere i diversi aspetti dell'anatomia corticale. Queste comprendono la mappa dell'asimmetria del giro (a) e la forte influenza dei geni e dell'ambiente sulla struttura cerebrale (b). Nella sezione a) è visibile la crescente asimmetria del giro in gruppi di bambini, adolescenti e adulti [55]. In queste mappe, le differenze dell'asimmetria nei tre gruppi di età può essere valutata come un angolo della fessura silviana sinistra in relazione a quella destra in ciascun gruppo. Va notato che l'angolo è più grande negli adulti rispetto ai bambini. La codificazione con il colore permette lo spostamento in millimetri



tra l'emisfero sinistro e quello destro all'interno di ciascun gruppo da visualizzare. I valori relativi all'asimmetria possono essere estesi al resto della superficie corticale ed espressi in millimetri. Nella sezione b) vengono mostrate le correlazioni nella materia grigia per i gruppi di gemelli identici (monozigoti, MZ) e di zigotici (DZ). Alcune aree del cervello si sviluppano sotto stretto controllo genetico, tra queste alcune aree del lobo temporale e frontale, quali la corteccia prefrontale dorsolaterale e i poli temporali (in rosso). Altre regioni subiscono un'influenza maggiore dall'ambiente nel corso del loro sviluppo (cioè una maggiore proporzione di varianza tra soggetti viene spiegata attraverso fattori non genetici). (c) Le mappe relative alla perdita media di materia grigia nei ragazzi e nelle ragazze sani, sottoposti a scansione longitudinale per cinque anni. Vengono raffigurate anche mappe della perdita notevolmente più veloce nei soggetti accoppiati per età e per genere con schizofrenia dalla nascita, sottoposti a scansione alla stessa età e agli stessi intervalli di tempo. La corteccia frontale ha avuto una rapida perdita selettiva di materia grigia (fino al 3-4% all'anno più veloce nei pazienti rispetto ai gruppi di controllo). Questi cambiamenti potrebbero essere, per alcuni aspetti, un'esagerazione dei cambiamenti che normalmente si verificano durante l'adolescenza [10,54]. Al contrario, i deficit che si manifestano con il progredire del morbo di Alzheimer, vengono mostrati confrontando i profili medi della densità di materia grigia tra 12 pazienti affetti dalla malattia (età media 68.4± 1.9 anni) e 14 soggetti del gruppo di controllo (età media 71.4± 0.9 anni). Nel morbo di Alzheimer la perdita di materia grigia si sposta nel cervello dalle cortecce frontali unitamente ad un declino cognitivo, ma nei pazienti affetti da schizofrenia, le cortecce frontali perdono materia grigia più velocemente. Le lettere "w" e "T" indicano rispettivamente l'area di Wernicke e la corteccia temporale.

Bibliografia

- 1 Huttenlocher, P.R. (1979) Synaptic density in human frontal cortex developmental changes and effects of aging. *Brain Res.* 163, 195-205
- 2 Yakovlev, P.I. and Lecours, A.R. (1967) The myelogenetic cycles of regional maturation of the brain. In *Regional Development of the Brain in Early Life* (Minkowski, A. ed.), pp. 3-70, Blackwell Scientific
- 3 Benes, F.M. et al. (1994) Myelination of a key relay zone in the hippocampal formation occurs in the human brain during childhood, adolescence, and adulthood. *Arch. Gen. Psychiatry* 51, 477-484
- 4 Gogtay, N. et al. (2004) Dynamic mapping of human cortical development during childhood and adolescence. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 8174-8179
- 5 Jernigan, T.L. and Tallal, P. (1990) Late childhood changes in brain morphology observable with MRI. *Dev. Med. Child Neurol.* 32, 379-385
- 6 Jernigan, T.L. et al. (1991) Maturation of human cerebrum observed in vivo during adolescence. *Brain* 114, 2037-2049
- 7 Paus, T. et al. (1999) Structural maturation of neural pathways in children and adolescents: in vivo study. *Science* 283, 1908-1911
- 8 Sowell, E.R. et al. (1999) In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions. *Nat. Neurosci.* 2, 859-861
- 9 Sowell, E.R. et al. (1999) Localizing age-related changes in brain structure between childhood and adolescence using statistical parametric mapping. *NeuroImage* 9, 587-597
- 10 Thompson, P.M. et al. (2001) Mapping adolescent brain change reveals dynamic wave of accelerated gray matter loss in very early-onset schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 11650-11655
- 11 Sowell, E.R. et al. (2003) Mapping cortical change across the human life span. *Nat. Neurosci.* 6, 309-315
- 12 Sowell, E.R. et al. (2004) Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children. *J. Neurosci.* 24, 8223-8231
- 13 Thompson, P.M. et al. (2004) Mapping cortical change in Alzheimer's disease, brain development, and schizophrenia: special issue on mathematics in brain imaging. *NeuroImage* 23(Suppl 1), S2-818
- 14 Giedd, J.N. et al. (1999) Brain development during childhood and adolescence: a longitudinal MRI study. *Nat. Neurosci.* 2, 861-863
- 15 Von Economo, C.V. (1929) *The Cytoarchitectonics of the Human Cerebral Cortex*, Oxford Medical Publications
- 16 Sowell, E.R. et al. (2001) Mapping continued brain growth and gray matter density reduction in dorsal frontal cortex: inverse relationships during postadolescent brain maturation. *J. Neurosci.* 21, 8819-8829
- 17 Wechsler, D. (1991) *Manual for the Wechsler Intelligence Scale for Children*, 3rd edn, The Psychological Corporation
- 18 Sowell, E.R. et al. (2004) Mapping changes in the human cortex throughout the span of life. *Neuroscientist* 10, 372-392
- 19 Mesulam, M.M. (2000) A plasticity-based theory of the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 924, 42-52
- 20 Thompson, P.M. et al. (2003) Dynamics of gray matter loss in Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 23, 994-1005
- 21 Toga, A.W. and Thompson, P.M. (2003) Temporal dynamics of brain anatomy. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 5, 119-145
- 22 Thompson, P.M. et al. (2000) Growth patterns in the developing brain detected by using continuum-mechanical tensor maps. *Nature* 404, 190-193
- 23 Martin, E. et al. (1988) Developmental stages of human brain: an MR study. *J. Comp. Assist. Tomogr.* 12, 917-922
- 24 Grodd, W. (1993) Normal and abnormal patterns of myelin development of the fetal and infantile human brain using magnetic resonance imaging. *Curr. Opin. Neurol. Neurosurg* 6, 393-397
- 25 Hansen, P.E. et al. (1993) MR imaging of the developing human brain, part 1. *Radiographics* 13, 21-36
- 26 Wang, Z. et al. (1998) The research of myelination of normal fetal brain with magnetic resonance imaging. *Chin. Med. J. (Engl.)* 111, 71-74
- 27 Neil, J. et al. (2002) Diffusion tensor imaging of normal and injured developing human brain - a technical review. *NMR Biomed.* 15, 543-552
- 28 Gilmore, J.H. et al. (2004) 3 Tesla magnetic resonance imaging of the brain in newborns. *Psychiatry Res.* 132, 81-85
- 29 Toga, A.W. et al. (2001) Probabilistic approaches for atlas normal and disease-specific brain variability. *Anat. Embryol. (Berl.)* 204, 267-282
- 30 Thompson, P.M. et al. (2001) Mapping adolescent brain change reveals dynamic wave of accelerated gray matter loss in very early-onset schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 11650-11655
- 31 Feinberg, I. and Guazzelli, M. (1999) Schizophrenia - a disorder of the corollary discharge systems that integrate the motor systems of thought with the sensory systems of consciousness. *Br. J. Psychiatry* 174, 196-204
- 32 Cannon, T.D. et al. (2002) Cortex mapping reveals regionally specific patterns of genetic and disease-specific gray-matter deficits in twins discordant for schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 3228-3233
- 33 Weinberger, D.R. and McClure, R.K. (2002) Neurotoxicity, neuroplasticity, and magnetic resonance imaging morphometry: what is happening in the schizophrenic brain? *Arch. Gen. Psychiatry* 59, 553-558
- 34 Bartzokis, G. et al. (2003) White matter structural integrity in aging and Alzheimer's disease: a magnetic resonance imaging study. *Arch. Neurol.* 60, 393-398
- 35 Lieberman, J.A. et al. (2005) HGDH Study Group (2005). Antipsychotic drug effects on brain morphology in first-episode psychosis. *Arch. Gen. Psychiatry* 62, 361-370
- 36 Thompson, P.M. et al. (2005) Abnormal cortical complexity and thickness profiles mapped in Williams syndrome. *J. Neurosci.* 25, 4146-4158
- 37 Holinger, D.P. et al. Relative sparing of primary auditory cortex in Williams syndrome. *Brain Res.* (in press)
- 38 Schmitt, J.E. et al. (2002) Increased gyrification in Williams syndrome: evidence using 3D MRI methods. *Dev. Med. Child Neurol.* 44, 292-295





- 39 Filipek, P.A. et al. (1997) Volumetric MRI analysis comparing subjects having attention-deficit hyperactivity disorder with normal controls. *Neurology* 48, 589-601
- 40 Semrud-Clikeman, M. et al. (2000) Using MRI to examine brain-behavior relationships in males with attention deficit disorder with hyperactivity. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 39, 477-484
- 41 Sowell, E.R. et al. (2003b) Cortical abnormalities in children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder. *Lancet* 362, 1699-1707
- 42 Jones, K.L. and Smith, D.W. (1973) Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 2, 999-1001
- 43 Jones, K.L. (1975) The fetal alcohol syndrome. *Addict. Dis.* 2, 79-88
- 44 Mattson, S.N. and Riley, E.P. (1998) A review of the neurobehavioral deficits in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 22, 279-294
- 45 Archibald, S.L. et al. (2001) Brain dysmorphology in individuals with severe prenatal alcohol exposure. *Dev. Med. Child Neurol.* 43, 146-154
- 46 Sowell, E.R. et al. (2002) Regional brain shape abnormalities persist into adolescence after heavy prenatal alcohol exposure. *Cereb. Cortex* 12, 656-665
- 47 Mattson, S.N. et al. (1999) Executive functioning in children with heavy prenatal alcohol exposure. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 23, 1808-1815
- 48 O'Malley, K.D. and Nanson, J. (2002) Clinical implications of a link between fetal alcohol spectrum disorder and attention-deficit hyperactivity disorder. *Can. J. Psychiatry* 47, 349-354
- 49 Bawden, H.N. et al. (1997) Treatment of children with Williams syndrome with methylphenidate. *J. Child Neurol.* 12, 248-252
- 50 Thompson, P.M. et al. (2001) Genetic influences on brain structure.
- 51 Cannon, T.D. et al. (2003) Early and late neurodevelopmental influences in the prodrome to schizophrenia: contributions of genes, environment, and their interactions. *Schizophr. Bull.* 29, 653-669
- 52 Thompson, P.M. et al. (2004) Structural abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine. *J. Neurosci.* 24, 6028-6036
- 53 Leow, A. et al. (2005) Brain structural mapping using a novel hybrid implicit/explicit framework based on the level-set method. *NeuroImage* 24, 910-927
- 54 Sowell, E.R. et al. (2002) Mapping sulcal pattern asymmetry and local cortical surface gray matter distribution in vivo: maturation in perisylvian cortices. *Cereb. Cortex* 12, 17-2654



15.5 ALLEGATO E

Protocollo di studio dell' encefalo mediante risonanza magnetica ad alto campo

VERSIONE PRELIMINARE

L'esame di Risonanza Magnetica prevede l'utilizzo di un' apparecchiatura (Allegra, Siemens, Germany) ad alto campo (3.0 Tesla) con bobina standard per lo studio dell'encefalo.

L'esame prevede l'utilizzo di sequenze in grado di analizzare ed identificare le diverse strutture cerebrali da un punto sia morfologico che funzionale in modo assolutamente non invasivo, senza l'utilizzo di alcun mezzo di contrasto.

Tab. 1 Protocollo di valutazione RM

Nome della sequenza	Tempo d'acquisizione	Utilità diagnostica
Ecoplanare	6 minuti	Valutazione dell'ossigenazione sanguigna cerebrale
Continuous Arterial Spin Labeling	5 minuti	Valutazione del flusso sanguigno cerebrale
T1_MPRAGE	7 minuti	Visualizzazione 3D dell'encefalo
Fluid Attenuated Inversion Recovery	2,5 minuti	Valutazione di danni vascolari della sostanza bianca
T2 e densità protonica	2 minuti	Valutazione delle strutture cerebrali
Diffusion Weighted Imaging	1,5 minuti	Valutazione dei danni ischemici
Spettroscopia	4 minuti	Valutazione dei metaboliti cerebrali

Direzione Regionale per i Servizi Sociali

Il Dirigente Regionale

Dr. Riccardo Longo



[Handwritten signature]

[Handwritten signature]