

2.7.3 Consumo di nicotina negli adulti: aree e funzionalità cerebrali compromesse dalla nicotina

Giuseppe Cuoghi¹, Franco Alessandrini², Giada Zoccatelli²

¹ Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona

² Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

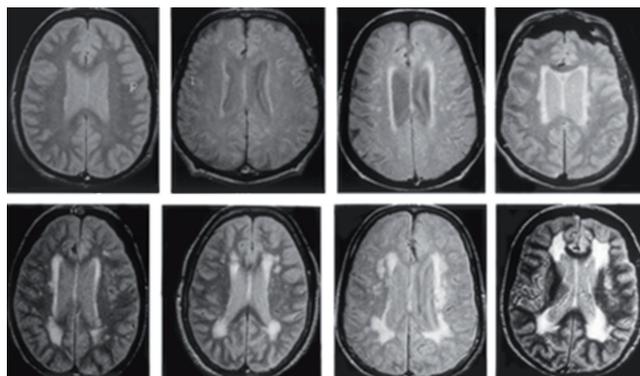
1. Introduzione

La gamma di approcci di neuroimaging utilizzati nella ricerca sulla dipendenza da nicotina è vasta, con l'utilizzo di quasi tutte le modalità di imaging: l'imaging strutturale, quello funzionale con esposizione a stimoli correlati alla nicotina unitamente alla misurazione di molte variabili dipendenti (ad esempio, il flusso ematico regionale (perfusione cerebrale), il segnale BOLD, la forza di legame recettoriale, e la connettività).

Le ricerche di neuroimaging hanno tipicamente analizzato gli effetti a lungo termine causati dalla nicotina, confrontando i fumatori con i non fumatori in studi di tipo cross-sezionale, e si sono focalizzate principalmente su soggetti adulti e anziani. Nel corso dell'ultimo decennio, questi studi hanno identificato tra i gruppi differenze sia strutturali che funzionali. Anche se questi risultati non esprimono nulla di definitivo sulle modifiche a lungo termine che sono causate dall'uso di tabacco, possono però suggerire che alcune regioni cerebrali sono verosimilmente candidate ad essere in qualche modo associate con il fumo, come aree che esprimono un fattore di rischio neurobiologico oppure come aree potenzialmente alterabili dall'uso cronico.

Un vasto numero di articoli su modelli animali ha già dimostrato che la nicotina diminuisce il numero di cellule cerebrali e aumenta i marcatori di apoptosi (morte cellulare) (Xu Z. et al., 2001; Chen W.J. et al., 2003). Nell'uomo, la maggior parte delle ricerche sono state di tipo trasversale, centrate sulle differenze di volume o densità nei tessuti neurali tra i fumatori e i non fumatori. Il fumo di sigaretta è stato associato ad atrofia cerebrale generalizzata e alterazioni della sostanza bianca frontale e parietale (Di Fein G.S. et al., 2002; Gazdzinski S. et al., 2005).

Figura 1 - Esempi di singole fette da scansioni complete che sono state usate dai neuroradiologi per classificare la compromissione della sostanza bianca. Fonte: Manolio TA et al., 1994.



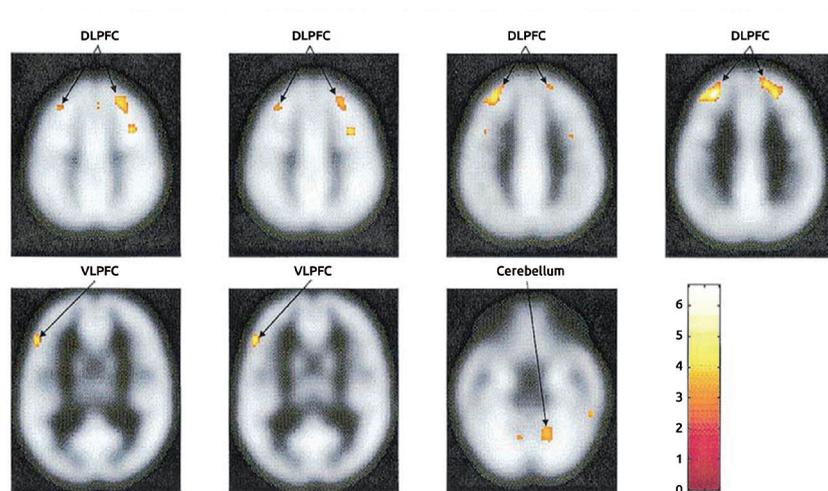
Il fumo di sigaretta peggiora il normale processo di invecchiamento cerebrale

Ricerche effettuate su soggetti adulti con Tomografia Computerizzata (TC) indicano che la storia di fumo cronico è associata con un aumento anomalo dell'atrofia cerebrale globale con l'avanzare dell'età (Hayee A et al., 2003). Questi primi studi effettuati con CT avevano valutato i volumi dell'intero cervello e non consideravano le principali suddivisioni anatomiche (esempio, sostanza grigia frontale, sostanza bianca). Uno studio dello stesso periodo effettuato con RM ha indagato l'atrofia cerebrale globale in soggetti anziani durante un intervallo temporale di 5 anni, trovando che una maggior quantità di sigarette fumate all'anno era associata ad un maggiore volume ventricolare e ad un allargamento solcale nelle donne (Longstreth WT et al., 2000).

Alterazioni nel volume cerebrale regionale e nella densità corticale associate alla nicotina

Evidenze convergenti puntano a differenze funzionali tra fumatori e non fumatori in specifiche regioni cerebrali, in particolare la corteccia prefrontale laterale (PFL), la corteccia cingolata anteriore, lo striato ventrale ed il talamo. Una ricerca di Brody e colleghi effettuata con Risonanza Magnetica ha effettuato misurazioni di morphometry voxel-based (VBM) per analizzare i volumi cerebrali regionali e la densità di sostanza grigia corticale in queste regioni in un gruppo di 19 fumatori (età 39.5 ± 10.3). Le differenze sono state confrontate con i dati ricavati da un gruppo di controllo di 17 soggetti non fumatori di età confrontabile. I tabagisti hanno evidenziato un volume più piccolo e una minore densità tissutale rispetto ai non fumatori, nelle regioni frontali bilaterali, aree coinvolte nelle funzioni esecutive. Nei soggetti fumatori è stato inoltre riportato un volume minore nella corteccia cingolata anteriore sinistra ed una più bassa densità di sostanza grigia nel cervelletto. La densità neurale nella corteccia frontale è risultata inversamente correlata alla quantità di sigarette fumate per anno (Brody AL et al., 2004).

Figura 2 - Risultati di VBM che mostrano le regioni con minore densità corticale nei soggetti fumatori rispetto ai non fumatori. DLPFC, corteccia prefrontale dorsolaterale; VLPFC, corteccia prefrontale ventrolaterale. Fonte: Brody AL et al., 2004.

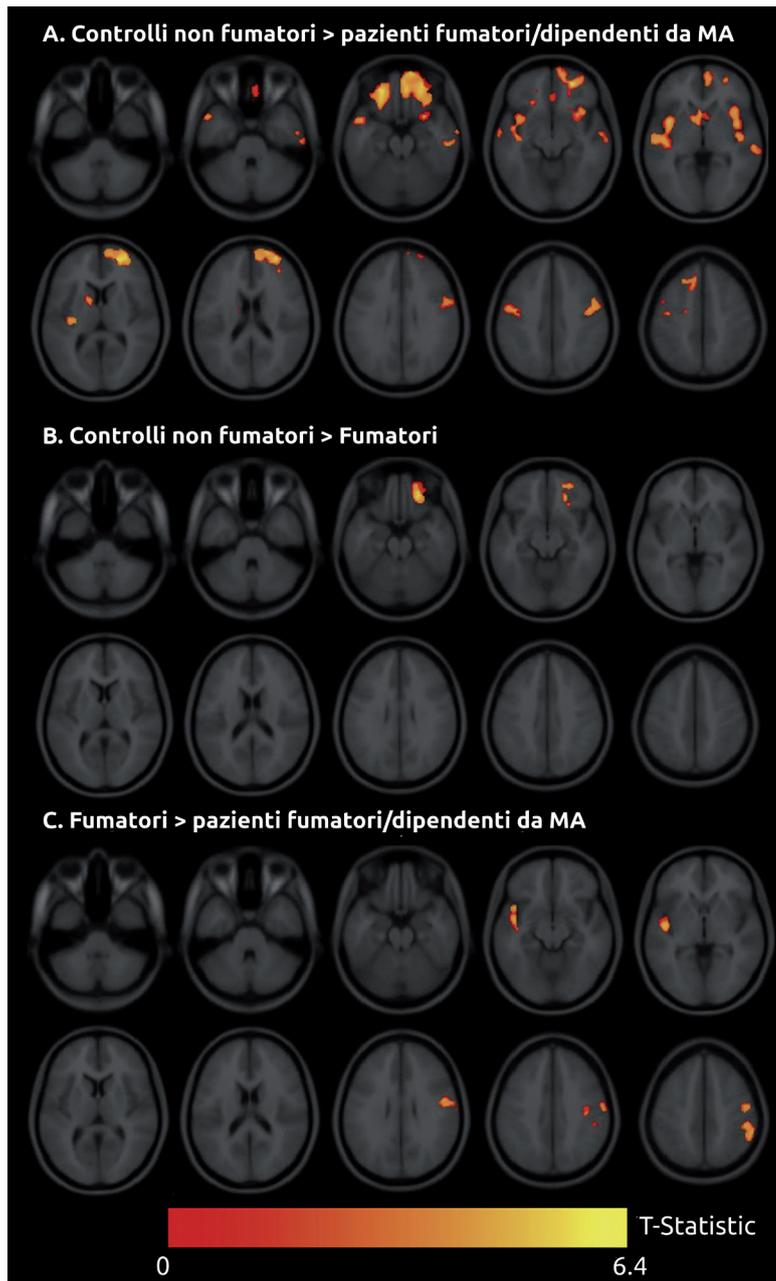


Alterazioni alla sostanza grigia orbitofrontale attribuibili al tabacco

Morales A.M. e colleghi, in uno studio del 2012, hanno voluto indagare le alterazioni cerebrali indotte dal fumo in un gruppo di 25 adulti fumatori, confrontandole con i volumi di sostanza grigia di 39 fumatori dipendenti da metanfetamina e di 18 soggetti di controllo sani di pari caratteristiche socio-demografiche. Utilizzando la voxel-based morphometry, i ricercatori hanno riscontrato, sia nei soggetti fumatori/dipendenti da MA che nei tabagisti,

un minore volume di sostanza grigia nella corteccia orbitofrontale e nel Nucleo Caudato rispetto ai non fumatori. Secondo gli autori, i deficit di sostanza grigia orbitofrontale e del caudato, presenti nei soggetti fumatori/dipendenti da MA, potrebbero essere in parte attribuibili al fumo di sigaretta assunto prima della dipendenza da metanfetamine. (Morales AM et al., 2012).

Figura 3 - Differenze tra gruppi nel volume di sostanza grigia. Mappe statistiche che mostrano le regioni in cui (A) i controlli sani hanno un volume maggiore rispetto ai pazienti fumatori/dipendenti da MA e (B) rispetto ai tabagisti. (C) Regioni in cui i fumatori hanno volume maggiore rispetto al gruppo di fumatori/dipendenti da MA. Fonte: Morales et al., 2012.

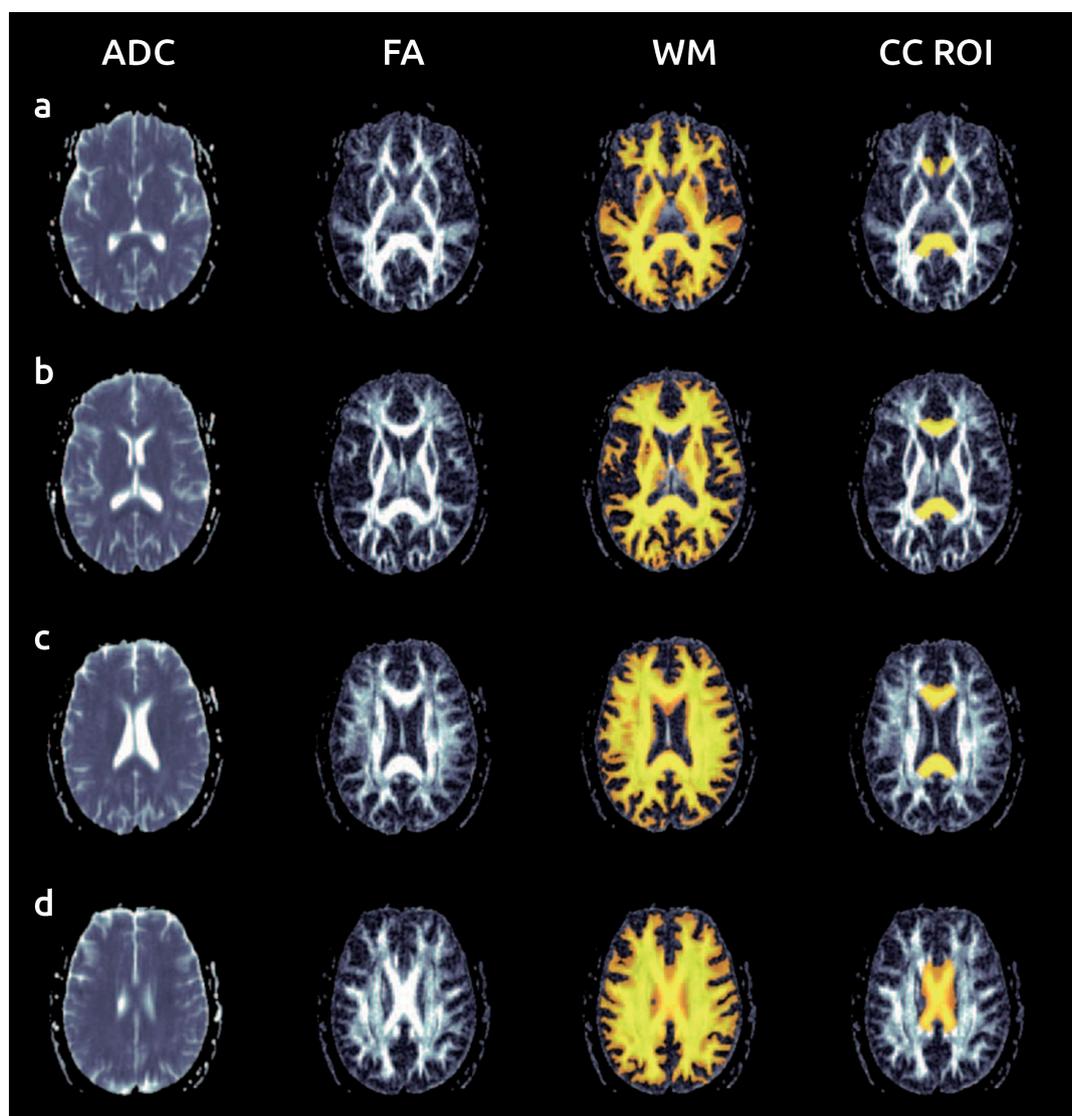


Una ricerca basata sulla RM ha utilizzato il Tensore di Diffusione (DTI) e la VBM per stimare rispettivamente l'integrità microstrutturale e la morfologia del corpo calloso in un gruppo di 10 adulti fumatori di età media $38,5 \pm 14,2$ (Paul RH et al., 2008). Il gruppo di controllo era costituito da 10 soggetti confrontabile per caratteristiche socio-anagrafiche. Contra-

Alterazioni microstrutturali nella sostanza bianca associabili all'uso di nicotina in età adulta

riamente alle aspettative, i fumatori hanno mostrato una più alta anisotropia frazionaria (FA; alti valori di FA sono considerati riflettere una maggiore integrità microstrutturale) nel corpo e nello splenio del corpo calloso rispetto ai soggetti non fumatori. Non sono state osservate differenze di FA nel ginocchio del corpo calloso né differenze di volume di sostanza bianca tra i due gruppi. Tuttavia i fumatori con alti livelli di dipendenza da nicotina (valutati dai punteggi del Fagerstrom Test for Nicotine Dependence) hanno mostrato livelli di FA significativamente più bassi rispetto ai soggetti che fumavano poco ed ai controlli non fumatori.

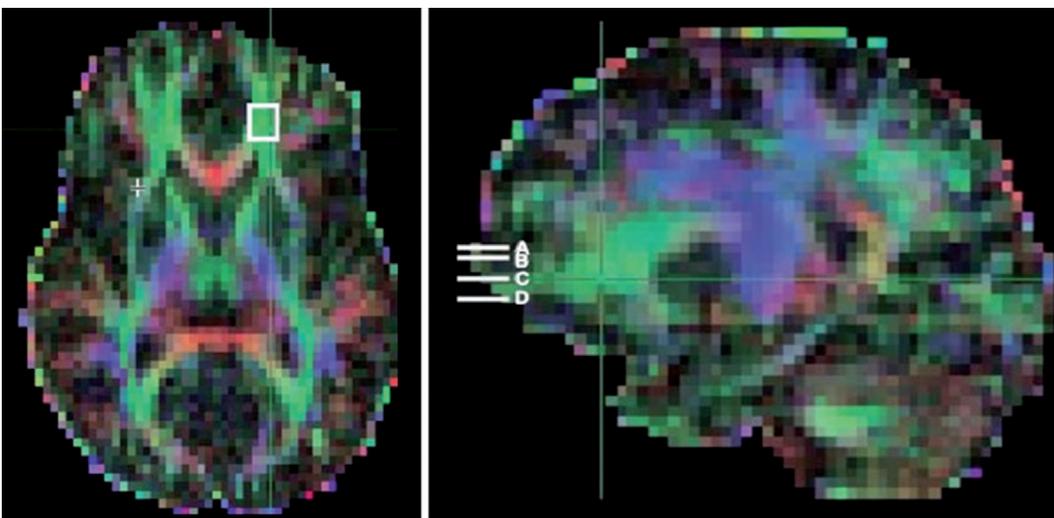
Figura 4 - Una serie di immagini di un soggetto rappresentativo. La prima colonna mostra le mappe del coefficiente di diffusione apparente (ADC); la seconda colonna mostra le mappe di anisotropia frazionaria (FA); le colonne 3 e 4 mostrano le mappe di FA con la sostanza bianca (WM) e le regioni d'interesse del corpo calloso colorate in giallo (CC ROI). Fonte: Paul RH et al., 2008.



Hudkins M e colleghi hanno da poco pubblicato i risultati di uno studio in cui hanno indagato l'integrità microcellulare della sostanza bianca in 18 adulti fumatori ($33,7 \pm 7,9$ anni di età) e in 18 soggetti di controllo non fumatori confrontabili per età e genere (Hudkins et al., 2012). Gli autori hanno misurato l'anisotropia frazionaria (FA - indice della diffusione delle molecole d'acqua all'interno delle fibre nervose che riflette la loro integrità anatomo-

strutturale), nel corpo calloso, nella sostanza bianca frontale, nella corona radiata, nella capsula interna, nel giro del cingolo e nelle fibre della via perforante dell'ippocampo. I soggetti fumatori hanno mostrato valori più alti di FA rispetto ai controlli (dal 4,3 al 21,1%). Questa differenza è risultata significativa nella sostanza bianca prefrontale destra, nel cingolo e nel ginocchio del corpo calloso. Il valore di FA in parecchie regioni correlava negativamente con la dipendenza da nicotina valutata attraverso il Fagerström Test for Nicotine Dependence. Secondo gli autori questi risultati, congiuntamente a dati provenienti da altri studi, suggeriscono un modello di alterazione delle traiettorie di maturazione cerebrale in cui la FA risulterebbe più alta in adolescenza dopo esposizione alla nicotina, per ridursi poi progressivamente nell'età adulta a causa del fumo cronico, rispetto ai non fumatori.

Figura 5 - Mappa colorata di anisotropia frazionaria (FA) dell'intero cervello ricavata da un soggetto partecipante. (sinistra - sezione assiale) Il rettangolo bianco nella sostanza bianca prefrontale sinistra (PFWM) indica i confini entro cui la FA è stata campionata ed elaborata. (destra - sezione parasagittale) Sono mostrati i 4 livelli in cui è stata campionata la FA e da cui è stato ricavato il valore medio. Fonte: Hudkins M et al., 2012.



Un altro studio ha utilizzato l'Imaging con Tensore di Diffusione (DTI) per valutare le variazioni microstrutturali nella sostanza bianca cerebrale in un gruppo di 75 fumatori dai 50 agli 80 anni (Gons RA et al., 2011). Gli autori hanno voluto indagare la relazione esistente tra la condizione di tabagismo, i parametri DTI e la performance ad una batteria di test neuropsicologici, utilizzando come gruppo di controllo 149 soggetti non fumatori e 275 ex-fumatori. Tutti gli individui sono stati sottoposti ad una risonanza magnetica di 1,5 Tesla con l'utilizzo di una sequenza di DTI per la misurazione degli indici di anisotropia frazionaria (FA) e di diffusività media delle molecole d'acqua. I soggetti con dipendenza da nicotina hanno mostrato valori di diffusività media significativamente maggiori sia nella sostanza bianca integra che nei tratti di sostanza bianca con micro-lesioni. Il fumo di sigaretta era associato anche a prestazioni peggiori ai test neurocognitivi rispetto ai soggetti non fumatori. Inoltre, negli ex-fumatori la durata dell'astinenza era positivamente correlata con valori minori di diffusività media e con valori più alti di FA, indici di una maggiore integrità microstrutturale. I valori di FA e di diffusività media nella sostanza bianca dei soggetti che avevano smesso di fumare da più di 20 anni erano comparabili con quelli di chi non aveva mai fumato. Secondo gli autori, questi dati indicano che la dipendenza da nicotina colpisce l'integrità microstrutturale della sostanza bianca cerebrale, compromettendo significativamente

La compromissione cerebrale indotta dalla nicotina raddoppia la probabilità di demenza e di Alzheimer

mente le capacità cognitive. Il fumo di sigaretta raddoppierebbe in questo modo, secondo Gons e colleghi, il rischio di demenza e di Alzheimer. È importante sottolineare però che da questo studio emerge che smettere di fumare sembra ripristinare, dopo lungo tempo, l'integrità strutturale.

Figura 6 - La relazione tra la sospensione dal fumo e la diffusività media nella sostanza bianca cerebrale aggiustata per età, sesso, fattori di rischio cardiovascolare, numero di pacchetti fumati/anno, assunzione di alcol e scolarità. I non fumatori sono presi come gruppo di riferimento. Fonte: Gons RA et al., 2011.

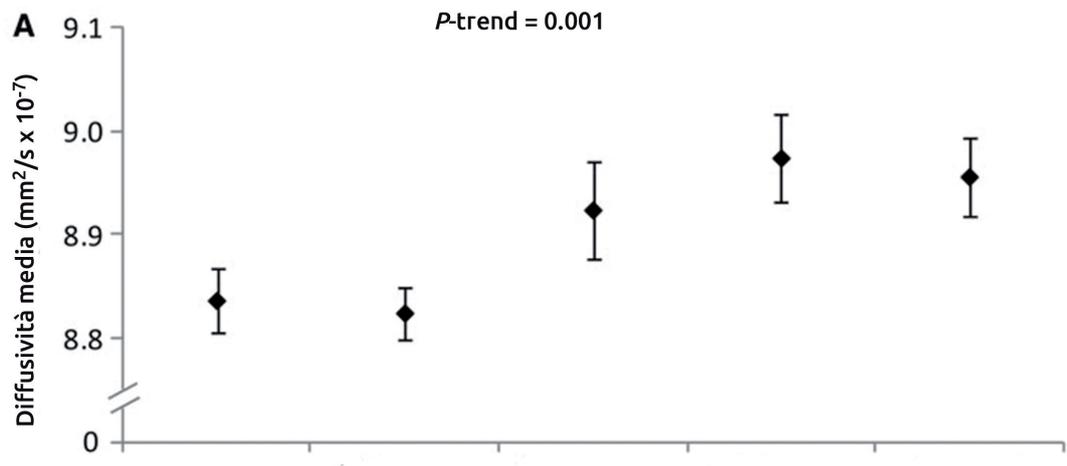
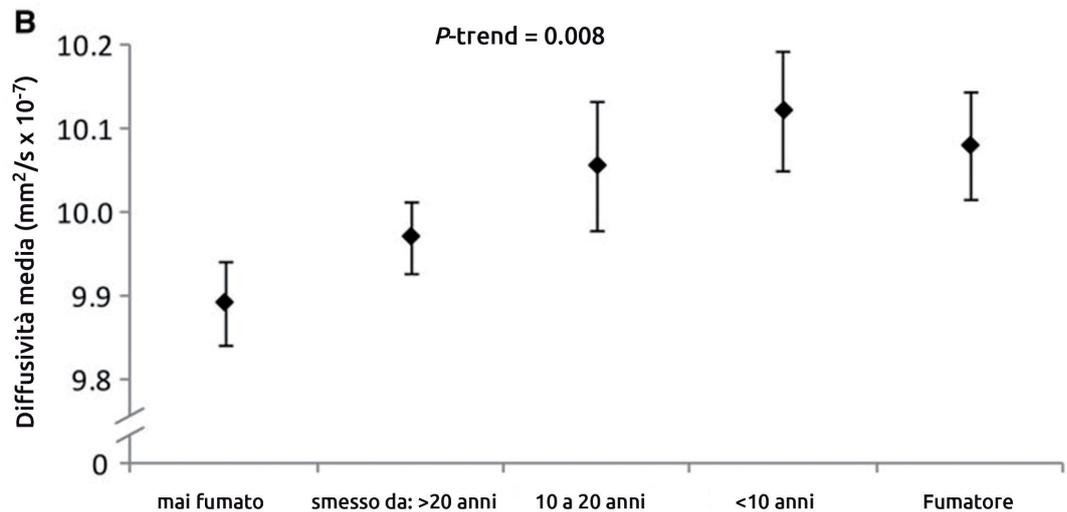


Figura 7 - L'associazione tra la sospensione dal fumo (in anni) e la cognizione, aggiustata per età, sesso, fattori di rischio cardiovascolare, numero di pacchetti fumati/anno, assunzione di alcol, scolarità e sintomi depressivi. Fonte: Gons RA et al., 2011.

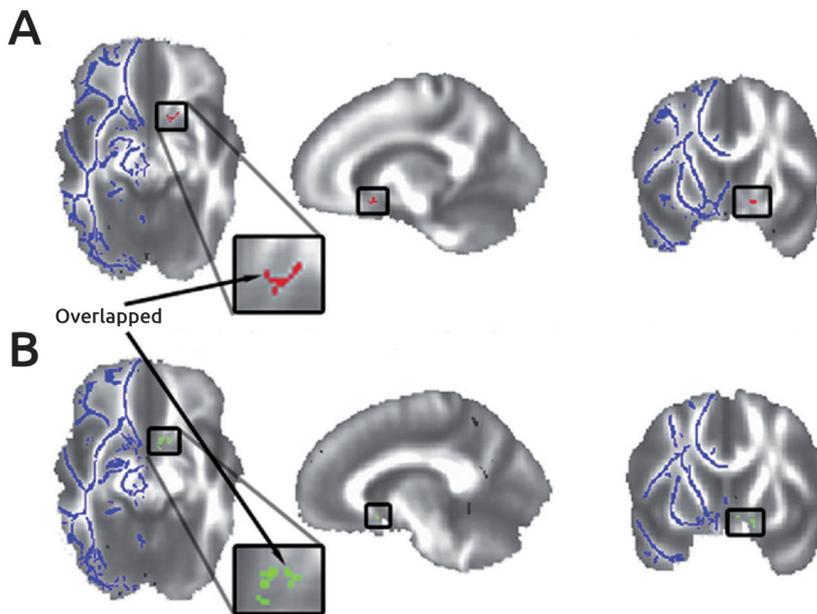


Congruenza anatomica nella compromissione della sostanza bianca tra la dipendenza da sigarette e la schizofrenia

Un interessante ricerca DTI effettuata nel 2010 da Zhang X e colleghi ha voluto indagare i fattori neurobiologici che potrebbero essere alla base dell'alta comorbidità tra dipendenza da nicotina e schizofrenia (Zhang X et al., 2010). Gli autori hanno voluto determinare se il vizio del fumo e la schizofrenia fossero associati ad anomalie simili nella sostanza bianca cerebrale, tali da potersi definire biomarkers per la comorbidità. I ricercatori hanno pertanto esaminato l'integrità della sostanza bianca attraverso la rilevazione dell'indice di anisotropia frazionaria (FA) in 46 pazienti schizofrenici (32 fumatori e 14 non fumatori); ed in

69 soggetti di controllo (48 fumatori e 21 non fumatori) dai 30 ai 40 anni di età. Sono stati trovati alcuni pattern di compromissione comuni e distinti tra le due categorie psichiatriche. In particolare, il valore di anisotropia frazionaria significativamente basso a livello della radiazione talamica anteriore sinistra / braccio anteriore della capsula interna in entrambi i disturbi rappresenterebbe, secondo gli autori, una congruenza anatomica degna di rilievo che potrebbe essere deputata a biomarker per l'alta comorbidità di fumatori tra i pazienti schizofrenici.

Figura 8 - (A) Significativo effetto principale della schizofrenia (SZ) a livello della radiazione talamica anteriore sinistra / braccio anteriore della capsula interna, a seguito di analisi DTI dell'intero cervello. (B) Significativo effetto principale del fumo (SK) a livello della radiazione talamica anteriore sinistra / braccio anteriore della capsula interna, a seguito di analisi DTI dell'intero cervello. Le frecce indicano le fibre compromesse in entrambi i disturbi (volume=14 mm³). Fonte: Zhang X et al., 2010.

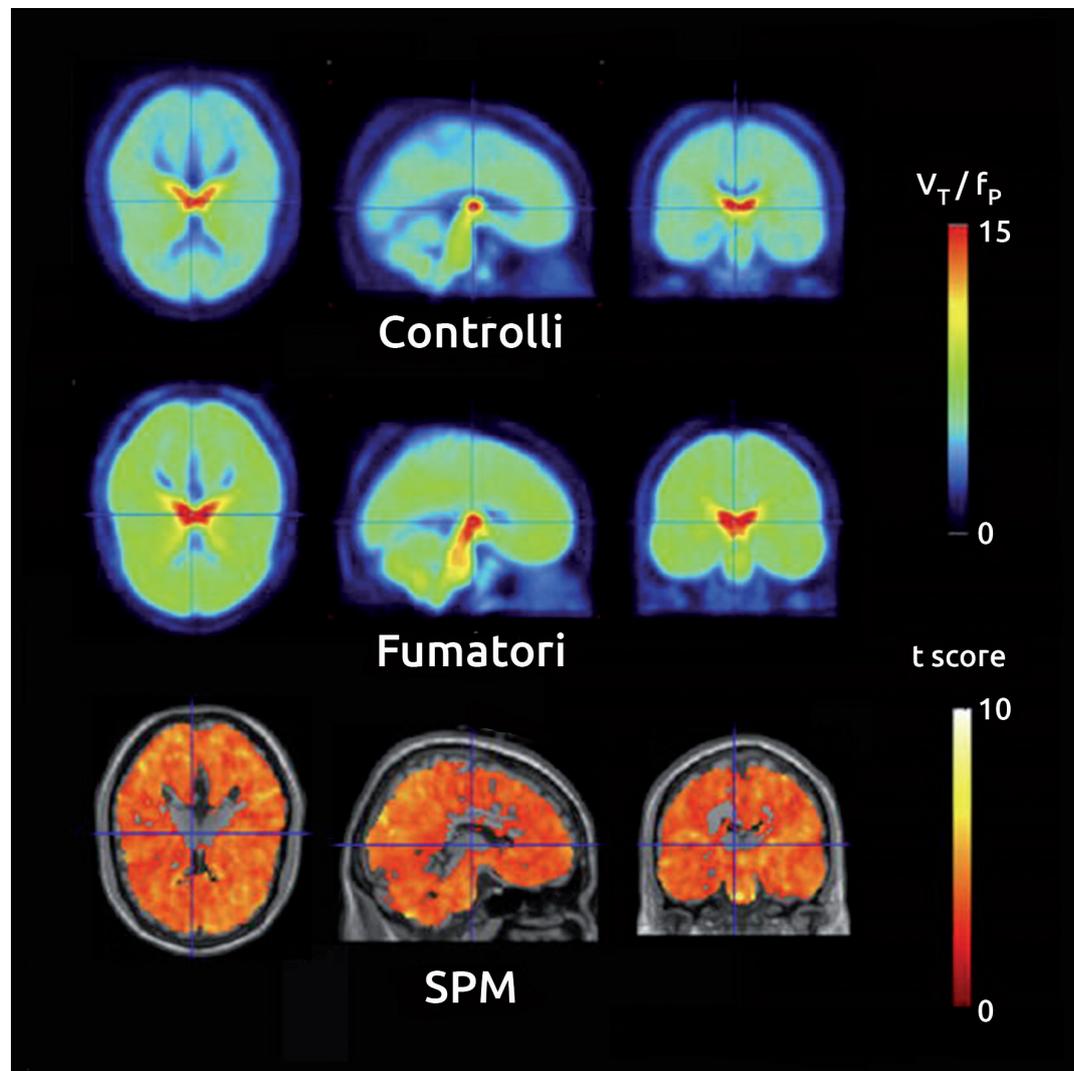


È stato anche dimostrato che il cervello dei tabagisti differisce da quello di chi non fuma nella distribuzione dei recettori per la nicotina. Tra coloro che non fumano è stato trovato che il recettore colinergico nicotinico (nAChR) $\alpha 4\beta 2$ ha un'alta densità nel talamo, seguito dal mesencefalo, dal ponte e dalla corteccia cerebrale (Kimes et al., 2003).

Un confronto effettuato tra soggetti non fumatori e fumatori da poco in astinenza utilizzando la SPECT mostra che i tabagisti hanno la più alta densità di recettori colinergici $\alpha 4\beta 2$ per la nicotina nella corteccia cerebrale e nello striato (Staley et al., 2006). L'upregulation dei recettori $\alpha 4\beta 2$ nei fumatori è stata recentemente confermata da uno studio PET (Mukhin AG et al., 2008) effettuato su 6 adulti fumatori (33 ± 8 anni) e 10 non fumatori di età confrontabile. Utilizzando un radioligando specifico per il recettore nicotinico (2FA), gli autori hanno riscontrato una maggiore densità recettoriale nell'intero cervello dei tabagisti rispetto ai controlli, eccetto che nel talamo. I valori erano più alti dal 25 al 200% nella corteccia frontale, nel mesencefalo, nel putamen, nel ponte, nel cervelletto e nel corpo calloso.

Differenze nella densità dei recettori nicotinici tra fumatori e non fumatori

Figura 9 - Confronto tra mappe statistiche (SPM) di fumatori e non fumatori (controlli). Tutti le immagini mostrano aree del cervello in cui la densità recettoriale (V_T/f_P) è risultata maggiore nei tabagisti rispetto ai controlli. Non sono state trovate, all'opposto, aree in cui vi era un maggior numero di recettori nicotini nei non fumatori rispetto ai soggetti fumatori. Fonte: Mukhin AG et al., 2008.

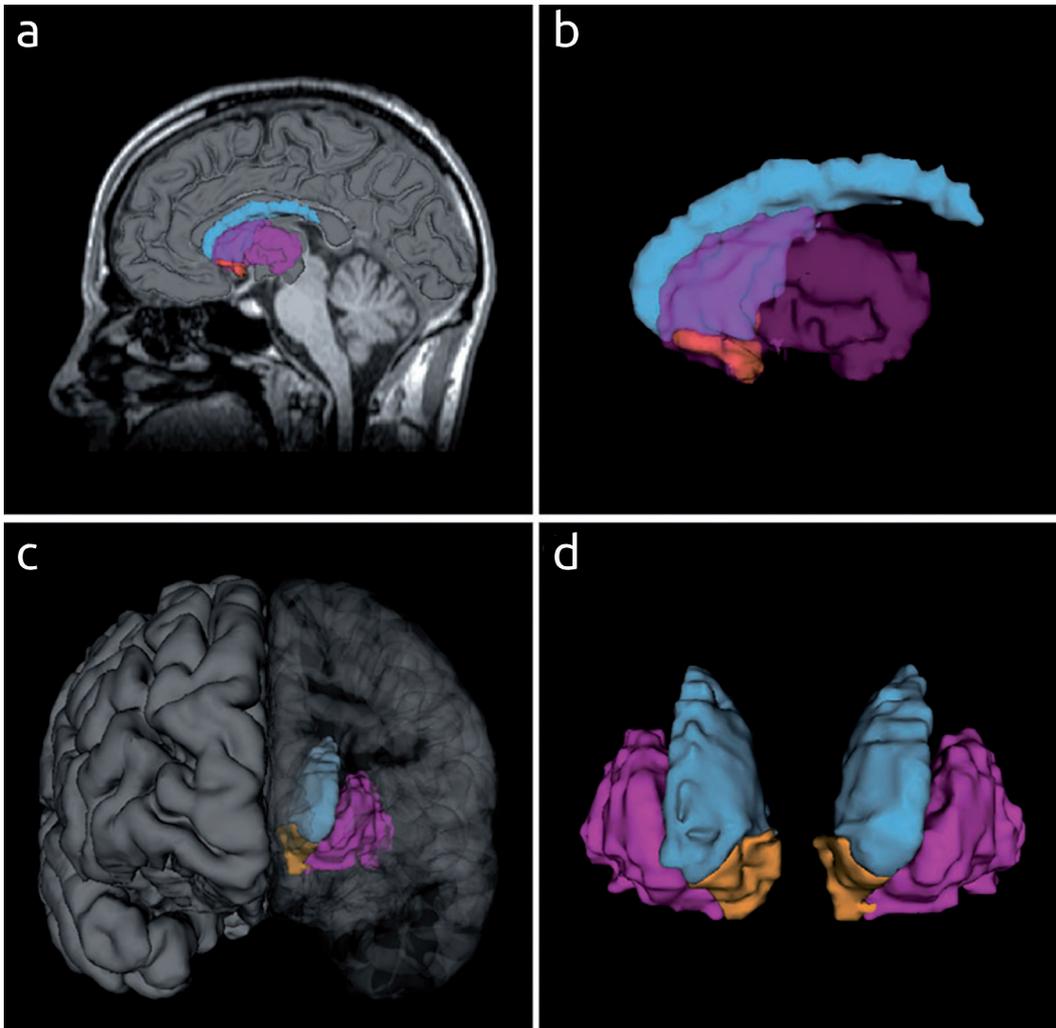


Alterazioni nei volumi delle strutture sottocorticali correlano con il numero di sigarette fumate lifetime

In uno studio longitudinale, alcuni ricercatori australiani hanno studiato l'associazione esistente tra volume cerebrale dei nuclei della base (striato, caudato, putamen e accumbens), il consumo di tabacco e l'età di inizio uso in un ampio campione di adulti e anziani tabagisti (Das D. et al., 2011). Molte ricerche hanno dimostrato che i fumatori hanno un volume cerebrale ridotto e/o con una più bassa densità di materia grigia corticale rispetto ai non fumatori. Gli autori di questo studio hanno voluto indagare le differenze nelle strutture sottocorticali che sono ancora poco studiate e che, a causa dell'elevata concentrazione di recettori nicotinici, risultano un potenziale bersaglio per la nicotina. Inoltre, lo striato rappresenta una componente essenziale del circuito cerebrale della ricompensa coinvolto nella dipendenza. Sono stati misurati con Risonanza Magnetica i volumi cerebrali di 315 partecipanti, di età compresa tra i 64 e i 70 anni. Il maggiore consumo di sigarette (misurato in pacchetti per anno) durante il corso della vita è stato associato con minori volumi della superficie del nucleo accumbens e un maggior volume del putamen, specialmente a sinistra. Il volume maggiore del putamen è stato anche associato ad una più giovane età

d'inizio del consumo di tabacco. Questi cambiamenti potrebbero indicare fattori predisponenti per la dipendenza da nicotina, o un effetto dell'esposizione cronica a questa sostanza, o una combinazione di entrambi.

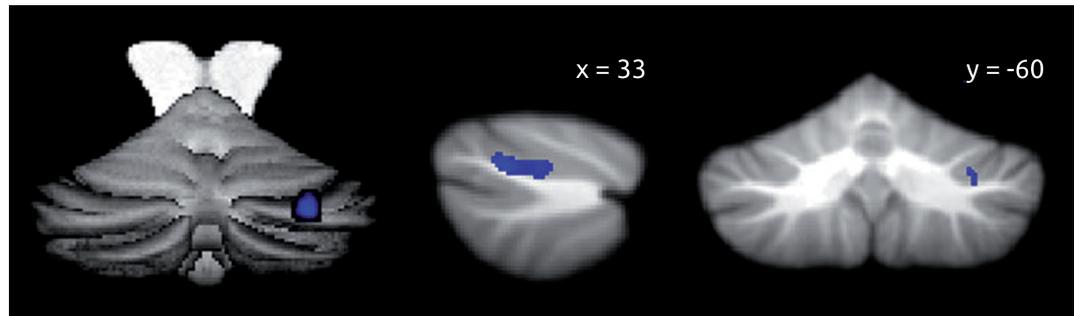
Figura 10 - Modello tridimensionale del cervello che mostra la posizione dei nuclei dello striato. (a) Vista sagittale sovrapposta ad un'immagine di risonanza magnetica della testa (c) vista anteriore. (b, d) Immagini ingrandite che mostrano solamente le strutture striatali in sezione sagittale (b) e anteriore (d). Il caudato è indicato in blu, il putamen in rosa, il nucleo accumbens in giallo. Fonte: Das D. et al., 2011.



Kühn S e colleghi (2011) si sono focalizzati sulla misurazione del volume del cervelletto in un gruppo di 33 fumatori, utilizzando un approccio voxel-based morphometry, confrontandolo con quello di 22 soggetti che non avevano mai fumato (controlli). L'età media degli adulti fumatori era di $33,5 \pm 12$ anni, ed il numero di sigarette fumate quotidianamente era mediamente di $15,8 \pm 7,1$. A tutti i soggetti è stata somministrata anche la Fagerstrom Scale il cui punteggio si è visto correlare negativamente con il volume della sostanza grigia. Gli autori hanno trovato che, rispetto ai non fumatori, i soggetti dipendenti da nicotina mostravano una significativa riduzione della sostanza grigia nel cervelletto destro. Questi dati supportano l'opinione, secondo i ricercatori, che il cervelletto potrebbe essere sostanzialmente coinvolto nei meccanismi più profondi della dipendenza (Kuhn S et al., 2011).

Alterazione nel volume cerebellare associate alla dipendenza da nicotina

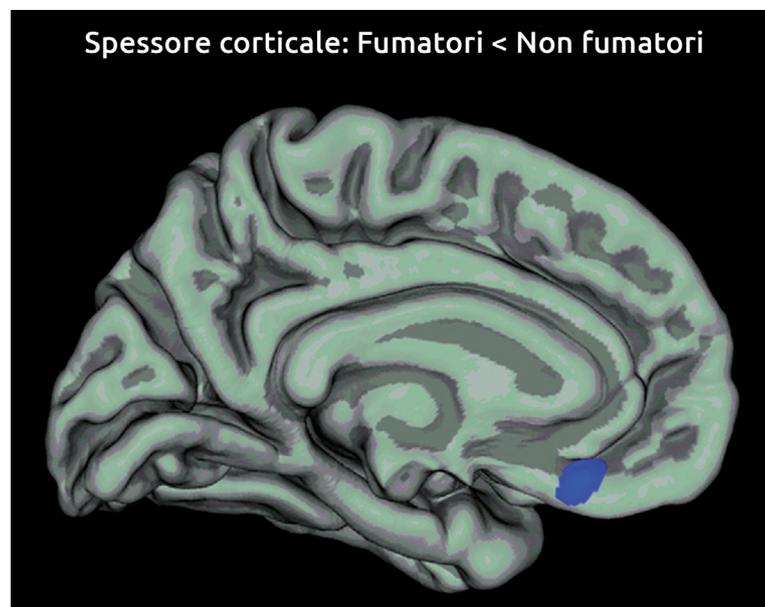
Figura 11 - Cluster significativi in cui vi è riduzione di volume della sostanza grigia cerebellare destra nei fumatori in confronto ai non fumatori. Fonte: Kuhn S et al., 2011.



Deficit nello spessore corticale frontale nei soggetti fumatori

Il gruppo di ricerca di Kühn S (2010) ha effettuato anche scansioni di risonanza magnetica ad alta risoluzione in 22 soggetti dipendenti da nicotina ed in 21 non fumatori, con l'intento di misurare e confrontare lo spessore corticale nelle regioni frontali (Kühn S et al., 2010). I ricercatori hanno potuto dimostrare che nei fumatori vi è un significativo assottigliamento della corteccia mediale orbito frontale sinistra (mOFC) che correla negativamente con la quantità di sigarette consumate/giorno e con la durata della dipendenza. Questa alterazione strutturale dose-dipendente nel cervello dei tabagisti, potrebbe implicare disfunzioni nei processi di ricompensa, nel controllo degli impulsi e nei circuiti di decision-making.

Figura 12 - Rappresentazione della zona di significativa riduzione dello spessore corticale nella corteccia orbitofrontale mediale sinistra nei fumatori rispetto ai soggetti di controllo. Fonte: Kuhn S et al., 2010.

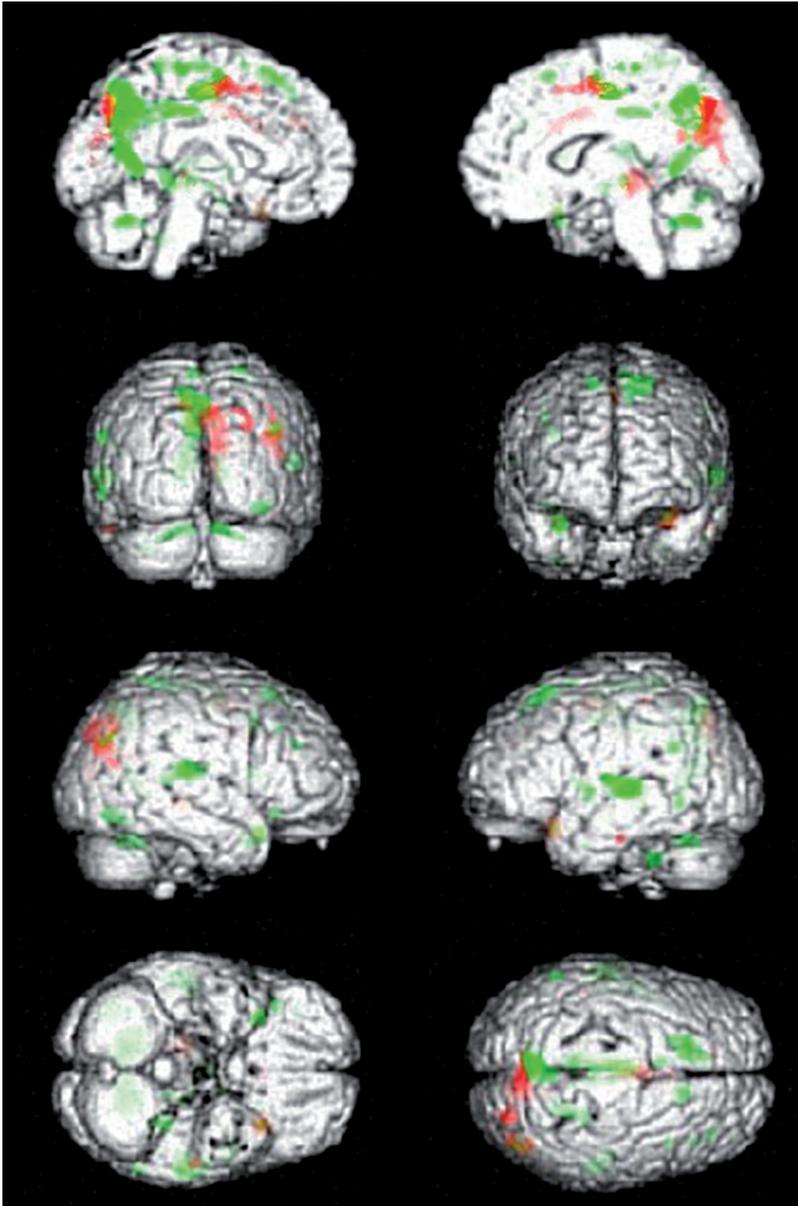


Alterazioni nel volume e nella densità corticale associabili alla dipendenza da nicotina

Gallinat J. e colleghi (2006) hanno utilizzato una sequenza volumetrica e analisi voxel-based morphometry, per quantificare le differenze strutturali tra un gruppo di 22 soggetti fumatori adulti (età $30,8 \pm 7,5$) ed un gruppo di soggetti di controllo non fumatori di pari età (Gallinat J et al., 2006). Gli autori hanno osservato volumi di materia grigia significativamente più piccoli e minore densità corticale nelle regioni frontali (cingolato anteriore, corteccia prefrontale ed orbitofrontale), nel lobo occipitale e nel temporale, incluso il giro

paraippocampale dei soggetti fumatori rispetto ai controlli. Differenze tra i due gruppi nel volume e nella densità di sostanza grigia sono state trovate anche in altre regioni, tra cui il talamo, il cervelletto e la substantia nigra. La quantità di sigarette fumate nel corso della vita è risultata essere inversamente correlata con i volumi del lobo frontale, temporale e del cervelletto e queste alterazioni potrebbero spiegare in parte, secondo gli autori, le frequenti disfunzioni cognitive che vengono riportate dai consumatori cronici di sigarette.

Figura 13 - Regioni cerebrali in cui sono stati trovati un minor volume (in rosso) ed una minore densità della sostanza grigia (in verde) nel gruppo dei fumatori rispetto ai controlli. Fonte: Gallinat J et al., 2006.

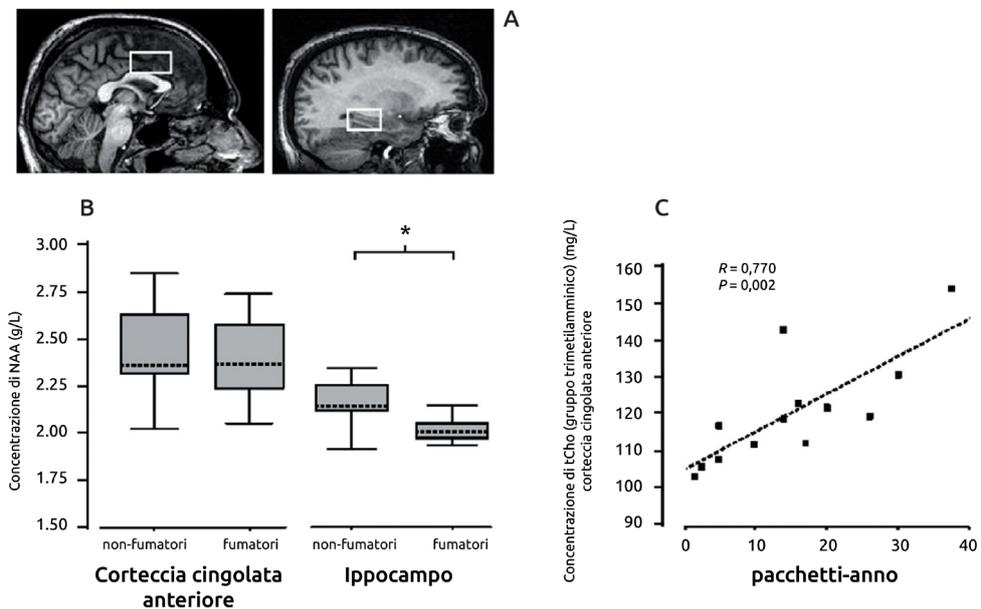


2. Biochimica cerebrale

Alterazioni nelle concentrazioni dei metaboliti cerebrali nei circuiti neurali della working memory di adulti fumatori

Vari studi hanno associato l'esposizione cronica al tabacco a ridotte performance in paradigmi cognitivi che richiedono carichi attentivi, di working memory e di memoria verbale (Jacobsen LK et al., 2005). Partendo da questo presupposto Gallinat J. e colleghi (2007) hanno utilizzato la spettroscopia di Risonanza Magnetica ad alto campo (3.0 Tesla) per indagare gli effetti che il fumo di sigaretta può avere sull'integrità neurale delle regioni principalmente deputate a queste funzioni cognitive: l'ippocampo e la corteccia cingolata anteriore (ACC). I ricercatori hanno misurato le concentrazioni dei principali metaboliti cerebrali in 13 fumatori cronici (età $36 \pm 9,3$) ed in 13 soggetti di controllo non fumatori ($36,2 \pm 11,3$). I valori di N-acetylaspartato (NAA) nell'ippocampo sinistro, un marker surrogato dell'integrità neuronale, sono risultati significativamente inferiori nei soggetti dipendenti da nicotina rispetto a gruppo di controllo. Inoltre, la concentrazione totale della colina (tCho) nell'ACC è risultata positivamente correlata con la quantità di sigarette fumate lifetime (pacchetti/anno). Secondo gli autori, questi dati accrescono le evidenze della neurotossicità della nicotina a carico delle regioni deputate alla memoria di lavoro, spiegandone in parte i deficit nei fumatori cronici (Gallinat J et al., 2007).

Figura 14 - (A) Regioni d'interesse dello studio: ippocampo (sinistra) e ACC (destra). (B) I fumatori, rispetto ai controlli, hanno mostrato concentrazione ippocampale di NAA significativamente minore (1.96 ± 0.21 vs. 2.13 ± 0.14 g/L; * $t_{24} = 2.435$; $P = 0.023$; t test) ma non nel cingolato anteriore (2.33 ± 0.21 vs. 2.40 ± 0.24 g/L; $t_{24} = 0.786$; $P = 0.439$; t test). (C) Grafico di dispersione della concentrazione di tCho nella ACC e dei pacchetti fumati/anno nei soggetti fumatori. La significatività rimane dopo la correzione di Bonferroni. Fonte: Gallinat J et al., 2007.



Rispetto ai non fumatori inoltre, i tabagisti mostrano livelli cerebrali più bassi di monoamminossidasi (MAO), un enzima che metabolizza alcuni neurotrasmettitori, tra cui la dopamina e la serotonina (Fowler JS et al., 1996). Si ritiene che questi minori livelli di MAO siano causati dall'esposizione a composti MAO-inibenti presenti nel fumo di sigaretta (Fowler JS et al., 2003), e possano giocare un ruolo importante, sia da soli che in sinergia con la nicotina, nel creare il rinforzo a fumare.

3. Flusso sanguigno cerebrale

La grande maggioranza delle ricerche che hanno utilizzato le neuroimmagini per misurare la perfusione cerebrale ha indagato gli effetti acuti dell'esposizione alla nicotina, piuttosto che le conseguenze dell'uso cronico di sigarette.

I primi studi di neuroimaging che hanno utilizzato la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) suggeriscono che la somministrazione endovenosa di nicotina sia associata ad una diminuzione dell'attività cerebrale globale (Stapleton JM et al., 2003) e ad un aumento dell'attività in alcune regioni specifiche, prevalentemente nel circuito cortico-basale-ganglio-talamico (Domino EF et al., 2004).

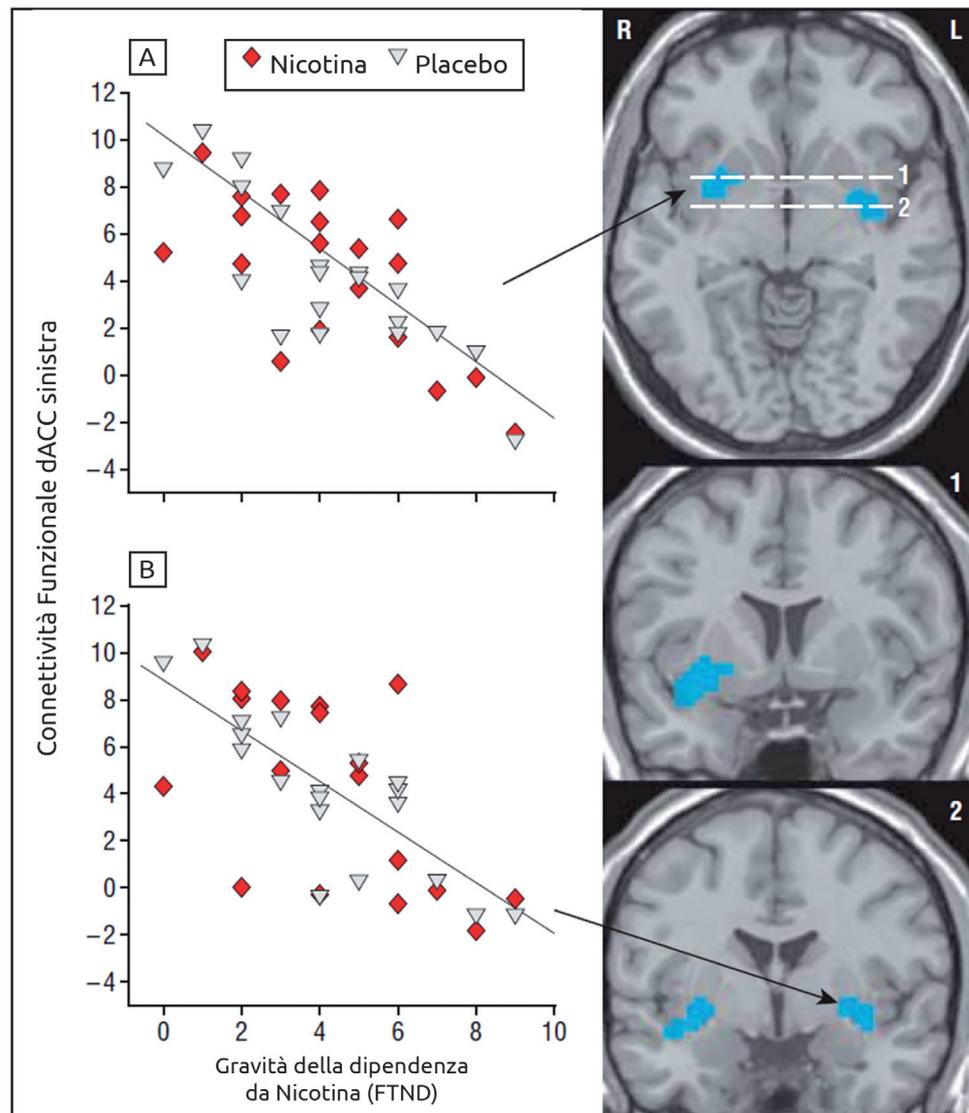
Studi di imaging con risonanza magnetica su animali hanno suggerito che questi cambiamenti di attività vengono mediati principalmente dal recettore nicotinico $\beta 2$. In effetti, si ritiene che l'aumento di attività locale (in controtendenza ad un decadimento a livello globale) sia dovuto all'alta densità di recettori $\beta 2$ in queste regioni. Molti studi di neuroimmagine funzionale (PET, SPECT, fMRI) sono stati svolti sui tabagisti cronici e qualche studio di MRI funzionale anche su soggetti non fumatori, per vedere gli effetti acuti della somministrazione di nicotina sull'attivazione cerebrale durante lo svolgimento di un compito cognitivo o dopo la presentazione di immagini con valenza emotiva (Finnerty CE, 2009; Jacobsen LK et al., 2007). Nei fumatori cronici gli studi di neuroimmagine funzionale che hanno indagato le risposte cerebrali al fumo di sigaretta hanno mostrato che la somministrazione in acuto di nicotina è associata con un flusso sanguigno cerebrale globalmente diminuito, e ad un'iperattivazione nelle regioni frontali ed orbitofrontali, dorsolaterali, inferiori e mesiali, nel talamo e nelle regioni del processamento visivo (Rose JE et al., 2007).

L'analisi dei cambiamenti di flusso sanguigno da un punto di vista più globale è una linea di lavoro emergente nelle ricerche di fMRI, che implica l'investigazione di pattern di connettività tra differenti regioni cerebrali durante un periodo di riposo (resting state connectivity). Ricerche recenti suggeriscono che anche questa connettività può venire modificata in risposta a somministrazione di nicotina. Uno studio di Hong L.E. e colleghi (2008) ha indagato i circuiti funzionali della corteccia cingolata adottando la tecnica del resting state su 19 soggetti fumatori dai 18 ai 50 anni di età (≥ 10 sigarette die) la cui dipendenza da nicotina è stata misurata attraverso il Fagerström Test for Nicotine Dependence (FTND). Ai soggetti sono state effettuate scansioni di risonanza magnetica funzionale a 3T per valutare la presenza di variazioni della connettività cerebrale effettiva nello stato di riposo (resting state). In particolare, oggetto di ricerca è stato il determinare i circuiti cerebrali modulati dalla nicotina nella condizione di dipendenza, differenziandoli da quelli su cui agisce la somministrazione in acuto di nicotina. Gli autori hanno potuto individuare circuiti differenti: la gravità della dipendenza da nicotina era associata con la forza del circuito corteccia cingolata anteriore dorsale (dACC)-striatale e non veniva modificata dalla somministrazione in acuto di nicotina. Al contrario, la somministrazione a breve termine di nicotina aumentava i pattern di connettività funzionale del circuito cingolato-neocorticale. Secondo gli autori, la valutazione del Resting State dACC-striatale potrebbe essere utilizzato come biomarker del livello di circuito per valutare la dipendenza da nicotina (Hong L.E. et al., 2009).

Alterazioni nell'attività cerebrale globale e regionale associate alla somministrazione di nicotina acuta e cronica

Studi di resting state connectivity per identificare i circuiti coinvolti nella dipendenza da nicotina

Figura 15 - Correlazioni tra i punteggi al Fagerström Test for Nicotine Dependence (FTND) e la connettività funzionale tra la corteccia cingolata anteriore dorsale sinistra (dACC) e lo striato bilaterale. Due cluster distinti (in blu) hanno un significativo effetto principale sul FTND. Fonte: Hong LE et al., 2009.



5. Esposizione a stimoli fumo-correlati e compiti comportamentali

I paradigmi di esposizione agli stimoli salienti più frequentemente utilizzati negli studi di neuroimmagine sulla dipendenza da nicotina includono quelli di attivazione in risposta a stimoli correlati al fumo (spesso vengono confrontati con stimoli neutri, o non correlati al fumo), o di presentazione di immagini (facce oppure scene che elicitano specifiche risposte emotive) atte a valutare l'interpretazione della valenza emotiva degli stimoli e la risposta emotiva e comportamentale dei soggetti dipendenti da nicotina.

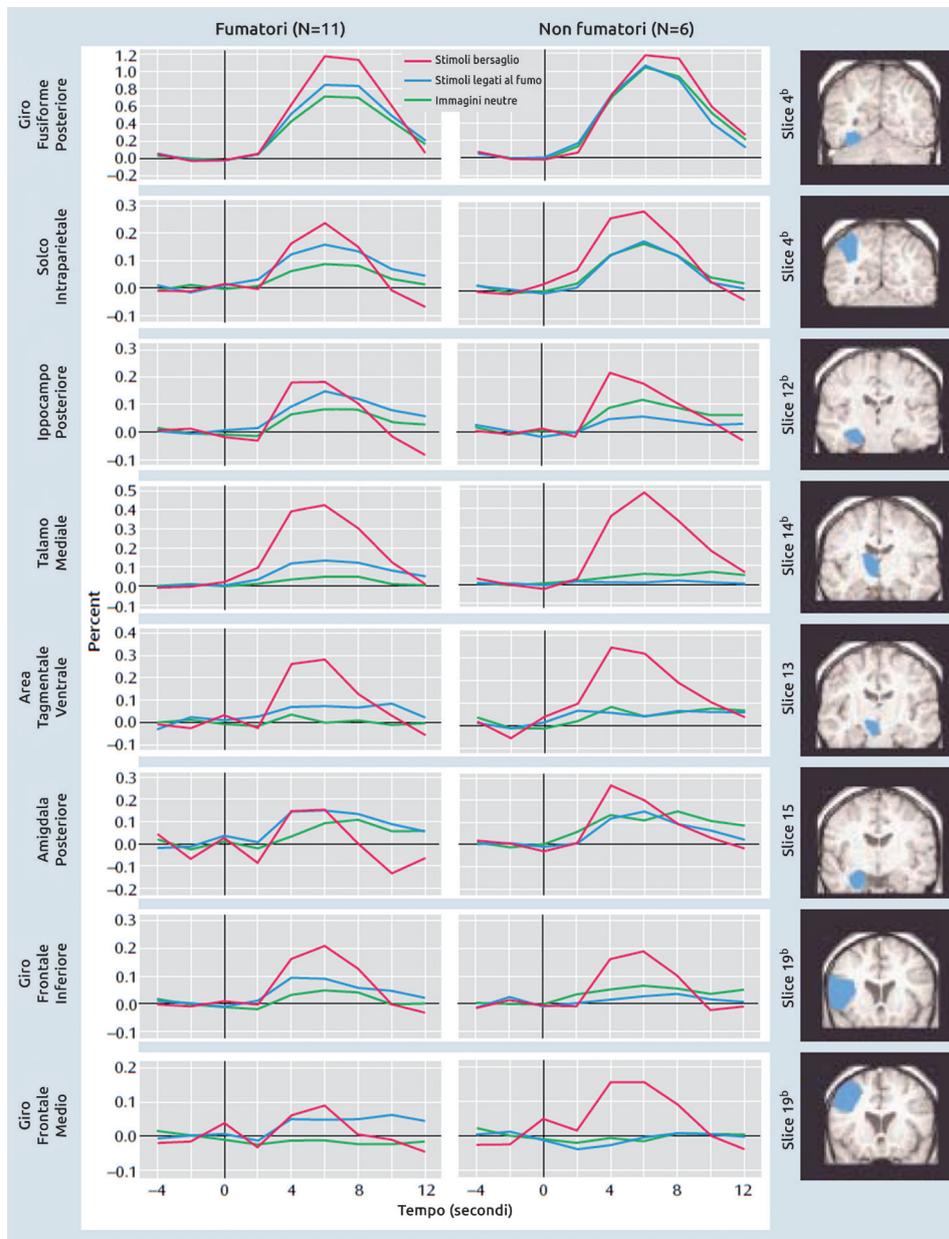
I paradigmi di esposizione a stimoli correlati al fumo sono stati intensivamente studiati utilizzando la fMRI e la PET, sia su fumatori cronici che su fumatori in astinenza. Gli stimoli visivi, olfattivi o di altre modalità sensoriali correlati al fumo, evocano verosimilmente il craving da sigarette (un processo noto come "reattività allo stimolo") e sono spesso associati con le ricadute. L'introduzione degli approcci di neuroimaging funzionale nella ricerca

sulla reattività allo stimolo, hanno reso possibile lo studio approfondito dei circuiti della ricompensa da nicotina, correlando gli indici comportamentali con la morfologia e con la funzionalità del cervello. La stessa cosa è stata possibile nell'indagine degli stati affettivi, dell'attenzione e della memoria di lavoro in soggetti dipendenti da nicotina.

Due D.L. e colleghi (2002) hanno indagato i substrati neurali che vengono attivati dall'esposizione a stimoli visivi correlati al fumo (fMRI BOLD), in 12 pazienti fumatori (età media 22,7 anni) e in 6 controlli non fumatori (età media 25 anni). Ai fumatori, che erano astinenti da 12 ore, sono state mostrate sequenze di immagini connesse al fumo di sigaretta, immagini neutre e alcune immagini target (fotografie di animali), alla cui comparsa ai soggetti era richiesto di premer un pulsante. Nei soggetti fumatori, il segnale di attivazione era molto amplificato, dopo l'esposizione ad immagini fumo-correlate rispetto alle immagini neutre, in sette regioni in particolare: l'amigdala posteriore destra, l'ippocampo posteriore, l'area tegmentale ventrale ed il talamo mediale (circuitto della ricompensa mesolimbico), così come nella corteccia prefrontale e parietale bilaterale e nel giro fusiforme destro (centri dell'attenzione visuo-spaziale). Gli autori concludono che le regioni mesolimbiche ed extra-striatali che processano informazioni visive, lavorano in concerto per processare il segnale di potenziale ricompensa elicitato da stimoli visivi correlati al fumo, e che sono più salienti nei fumatori rispetto agli stimoli neutri. Nei soggetti non fumatori non sono state rilevate attivazioni significative (Due DL et al., 2002).

Variazioni
nell'attivazione
cerebrale in
risposta a stimoli
fumo-correlati

Figura 16 - Risposta emodinamica nelle diverse regioni cerebrali d'interesse in fumatori in astinenza (N=12) ed in controlli non fumatori (N=6) in seguito a esposizione a stimoli fumo-correlati, neutri e target. Fonte: Due DL et al., 2002.



Questi stessi risultati vengono proposti anche da una recentissima revisione della letteratura di Engelmann JM e colleghi (2012), secondo i quali le regioni in cui la differenza di attivazione in risposta a stimoli fumo-correlati rispetto a stimoli neutri in soggetti con dipendenza da nicotina risultano congruenti trasversalmente a tutti gli studi fMRI che hanno utilizzato questo paradigma di ricerca (Engelmann JM et al., 2012).

Figura 17 - Regioni cerebrali in cui il contrasto tra stimolo fumo-correlato>stimolo neutro è risultato consistentemente significativo trasversalmente agli studi fMRI considerati nella metanalisi. La mappa colorata indica le zone in cui è stata trovata attività significativa. Questi dati sono stati ricavati da 12 ricerche in cui ai soggetti tabagisti (n=224) venivano mostrati stimoli fumo-correlati e stimoli neutri durante una scansione di fMRI. ACC=corteccia cingolata anteriore, MeFG=giro frontale mediale, PCC=corteccia cingolata posteriore; PrC=precuneo, CUN=cuneo, LG=giro linguale, SFG=giro frontale superiore; BS=tronco dell'encefalo, ALE=stima della probabilità di attivazione. Fonte: Engelmann JM et al., 2012.

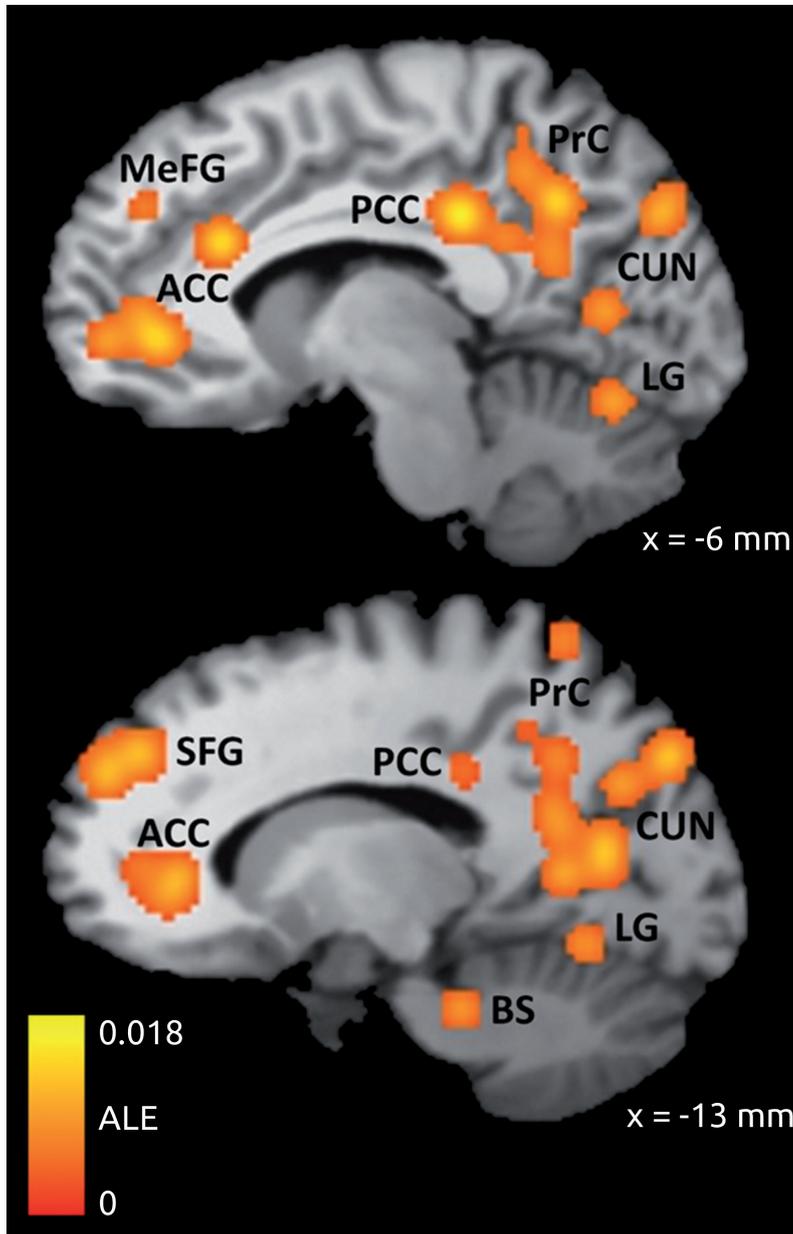
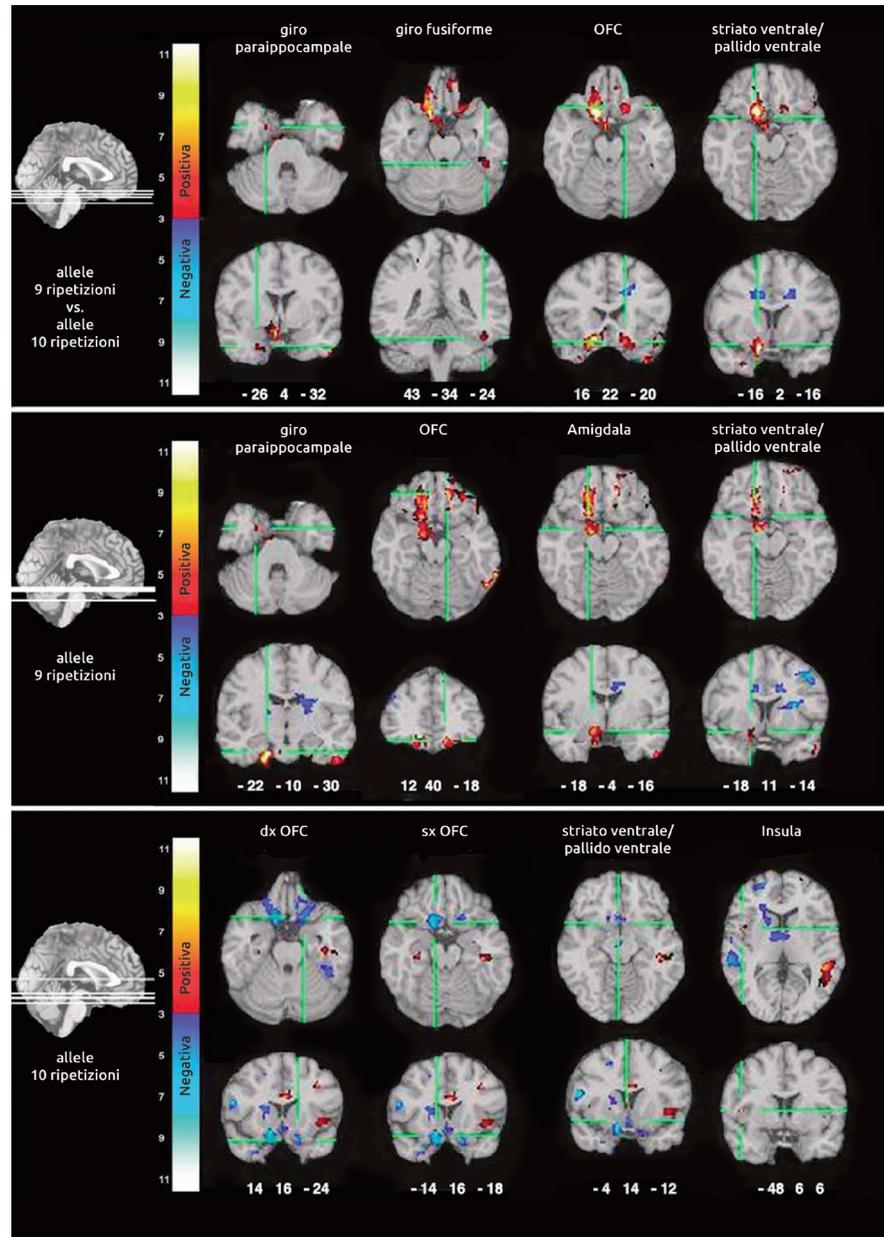


Figura 18 - Lamine del cervello assiali e coronali rappresentative che mostrano la maggiore attività cerebrale in risposta a stimoli fumo-correlati rispetto a stimoli neutri su un campione di 19 soggetti fumatori. Fonte: Franklin TR et al., 2009.

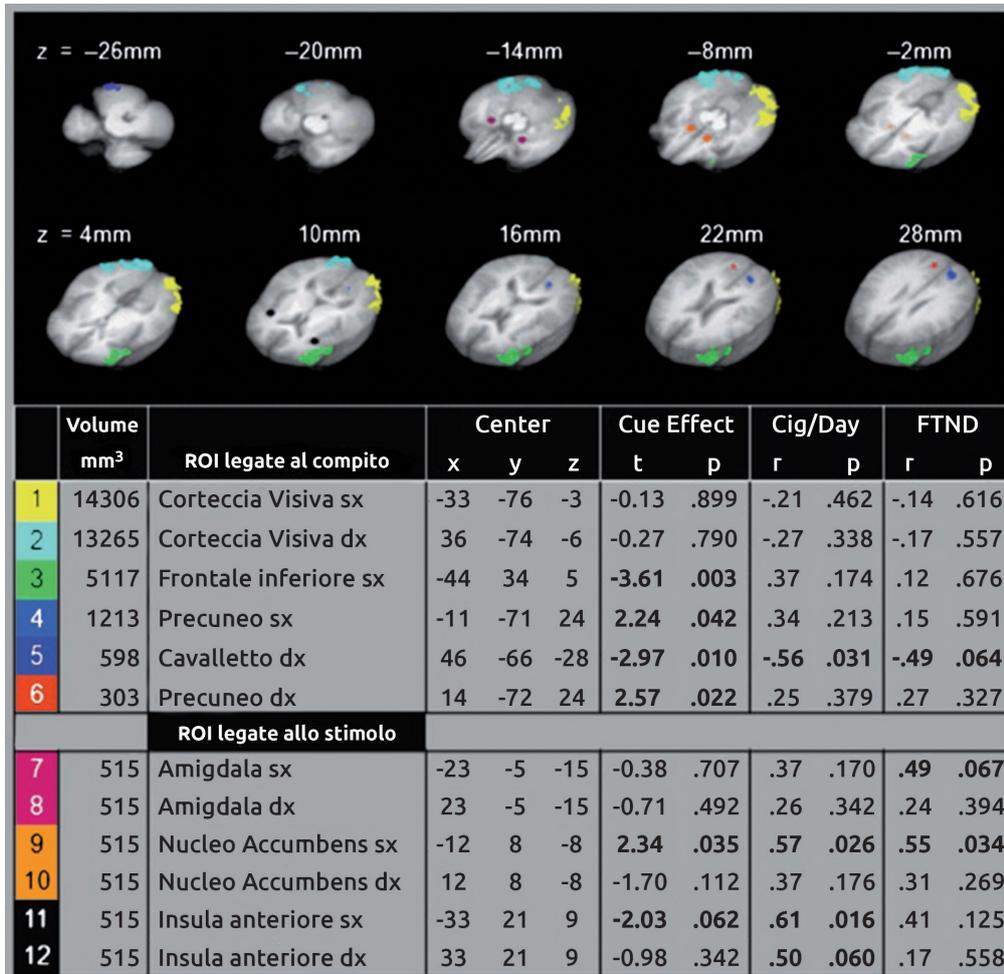


L'attività nel nucleus accumbens in risposta a stimoli salienti correla con il numero di sigarette fumate/giorno

Un recente studio condotto da Sweet e colleghi ha coinvolto 15 adulti dipendenti da nicotina e li ha indagati utilizzando un paradigma di esposizione a stimoli salienti (Sweet LH et al., 2009) durante una scansione fMRI. Coerentemente con quanto trovato da altri autori, gli stimoli fumo-correlati aumentavano l'attività nella corteccia visiva, nello striato ventrale (incluso il nucleus accumbens) e nel giro frontale inferiore (IFG), causando una de-attivazione nel cuneo bilateralmente e dell'insula. Il nucleus accumbens (NA) sinistro esibiva un livello di attività significativamente maggiore ($t = 2.336, p = .035$) mentre l'insula sinistra mostrava tendenzialmente minore attività ($t = -2.029, p = .062$) durante la presentazione degli stimoli. L'attività nel nucleus accumbens sinistro e nell'insula sinistra ha mostrato una correlazione con il numero di sigarette fumate/giorno ($r = .611, p = .016$). La figura illustra il pattern di attivazione osservato in questi soggetti associato alla presentazione degli stimo-

li correlati al fumo. Questi dati suggeriscono inoltre una lateralizzazione dell'attivazione neurale nei fumatori destrimani, ed una correlazione tra gli indicatori di dipendenza dalla nicotina o di gravità del craving, e l'attivazione del NA.

Figura 19 - Risposte al paradigma di reattività allo stimolo, effetti degli stimoli e relazione con la gravità della dipendenza da nicotina. Mappa statistica dell'analisi voxelwise nel territorio di 6 regioni d'interesse (ROI) legate al compito e 6 regioni d'interesse (ROI) legate allo stimolo. I valori T per il contrasto blood oxygen level dependent (BOLD) sono codificati a colori in accordo alle ROI. Fonte: Sweet LH et al., 2009.



Nei soggetti dipendenti dalla nicotina, gli indizi fumo-correlati elicitano una maggiore attività nelle regioni legate all'attenzione, alla memoria, all'emozione e alla motivazione. Inoltre, quest'attivazione cerebrale indotta dallo stimolo che richiama il fumo viene accompagnata da un maggior craving riferito dal soggetto. Uno studio di Smolka MN e colleghi (Smolka MN et al., 2006) ha voluto investigare se l'attività del cervello elicitata da stimoli fumo-correlati aumentasse con la gravità della dipendenza e con l'intensità del craving riferito. A 10 soggetti fumatori (età media 32 ± 5) con diverso livello di dipendenza da nicotina misurata attraverso il Fagerström Test of Nicotine Dependence (FTND) sono stati presentati stimoli visivi fumo-correlati e stimoli neutri durante una sessione di fMRI. Gli autori hanno poi correlato, servendosi della regressione lineare multipla, il livello di ossigenazione nel sangue (BOLD) in risposta agli stimoli con il livello di gravità della dipendenza. Sono stati trovate correlazioni positive significative tra i punteggi al FTND e l'attività cerebrale nelle aree preposte all'attenzione visuospatiale (corteccia cingolata anteriore, corteccia

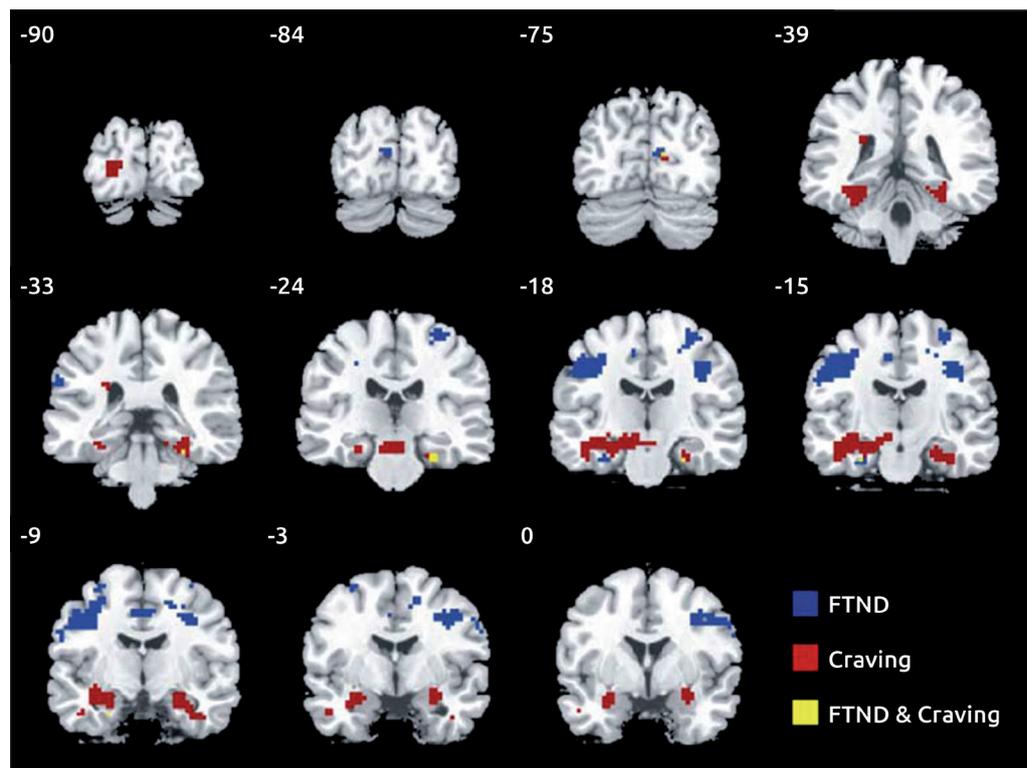
L'iperattività cerebrale nei soggetti fumatori in risposta agli stimoli salienti correla con la gravità della dipendenza e con l'intensità del craving

parietale, giro paraippocampale e cuneo) oltre alle aree motorie primarie, alla corteccia premotoria e all'area supplementare motoria. Questi dati, secondo gli autori, mostrerebbero l'associazione tra la gravità della dipendenza e l'attività cerebrale in regioni coinvolte nell'allocazione dell'attenzione, nella preparazione motoria e nell'immaginazione, che potrebbero riflettere la preparazione del comportamento automatico di assunzione della nicotina.

Figura 20 - Il paradigma sperimentale fMRI con esempi di stimoli neutri e stimoli droga-correlati. Fonte: Smolka MN et al., 2006.



Figura 21 - Mappe parametriche statistiche che mostrano le aree cerebrali in cui le variazioni di segnale BOLD erano associate con la dipendenza da nicotina (FTND), con il craving riferito o con entrambi ($p < 0.005$; cluster size ≥ 10 voxels). Fonte: Smolka MN et al., 2006.

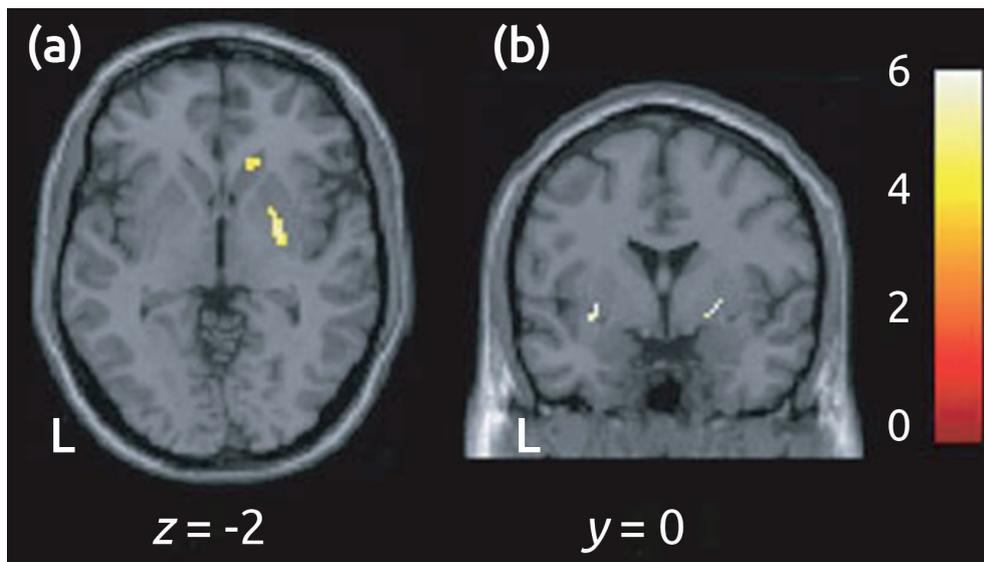


6. Effetti diretti della nicotina

Nonostante la maggior parte degli studi di neuroimaging funzionale pubblicati sulla dipendenza da nicotina implichi la somministrazione di nicotina in qualche sua forma (ad esempio per via endovenosa, attraverso il fumo di sigaretta o i cerotti alla nicotina), è importante fare una distinzione tra gli studi che esaminano gli effetti dell'astinenza da nicotina (in cui cioè i partecipanti devono restare astinenti per 10 ore o più, e hanno quindi alta probabilità di esperire i sintomi di astinenza) e quelli che indagano invece gli effetti diretti della nicotina o del fumo di tabacco. Gli studi in cui è stata somministrata nicotina in modo non invasivo hanno utilizzato una gamma più ampia di paradigmi sia comportamentali che di riposo (resting state). Una ricerca PET di Takahashi H e colleghi (2007) ha utilizzato radioleganti per i recettori D2 della dopamina per indagare l'effetto della nicotina (sotto forma di gomme da masticare) sul rilascio di dopamina in soggetti fumatori e non, e la correlazione con il grado di dipendenza. Questo ed altri studi simili hanno trovato che il fumo diminuisce il potenziale di legame del recettore D2 nello striato, cosa che non si evidenzia nei soggetti che non fumano. Questo porta, secondo gli autori, ad un maggior rilascio di dopamina endogena che aumenta gli effetti rinforzanti della nicotina (Takahashi H et al., 2007).

Minore potenziale di legame del recettore per la dopamina D2 nello striato dei fumatori

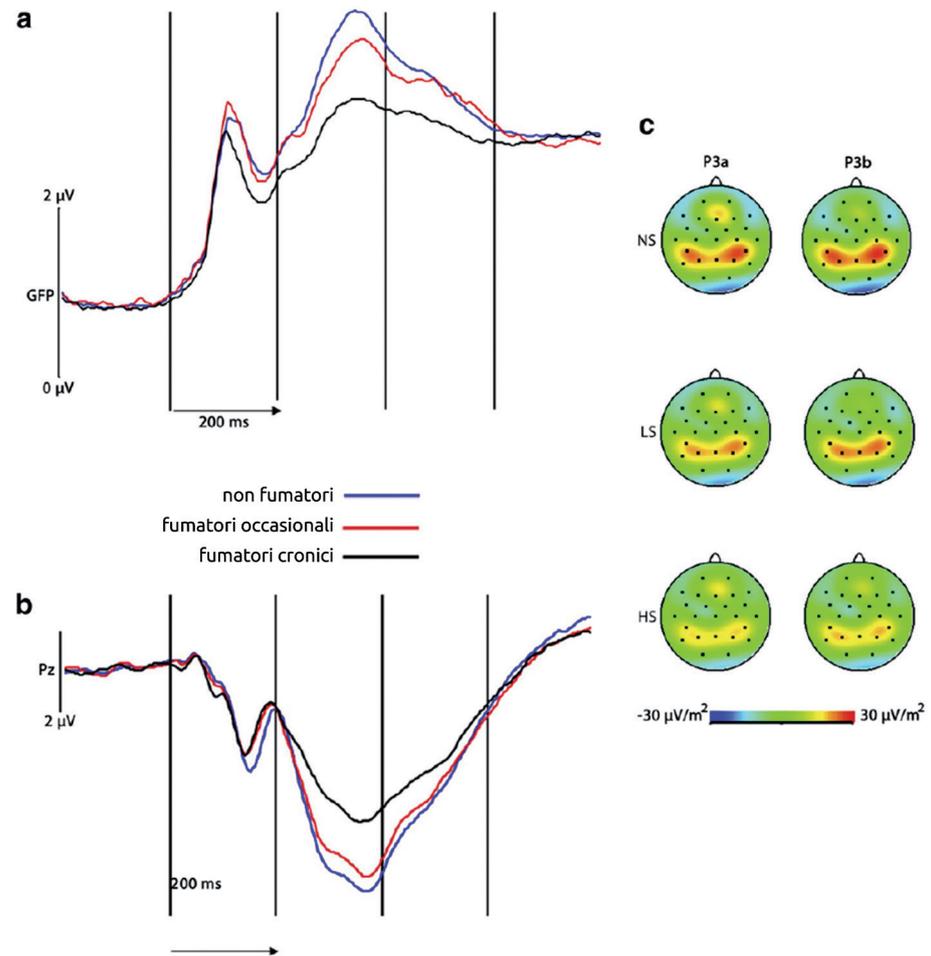
Figura 22 - Differenze di potenziale di legame del recettore D2 nello striato di soggetti fumatori e correlazione con la dipendenza da nicotina. (a) differenze nel caudato ventrale e nel putamen (b) differenze nel putamen ventrale e correlazione alla nicotina al test di Fagerström. Fonte: Takahashi H et al., 2007.



Una recente ricerca di Mobascher A. e colleghi (2010) ha indagato la componente P300 nei potenziali evocati di soggetti fumatori e non fumatori (Mobascher A et al., 2010). Gli autori hanno reclutato 271 fumatori cronici di età media 40,9 anni, 325 fumatori saltuari di età media 35,7 e 722 soggetti di controllo non fumatori di pari età. Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad elettroencefalografia ed a misurazione dell'onda P300 poche ore dopo l'ultima sigaretta nei fumatori. Nei fumatori cronici è stata misurata una P300 significativamente ridotta rispetto ai non fumatori ed ai fumatori occasionali. Secondo gli autori l'ampiezza minore dell'ERP P300 risulta, da un numero così vasto di dati, essere parte del fenotipo elettrofisiologico dei fumatori, aprendo le porte a nuove future analisi multidimensionali sulla relazione tra genotipo e fenotipo nel campo della dipendenza da nicotina.

Le onde cerebrali rilevabili all'EEG sono di ampiezza minore durante l'astinenza da nicotina

Figura 23 - I potenziali evento-relati (ERP) della P300 soggetti fumatori cronici, fumatori occasionali e non fumatori. (a) media del global field power (GFP) della P300. (b) media degli elettrodi degli ERP della P300 ottenuti dall'elettrodo in posizione Pz. Fonte: Mobascher A et al., 2010.



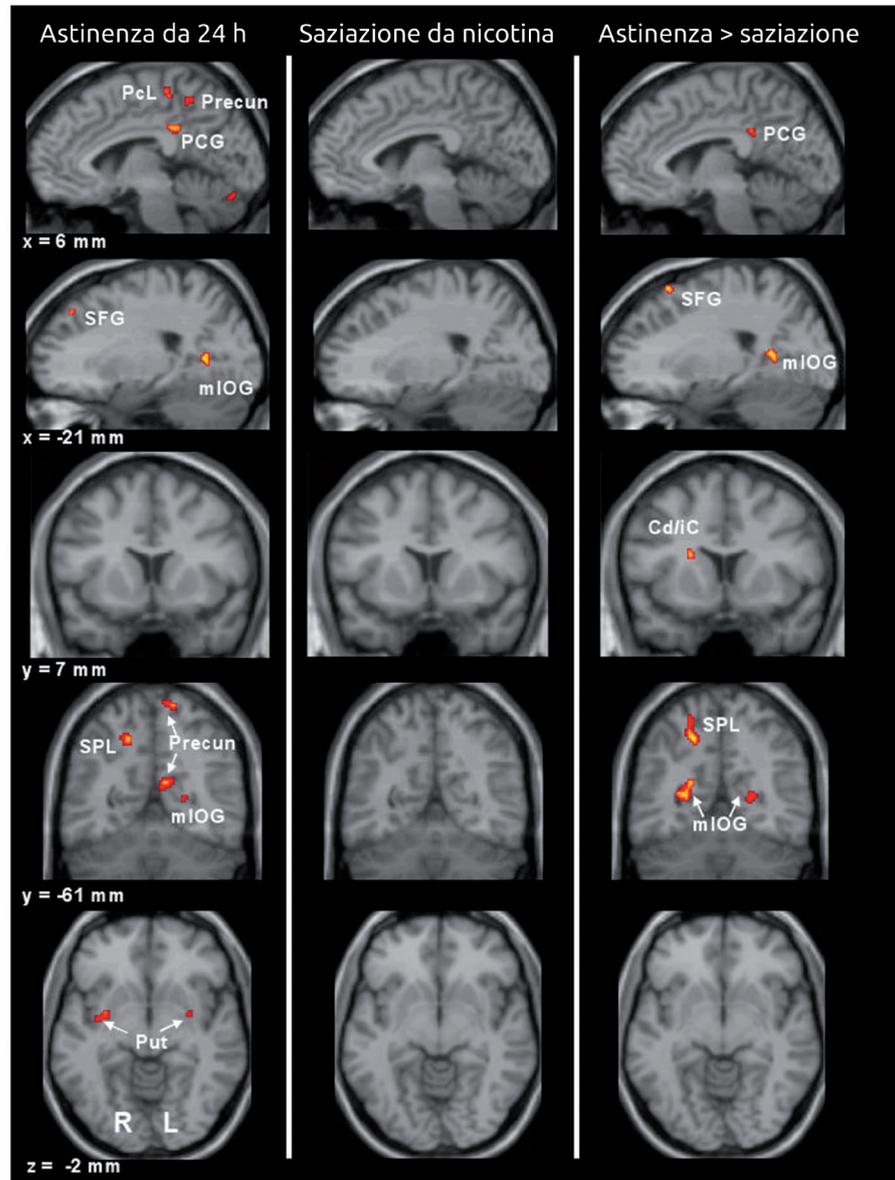
7. Effetti dell'astinenza

L'astinenza da sigarette ed il craving possono manifestarsi con segni e sintomi importanti, incluse variazioni dell'umore e delle capacità cognitive. Gli studi di neuroimaging sugli effetti dell'astinenza da nicotina sulle prestazioni in un compito costituiscono probabilmente il più grande sottogruppo di studi pubblicati e variano molto in relazione ai paradigmi comportamentali impiegati. Gli studi con elettroencefalografia (EEG) hanno dimostrato che l'astinenza altera significativamente l'elettrofisiologia cerebrale, come evidenziato da un aumento di onde nelle bande a bassa frequenza (Gilbert D et al., 1999; 2004).

Gli studi sugli effetti dell'astinenza sulla reattività agli stimoli nei fumatori hanno mostrato risultati interessanti per quanto riguarda l'attivazione di specifiche regioni cerebrali. Ad esempio, McClernon FJ e colleghi (2008), hanno fatto un confronto su 30 soggetti fumatori cronici (24 sigarette al giorno per almeno 18 anni) in astinenza da una notte (McClernon et al., 2008). I ricercatori hanno effettuato una scansione di fMRI mentre i soggetti erano sottoposti al classico paradigma degli stimoli salienti (stimoli fumo-correlati e stimoli neutri). È stato possibile così rilevare una maggiore reattività agli stimoli fumo-correlati ed una correlazione positiva con lo stato di dipendenza da nicotina nel giro del cingolo anteriore destro e nella corteccia orbitofrontale (OFC) mentre una correlazione negativa con la reattività è stata misurata nello striato ventrale. In condizione di non astinenza, vi era una maggiore attivazione nel giro frontale superiore, nel giro del cingolo ventrale anteriore e nello striato ventrale.

Sempre il gruppo di ricerca di McClernon FJ (2009) ha effettuato un altro studio di risonanza magnetica funzionale per indagare gli effetti dell'astinenza sulle risposte cerebrali a stimoli fumo-correlati (McClernon et al., 2009). Sono state mostrate fotografie di stimoli correlati al fumo e di stimoli neutri a 18 adulti fumatori (10 o più sigarette al giorno per almeno 2 anni) sia in condizione di sazietà da nicotina (dopo aver fumato regolarmente) che dopo 24 ore di astinenza. Attraverso la fMRI si sono potute rilevare le zone di differente attivazione nelle due diverse condizioni in risposta agli stimoli. In particolare, durante la visualizzazione degli stimoli neutri è stata trovata una maggiore attivazione nelle regioni parietali (BA 7/31), frontali (BA 8/9), occipitali (BA 19), centrali (BA 4), nello striato dorsale e nel talamo. In generale, nella situazione di astinenza è stata mostrata una maggior reattività cerebrale in risposta agli stimoli fumo-correlati rispetto alla condizione di sazietà. Inoltre, è stata trovata una correlazione positiva tra gli indici di craving durante l'astinenza e la magnitudo di attivazione nella corteccia prefrontale dorso mediale, incluso il giro frontale superiore (BA 6/10), il giro cingolato anteriore (BA 32) e l'area supplementare motoria (BA 6).

Figura 24 - L'attivazione BOLD in risposta a stimoli fumo-correlati rispetto a stimoli di controllo, dopo 24 ore di astinenza, risultava maggiore nel lobulo paracentrale destro (PcL; BA4), nel giro cingolato posteriore destro (PCG; BA31), nel precuneo bilateralmente (Precun; BA7), nel girofrontale superiore sinistro (SFG; BA8), nel giro occipitale inferiore mediale sinistro (mIOG; BA19), nel lobulo parietale superiore destro (SPL; BA7) e nel putamen bilaterale (Put). Non sono state rilevate aree di attivazione significativa per gli stimoli fumo-correlati>stimoli di controllo nella condizione di non astinenza. Fonte: McClernon FJ et al., 2009.



Questi dati suggeriscono che l'astinenza da sigarette aumenti la sensibilità del cervello agli indizi fumo-correlati proprio nelle regioni coinvolte nella ricompensa, nelle prese di decisione e nella motivazione e di questo dovrebbe esserne tenuto conto in considerazione del fatto che l'esposizione a questi indizi è un importante fattore di ricaduta nella dipendenza.

In aggiunta agli effetti sulla reattività agli stimoli salienti, l'astinenza dal fumo ha pesanti ricadute anche su molteplici processi cognitivi, tra cui l'attenzione sostenuta e la working memory (Xu J et al., 2005).

8. Conclusioni

A causa dell'alta prevalenza dei fumatori e dei gravi rischi che comporta per la salute, il fumo di sigaretta rappresenta oggi un importante settore di ricerca. Gli strumenti di neuroimmagine sono stati estensivamente utilizzati per indagare gli effetti farmacologici e neurocognitivi, acuti e a lungo termine, provocati dalla nicotina. La RM è stata utilizzata per identificare le differenze strutturali tra i fumatori e i non fumatori, mentre le metodologie funzionali, come la PET e la SPECT sono state utili per investigare gli effetti farmacologici acuti della nicotina, gli effetti dell'astinenza e le differenze funzionali tra i fumatori e i non fumatori. Le ricerche che hanno confrontato i tabagisti con i soggetti di controllo indicano che i fumatori hanno una minore densità di sostanza grigia nelle regioni frontali ed una maggiore concentrazione di recettori nicotinici. Gli studi funzionali dopo astinenza hanno identificato le aree anatomiche funzionalmente legate all'aumento di reattività in risposta a stimoli fumo-correlati e al peggioramento della concentrazione in assenza di nicotina.

Bibliografia

1. Barnea-Goraly, N., Menon, V., Eckert, M., Tamm, L., Bammer, R., Karchemskiy, A., et al. (2005). White matter development during childhood and adolescence: a cross-sectional diffusion tensor imaging study. *Cereb. Cortex*, 1848–1854.
2. Brody, A. L., Mandelkern, M. A., Jarvik, M. E., Lee, G. S., Smith, E. C., Huang, J. C., et al. (2004). Differences between smokers and nonsmokers in regional gray matter volumes and densities. *Biol. Psychiatry*, 77–84.
3. Chambers, R. A., & Potenza, M. N. (2003). Neurodevelopment, Impulsivity, and Adolescent Gambling. *Journal of Gambling Studies*, 53-84.
4. Chen, W. J., Edwards, R. B., Romero, R. D., Parnell, S. E., & Monk, R. J. (2003). Long-term nicotine exposure reduces Purkinje cell number in the adult rat cerebellar vermis. *Neurotoxicol. Teratol.*, 329–334.
5. Das, D., Cherbuin, N., Anstey, K. J., Sachdev, P. S., & Easteal, S. (2011). Lifetime cigarette smoking is associated with striatal volume measures. *Addiction Biology*, 817–825.
6. DiFranza, J. R. (2008). Hooked from the First Cigarette. *Scientific American Magazine*, 689-98.
7. Domino, E. F., Ni, L., Xu, Y., Koeppe, R. A., Guthrie, S., & Zubieta, J. (2004). Regional cerebral blood flow and plasma nicotine after smoking tobacco cigarettes. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 319– 327.
8. Due, D. L., Huettel, S. A., Hall, W. G., & Rubin, D. C. (2002). Activation in Mesolimbic and Visuospatial Neural Circuits Elicited by Smoking Cues: Evidence From Functional Magnetic Resonance Imaging. *Am J Psychiatry*, 954–960.
9. Engelmann, J. M., Versace, F., Robinson, J. D., Minnix, J. A., Lam, C. Y., Cui, Y., et al. (2012). Neural substrates of smoking cue reactivity: A meta-analysis of fMRI studies. *NeuroImage*, 252–262.
10. Finnerty, C. E. (2009). fMRI response to negative emotional images among smokers in withdrawal. Saggart, Co. Dublin, Ireland: Society For Research on Nicotine & Tobacco.
11. Franklin, T. R., Lohoff, F. W., Wang, Z., Sciortino, N., Harper, D., Li, Y., et al. (2009). DAT Genotype Modulates Brain and Behavioral Responses Elicited by Cigarette Cues. *Neuropsychopharmacology*, 717–728.
12. Gallinat, J., Lang, U. E., Jacobsen, L. K., Bajbouj, M., Kalus, P., von Haebler, D., et al. (2007). Abnormal Hippocampal Neurochemistry in Smokers Evidence From Proton Magnetic Resonance Spectroscopy at 3 T. *J Clin Psychopharmacol*, 80–84.
13. Gallinat, J., Meisenzahl, E., Jacobsen, L. K., Kalus, P., Bierbrauer, J., Kienast, T., et al. (2006). Smoking and structural brain deficits: a volumetric MR investigation. *European Journal of Neuroscience*, 1744–1750.
14. Gons, R. A., van Norden, A. G., de Laat, K. F., van Oudheusden, L., van Uden, I., Zwiers, M. P., et al. (2011). Cigarette smoking is associated with reduced microstructural integrity of cerebral white matter. *Brain*, 2116–2124.
15. Hayee, A., Haque, A., Anwarullah, A., & Rabbani, M. (2003). Smoking enhances age related brain atrophy—A quantitative study with computed tomography. *Bangladesh Med. Res. Councl. Bull.*, 118-124.
16. Hong, L. E., Gu, H., Yang, Y., Ross, T. J., Salmeron, B. J., Buchholz, B., et al. (2009). Association of Nicotine Addiction and Nicotine's Actions With Separate Cingulate Cortex Functional Circuits. *ARCH GEN PSYCHIATRY*, 431-441.
17. Hudkins, M., O'Neill, J., Tobias, M. C., Bartzokis, G., & London, E. D. (2012). Cigarette smoking and white matter microstructure. *Psychopharmacology*, 285–295.
18. Jacobsen, L. K., Mencl, W. E., Constable, R. T., Westerveld, M., & Pugh, K. R. (2007). Impact of smoking abstinence on working memory neurocircuitry in adolescent daily tobacco smokers. *Psychopharmacology*, 557–566.
19. Jacobsen, L. K., Pugh, K. R., Constable, R. T., Westerveld, M., & Mencl, W. E. (2007). Functional correlates of verbal memory deficits emerging during nicotine withdrawal in abstinent adolescent cannabis users. *Biol Psychiatry*, 31–40.
20. Kuhn, S., Romanowski, A., Schilling, C., Mobascher, A., Warbrick, T., Winterer, G., et al. (2011). Brain grey mat-



- ter deficits in smokers: focus on the cerebellum. *Brain Struct Funct.*
21. Kühn, S., Schubert, F., & Gallinat, J. (2010). Reduced Thickness of Medial Orbitofrontal Cortex in Smokers. *BIOL PSYCHIATRY*, 1061–1065.
 22. Longstreth, W. T., Arnold, A. M., Manolio, T. A., Burke, G. L., Bryan, N., Jungreis, C. A., et al. (2000). Clinical correlates of ventricular and sulcal size on cranial magnetic resonance imaging of 3,301 elderly people. The Cardiovascular Health Study. Collaborative Research Group. *Neuroepidemiology*, 30-42.
 23. Manolio, T. A., Kronmal, R. A., Burke, G. L., Poirier, V., O'Leary, D. H., Gardin, J. M., et al. (1994). Magnetic resonance abnormalities and cardiovascular disease in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Stroke*, 318-327.
 24. McClernon, F. J., Kozink, R. V., & Rose, J. E. (2008). Individual Differences in Nicotine Dependence, Withdrawal Symptoms, and Sex Predict Transient fMRI-BOLD Responses to Smoking Cues. *Neuropsychopharmacology*, 2148–2157.
 25. McClernon, F. J., Kozink, R. V., Lutz, A. M., & Rose, J. E. (2009). 24-hr smoking abstinence potentiates fMRI-BOLD activation to smoking cues in cerebral cortex and dorsal striatum. *Psychopharmacology*, 25–35.
 26. Mobascher, A., Brinkmeyer, J., Warbrick, T., Wels, C., Wagner, M., Gründer, G., et al. (2010). The P300 event-related potential and smoking — A population-based case-control study. *International Journal of Psychophysiology*, 166–175.
 27. Morales, A. M., Lee, B., Hellemann, G., O'Neill, J., & London, E. D. (2012). Gray-matter volume in methamphetamine dependence: Cigarette smoking and changes with abstinence from methamphetamine. *Drug and Alcohol Dependence*.
 28. Mukhin, A. G., Kimes, A. S., Chefer, S. I., Matochik, J. A., Contoreggi, C. S., Horti, A. G., et al. (2008). Greater Nicotinic Acetylcholine Receptor Density in Smokers Than in Nonsmokers: A PET Study with 2-18F-FA-85380. *J Nucl Med.*, 1628–1635.
 29. Paul, R. H., Grieve, S. M., Niaura, R., David, S. P., Laidlaw, D. H., Cohen, R., et al. (2008). Chronic cigarette smoking and the microstructural integrity of white matter in healthy adults: A diffusion tensor imaging study. *Nicotine & Tobacco Research*, 137–147.
 30. Rose, J. E., Behm, F. M., Salley, A. N., Bates, J. E., Coleman, R. E., & Hawk, T. C. (2007). Regional brain activity correlates of nicotine dependence. *Neuropsychopharmacology*, 2441–2452.
 31. Smolka, M. N., Bühler, M., Klein, S., Zimmermann, U., Mann, M., Heinz, A., et al. (2006). Severity of nicotine dependence modulates cue-induced brain activity in regions involved in motor preparation and imagery. *Psychopharmacology*, 577–588.
 32. Stapleton, J. M., Gilson, S. F., Wong, D. F., Villemagne, V. L., Dannals, R. F., Grayson, R. F., et al. (2003). Intravenous Nicotine Reduces Cerebral Glucose Metabolism: A Preliminary Study. *Neuropsychopharmacology*, 765–772.
 33. Sweet, L. H., Mackillop, J., & Weir, L. (2009). Brain response to smoking cues and relationships to severity of nicotine dependence. Thirty-Seventh Annual Meeting International Neuropsychological Society.
 34. Takahashi, H., Fujimura, Y., Hayashi, M., Takano, H., Kato, M., Okubo, Y., et al. (2007). Enhanced dopamine release by nicotine in cigarette smokers: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 413–417.
 35. Xu, J., Mendrek, A., Cohen, M. S., Monterosso, J., Rodriguez, P., Simon, S. L., et al. (2005). Brain Activity in Cigarette Smokers Performing a Working Memory Task: Effect of Smoking Abstinence. *BIOL PSYCHIATRY*, 143–150.
 36. Zhang, X., Stein, E. A., & Hong, L. E. (2010). Smoking and Schizophrenia Independently and Additively Reduce White Matter Integrity Between Striatum and Frontal Cortex. *Journal of Biological Psychiatry*, 674–677.