

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

Melissa P. Lopez-Larson^{1 2 3}, Piotr Bogorodski⁴, Jadwiga Rogowska⁵, Erin McGladea³, Jace B. King¹, Janine Terry¹, Deborah Yurgelun-Todd^{1 2 3}

¹ The Brain Institute, University of Utah, Salt Lake City, UT, United States

² University of Utah Medical School, Salt Lake City, UT, United States

³ VISN 19 MIRREC, Salt Lake City, UT, United States

⁴ Institute of Radioelectronics, Warsaw Technical University, Warsaw, Poland

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

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

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

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

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

[Abstract](#)

1. Introduzione

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

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

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

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

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

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

2. Materiali e metodi

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

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

Imaging a risonanza magnetica (MRI)

L'imaging strutturale è stato eseguito presso lo Utah Center for Advanced Imaging Research (UCAIR) tramite uno scanner Siemens Trio3T. Le acquisizioni di dati strutturali includono una sequenza grappa 3D MPRAGE pesata in T1 acquisita sagittalmente, con TE/TR/TI=3.38ms/2.0s/1.1s, 83 flip, matrice acquisizione 256x256, FOV 256 mm², 160 sezioni, spessore sezioni 1.0 mm. I dati di imaging originali sono stati trasferiti dallo scanner in formato DICOM e resi anonimi.

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

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

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

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

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

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

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

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

a) Scala di Hamilton per la depressione

b) Scala di Hamilton per l'ansia

c) State-Trait Anxiety Inventory

d) Profile of mood states

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

* Deviazione standard

** n=17

3. Risultati

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

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

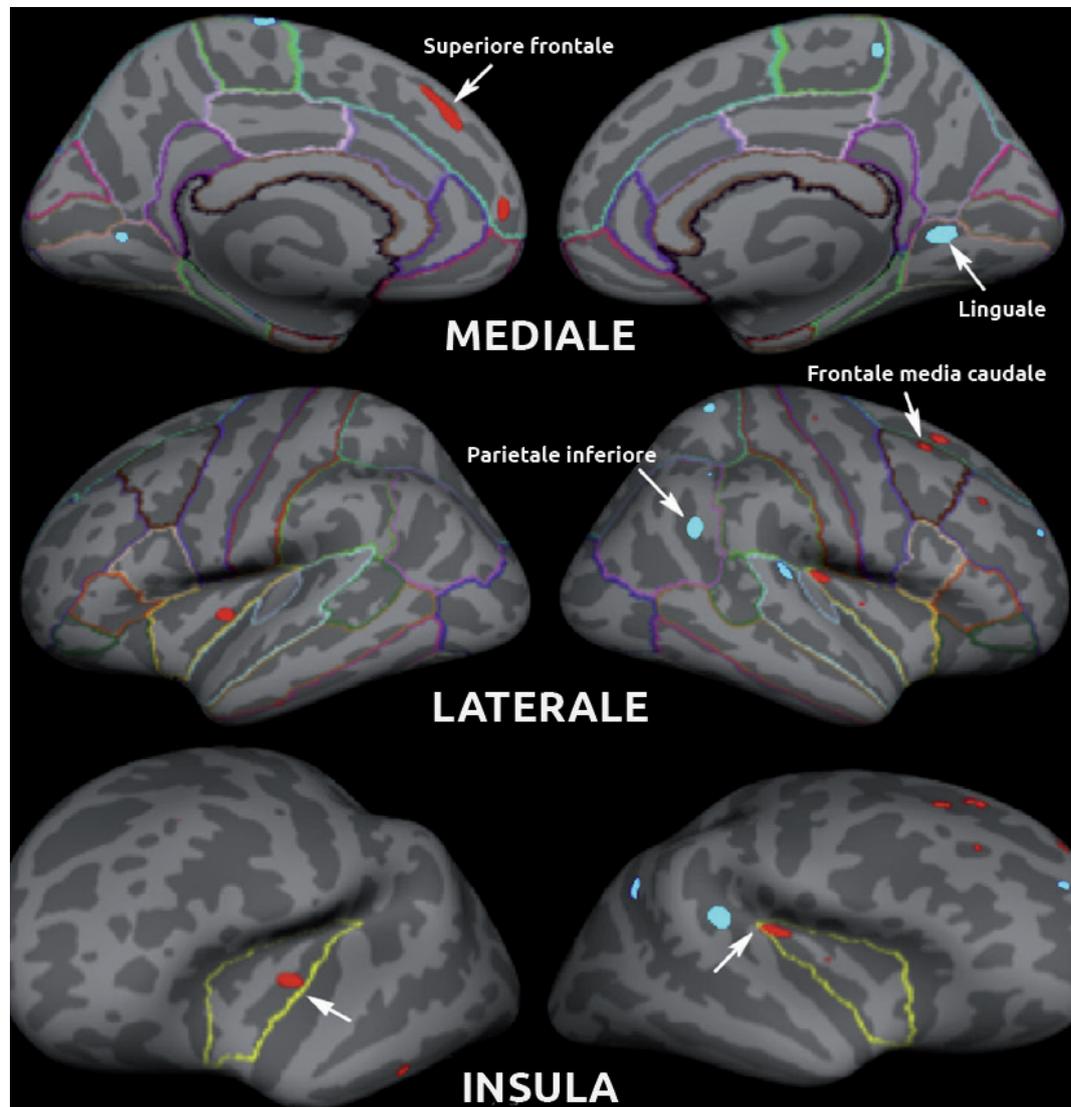
Tabella 2 - Risultati dell'analisi dello spessore corticale per cluster negli adolescenti consumatori di marijuana MJ e nei controlli HC.

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

Non sono state riscontrate differenze significative nel volume totale segmentato del cervello in toto tra i consumatori di MJ (1385.72±103.6 cm³) e i non consumatori (1309.07±103.4 cm³). All'analisi del cervello in toto per ciascun cluster, i consumatori di MJ presentavano una riduzione dello spessore corticale nella regione frontale media caudale destra, nella corteccia frontale superiore bilaterale e nell'insula bilaterale rispetto ai non consumatori. I consumatori di MJ presentavano uno spessore corticale maggiore nella regione linguale bilaterale, temporale superiore destra, parietale inferiore e superiore destra e paracentrale sinistra rispetto ai non consumatori (cfr. Tabella 2 per i dati riguardanti l'analisi per cluster e Fig.1 per i cluster significativamente differenti tra i gruppi). Allo scopo di verificare i nostri risultati, i valori di spessore sono stati estratti da 156 regioni cerebrali parcellate e sono state condotte analisi statistiche per stabilire quali delle 15 regioni cerebrali evidenziassero le maggiori differenze tra i due gruppi. Abbiamo confermato i nostri risultati riguardanti il cervello in toto per l'insula centrale sinistra (p=0.02). Anche lo spessore della scissura calcarina destra (p=0.01) e lo spessore del giro temporale superiore laterale sinistro (p=0.04) si differenziavano significativamente nei due gruppi (Tabella 3).

Confronti di morfometria cerebrale

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



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

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

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

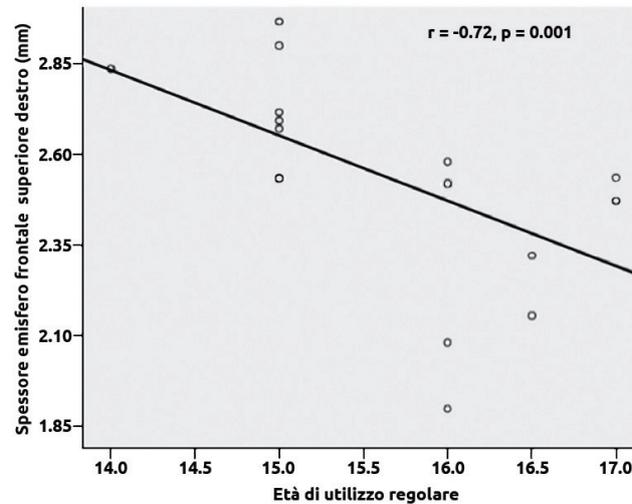
* ROI indicative dell'esclusione dell'ipotesi nulla per significatività 0.05.

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

4. Discussione

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5. Conclusioni

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

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

Bibliografia

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



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

- development during childhood through early adulthood. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:8174–9.
71. Shaw P, Kabani NJ, Lerch JP, Eckstrand K, Lenroot R, Gogtay N, et al. Neurodevelopmental trajectories of the human cerebral cortex. *J Neurosci.* 2008;28:3586–94.
 72. Shaw P, Gilliam M, Liverpool M, Weddle C, Malek M, Sharp W, et al. Cortical Development in Typically Developing Children With Symptoms of Hyperactivity and Impulsivity: Support for a Dimensional View of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psychiatry* 2010.
 73. Tapert SF, Schweinsburg AD, Drummond SP, Paulus MP, Brown SA, Yang TT, et al. Functional MRI of inhibitory processing in abstinent adolescent marijuana users. *Psychopharmacology (Berl)* 2007;194:173–83.
 74. Schweinsburg AD, Schweinsburg BC, Medina KL, McQueeney T, Brown S. The influence of recency of use on fMRI response during spatial working memory in adolescent marijuana users. *Journal of Psychoactive Drugs.* 2010;42.
 75. Simpson G, Tate R. Suicidality after traumatic brain injury: demographic, injury and clinical correlates. *Psychol Med.* 2002;32:687–97.
 76. Terrio H, Brenner LA, Ivins BJ, Cho JM, Helmick K, Schwab K, et al. Traumatic brain injury screening: preliminary findings in a US Army Brigade Combat Team. *J Head Trauma Rehabil.* 2009;24:14–23.
 77. Naqvi NH, Rudrauf D, Damasio H, Bechara A. Damage to the insula disrupts addiction to cigarette smoking. *Science.* 2007;315:531–4.
 78. Critchley HD, Wiens S, Rotshtein P, Ohman A, Dolan RJ. Neural systems supporting interoceptive awareness. *Nat Neurosci.* 2004;7:189–95.
 79. Goldstein RZ, Craig AD, Bechara A, Garavan H, Childress AR, Paulus MP, et al. The neurocircuitry of impaired insight in drug addiction. *Trends Cogn Sci.* 2009;13:372–80.
 80. Ehrenreich H, Rinn T, Kunert HJ, Moeller MR, Poser W, Schilling L, et al. Specific attentional dysfunction in adults following early start of cannabis use. *Psychopharmacology (Berl)* 1999;142:295–301.
 81. Huestegge L, Radach R, Kunert HJ, Heller D. Visual search in long-term cannabis users with early age of onset. *Prog Brain Res.* 2002;140:377–94.
 82. Becker B, Wagner D, Gouzoulis-Mayfrank E, Spuentrup E, Daumann J. The impact of early-onset cannabis use on functional brain correlates of working memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010;34:837–45.
 83. Pope HG, Jr, Gruber AJ, Hudson JI, Cohane G, Huestis MA, Yurgelun-Todd D. Early-onset cannabis use and cognitive deficits: what is the nature of the association? *Drug Alcohol Depend.* 2003;69:303–10.
 84. von Sydow K, Lieb R, Pfister H, Höfler M, Sonntag H, Wittchen H-U. The natural course of cannabis use, abuse and dependence over four years: a longitudinal community study of adolescents and young adults. *Drug and Alcohol Dependence.* 2001;64:347–61.
 85. Macaluso E, Frith CD, Driver J. Modulation of human visual cortex by crossmodal spatial attention. *Science.* 2000;289:1206–8.
 86. Bogousslavsky J, Miklossy J, Deruaz JP, Assal G, Regli F. Lingual and fusiform gyri in visual processing: a clinico-pathologic study of superior altitudinal hemianopia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1987;50:607–14.
 87. Mobbs D, Garrett AS, Menon V, Rose FE, Bellugi U, Reiss AL. Anomalous brain activation during face and gaze processing in Williams syndrome. *Neurology.* 2004;62:2070–6.
 88. Luks TL, Simpson GV. Preparatory deployment of attention to motion activates higher-order motion-processing brain regions. *Neuroimage.* 2004;22:1515–22.
 89. Committeri G, Galati G, Paradis AL, Pizzamiglio L, Berthoz A, LeBihan D. Reference frames for spatial cognition: different brain areas are involved in viewer-, object-, and landmark-centered judgments about object location. *J Cogn Neurosci.* 2004;16:1517–35.
 90. Stoppel CM, Boehler CN, Strumpf H, Heinze HJ, Hopf JM, Duzel E, et al. Neural correlates of exemplar novelty processing under different spatial attention conditions. *Hum Brain Mapp.* 2009;30:3759–71.
 91. Gruber SA, Rogowska J, Yurgelun-Todd DA. Altered affective response in marijuana smokers: an fMRI study. *Drug Alcohol Depend.* 2009;105:139–53.
 92. Fletcher JM, Page JB, Francis DJ, Copeland K, Naus MJ, Davis CM, et al. Cognitive correlates of long-term cannabis use in Costa Rican men. *Arch Gen Psychiatry.* 1996;53:1051–7.
 93. Pope HG, Jr, Yurgelun-Todd D. The residual cognitive effects of heavy marijuana use in college students. *JAMA.* 1996;275:521–7.
 94. Bogorodzki P, Rogowska J, Yurgelun-Todd DA. Structural group classification technique based on regional fMRI BOLD responses. *IEEE Trans Med Imaging.* 2005;24:389–98.
 95. Jager G, Block RI, Luijten M, Ramsey NF. Cannabis use and memory brain function in adolescent boys: a cross-sectional multicenter functional magnetic resonance imaging study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2010;49:561–72. 72, e1–3.
 96. Lange N, Froimowitz MP, Bigler ED, Lainhart JE. Associations between IQ, total and regional brain volumes, and demography in a large normative sample of healthy children and adolescents. *Dev Neuropsychol.* 2010;35:296–317.
 97. Frangou S, Chitins X, Williams SC. Mapping IQ and gray matter density in healthy young people. *Neuroimage.* 2004;23:800–5.

