Parte 2

Gli effetti del consumo di sostanze stupefacenti sul cervello

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

Giada Zoccatelli[1], Franco Alessandrini[1], Giovanni Serpelloni[2], Andrea Federspiel[3]

[1] Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona
[2] Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Roma
[3] Department of Psychiatric Neurophysiology, University Hospital of Psychiatry, Bern, Switzerland

1. Tecniche di Neuroimaging nella dipendenza patologica

Neuroimmagini come strumenti per conoscere i meccanismi della dipendenza

Le scoperte scientifiche degli ultimi anni hanno dimostrato che la tossicodipendenza è una malattia cronica del cervello (Volkow et al., 2004). In particolare, l'uso di droga porta al danneggiamento delle strutture cerebrali implicate nel ragionamento sociale, nell'apprendimento e nella gratificazione dell'individuo, con conseguenti importanti effetti sull'adattamento sociale (Cohen P., 2004).
La possibilità di studiare con le moderne tecniche di visualizzazione cerebrale (neuroimmagine) il cervello di chi utilizza sostanze stupefacenti, permette di dimostrare scientificamente quali effetti nocivi (o "gravi alterazioni"), anche permanenti, possa provocare l'uso di sostanze sullo sviluppo e sul funzionamento delle funzioni cerebrali, portando questo ad una ricaduta sulle politiche di prevenzione, mirate principalmente agli adolescenti, relativamente non solo all'abuso ma anche semplicemente all'uso di sostanze stupefacenti.
Le diverse tecniche di neuroimmagine rendono possibile visualizzare oltre che la sede e l'estensione del danno cerebrale (molto importante in ambito neurologico e chirurgico), anche l'impatto che i processi mentali hanno sull'attività cerebrale. Nel campo delle dipendenze patologiche, queste tecniche possono fornire informazioni importanti sugli effetti neurobiologici delle diverse sostanze stupefacenti sul cervello e permettono di comprendere le cause e i meccanismi della vulnerabilità all'uso delle droghe. Tutto questo rende possibile una conoscenza approfondita delle esperienze soggettive e dei comportamenti dei consumatori, compresi i loro sforzi per guarire, da un punto di vista anche neurobiologico. Le neuroimmagini non rappresentano quindi metodiche puramente sperimentali, bensì strumenti utili per conoscere i meccanismi neurali della dipendenza, per individuare le cure più adeguate per i pazienti e per monitorare la risposta alle terapie.

Le principali tecniche di neuroimmagine

Le principali tecniche di neuroimmagine comprendono:

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

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

l'uso e la dipendenza da droghe.

Tabella 1 - Principali tecniche di neuroimmagine e loro descrizione.

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

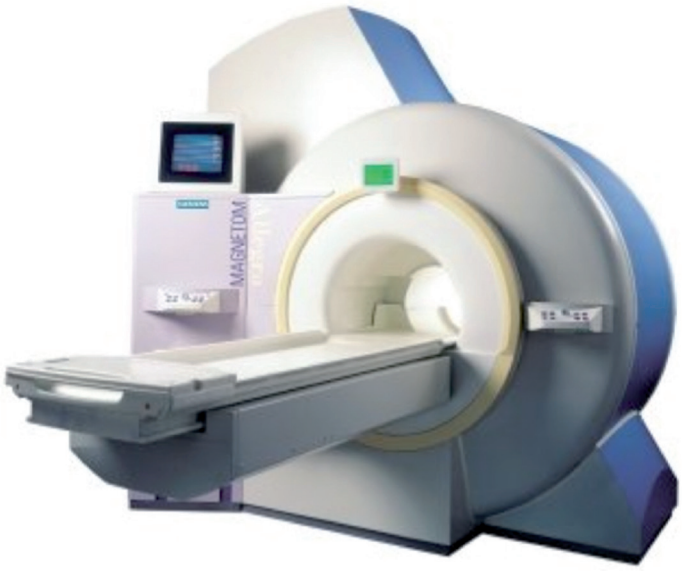
1.1 Risonanza Magnetica (RM)

La scoperta e la successiva introduzione nella pratica clinica dell'imaging con Risonanza Magnetica (RM) ha profondamente modificato e ampliato la diagnostica neurologica. La neuroradiologia, una branca della radiologia mirata allo studio dell'anatomia e del funzionamento del Sistema Nervoso Centrale (encefalo e midollo spinale) e periferico, si è particolarmente avvantaggiata dallo sviluppo delle moderne tecniche di RM per la diagnosi delle alterazioni neurologiche.
La RM è oggi l'esame radiologico più importante in neurologia. Essa rappresenta una metodica innocua poiché utilizza campi magnetici senza radiazioni ionizzanti.

Visualizzazione delle alterazioni strutturali

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

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



La RM può essere eseguita con o senza iniezione endovenosa di un mezzo di contrasto, che, a differenza del mezzo di contrasto usato per la TAC (Tomografia Assiale Computerizzata), ha nessuno o pochi effetti collaterali. Il mezzo di contrasto facilita la visualizzazione di processi infiammatori e di tessuti molto vascolarizzati, come ad esempio nel caso di tumori. Il paziente viene fatto sdraiare su un tavolo mobile e, posizionata la bobina sul distretto corporeo da esaminare (ad esempio sul capo, per lo studio dell'encefalo), fatto entrare all'interno del magnete. Al paziente viene chiesto di rimanere immobile per tutta la durata dell'esame (in media 20 minuti).
Per le sue caratteristiche intrinseche, non invasività e sensibilità diagnostica, possiamo considerare la RM il "gold standard" tra le metodiche diagnostiche per lo studio di una vasta gamma di patologie cerebrali (patologie tumorali, vascolari, neurodegenerative), e recentemente di possibile applicazione nel campo della tossicodipendenza.

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

Spettroscopia protonica per informazioni metaboliche

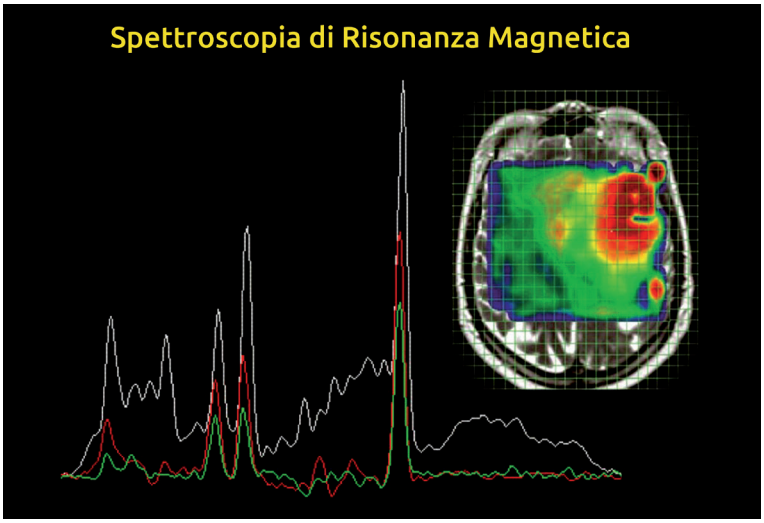
La spettroscopia con RM (MRS) può essere definita una sorta di "biopsia" in vivo non invasiva in grado di fornire informazioni metaboliche fondamentali nello studio delle patologie neurologiche. La MRS sfrutta un principio fisico, detto "chemical shift", secondo cui la frequenza di risonanza di un nucleo atomico dipende dalla natura dell'ambiente in cui il nucleo si trova. Solitamente con la RM si considera la frequenza di risonanza degli atomi d'idrogeno (costituenti delle molecole d'acqua presenti nei vari tessuti dell' organismo umano) all'interno di un campo magnetico esterno, ossia quello generato dal magnete.
La MRS distingue le molecole che contengono particolari nuclei atomici. Il segnale di MRS viene definito "spettro" e corrisponde ad un asse cartesiano sul qual è possibile distinguere dei picchi. Ad ogni molecola corrisponde un picco; l'area del picco è proporzionale al numero dei nuclei rilevati e quindi alla concentrazione del metabolita nel punto di misurazione.

La tecnica

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

segnale di rilevazione. La spettroscopia all'idrogeno (1H-MRS) rappresenta oggi la metodica principalmente utilizzata a scopo clinico perché permette di ottenere spettri ad alta risoluzione e consente di individuare numerosi metaboliti cerebrali con diverso significato biochimico, variabili secondo i parametri di acquisizione e il tipo di sequenza utilizzati. La tecnica consiste nel determinare un volume d'interesse (VOI) e misurare la concentrazione dei metaboliti presenti in quella zona abbattendo il segnale dell'acqua, molto più elevato di quello dei metaboliti, per permettere la misurazione delle varie molecole. Per fare questo vengono usate apposite sequenze con tempi di eco (TE) più o meno lunghi a seconda delle sostanze da misurare.
E' possibile misurare un singolo VOI oppure sezioni multiple di più VOI (Figura 2). Questa seconda scelta è maggiormente opportuna nel caso siano necessarie informazioni su aree estese del SNC. Infatti, in un breve periodo di acquisizione, viene campionato maggior tessuto nervoso, ottenendo le immagini di distribuzione dei metaboliti.

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



Possibilità di rilevazione

La MRS è in grado di rilevare N-Acetil-Aspartato (NAA), Colina (Cho), Creatina e fosfocreatina (Cr), Lattato (Lac), Glutammato e Glutammina (Glx), Mio-inositolo (Mi) e AcidoGammaAminoButirrico (GABA).
L'NAA rappresenta un indice di funzionalità neuronale in quanto presente solo nei neuroni e non nelle cellule gliali mature; si registra una riduzione permanente dell'NAA nelle malattie degenerative (malattia d'Alzheimer) e nella morte neuronale (ictus), oppure transitoria nelle disfunzioni neuronali acute come le malattie demielinizzanti o nelle aree di penombra ischemica.
Elevati livelli di Cho (colina, acetilcolina, glicerofosforicolina e fosfocolina) sono associati ad un aumento della proliferazione cellulare come nei tumori cerebrali o nelle malattie demielinizzanti.
Il Mi è un indice di densità delle cellule gliali, considerato utile nella diagnosi differenziale delle demenze.

Il Lac è prodotto dalla glicolisi anaerobica in condizioni di ischemia e ipossia, ma anche indicativo di elevato metabolismo cellulare, ad esempio, nei tumori cerebrali.
La Cr riflette, infine, le riserve di metabolismo energetico delle cellule.

Esecuzione dell'esame

La sequenza di MRS viene acquisita durante una normale sessione di esame. Al paziente viene chiesto di rimanere fermo per circa 6 minuti, il tempo necessario per l'acquisizione delle immagini. La sequenza particolarmente sensibile al movimento richiede l'assoluta immobilità della testa, per lo studio dell'encefalo, affinché sia possibile rilevare in modo corretto gli spettri dei vari metaboliti. È da considerarsi tra le sequenze meno invasive di RM poiché poco rumorosa.
L'esame può essere più o meno lungo a seconda del numero di campionamenti effettuati. Per campionamenti multipli un esame MRS può durare in media 20 minuti. L'analisi dei metaboliti si effettua successivamente all'esame, in fase di post-elaborazione, tramite l'utilizzo di software dedicati.

Campi di applicazione

Poiché la MRS viene considerata una sorta di biopsia non invasiva, essa viene principalmente utilizzata per la diagnosi differenziale delle neoplasie. La presenza o l'assenza di alcuni metaboliti, e soprattutto i rapporti tra gli stessi, permette allo specialista di discriminare tra lesioni tumorali diverse (alto o basso grado di malignità) fornendo un'informazione importante per la scelta del piano terapeutico (ad esempio, radioterapia o intervento chirurgico), per il monitoraggio della crescita neoplastica e dell'efficacia della terapia.
Viene tuttavia utilizzata con successo anche per altri campi di ricerca sia clinica che sperimentale, ad esempio per lo studio della funzionalità metabolica dopo trauma cranico in ambito sportivo (Alessandrini F., Zoccatelli G., 2010), nell'epilessia, nelle patologie generative, nella tossicodipendenza. In quest'ultimo ambito la MRS rappresenta un marker innovativo in grado di definire l'alterazione metabolica dopo assunzione di diverse sostanze d'abuso, il grado di compromissione dei metaboliti dopo uso cronico, i tempi di recupero cerebrale dopo astinenza completa. La MRS può quindi essere usata per individuare il più corretto piano terapeutico che porti al riequilibrio metabolico cerebrale in soggetti con problemi di dipendenza. Offre inoltre un'opportunità di prevenzione nello studio delle dinamiche metaboliche nei giovani ragazzi che fanno uso di droghe, per prevenire ulteriori e più severe alterazioni cerebrali.

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

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

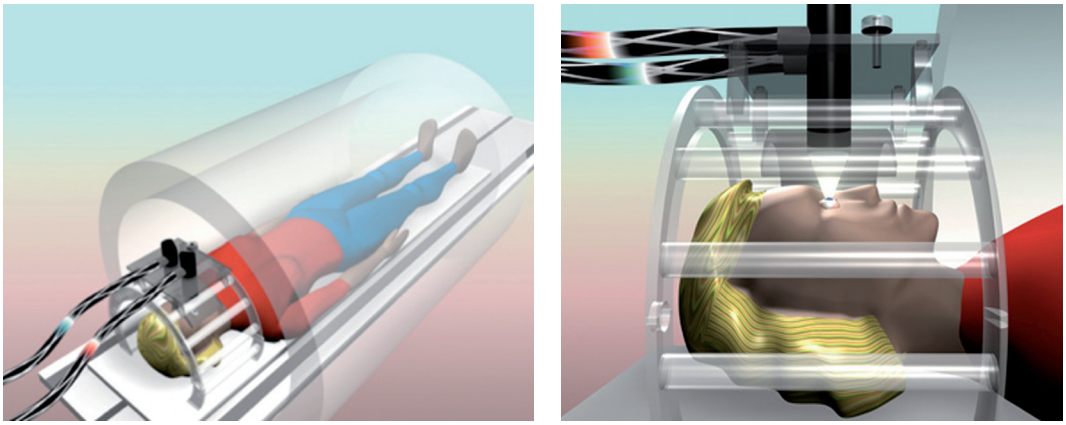
La Risonanza Magnetica funzionale (dall'inglese "functional Magnetic Resonance" o fMRI), è una tecnica completamente non invasiva, basata sulle modificazioni di segnale in vivo indotte dalla variazione dello stato di ossigenazione dell'emoglobina nel sangue. La fMRI si è affiancata alle metodiche medico nucleari (PET, SPECT), all'Elettroencefalografia (EEG) e alla Magnetoencefalografia (MEG) nello studio della funzione cerebrale.
Le sue caratteristiche intrinseche sono l'assenza di invasività (non viene somministrato mezzo di contrasto paramagnetico), l'elevata risoluzione spaziale e temporale, la facile riproducibilità e la possibilità di co-registrazione con immagini anatomiche di alta qualità. La modificazione dello stato di ossigenazione dell'emoglobina nei globuli rossi è il principio teorico dell'effetto BOLD (Blood Oxygen Level Dependent), sul quale la fMRI si basa.
Stimolazioni corticali opportunamente applicate a specifiche aree del cervello inducono

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

Esecuzione dell'esame

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

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



Risonanza magnetica funzionale a riposo

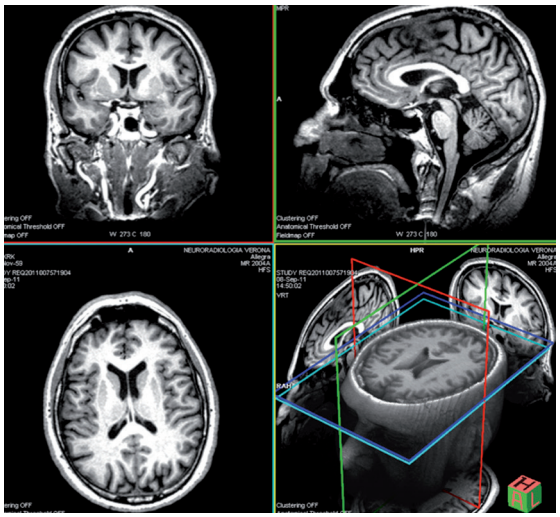
I campi di applicazione sono innumerevoli, volti a studiare e misurare i cambiamenti emodinamici del cervello in diverse condizioni di stimolazione (attiva o passiva) e con l'utilizzo di diversi paradigmi sperimentali (visivi, motori, cognitivi, ecc.). La fMRI viene utilizzata principalmente in ambito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

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

Informazioni di tipo strutturale

Lo studio delle alterazioni cerebrali da un punto di vista morfologico si configura come un successivo e necessario completamento delle acquisizioni funzionali, e necessita di acquisizioni volumetriche di RM per lo studio di parametri quantitativi (ad esempio, analisi dello spessore corticale del tessuto cerebrale), al fine di valutarne le caratteristiche morfometriche.
L'utilizzo di macchinari RM ad alto campo magnetico permette di ottenere immagini dettagliate della struttura cerebrale, analizzabili poi da software dedicati per la visualizzazione e il confronto delle diverse componenti cerebrali (materia grigia e bianca). Questi parametri, integrati e correlati a quelli ottenuti dagli screening neuropsicologici atti a valutare le funzioni cognitive, permettono di avere informazioni scientifiche su tutte le strutture corticali e sottocorticali. Lo studio delle alterazioni morfologiche richiede solitamente l'utilizzo di una sequenza RM volumetrica (pesata in T1) che permetta di ricostruire in modo tridimensionale la superficie cerebrale (Figura 4).

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



Tecniche per l'analisi strutturale

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

Esecuzione dell'esame

Al soggetto che svolge l'esame viene quindi solamente chiesto di rimanere fermo all'interno dello scanner, al fine di evitare artefatti da movimento che andrebbero ad alterare la qualità dell'immagine acquisita e, di conseguenza, la corretta ricostruzione dell'encefalo da parte del software.
Sostanzialmente l'analisi dello spessore corticale consiste nell'esecuzione di un'unica sequenza volumetrica, ossia acquisita nei tre piani (longitudinale, coronale e sagittale) della durata media di 7-8 minuti circa, in modo assolutamente non invasivo per il soggetto e secondo metodiche di ricostruzione che avvengono successivamente nella fase di post-elaborazione.

Campi di applicazione

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

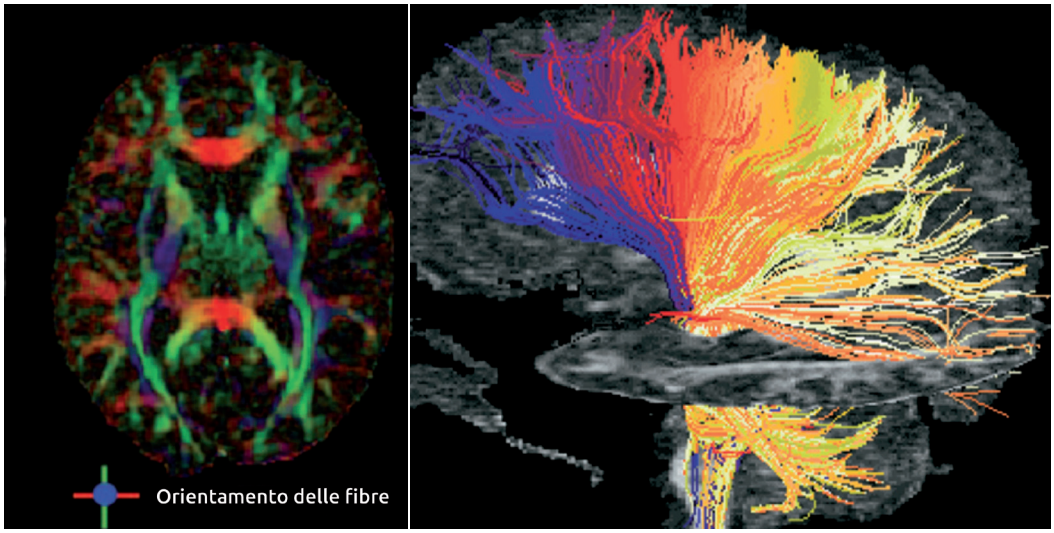
1.1.4 Tecniche avanzate di Risonanza Magnetica Nucleare: il Tensore di Diffusione (DTI)

Tensore di Diffusione (DTI)

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

ni (diffusione isotropica) oppure in una particolare direzione (diffusione anisotropica). La MR utilizza sequenze ultraveloci sensibili al movimento in grado di generare mappe sulla diffusività delle molecole d'acqua (mappe di ADC) e sull'anisotropia, una misura della direzionalità del movimento. Maggiore è la densità delle strutture che impediscono il libero movimento delle molecole e più basso è il valore di ADC. L'ADC fornisce quindi in modo non invasivo informazioni sulla densità cellulare. Alti valori di FA suggeriscono invece un'organizzazione microstrutturale più strutturata.
Il movimento delle molecole d'acqua in tessuti fortemente strutturati come la sostanza bianca cerebrale è anisotropico per le molecole perpendicolari alle fibre, per la presenza di multipli strati di mielina che ne restringono il flusso, rispetto alle molecole che si muovono parallele alle fibre (Basser et al. 1994; Basser 1995; Basser and Pierpaoli 1996, 1998). La differenza tra questi due tipi di movimento (perpendicolare e parallelo) è alla base della tecnica di RM chiamata Tensore di Diffusione (DTI). Mediante questa metodica è possibile quantificare sia l'ampiezza dell'anisotropia (anisotropia frazionaria o FA) sia la direzionalità preferenziale delle molecole d'acqua. La FA viene utilizzata come misura di intergità delle fibre (Basser and Pierpaoli, 1996).
Esistono diversi software di elaborazione del segnale DTI, i più comuni utilizzano regioni di interesse (ROI) dalle quali far partire la ricostruzione tridimensionale delle fibre che passano per quella zona, ottenendo così una rappresentazione grafica 3D dei principali fasci di fibra (tratto corticospinale, fascicolo uncinato e arcuato, radiazioni ottiche, ecc.). Del fascio tracciato è possibile conoscere diversi parametri, come gli indici di integrità assonale (FA) e di diffusività (ADC), in grado di fornire utili informazioni sulla funzionalità microstrutturale del tessuto nervoso nella zona di interesse.

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



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

(Figura 5).

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

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

Una tecnica per la quantificazione della perfusione

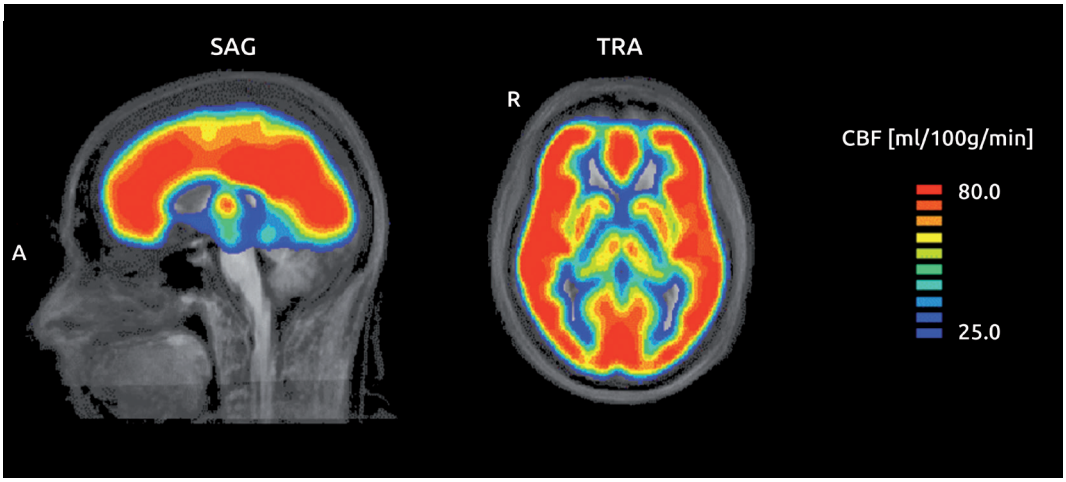
Rispetto alle comuni tecniche nucleari, la cASL (continuous Arterial Spin Labeling) permette di studiare in modo assolutamente non invasivo le variazioni di flusso sanguigno. Essa costituisce quindi una tecnica per la quantificazione della perfusione. Non viene iniettato alcun mezzo di contrasto paramagnetico esterno ma vengono magnetizzate le molecole d'acqua come tracciante endogeno.
Questa tecnica di RM permette di ottenere mappe colorimetriche della distribuzione del flusso sanguigno cerebrale (CBF) ed eventuali alterazioni di flusso. Essa risulta quindi facilmente applicabile in studi di neuroscienze, con la possibilità di molteplici acquisizioni senza alcun rischio per il soggetto. Fornisce inoltre informazioni di perfusione cerebrale, ossia indica la fornitura di ossigeno e sostanze nutritive al tessuto nervoso per mezzo del flusso ematico.

Sequenze di acquisizione

Nel cervello dell'uomo l'aumento dell'attività neurale è anche accompagnata da un cambiamento del flusso sanguigno cerebrale (CBF), del volume (CBV) e dell'ossigenazione (CMRO2). Questi cambiamenti metabolici possono essere misurati attraverso l'analisi del segnale BOLD (blood oxygenation level dependent) (Ogawa S et al. 1990; Bandettini PA et al. 1992), ossia la modificazione dello stato di ossigenazione dell'emoglobina nei globuli rossi, come con la fMRI. Il segnale BOLD rappresenta tuttavia una misura indiretta del metabolismo cerebrale poiché è una somma di tre parametri (CBF, CBV e CMRO2). Attraverso la tecnica ASL è possibile misurare in modo non invasivo un singolo paramento, il CBF, una misura diretta della risposta neuronale.
La tecnica di Arterial Spin Labeling (ASL) è stata per la prima volta descritta dal professor Detre (Detre JA et al. 1992) ed estesa allo studio dell'uomo due anni più tardi dal professor Roberts (Roberts DA et al. 1994). La tecnica ASL viene comunemente suddivisa in continuous arterial spin labeling (CASL, vedi Detre et al.) dove il sangue viene magnetizzato in modo continuo utilizzando impulsi a radiofrequenza costanti, e in pulsed arterial spin labeling (PASL) dove tutto il sangue contenuto in una fetta di acquisizione viene magnetizzato contemporaneamente utilizzando un solo impulso a radiofrequenza (Calamante F et al. 1999). Entrambe le metodiche permettono di ottenere immagini paragonabili a quelle di tecniche nucleari più invasive come PET e SPECT (Figura 6).
Per ovviare ad alcune limitazioni della metodica CASL (rischio di una sottostima del flusso sanguigno e attenuazione del segnale per effetto della magnetizzazione) nel 1999 Wong (Wong EC et al. 1999) ha sviluppato una sequenza QUIPSS (Quantitative Imaging of Perfusion Using a Single Subtraction) per evitare questi effetti di transito temporale del flusso. Recentemente è stata sviluppata un'altra sequenza (Wu WC et al. 2007; Dai W et al.) deno-

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

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



Esecuzione dell'esame

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

Campi di applicazione

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

1.2 La Tomografia ad Emissione di Positroni (PET)

Utilizzo di radiofarmaci per l'analisi tomografica

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

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

Esecuzione dell'esame

Il tracciante viene iniettato in una vena del braccio o della mano. E' necessario un digiuno assoluto da almeno 8 ore. L'iniezione non comporta di solito nessuna reazione allergica o effetti collaterali. Dopo l'iniezione è importate rilassarsi ed evitare l'attività fisica, per ridurre la captazione muscolare del tracciante.
L'esame inizia di solito circa 60 minuti dopo la somministrazione del radiofarmaco; la durata dell'esame varia dai 40 ai 60 minuti, durante i quali il paziente dovrà rimanere disteso sul lettino della macchina.
Una trasformazione di colore produce un'immagine che fa risaltare le aree con attività metabolica intensa. È possibile così ottenere mappe metaboliche del cervello durante i processi cognitivi superiori, i movimenti, le risposte a stimoli sensoriali.

Vantaggi e svantaggi

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

Campi di applicazione

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

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

Dati sulla biodistribuzione del radiofarmaco

La Tomografia Computerizzata a Emissione di Singolo Fotone (dall'inglese SPECT) è una tecnica di imaging nucleare che utilizza la radiazione ionizzata nota come raggi gamma. Utilizza per questo motivo una gamma camera, costituita da due elementi fondamentali (un collimatore e un sistema di localizzazione fotonica) per l'acquisizione di immagini scintigrafiche.
Anche la SPECT, come la PET, si basa sull'iniezione di traccianti radioattivi. Il decadimento radioattivo nel tempo dei raggi gamma fornisce informazioni circa la posizione in cui i traccianti si sono depositati e fornisce quindi dati sulla biodistribuzione del radiofarmaco. Il tempo di dimezzamento degli isotopi è tuttavia molto più alto con la SPECT rispetto alla PET, quest'ultima consente quindi di ridurre i costi e rendere più facile l'applicazione clinica dell'esame. Un altro aspetto svantaggioso della SPECT è la singola emissione di raggi gamma, che compromette la precisione della localizzazione in cui il decadimento radioattivo è avvenuto e si traduce in una più bassa risoluzione rispetto alla PET (10 millimetri rispetto a 5). L'esame rimane comunque sicuro per il paziente e di facile applicabilità.

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

Esecuzione dell'esame

Mediante un'agocannula, il radiofarmaco che serve per l'esame viene iniettato in una vena del braccio. Solitamente i radiofarmaci utilizzati per la SPECT cerebrale di perfusione sono il Tc 99m HM-PAO o il Tc 99m ECD. Dopo avere tolto l'agocannula precedentemente inserita, il paziente viene trasferito nel locale diagnostico dove si esegue l'esame e viene disteso supino sul lettino dello strumento esplorante (Gamma Camera) che serve per ottenere le immagini, con la testa posizionata in un apposito appoggio. Non sussistono difficoltà per le persone che soffrono di claustrofobia. Generalmente è consigliato un digiuno di circa 2/4 ore prima dell'inizio dell'indagine.
È condizione indispensabile per un'ottimale riuscita dell'esame ridurre al minimo i movimenti del capo durante l'esecuzione dello stesso. Terminata questa fase preparatoria (di norma di durata almeno di 20'), il paziente viene introdotto mediante lo scorrimento del

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

Campi di applicazione

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

1.4 Altre metodiche di diagnosi

Stimolazione/ inibizione della corteccia cerebrale

La Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) è una tecnica relativamente nuova ma di comprovata efficacia nel panorama delle metodiche a disposizione delle neuroscienze. Essa consente di stimolare o inibire la corteccia cerebrale in modo non invasivo. Le sue caratteristiche tecniche la rendono un importante e promettente strumento di analisi delle funzioni cognitive superiori e della via motoria centrale, rendendo possibile l'esplorazione dell'eccitabilità corticale e della conduzione motoria (Fregni F. et al., 2007).
La TMS consiste sostanzialmente nella generazione di un campo magnetico che induce un'attività elettrica nel cervello. Questa corrente elettrica provoca la depolarizzazione delle cellule nervose, cioè le eccita, producendo la stimolazione o l'interruzione dell'attività cerebrale per pochi millisecondi. In ultima analisi, la TMS provoca un'interferenza temporanea e locale con l'attività cerebrale normale e quindi, con i processi di elaborazione che sono svolti dall'attività cerebrale interessata dall'interferenza (Bonfiglioli & Castiello 2005).

Esecuzione dell'esame

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

Faraday), così l'impulso magnetico della TMS induce una corrente elettrica sulla superficie del cervello quando lo raggiunge.
La corteccia cerebrale è infatti costituita in gran parte da neuroni, che sono i conduttori elettrici dei potenziali d'azione nel Sistema Nervoso Centrale. Nell'area interessata dall'arrivo del campo magnetico, i neuroni verranno quindi attivati in un modo artificiale dalla corrente elettrica generata dal campo.

Campi di applicazione

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

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

2. Conclusioni

Il campo delle dipendenze rappresenta oggi uno dei più recenti campi di applicazione per le tecniche di neuroimmagine. L'applicazione delle diverse metodiche messe a disposizione dalla Risonanza Magnetica e dalla Medicina Nucleare consente la comprensione dei meccanismi che creano e sostengono la dipendenza da sostanze d'abuso.
Neurotrasmettitori come la dopamina e i suoi recettori giocano un ruolo chiave sul "sistema della gratificazione" e rappresentano un eccitante naturale. Il neurotrasmettitore GABA (acido gamma-aminobutirrico, che ha funzioni inibitorie), può venire invece considerato "il sistema inibitorio". Nelle persone dipendenti da sostanze, sia il sistema dopaminergico sia il sistema inibitorio del GABA risultano danneggiati, con conseguenze devastanti sulla struttura cognitivo-comportamentale del tossicodipendente. Molti studi hanno utilizzato inizialmente la PET per identificare i cambiamenti neuronali misurando direttamente il flusso ematico cerebrale (CBF) (Mintun MA et al. 1984). Tuttavia, la limitata risoluzione temporale e la scarsa ripetibilità della metodica PET (invasività data dall'uso di traccianti radioattivi), hanno reso la Risonanza Magnetica Funzionale il "gold standard" degli studi funzionali sulle dipendenze, sia per l'ottima risoluzione spaziale e temporale che per la

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

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

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

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

Bibliografia

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

31. Luo, F., Schmidt, K.F., Fox, G.B. & Ferris, C.F. (2009) Differential responses in CBF and CBV to cocaine as measured by fMRI: implications for pharmacological MRI signals derived oxygen metabolism assessment. J. Psychiatr. Res., 43, 1018–1024.
32. Lovblad KO, Altrichter S, Viallon M, Sztajzel R, Delavelle J, Vargas MI, El-Koussy M, Federspiel A, Sekoranja L. 2008. Neuro-imaging of cerebral ischemic stroke. J Neuroradiol. 35:197-209.
33. Luh WM, Wong EC, Bandettini PA, Hyde JS. 1999. QUIPSS II with thin-slice TI1 periodic saturation: a method for improving accuracy of quantitative perfusion imaging using pulsed arterial spin labeling. Magn Reson Med. 41:1246-1254.
34. Mintun MA, Raickle ME, Martin WRW, Herscovitch P. Brain oxygen utilization measured with O-15 radiotracers and position emission tomography. Journal Nuclear Medicine 25, 177-187.
35. Ogawa S, Lee TM, Nayak AS, Glynn P. 1990. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. Magn Reson Med. 14:68-78.
36. Politi E., Fauci E., Santoro A., Smeraldi E. Daily sessions of transcranial magnetic stimulation to the left prefrontal cortex gradually reduce cocaine craving. The American journal on addictions/American Academy of Psychiatrists in Alcoholism and Addictions, Vol. 17, No. 4. (g 2008), pp. 345-346.
37. Prisciandaro JJ, McRae-Clark AL, Moran-Santa Maria MM, Hartwell KJ, Brady KT. Psychoticism and neuroticism predict cocaine dependence and future cocaine use via different mechanisms. Drug Alcohol Depend. 2011 Jul 1;116(1-3):80-5.
38. Pendse N, Wissmeyer M, Altrichter S, Vargas M, Delavelle J, Viallon M, Federspiel A, Seeck M, Schaller K, Lovblad KO. 2010. Interictal arterial spin-labeling MRI perfusion in intractable epilepsy. J Neuroradiol. 37:60-63.
39. Roberts DA, Detre JA, Bolinger L, Insko EK, Leigh JS, Jr. 1994. Quantitative magnetic resonance imaging of human brain perfusion at 1.5 T using steady-state inversion of arterial water. Proc Natl Acad Sci U S A. 91:33-37.
40. Rossi S, Rossini PM (2004) TMS in cognitive plasticity and the potential for rehabilitation. Trends Cogn Sci 8:273–279
41. Singh A., Khaja A., Alpert MA., Cocaine and aortic dissection, Vascular Medicine, 2010 April, vol.15 - n.2, pp.127-133.
42. Stippich C., Rapps N., Dreyhaupt J. Localizing and lateralizing language in patients with brain tumors: feasibility of routine preoperative functional MR imaging in 81 consecutive patients. Radiology 2007; 243: 828-836.
43. Sunaert S. Presurgical planning for tumors resectioning. Journal Magnetic Resonance Imaging 2006; 23: 887-905.
44. Tucker KA, Potenza MN, Beauvais JE, Browndyke JN, Gottschalk PC, Kosten TR. Perfusion abnormalities and decision making in cocaine dependence. Biol Psychiatry. 2004 Oct 1;56(7):527-30.
45. Viallon M, Altrichter S, Pereira VM, Nguyen D, Sekoranja L, Federspiel A, Kulcsar Z, Sztajzel R, Ouared R, Bonvin C, Pfeuffer J, Lovblad KO. 2010. Combined use of pulsed arterial spin-labeling and susceptibility-weighted imaging in stroke at 3T. Eur Neurol. 64:286-296.
46. Walther S, Federspiel A, Horn H, Razavi N, Wiest R, Dierks T, Strik W, Muller TJ. 2011. Resting state cerebral blood flow and objective motor activity reveal basal ganglia dysfunction in schizophrenia. Psychiatry Res. 192:117-124.
47. Wang Z, Faith M, Patterson F, Tang K, Kerrin K, Wileyto EP, Detre JA, Lerman C. 2007. Neural substrates of abstinence-induced cigarette cravings in chronic smokers. J Neurosci. 27:14035-14040.
48. Wissmeyer M, Altrichter S, Pereira VM, Viallon M, Federspiel A, Seeck M, Schaller K, Lovblad KO. 2010. Arterial spin-labeling MRI perfusion in tuberous sclerosis: correlation with PET. J Neuroradiol. 37:127-130.
49. Wong EC, Buxton RB, Frank LR. 1999. Quantitative perfusion imaging using arterial spin labeling. Neuroimaging Clin N Am. 9:333-342.
50. Wu WC, Fernandez-Seara M, Detre JA, Wehrli FW, Wang J. 2007. A theoretical and experimental investigation of the tagging efficiency of pseudocontinuous arterial spin labeling. Magn Reson Med. 58:1020-1027.
51. Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wang, G.J. & Swanson, J.M. (2004) Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. Mol. Psychiatry, 9, 557–569.
52. Zhijia Yuan, Zhongchi Luo, Nora D. Volkow, Yingtian Pan, Congwu Du. Imaging separation of neuronal from vascular effects of cocaine on rat cortical brain in vivo. NeuroImage 54 (2011) 1130–1139.