

Parte 1

Aspetti generali



1.1 Introduzione

Le neuroimmagini delle dipendenze

Nora D. Volkow¹, Gene-Jack Wang², Joanna S. Fowler², Dardo Tomasi³, Ruben Baler¹

¹ National Institute on Drug Abuse, Bethesda, Maryland

² Brookhaven National Laboratory, Upton, New York

³ National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, Bethesda, Maryland

Sintesi

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

1. Introduzione

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

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

2. Tecniche di imaging basate sulla risonanza magnetica

L'imaging a risonanza magnetica strutturale (sMRI)

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

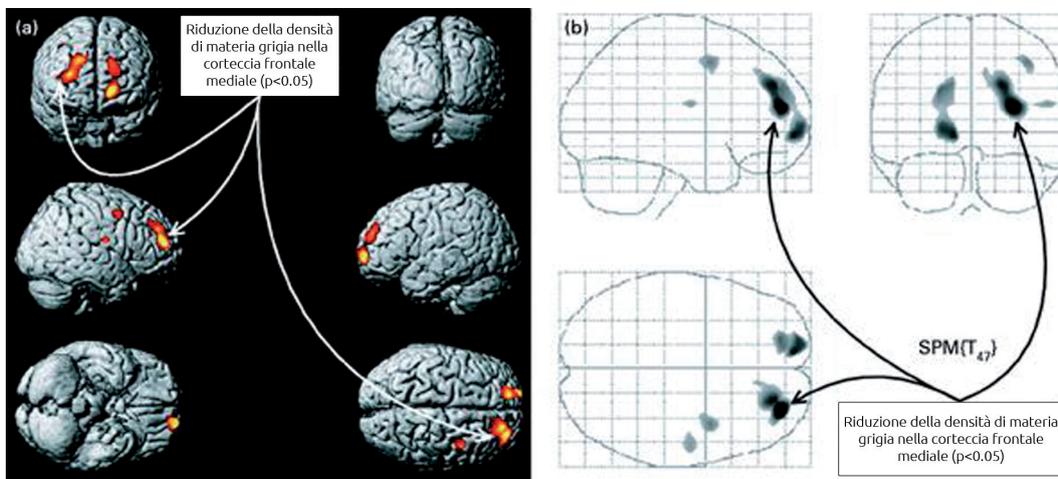
L'osservazione di tali fenomeni permette ai ricercatori di focalizzarsi sulle aree su cui agiscono maggiormente le droghe. È importante sottolineare che questi risultati iniziali spesso portano a ulteriori indagini, con altri strumenti e tecniche di ricerca al fine di determinare le ragioni dei cambiamenti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

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

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

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

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



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

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



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

Risonanza magnetica funzionale (fMRI)

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

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

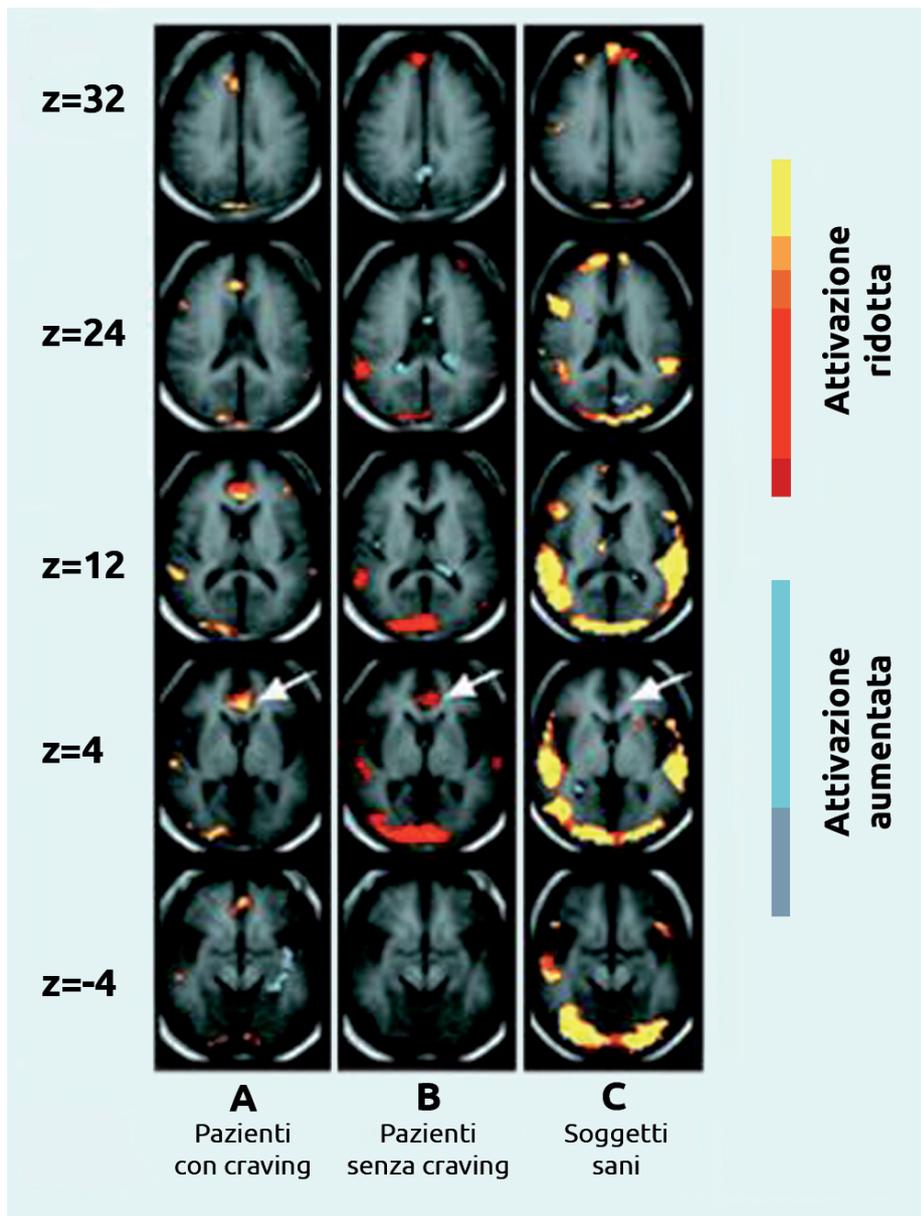
Effetti stimolanti correlati con l'attività cerebrale in aree diverse

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

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

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

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





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

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

Spettroscopia a Risonanza Magnetica (MRS)

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

Risultati basati sulla MRS

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

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

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

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

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

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

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

Risonanza
magnetica
funzionale
a riposo (Resting-
State fMRI)

Neurofeedback

L'imaging con
tensore di
diffusione



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

3. Tecniche di imaging di medicina nucleare

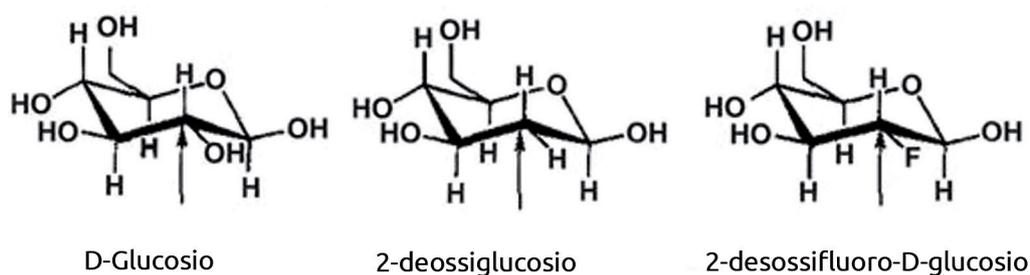
La Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) e la Tomografia Computerizzata ad Emissione di Singoli Fotoni (SPECT)

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

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

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

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



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

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

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

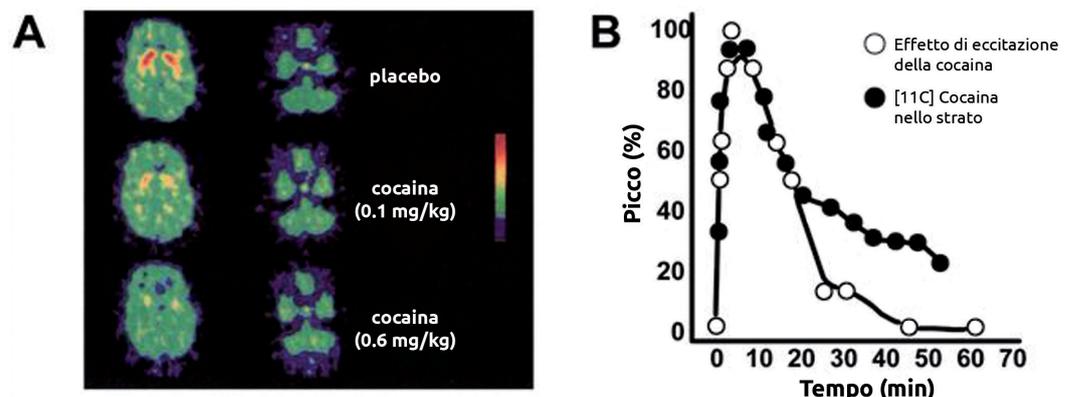
Risultati basati sulla PET e sulla SPECT

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

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

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

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



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

L'uso cronico di metamfetamina esaurisce la funzione della dopamina

Gli studi con la PET sono stati utilizzati anche per esplorare l'impatto della cocaina sulle strutture e sull'attività cerebrali, e il loro legame con la capacità degli individui affetti da dipendenza di recuperare la funzione durante e dopo il trattamento. Tra i risultati più significativi di questo ambito di studio vi sono quelli che hanno dimostrato che la cocaina e le metanfetamine (78-79, 80) riducono l'attività cellulare nella corteccia orbitofrontale (OFC), un'area del cervello della quale ci serviamo per prendere decisioni strategiche piuttosto che impulsive. I pazienti con lesioni traumatiche in questa area del cervello mostrano diversi deficit cognitivi, aggressività, scarsa capacità di giudizio delle conseguenze future, incapacità di inibire le risposte inappropriate, che ricordano quelli osservati nei tossicodipendenti (81-83). I radiotraccianti utilizzati in questi studi erano (18) il FDG e l'ossigeno-15 dell'acqua, che misurano il consumo cerebrale dei suoi due principali combustibili, il glucosio e l'ossigeno (84).

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

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

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

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

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

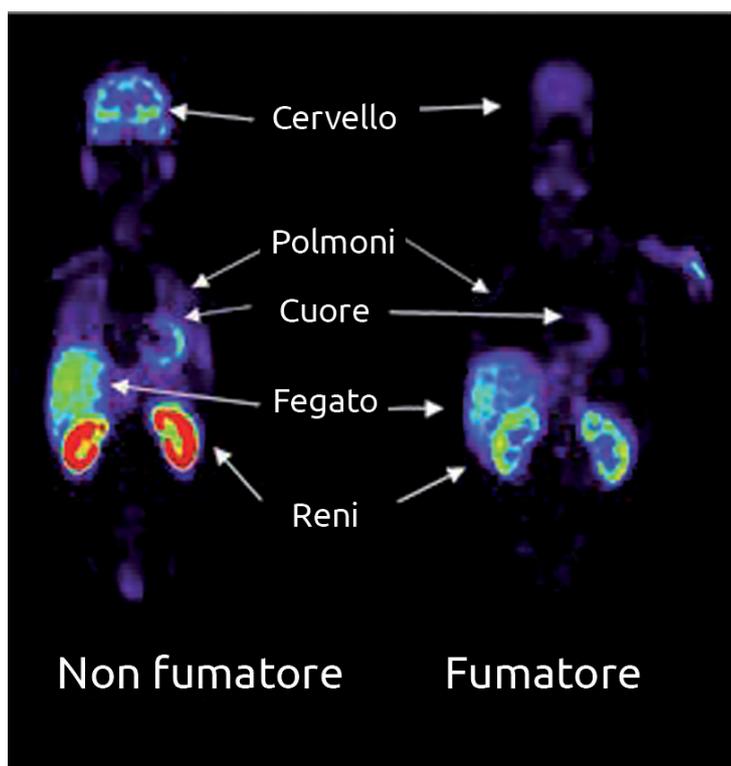
Il sistema μ -oppioide ricopre un ruolo fondamentale nel craving da cocaina

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

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

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

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



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

4. Applicazioni cliniche dell'imaging

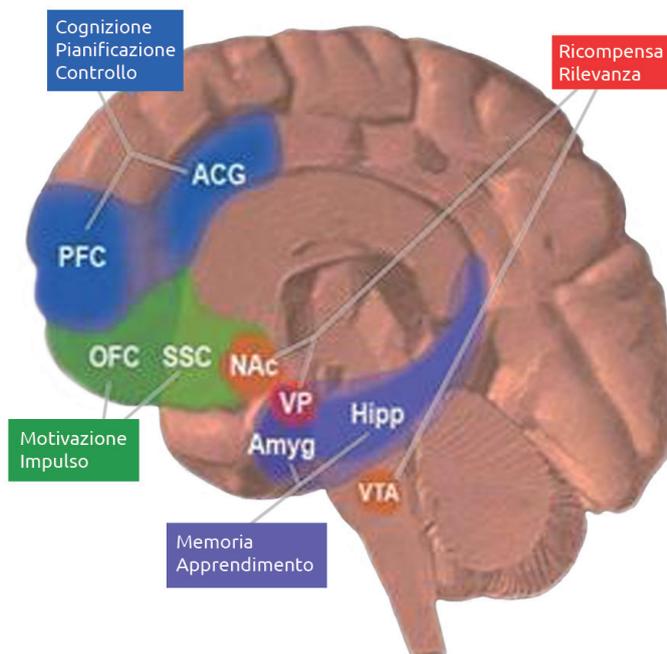
Le informazioni che la risonanza magnetica e gli studi di imaging nucleare hanno fornito sulle dinamiche cerebrali della dipendenza sono diventate una fonte primaria di strategie per lo sviluppo di farmaci. Le applicazioni cliniche dirette sono ancora poche, ma studi recenti indicano che le tecniche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

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

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

Sviluppo dei
farmaci

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





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

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

Valutazione e monitoraggio del paziente

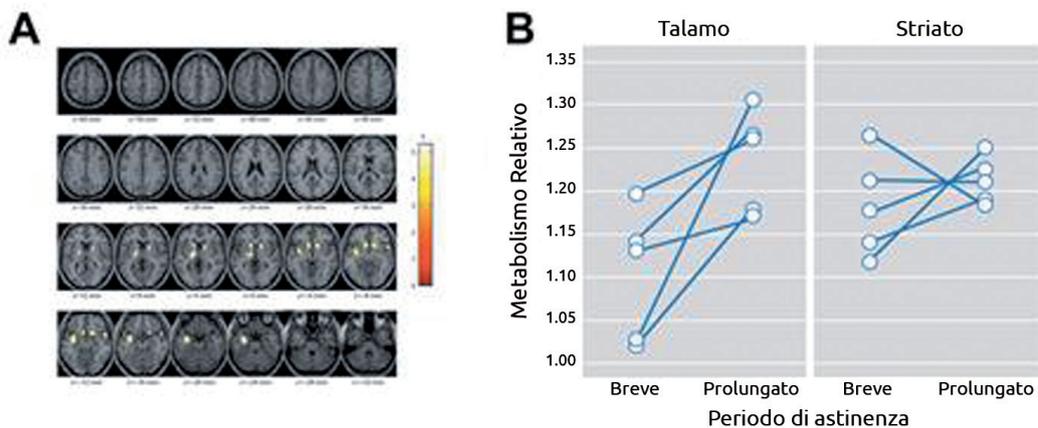
Studi recenti indicano che l'imaging ha la capacità potenziale di aiutare i clinici a determinare il livello più appropriato di trattamento per i singoli pazienti e di monitorare i loro progressi nel percorso verso la guarigione. I risultati di un recente studio fMRI eseguito su un gruppo di soggetti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

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

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

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

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



5. Conclusioni

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

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

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

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

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

Bibliografia

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

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



- tions in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85, 5274-5278 (1988).
70. Di Chiara, G. Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *Eur J Pharmacol* 375, 13-30 (1999).
 71. Volkow, N.D., Fowler, J.S. & Wang, G.J. The addicted human brain: insights from imaging studies. *J Clin Invest* 111, 1444-1451 (2003).
 72. Volkow, N.D., et al. Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy. *Nature* 386, 827-830 (1997).
 73. Laruelle, M., et al. SPECT imaging of striatal dopamine release after amphetamine challenge. *J Nucl Med* 36, 1182-1190 (1995).
 74. Volkow, N.D., et al. Reinforcing effects of psychostimulants in humans are associated with increases in brain dopamine and occupancy of D(2) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 291, 409-415 (1999).
 75. Drevets, W.C., et al. Amphetamine-induced dopamine release in human ventral striatum correlates with euphoria. *Biol Psychiatry* 49, 81-96 (2001).
 76. Volkow, N.D., et al. Association of dopamine transporter reduction with psychomotor impairment in methamphetamine abusers. *Am J Psychiatry* 158, 377-382 (2001).
 77. Sekine, Y., et al. Association of dopamine transporter loss in the orbitofrontal and dorsolateral prefrontal cortices with methamphetamine-related psychiatric symptoms. *Am J Psychiatry* 160, 1699-1701 (2003).
 78. Volkow, N.D., et al. Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. *Synapse* 14, 169-177 (1993).
 79. Volkow, N.D., et al. Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex. *Am J Psychiatry* 158, 2015-2021 (2001).
 80. Bolla, K.I., et al. Orbitofrontal cortex dysfunction in abstinent cocaine abusers performing a decision-making task. *Neuroimage* 19, 1085-1094 (2003).
 81. Eslinger, P.J., Grattan, L.M., Damasio, H. & Damasio, A.R. Developmental consequences of childhood frontal lobe damage. *Arch Neurol* 49, 764-769 (1992).
 82. Bechara, A., Damasio, A.R., Damasio, H. & Anderson, S.W. Insensitivity to future consequences following damage to human prefrontal cortex. *Cognition* 50, 7-15 (1994).
 83. Bechara, A., et al. Decision-making deficits, linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex, revealed in alcohol and stimulant abusers. *Neuropsychologia* 39, 376-389 (2001).
 84. Raichle, M.E., Martin, W.R., Herscovitch, P., Mintun, M.A. & Markham, J. Brain blood flow measured with intravenous H₂(15)O. II. Implementation and validation. *J Nucl Med* 24, 790-798 (1983).
 85. Volkow, N.D., et al. Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 20, 1594-1598 (1996).
 86. Volkow, N.D., et al. Effects of chronic cocaine abuse on postsynaptic dopamine receptors. *Am J Psychiatry* 147, 719-724 (1990).
 87. Wang, G.J., et al. Dopamine D2 receptor availability in opiate-dependent subjects before and after naloxone-precipitated withdrawal. *Neuropsychopharmacology* 16, 174-182 (1997).
 88. Zubieta, J.K., et al. Increased mu opioid receptor binding detected by PET in cocaine-dependent men is associated with cocaine craving. *Nat Med* 2, 1225-1229 (1996).
 89. Brody, A.L., et al. Smoking-induced ventral striatum dopamine release. *Am J Psychiatry* 161, 1211-1218 (2004).
 90. Fowler, J.S., Logan, J., Wang, G.J. & Volkow, N.D. Monoamine oxidase and cigarette smoking. *Neurotoxicology* 24, 75-82 (2003).
 91. Fowler, J.S., et al. Low monoamine oxidase B in peripheral organs in smokers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 11600-11605 (2003).
 92. Fowler, J.S., et al. Comparison of monoamine oxidase a in peripheral organs in nonsmokers and smokers. *J Nucl Med* 46, 1414-1420 (2005).
 93. Fowler, J.S., et al. Inhibition of monoamine oxidase B in the brains of smokers. *Nature* 379, 733-736 (1996).
 94. Fowler, J.S., et al. Brain monoamine oxidase A inhibition in cigarette smokers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 14065-14069 (1996).
 95. Guillem, K., et al. Monoamine oxidase inhibition dramatically increases the motivation to self-administer nicotine in rats. *J Neurosci* 25, 8593-8600 (2005).
 96. Guillem, K., et al. Monoamine oxidase A rather than monoamine oxidase B inhibition increases nicotine reinforcement in rats. *Eur J Neurosci* 24, 3532-3540 (2006).
 97. George, T.P., et al. A preliminary placebo-controlled trial of selegiline hydrochloride for smoking cessation. *Biol Psychiatry* 53, 136-143 (2003).
 98. Morens, D.M., Grandinetti, A., Reed, D., White, L.R. & Ross, G.W. Cigarette smoking and protection from Parkinson's disease: false association or etiologic clue? *Neurology* 45, 1041-1051 (1995).
 99. Khalil, A.A., Steyn, S. & Castagnoli, N., Jr. Isolation and characterization of a monoamine oxidase inhibitor from tobacco leaves. *Chem Res Toxicol* 13, 31-35 (2000).
 100. Castagnoli, K., et al. Studies on the interactions of tobacco leaf and tobacco smoke constituents and monoamine oxidase. *Neurotox Res* 4, 151-160 (2002).
 101. Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wang, G.J., Swanson, J.M. & Telang, F. Dopamine in drug abuse and addiction: results of imaging studies and treatment implications. *Arch Neurol* 64, 1575-1579 (2007).
 102. Di Ciano, P. & Everitt, B.J. The GABA(B) receptor agonist baclofen attenuates cocaine- and heroin-seeking behavior by rats. *Neuropsychopharmacology* 28, 510-518 (2003).
 103. Brodie, J.D., Figueroa, E. & Dewey, S.L. Treating cocaine addiction: from preclinical to clinical trial experience with gamma-vinyl GABA. *Synapse* 50, 261-265 (2003).
 104. Brodie, J.D., et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of vigabatrin for the treatment of cocaine dependence in Mexican parolees. *Am J Psychiatry* 166, 1269-1277 (2009).
 105. Brodie, J.D., Figueroa, E., Laska, E.M. & Dewey, S.L. Safety and efficacy of gamma-vinyl GABA (GVG) for the treatment of methamphetamine and/or cocaine addiction. *Synapse* 55, 122-125 (2005).
 106. De Vries, T.J., et al. A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med* 7, 1151-1154 (2001).
 107. Julian, M.D., et al. Neuroanatomical relationship between type 1 cannabinoid receptors and dopaminergic

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

