

Neurobiologia della cocaina

Il contributo della ricerca preclinica alla comprensione del meccanismo d'azione delle sostanze psicoattive e cocaina in particolare



Uni-ATENeO “Ivana Torretta” – Anno Accademico 2010-2011

Nerviano, 8 Marzo 2011

Psicofarmacologia Sperimentale

Modelli sperimentali predittivi dell'attività che i composti, farmaci potenziali, potranno avere nell'uomo

- Per trovarne dei nuovi
- Per migliorare quelli esistenti (più attivi con minor effetti collaterali)

I modelli sperimentali *in vitro* così come le tecniche di **biologia molecolare** sono una base importante ...

ma quando è necessario acquisire informazioni sui meccanismi che regolano comportamenti complessi che richiedono alti livelli di integrazione non si può prescindere dagli studi degli effetti che le sostanze/farmaci hanno **in vivo**

Sostanze d'abuso

Alcool



Nicotina



Psicostimolanti

Cocaina,
Amfetamina



Psicodisletti

Ecstasy, LSD



Oppiacei

Eroina,
Morfina



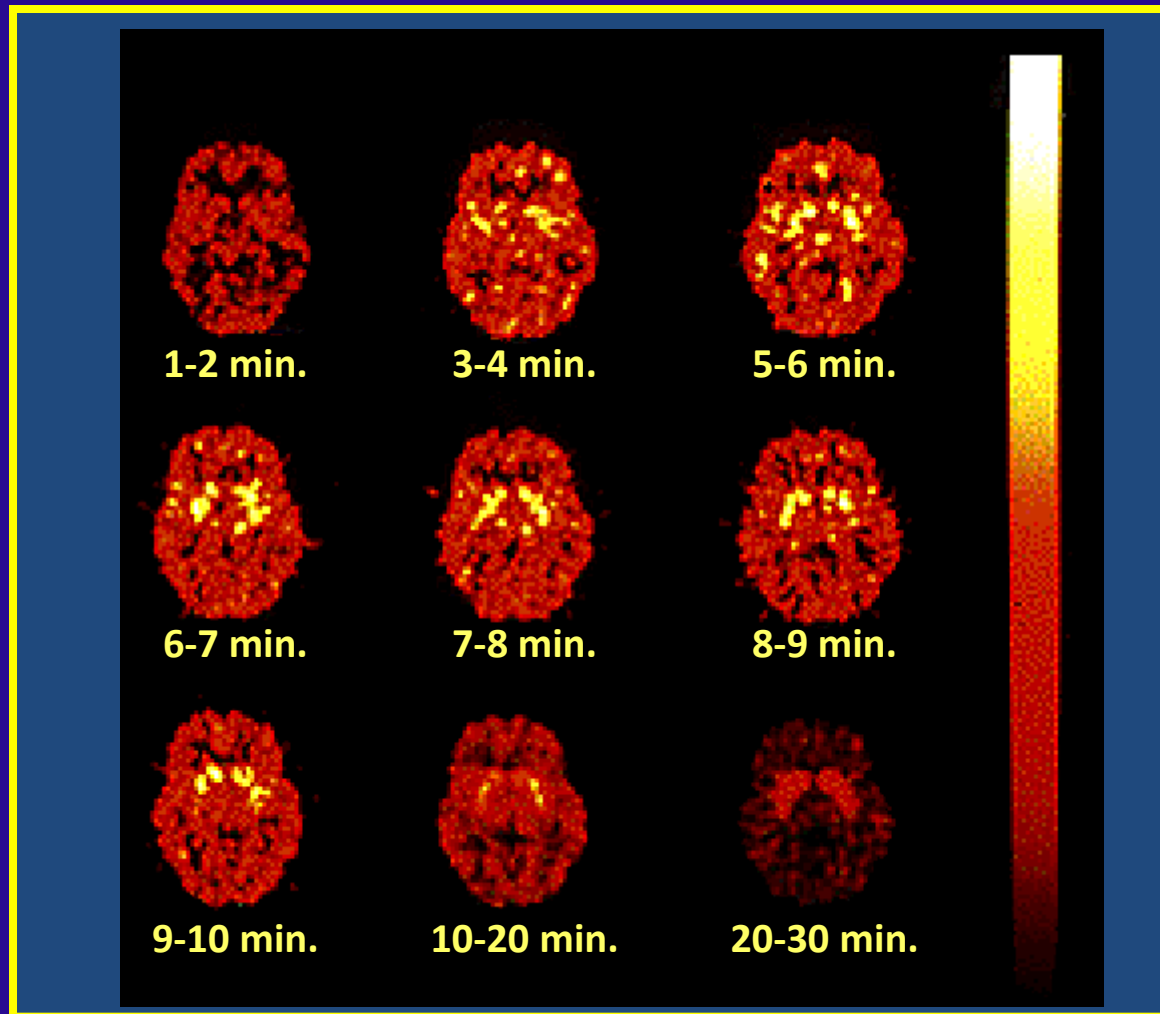
Cannabis

e derivati



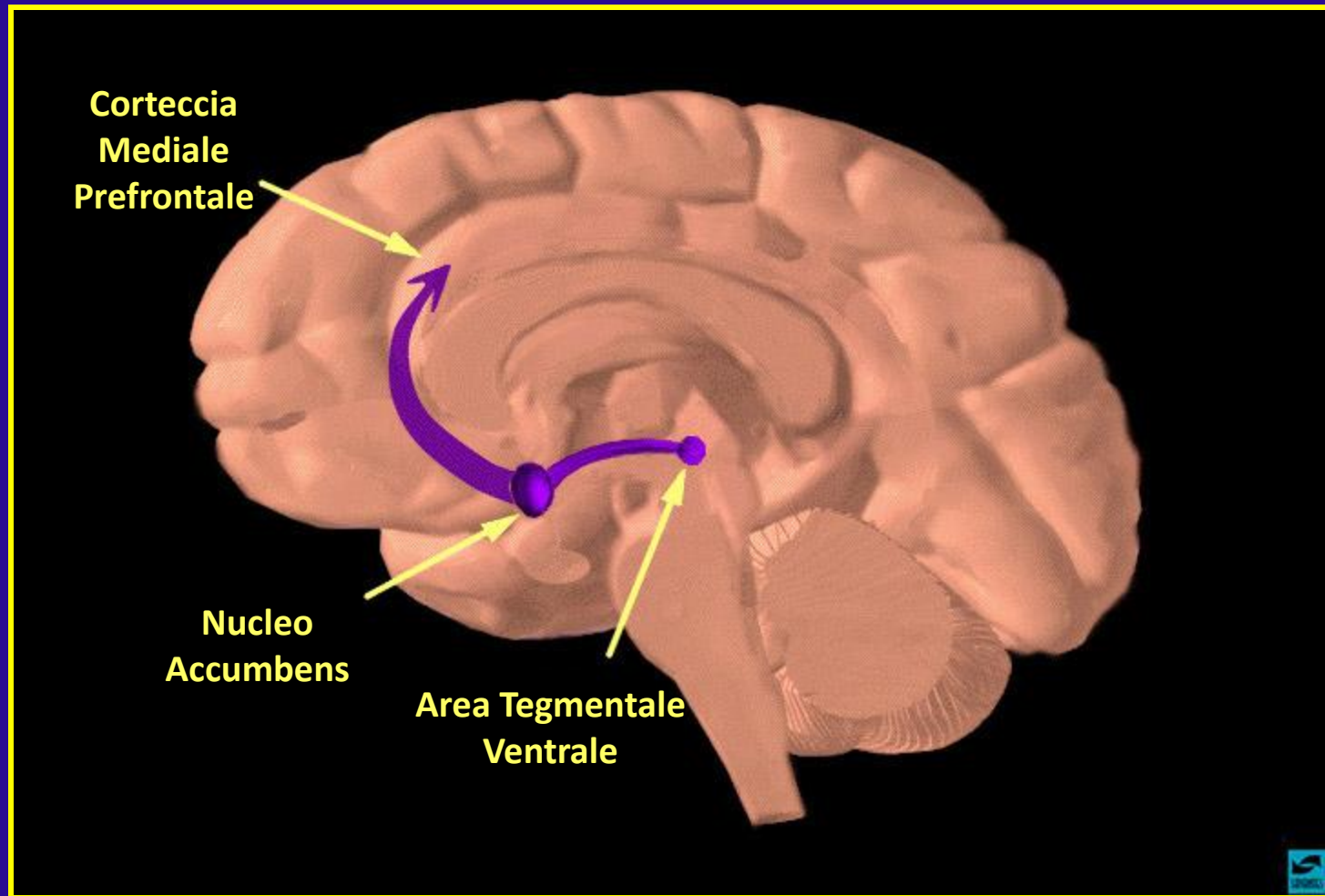
provocano sensazioni piacevoli o riducono quelle spiacevoli
alleviano la tensione e/o l'ansia, migliorano l'interazione sociale, modulano il tono dell'umore

Effetti della cocaina sul cervello



La cocaina, qui marcata in GIALLO, penetra velocemente nel cervello e si lega ad aree specifiche

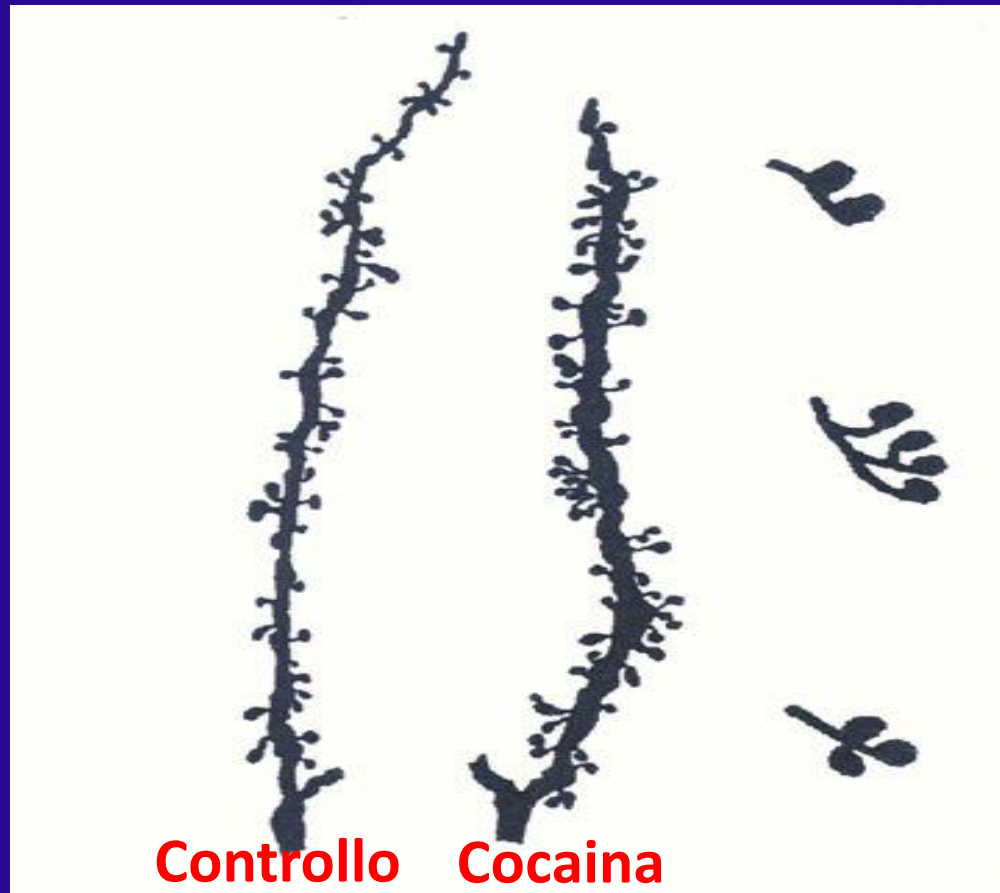
Tutte le sostanze d'abuso attivano, direttamente o indirettamente il sistema dopaminergico meso-corticolimbico



Ruolo importante nella motivazione (**corteccia mediale prefrontale**)
e nella gratificazione (**nucleo accumbens**)

Strutturalmente ...

**Aumento della densità delle spine dendritiche
dei neuroni nel nucleo accumbens**

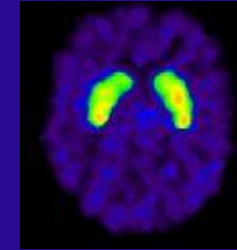
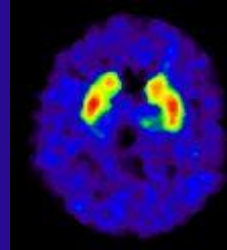


Funzionalmente...

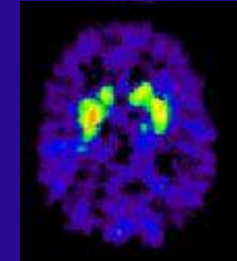
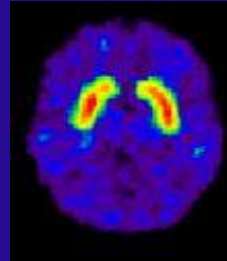
Riduzione dei recettori per la Dopamina del tipo D2



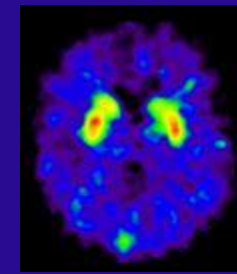
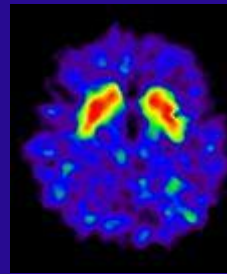
Cocaina



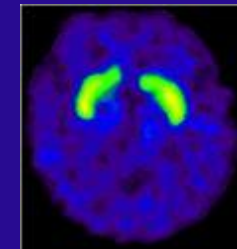
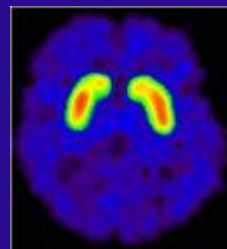
Metamfetamina



Alcool



Eroina



Controllo

Dipendente

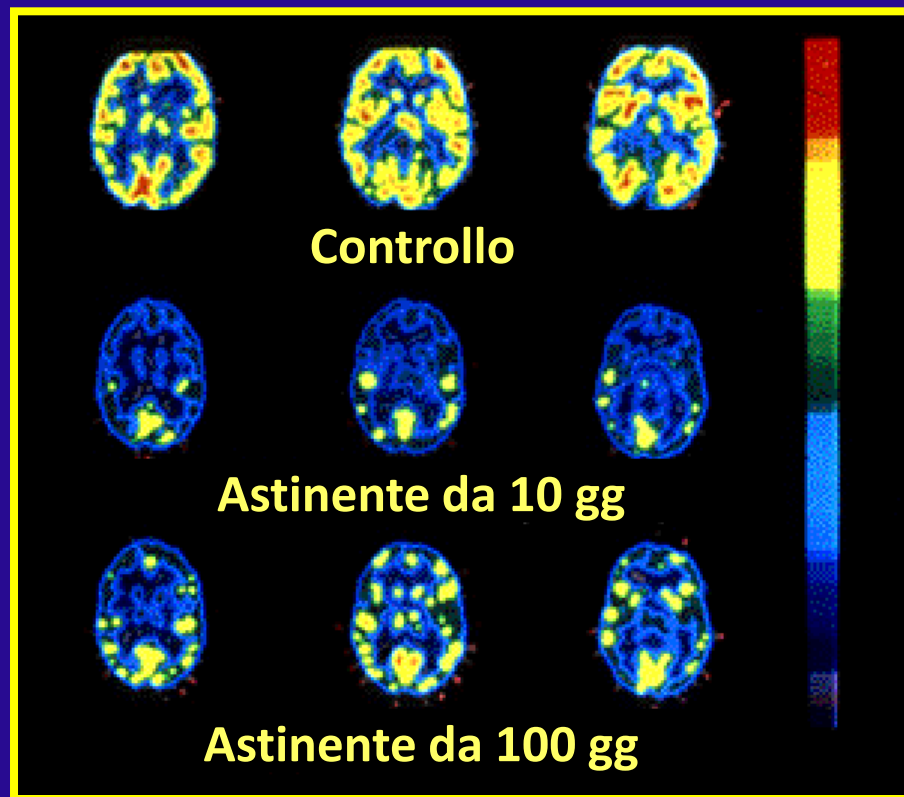


Disponibilità del recettore DA D2

L'astinenza smaschera le risposte adattative sviluppatesi nel cervello durante la dipendenza

Riduzione del metabolismo basale di glucosio

Cocaina



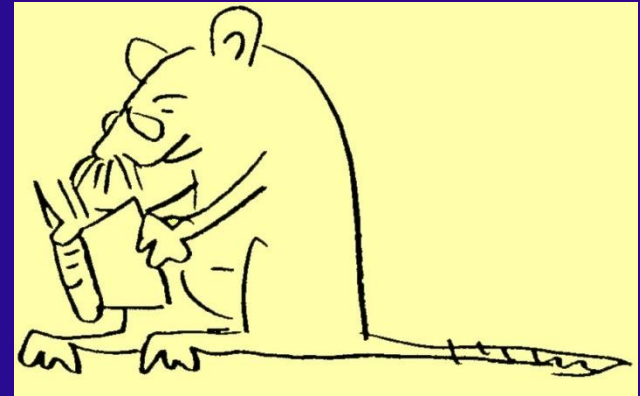
Come possono gli animali essere utili alle nostre ricerche?



L'unico problema che hanno ratti, topi, cani e scimmie è quello di associare un loro comportamento all'assunzione della sostanza d'abuso in studio, dopo di che ... loro faranno il resto

L'apprendimento animale

L'unica attività che possiamo eseguire per produrre, cambiare o mantenere un comportamento



è quella di presentare o non presentare degli “stimoli” prima o dopo la sua comparsa

L'apprendimento animale

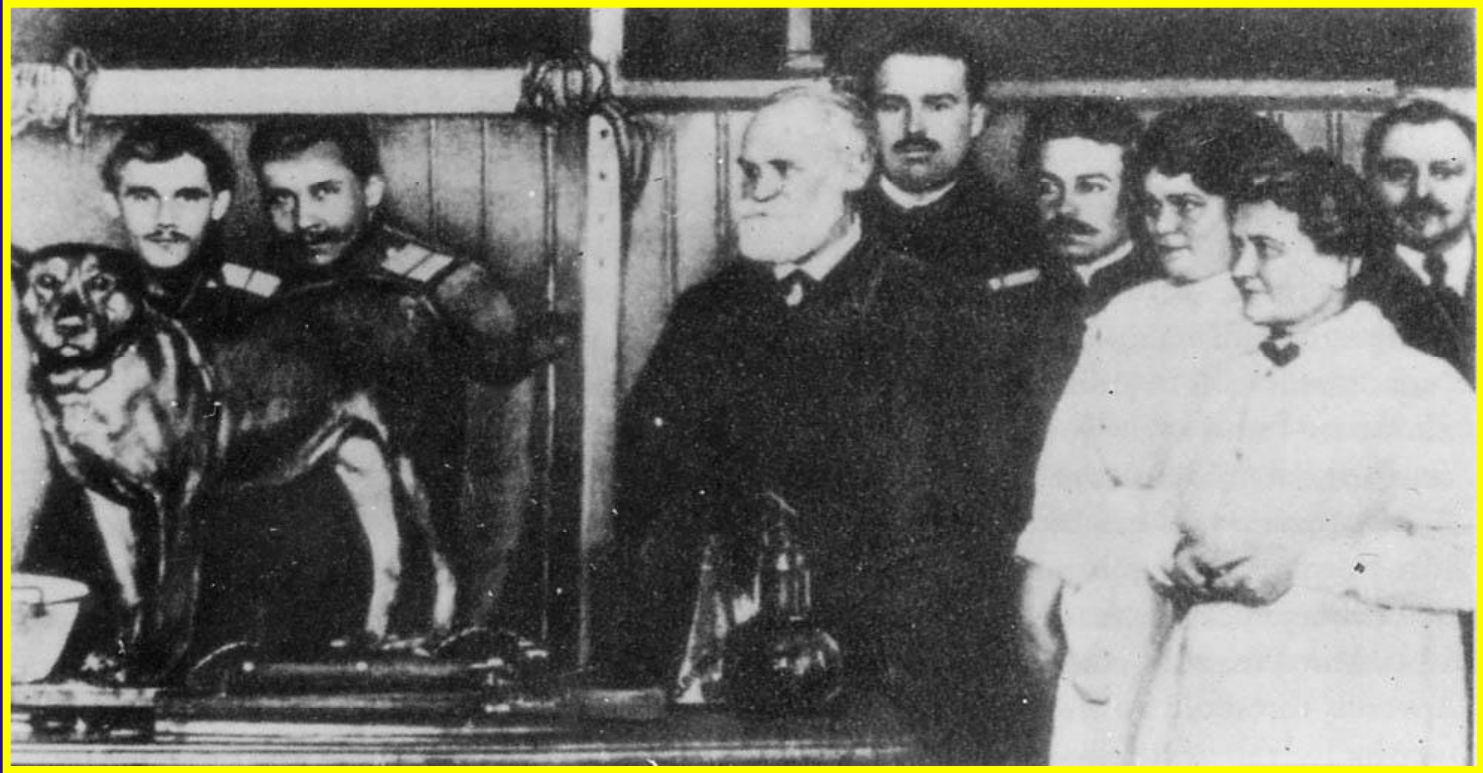
**Condizionamento Classico
(Comportamento Riflesso o Rispondente)**

**Stimoli Specifici
Naturali o Farmacologici**



**Induzione di Comportamenti non Condizionati
fanno parte del Repertorio Naturale**

Pavlov I. P. (1849 –1936) e collaboratori



La presentazione di cibo (US), accompagnata dal suono della campanella (CS), induce salivazione (UR)

Il suono della campanella (CS) induce salivazione (CR)

L'apprendimento animale

Condizionamento Operante

Risposte
Spontaneamente
Emesse

Stimoli
Positivi
o
Rinforzanti

Stimoli
Negativi

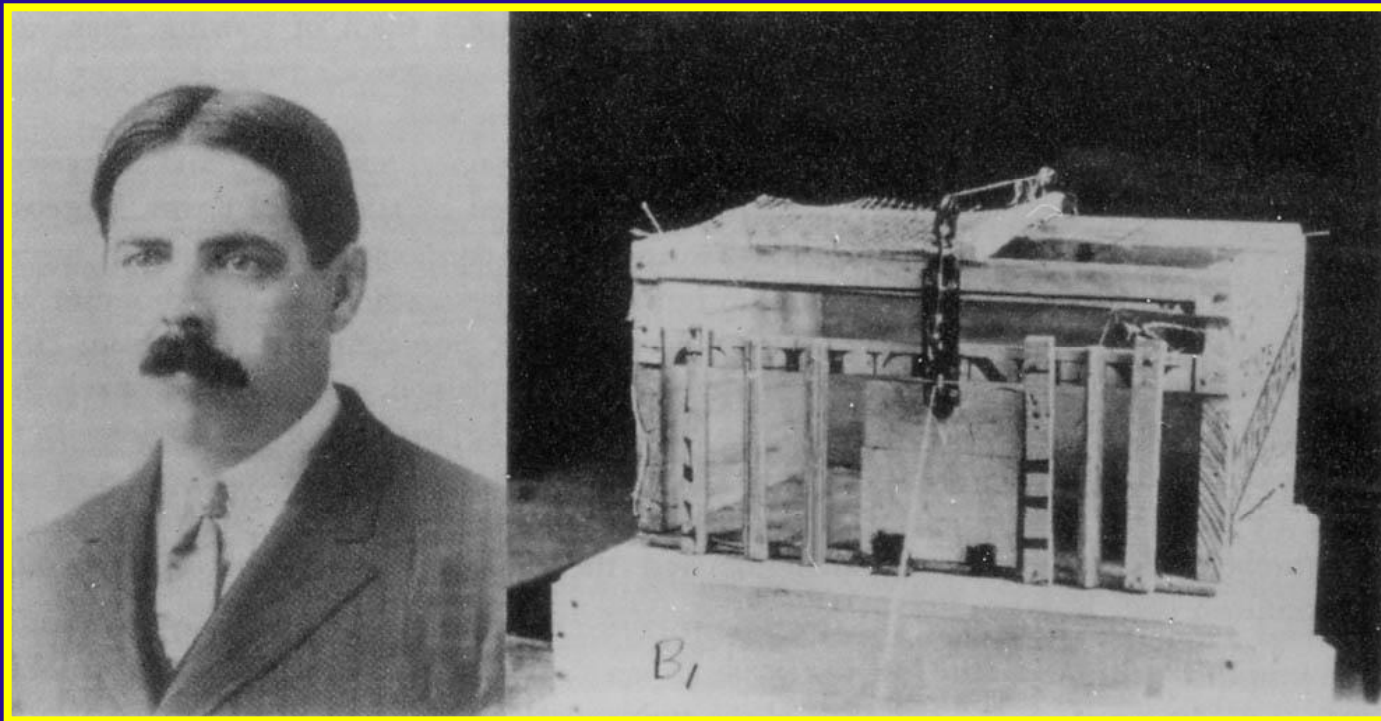
Nuova emissione
della risposta
precedentemente
emessa

Soppressione
della risposta
precedentemente
emessa

Thorndike E.L. (1874-1949)

Tentativo ed errore

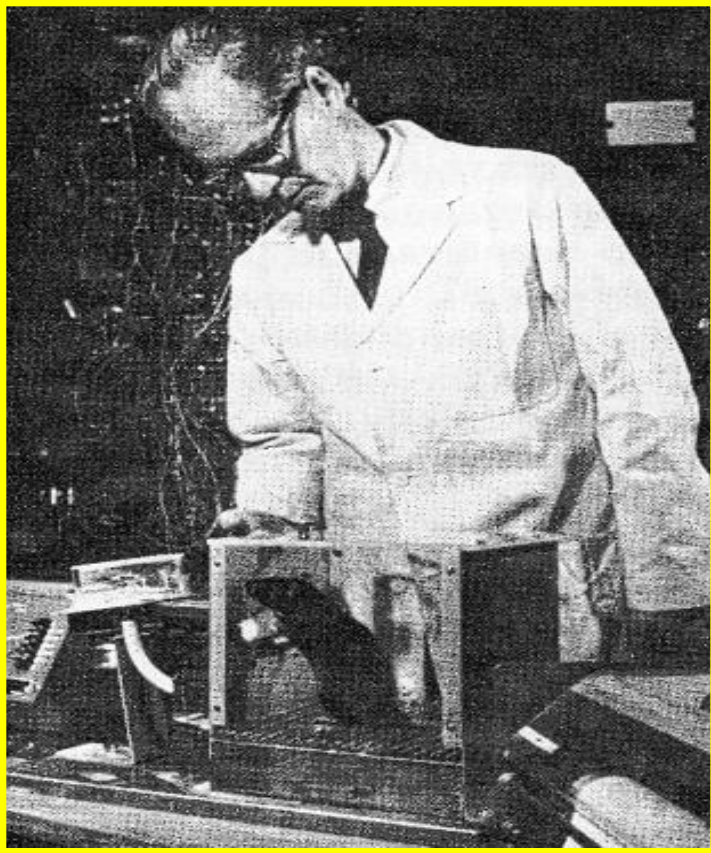
Le attività dell'organismo vengono apprese, mantenute o estinte attraverso i cambiamenti nella situazione stimolo che fanno seguito alla loro emissione



Legge dell'effetto

Le attività inefficaci hanno una probabilità minore di ripetersi qualora la situazione problema venga ripetute

Skinner B.F. (1904-1990)



Rottura con la tradizionale visione stimolo-risposta (niente stimolo, niente risposta)

Distinzione tra “risposte rispondenti” (suscitate da stimoli conosciuti) e “risposte operanti” di cui non si evidenziava lo stimolo che le aveva evocate

Il mangime, lo stimolo rinforzante che Thorndike concedeva ai suoi animali, come fattore d'apprendimento

Gabbia di Skinner



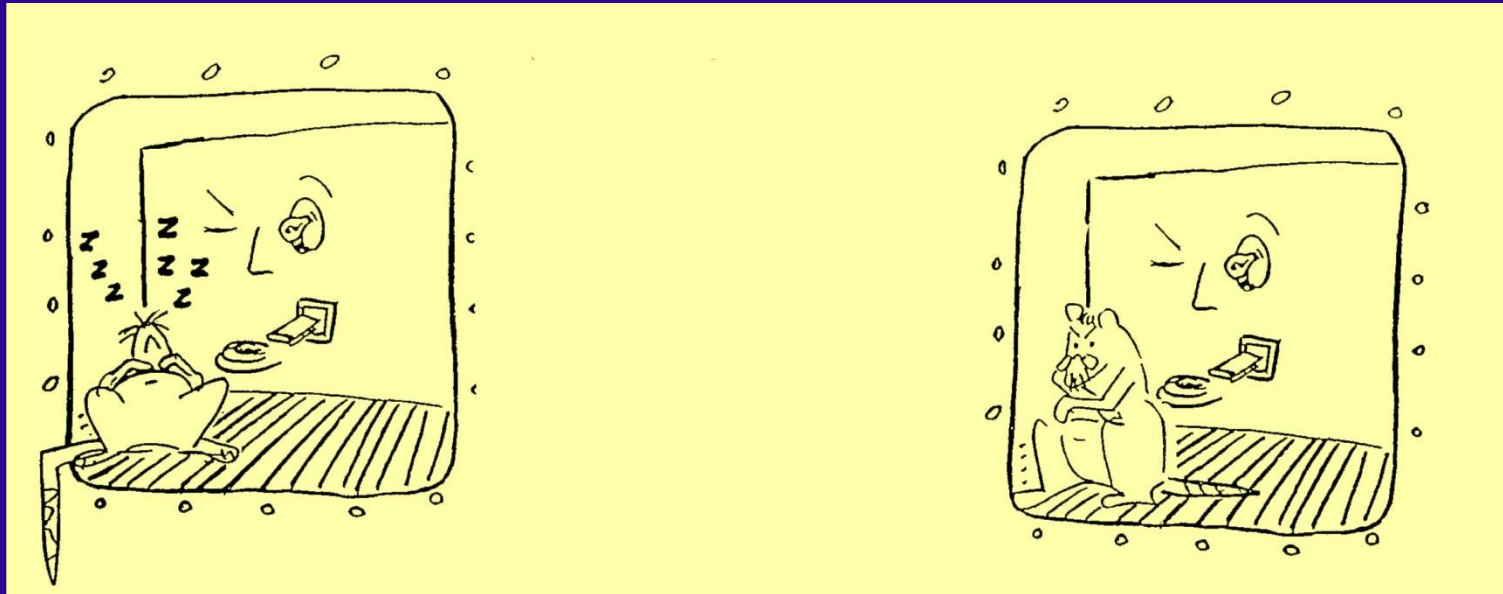
Gabbia metallica con una parete in plexiglass

- leve metalliche retrattili
- dispensatore di cibo
- “mangiatoia” nella parete
- luci
- piccoli altoparlanti
- pavimento a griglia

Contenitore ventilato e insonorizzato

Tecniche di condizionamento operante

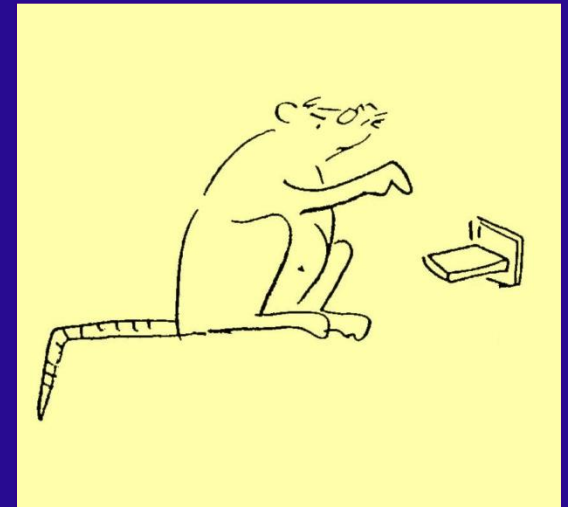
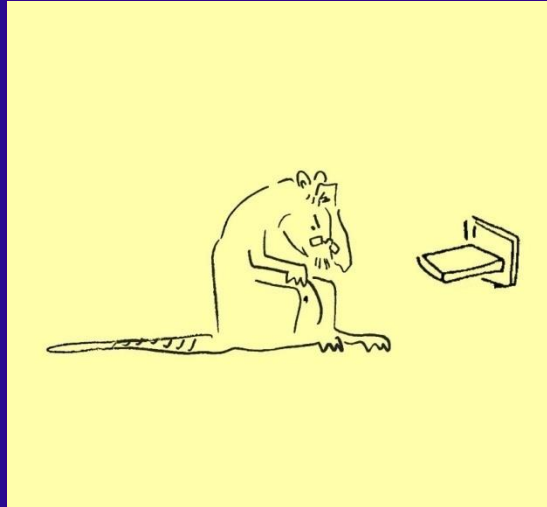
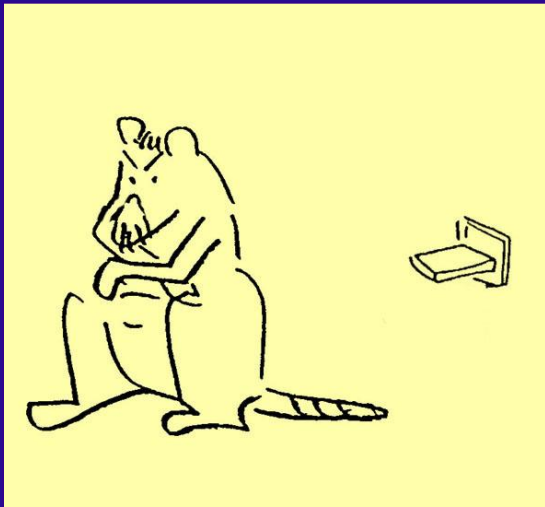
1. Ratto sazio



Poiché lo stimolo (rinforzo) deve seguire la prima risposta emessa spontaneamente dal soggetto, bisogna motivare il nostro soggetto sperimentale ad emettere dei comportamenti

Tecniche di condizionamento operante

2. Ratto a regime dietetico controllato



In assenza di stimoli: livello operante

Modellare il comportamento - "SHAPING"

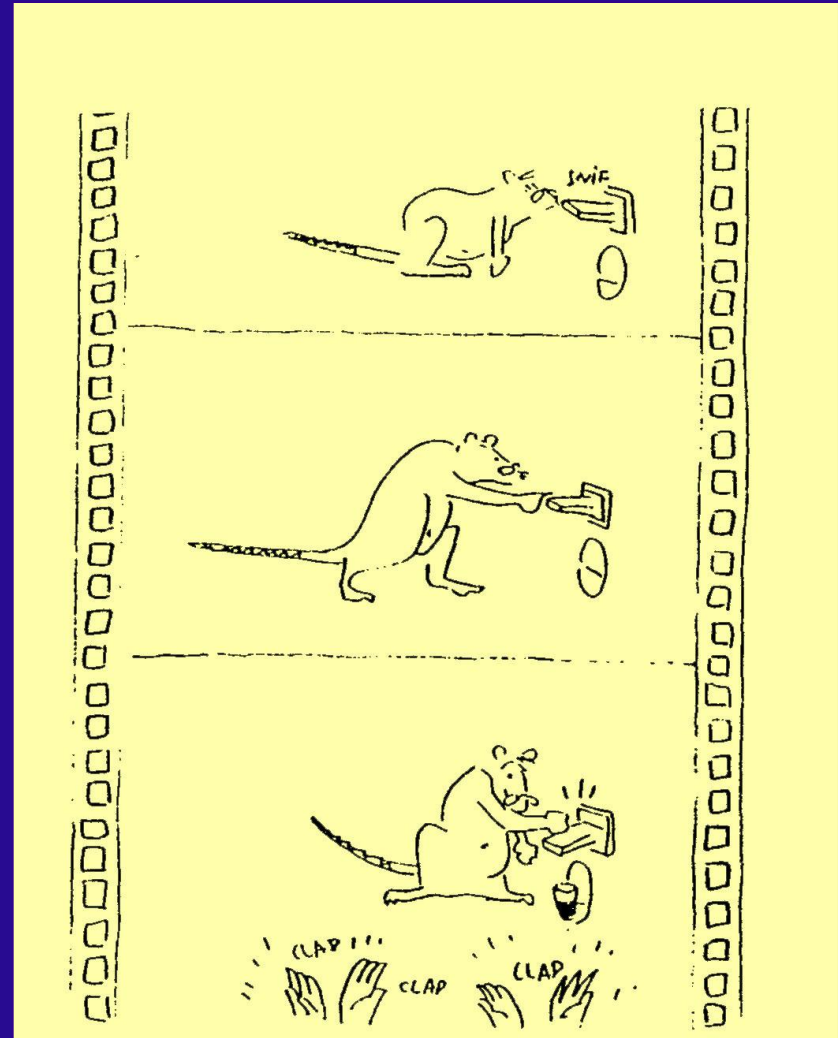
2. Ratto a regime dietetico controllato

1. Progressivo

2. Graduale

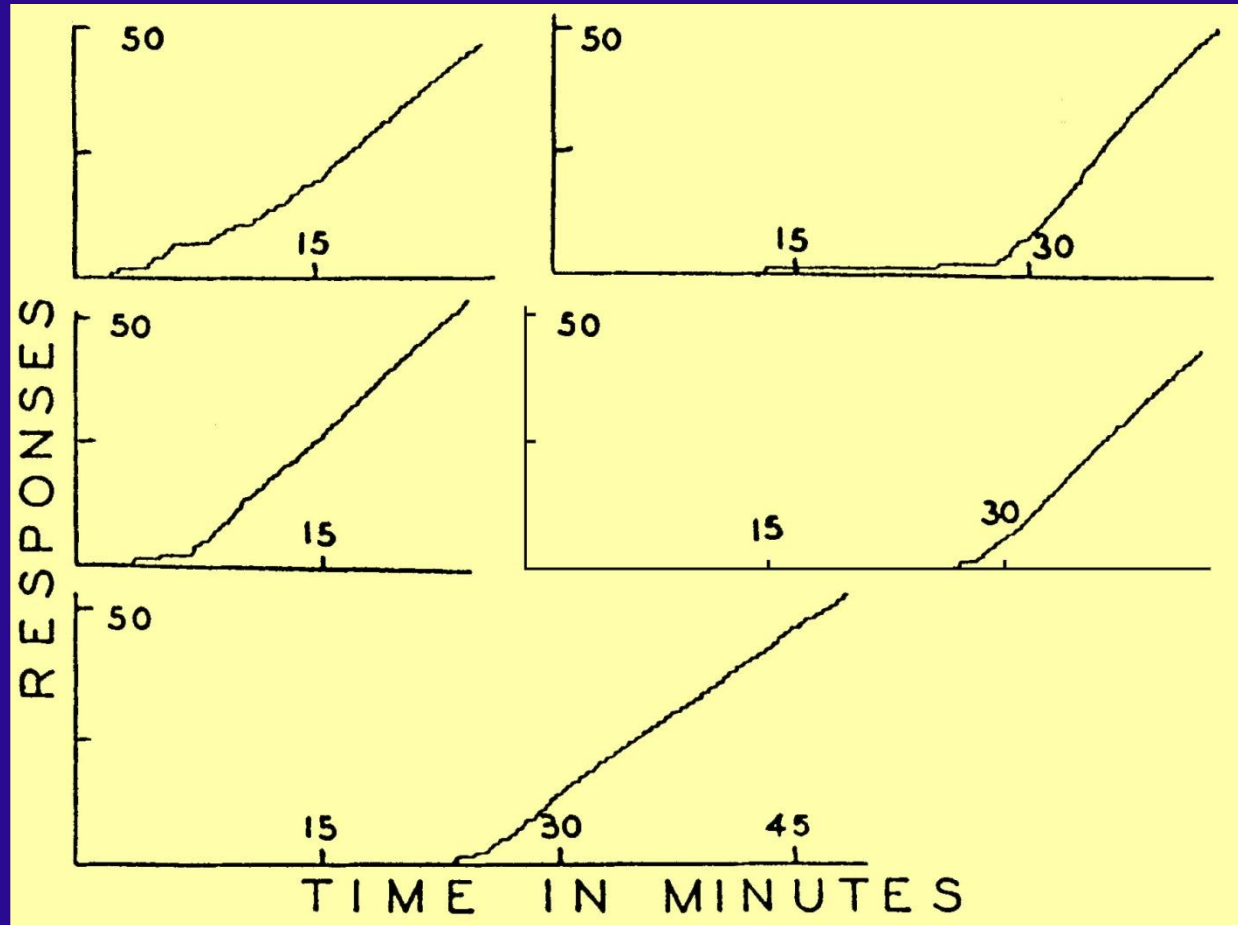
3. Irreversibile

Procedere per "successiva approssimazione"
Il comportamento non è soggetto a fare salti



Programma a rinforzo regolare

Il ratto viene rinforzato per ogni pressione della leva



Intervallo di tempo variabile prima dell'emissione dell'operante

La frequenza dell'emissione dell'operante aumenta con accelerazione quasi lineare

Programmi di rinforzo

Gli stimoli rinforzanti si possono programmare in modo che seguano le risposte operanti secondo regole fisse o variabili

Queste possono essere espresse con riferimento al numero degli atti operanti necessari ad ottenere un rinforzo o in base al tempo, trascorso il quale il rinforzo diventa disponibile

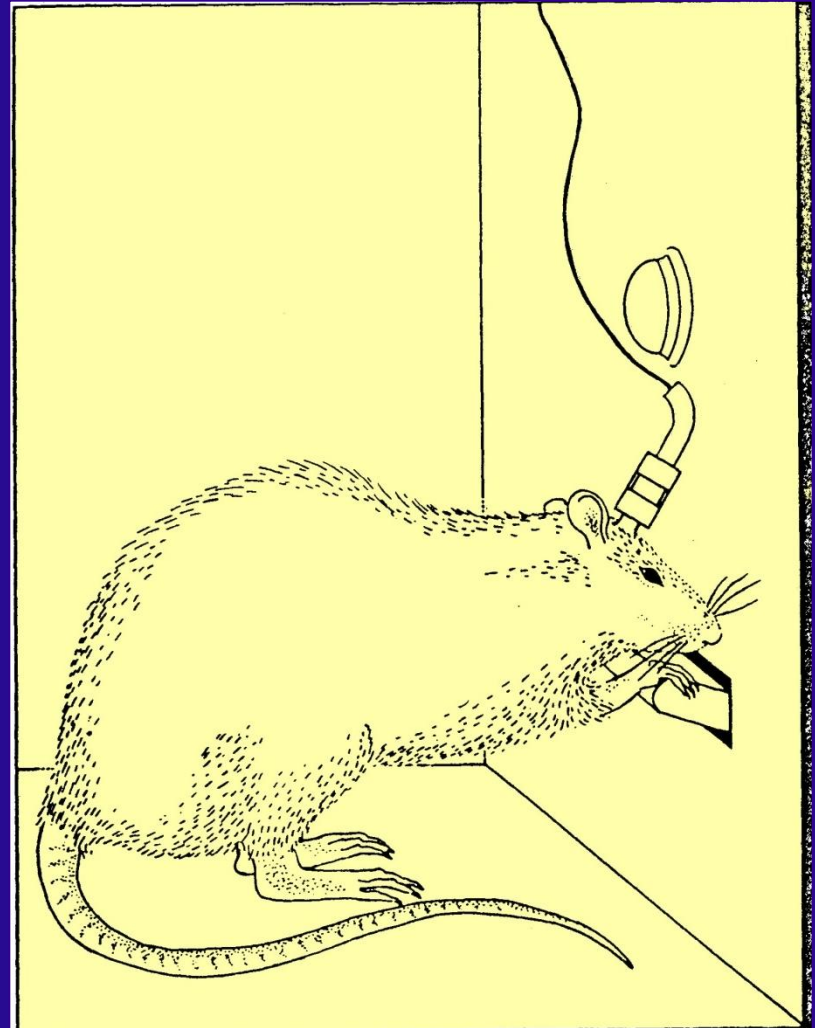
- 1. Rapporto fisso - Fixed ratio**
- 2. Rapporto variabile - Variable ratio**
- 3. Intervallo fisso - Fixed interval**
- 4. Intervallo variabile - Variable interval**

Self-Stimulation – Auto-stimolazione

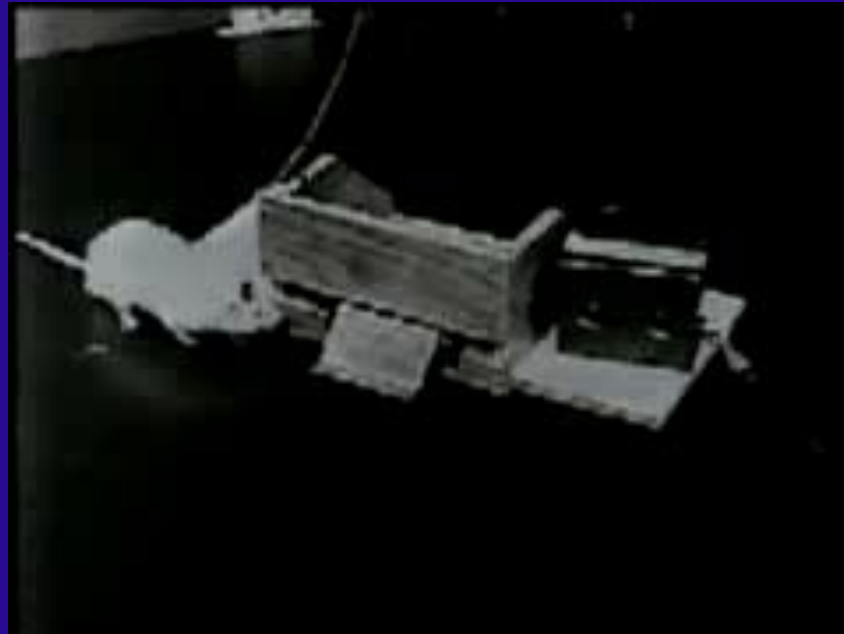
1950-1960

James OLDS
(1922-1976)

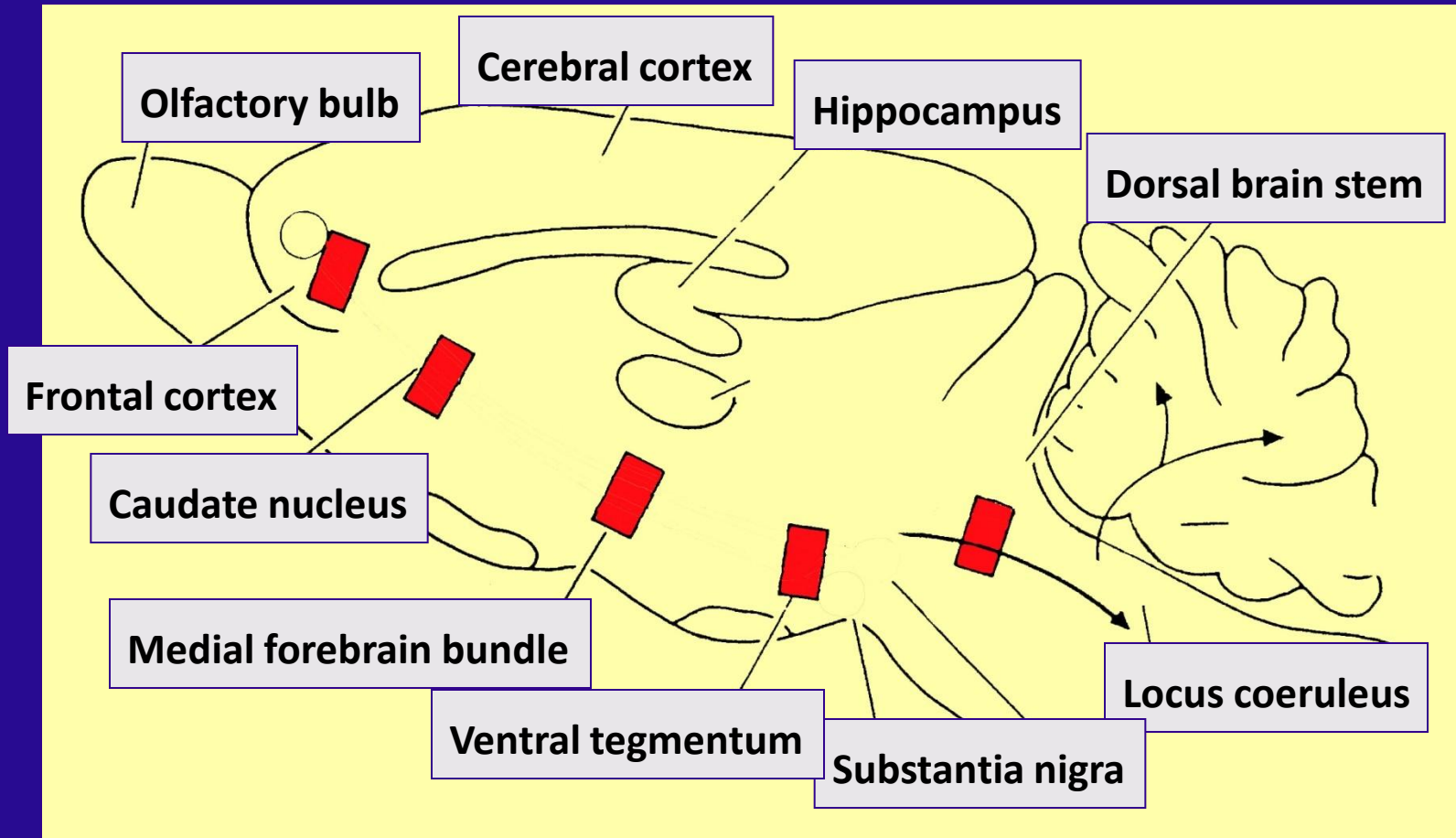
McGill University
Montreal, Canada



Auto-stimolazione



Regioni cerebrali che mantengono auto-stimolazione



**Noradrenalina e dopamina messe a contatto
con formaldeide diventano fluorescenti:**

1960-1970

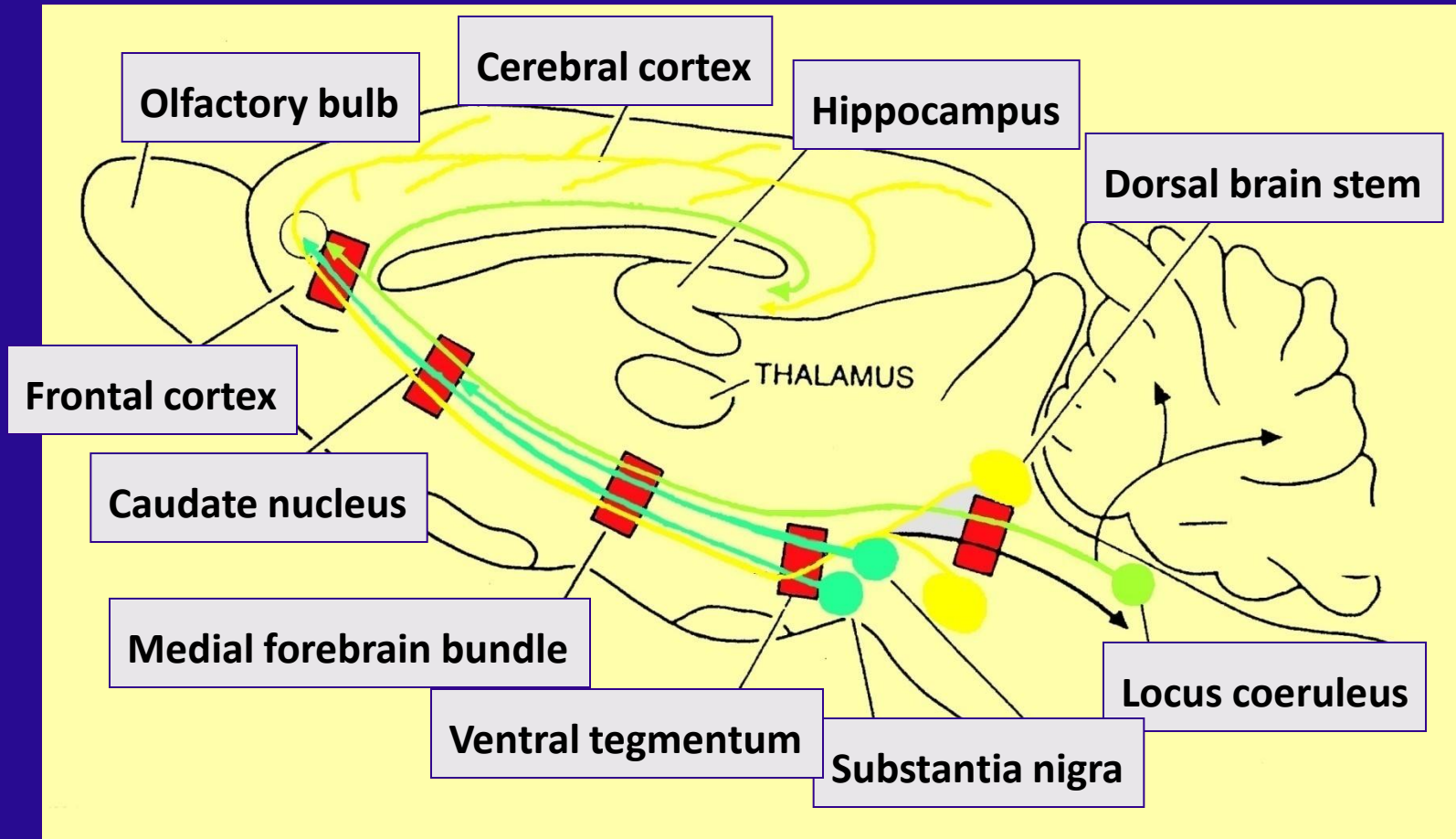


Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

Tecniche di istofluorescenza (fluorescenza indotta da formaldeide)

1960-1970

Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

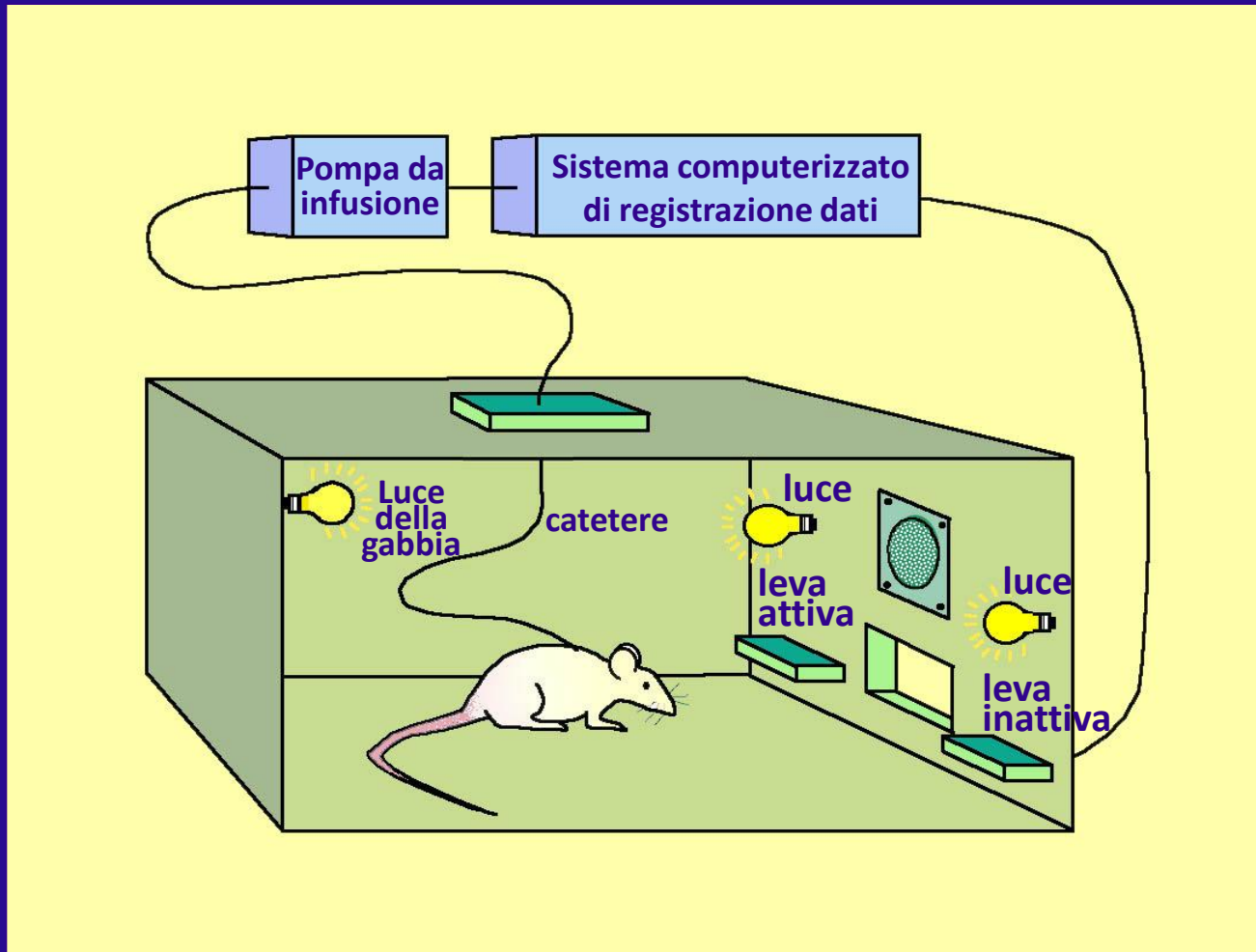


Noradrenalina – verde/giallo

Dopamina - verde

Serotonina - giallo

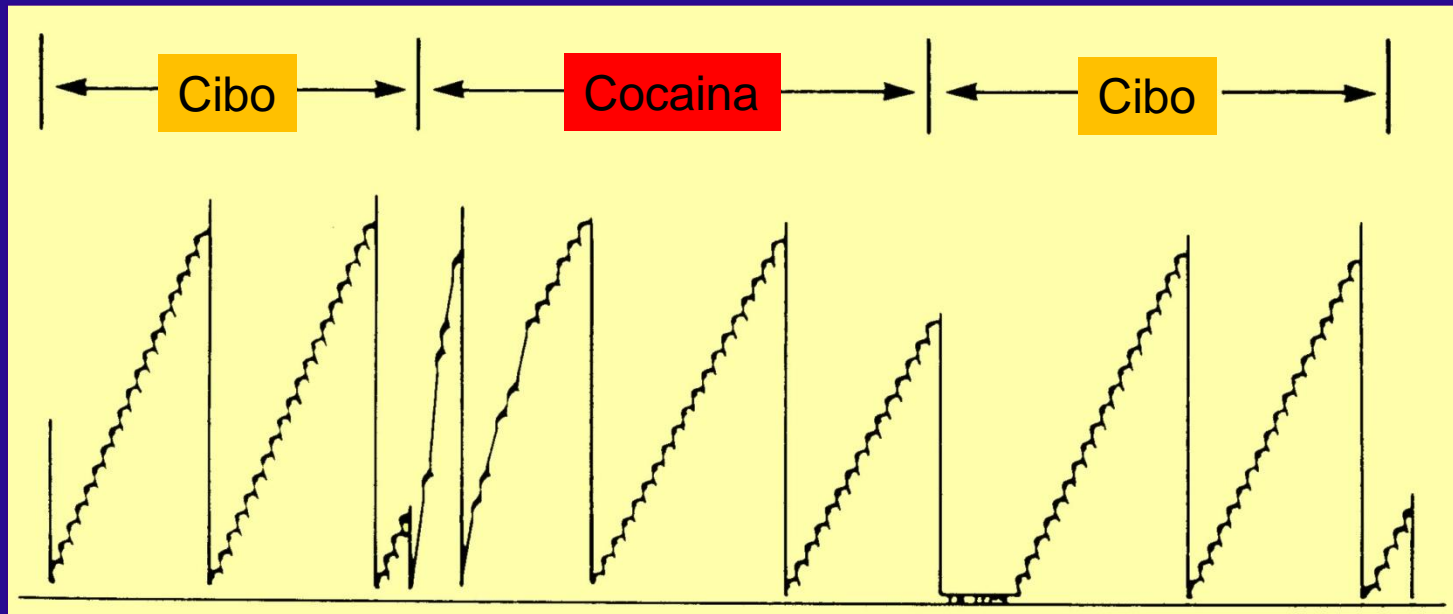
Auto-somministrazione



- Una pressione della leva attiva produce una infusione endovenosa della sostanza in studio
- Ogni infusione è accompagnata da uno stimolo visivo e/o auditivo

Cibo e cocaina sono in grado di mantenere il comportamento di pressione della leva e quindi si comportano da stimoli positivi

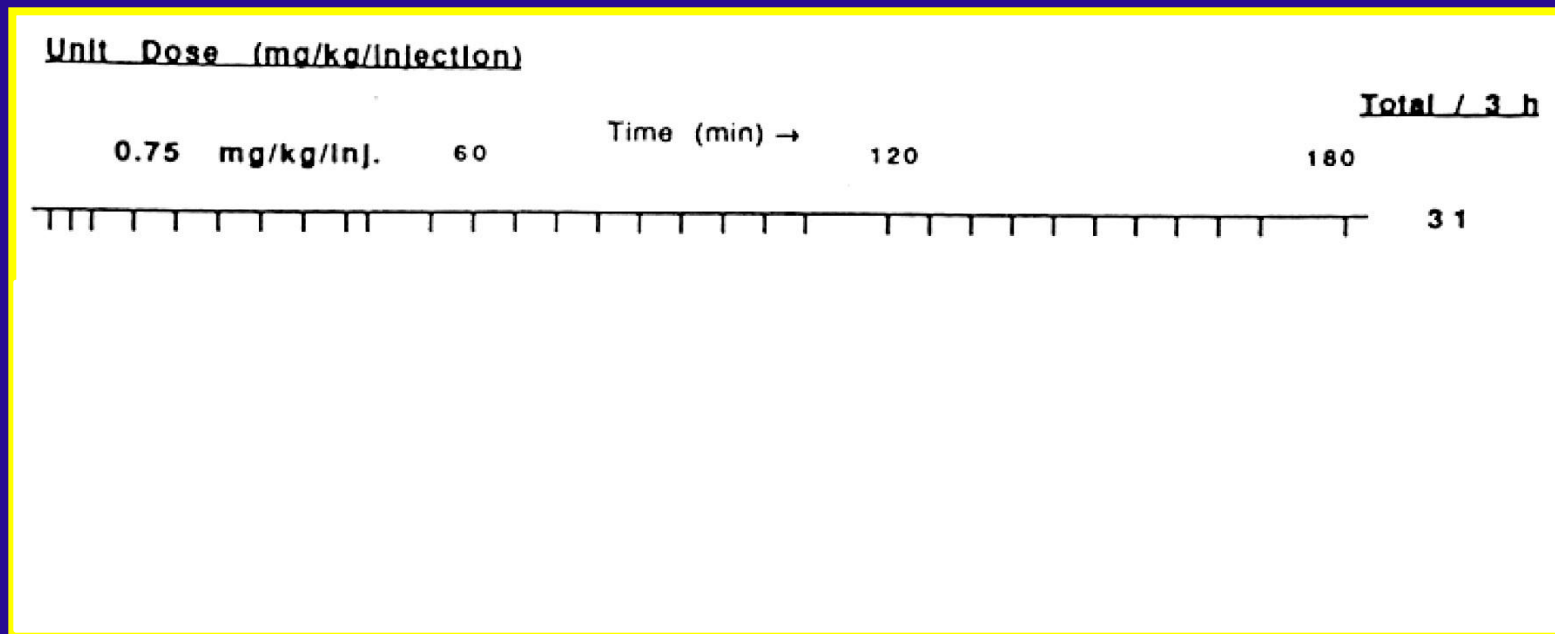
Cibo e cocaina rinforzano il comportamento



Auto-somministrazione

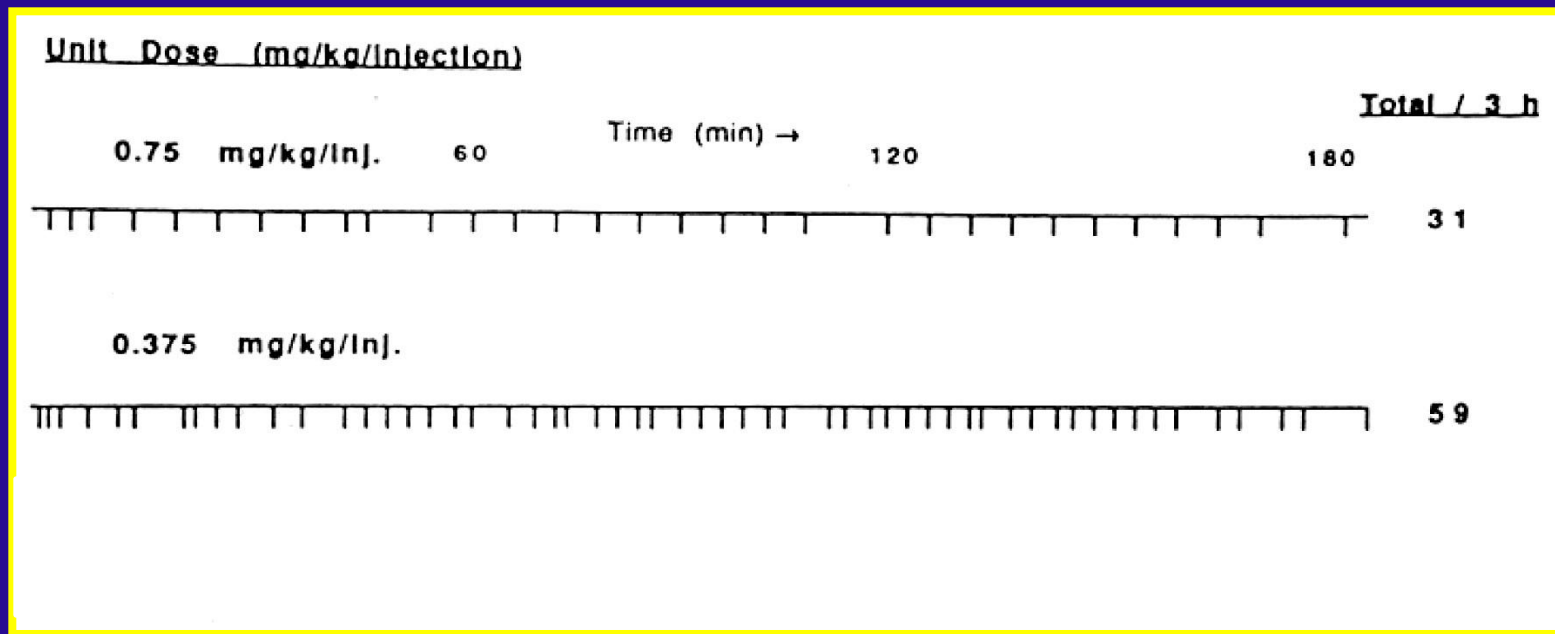


Distribuzione delle infusioni ottenute durante una sessione di autosomministrazione



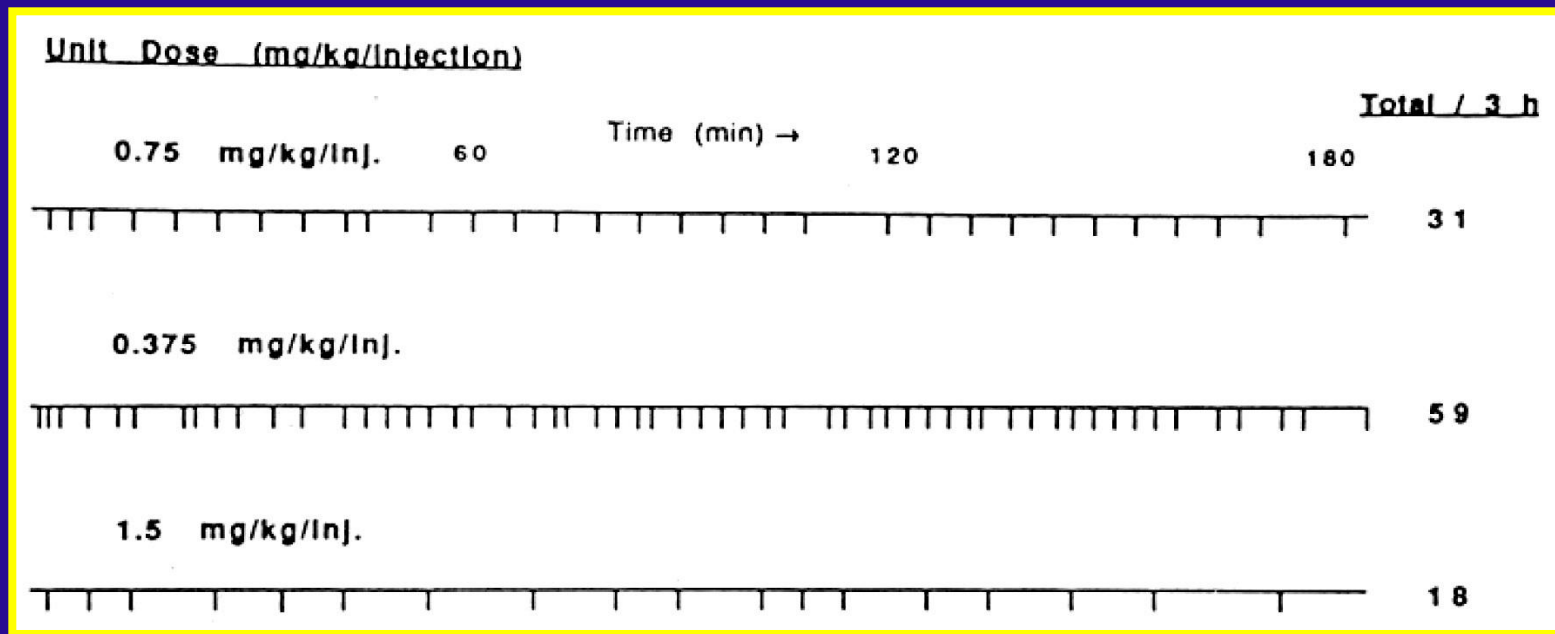
L'ascissa rappresenta il tempo in minuti
Ogni linea verticale rappresenta un'infusione di cocaina

Distribuzione delle infusioni ottenute durante una sessione di autosomministrazione



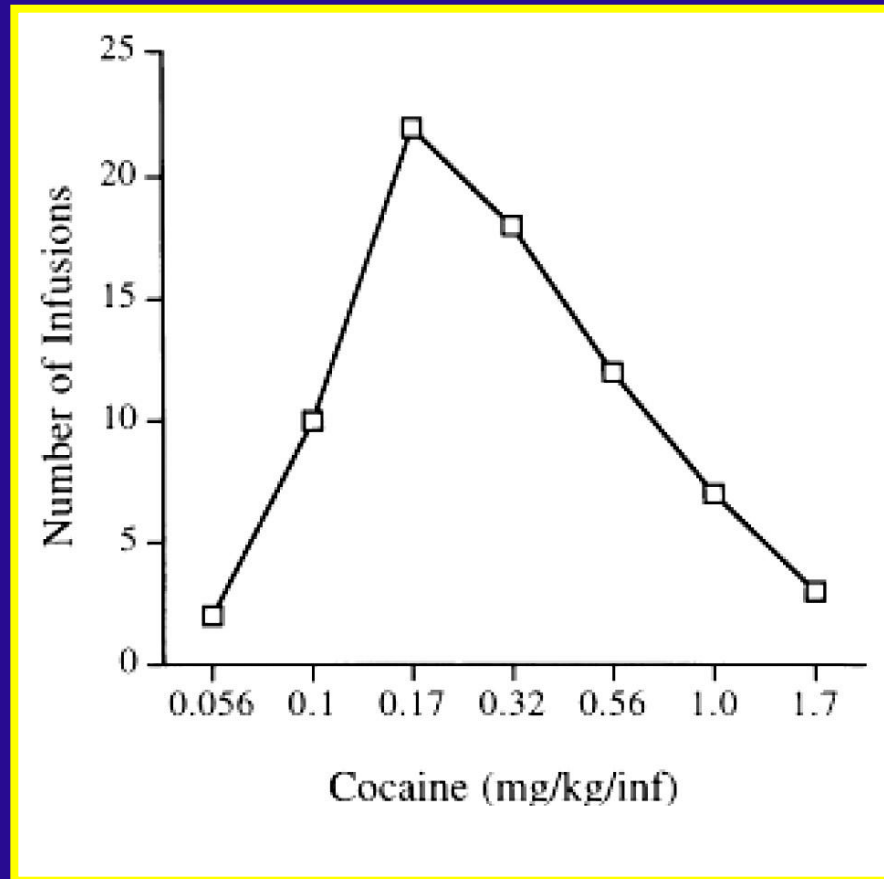
L'ascissa rappresenta il tempo in minuti
Ogni linea verticale rappresenta un'infusione di cocaina

Distribuzione delle infusioni ottenute durante una sessione di autosomministrazione



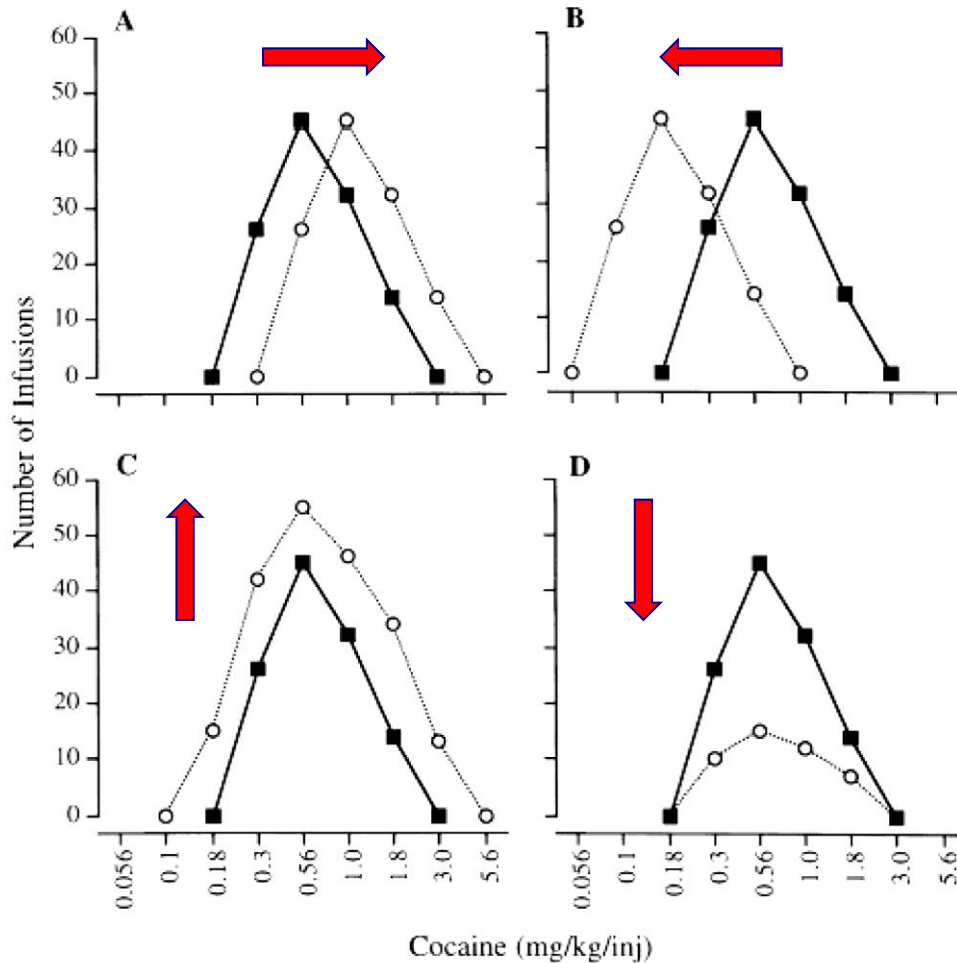
L'ascissa rappresenta il tempo in minuti
Ogni linea verticale rappresenta un'infusione di cocaina

Grafico del numero di infusioni ottenute in funzione della dose di cocaina



All'aumentare della dose di cocaina, il numero di infusioni ottenute prima aumenta, con dosi basse e moderate di cocaina, per poi diminuire alle dosi più elevate

Potenziali effetti di un intervento (comportamentale o farmacologico) sulla curva dose-risposta dell'autosomministrazione di cocaina



A: diminuzione del potere rinforzante della cocaina

B: aumento del potere rinforzante

C: indica un aumento nell'efficacia della cocaina

D: riduzione nell'efficacia della cocaina

Sostanze psicotrope abusate dall'uomo che vengono autosomministrate dall'animale da laboratorio

Psicostimolanti

- Cocaina
- d-Amfetamina
- Metamfetamina
- Fenmetrazina
- Metilfenidato
- Dietilpropione

Oppiacei

- Morfina
- Meperidina
- Codeina
- Pentazocina
- Eroina

Barbiturates

- Amobarbitale
- Secobarbitale
- Pentobarbitale
- Exobarbitale

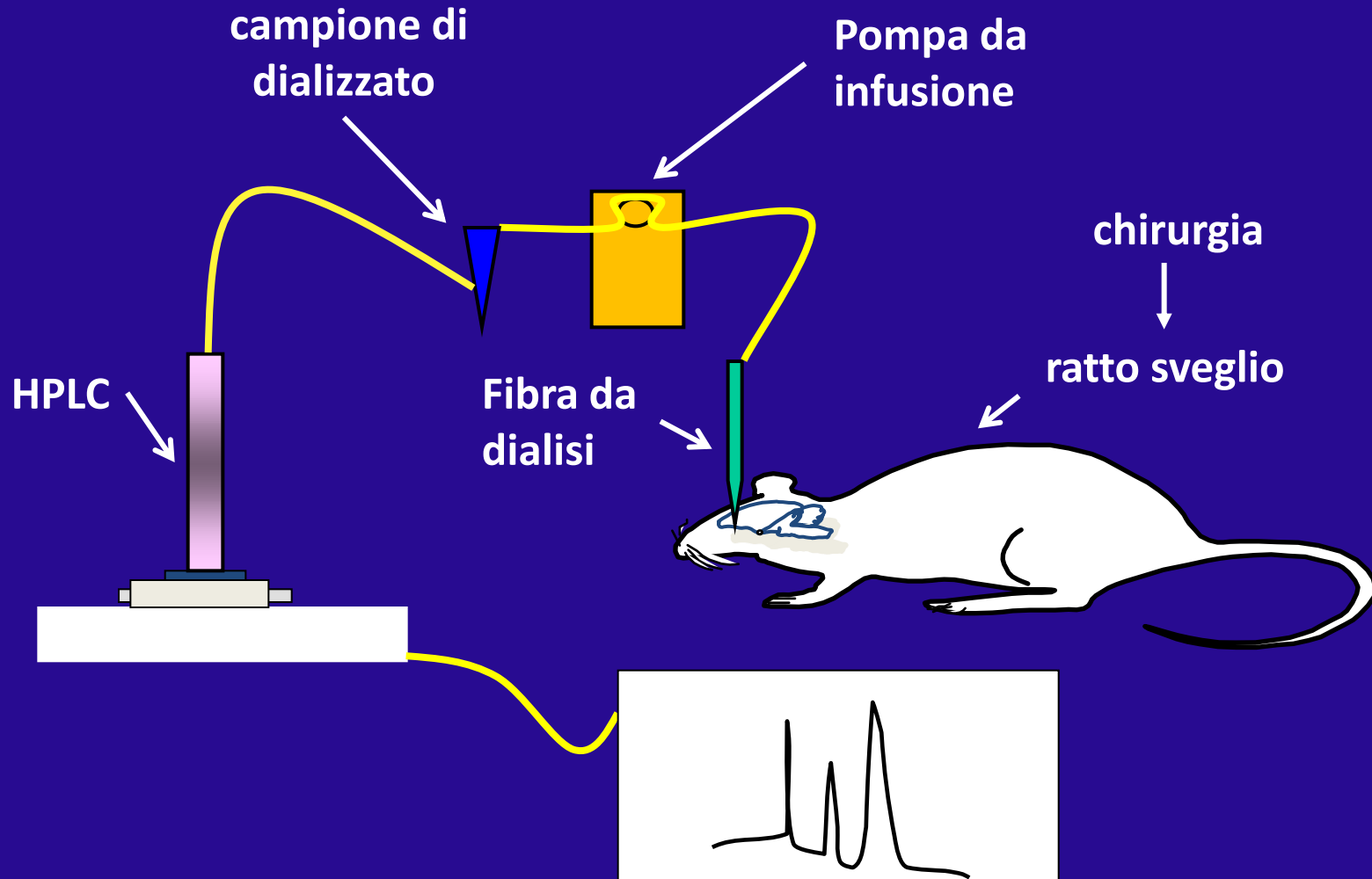
Benzodiazepine

- Clordiazepossido
- Diazepam

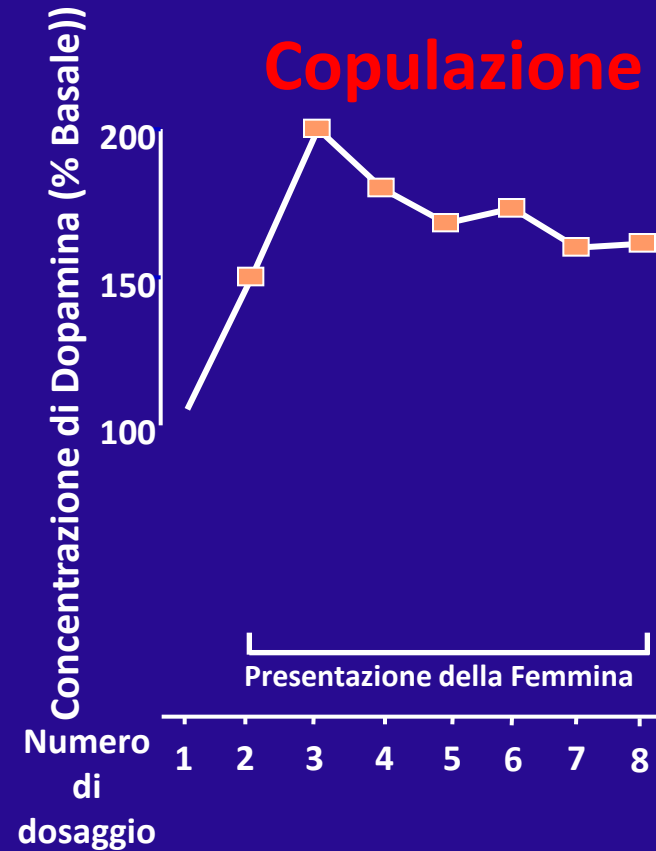
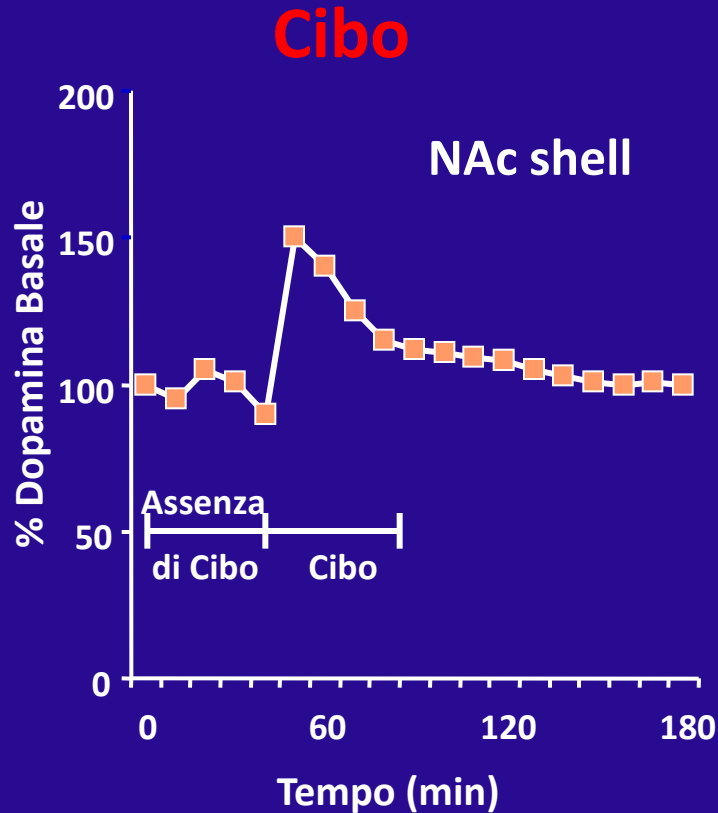
Altre

- Etanolo
- Nicotina
- Fenciclidina
- MDMA (Ecstasy)

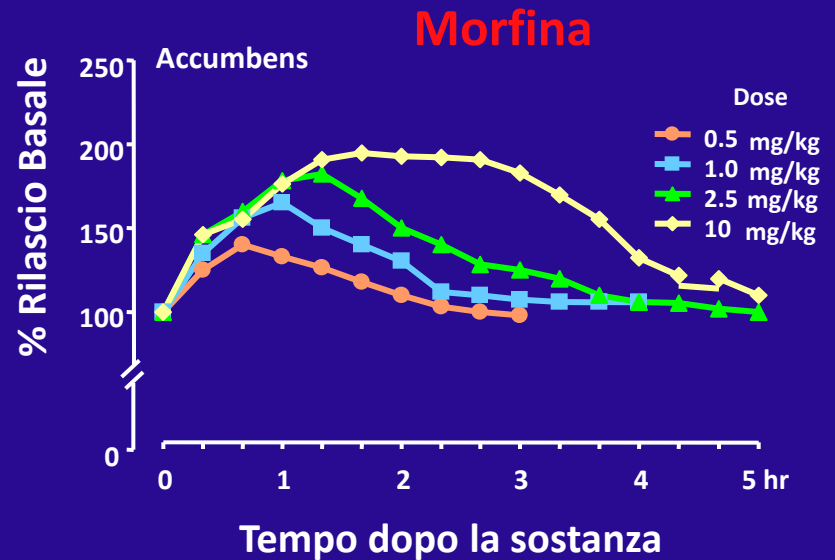
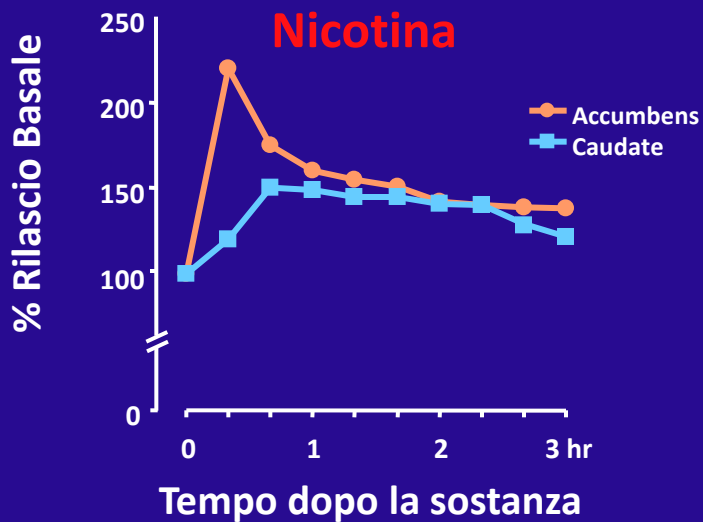
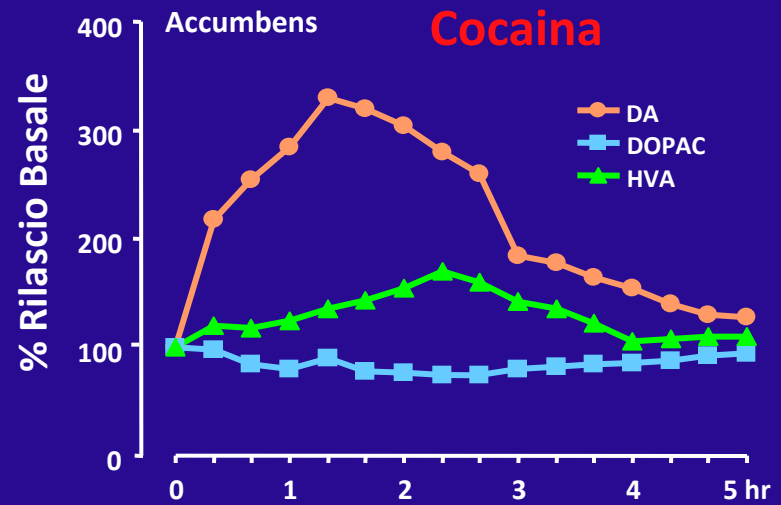
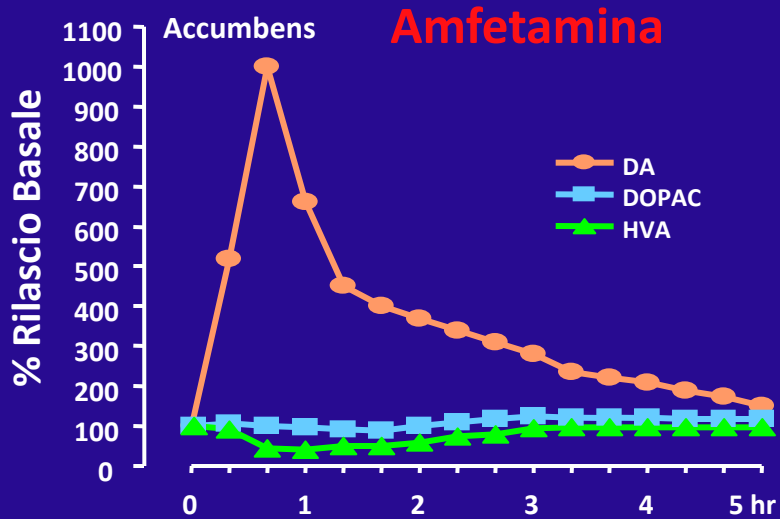
Microdialisi



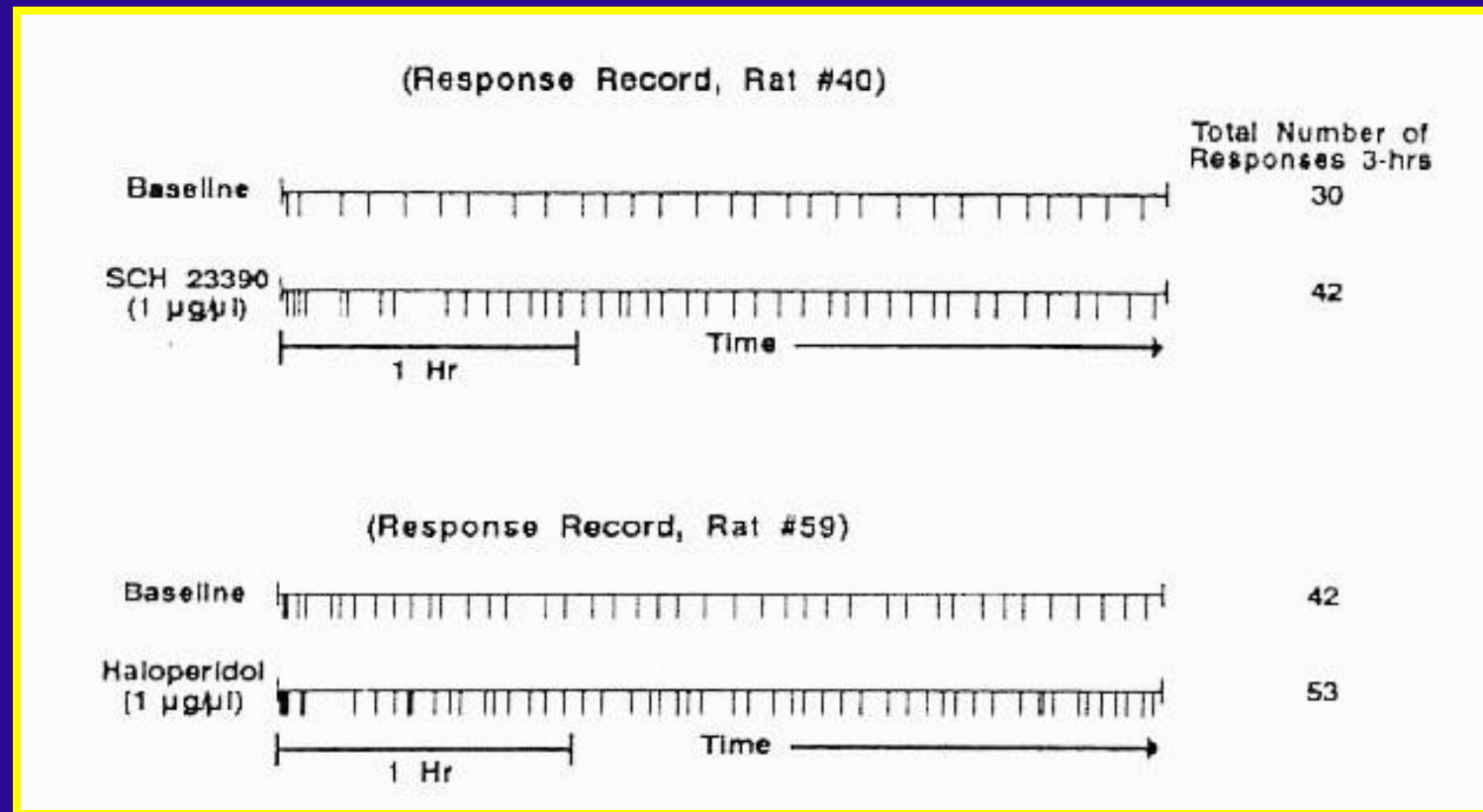
I Rinforzi Naturali Aumentano I Livelli di Dopamina nel Nucleo Accumbens



Effetto di Sostanze Psicoattive d'Abuso sul Rilascio di Dopamina

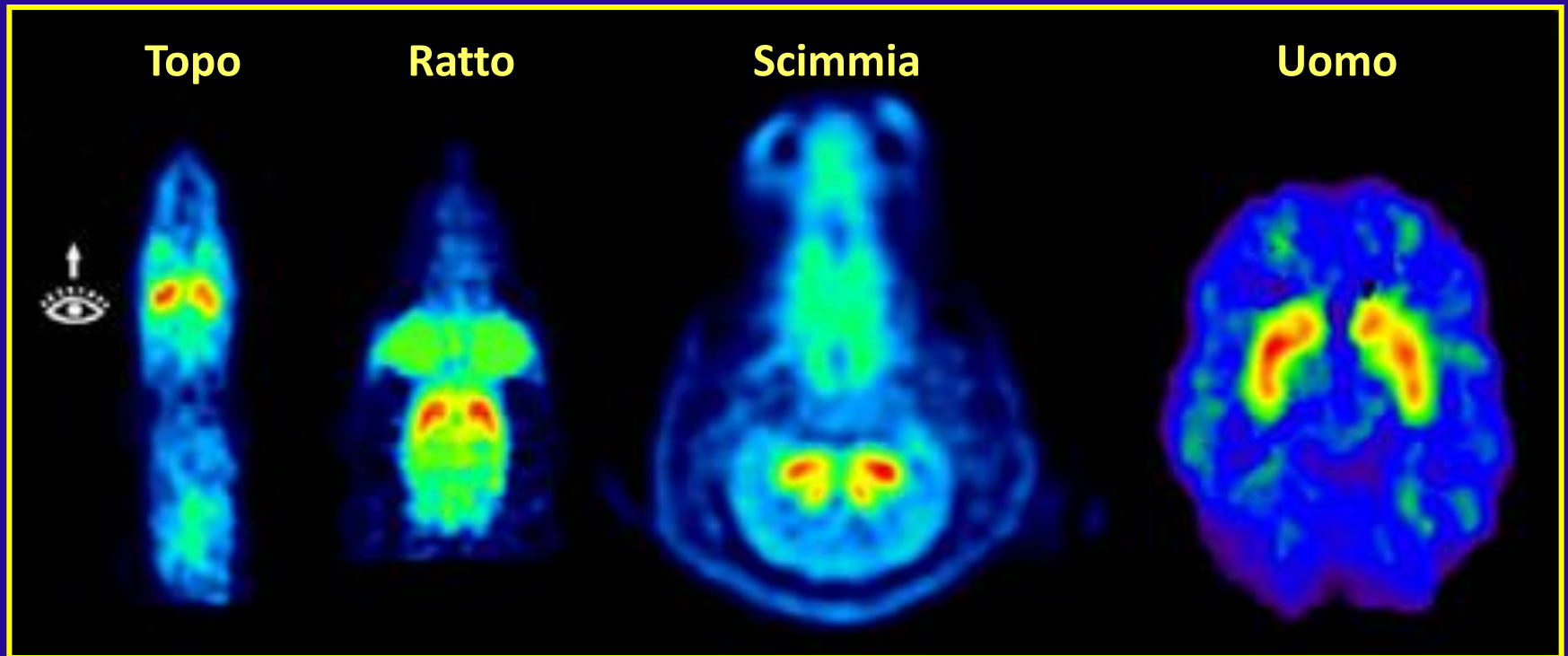


Effetto di antagonisti dopaminergici iniettati localmente nel nucleus accumbens sull'auto-somministrazione di cocaina



Il sistema dopaminergico meso-corticolimbico è fondamentale per la vita “normale”

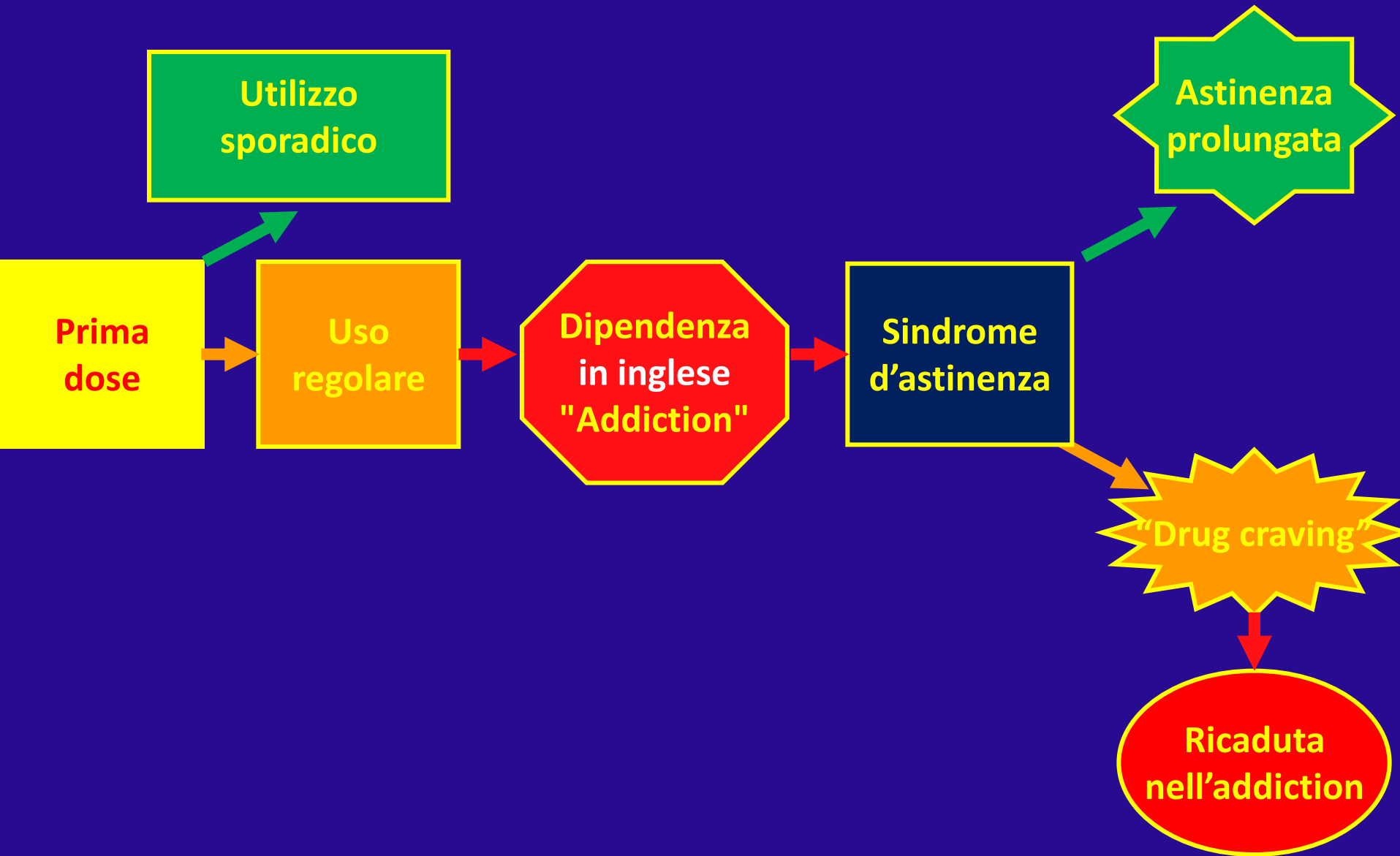
un suo appropriato livello di attività è necessario per focalizzare e per portare a compimento i nostri bisogni e i nostri scopi



E' altamente conservato e presente in tutte le specie animali

In tutte le specie animali la cocaina, qui marcata in ROSSO, è in grado di attivare il sistema

Un numero rilevante di soggetti non si limita ad un **consumo sporadico** della sostanza, ma ne diventa **dipendente**



Drug Craving

- Il “**craving**” viene definito come **l’incontrollabile desiderio** (spesso compulsivo) di assumere nuovamente la sostanza d’abuso
- Tutte le sostanze d’abuso producono **tracce mnemoniche** dei loro effetti. Questi ricordi sono talmente intensi da ritrovarsi del tutto inalterati **anche in soggetti completamente disintossicati**

“... quando soggetti disintossicati vengono in contatto con stimoli ambientali e non, che sono stati associati all’abuso riportano **“craving”** che spesso si risolve con la **ricaduta**”

Stimoli che inducono “craving”:

- Stati dell’umore
- Persone specifiche
- Luoghi specifici
- Eventi o momenti dell’anno
- Oggetti legati all’abuso (monete, polveri bianche, pipe di vetro, specchi, siringhe e lame da barba)



Nell'uomo il craving può insorgere in associazione con:

- Esposizione alla stessa o un'altra sostanza d'abuso
- Durante l'astinenza (anhedonia)
- Esposizione a stimoli ambientali che ricordano l'abuso
- Durante periodi di stress

Possono gli animali da laboratorio contribuire allo studio dei meccanismi che sottendono al craving?

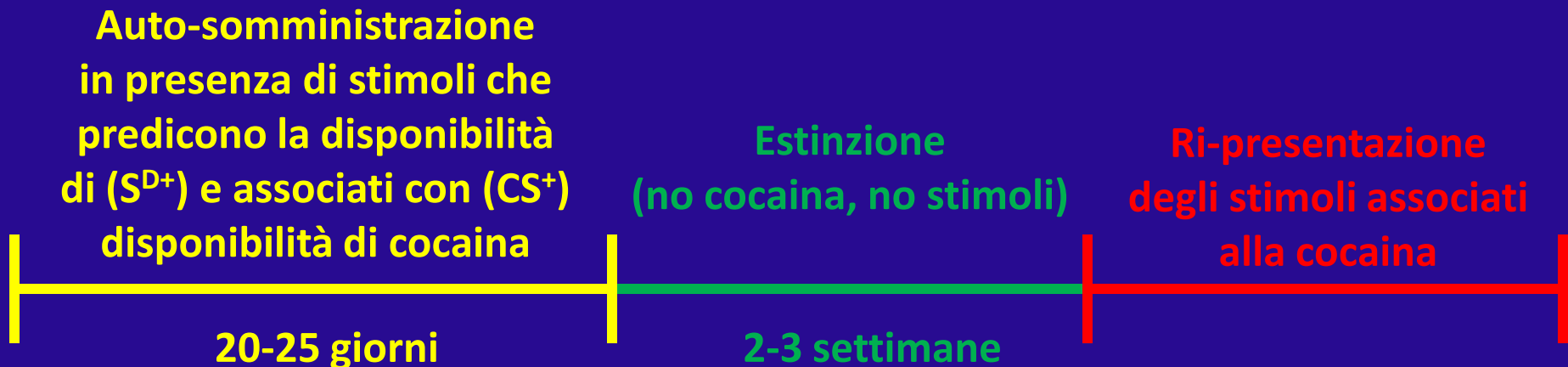
Il **craving descrive una situazione umana che difficilmente si può misurare nell'animale da laboratorio**

La **ricaduta, intesa come ricomparsa dei comportamenti di ricerca della sostanza d'abuso sono invece un evento operante che può essere direttamente misurato**

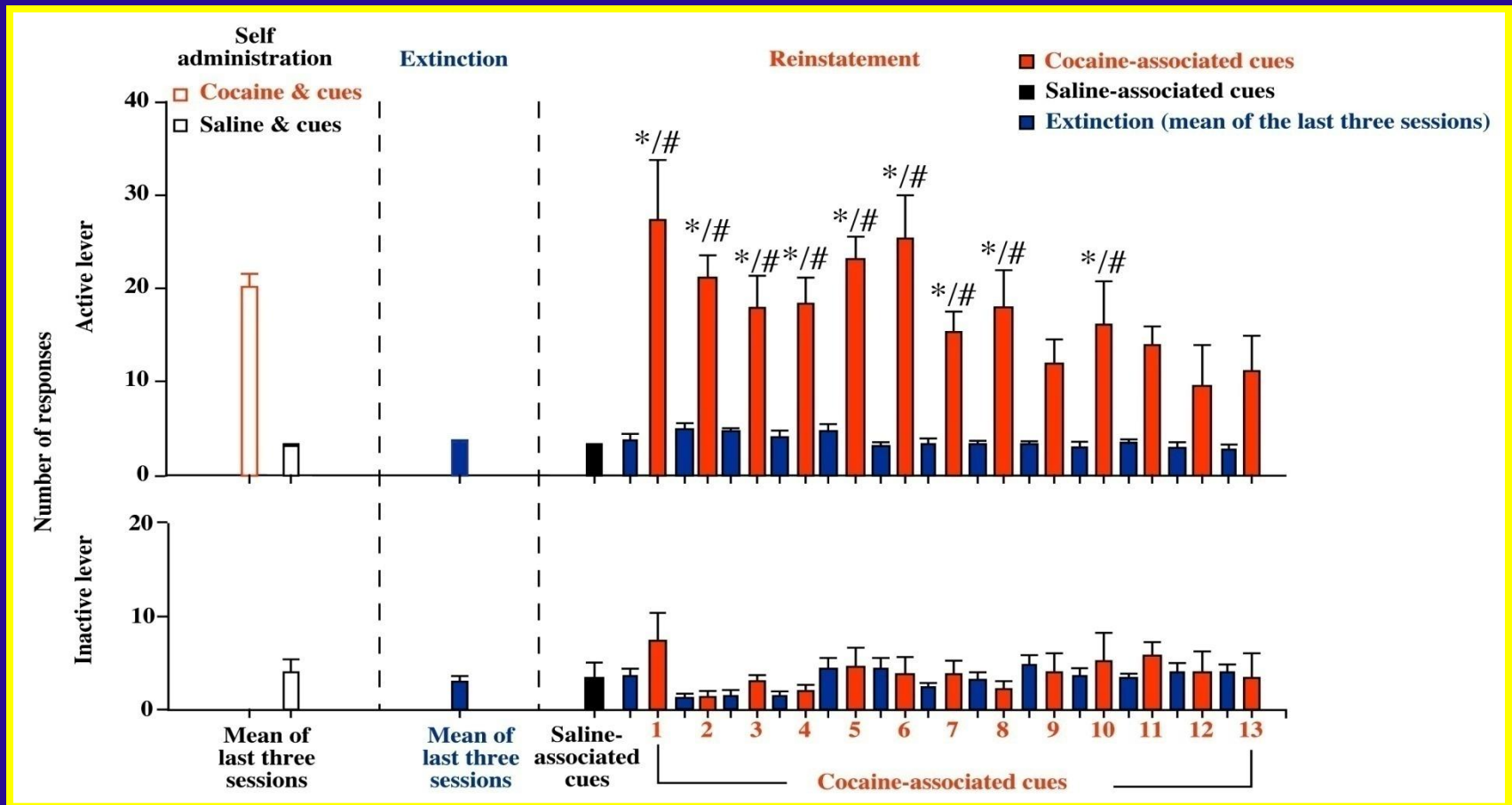
Quindi noi utilizziamo animali che ricadono in un particolare comportamento, come per esempio la pressione della leva della gabbia di Skinner, precedentemente associata all'autosomministrazione

Procedura di estinzione - ricaduta: Modello basato sull'apprendimento discriminativo

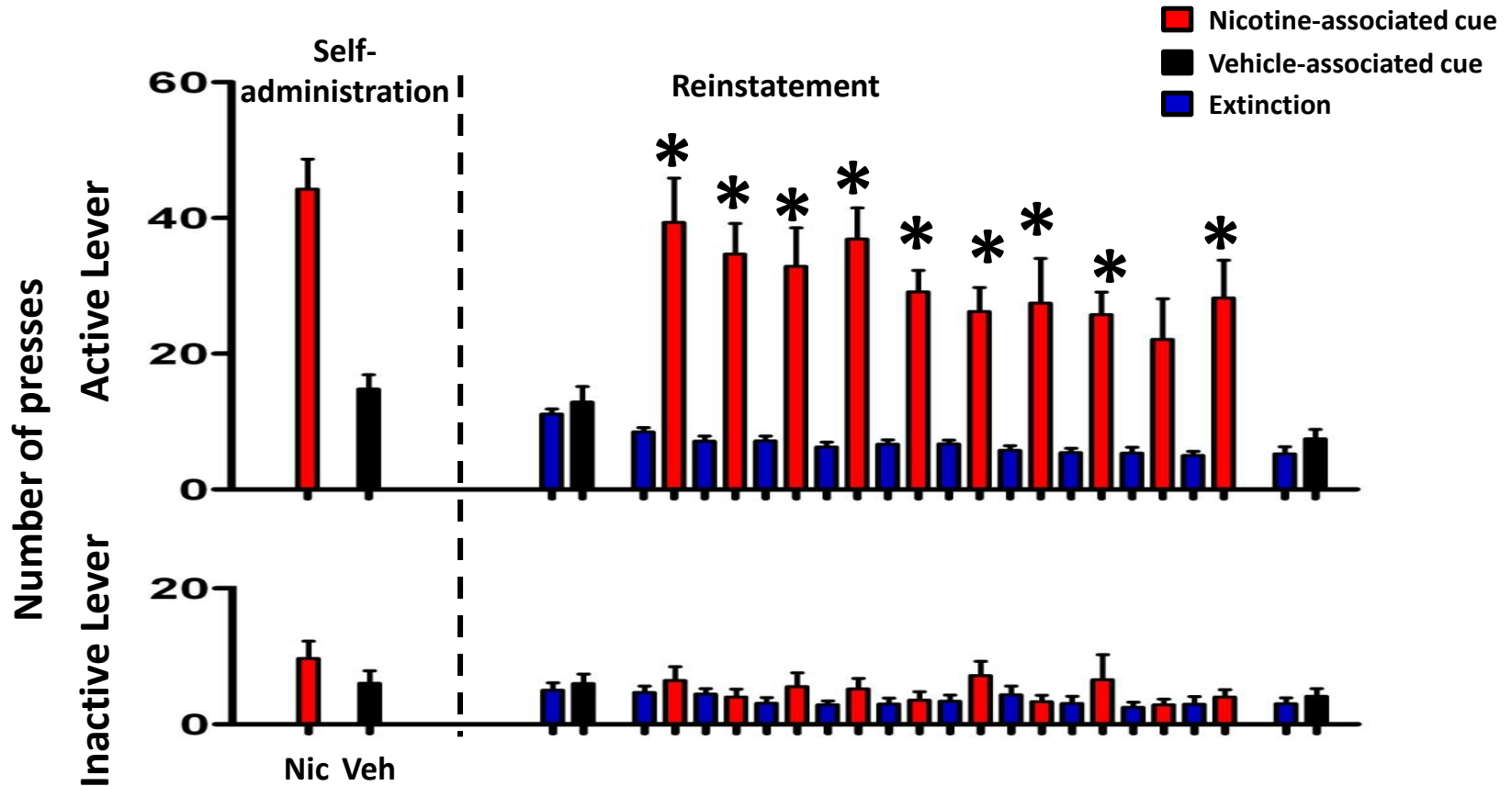
I ratti sono addestrati ad auto-somministrarsi cocaina e a stabilire una chiara discriminazione tra stimoli discriminativi (S^{D+}) che predicono la sua disponibilità (S^{D+}) rispetto alla sua assenza (S^{D-}). Inoltre, ogni infusione di cocaina è accompagnata da uno stimolo (**stimolo condizionato**)



Capacità degli stimoli associati con l'auto-somministrazione di cocaina di indurre ricaduta sperimentale in animali disintossicati

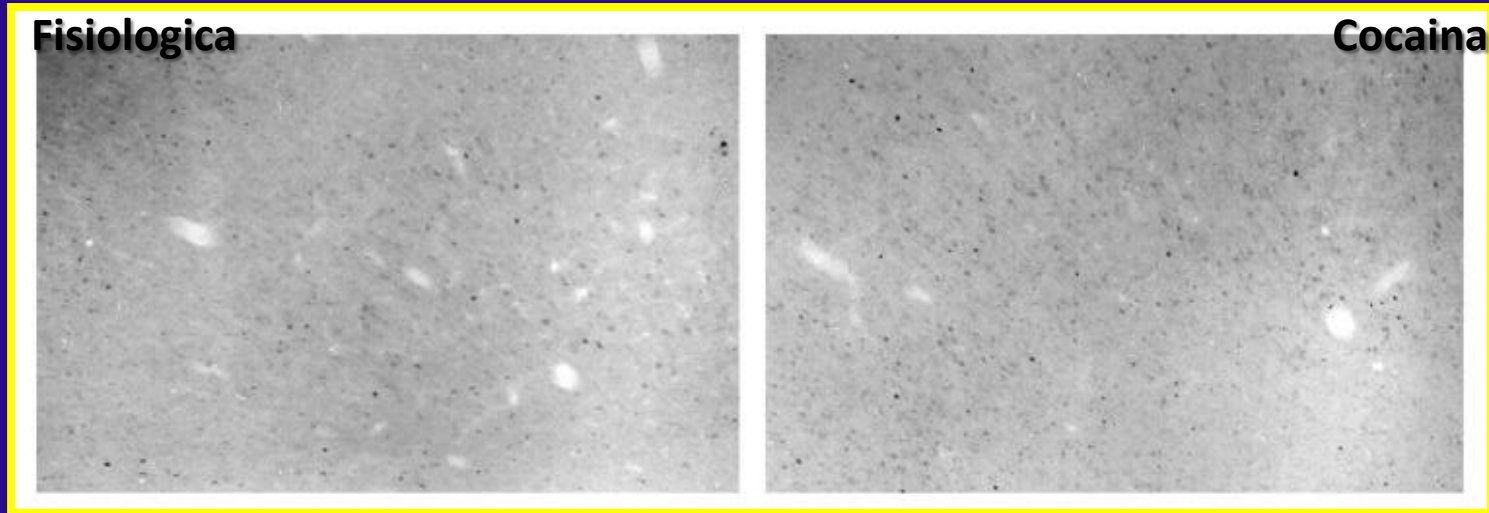


Capacità degli stimoli associati con l'auto-somministrazione di nicotina di indurre ricaduta sperimentale in animali disintossicati

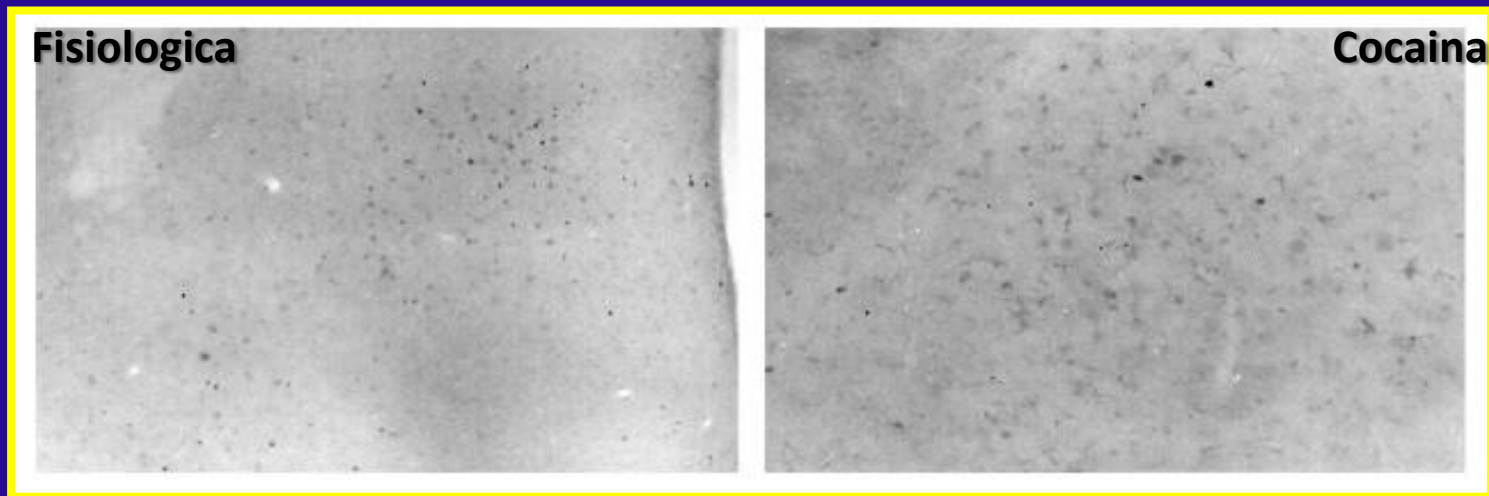


Stimoli associati alla cocaina aumentano l'immunoreattività per il *c-fos* nella corteccia prefrontale e nell'amigdala

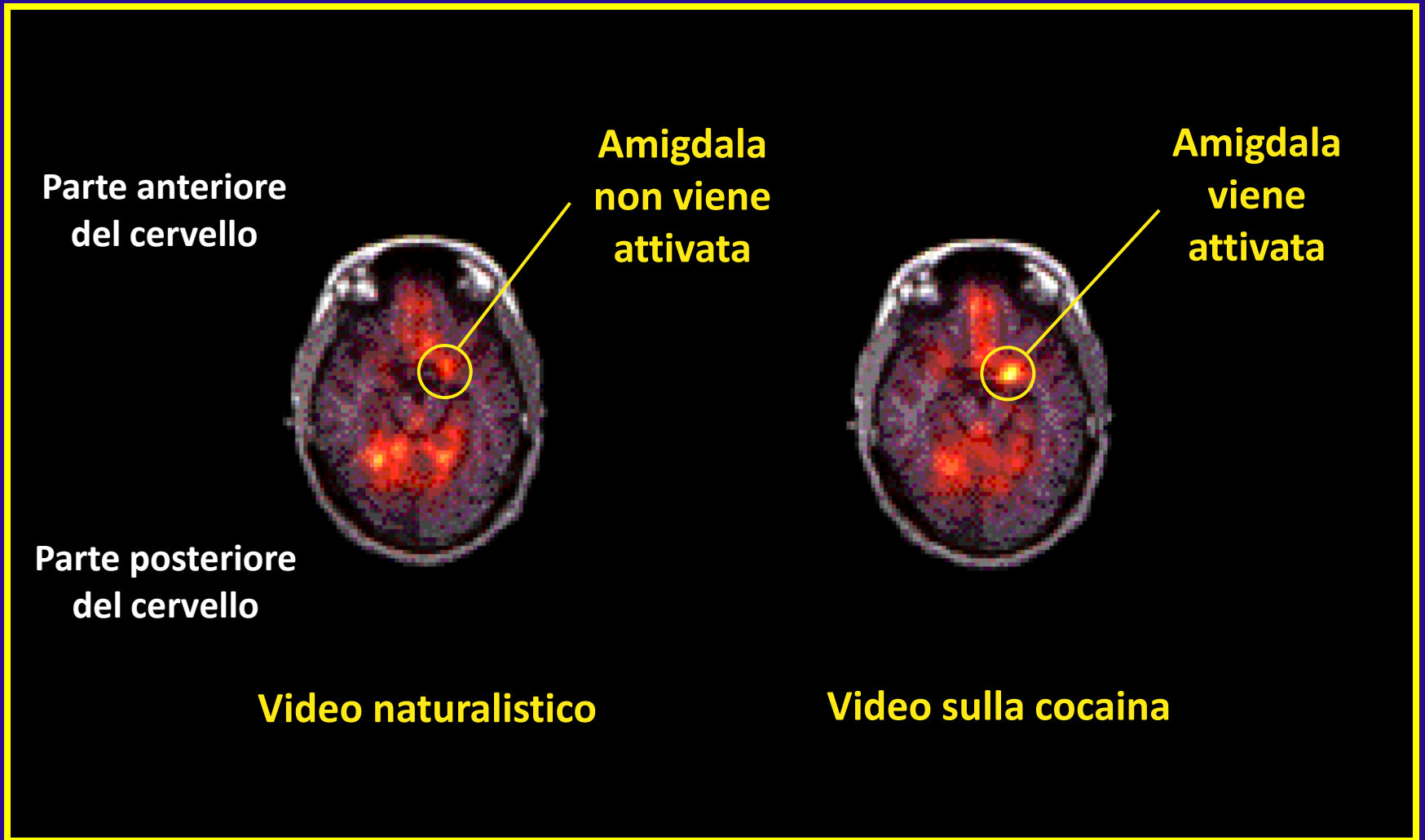
Corteccia mediale prefrontale



Amigdala basolaterale

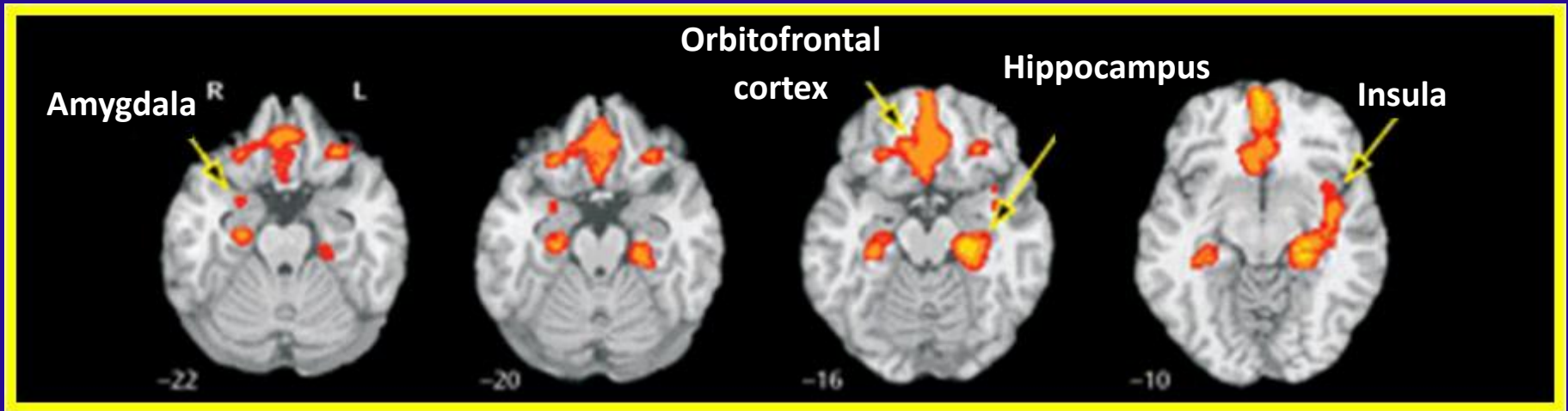


Il ricordo della sostanza



Area critica per la memoria e il rievocare emozioni

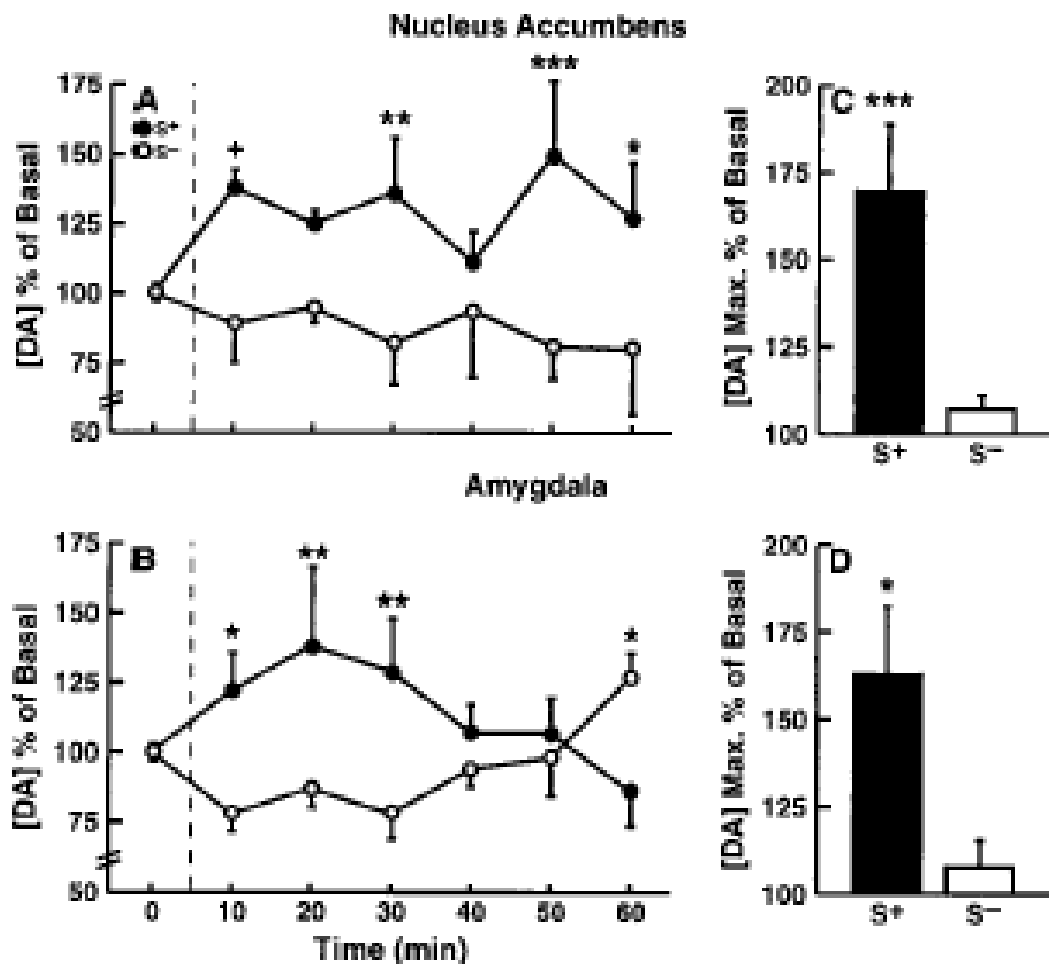
Craving da eroina



Contributo dell'animale da laboratorio alla ricerca scientifica nel campo delle sostanze d'abuso

- **Gli animali da laboratorio ci hanno permesso di individuare le aree del piacere e della gratificazione**
- **Ci hanno permesso di ipotizzare un ruolo importante del sistema meso-cortico-limbico negli effetti delle sostanze d'abuso**
- **Ci stanno permettendo di chiarire le conseguenze di un uso prolungato di sostanze d'abuso**
- **Ci stanno aiutando allo sviluppo di agenti terapeutici in grado di "curare" le dipendenze**

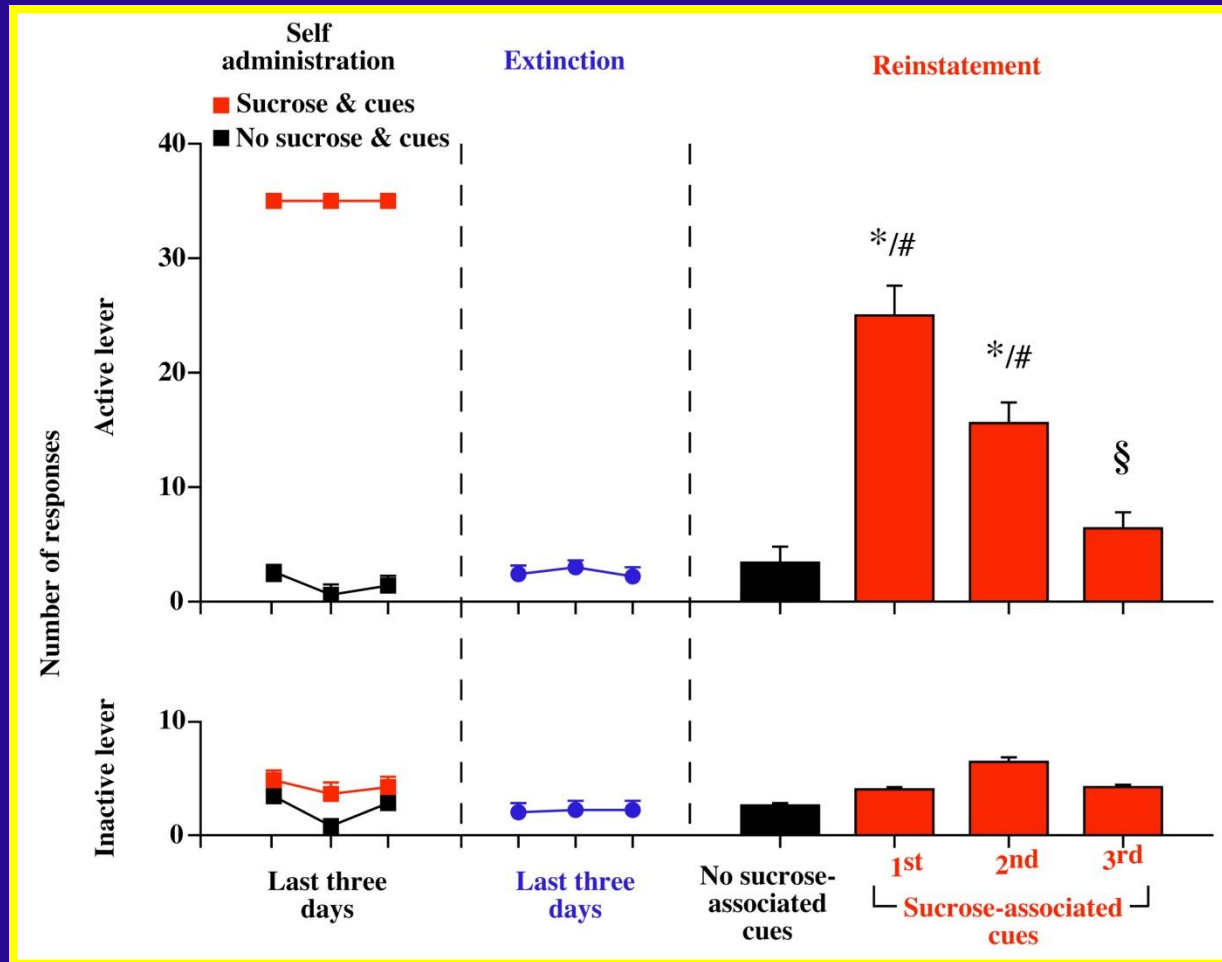
Cocaine-predictive stimuli increase extracellular dopamine levels in amygdala and nucleus accumbens



Mean dialysate DA levels in the Nucleus accumbens (A) and amygdala (B) during exposure to S⁺ and S⁻

Figure C and D maximal mean increase in DA efflux observed in each animal during session

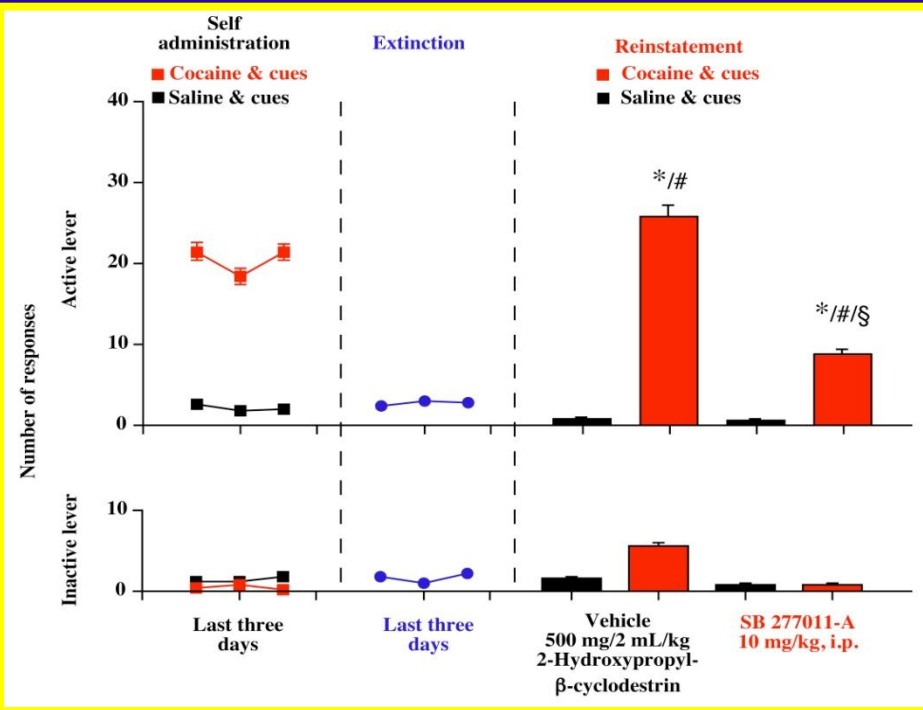
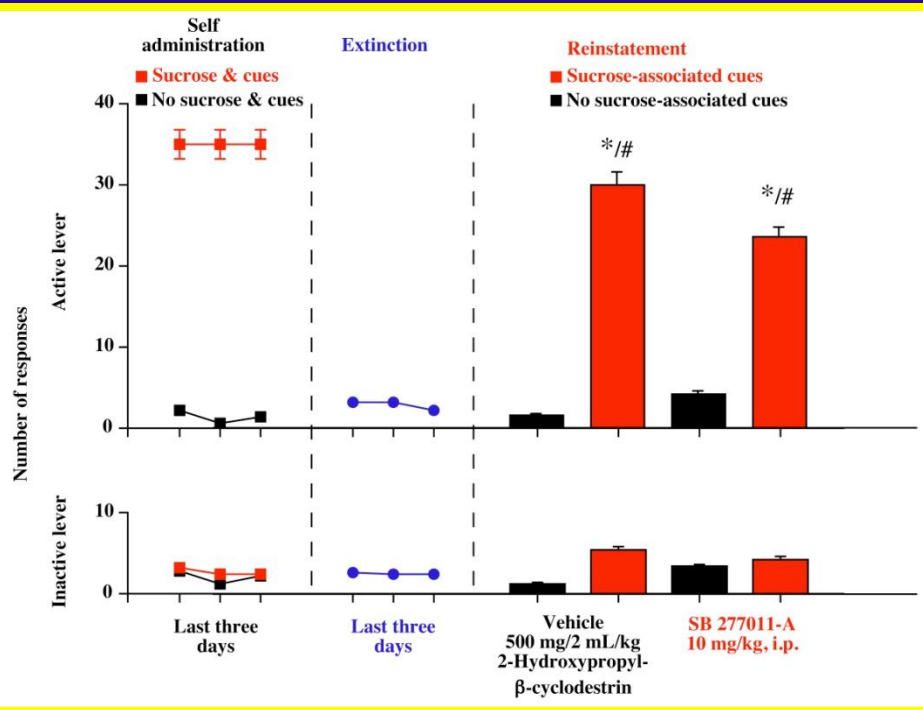
Seeking-behaviour induced by repeated reintroduction of sucrose pellets-associated cues



Comparison of SB-277011-A on seeking-behaviour induced by cocaine- and sucrose pellets-associated cues

Sucrose pellets-associated cues

Cocaine-associated cues



Effects of partial agonist and antagonist at D₃ receptor on re-introduction of cocaine-associated stimuli

BP 897, a non selective
D₃ partial agonist

SB-277011-A, a selective
D₃ antagonist

