

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Disturbi da esposizione ad alcol in gravidanza:
il problema che non c'era**

A cura di
Rosanna Mancinelli (a) e Giovanni Laviola (b)

*(a) Centro Nazionale Sostanze Chimiche
(b) Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze*

ISSN 1123-3117
Rapporti ISTISAN
08/37

Istituto Superiore di Sanità

Disturbi da esposizione ad alcol in gravidanza: il problema che non c'era.

A cura di Rosanna Mancinelli e Giovanni Laviola

2008, iv, 155 p. Rapporti ISTISAN 08/37

Cambiamenti significativi nello stile di consumo alcolico coinvolgono oggi in particolare la popolazione femminile, in cui il progressivo abbassamento dell'età di primo uso e l'aumento del consumo problematico creano nuovi motivi di allarme per la salute della donna e del bambino. Infatti, l'esposizione ad alcol in gravidanza può causare nel bambino danni molteplici e irreversibili globalmente definiti come FASD, dall'inglese *Fetal Alcohol Spectrum Disorders* (cioè l'insieme dei disturbi da fetopatia alcolica). Sulla base di queste considerazioni e dell'esperienza maturata in campo alcologico, i curatori di questo volume hanno organizzato nel 2007 presso l'Istituto Superiore di Sanità il 1° Corso "Salute della donna e del bambino: aspetti clinici e sperimentali dell'esposizione all'alcol" che ha visto una seconda edizione e ancor più ampia ed entusiasta partecipazione nel 2008. Questo Corso è il primo e, ad oggi, l'unico in Italia per l'aggiornamento sulla ricerca clinica e sperimentale dedicata allo studio degli effetti alcol-correlati nella donna e nella diade madre-bambino. Dal Corso, è emersa l'esigenza degli operatori di disporre di testi scientifici in italiano per cui è nata questa raccolta tematica multidisciplinare di contributi originali e versioni in italiano appositamente e ampiamente rielaborate da lavori in inglese, prodotti da esperti internazionali.

Parole chiave: Abuso alcolico, Donna, Sindrome fetoalcolica

Istituto Superiore di Sanità

Disorders due to prenatal alcohol exposure: the problem that did not exist.

Edited by Rosanna Mancinelli and Giovanni Laviola

2008, iv, 155 p. Rapporti ISTISAN 08/37 (in Italian)

Significant lifestyle changes in alcohol use are involving especially women with decreasing age of first use of alcohol and increasing abuse problems. So, warning is arising about female health and children health since prenatal alcohol exposure may generate not reversible, but preventable damages globally defined FASD (Fetal Alcohol Spectrum Disorders). On the basis of their scientific experience, in the 2007 the editors organized at the Istituto Superiore di Sanità the first Course "Woman and child health: clinical and experimental aspects of alcohol exposure" and a second edition there was in 2008. At now, this Course is the unique in Italy devoted to clinical and experimental research about alcohol related problems in the woman and in the dyad mother-foetus. From course arose the need of scientific papers in Italian language that stimulated us to prepare this collection of contributions from international eminent experts. Both original papers and suitably elaborated Italian version from English papers are included and proposed to the readers.

Key words: Alcohol abuse, Woman, Fetal alcohol syndrome

I curatori ringraziano Livia Terranova per la versione in italiano dei testi, e per il proficuo contributo all'elaborazione del presente lavoro.

Si ringrazia inoltre Rosanna Fidente per la collaborazione all'*editing* del volume.

Per informazioni su questo documento scrivere a: rosanna.mancinelli@iss.it; giovanni.laviola@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Mancinelli R, Laviola G (Ed.). *Disturbi da esposizione ad alcol in gravidanza: il problema che non c'era*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2008. (Rapporti ISTISAN 08/37).

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2008

INDICE

Premessa	iii
-----------------------	-----

Introduzione	1
---------------------------	---

PRIMA SEZIONE – Clinica e diagnostica

Studio sistematico dei disturbi da esposizione ad alcol in gravidanza in un'ampia coorte di bambini italiani <i>Mauro Ceccanti, Primavera Alessandra Spagnolo, Rosanna Mancinelli, Luciana Chessa, Michele Stegagno, Maria Luisa Attilia, Guido Francesco Sasso, Marina Romeo, Kenneth L. Jones, Luther K. Robinson, Miguel del Campo, J. Phillip Gossage, Philip A. May, H. Eugene Hoyme</i>	5
Abuso di alcol, alimentazione inadeguata e suscettibilità genetica: effetti separati e congiunti su sviluppo e plasticità cerebrale <i>Irene Guerrini, Allan D. Thomson, Hugh D. Gurling</i>	15
Rilevazione del consumo di alcol in gravidanza: presente e futuro dei marcatori biologici <i>Yoav Littner, Cynthia F. Bearer</i>	27
Esposizione prenatale ad alcol: approccio clinico alla diagnosi <i>Melanie A. Manning, H. Eugene Hoyme</i>	41
Diagnostica per immagini e FASD <i>Andrea D. Spadoni, Christie L. McGee, Susanna L. Fryer, Edward P. Riley</i>	48
Esposizione alcolica prenatale e nuovi approcci alla diagnosi <i>Daniela L. Caprara, Kelly Nash, Rachel Grimbaum, Joanne Rovet, Gideon Koren</i>	57
Donna, alcol e ambiente: rischi emergenti <i>Rosanna Mancinelli, Rosanna M. Fidente, Laura Berardi, Roberto Binetti</i>	67

SECONDA SEZIONE – Ricerca clinica e sperimentazione animale

Fattori metabolici e genetici che predispongono al danno da alcol e alla sindrome feto-alcolica <i>Simonetta Gemma, Susanna Vichi, Emanuela Testai</i>	81
Polimorfismi genici dei neurotrasmettitori <i>Esterina Pascale</i>	96
Esperienze ambientali ed esposizione ad alcol in fasi precoci dello sviluppo: il contributo dei modelli animali <i>Simone Macrì, Simona Spinelli, James Dee Higley, Giovanni Laviola</i>	106
Esposizione prenatale ad alcol e aumento della propensione al consumo in fasi evolutive successive: studi su animali <i>M. Gabriela Chotro, Carlos Arias, Giovanni Laviola</i>	119

TERZA SEZIONE – Strategie di intervento

Fenotipo cognitivo-comportamentale fasd: una rassegna della letteratura <i>Piyadasa W Kodituwakku</i>	133
Trattamento e riabilitazione: quali interventi? <i>Wendy O. Kalberg, David Buckley</i>	144

PREMESSA

Il consumo di bevande alcoliche è, nei Paesi occidentali, una tradizione molto antica che fa parte integrante dell'alimentazione e in generale della vita sociale. Da ciò consegue che i rischi che il bere eccessivo comporta per la salute siano rimasti a lungo largamente sottostimati e, soprattutto oggi, nuovi stili di vita, che hanno modificato radicalmente tradizioni culturali e anche modelli di assunzione, hanno portato ad un incremento notevole della diffusione dei danni da alcol in ambito personale e sociale.

Nel panorama della promozione della salute, il problema dell'uso/abuso di alcol riveste oggi un ruolo di primo piano. Lo stesso Piano Sanitario Nazionale prevede interventi per la prevenzione e il trattamento di problemi alcol-correlati e il miglioramento degli stili di vita. In particolare c'è attenzione verso i problemi della parte di popolazione più vulnerabile, costituita dalle donne e dai bambini che necessitano di interventi specifici e mirati. Significativi cambiamenti di stile nel consumo alcolico riguardano, infatti, le donne, come testimoniato dai dati epidemiologici che segnalano ovunque un abbassamento dell'età di primo uso e un incremento delle donne che si avvicinano all'alcol in modo potenzialmente problematico.

Dal punto di vista sociale, l'accettazione del bere femminile è tradizionalmente bassa in molti contesti culturali, e spesso il consumo problematico nella donna ha un impatto maggiore rispetto a quello maschile anche sulle condizioni di vita e di salute dell'intero nucleo familiare. Inoltre caratteristiche fisiche (diversa costituzione fisica, diverso assetto enzimatico, ecc.) e psicologiche (es. maggiore vulnerabilità alla depressione) della donna ne aumentano la suscettibilità agli effetti negativi dell'alcol. Da qui i motivi di allarme per la salute femminile e anche dei bambini nei quali l'eventuale esposizione alcolica durante la gravidanza può dar luogo a alterazioni fisiche e comportamentali irreversibili globalmente definite FASD dall'inglese *Fetal Alcohol Spectrum Disorders* (cioè l'insieme dei disturbi da fetopatia alcolica). Per quanto attualmente conosciuto, non è stata accertata una soglia minima di consumo alcolico in gravidanza che possa essere considerato privo di rischi per il feto, pertanto l'unica indicazione è l'astinenza.

A fronte dell'emergere di questi problemi ad ampio impatto sanitario e sociale e ad elevati costi economici, la percezione del rischio legata ad alcuni comportamenti come ad esempio l'assunzione di alcol in gravidanza, è molto bassa e ancor oggi esiste e resiste anche tra gli operatori sanitari una diffusa tolleranza, se non proprio benevolenza, verso l'uso della bevanda alcolica come fonte di benessere fisico e psichico.

Si rende quindi necessario affrontare scientificamente la problematica alcologica, tanto complessa quanto diffusa nella popolazione generale, con un approccio multidisciplinare che tenga conto non solo degli aspetti sanitari ma anche di quelli socio-comportamentali.

Sulla base di queste considerazioni e della nostra diretta esperienza in campo alcologico, intesa sia come conoscenza scientifica che come conoscenza delle esigenze emerse da numerose occasioni di incontro con gli operatori sanitari, abbiamo ritenuto utile e opportuno dare impulso alla fase formativa e offrire ai colleghi che operano sul campo uno strumento conoscitivo basato sugli ultimi aggiornamenti scientifici. Si è svolto così nel 2007 presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) a Roma, il 1° Corso "Salute della donna e del bambino: aspetti clinici e sperimentali dell'esposizione all'alcol" che ha visto una seconda edizione e anche più ampia ed entusiasta partecipazione nel corso del 2008. Questa iniziativa di formazione e aggiornamento è la prima e, ad oggi, l'unica in Italia dedicata specificamente alla clinica e alla ricerca per i problemi alcol-correlati nella donna e nella diade madre-bambino.



Locandina del Corso "Salute della donna e del bambino. Aspetti clinici e sperimentali dell'esposizione all'alcol" (realizzazione grafica di M. Delle Femmine – Settore Attività Editoriali, Istituto Superiore di Sanità)

Possiamo renderci conto di quanto ciò sia importante se pensiamo che nel mondo occidentale l'uso di alcol in gravidanza è la principale causa prevenibile di ritardo mentale nel bambino.

Nel corso delle giornate di studio sono stati forniti contenuti scientifici ampi e qualificati presentati da esperti di riconosciuta fama scientifica. Obiettivi prioritari sono stati l'acquisizione della consapevolezza dei possibili problemi da alcol, delle differenze di genere, dei problemi in gravidanza e delle conseguenze sulla salute del bambino. Informare e formare gli operatori quindi per intervenire anche sulle abitudini e sugli stili di vita e prevenire l'insorgere nel bambino non solo della vera e propria sindrome fetoalcolica (*Fetal Alcohol Syndrome*,

FAS) ma anche di tanti altri danni a livello cognitivo e comportamentale (FASD).

Parte dell'attività scientifica e di formazione in ambito clinico-sperimentale è stata realizzata grazie alla fruttuosa e consolidata collaborazione con il Centro di Riferimento Alcolologico della Regione Lazio presso il Policlinico Umberto I - Università Sapienza di Roma, diretto dal Professor Mauro Ceccanti. Per quanto riguarda gli aspetti epidemiologici, rimandiamo al sito dell'Osservatorio "Fumo, Alcol, Droga" (OssFAD) dell'ISS presso cui è presente una sezione dedicata ai problemi alcol-correlati.

In occasione delle due edizioni del Corso, l'incontro e il proficuo scambio con gli operatori del territorio hanno evidenziato la richiesta e la necessità di testi scientifici in italiano su questo argomento. Ci è sembrato quindi importante e necessario curare l'edizione della presente opera collettanea tematica in lingua italiana che contiene lavori originali e contributi appositamente rielaborati da lavori originali in inglese, prodotti dagli esperti internazionali del settore con cui collaboriamo nell'ambito delle attività finanziate dall'ISS-NIH *Collaborative Research Project* "Woman, health, alcohol. Risks and damages from alcohol in different woman ages: the role of abuse markers" (0F10 a RM) e dall'ISS-NIH *Collaborative Research Project* "Implication of autoantibodies to neuroreceptor fragments in the etiology of compulsive behavior and drug addiction" (0F14 a GL).

Auspichiamo che la disponibilità di strumenti conoscitivi aggiornati faciliti l'identificazione precoce dell'ampia gamma dei problemi alcol-correlati, contribuisca a migliorare l'intervento e il trattamento delle donne e dei bambini a rischio e soprattutto aiuti a rendere sempre più efficaci le strategie di prevenzione.

Rosanna Mancinelli
Centro Nazionale Sostanze Chimiche

Giovanni Laviola
Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze

INTRODUZIONE

Attraverso i vari lavori scientifici la raccolta presenta i notevoli progressi compiuti negli ultimi anni dalla ricerca sull'alcolismo riguardo ai problemi di genere e gli effetti fisiologici dell'esposizione ad alcol durante fasi precoci dello sviluppo. La struttura del volume è ispirata alla multidisciplinarietà e propone molti punti di vista sull'argomento: dagli esperimenti su modelli animali alle tematiche di ordine socio-culturale, agli ultimi sviluppi in fatto di diagnosi e trattamento.

Il prodotto finale è uno strumento conoscitivo aggiornato che abbraccia il problema a 360 gradi ed è fruibile da professionalità diverse dal medico all'educatore, dallo psicologo al laboratorista, dal ricercatore all'operatore sociale.

Il volume è suddiviso in tre sezioni:

1. clinica e diagnostica,
2. ricerca clinica e sperimentazione animale,
3. strategie d'intervento,

che contengono i contributi dei vari esperti in ciascun settore di competenza.

La Prima Sezione raccoglie contributi riguardanti l'approccio alla diagnosi di FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) che a tutt'oggi resta un tema ampiamente discusso nonostante il gran numero di studi prodotti. Sono presentati lavori riguardo ai più aggiornati approcci all'osservazione clinica e morfologica, all'uso di marcatori biologici tradizionali e di più recente introduzione, e all'uso della diagnostica per immagini. È inoltre illustrata la valutazione di elementi di rischio legati all'alimentazione e all'ambiente.

Nella Seconda Sezione vengono proposte le più recenti evidenze scientifiche riguardo al ruolo di fattori metabolici e di polimorfismi genetici nella vulnerabilità al danno e nella severità del danno stesso. Sono, inoltre, presentati studi sui principali modelli di sperimentazione animale utilizzati per la valutazione delle conseguenze neurobiologiche e comportamentali dell'esposizione ad alcol in gravidanza.

La Terza Sezione è dedicata all'analisi del fenotipo cognitivo-comportamentale associato all'esposizione ad alcol durante la gravidanza e alle possibili strategie di intervento. Considerato che per FASD non ci sono trattamenti farmacologici, la sezione contiene una rassegna di interventi su base psicologico-cognitiva ed educativa mirati per lo specifico fenotipo e da applicare in fase precoce.

Con questa opera collettanea ci auguriamo di riuscire nell'intento di stimolare la sensibilizzazione e l'attenzione sui rischi correlati all'esposizione alcolica prenatale.

PRIMA SEZIONE
Clinica e diagnostica

STUDIO SISTEMATICO DEI DISTURBI DA ESPOSIZIONE AD ALCOL IN GRAVIDANZA IN UN'AMPIA COORTE DI BAMBINI ITALIANI*

Mauro Ceccanti (a), Primavera Alessandra Spagnolo (a), Rosanna Mancinelli (b), Luciana Chessa (a), Michele Stegagno (a), Maria Luisa Attilia (a), Guido Francesco Sasso (a), Marina Romeo (a), Kenneth L. Jones (c), Luther K. Robinson (d), Miguel del Campo (e), J. Phillip Gossage (f), Philip A. May (f), H. Eugene Hoyme (g)

(a) Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università "Sapienza", Roma, Italia

(b) Centro Nazionale Sostanze Chimiche, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

(c) Dipartimento di Pediatria, Università della California, San Diego, USA

(d) Scuola di Medicina e Scienze Biomediche, Università dello Stato di New York, Buffalo, USA

(e) Dipartimento delle Scienze Sperimentali e della Salute, Università Pompeu Fabra, Barcellona, Spagna

(f) Centro per Alcolismo, Abuso di sostanze e Dipendenze, Università di New Mexico, Albuquerque, USA

(g) Dipartimento di Pediatria, Università di Stanford, CA, USA

Introduzione

Gli effetti avversi esercitati dall'alcol sull'essere umano in via di sviluppo sono rappresentati da un *continuum* di anomalie strutturali e disabilità comportamentali e neurocognitive che sono state appropriatamente denominate "insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol" (FASD, *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*). Fino a oggi, nell'Europa occidentale non sono mai stati condotti studi di popolazione né sulla sindrome fetoalcolica (FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*) né su alcun tipo di FASD. Il *National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* (NIAAA) ha recentemente avviato un'iniziativa internazionale di coordinamento e raccordo tra vari progetti (CIFASD, *Collaborative Initiative on Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) finalizzata alla caratterizzazione il più possibile completa dello spettro teratogeno dell'alcol. Il fatto che l'Italia sia stata selezionata tra i siti inclusi in tale iniziativa si è tradotto nell'opportunità di condurre uno studio di prevalenza nelle scuole afferenti a una zona rurale della regione Lazio. Allo scopo di rendere i risultati comparabili, è stato utilizzato un disegno identico a quello impiegato dalle ricerche epidemiologiche precedentemente condotte in altri Paesi nell'ambito della CIFASD.

Il Lazio, il cui capoluogo è Roma, è composto principalmente da piccole cittadine e paesi. In Italia, le abitudini relative al consumo di bevande alcoliche sono caratterizzate dal fatto che il *binge drinking* (ubriacatura, ingestione di grandi quantità di alcol in una sola occasione) è piuttosto raro (eccezion fatta per i giovani, e soprattutto per quelli che abitano in aree metropolitane). Nelle zone rurali, il consumo quotidiano, durante i pasti, di quantità di vino "moderate" o poco più è così diffuso che gli individui astemi sono davvero pochi. Non sono state descritte differenze al riguardo tra uomini e donne. Tale pattern di assunzione fa sì che prevenire il FASD in Italia risulti molto difficile, poiché in caso di gravidanza non programmata le donne continuano a bere quantomeno per le prime settimane di gestazione. Questo ci ha dato

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Ceccanti M, Spagnolo PA, Mancinelli R, Chessa L, Stegagno M, Attilia ML, et al. Clinical Delineation of Fetal Alcohol Spectrum Disorders (FASD) in Italian children: comparison and contrast with other racial/ethnic groups and implications for treatment and prevention. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):270-7.

la possibilità di valutare gli effetti dell'assunzione quotidiana di quantità "moderate" di alcol sulla prevalenza del FASD.

L'entità del consumo di alcol in gravidanza in Italia è stata confermata da una ricerca trasversale condotta dal nostro gruppo a Roma nel 2003. Le abitudini relative all'uso di bevande alcoliche sono state studiate in 122 donne gravide mediante un'intervista semi-strutturata. Il 62,1% di esse aveva assunto alcol prima e il 52,6% ne assumeva ancora durante la gravidanza: dunque, soltanto il 10% aveva smesso di bere una volta incinta. Mentre il 68,4% del campione aveva smesso di fumare o ridotto il numero di sigarette, soltanto il 21,5% aveva smesso di bere o ridotto il numero di unità alcoliche. L'11,7% delle donne studiate assumeva più di sette unità alcoliche a settimana. Inoltre, due donne avevano iniziato a consumare bevande alcoliche proprio durante la gravidanza, probabilmente a causa della credenza popolare, diffusa in Italia, secondo la quale un'assunzione moderata di alcol eserciterebbe effetti per nulla avversi, e anzi persino salutari e benefici, sia in generale sia, in particolare, sulle donne incinte. Per esempio, diversi anni fa, il consumo di birra veniva comunemente considerato un valido metodo per stimolare la lattazione, e quest'idea è ancora diffusa soprattutto nelle fasce di popolazione meno istruite.

Lo scopo del presente articolo è quello di: 1) fornire i dati storici e morfometrici relativi ai soggetti inclusi nello studio, delineando così con maggiore completezza lo spettro clinico del FASD osservabile nei bambini italiani; 2) analizzare le abitudini relative al consumo di bevande alcoliche delle donne italiane – prima, durante e dopo la gravidanza; e 3) fornire alcune indicazioni, basate sui dati presentati, in merito alle modalità di intervento e di prevenzione del FASD.

Difficoltà di definizione e di diagnosi del *continuum* FASD

Storicamente, per descrivere il *continuum* di effetti avversi esercitati dall'esposizione prenatale ad alcol sono stati utilizzati molti termini diversi, tra cui "effetti dell'alcol sul feto" (FAE, *Fetal Alcohol Effects*), "difetti alla nascita alcol-correlati" (ARBD, *Alcohol-Related Birth Defects*), "disordini dello sviluppo neuronale alcol-correlati" (ARND, *Alcohol-Related Neurodevelopmental Disorders*) e, più recentemente, "insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol" (FASD). Nell'aprile del 2004, la *National Organization on Fetal Alcohol Syndrome* (NOFAS) ha organizzato un incontro tra i rappresentanti di tre agenzie federali americane – *National Institutes of Health* (NIH), *Centers for Disease Control and prevention* (CDC) e *Substance Abuse and Mental Health Services Administration* (SAMHSA) – e i ricercatori esperti del campo, al fine di raggiungere un consenso unanime sulla definizione di FASD. La definizione che ne è risultata, che è anche quella utilizzata nel presente lavoro, riunisce in tale categoria diagnostica l'intera gamma degli effetti che possono manifestarsi in una persona la cui madre abbia assunto alcol in gravidanza, incluse le disabilità fisiche e mentali e i disturbi comportamentali e dell'apprendimento, e sottolinea che le conseguenze di tali effetti possono permanere per l'intera durata della vita dell'individuo. Questa definizione implica dunque che il termine FASD comprenda in sé diverse sotto-categorie diagnostiche, come per esempio FAS, ARND e ARBD.

Diversi ricercatori hanno tentato di definire i criteri mediante i quali diagnosticare, all'interno del FASD, sotto-categorie cliniche più specifiche. La classificazione proposta dallo IOM (*Institute of Medicine*) nel 1996 abbracciava l'intera gamma dei disturbi riconducibili al FASD; tuttavia, essa non era corredata dalla definizione degli algoritmi clinici specifici necessari per la diagnosi. Più recentemente, i criteri IOM sono stati resi più chiari e dettagliati, affinché potessero costituire una guida diagnostica facilmente applicabile nella pratica clinica e dunque permettere alla ricerca clinica e di popolazione di avvalersi di una maggiore precisione.

Questi criteri revisionati vengono attualmente utilizzati da un esteso studio multicentrico sul FASD che comprende anche la nostra ricerca.

Letteratura relativa a FASD e consumo di alcol in gravidanza in Italia: descrizione preliminare dei fenotipi

Fino al 1978, casi clinici di bambini con FAS nati da madri italiane sono stati pubblicati soltanto sporadicamente. I segni e i sintomi descritti includevano deficit della crescita postnatale, microcefalia, ipoplasia del corpo calloso, iperattività e quoziente intellettivo basso; queste caratteristiche non erano significativamente differenti da quelle osservate nei bambini diagnosticati in altri Paesi. Quando May *et al.* hanno passato attentamente in rassegna la letteratura medica italiana, hanno trovato solamente 24 casi di FAS (1-5). Le poche ricerche italiane hanno ottenuto, in merito all'effetto dell'esposizione prenatale ad alcol, risultati contrastanti tra loro. In alcuni studi sono stati descritti effetti avversi quali aborto spontaneo, basso peso alla nascita, ittero e nascita pretermine, mentre in altri non sono state osservate conseguenze. Quest'ultimo dato appare particolarmente sorprendente in considerazione del fatto che nello studio di Primatesta *et al.* del 1993 (6) il 9% delle donne del campione dichiarava di assumere più di 11,5 unità alcoliche a settimana.

Considerata la notevole diffusione del consumo di alcol in gravidanza in Italia, è necessario intraprendere una decisa azione preventiva a livello nazionale. Mentre negli Stati Uniti gli NIH hanno informato le donne che durante la gravidanza è bene evitare di assumere (qualsiasi quantitativo di) alcol, in Italia non c'è stata alcuna comunicazione ufficiale relativa alla FAS e alla sua prevenzione da parte delle istituzioni sanitarie preposte, e il rischio di danni fetali associati all'esposizione prenatale è stato notevolmente sottostimato. Lo studio che abbiamo intrapreso nelle scuole del Lazio rappresenta il primo passo verso un programma di prevenzione, poiché esso renderà per la prima volta disponibili dati statistici di prevalenza in Italia.

Composizione del campione e i metodi di screening

Il disegno del nostro studio di prevalenza nelle scuole del Lazio è descritto nel lavoro di May *et al.* (7), cui si rimanda per maggiori dettagli. Sono stati inclusi nel campione tutti i bambini che frequentavano le prime classi di un gruppo di scuole elementari scelte a caso tra quelle del Lazio in una zona rurale vicino Roma, e per i quali è stato ottenuto il consenso alla partecipazione dai genitori o dai tutori. I moduli per il consenso sono stati firmati e restituiti in poco più della metà (51%) dei casi, per cui è stata inclusa nel campione esattamente la metà dei candidati. I soggetti che presentavano difetti di crescita (altezza, peso o circonferenza cranica $\leq 10\%$) o problemi connessi all'apprendimento (disturbi di apprendimento e/o deficit dell'attenzione e iperattività) sono stati portati alla fase successiva, quella della valutazione dei dismorfismi. L'altezza, il peso e la circonferenza cranica (OFC, *Occipito-Frontal Circumference*) sono stati misurati dal medico scolastico dell'istituto di appartenenza. Le prestazioni scolastiche e il comportamento sono stati valutati dagli insegnanti con l'ausilio della versione italiana della *Teacher Disruptive Behavior Disorder Rating Scale*. Anche ai genitori è stato domandato sistematicamente se avessero notato qualsiasi segno di deficit dell'attenzione e/o iperattività. I soggetti di controllo sono stati selezionati mediante una tavola dei numeri casuali tra tutti i bambini che frequentavano le stesse classi e per i quali era stato ottenuto il consenso scritto. Essi sono stati sottoposti alle varie valutazioni contemporaneamente ai casi indice. Il consumo materno di alcol in gravidanza è stato indagato per mezzo di un'intervista

standard; l'intervistatore raccoglieva anche la storia familiare, medica ed evolutiva di ciascun soggetto.

Valutazione dei dismorfismi

I bambini (181 casi indice e 75 controlli) sono stati sottoposti a una valutazione standardizzata dei dismorfismi. I dati ottenuti sono stati utilizzati per determinarne la potenziale assegnazione a una delle categorie diagnostiche FASD secondo gli algoritmi proposti dai criteri IOM recentemente revisionati e pubblicati da alcuni membri del presente gruppo di ricerca (8).

Ciascun bambino è stato esaminato da due gruppi di dismorfologi, i quali non erano a conoscenza né del bambino e/o della sua famiglia né della loro storia. Le rime palpebrali sono state misurate mediante un righello rigido con precisione millimetrica: l'esaminatore, seduto direttamente davanti al soggetto, prendeva nota della distanza tra canto mediale e canto laterale. Per la valutazione della morfologia del labbro superiore e del filtro è stata utilizzata la Guida del filtrum labiale sviluppata da Astley e Clarren. Infine è stato eseguito un esame delle eventuali anomalie fisiche maggiori o minori. A ciascun bambino sono stati quindi assegnati un punteggio di dismorfismo e una delle seguenti categorie diagnostiche: FASD (secondo i criteri IOM revisionati che abbiamo menzionato più sopra), altra diagnosi (non associata all'alcol), o non-FASD.

Risultati

Il campione era ben bilanciato in termini di sesso ed età: il 51% dei soggetti apparteneva al genere maschile e l'età media era di 80 mesi (6,7 anni). I dati di prevalenza non vengono presentati in dettaglio poiché sono stati esposti ampiamente nel lavoro di May *et al.* (7), ma segnaliamo che, sulla base di tutti i parametri valutativi e usando denominatori diversi, nella popolazione esaminata la prevalenza media stimata di FAS è circa 0,5% (0,37-0,74%) e quella totale di FASD 3,5% (2,2-4,1%).

Per quanto riguarda la crescita, sono state registrate differenze significative tra soggetti con FASD e soggetti di controllo: nel primo gruppo risultavano, infatti, inferiori sia l'altezza e il peso sia la circonferenza cranica (OFC). Ricordiamo che ciascuna di queste tre variabili si è dimostrata cruciale per la diagnosi di FASD (Tabella 1).

Tabella 1. Parametri relativi alla crescita

Variabile	FASD (n. 22)	Controlli (n. 68)	<u>P</u>
OFC (cm)	50,8	51,9	<,001
Peso (kg)	22,0	25,5	<,001
Altezza (cm)	116,2	121,0	<,001

Dei 181 bambini dello studio, 22 (12%) hanno ricevuto una diagnosi di FASD. Di questi, quattro (18%) sono stati classificati come FAS, 17 (77%) come PFAS e uno (5%) come ARND. Il 50% dei bambini cui è stata diagnosticata una FAS e il 36% di quelli classificati come PFAS mostravano tutte e tre le caratteristiche facciali tipiche (rime palpebrali brevi, bordo vermiglio del labbro superiore sottile e filtro nasale ipoplasico).

Il gruppo FASD è risultato differente da quello di controllo anche per la maggiore frequenza con cui ha fatto registrare una serie di anomalie minori quali: ipoplasia della porzione mediale del volto, rime palpebrali brevi, filtro nasale lungo, ptosi, pliche epicantali, narici rivolte in alto, filtro nasale appiattito e bordo vermiglio del labbro superiore sottile. Altre anomalie fisiche che hanno differenziato sostanzialmente i due gruppi sono state le orecchie a binario, la camptodattilia e l'alterazione delle pieghe palmari. Anche il punteggio di dismorfismo globale era significativamente differente ($p < .001$), laddove al 12,5 del gruppo FASD si contrapponeva il 3,3 del gruppo di controllo. (Il punteggio di dismorfismo costituisce un metodo di quantificazione dei deficit di crescita e delle caratteristiche dismorfiche; esso non va utilizzato per l'assegnazione a sotto-categorie diagnostiche all'interno del FASD).

Le caratteristiche dismorfiche osservate nel FASD sono risultate simili a quelle descritte da diversi studi condotti in altri Paesi europei e in Sudafrica: questo è valido tanto per i tratti ipoplasici della porzione mediale del volto, e in particolare per il filtro breve e per il bordo vermiglio del labbro superiore sottile, quanto per i deficit e/o le alterazioni del movimento delle mani (es. anomalie delle pieghe palmari e camptodattilia).

Discussione

Nel presente lavoro abbiamo descritto le caratteristiche di una della più ampie coorti di bambini con FASD completamente caratterizzati clinicamente che siano state studiate in Europa, benché mano a mano che la ricerca procede si stia facendo sempre più evidente che non tutti i casi di FASD presenti nella regione e nella popolazione studiate sono stati individuati. Una delle ragioni di ciò è costituita dal limitato coinvolgimento delle famiglie: soltanto il 50% dei genitori ha permesso che i figli partecipassero. Non è chiaro il motivo di questa scarsa adesione, ma va tenuto presente che in Italia le cure pediatriche sono a carico del Servizio Sanitario Nazionale e che è dunque possibile che le persone non abbiano trovato una motivazione per sottoporre i propri figli a un'ulteriore (e probabilmente non necessaria) visita medica.

Fenotipo FASD

I bambini italiani con FASD presentano caratteristiche analoghe a quelli che ricevono la stessa diagnosi nel resto del mondo. Il blocco della crescita e dello sviluppo e i disturbi del funzionamento intellettivo e del comportamento sono simili a quelli descritti negli studi che sono stati condotti negli Stati Uniti, in altri Paesi europei e in Sudafrica: l'altezza, il peso e la circonferenza cranica risultano ridotti, e si riscontra comunemente un'ipoplasia della porzione mediale del volto, consistente in particolare in un filtro nasale appiattito e nel bordo vermiglio del labbro superiore sottile. Il punteggio "pesato" di dismorfismo costituisce un utile strumento aggiuntivo per la valutazione clinica del FASD, nonché per la comparazione dei risultati ottenuti in una determinata popolazione con quelli descritti per altri gruppi razziali/etnici. Se i dati riportati indicano che il fenotipo FASD è simile in tutte le popolazioni osservate, la severità delle deformità fisiche e del blocco dello sviluppo è influenzata da svariati fattori, tra cui le abitudini relative al consumo di alcol, l'alimentazione (e l'indice di massa corporea della madre), le condizioni socio-economiche e la fertilità.

Implicazioni per la prevenzione del FASD

Benché gli effetti avversi esercitati dall'esposizione prenatale ad alcol sullo sviluppo psico-fisico del bambino possano essere, per numero e per gravità, da molto lievi a molto severi, essi perdurano in ogni caso per l'intera durata della vita dell'individuo, e a oggi non è disponibile alcun trattamento efficace. È dunque fondamentale intraprendere un programma di prevenzione della FAS. In Italia, il rischio di FAS è incrementato dall'ampia diffusione del consumo di bevande alcoliche nell'intera popolazione (compreso un elevato numero di donne in età riproduttiva, che continuano ad assumere moderate quantità di alcol ai pasti anche quando sono in stato di gravidanza). Inoltre, la popolazione non è sufficientemente consapevole del rischio di FASD, che viene anzi solitamente sottostimato.

Questo primo studio di una coorte numerosa di bambini italiani rappresenta un passo fondamentale verso la messa a punto di un programma di prevenzione della FAS. Inoltre, esso ha comportato un incremento della consapevolezza del problema negli insegnanti, negli operatori sanitari (medici, psicologi, ecc.) e nelle famiglie che vi hanno partecipato, e ci si può attendere che le informazioni acquisite in merito al FASD, alla sua diagnosi e alla sua prevenzione vengano diffuse localmente nella restante popolazione.

I dati provenienti dalle interviste rivolte alle madri possono rivelarsi molto utili per comprendere meglio le abitudini relative al consumo di alcol delle donne italiane – prima, durante e dopo la gravidanza. Pressoché tutte dichiaravano di assumere alcol nel periodo in cui veniva condotto lo studio. (È anzi sorprendente come riferissero di fare uso di alcol il 100% delle madri dei bambini di controllo contro il 90% di quelle dei bambini con FASD – un dato che ha portato gli intervistatori a mettere in dubbio la veridicità delle risposte ottenute. Un'ipotesi alternativa è che alcune delle madri con figli FASD fossero alcoliste che dopo la gravidanza avevano smesso di bere). Due terzi delle donne ammettevano di aver assunto bevande alcoliche in gravidanza, e in ciò non è stata rilevata alcuna differenza tra gruppo FASD e gruppo di controllo. Ciò ha fatto sì che gli intervistatori mettessero ancora più in dubbio la veridicità delle risposte.

Questa ricerca ha comportato un notevole incremento della capacità diagnostica locale per quanto concerne il FASD, poiché i medici e gli altri operatori sanitari hanno ricevuto un approfondito addestramento metodologico “sul campo” dagli esperti americani. La formazione professionale rappresenta un fattore fondamentale non soltanto per la diagnosi e per il trattamento dei bambini, ma anche per la prevenzione, poiché i professionisti che ne hanno beneficiato saranno a loro volta in grado di sensibilizzare all'esistenza stessa del problema colleghi e collaboratori. Inoltre, ci si può attendere che i genitori del gruppo FASD tengano conto delle informazioni acquisite in caso di gravidanze successive e dunque che, nella comunità locale di riferimento, il numero dei bambini con FASD diminuisca col tempo (per i figli successivi delle donne che hanno già avuto un bambino con FASD, il rischio di sviluppare la stessa patologia è marcatamente maggiore).

Assai rilevante è anche l'opportunità di intervenire in aiuto dei bambini con FASD. Sarebbe bene che, se possibile, i bambini con bisogni speciali frequentassero le classi regolari. In Italia, il docente curricolare può essere affiancato da un insegnante di sostegno che si occupi delle necessità individuali del bambino con FASD. Nel presente caso, il Servizio di Medicina Scolastica ha recepito i consigli forniti in tal senso dell'equipe diagnostica in merito a due dei bambini studiati. L'identificazione e la diagnosi formale dei casi di FAS e FASD è il primo gradino dal quale si deve obbligatoriamente partire per poter organizzare e strutturare con attenzione un ambiente che possa massimizzare il potenziale del bambino.

Un interessante effetto collaterale di questa ricerca è stato quello dell'aumento, negli insegnanti e nei genitori, della consapevolezza dei problemi di apprendimento e

comportamentali dei loro alunni/figli. Durante il primo anno, l'11,4% dei bambini ha ricevuto una diagnosi di deficit dell'attenzione, il 13,4% di iperattività e il 13,4% di disturbi specifici dell'apprendimento. Non sempre tali diagnosi sono state poi confermate, ma nella gran parte dei casi le informazioni fornite hanno prodotto un mutamento dell'ambiente scolastico interessato e un miglioramento dell'atteggiamento dei genitori e della loro capacità di occuparsi dei problemi del figlio. Gli insegnanti hanno inoltre mostrato di aver compreso che ricevere un maggiore supporto da parte della famiglia e della scuola nella valutazione del comportamento degli alunni permetterebbe loro di migliorare il proprio atteggiamento nei confronti dei bambini problematici.

Tutti i dati raccolti dalla presente ricerca sono disponibili presso i servizi sanitari territoriali che vi hanno partecipato (eccezion fatta per quelli soggetti a privacy), e possono essere utilizzati per pianificare e realizzare ulteriori progetti nel campo. Gli enti e i servizi italiani che hanno partecipato hanno acquisito esperienza e conoscenza di un problema che era rimasto fino ad allora poco definito, e quanto acquisito verrà condiviso con l'intera rete istituzionale. La maggiore consapevolezza e conoscenza degli effetti dell'esposizione prenatale ad alcol giungerà dunque molto più lontano di quanto prospettato dai soli risultati presentati in questa sede.

Indicazioni per il futuro

La consapevolezza dei problemi associati all'esposizione prenatale ad alcol può essere incrementata soltanto per mezzo di un'attenta valutazione del rischio (attualmente ignoto) di FAS e FASD nel nostro Paese, e di una campagna educativa pubblica, condotta a livello nazionale e adeguatamente supportata dai media, finalizzata alla promozione della salute delle donne incinte e dei loro bambini. Alle donne in età riproduttiva che non sono in stato di gravidanza ma che non assumono terapie contraccettive andrebbe consigliato di non assumere più di sette unità alcoliche la settimana o più di tre unità alcoliche per singola occasione. Tutte le donne dovrebbero essere messe a conoscenza del fatto che la soglia entro la quale il consumo di alcol in gravidanza può essere considerato sicuro non è stata ancora determinata e che la cosa migliore da fare è dunque astenersi dal bere. Si tratta di un'impresa difficile da compiere in Italia, Paese tra i maggiori produttori di vino, dove qualsiasi campagna finalizzata a ridurre l'assunzione (a prescindere dalle quantità e dalle specifiche sotto-popolazioni interessate) viene fortemente ostacolata dalle lobby dei viticoltori e dei produttori.

In Italia, i medici e gli psicologi dovrebbero essere sensibilizzati in merito alla necessità di raccogliere accuratamente le informazioni relative al consumo di alcol da parte di ciascuna donna in età riproduttiva, secondo le specifiche linee guida. È in ogni caso imprescindibile cercare di ottenere un'accurata storia dell'uso di alcol da ogni donna in gravidanza. Per lo screening delle gravidanze a rischio possono rivelarsi utili alcuni test, come il T-ACE – *Tolerance* (tolleranza), *Annoyed* (senso di fastidio), *Cut* (consapevolezza di dover smettere), ed *Eye-opener* (apertura degli occhi, riferito al desiderio di bere al mattino) –, e la misurazione dei comuni marker dell'alcolismo – γ -GT, MCV (*Mean Corpuscular Volume*), AST/ALT (ASpartato/Alanina amino Transferasi) e CDT (*Carbohydrate-Deficient Transferrin*).

Fondamentale, per la prevenzione di FAS e FASD, è evitare che le forti bevitrici vadano incontro a gravidanze non pianificate, poiché quando questo accade molte di esse, non sapendo di essere incinte, continuano ad assumere grandi quantità di alcol anche per lunghi periodi di tempo. L'esposizione ad alcol può causare danni cerebrali in qualunque trimestre, compresa la fase che precede il risultato positivo al test di gravidanza. Purtroppo i rapporti sessuali a rischio sono piuttosto comuni negli alcolisti e le gravidanze non pianificate sono dunque frequenti. Il counselling prenatale è considerato fondamentale per la prevenzione del FASD, in quanto alle donne incinte va consigliato senz'altro con decisione di non assumere bevande alcoliche.

Purtroppo, se la gravidanza non era stata pianificata e la donna viene informata soltanto *dopo* esserne venuta a conoscenza, è possibile che essa abbia già assunto un quantitativo di alcol capace di esercitare effetti teratogeni sul feto. Il metodo preventivo più promettente, che il Sistema Sanitario Nazionale dovrebbe attuare, è, in effetti, rappresentato dal counselling pre-concezionale delle donne in età riproduttiva che non utilizzano metodi contraccettivi sicuri e che sono a rischio di esposizione fetale ad alcol. Alcuni studi condotti su modelli animali indicano che la somministrazione, alle donne incinte che non riescono o non vogliono smettere di bere, di antiossidanti, *scavenger* dei radicali liberi e nuovi peptidi potrebbe ridurre il danno fetale; nell'uomo, tuttavia, simili ricerche non sono ancora state fatte.

Una diagnosi di FASD precoce permette l'erogazione in tempi brevi del trattamento medico specifico e di un adeguato intervento di tipo neuroevolutivo, ed è dunque in grado di ridurre quantomeno l'impatto delle disabilità che permangono per l'intera vita dell'individuo. Tale diagnosi è particolarmente difficile alla nascita e nella prima infanzia, ma un accurato esame effettuato da un pediatra con formazione specifica, da un genetista clinico o da un dismorfologo può rivelarsi risolutivo. Un valido contributo può essere offerto anche dallo screening di alcuni marker biologici nel neonato: a oggi, il test degli esteri etilici degli acidi grassi (FAEE, *Fatty Acid Ethyl Esters*) nel meconio sembra il più utile, e dovrebbe essere reso maggiormente disponibile. In prospettiva, una volta posta la diagnosi di FASD, è necessario strutturare per il bambino un ambiente sicuro e confortevole e mettere a punto un piano educativo individualizzato.

Purtroppo, nelle facoltà di medicina italiane si insegna poco del FASD (così come dell'alcolismo), e molto dipende dalle conoscenze o dalla sensibilità individuale del singolo professore. Le linee guida per la diagnosi della FAS e delle altre conseguenze alla nascita dell'esposizione prenatale ad alcol andrebbero invece sviluppate e inserite nei programmi di studio di tutti i corsi di laurea in medicina, infermieristica e psicologia. Inoltre, è necessario che in merito al FASD venga istituita un'educazione continua dei medici di medicina generale.

Concludendo, la prevenzione del FASD e la promozione della salute materno-fetale dovrebbe diventare una delle priorità degli enti preposti alla salute pubblica in Italia, poiché a oggi non esiste alcun trattamento capace di contrastare gli effetti dell'esposizione prenatale ad alcol. La formazione di professionisti esperti nei vari aspetti della prevenzione, della diagnosi e dell'intervento appare inoltre cruciale per cominciare a combattere sistematicamente questo problema sociale – lungamente ignorato – non solo in Italia ma in tutto il mondo, ovvero ovunque le donne assumano alcol in gravidanza.

Ringraziamenti

Questo progetto è stato finanziato in parte dal *National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* (NIAAA) (pilot project subcontract # 53257A-P1660-780211CSM dalla San Diego State University) nell'ambito dell'iniziativa CIFASD – AA014811 e AA014828, e in parte dall'Assessorato alla Sanità della Regione Lazio. Desideriamo inoltre ringraziare la Onlus SITAC per il supporto e l'assistenza.

Bibliografia

1. Scianaro L, Prusek W, Loiodice G. The fetal alcohol syndrome: Clinical observations. *Minerva Pediatr* 1978;30:1585-8.
2. Moretti M, Montali S. Fetal defects caused by the passive consumption of drugs. *Pediatr Med Chir* 1982;4:481-90.

3. Calvani M, Ghirelli D, Calvani M, Fortuna C, Lalli F, Marcolini P. Fetal alcohol syndrome: clinical, metabolic and immunologic follow-up in 14 cases. *Minerva Pediatr* 1985;37:77-88.
4. Scotto DT, Venturino G, Sorrentino I, Infuso D, D'Amiano G, Palmieri G. Fetal alcoholic syndrome: a clinical case. *Pediatr Med Chir* 1993;15:525-9.
5. Roccella M, Testa D. Fetal alcohol syndrome in developmental age. Neuropsychiatric aspects. *Minerva Pediatr* 2003;55:63-74.
6. Primates P, Del Corno G, Bonazzi MC, Waters WE. Alcohol and pregnancy: an international comparison. *J Public Health Med* 1993;15:69-76.
7. May PA, Fiorentino D, Gossage PJ, Kalberg WO, Hoyme EH, Robinson LK, *et al.* Epidemiology of FASD in a province in Italy: prevalence and characteristics of children in a random sample of schools. *Alcohol Clin Exp Res* 2006;30(9):1562-75.
8. Hoyme HE, May PA, Kalberg WO, Kodituwakku P, Gossage JP, Trujillo PM, *et al.* A practical clinical approach to diagnosis of fetal alcohol spectrum disorders: clarification of the 1996 institute of medicine criteria. *Pediatrics* 2005;115:39-47.
9. Abel EL, Sokol RJ. Incidence of fetal alcohol syndrome and economic impact of FAS-related anomalies. *Drug Alcohol Depend* 1987;19:51-70.
10. Abel EL, Sokol RJ. A revised conservative estimate of the incidence of FAS and its economic impact. *Alcohol Clin Exp Res* 1991;15:514-24.
11. Abel EL. An update on incidence of FAS: FAS is not an equal opportunity birth defect. *Neurotoxicol Teratol* 1995;17:437-43.
12. Abel EL. *Fetal alcohol syndrome from mechanism to prevention*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1996.
13. Abel EL. *Fetal alcohol abuse syndrome*. New York: Plenum Press; 1998.
14. Adnams CM, Kodituwakku PW, Hay A, Molteno CD, Viljoen D, May PA. Patterns of cognitive-motor development in children with fetal alcohol syndrome from a community in South Africa. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25:557-62.
15. Autti-Ramö I, Fagerlund Å, Ervalahati N, Loimu L, Korkman M, Hoyme H E. Fetal alcohol spectrum disorders in Finland: clinical delineation of 77 older children and adolescents. *American Journal of Medical Genetics* 2006;140A:137-43.
16. Bonati M, Fellin G. Changes in smoking and drinking behaviour before and during pregnancy in Italian mothers: Implications for public health intervention. *Int J Epidemiology* 1991;20:927-32.
17. Calvani M, Ghirelli D, Calvani M. Fetal alcohol syndrome. *Recenti Prog Med* 1985;76:476-86.
18. Clarren SK, Randels SP, Sanderson M, Fineman RM. Screening for fetal alcohol syndrome in primary schools: a feasibility study. *Teratology* 2001;63:3-10.
19. Czarnecki DM, Russell M, Cooper ML, Salter D. Five-year reliability of self-reported alcohol consumption. *J Stud Alcohol* 1990;51:68-76.
20. Institute of Medicine. *Fetal alcohol syndrome: diagnosis, epidemiology, prevention, and treatment*. Washington, DC: National Academy Press; 1996.
21. Jacobson SW, Chiodo LM, Sokol RJ, Jacobson JL. Validity of maternal report of prenatal alcohol, cocaine, and smoking in relation to neurobehavioral outcome. *Pediatrics* 2002;109:815-25.
22. Kaskutas LA, Graves K. An alternative to standard drinks as a measure of alcohol consumption. *J Subst Abuse* 2000;12:67-78.
23. King M. At risk drinking among general practice attenders: validation of the CAGE questionnaire. *Psychol Med* 1986;16:213-7.

24. Kvigne VL, Leonardson GR, Borzelleca J, Brock E, Neff-Smith M, Welty TK. Characteristics of mothers who have children with fetal alcohol syndrome or some characteristics of fetal alcohol syndrome. *J Am Board Fam Pract* 2003;16:296-303.
25. Lazzaroni F, Bonassi S, Magnani M, Puglisi P, Salomone P, Pantarotto F, *et al.* Effects of moderate maternal drinking on some neonatal parameters. *Minerva Pediatr* 1992;44:511-7.
26. Lazzaroni F, Bonassi S, Magnani M, Calvi A, Repetto E, Serra F, Podesta F, Pearce N. Moderate maternal drinking and outcome of pregnancy. *Eur J Epidemiol* 1993;9:599-606.
27. Lazzaroni F, Bonassi S, Magnani M, Puglisi P, Salomone P, Pantarotto F, *et al.* Alcohol in pregnancy and fetal health. *Minerva Pediatr* 1993;45:47-53.
28. Little BB, Snell LM, Rosenfeld CR, Gilstrap LC, Gant NF. Failure to recognize fetal alcohol syndrome in newborn infants. *AJDC* 1990;144:1142-6.
29. May PA, Brooke L, Gossage JP, Croxford J, Adnams C, Jones KL, *et al.* Epidemiology of fetal alcohol syndrome in a South African community in the Western Cape Province. *Am J Public Health* 2000;90:1905-12.
30. Parazzini F, Bocciolone L, La Vecchia C, Negri E, Fedele L. Maternal and paternal moderate daily alcohol consumption and unexplained miscarriages. *Br J Obstet Gynaecol* 1990;97:618-22.
31. Parazzini F, Tozzi L, Chatenoud L, Restelli S, Luchini L, La Vecchia C. Alcohol and risk of spontaneous abortion. *Human Reproduction* 1994;9:1950-3.
32. Parazzini F, Chatenoud L, Benzi G, Di Cintio E, Dal Pino D, Tozzi L, Fedele L. Coffee and alcohol intake, smoking and risk of multiples pregnancy. *Human Reproduction* 1996;11:2306-9.
33. Quaid J, Kirkpatrick J, Nakamura R, Aase JM. Establishing the occurrence of FAS/FAE in a rural community. *The Provider* 1993;18:71-5.
34. Sampson PD, Streissguth AP, Bookstein FL, Little RE, Clarren SK, Dehaene P, *et al.* Incidence of fetal alcohol syndrome and prevalence of alcohol-related neurodevelopmental disorder. *Teratology* 1997;56:317-26.
35. Sobell LC, Sobell MB. Alcohol consumption measures. In: Allen JP, Columbus M (Ed.). *Assessing alcohol problems. A guide for clinicians and researchers*. Bethesda, MD: National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism; 1995. (Treatment Handbook Series 4. NIH Pub. No. 95-3745). p. 55-73.
36. Sobell LC, Agrawal S, Annis H, Ayala-Velazquez H, Echeverria L, Leo GI, *et al.* Cross-cultural evaluation of two drinking assessment instruments: alcohol timeline followback and inventory of drinking situations. *Subst Use Misuse* 2001;36:313-31.
37. Sokol RJ, Martier SS, Ager JW. The T-ACE questions: practical prenatal detection of risk-drinking. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:863-8.
38. Stromland K, Mattson SN, Adnams CM, Auti-Ramo I, Riley EP, Warren KR. Fetal alcohol spectrum disorders: an international perspective. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29(6):1121-6.
39. Viljoen D, Croxford J, Gossage JP, Kodituwakku PW, May PA. Characteristics of mothers of children with fetal alcohol syndrome in the Western Cape Province of South Africa: a case control study. *J Stud Alcohol* 2002;63:6-17.
40. Viljoen DL, Gossage JP, Adnams CM, Jones KL, Robinson LK, Hoyme HE., *et al.* Fetal alcohol syndrome epidemiology in a South African community: A second study of a very high prevalence area. *J Stud Alcohol* 2005;66:593-60.

ABUSO DI ALCOL, ALIMENTAZIONE INADEGUATA E SUSCETTIBILITÀ GENETICA: EFFETTI SEPARATI E CONGIUNTI SU SVILUPPO E PLASTICITÀ CEREBRALE*

Irene Guerrini, Allan D. Thomson, Hugh D. Gurling
*Department of Mental Health Sciences, Royal Free and University College London Medical School,
Londra (Gran Bretagna)*

Introduzione

La nozione di plasticità cerebrale venne proposta per la prima volta da uno psichiatra italiano all'inizio del XX secolo (1).

Un importante contributo teorico successivo fu quello di Donald Hebb, che ipotizzò che le connessioni corticali venissero rafforzate e rimodellate dall'esperienza (2). Hebb sottolineò anche l'importanza delle proprietà stimolanti dell'ambiente nel corso dello sviluppo cerebrale (3). I primi lavori sperimentali sul sistema visivo della rana confermarono l'esistenza della plasticità neuronale (4).

La plasticità è stata definita come la modificazione delle connessioni sinaptiche e l'assegnazione di nuove aree di rappresentazione in seguito a stimolazione neuronale. I fenomeni di plasticità si verificano nel corso dei processi di apprendimento, memoria e acquisizione di nuove capacità, nel recupero da lesioni traumatiche e nel corso dello sviluppo di dipendenze da sostanze (5-12). Durante lo sviluppo umano, a partire da una singola cellula, il cervello cresce molto rapidamente e i neuroni fetali cominciano a migrare fin dalla ventiduesima settimana. Alla nascita il cervello pesa circa 350 grammi, e nei primi anni di vita raggiunge un peso medio di 1000 grammi (13). Nella primissima infanzia esiste una considerevole capacità di plasticità inter-modale, con abbondanti connessioni tra le aree visive e quelle uditive. Tali connessioni diminuiscono progressivamente tra i sei e i trentasei mesi di vita – un processo legato al cosiddetto “pruning” (1). Sempre nuove aree vengono reclutate e assegnate allo sviluppo di funzioni sempre più complesse, quali il linguaggio, le abilità motorie e la memoria. Tra i molti fattori che possono influire sulla plasticità cerebrale vi sono le esperienze pre- e postnatali, i geni, l'alimentazione, l'assunzione di droghe, lo stress, le esperienze traumatiche e le variabili ormonali (14-27). I processi di plasticità vengono regolati da meccanismi piuttosto complessi, in seno ai quali l'interazione tra fattori genetici e ambientali è di importanza cruciale. Il presente articolo intende passare in rassegna le conseguenze di un'alimentazione inadeguata (più che della malnutrizione grave) e dell'uso eccessivo di alcol in gravidanza. Sappiamo per certo che lo sviluppo del cervello fetale può essere compromesso dagli effetti cumulativi di un'alimentazione inadeguata e dell'assunzione di alcol, e che questi fattori possono interagire con i fattori genetici.

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Guerrini I, Thomson AD, Gurling HD. The importance of alcohol misuse, malnutrition and genetic susceptibility on brain growth and plasticity. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):212-20.

Effetti dell'abuso di alcol

L'alcol esercita i suoi effetti neurotossici sul cervello in via di sviluppo sia direttamente, agendo sui tessuti cerebrali del feto, sia indirettamente, alterando la fisiologia placentare o quella materna. L'uso eccessivo di alcol in gravidanza è inoltre frequentemente associato ad altre condizioni potenzialmente capaci di contribuire al danno cerebrale, come una cattiva alimentazione e il fumo (28-33). Una vasta letteratura sperimentale e clinica mostra come l'uso smodato di alcol eserciti sul cervello fetale effetti neurotossici che sono a loro volta associati a deficit comportamentali, sociali e cognitivi permanenti (34-38). Soltanto una piccola parte dei bambini nati da madri che fanno abuso di alcol soddisfano i criteri diagnostici della sindrome fetoalcolica (FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*), che includono malformazioni facciali, ritardo della crescita e disfunzioni del sistema nervoso centrale (39-40). Le anomalie anatomiche associate vanno da un ridotto volume cerebrale a un ridotto numero di cellule e di connessioni neuronali in regioni cerebrali specifiche quali l'ippocampo e il cervelletto (41).

Secondo l'approccio più recente, i bambini con diagnosi di FAS costituiscono soltanto una piccola parte del numero totale dei bambini che presentano deficit neurocomportamentali indotti dall'alcol, cui oggi ci si riferisce con l'espressione "insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol" (FASD, *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) (42). Non è stato possibile raggiungere un vero consenso in merito alla definizione del fenotipo FASD. Le molte anomalie comportamentali e cognitive che gli sono state associate includono iperattività e deficit dell'attenzione e della coordinazione motoria, scarso controllo del comportamento sociale, funzionamento psicologico inadeguato, e deficit della fluenza verbale, della memoria spaziale e delle abilità matematiche.

Gli effetti neurotossici dell'alcol dipendono dalle quantità e dalle modalità di consumo, nonché dalla corrispondenza temporale tra l'esposizione e lo stadio evolutivo delle cellule e dei tessuti embrionali (43). Alcune aree cerebrali, quali la neocorteccia, l'ippocampo e il cervelletto, sono risultate più sensibili rispetto ad altre. Questo suggerisce che all'interno del cervello esista una vulnerabilità regionale specifica all'esposizione prenatale all'alcol (36). Alcuni studi hanno mostrato, avvalendosi della diagnostica per immagini, che nei bambini con diagnosi di FASD le anomalie strutturali sono piuttosto comuni, in particolare quelle del corpo calloso e del verme cerebellare anteriore, dei gangli basali e del talamo (44-51). Questi studi inoltre hanno rilevato che nei bambini esposti prenatalmente ad alcol il volume della sostanza bianca è significativamente inferiore a quello della sostanza grigia, e che nella corteccia cerebrale i lobi parietali presentano un volume significativamente inferiore a quello dei lobi temporale e occipitale, supportando l'ipotesi di una vulnerabilità regionale specifica (51).

Gli studi *post-mortem* che hanno esaminato il cervello di bambini prenatalmente esposti ad alcol hanno mostrato neuroni localizzati in maniera non corretta all'interno della sostanza bianca, il che sembrerebbe attestare un'alterazione dei processi di migrazione (34, 52). Sono inoltre stati osservati un'assenza del corpo calloso, un numero ridotto di spine dendritiche (53) e varie anomalie del talamo, del giro dentato e del cervelletto (54).

Studi sull'animale hanno fornito informazioni più dettagliate e approfondite su come l'assunzione di alcol può interferire con il normale sviluppo cerebrale. Nel ratto, numerosi studi hanno, infatti, riscontrato che un'elevata assunzione di etanolo durante il cosiddetto "brain growth spurt" – ovvero il periodo in cui il cervello cresce più rapidamente, corrispondente alla fase immediatamente postnatale nel ratto e comprendente nell'uomo il terzo trimestre di vita prenatale e la prima fase postnatale – riduce significativamente il peso del prosencefalo basale, del tronco e del cervelletto (55).

Secondo Olney *et al.* (37), anche una singola esposizione a dosi elevate di etanolo nel corso della sinaptogenesi è sufficiente a provocare nei piccoli di ratto e di topo una massiccia neuro-

apoptosi. In un lavoro pubblicato recentemente, l'assunzione acuta di alcol si è dimostrato in grado di innescare una neurodegenerazione acuta delle cellule di Purkinje e di altri neuroni della corteccia e dei nuclei cerebellari, pontini e olivari inferiori (56). Diversi studi hanno rilevato che gli effetti patologici esercitati dall'etanolo sul cervello degli animali esposti *in utero* non sono limitati alla riduzione numerica delle cellule neuronali (57) ma comprendono anche il danneggiamento dell'integrità dei dendriti e la riduzione del numero di connessioni all'interno della substantia nigra, della corteccia e dell'ippocampo. Sembra ragionevole ipotizzare che, nell'uomo, queste alterazioni siano responsabili di alcune delle difficoltà cognitive osservate nei bambini con diagnosi di FAS/FASD, come i disturbi dell'apprendimento e i deficit dell'attenzione e della memoria (58 -59).

Gli effetti tossici dell'esposizione prenatale ad alcol sull'ippocampo sono stati studiati da Wozniak *et al.* (60), che hanno osservato come l'assunzione postnatale di un'elevata quantità di alcol in un'unica occasione innescasse nei piccoli di topo la morte per apoptosi dei neuroni appartenenti a diverse strutture diencefaliche, tra cui il circuito ippocampale, del quale è noto l'importante ruolo nei processi di apprendimento e di memoria spaziale. Tale esposizione era, infatti, associata, a un mese d'età, a gravi deficit proprio di queste ultime abilità. Tuttavia, i deficit risultavano significativamente ridotti in corrispondenza di fasi evolutive successive, indicando che era stato possibile un recupero della funzione.

Effetti della malnutrizione

La gestazione costituisce una fase di grandi cambiamenti metabolici e di aumento progressivo del fabbisogno energetico sia per la madre sia per il feto. La denutrizione materna può avere dunque conseguenze disastrose sul feto e sul neonato (61-65). La denutrizione grave aumenta il rischio di aborti, prematurità, ritardo della crescita intrauterina e disturbi dello sviluppo cerebrale fetale (66, 67).

Quello dell'alimentazione è il più pervasivo dei problemi dell'uomo, soprattutto nei Paesi meno sviluppati, in cui il 25% delle donne in gravidanza soffre di malnutrizione proteico-energetica; nei Paesi occidentali il valore corrispondente è del 4%.

Nel corso dello sviluppo, la malnutrizione esercita i suoi effetti non soltanto durante il periodo di massima crescita cerebrale, ma anche in corrispondenza di processi organizzativi precoci quali la neurogenesi, la migrazione cellulare e la differenziazione (68). Ne risultano una varietà di disfunzioni cerebrali minime, corrispondenti a una patologia cerebrale generalmente distribuita, e diversi disturbi dello sviluppo. La correlazione tra una carenza grave di vitamine e micronutrienti e il ritardo mentale è stata ampiamente dimostrata, ma sono molto pochi gli studi che si sono occupati della relazione tra alimentazione inadeguata in gravidanza e deficit cognitivi nei neonati dei Paesi occidentali (69). L'intero processo di sviluppo del cervello è influenzato da una cattiva alimentazione *in utero*, ma lo è meno di quanto lo sia il resto del corpo (70). Le vitamine attraversano la placenta a diverse velocità e le loro concentrazioni diminuiscono nella circolazione materna più rapidamente che non in quella fetale. È stato dimostrato che la somministrazione endovenosa di una preparazione multivitaminica contenente riboflavina, nicotinamide, calcio pantotenato e vitamina C produce un incremento moderato (pari al 15-30%) nella circolazione materna e fetale, mentre il risultato è marcato per quanto riguarda i livelli di folato, vitamina B12, tiamina (vitamina B1), vitamina B6 e biotina. Lo stesso gruppo (66) ha condotto un'estensiva ricerca sulle concentrazioni di diverse vitamine nel sangue di 174 madri e in quello prelevato dal cordone ombelicale dei loro figli al momento del parto, rilevando (nelle donne in gravidanza che non assumevano supplementi vitaminici) una maggiore incidenza di ipovitaminosi per, nell'ordine: folato, tiamina, vitamine A, C, B12, B6 e

acido nicotinico. Questo studio ha inoltre evidenziato un assorbimento lento della tiamina, portando gli autori ad ipotizzare che ciò possa aggravare gli effetti della sua carenza soprattutto nelle madri a rischio, come quelle alcoliste, quelle diabetiche e quelle che soffrono di iperemesi gravidica.

Le ricerche condotte su animali hanno dimostrato che una malnutrizione corrispondente al periodo di massima crescita cerebrale può esitare in una difficoltà permanente nell'acquisizione di alcune abilità, come quelle implicate nei processi di apprendimento e di attenzione (71-74). Nell'uomo, una cattiva alimentazione in gravidanza è stata messa in relazione al comportamento antisociale e aggressivo, il quale potrebbe derivare specificamente dagli effetti esercitati sulla corteccia prefrontale. Diverse linee di ricerca hanno mostrato come la sintesi di mielina nel cervello venga significativamente ridotta da un'alimentazione inadeguata (75) e come, di conseguenza, venga ridotto anche il numero di fibre nervose mielinate (76). Analogamente, la sintesi di mielina risulta marcatamente diminuita negli adulti con sindrome di Wernicke-Korsakoff, una malattia neurodegenerativa dovuta a una carenza grave e acuta di tiamina (77-81). Nel cervello in via di sviluppo, la cattiva alimentazione altera anche la distribuzione delle spine dendritiche sui neuroni, con conseguenze simili a quelle associate all'esposizione ad alcol, tossine e infezioni (82).

Gli effetti esercitati dall'alimentazione postnatale sullo sviluppo dei bambini pretermine sono stati passati in rassegna da Gordon secondo il quale l'allattamento al seno da parte di una donna che si alimenta correttamente migliora le funzioni cognitive e visive del figlio grazie all'elevato contenuto di acido docosaesaenoico e arachidonico, i quali costituiscono elementi essenziali per lo sviluppo normale del cervello. È stato ipotizzato che i figli delle madri che hanno un'alimentazione inadeguata subiscano una carenza degli acidi grassi contenuti nel latte materno, con gravi conseguenze in termini di sviluppo cerebrale (83).

Effetti combinati di un'alimentazione inadeguata e dell'abuso di alcol

Nei paragrafi precedenti ci siamo occupati degli effetti esercitati separatamente dall'uso eccessivo di alcol e dalla malnutrizione. È ora necessario vedere che cosa succede in un cervello in via di sviluppo che sia soggetto contemporaneamente a entrambe le condizioni. Le conseguenze di tale concomitanza sono state studiate molto poco, nonostante si tratti di una condizione tutt'altro che infrequente: un'alimentazione inadeguata è di fatto molto spesso associata all'abuso di alcol nei Paesi occidentali, in cui l'abuso e la dipendenza da alcol riguardano ben oltre il 5% della popolazione generale (84).

Una ricerca recente, condotta nel Regno Unito da Manari *et al.* (85), ha mostrato che in una coorte di pazienti con abuso di alcol l'intera popolazione assumeva uno o più macro- e micro-nutrienti in un quantitativo inferiore rispetto al fabbisogno di riferimento. Tutti i soggetti assumevano quantitativi di vitamina E e di folato che erano al di sotto degli standard raccomandati nel Regno Unito, e l'85-95% di essi non assumeva sufficiente selenio e vitamina D. Per una percentuale di pazienti che andava dal 50% all'85%, lo stesso valeva per calcio, zinco e vitamine A, B(1), B(2), B(6) e C. Inoltre, altri studi hanno mostrato che il 30%-80% degli alcolisti sviluppa una carenza di tiamina a causa dell'alimentazione inadeguata, dell'assorbimento insufficiente, dell'emesi frequente e dell'inibizione diretta della pirofosfochinasi (86-90). In studi condotti su ratti neonati sottoposti *in utero* ad una dieta povera di tiamina ed esposti ad alcol sia durante la gravidanza che l'allattamento è stato evidenziato che la dimensione media del nucleo delle cellule piramidali ippocamapali della regione CA3

risultava significativamente ridotta rispetto ai soggetti di controllo. Inoltre la riduzione era accentuata dalla combinazione degli effetti dell'alcol e della carenza di tiamina rispetto alla condizione sperimentale in cui veniva indotta la sola carenza di tiamina. Tale effetto veniva invece attenuato dalla somministrazione di tiamina nel corso dell'esposizione a etanolo. Gli autori hanno ipotizzato che l'intossicazione alcolica e la carenza di tiamina determinino la morte o l'atrofia delle cellule cerebrali agendo mediante meccanismi in parte comuni e in parte separati. È stato anche osservato che sia la malnutrizione materna sia la tossicità dell'etanolo alterano la morfologia, la distribuzione e la numerosità delle spine dendritiche, rendendo il cervello meno capace di adattarsi ai cambiamenti interni ed esterni e in generale di creare nuove connessioni nell'ambito dei processi di plasticità.

Complessità della diade “madre alcolista e feto”: il ruolo della suscettibilità genetica

Fondamentale per la comprensione della complessità della diade “madre alcolista e feto” è il ruolo dei fattori genetici. È oggi noto che esistono numerosi geni di suscettibilità che determinano una predisposizione ad assumere quantità di alcol eccessive o a divenire alcolisti. Sono state inoltre individuate diverse *hot spots* (“regioni calde”) a livello cromosomico all'interno delle quali è possibile mappare finemente i geni che hanno un ruolo più propriamente causale nello sviluppo dell'alcolismo (91-94).

L'eterogeneità genetica ha un ruolo di rilievo nel determinare il metabolismo materno dell'etanolo, e a tale metabolismo è stato a sua volta attribuito un ruolo nella patogenesi dei difetti alla nascita associati all'alcol (95-99). Uno studio ha mostrato un effetto protettivo dell'allele ADH2*3 dell'ADH2, che codifica l'isoforma beta-3, e in particolare una maggiore efficienza metabolica a concentrazioni elevate di etanolo (100). Il ruolo di questo allele è infatti particolarmente importante nel corso degli episodi di *binge drinking* (intossicazione acuta), quando la concentrazione di alcol nel sangue può raggiungere i 20-40 mM. A tali concentrazioni, soltanto l'isoenzima codificato dall'allele ADH2*3 è in grado di metabolizzare completamente l'alcol, mentre quello codificato dall'allele ADH2*1 viene totalmente saturato (101). È stato osservato che un polimorfismo della regione regolatoria CYP2E1, consistente nell'inserzione di un tratto di 96 bp, è associato a un incremento dell'attività metabolica di questo enzima. La frequenza di tale polimorfismo è popolazione-specifica, ed è pari all'incirca al 30% negli afro-americani e al 7% nei caucasici. Le varianti alleliche di ADH2 e di CYP2E1 rappresentano validi esempi di come differenze di tipo farmacogenetico nel metabolismo dell'etanolo possano avere un ruolo importante nella determinazione dei danni cerebrali indotti dall'esposizione prenatale ad alcol.

I geni regolano anche il trasporto dei macro- e dei micro-nutrienti nell'intestino, nel cervello e attraverso la placenta. Nei primi anni Settanta, Thomson (102) ha ipotizzato l'esistenza di un sistema di trasporto *rate-limiting* della tiamina nell'intestino. Recentemente, tre geni coinvolti nel trasporto della tiamina sono stati mappati e sequenziati (103-104), ed è stato osservato che, tanto nell'uomo quanto nei roditori, l'espressione di tutti e tre è elevata nella placenta, nell'intestino e nel cervello. Mutazioni funzionali di questi geni causano le malattie metaboliche ereditarie note come “thiamine responsive megaloblastic disease”, e “biotine responsive basal ganglia disease” (105-107). Si tratta di malattie non comuni, che si manifestano in famiglie con elevati livelli di consanguineità e che presentano una modalità di trasmissione recessiva.

Il nostro gruppo ha recentemente pubblicato uno studio delle varianti genetiche della regione 3' UTR del trasportatore della tiamina ad alta affinità in alcolisti con sindrome di Wernicke-

Korsakoff (108). La regione 3' UTR ha un ruolo importante in termini di regolazione genica e di espressione proteica (109). Si potrebbero, infatti, ipotizzare i possibili effetti di un trasportatore materno mutato, magari dotato di una minore affinità per la tiamina o di una minore espressione nella placenta. È tuttavia necessario che ulteriori studi si occupino di individuare il ruolo delle varianti genetiche, come quelle identificate dal nostro gruppo, nei termini del loro effetto sull'espressione nei diversi tessuti in relazione all'alcolismo e più in generale alle malattie umane.

Nella diade “madre alcolista e feto”, il corredo genetico del secondo può avere un ruolo di primo piano nel determinare la suscettibilità individuale allo sviluppo di danni cerebrali dovuti a fattori ambientali. Un buon esempio di ciò è rappresentato dal recente caso di alcuni bambini israeliani che hanno sviluppato una grave carenza di tiamina dovuta alla totale assenza di tiamina nel latte in polvere a base di soya con cui venivano alimentati (110). Diverse centinaia di neonati sono stati alimentati con tale latte, ma solamente una parte di essi ha sviluppato una carenza acuta della vitamina, che per due bambini è risultata addirittura fatale e che ha procurato ad altri 15 danni cerebrali gravi. Appare del tutto possibile che sia stata proprio la suscettibilità genetica individuale a predisporre soltanto una parte dei neonati al danno cerebrale grave. Rimane da determinare se un analogo rischio esista anche *in utero*.

Infine, i geni sono importanti anche per la capacità del cervello di adattarsi ai cambiamenti interni ed esterni. La plasticità cerebrale è regolata da migliaia di singoli meccanismi a livello molecolare e cellulare, e ciascuno di questi singoli meccanismi è a sua volta regolato dai geni. I cambiamenti ambientali possono interagire con i fattori genetici e avere in tal modo un impatto sull'attività degli enzimi, sulla funzione dei fattori di crescita e sulla formazione e la forza delle connessioni neuronali (111). È stato osservato che l'etanolo è in grado di modulare la neuroplasticità di alcune aree del cervello (112-113). L'alterazione dell'attività di segnalazione e della plasticità neuronale di specifiche regioni cerebrali potrebbe costituire un fattore chiave nello sviluppo di fenotipi comportamentali tipicamente associati all'alcol quali la dipendenza, la sensibilizzazione e il cosiddetto “craving” (il desiderio spasmodico e la ricerca compulsiva della sostanza).

Conclusioni

La diade “madre alcolista e feto” è un'entità molto complessa, all'interno della quale diversi fattori – tra cui la variazione genetica, il metabolismo, l'alimentazione, l'assunzione di sostanze d'abuso e le abitudini sociali – possono esercitare i loro effetti in corrispondenza di diverse fasi di sviluppo del danno cerebrale fetale. La letteratura relativa agli effetti dell'esposizione ad alcol sul cervello in via di sviluppo è piuttosto vasta, ma sono pochi i lavori che si sono occupati degli effetti neurotossici combinati di un'alimentazione povera e del consumo di alcol. Le conseguenze dell'ingestione di etanolo, da solo o associato a un'alimentazione materna inadeguata, sono notoriamente gravi e possono essere permanenti. Lo spettro dei deficit neurocognitivi va dal ritardo mentale grave della sindrome fetoalcolica all'impulsività, all'iperattività, ai deficit attentivi, ai problemi di memoria e ai disturbi dell'apprendimento che sono noti nel loro complesso come “insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol”. È anche possibile un'associazione tra consumo materno di alcol e disturbi di personalità. È noto che i bambini con disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività (ADHD, *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*) presentano un rischio maggiore di sviluppare precocemente dipendenze da alcol o droghe, specialmente se anche altri membri della loro famiglia soffrono di alcolismo o di ADHD. Non è ancora chiara la direzionalità dei rapporti di causa-effetto tra consumo di alcol da parte della madre e disturbi di personalità dei figli.

Potrebbe trattarsi della trasmissione dalla madre al figlio di fattori genetici che influiscono sulla personalità, con un effetto secondario sul consumo di alcol. L'impatto di tutto questo sull'individuo, sulla famiglia e sulla società è pervasivo, e sono necessarie nuove strategie per evitare gli effetti di quella che è, essenzialmente, una condizione che è possibile prevenire.

Bibliografia

1. Johansson BB. Brain plasticity in health and disease. *Keio J Med* 2004;53:231-46.
2. Hebb DO. The organization of behavior: A neuropsychological theory. New York: Wiley; 1949.
3. Brown RE, Milner PM. The legacy of Donald O. Hebb: more than the Hebb synapse. *Nat Rev Neurosci* 2003;4:1013-9.
4. Lettvin JY, Maturana HR, McCulloch WS, Pitts WH. What the frog's eye tells the frog's brain. *Proc. IRE* 1959; 47:1940-51.
5. Ferrario CR, Gorny G, Crombag HS, Li Y, Kolb B, Robinson TE. Neural and behavioral plasticity associated with the transition from controlled to escalated cocaine use. *Biol Psychiatry* 2005;58(9):751-9.
6. Frankland PW, Bontempi B. The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 2005;6:119-30.
7. Gottesman, II, Hanson DR. Human development: biological and genetic processes. *Annu Rev Psychol* 2005;56:263-86.
8. Hyman SE. Addiction: a disease of learning and memory. *Am J Psychiatry* 2005;162:1414-22.
9. Jones S, Bonci A. Synaptic plasticity and drug addiction. *Curr Opin Pharmacol* 2005;5:20-5.
10. Kalivas PW, Volkow ND. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry* 2005;162:1403-13.
11. McDonald RJ, Hong NS, Devan BD. The challenges of understanding mammalian cognition and memory-based behaviours: an interactive learning and memory systems approach. *Neurosci Biobehav Rev* 2004;28:719-45.
12. Seitz RJ, Kleiser R, Butefisch CM. Reorganization of cerebral circuits in human brain lesion. *Acta Neurochir Suppl* 2005;93:65-70.
13. Gordon N. Nutrition and cognitive function. *Brain Dev* 1997;19:165-70.
14. Buwalda B, Kole MH, Veenema AH, Huininga M, de Boer SF, Korte SM, Koolhaas JM Long-term effects of social stress on brain and behavior: a focus on hippocampal functioning. *Neurosci Biobehav Rev* 2005;29:83-97.
15. Chapman PF. Cognitive aging: recapturing the excitement of youth? *Curr Biol* 2005;15:R31-3.
16. Cooke BM, Woolley CS. Gonadal hormone modulation of dendrites in the mammalian CNS. *J Neurobiol* 2005;64:34-46.
17. Cooper SJ. Endocannabinoids and food consumption: comparisons with benzodiazepine and opioid palatability-dependent appetite. *Eur J Pharmacol* 2004;500:37-49.
18. Doyon J, Benali H. Reorganization and plasticity in the adult brain during learning of motor skills. *Curr Opin Neurobiol* 2005;15:161-7.
19. Frackowiak RS, Ward NS. Recovery of function and plasticity in human brain. *Bull Mem Acad R Med Belg* 2004;159:145-55.
20. Joels M, Karst H, Alfarez D, Heine VM, Qin Y, van Riel E, *et al.* Effects of chronic stress on structure and cell function in rat hippocampus and hypothalamus. *Stress* 2004;7:221-31.

21. Kennedy MB, Beale HC, Carlisle HJ, Washburn LR. Integration of biochemical signalling in spines. *Nat Rev Neurosci* 2005;6:423-34.
22. Knapska E, Kaczmarek L. A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain: Zif268/Egr-1/NGFI-A/Krox-24/TIS8/ZENK? *Prog Neurobiol* 2004;74:183-211.
23. Kramer AF, Bherer L, Colcombe SJ, Dong W, Greenough WT. Environmental influences on cognitive and brain plasticity during aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59:M940-57.
24. Kulak W, Sobaniec W. Molecular mechanisms of brain plasticity: neurophysiologic and neuroimaging studies in the developing patients. *Rocz Akad Med Bialymst* 2004;49:227-36.
25. Lephart ED, Setchell KD, Lund TD. Phytoestrogens: hormonal action and brain plasticity. *Brain Res Bull* 2005;65:193-8.
26. Pinkerton JV, Henderson VW. Estrogen and cognition, with a focus on Alzheimer's disease. *Semin Reprod Med* 2005;23:172-9.
27. Ruthazer ES. You're perfect, now change-redefining the role of developmental plasticity. *Neuron* 2005;45:825-8.
28. Chen WJ, Parnell SE, West JR. Neonatal alcohol and nicotine exposure limits brain growth and depletes cerebellar Purkinje cells. *Alcohol* 1998;15:33-41.
29. Culverhouse R, Bucholz KK, Crowe RR, Hesselbrock V, Nurnberger JI, Jr., Porjesz B, et al. Long-term stability of alcohol and other substance dependence diagnoses and habitual smoking: an evaluation after 5 years. *Arch Gen Psychiatry* 2005;62:753-60.
30. Gianoulakis C. Alcohol-seeking behavior: the roles of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the endogenous opioid system. *Alcohol Health Res World* 1998;22:202-10.
31. Lieber CS. Relationships between nutrition, alcohol use, and liver disease. *Alcohol Res Health* 2003;27:220-31.
32. Okusun IS, Seale JP, Daniel JB, Eriksen MP. Poor health is associated with episodic heavy alcohol use: evidence from a National Survey. *Public Health* 2005;119:509-17.
33. Raine A. Annotation: the role of prefrontal deficits, low autonomic arousal, and early health factors in the development of antisocial and aggressive behavior in children. *J Child Psychol Psychiatry* 2002;43:417-34.
34. Chen WJ, Maier SE, Parnell SE, West JR. Alcohol and the developing brain: neuroanatomical studies. *Alcohol Res Health* 2003;27:174-80.
35. Goodlett CR, Horn KH, Zhou FC. Alcohol teratogenesis: mechanisms of damage and strategies for intervention. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005;230:394-406.
36. Guerri C. Mechanisms involved in central nervous system dysfunctions induced by prenatal ethanol exposure. *Neurotox Res* 2002;4:327-35.
37. Olney JW. Fetal alcohol syndrome at the cellular level. *Addict Biol* 2004;9:137-49; discussion 151.
38. Warren KR, Calhoun FJ, May PA, Viljoen DL, Li TK, Tanaka H, et al. Fetal alcohol syndrome: an international perspective. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25:202S-206S.
39. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;2:999-1001.
40. Jones KL, Smith DW, Ulleland CN, Streissguth P. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet* 1973;1:1267-71.
41. O'Hare E D, Kan E, Yoshii J, Mattson SN, Riley EP, Thompson PM, et al. Mapping cerebellar vermal morphology and cognitive correlates in prenatal alcohol exposure. *Neuroreport* 2005;16:1285-90.

42. Riley EP, McGee CL. Fetal alcohol spectrum disorders: an overview with emphasis on changes in brain and behavior. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005;230:357-65.
43. Guerri C. Teratogenic effects of alcohol: current status of animal research and in vitro models. *Arch Toxicol Suppl* 1996;18:71-80.
44. Bookstein FL, Streissguth AP, Sampson PD, Connor PD, Barr HM. Corpus callosum shape and neuropsychological deficits in adult males with heavy fetal alcohol exposure. *Neuroimage* 2002;15:233-51.
45. Mattson SN, Riley EP. A review of the neurobehavioral deficits in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:279-94.
46. Riley EP, McGee CL, Sowell ER. Teratogenic effects of alcohol: a decade of brain imaging. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2004;127:35-41.
47. Roeback TM, Mattson SN, Riley EP. A review of the neuroanatomical findings in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:339-44.
48. Sowell ER, Thompson PM, Mattson SN, Tessner KD, Jernigan TL, Riley EP, *et al.* Regional brain shape abnormalities persist into adolescence after heavy prenatal alcohol exposure. *Cereb Cortex* 2002;12:856-65.
49. Livy DJ, Maier, Se, West JR. Fetal alcohol exposure and temporal vulnerability: effects of binge-like alcohol exposure on the ventrolateral nucleus of the thalamus. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25:774-80.
50. Riikonen RS, Nokelainen P, Valkonen K, Kolehmainen AI, Kumpulainen KI, Kononen M, *et al.*
51. Deep serotonergic and dopaminergic structures in fetal alcoholic syndrome: a study with nor-beta-CIT-single-photon emission computed tomography and magnetic resonance imaging volumetry. *Biol Psychiatry* 2005;57:1565-72.
52. Archibald SL, Fennema-Notestine C, Gamst A, Riley EP, Mattson SN, Jernigan TL. Brain dysmorphology in individuals with severe prenatal alcohol exposure. *Dev Med Child Neurol* 2001;43:148-54.
53. Clarren SK, Alvord EC Jr, Sumi SM, Streissguth AP, Smith DW. Brain malformations related to prenatal exposure to ethanol. *J Pediatr* 1978;92:64-7.
54. Ferrer I, Galofre E. Dendritic spine anomalies in fetal alcohol syndrome. *Neuropediatrics* 1987;18:161-3.
55. Coulter CL, Leech RW, Schaefer GB, Scheithauer BW, Brumback RA. Midline cerebral dysgenesis, dysfunction of the hypothalamic-pituitary axis, and fetal alcohol effects. *Arch Neurol* 1993;50:771-5.
56. Maier SE, Chen WJ, Miller JA, West JR. Fetal alcohol exposure and temporal vulnerability regional differences in alcohol-induced microencephaly as a function of the timing of binge-like alcohol exposure during rat brain development. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21:1418-28.
57. Dikranian K, Qin YQ, Labryere J, Nemmers B, Olney JW. Ethanol-induced neuroapoptosis in the developing rodent cerebellum and related brain stem structures. *Brain Res Dev Brain Res* 2005;155:1-13.
58. Maas JW Jr., Indacochea RA, Muglia LM, Tran TT, Vogt SK, West T, *et al.* Calcium-stimulated adenylyl cyclases modulate ethanol-induced neurodegeneration in the neonatal brain. *J Neurosci* 2005;25:2376-85.
59. Hausknecht KA, Acheson A, Farrar AM, Kieres AK, Shen RY, Richards JB, *et al.* Prenatal alcohol exposure causes attention deficits in male rats. *Behav Neurosci* 2005;119:302-10.
60. Knopik VS, Sparrow EP, Madden PA, Bucholz KK, Hudziak JJ, Reich W, *et al.* Contributions of parental alcoholism, prenatal substance exposure, and genetic transmission to child ADHD risk: a female twin study. *Psychol Med* 2005;35:625-35.

61. Wozniak DF, Hartman RE, Boyle MP, Vogt SK, Brooks AR, Tenkova T, *et al.* Apoptotic neurodegeneration induced by ethanol in neonatal mice is associated with profound learning/memory deficits in juveniles followed by progressive functional recovery in adults. *Neurobiol Dis* 2004;17:403-14.
62. Kaminetzky HA, Langer A, Baker H, Frank O, Thomson AD, Munves ED, *et al.* The effect of nutrition in teen-age gravidas on pregnancy and the status of the neonate. I. A nutritional profile. *Am J Obstet Gynecol* 1973;115:639-46.
63. Roeder LM, Chow BF. Maternal undernutrition and its long-term effects on the offspring. *Am J Clin Nutr* 1972;25:812-21.
64. Winick M. Malnutrition and brain development. *J Pediatr* 1969;74:667-79.
65. Winick M. Nutrition and pregnancy. *Pediatr Ann* 1990;19:235-7, 241-2.
66. Winick M, Rosso P, Brasel JA. Malnutrition and cellular growth in the brain: existence of critical periods. In: lipids, malnutrition and the developing brain. *Ciba Found Symp* 1971;199-212.
67. Baker H, Frank O, Thomson AD, Langer A, Munves ED, De Angelis B, *et al.* Vitamin profile of 174 mothers and newborns at parturition. *Am J Clin Nutr* 1975;28:59-65.
68. Gabr M. Undernutrition and quality of life. *World Rev Nutr Diet* 1987;49:1-21.
69. Morgane PJ, Austin-LaFrance R, Bronzino J, Tonkiss J, Diaz-Cintra S, Cintra L, *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci Biobehav Rev* 1993;17:91-128.
70. Grantham-McGregor SM, Walker SP, Chang S. Nutritional deficiencies and later behavioural development. *Proc Nutr Soc* 2000;59:47-54.
71. Peeling AN, Smart JL. Review of literature showing that undernutrition affects the growth rate of all processes in the brain to the same extent. *Metab Brain Dis* 1994;9:33-42.
72. Fish I, Winick M. Effect of malnutrition on regional growth of the developing rat brain. *Exp Neurol* 1969;25:534-40.
73. Lister JP, Blatt GJ, DeBassio WA, Kemper TL, Tonkiss J, Galler JR, Rosene DL. Effect of prenatal protein malnutrition on numbers of neurons in the principal cell layers of the adult rat hippocampal formation. *Hippocampus* 2005;15:393-403.
74. Rosene DL, Lister JP, Schwagerl AL, Tonkiss J, McCormick CM, Galler JR. Prenatal protein malnutrition in rats alters the c-Fos response of neurons in the anterior cingulate and medial prefrontal region to behavioral stress. *Nutr Neurosci* 2004;7:281-9.
75. Soto-Moyano R, Valladares L, Sierralta W, Perez H, Mondaca M, Fernandez V, *et al.* Mild prenatal protein malnutrition increases alpha2C-adrenoceptor density in the cerebral cortex during postnatal life and impairs neocortical long-term potentiation and visuo-spatial performance in rats. *J Neurochem* 2005;93:1099-109.
76. Montanha-Rojas EA, Ferreira AA, Tenorio F, Barradas PC. Myelin basic protein accumulation is impaired in a model of protein deficiency during development. *Nutr Neurosci* 2005;8:49-56.
77. Peeling AN, Smart JL. Successful prediction of immediate effects of undernutrition throughout the brain growth spurt on capillarity and synapse-to-neuron ratio of cerebral cortex in rats. *Metab Brain Dis* 1994;9:81-95.
78. Cook CC, Hallwood PM, Thomson AD. B Vitamin deficiency and neuropsychiatric syndromes in alcohol misuse. *Alcohol and Alcoholism* 1998;33:317-36.
79. Kopelman MD. The Korsakoff syndrome. *Br J Psychiatry* 1995;166:154-73.
80. Kopelman MD. Disorders of memory. *Brain* 2002;125:2152-90.
81. Pratt OE, Rooprai HK, Shaw GK, Thomson AD. The genesis of alcoholic brain tissue injury. *Alcohol Alcohol* 1990;25:217-30.

82. Thomson AD, Pratt OE, Jeyasingham M, Shaw GK. Alcohol and brain damage. *Hum Toxicol* 1988;7:455-63.
83. Fiala JC, Spacek J, Harris KM. Dendritic spine pathology: cause or consequence of neurological disorders? *Brain Res Brain Res Rev* 2002;39:29-54.
84. Ames BN. The metabolic tune-up: metabolic harmony and disease prevention. *J Nutr* 2003;133:1544S-8S.
85. Grant BF, Dawson DA, Stinson FS, Chou SP, Dufour MC, Pickering RP. The 12-month prevalence and trends in DSM-IV alcohol abuse and dependence: United States, 1991-1992 and 2001-2002. *Drug Alcohol Depend* 2004;74:223-34.
86. Manari AP, Preedy VR, Peters TJ. Nutritional intake of hazardous drinkers and dependent alcoholics in the UK. *Addict Biol* 2003;8:201-10.
87. Butterworth RF, Kril JJ, Harper CG. Thiamine-dependent enzyme changes in the brains of alcoholics: relationship to the Wernicke-Korsakoff syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 1993;17:1084-8.
88. Ceccanti M, Mancinelli R, Sasso GF, Allen JP, Binetti R, Mellini A, *et al.* Erythrocyte thiamine (Th) esters: a major factor of the alcohol withdrawal syndrome or a candidate marker for alcoholism itself? *Alcohol Alcohol* 2005;40:283-90.
89. Heap LC, Pratt OE, Ward RJ, Waller S, Thomson AD, Shaw GK, *et al.* Individual susceptibility to Wernicke-Korsakoff syndrome and alcoholism-induced cognitive deficit: impaired thiamine utilization found in alcoholics and alcohol abusers. *Psychiatr Genet* 2002;12:217-24.
90. Homewood J, Bond NW, MacKenzie A. The effects of single and repeated episodes of thiamin deficiency on memory in alcohol-consuming rats. *Alcohol* 1997;14:81-91.
91. Ba A, Seri BV, Aka KJ, Glin L, Tako A. Comparative effects of developmental thiamine deficiencies and ethanol exposure on the morphometry of the CA3 pyramidal cells. *Neurotoxicol Teratol* 1999;21:579-86.
92. Crabb DW, Matsumoto M, Chang D, You M. Overview of the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology. *Proc Nutr Soc* 2004;63:49-63.
93. Oroszi G, Goldman D. Alcoholism: genes and mechanisms. *Pharmacogenomics* 2004;5:1037-48.
94. Rose RJ. A developmental behavior-genetic perspective on alcoholism risk. *Alcohol Health Res World* 1998;22:131-43.
95. Sommer W, Arlinde C, Heilig M. The search for candidate genes of alcoholism: evidence from expression profiling studies. *Addict Biol* 2005;10:71-9.
96. Boleda MD, Farres J, Guerri C, Pares X. Alcohol dehydrogenase isoenzymes in rat development. Effect of maternal ethanol consumption. *Biochem Pharmacol*. 1992;43:1555-61.
97. Guerrini I, Cook CC, Kest W, Devitgh A, McQuillin A, Curtis D, *et al.* HM. Genetic linkage analysis supports the presence of two susceptibility loci for alcoholism and heavy drinking on chromosome 1p22.1-11.2 and 1q21.3-24.2. *BMC Genet* 2005;6:11.
98. Reynolds JD, Brien JF. Ethanol neurobehavioural teratogenesis and the role of L-glutamate in the fetal hippocampus. *Can J Physiol Pharmacol* 1995;73:1209-23.
99. Sanchis R, Guerri C. Alcohol-metabolizing enzymes in placenta and fetal liver: effect of chronic ethanol intake. *Alcohol Clin Exp Res* 1986;10:39-44.
100. Warren KR, Li TK. Genetic polymorphisms: impact on the risk of fetal alcohol spectrum disorders. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005;73:195-203.

101. McCarver DG, Thomasson HR, Martier SS, Sokol RJ, Li T. Alcohol dehydrogenase-2*3 allele protects against alcohol-related birth defects among African Americans. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;283:1095-101.
102. McCarver DG. ADH2 and CYP2E1 genetic polymorphisms: risk factors for alcohol-related birth defects. *Drug Metab Dispos* 2001;29:562-5.
103. Thomson AD. Mechanisms of vitamin deficiency in chronic alcohol misusers and the development of the Wernicke-Korsakoff syndrome. *Alcohol Alcohol Suppl* 2000;35 Suppl 1:2-7.
104. Eudy JD, Spiegelstein O, Barber RC, Wlodarczyk BJ, Talbot J, Finnell RH. Identification and characterization of the human and mouse SLC19A3 gene: a novel member of the reduced folate family of micronutrient transporter genes. *Mol Genet Metab* 2000;71:581-90.
105. Ganapathy V, Smith SB, Prasad PD. SLC19: the folate/thiamine transporter family. *Pflugers Arch* 2003;6:6.
106. Diaz GA, Banikazemi M, Oishi K, Desnick RJ, Gelb BD. Mutations in a new gene encoding a thiamine transporter cause thiamine- responsive megaloblastic anaemia syndrome. *Nat Genet* 1999;22:309-12.
107. Fleming JC, Tartaglini E, Steinkamp MP, Schorderet DF, Cohen N, Neufeld EJ. The gene mutated in thiamine-responsive anaemia with diabetes and deafness (TRMA) encodes a functional thiamine transporter. *Nat Genet* 1999;22:305-8.
108. Zeng WQ, Al-Yamani E, Acierno JS, Jr., Slaugenhaupt S, Gillis T, MacDonald ME, *et al.* Biotin-responsive basal ganglia disease maps to 2q36.3 and is due to mutations in SLC19A3. *Am J Hum Genet* 2005;77:16-26.
109. Guerrini I, Thomson AD, Cook CC, McQuillin A, Sharma V, Kopelman M, *et al.* HM. Direct genomic PCR sequencing of the high affinity thiamine transporter (SLC19A2) gene identifies three genetic variants in Wernicke Korsakoff syndrome (WKS). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005 ;137B:17-19.
110. Kuersten S, Goodwin EB. The power of the 3' UTR: translational control and development. *Nat Rev Genet* 2003;4:626-37.
111. Fattal-Valevski A, Kesler A, Sela BA, Nitzan-Kaluski D, Rotstein M, Mesterman R, *et al.* Outbreak of life-threatening thiamine deficiency in infants in Israel caused by a defective soy-based formula. *Pediatrics* 2005;115:e233-8.
112. Kerns RT, Ravindranathan A, Hassan S, Cage MP, York T, Sikela JM, *et al.* Ethanol-responsive brain region expression networks: implications for behavioral responses to acute ethanol in DBA/2J versus C57BL/6J mice. *J Neurosci* 2005;25:2255-66.
113. Climent E, Pascual M, Renau-Piqueras J, Guerri C. Ethanol exposure enhances cell death in the developing cerebral cortex: role of brain-derived neurotrophic factor and its signaling pathways. *J Neurosci Res* 2002;68:213-25.
114. Harper C, Matsumoto I. Ethanol and brain damage. *Curr Opin Pharmacol* 2005;5:73-8.

RILEVAZIONE DEL CONSUMO DI ALCOL IN GRAVIDANZA: PRESENTE E FUTURO DEI MARCATORI BIOLOGICI*

Yoav Littner (a), Cynthia F. Bearer (b)

(a) *Department of Pediatrics, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, USA*

(b) *Rainbow Babies and Children's Hospital, Cleveland, Ohio, USA*

Introduzione

L'assunzione di alcol è associata a una delle dipendenze riportate con maggiore frequenza e rappresenta un notevole problema di salute pubblica. Si stima che oggi, negli Stati Uniti, siano 120 milioni le persone al di sopra dei 12 anni che bevono alcol (1). A causa dei suoi effetti teratogeni, vengono messi in atto continui sforzi per educare le persone, e in particolare le donne in età feconda. Nonostante questo, la prevalenza dell'uso di alcol nelle donne in gravidanza è simile a quella degli anni passati (12,4% nel 1991; 11,4% nel 1997; 12,8% nel 1999 e 10,1% nel 2002) (2). La maggior parte delle donne che assumono alcol riduce sostanzialmente la quantità o smette del tutto quando rimane incinta. In uno studio di Day, alla fine del terzo trimestre di gravidanza soltanto il 4,6% delle donne riferiva di bere in media un'unità alcolica al giorno, mentre lo stesso valore, prima della gravidanza, era del 44% (1989). Purtroppo alcune donne decidono di continuare a bere molto anche in gravidanza, come dimostrano i tassi di *binge drinking* (ubriacatura, ingestione di grandi quantità di alcol in una sola occasione) e di *frequent drinking* (consumo frequente di bevande alcoliche) riferiti, che sono rimasti sostanzialmente invariati dal 1991 al 1999 (2).

Poiché attraversa la placenta, l'alcol può interferire con il normale sviluppo del cervello e degli altri organi (3). Gli effetti avversi comprendono l'aborto spontaneo, la morte fetale, la nascita pretermine, un basso peso alla nascita, varie anomalie dello sviluppo, il ritardo mentale, una minore circonferenza cranica e un basso indice di Apgar (4). Questi effetti sono influenzati dalla frequenza, dall'intensità e dalle caratteristiche temporali dell'assunzione (5). Bere molto nel corso della gravidanza può provocare la cosiddetta "sindrome feto-alcolica" (FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*), che è la più comune tra le cause di ritardo mentale che è possibile prevenire. Anche un'assunzione moderata di alcol in gravidanza può essere associata a tutta una serie di conseguenze note come FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) cioè l'"insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol". Streissguth *et al.* (6) hanno rilevato difficoltà di apprendimento in bambini di età scolare le cui madri ricordavano di aver avuto durante la gravidanza un episodio di *binge drinking* in cui avevano assunto più di cinque unità alcoliche. In un altro studio, condotto da Jacobson *et al.* (7), il *Fagan Test of Infant Intelligence* ha evidenziato una serie di deficit in bambini di 6,5 mesi le cui madri avevano assunto in media un'unità alcolica al giorno. Il FASD comprende una vasta gamma di disordini tra cui: difetti alla nascita associati all'alcol, disturbi del neurosviluppo associati all'alcol e deficit di varia entità evidenziabili con test comportamentali, educazionali e psicologici diversi (8). Il FASD ha una prevalenza maggiore rispetto alla FAS e si stima che riguardi l'1% di tutti i neonati (9).

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Littner Y, Bearer CF. Detection of alcohol consumption during pregnancy – current and future biomarkers. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):261-9.

Gli effetti associati tanto alla FAS quanto al FASD sono irreversibili. I costi cumulativi per la società sono enormi e si stima che la spesa sanitaria relativa alla sola FAS si attesti annualmente tra 75 milioni e 9,7 miliardi di dollari (8). Poiché la sola campagna educativa si è dimostrata inefficace, è importante individuare le donne che continuano a bere nel corso della gravidanza e i neonati che sono stati esposti all'alcol nell'utero. Un'identificazione precoce faciliterà interventi che interrompano l'assunzione di alcol nella gravidanza in corso e in quelle future, permettano di monitorare i bambini a rischio di FASD, e offrano se necessario condizioni di vita migliori e servizi speciali (10). È particolarmente importante identificare i bambini a rischio prima che compiano i sei anni, poiché un intervento precoce riduce la probabilità che a FAS e FASD si associno problemi secondari quali disturbi della salute mentale, insuccesso scolastico, delinquenza, comportamento sessuale inappropriato e dipendenza da alcol e/o da altre droghe (11). Inoltre, lo sviluppo di metodi efficaci per individuare l'assunzione prenatale di alcol potrebbe contribuire a facilitare la comprensione scientifica della relazione dose-risposta tra esposizione e FASD.

A oggi, non è disponibile alcun test di laboratorio definitivo. L'identificazione delle donne che bevono durante la gravidanza e dei bambini che sono stati esposti all'alcol in fase prenatale è difficile, come dimostra lo studio di Little *et al.* in cui la diagnosi di FAS era mancata nel 100% dei neonati che sarebbero stati invece diagnosticati in fasi successive dello sviluppo (12). In questa rassegna, descriveremo brevemente i metodi e i biomarker che sono oggi disponibili.

Questionari di auto-dichiarazione

Attualmente, nessun test è in grado di identificare e quantificare un'esposizione prenatale ad alcol protratta nel tempo. Poiché sia l'alcol stesso sia il prodotto principale del suo metabolismo, l'acetaldeide, vengono scomposti rapidamente nel sangue, essi non possono essere utilizzati per discriminare tra una singola assunzione e un consumo cronico e intermittente. L'esame del sangue, delle urine o dell'esperto è in grado di valutare esclusivamente un'assunzione molto recente. Purtroppo i biomarker attualmente usati potrebbero non essere efficaci per lo screening dei casi di consumo di alcol protratto nel tempo, costringendo i clinici ad affidarsi a quanto riferito dalla madre per valutare i pattern di assunzione (13).

I principali svantaggi dell'auto-dichiarazione sono rappresentati dal fatto che spesso è difficile per le persone ricordare la quantità e la frequenza del loro consumo di alcol, e dal fatto che lo stigma e il timore di una punizione (come l'incarcerazione o il trattamento sanitario obbligatorio) rendono le donne riluttanti a rivelare che bevono o hanno bevuto alcol in gravidanza, specialmente se ne bevono o ne hanno bevuto molto (14-15).

Alcuni questionari per lo screening tentano di aggirare il problema della riluttanza includendo domande finalizzate a una stima indiretta – per esempio, domandando alle donne quante unità alcoliche possono bere senza svenire o addormentarsi (16). Benché alcune ricerche indichino che questi strumenti sono effettivamente in grado di individuare i soggetti che fanno un notevole uso di alcol, essi non forniscono una misurazione oggettiva e a lungo termine dell'intera gamma delle possibili modalità di assunzione in gravidanza. Affiancare all'auto-dichiarazione l'utilizzo di un biomarker renderebbe possibile individuare precocemente i bambini esposti e dunque intervenire, e faciliterebbe l'identificazione delle donne che sono a rischio per la gravidanza successiva (14).

Marcatori biologici

I biomarker, o marcatori biologici, sono indicatori cellulari o molecolari di esposizione, malattia o suscettibilità alla malattia. Essi sono individuabili e misurabili mediante una varietà di metodi, tra cui l'esame fisico, i saggi di laboratorio e la diagnostica per immagini.

I biomarker possono essere classificati in tre grandi gruppi: 1) marker di esposizione; 2) marker di effetto; 3) marker di suscettibilità. Mentre i primi sono fatti per determinare l'esposizione (e il test è generalmente eseguito durante l'esposizione stessa o poco dopo), i marker di effetto sono più prossimi alla patologia clinica (cioè segnalano i primi effetti dell'esposizione o lo sviluppo della patologia). I marker di suscettibilità sono rappresentati eminentemente dai polimorfismi genetici.

Lo sviluppo di un marker è un processo lungo e difficile. Per prima cosa, è necessario identificare un marcatore biologico che possa valutare un'esposizione o un effetto, rimanere presente nel tempo e venire facilmente individuato. Inoltre, il campione biologico che lo contiene dovrebbe essere semplice da ottenere e implicare tecniche la cui invasività sia minima. Infine, ottenere ed elaborare il campione dovrebbe essere poco costoso e la grandezza del campione dovrebbe essere relativamente elevata per avere una maggiore sensibilità.

Una volta selezionati il potenziale marker e il potenziale campione biologico, è importante sviluppare un metodo rapido, attendibile e poco costoso per la quantificazione analitica di quel marker in quello specifico campione. Tra i fattori da considerare vi sono la determinazione dei tempi di ritorno ai valori normali e della stabilità del marker nel campione scelto.

La fase più difficile dello sviluppo di un marker consiste nell'accertarsi che esso indichi correttamente l'esposizione, senza produrre né falsi positivi né falsi negativi. Dei marker di esposizione va validata la capacità di segnalare realmente sia l'esposizione (sensibilità) sia la mancanza di esposizione (specificità). Le stime di sensibilità devono considerare il livello di base del marker in una popolazione priva di esposizione, e la capacità del marker di segnalare i livelli di esposizione che sono associati a un effetto biologico. Le stime di specificità devono inoltre considerare le variazioni della popolazione, tra cui età e genere, l'ora del giorno in cui avviene la misurazione, e l'effetto di altre possibili malattie e di processi di sviluppo. Idealmente, il marker dovrebbe essere specifico per una certa esposizione (cioè non dovrebbe dare falsi positivi). Nel comparare tra loro diversi marker, è necessario valutarne la sensibilità e specificità nell'identificazione di un'esposizione simile, o, in questo caso, di un grado di assunzione simile. Inoltre, poiché la loro presenza è influenzata anche dal genere sessuale e dallo stato di gravidanza, i marker dovrebbero essere confrontati tra loro soltanto all'interno di popolazioni equivalenti per questi parametri.

Poiché l'auto-dichiarazione è nella maggior parte dei casi inattendibile, i ricercatori stanno cercando un adeguato modello animale. I modelli animali sono utili per il processo di validazione, in quanto possono essere usati per studiare i meccanismi sottesi all'espressione dei marker e le relazioni tra i marker e l'esposizione. Attualmente, sono due i modelli animali in corso di valutazione per lo studio della teratologia dell'alcol: quello della pecora gravida (17) e quello della cavia (18). Altri studi finalizzati a validare marker di esposizione materna all'alcol sono in corso di svolgimento.

Marker di esposizione

Alcol

L'alcol può essere individuato nell'espriato, nella pelle, nelle urine, nel sangue, e nel sangue del cordone ombelicale. I test di questo tipo, rapidi, sensibili e poco costosi, vengono utilizzati

per gli effetti acuti dell'alcol, ma non sono molto utili come marker di esposizione cronica a causa della rapidità con cui l'alcol viene eliminato dal corpo.

Metaboliti e prodotti dell'alcol

Nel corpo, l'alcol, dopo aver raggiunto il fegato, la placenta e altri organi metabolici sia della madre sia del feto, viene scomposto o coniugato da diversi enzimi. La scomposizione è operata dall'alcol-deidrogenasi (ADH) o dal citocromo P450 2E1, che ossida l'alcol per formare acetaldeide. Il processo di coniugazione utilizza l'enzima FAEE sintasi, che produce FAEE (*Fatty Acid Ethyl Esters*, esteri etilici degli acidi grassi), e la glucuronil transferasi, che produce etil-glucuronide.

Acetaldeide – può essere individuata nel sangue. Tuttavia, poiché è difficile da misurare accuratamente e poiché viene eliminata rapidamente, non è un marker sensibile per quanto riguarda l'esposizione ad alcol cronica e intermittente.

FAEE – sono prodotti del metabolismo non ossidativo dell'etanolo e sono considerati metaboliti stabili. Essi sono stati studiati in diverse specie (topo, ratto, pecora e uomo) e possono essere quantificati nel sangue, nei capelli, nella placenta, nel sangue del cordone ombelicale e nel meconio del neonato esposto a etanolo nell'utero (19). Inoltre, è stato dimostrato che i FAEE della madre non vengono trasmessi al neonato poiché vengono in larga parte degradati dalla placenta (20). Nel sangue, la loro breve emivita (circa 24 ore dall'assunzione) (19) li rende inefficaci come marker dell'abuso cronico di alcol. Tuttavia, i risultati di diversi studi mostrano che i FAEE potrebbero costituire marker attendibili dell'esposizione prenatale ad alcol se venissero misurati in campioni di altro tipo (14) (15). Nonostante questo, l'emivita dei FAEE nella placenta, nei capelli, nel cordone ombelicale e nel meconio della specie umana non è ancora nota, e nuove ricerche sono chiamate a determinarla.

Nel 1996, Bearer ha suggerito di utilizzare i FAEE del sangue del cordone ombelicale come marker di esposizione intrauterina a etanolo (21). Mac *et al.* hanno indicato i FAEE estratti dal meconio dei neonati (22). Nel 1999, Bearer *et al.* hanno mostrato che la presenza nel meconio di uno specifico FAEE, l'etil linoleato, era associata a livelli più elevati di consumo settimanale di alcol da parte delle madri (come stimato in base alle loro dichiarazioni) sia durante il mese precedente la gravidanza, sia durante il primo trimestre, sia in generale. La sensibilità e la specificità del test erano del 72% e del 51% nel distinguere le donne che riferivano di aver bevuto una o più unità alcoliche a settimana nel corso del terzo trimestre da quelle che negavano qualsiasi assunzione, e del 68% e del 48% nel distinguere chi aveva bevuto una o più unità alcoliche a settimana da chi ne riferiva meno di una nel corso del mese precedente la gravidanza (23). L'analisi del meconio in due popolazioni di donne non bevitrici, una di Amman, in Giordania, e l'altra composta da donne di Cleveland, che dichiaravano di non fare uso né di alcol né di tabacco, cocaina o marijuana, ha riscontrato una differenza significativa per sei FAEE su sette (tutti eccetto il palmitoleico) dal gruppo che riportava uso di alcol, tabacco, marijuana e/o cocaina. Un'analisi ROC (*Receiver Operating Curves*) ha rilevato una sensibilità del 92% e una specificità del 61% per l'etil oleato nell'individuare le donne che riferivano di aver bevuto sette o più unità alcoliche al giorno nel corso del mese precedente la gravidanza. Chan *et al.* hanno confermato che in una popolazione normale, priva di esposizione ad alcol, i livelli basali di FAEE sono bassi (15). Recentemente, Bearer *et al.* hanno trovato una marcata associazione tra l'etil oleato e l'assunzione riferita relativa al secondo e al terzo trimestre di gravidanza (14). Da questo studio sono risultate una sensibilità e una specificità rispettivamente dell'84% e dell'83%. Inoltre, la concentrazione di FAEE nel meconio era correlata più fortemente al consumo di alcol per occasione che non alla quantità media consumata per settimana. Questo risultato potrebbe rivelarsi particolarmente utile, poiché la ricerca più recente

suggerisce che sia proprio il numero di unità alcoliche per occasione il miglior indicatore di rischio per l'insorgenza di problemi legati all'alcol (14).

La correlazione tra i FAEE del meconio e l'assunzione di alcol in gravidanza non è perfetta (14, 15). Tra le possibili spiegazioni di ciò possiamo citare le seguenti: (1) con il tempo i FAEE potrebbero accumularsi nel meconio in maniera diseguale, e questo potrebbe minare la rappresentatività del campione; (2) la sintesi dei FAEE potrebbe essere influenzata da variazioni geneticamente determinate nel metabolismo dell'alcol; e (3) la concentrazione dei FAEE potrebbe essere alterata da malattie o dall'uso di farmaci o additivi alimentari.

Oltre al meconio, i FAEE vengono incorporati anche nei capelli. Alcuni studi hanno mostrato che i livelli di FAEE rilevati nei capelli dei soggetti adulti sono correlati con il grado di abuso di etanolo, e che questa correlazione è ancora valida dopo due mesi di astinenza. Inoltre le concentrazioni di FAEE non risultavano differenti nei capelli e nei peli pubici e toracici (24). Wurst *et al.* hanno usato la somma di quattro FAEE rilevati nei capelli per cercare di distinguere tra 18 pazienti dipendenti dall'alcol e in cura di disintossicazione, 10 bevitori normali e 10 soggetti astemi. Adottando un valore di soglia di 0,29 ng/mg, la sensibilità e la specificità sono risultate rispettivamente del 100% e del 90%. Non c'era tuttavia correlazione tra i FAEE e i grammi totali di etanolo assunti nell'ultimo mese, la concentrazione di alcol nel sangue all'accettazione in ospedale o gli indicatori tradizionalmente associati all'abuso di alcol – CDT (*Carbohydrate-Deficient Transferrin*), MCV (*Mean Corpuscular Volume*) e GGT (*Gamma-glutamyl-transferasi*). I FAEE vengono incorporati nei capelli principalmente dal sebo e la loro concentrazione è dunque influenzata dalle differenze individuali nell'attività delle ghiandole sebacee, nella pulizia e cura dei capelli e nei prodotti cosmetici utilizzati: questo può rendere difficile l'interpretazione dei risultati.

Etil glucuronide – è un metabolita diretto dell'etanolo che può essere misurato nei fluidi corporei, cioè nel sangue e nelle urine. È in grado di rivelare l'assunzione di etanolo fino a 80 ore dopo l'eliminazione completa dell'alcol dal corpo (25) e rimane stabile nei campioni di urina anche per cinque settimane (26). Queste caratteristiche ne fanno un marker potenzialmente utile in diversi casi, come per esempio in quelli di ricaduta o nelle situazioni in cui l'assunzione di alcol può essere particolarmente rischiosa (alla guida, sul posto di lavoro, in gravidanza, oppure per monitorare lo stato di medici o altri professionisti che sono in fase di recupero e hanno ripreso a lavorare), o anche per risolvere questioni relative alle ricadute in ambito di medicina legale. A oggi, non è stata fatta alcuna ricerca su donne in gravidanza o neonati.

Cocaetilene – è un metabolita dell'alcol che si forma in presenza di cocaina, forse per opera degli stessi enzimi che catalizzano la formazione dei FAEE. Può essere misurato nel sangue, nelle urine, nei capelli e nel meconio. Naturalmente, come marker può essere utilizzato soltanto per le popolazioni che fanno contemporaneamente uso di cocaina.

Marker di effetto

Enzimi coinvolti nel metabolismo dell'alcol

L'ingestione di etanolo può esercitare un effetto su alcuni degli enzimi che provvedono al suo metabolismo. Generalmente l'etanolo causa un'induzione degli enzimi, i cui livelli dunque aumentano. Gli enzimi implicati possono essere utilizzati come marker dell'esposizione ad alcol.

Citocromo P450 2E1 (CYP450 2E1) – è l'enzima citocromo P450 che metabolizza l'alcol. Un'attività elevata di CYP450 2E1 può derivare da un abuso cronico di alcol, ma si tratta di un parametro non specifico. Il livello più elevato di CYP450 2E1 si riscontra nel fegato. Tuttavia,

alcuni P450 vengono espressi anche a livelli inferiori in alcuni tessuti extraepatici, soprattutto negli intestini, nei polmoni, nei reni, nel cervello e nel tessuto ematopoietico. Negli alcolisti, i livelli elevati di CYP450 2E1 nei leucociti del sangue scendono rapidamente nel corso di otto giorni di astinenza, secondo pattern che ne fanno stimare l'emivita intorno ai due giorni e mezzo (27). In un modello animale, il coniglio, i livelli di P450 2E1 nei linfociti aumentavano da 6 a 10 volte in seguito all'aggiunta del 15% di alcol all'acqua da bere per 12 giorni. Gli autori dello studio hanno anche riscontrato che il grado di induzione era correlato alla concentrazione di alcol nel sangue (BAC, *Blood Alcohol Concentration*) e che tale correlazione poteva essere dimostrata anche per BAC pari ad appena 50 mg/dl (28). Nell'uomo l'induzione dei livelli di P450 2E1 è meno marcata, e il gruppo che abusava di alcol presentava valori soltanto 2,3 volte maggiori di quelli dei soggetti di controllo (29). Non sono stati pubblicati studi su donne in gravidanza o neonati.

FAEE sintasi – è un enzima che coniuga l'etanolo con gli acidi grassi liberi per produrre i FAEE, e si è visto che è attivo nella maggior parte degli organi del corpo e nel sangue periferico, in quello del cordone ombelicale, nella placenta e nel meconio. Diversi studi hanno mostrato che l'attività tessuto-specifica della FAEE sintasi può essere alterata dall'esposizione cronica ad alcol. Gorski *et al.* hanno dimostrato nei globuli bianchi di volontari sani e non alcolisti un'induzione di circa due volte in seguito all'ingestione di due once di scotch whiskey al giorno per sei giorni. L'attività tornava poi ai livelli di controllo, nonostante venissero ingerite ancora due once al giorno per altri tre giorni (30). Inoltre, l'attività della FAEE sintasi nei globuli bianchi dei soggetti di controllo era pari a circa il doppio di quella rilevata in un gruppo di alcolisti afferenti a un'unità di disintossicazione (30). Risultati analoghi sono stati ottenuti nel ratto, il cui trattamento con etanolo per quattro settimane incrementa l'espressione genica dell'enzima FAEE sintasi nel pancreas e nel fegato (31). Questi dati suggeriscono che l'attività della FAEE sintasi possa costituire un buon marker dell'assunzione di alcol per quanto riguarda il *binge drinking*, benché le dinamiche dell'espressione dell'enzima appaiano piuttosto complesse e le alterazioni descritte si verifichino soltanto a dosaggi elevati di alcol. L'attività della FAEE sintasi non è stata studiata in donne in gravidanza o neonati.

Prodotti dell'interazione tra metaboliti dell'alcol e componenti cellulari

I seguenti potenziali marker si formano quando i prodotti del metabolismo dell'alcol interagiscono con altri componenti cellulari creando composti che possono essere individuati nel sangue o nelle urine.

Addotti proteici dell'acetaldeide – a causa della sua breve emivita, l'acetaldeide libera ha un potenziale piuttosto limitato come marker. Tuttavia, nella sua forma legata (a varie proteine), essa tende ad aumentare nel corso dell'esposizione cronica ad alcol, e sembra inoltre essere più stabile. Viene misurata mediante HPLC con rivelatore a fluorescenza – una tecnica nota come *Whole Blood-Associated Acetaldehyde Assay* (WBAA) – e può essere utilizzata per rilevare un consumo ingente di alcol (32). Tra le proteine che formano addotti dell'acetaldeide identificabili vi sono l'emoglobina, le proteine seriche, l'albumina, il CYP450 2E1 e le proteine di membrana dei globuli rossi. L'emivita prolungata di queste proteine permette al marker di fornire un profilo dell'assunzione di alcol nel tempo. In uno studio di Halvorson *et al.*, i livelli di acetaldeide legata a proteine, misurati in soggetti adulti, rimanevano elevati per circa un mese dopo il consumo di alcol (32). Sillanaukee *et al.* hanno riscontrato che la concentrazione di emoglobina-acetaldeide (Hb-Ac) era significativamente più elevata in 18 forti bevitori e in 20 alcolisti che non nei 22 soggetti di controllo (33). Inoltre, la sensibilità per l'individuazione dei forti bevitori (50%) era maggiore di quella di due dei marker tradizionali di abuso di alcol, la gamma-glutamyl transferasi e il volume corpuscolare medio (33). In un altro studio, condotto su

182 adulti ammessi in un'unità di trattamento, i livelli di Hb-Ac sono stati usati con successo per separare che beveva più di sei unità alcoliche al giorno da chi ne beveva meno, con una sensibilità e una specificità rispettivamente del 67% e del 77% (34). Tuttavia, il fatto che una singola dose di alcol fosse sufficiente a incrementare significativamente la concentrazione di Hb-Ac nei soggetti di controllo indica che di questo test non ci si può avvalere per operare una distinzione tra esposizione cronica e acuta. Esiste un solo studio che abbia esaminato gli addotti dell'acetaldeide durante la gravidanza. Gli autori hanno misurato gli addotti Hb-Ac in 19 donne classificabili come bevitrice problematiche (35). Quattro di esse hanno smesso di bere nel corso della gravidanza e le altre 15 hanno continuato ad assumere da 10 a 35 unità alcoliche a settimana. Di queste 15, sette hanno fatto registrare livelli di Hb-Ac più elevati di quelli delle donne che avevano smesso, con una sensibilità del 47% e una specificità del 100%.

Prodotti ossidativi – il metabolismo dell'alcol implica diversi processi, uno dei quali è quello ossidativo. Mediante l'ossidazione, l'alcol viene detossificato e rimosso dal sangue, impedendo in tal modo che esso si accumuli e distrugga cellule e organi. I radicali ossigeno che vengono prodotti dall'ossidazione possono poi reagire con i lipidi per formare i prodotti della perossidazione lipidica, composti quali diene e malondialdeide, i quali possono a loro volta fungere da marker misurabili nel sangue. Baldi *et al.* hanno usato i livelli di malondialdeide serica per discriminare tra un gruppo composto da 15 soggetti di controllo sani e tre gruppi di alcolisti: quelli con funzionalità epatica regolare, quelli con epatopatia alcolica non cirrotica e quelli con cirrosi (36). I risultati hanno mostrato che, a prescindere dalla presenza di epatopatia, la malondialdeide come marker per l'uso di alcol aveva una sensibilità del 70% e una specificità del 100%. In un altro studio, la concentrazione serica di dieni è risultata più elevata in soggetti che facevano uso di alcol che non nei controlli (37).

5-Idrossitriptofolo (5 HTOL) – è un prodotto del metabolismo del neurotrasmettitore serotonina. Il 5 HTOL è secreto nelle urine, dove può essere individuato per 5-15 ore in più rispetto ai parametri standard (38). Lo si può utilizzare come attendibile marker a 24 ore dal consumo di grandi quantità di alcol e, sebbene siano necessari ulteriori ricerche, i dati preliminari suggeriscono che sia un indicatore sensibile e specifico (38). Un altro indicatore di assunzione è il rapporto tra il 5-HTOL e un altro metabolita della serotonina, l'acido 5-idrossi-indolo-3-acetico (5 HIAA). In condizioni normali questo rapporto è basso, ma l'assunzione di alcol ne aumenta il valore (39). Uno svantaggio di questo marker è costituito dalla brevità della sua emivita. In uno studio che misurava il rapporto medio 5-HTOL/5-HIAA nelle urine di 16 soggetti che avevano fatto un ingente uso di alcol, i valori risultavano significativamente maggiori sia a 5 sia a 9 ore dall'assunzione, ma a 13 ore dalla stessa tornavano ai livelli base (40). Non sono stati condotti studi in donne in gravidanza o neonati.

Alterazioni strutturali/funzionali

I marker che segnalano i casi in cui l'etanolo ha modificato le normali strutture o funzioni corporee comprendono proteine alterate e indicatori precoci di danno d'organo.

Transferrina carboidrato-carente o transferrina desialilata (CDT, Carbohydrate-Deficient Transferrin) – è il marker più sensibile e più specifico di abuso alcolico cronico. La CDT è una forma modificata di transferrina (una molecola responsabile del trasporto del ferro nel sangue) e i suoi livelli risultano aumentati in seguito all'assunzione di alcol. La sua emivita è di 17 ± 4 giorni, il che significa che una volta che si è formata rimane presente nel sangue per un tempo relativamente lungo (41).

La CDT è stata ampiamente utilizzata dai clinici per lo screening del consumo elevato di alcol. Benché sembri costituire un indice di consumo alcolico altamente specifico, con un tasso

ridotto di falsi positivi, la CDT è difficile da misurare accuratamente. I ricercatori hanno anche scoperto che, in generale, le donne tendono ad avere livelli di CDT più elevati rispetto agli uomini, a prescindere dal loro rapporto con l'alcol (42). Nel sangue del cordone ombelicale, le concentrazioni di CDT sono significativamente più elevate che non nel sangue materno ma non sono correlate all'ingestione di alcol riferita (43).

Negli anni più recenti, diversi miglioramenti delle tecniche (es. i reagenti immunologici) (44) e il passaggio dalla misurazione dei valori assoluti a quella delle percentuali sulla transferrina totale (45) hanno contribuito a rendere questo marker maggiormente sensibile.

Diverse ricerche hanno rilevato che i forti bevitori mostrano valori di CDT più elevati rispetto a chi non beve. Una rassegna di 16 lavori dedicati all'uso della CDT come marker in donne con problemi di alcol (46) ha concluso che, negli studi volti a distinguere diversi gradi di severità del consumo di alcol a partire da donne che bevevano meno di due unità alcoliche al giorno, la sensibilità mediana rilevata era del 51% mentre la specificità mediana era del 92%. Tuttavia, la sensibilità si riduce notevolmente quando si confrontano forti bevitori e bevitori moderati. Il valore di questo marker risulta maggiore quando lo si utilizza in combinazione con altri test.

Proteomica – è noto che numerose proteine vengono alterate, direttamente o indirettamente, dall'alcol. La proteomica, disciplina che sta facendo progressi rapidissimi, promette la possibilità di sviluppare sofisticati marker in grado di individuare modificazioni biologiche sottili e associate specificamente con il consumo di alcol (47), o di individuare le donne che continueranno a bere durante la gravidanza e quelle che invece smetteranno (48). Recentemente, i ricercatori hanno cominciato a servirsi di una tecnica molto potente, la spettrometria di massa SELDI-TOF (*Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight*), per studiare campioni di siero provenienti da alcolisti che hanno assunto più di 10 unità alcoliche al giorno per almeno 10 anni (49). I relativi profili proteici sono stati determinati al momento dell'ammissione al programma di trattamento e dopo un certo periodo di astinenza, nonché in corrispondenza di una serie di tappe intermedie. Sono state riscontrate differenze misurabili nei livelli di due proteine, un frammento della catena alfa-E del fibrinogeno e un frammento della apoproteina A-II. Specificamente, i pazienti presentavano livelli bassi di entrambe quando ancora bevevano, e livelli significativamente più alti già dopo una sola settimana di trattamento. Nomura *et al.* hanno concluso che i due frammenti proteici costituiscono potenziali marker di consumo eccessivo di alcol nei forti bevitori che si sottopongono a trattamento (49).

Robinson *et al.*, in un lavoro preliminare, hanno indagato le alterazioni delle proteine seriche associate alla FAS (50). Lo studio di 12 bambini cui era stata diagnosticata una FAS (e che dunque dovevano necessariamente essere stati esposti all'alcol in fase prenatale) e di otto bambini di controllo ha mostrato che i due gruppi differivano significativamente nelle concentrazioni di otto proteine. Nessuna proteina, considerata singolarmente, era in grado di distinguere i bambini con FAS da quelli di controllo, ma le analisi hanno rivelato cluster di proteine che, collettivamente, erano in grado di farlo.

Dolicoli – sono composti che si trovano in grandi quantità nelle urine e nel siero degli alcolisti. La letteratura propone risultati controversi in merito al loro uso come marker dell'alcolismo. Mentre alcuni studi non hanno riscontrato alcun effetto di un consumo moderato di alcol (60 g al giorno) sui livelli di dolicoli urinari (51) o hanno rilevato una bassa sensibilità (9-19%) di questo parametro (52), altri ne hanno riscontrato concentrazioni significativamente più elevate negli alcolisti rispetto ai bevitori normali (53). Un lavoro interessante di Wisniewski *et al.* ha studiato 16 bambini che erano piccoli rispetto alla loro età gestazionale (SGA, *Small for Gestational Age*). Sei di essi, che erano nati da madri classificabili come forti bevitrici, presentavano livelli di dolicoli urinari 4-5 volte maggiori rispetto ai bambini che non erano stati

esposti ad alcol durante la gravidanza (54). Inoltre, i livelli di dolicoli urinari sono significativamente più elevati nei pazienti che presentano infezioni batteriche e tumori maligni, come anche in gravidanza (55). Su questo potenziale marker andranno condotte ulteriori ricerche.

Acido sialico (SA) – è un derivato acetilato dell'acido neuramminico, che è attaccato alle catene glucidiche delle glicoproteine e dei glicolipidi. Può essere individuato nel siero, nella saliva e nelle urine, e probabilmente ha la stessa emivita delle glicoproteine (circa 10 giorni) alle quali si lega. Elevati livelli di SA totale e/o associato ai lipidi sono stati osservati nell'alcolismo ma anche in varie altre malattie, tra cui il cancro, il diabete e l'insufficienza renale. I primi studi hanno stimato una specificità diagnostica per l'alcolismo anche del 95-100%, e una sensibilità del 51-57% (56, 57). Da un altro lavoro, in cui è stato misurato il livello di SA serico in un gruppo di alcolisti, sono risultate una sensibilità generale e una specificità rispettivamente del 63% e del 64%. Quando è stato esaminato un gruppo che consumava >400 g di alcol al giorno, la sensibilità è arrivata al 100% ma la specificità è rimasta invariata (58). La bassa specificità del SA totale potrebbe limitarne il valore clinico come marker di abuso di alcol, ma il suo possibile utilizzo come parte di un test diagnostico meriterebbe ulteriori approfondimenti.

Gamma-glutamyl-transferasi (GGT) – è un enzima prodotto prevalentemente dal fegato e implicato nel metabolismo del glutatione. Un elevato livello serico di GGT costituisce un indicatore di disfunzione epatobiliare. Tuttavia, la GGT non rappresenta un marker molto sensibile, poiché riesce a individuare solamente il 30-50% dei bevitori eccessivi nella popolazione generale (59), e non è nemmeno un marker specifico dell'abuso cronico di alcol, poiché i suoi valori risultano aumentati anche da altre patologie epatiche e da alcuni farmaci.

Aspartato/Alanina aminotransferasi (AST/ALT) – questi enzimi epatici, quantificabili nel sangue, possono costituire utili marker di abuso di alcol. Tuttavia, essi sono più utili come indicatori di epatopatia e sono meno specifici per il consumo di alcol. Dei due, l'ALT è l'indicatore più specifico di danno epatico indotto dall'alcol, poiché si trova principalmente nel fegato, mentre l'AST è presente anche in diversi altri organi tra cui il cuore, i muscoli, i reni e il cervello. Livelli molto elevati di questi enzimi (es. 500 unità/l) possono indicare un'epatopatia alcolica, e spesso il rapporto tra AST e ALT è utilizzato per confermare l'ipotesi di un notevole consumo di alcol. Tuttavia, poiché questi marker sono peraltro poco accurati nella valutazione di pazienti al di sotto dei 30 anni o al di sopra dei 70, sono nel complesso meno utili di altri (32). Uno studio ha riscontrato che i livelli di AST e ALT possedevano sensibilità e specificità comparabili nel distinguere i bevitori normali dagli alcolisti (57). Per quanto riguarda le donne in gravidanza, una ricerca che ha valutato diversi marker ha concluso che l'AST e l'ALT non costituiscono buoni indicatori di abuso di alcol (60).

Volume Corpuscolare Medio (Mean Corpuscular Volume, MCV) – è un indice delle dimensioni dei globuli rossi, ed è associato all'assunzione cronica di grandi quantità di alcol (61), in quanto i valori dei forti bevitori tendono a essere superiori alla media. Questo marker è meno utile in ambito clinico, e utilizzato da solo ha mostrato una ridotta sensibilità all'assunzione eccessiva recente e una bassa specificità per l'alcol.

Beta-esosaminidasi (beta-Hex) – è una glicosidasi lisosomiale quantificabile nel sangue e nelle urine, e i suoi livelli risultano elevati nei forti bevitori (62). Karkkainen *et al.* hanno mostrato che la beta-Hex possiede elevate sensibilità (85,7%) e specificità (97,6%) nell'individuare i forti bevitori (definiti come coloro che consumano più di 60 g di etanolo al giorno) (63). Analoghi risultati, del 94% e del 91% rispettivamente, sono stati ottenuti da altri studi (64). La beta-Hex torna ai livelli di base soltanto dopo 7-10 giorni di astinenza, ma il test è difficile da fare e i livelli possono essere influenzati da altre condizioni cliniche, come il diabete

e l'ipertensione. Lo studio di questo marker andrebbe approfondito in particolare nelle donne in gravidanza.

Batterie di test

Poiché dagli esami di laboratorio utilizzati singolarmente non si ottiene generalmente una performance adeguata, sono stati studiati vari modelli di biomarker multipli che si assume possano migliorare l'efficienza diagnostica (es. aumentando la sensibilità e la specificità). Nei primi anni Ottanta, diversi ricercatori hanno mostrato che l'analisi statistica multivariata di un elevato numero di esami del sangue era in grado di differenziare i forti bevitori dai bevitori moderati (65). Tuttavia, questi studi non hanno validato i loro risultati nella popolazione generale. Nel 1997, Hartz *et al.* hanno passato in rassegna diversi modelli basati sull'uso di test biochimici multipli per l'identificazione dei forti bevitori (66). Soltanto uno di essi, l'equazione di regressione logistica di 40 esami di laboratorio di routine, è riuscito a identificare il 98% dei forti bevitori e il 95% dai bevitori moderati, mentre le performance ottenute dagli altri erano molto variabili (66). Benché alcuni modelli sembrassero promettenti, i costi elevati del calcolo al computer negli anni Ottanta hanno reso poco pratica l'analisi statistica e i ricercatori hanno finito per abbandonare questo approccio.

Negli ultimi 10 anni, i veloci progressi tecnologici che hanno reso accessibile e poco costoso il calcolo al computer, e dunque l'esecuzione di analisi statistiche complesse, hanno spianato la strada a ulteriori studi. Brinkmann *et al.*, servendosi di un indice costituito da quattro marker tra cui GGT e CDT, hanno ottenuto una specificità del 100% e una sensibilità del 93% nel differenziare un gruppo di alcolisti da tre gruppi di non alcolisti (67). Altri studi hanno ottenuto una sensibilità mediana del 44% per ciascun test considerato singolarmente, e una del 72% per la combinazione dei diversi test, misurando sia la CDT sia la GGT di alcolisti ammessi al trattamento e di forti bevitori (46). Stoler *et al.* hanno utilizzato una combinazione di CDT, GGT, MCV e Hb-AL per studiare le donne in gravidanza. È emerso che le donne che riferivano di bere almeno 14 unità alcoliche a settimana erano positive per uno o più marker, e che la positività per due o più marker era in grado di predire le conseguenze sul feto meglio di qualsiasi altra misurazione basata sull'auto-dichiarazione. Tuttavia, in questo studio, non sono state riportate né la sensibilità né la specificità. Risultati differenti sono stati ottenuti da Sarkola *et al.*, i quali non hanno rilevato alcuna associazione tra addotti emoglobina-acetaldeide e livelli di CDT e livello di assunzione di alcol riferito da donne in gravidanza (68). Dopo aver effettuato una serie di ricerche, Harasymiw *et al.* hanno proposto una batteria di 34 esami chimici del sangue, chiamata *Early Detection of Alcohol Consumption* (EDAC, "individuazione precoce del consumo di alcol"), quale metodo pratico e dotato di un buon rapporto costi/prestazioni per l'individuazione dei bevitori eccessivi (69). Da questa misurazione i ricercatori hanno ottenuto una sensibilità del 100% e una specificità dell'82% nell'identificazione delle donne che bevevano almeno tre unità alcoliche al giorno, e una sensibilità del 42% e una specificità del 90% nell'identificazione di chi assumeva almeno sette unità a settimana o più di tre unità per occasione (69). La combinazione di EDAC e CDT ha prodotto un aumento sia della sensibilità (92%) sia della specificità (94%) per l'individuazione dei forti bevitori (70).

In generale, quello dei cosiddetti "pannelli" di esami di laboratorio di routine per l'identificazione dell'abuso di alcol sembra rappresentare un approccio pratico e non troppo costoso, e può essere utile come strumento di screening "di prima linea". Ulteriori studi sono tuttavia necessari per aumentarne la sensibilità e la specificità.

Conclusioni

Individuare l'assunzione di alcol da parte delle donne in gravidanza rappresenta un passo importante verso la prevenzione dei difetti alla nascita che possono essere associati al consumo di questa sostanza. Inoltre, l'identificazione precoce dei bambini che sono stati esposti può contribuire allo sviluppo di nuove modalità terapeutiche. Attualmente non esiste alcun esame di laboratorio che sia in grado di riconoscere e quantificare in maniera conclusiva l'assunzione di alcol in gravidanza. Sono necessarie ulteriori ricerche che provvedano a validare i biomarker potenzialmente utili e a individuare nuove possibilità.

Bibliografia

1. Bearer CF, *et al.* Fatty Acid ethyl esters: quantitative biomarkers for maternal alcohol consumption. *Journal of Pediatrics* 2005;146:824-30.
2. CDC. Alcohol use among women of childbearing age - United States, 1991-1999. *Morbidity & Mortality Weekly Report* 2002;51:273-6.
3. Goodlett CRHKH. Mechanisms of alcohol-induced damage to the developing nervous system. *The Journal Of The National Institute On Alcohol Abuse And Alcoholism* 2001;25:175-84.
4. Russell M, Skinner JB. Early measures of maternal alcohol misuse as predictors of adverse pregnancy outcomes. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;12:824-30.
5. Eckardt MJ, *et al.* Effects of moderate alcohol consumption on the central nervous system. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:998-1040.
6. Streissguth AP, *et al.* Moderate prenatal alcohol exposure: effects on child IQ and learning problems at age 7 1/2 years. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:662-9.
7. Jacobson SW, *et al.* Effects of alcohol exposure on infant reaction time. *Alcohol Clin Exp Res* 1994;18:1125-32.
8. Stratton K, *et al.* Fetal alcohol syndrome: diagnosis, epidemiology, prevention, and treatment. In: *I.o. Medicine*. Washington, DC: National Academy Press; 1996. vol. 57.
9. Sampson PD, *et al.* Incidence of fetal alcohol syndrome and prevalence of alcohol-related neurodevelopmental disorder. *Teratology* 1997;56:317-26.
10. Stoler JM, Holmes LB. Recognition of facial features of fetal alcohol syndrome in the newborn. *American Journal of Medical Genetics* 2004;127C:21-7.
11. Grant, T, *et al.* A pilot community intervention for young women with fetal alcohol spectrum disorders. *Community Ment Health J* 2004;40:499-511.
12. Little BB, *et al.* Failure to recognize fetal alcohol syndrome in newborn infants. *American Journal of Diseases in Childhood* 1990;144:1142-6.
13. Savage CL, *et al.* Measurement of maternal alcohol consumption in a pregnant population. *Substance Abuse* 2002;23:211-4.
14. Bearer CF, *et al.* Validation of a new biomarker of fetal exposure to alcohol. *Journal of Pediatrics* 2003;143:463-9.
15. Chan D, *et al.* Population baseline of meconium fatty acid ethyl esters among infants of non drinking women in Jerusalem and Toronto. *Therapeutic Drug Monitoring* 2003;25:271-8.
16. Russell M, *et al.* Detecting risk drinking during pregnancy: a comparison of four screening questionnaires. *American Journal of Public Health* 1996;86:1435-9.
17. Cudd TA. Animal model systems for the study of alcohol teratology. *Exp Biol Med* 2005;230:389-93.

18. Caprara D, *et al.* A Guinea pig model for the Identification of In utero alcohol exposure using Fatty acid ethyl esters in neonatal hair. *Pediatr Res* 2005;58:1158-63.
19. Soderberg BL, *et al.* Preanalytical variables affecting the quantification of fatty acid ethyl esters in plasma and serum samples. *Clinical Chemistry* 1999;45:2183-90.
20. Chan D, *et al.* Placental handling of fatty acid ethyl esters: perfusion and subcellular studies. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;310:75-82.
21. Bearer CF, *et al.* FAEE: biomarker for prenatal alcohol use. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:139A.
22. Mac E, *et al.* A marker of fetal exposure to alcohol by meconium analysis. *Pediatric Research* 1994;35:238A.
23. Bearer CF, *et al.* Ethyl linoleate in meconium: a biomarker for prenatal ethanol exposure. *Alcohol: Clinical and Experimental Research* 1999;23:487-93.
24. Pragst F, *et al.* Analysis of fatty acid ethyl esters in hair as possible markers of chronically elevated alcohol consumption by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Forensic Sci Int* 2001;121:76-88.
25. Wurst FM, *et al.* Ethyl glucuronide--a marker of alcohol consumption and a relapse marker with clinical and forensic implications. *Alcohol and Alcoholism* 1999;34:71-7.
26. Schloegl H, *et al.* Stability of ethyl glucuronide in urine, post-mortem tissue and blood samples. *Int J Legal Med* 2005;30:1-6.
27. Lucas D, *et al.* Decrease in cytochrome P4502E1 as assessed by the rate of chlorzoxazone hydroxylation in alcoholics during the withdrawal phase. *Alcohol Clin Exp Res* 1995;19:362-6.
28. Raucy J, *et al.* Use of lymphocytes for assessing ethanol-mediated alterations in the expression of hepatic cytochrome P4502E1. *Alcohol Clin Exp Res* 1995;19:1369-75.
29. Raucy J, *et al.* Human lymphocyte cytochrome P450 2E1, a putative marker for alcohol-mediated changes in hepatic chlorzoxazone activity. *Drug Metab Dispos* 1997;25:1429-35.
30. Gorski N, *et al.* Reduced fatty acid ethyl ester synthase activity in the white blood cells of alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:268-74.
31. Pfutzer R, *et al.* Pancreatic cholesterol esterase, ES-10, and fatty acid ethyl ester synthase III gene expression are increased in the pancreas and liver but not in the brain or heart with long-term ethanol feeding in rats. *Pancreas* 2002;25:101-6.
32. Halvorson M, *et al.* Comparative evaluation of the clinical utility of three markers of ethanol intake: the effect of gender. *Alcohol Clin Exp Res* 1993;17:225-9.
33. Sillanaukee P, *et al.* Acetaldehyde-modified hemoglobin as a marker of alcohol consumption: comparison of two new methods. *J Lab Clin Med* 1992;120:42-7.
34. Hazelett SE, *et al.* Evaluation of acetaldehyde-modified hemoglobin and other markers of chronic heavy alcohol use: effects of gender and hemoglobin concentrations. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:1813-19.
35. Niemela O, *et al.* Hemoglobin-acetaldehyde adducts are elevated in women carrying alcohol-damaged fetuses. *Alcohol Clin Exp Res* 1991;15:1007-10.
36. Baldi, E, *et al.* Serum malondialdehyde and mitochondrial aspartate aminotransferase activity as markers of chronic alcohol intake and alcoholic liver disease. *Italian Journal of Gastroenterology* 1993;25:429-32.
37. Butcher G, *et al.* The effect of antioxidant supplementation on a serum marker of free radical activity and abnormal serum biochemistry in alcoholic patients admitted for detoxification. *J Hepatol* 1993;19:105-9.
38. Beck O, Helander A. 5-hydroxytryptophol as a marker for recent alcohol intake. *Addiction* 2003;98:63-72.

39. Johnson R, *et al.* Accurate assignment of ethanol origin in postmortem urine: liquid chromatographic-mass spectrometric determination of serotonin metabolites. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2004;805:223-34.
40. Bisaga A, *et al.* Comparison of serum fatty acid ethyl esters and urinary 5-hydroxytryptophol as biochemical markers of recent ethanol consumption. *Alcohol Alcohol* 2005;40:214-8.
41. Reynaud M, *et al.* Usefulness of carbohydrate-deficient transferrin in alcoholic patients with normal gamma-glutamyltranspeptidase. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;2:615-8.
42. Arndt T. Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation. *Clin Chem* 2001;47:13-27.
43. Whitty J, *et al.* Cord blood carbohydrate-deficient transferrin levels are markedly higher than maternal. *J Matern Fetal Med* 1997;6:45-8.
44. Bean P, *et al.* Innovative technologies for the diagnosis of alcohol abuse and monitoring abstinence. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25:309-16.
45. Anttila P, *et al.* Method-dependent characteristics of carbohydrate-deficient transferrin measurements in the follow-up of alcoholics. *Alcohol Alcohol* 2004;39:59-63.
46. Allen JP, *et al.* Carbohydrate-deficient transferrin, gamma-glutamyltransferase, and macrocytic volume as biomarkers of alcohol problems in women. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24:492-6.
47. Anni H, Israel Y. Proteomics in alcohol research. *Alcohol Res Health* 2002;26:219-32.
48. Neuhold LA, *et al.* High-throughput proteomics for alcohol research. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28:203-10.
49. Nomura F, *et al.* Identification of novel and downregulated biomarkers for alcoholism by surface enhanced laser desorption/ionization-mass spectrometry. *Proteomics* 2004;4:1187-94.
50. Robinson MK, *et al.* Two-dimensional protein electrophoresis and multiple hypothesis testing to detect potential serum protein biomarkers in children with fetal alcohol syndrome. *Electrophoresis* 1995;16:1176-83.
51. Roine R. Effects of moderate drinking and alcohol abstinence on urinary dolichol levels. *Alcohol* 1988;5:229-31.
52. Stetter, F, *et al.* Urinary dolichol – a doubtful marker of alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 1991;15:938-41.
53. Roine R, *et al.* Effect of alcohol on urinary and blood dolichols. *Biochem Cell Biol* 1992;70:404-7.
54. Wisniewski KE, *et al.* Increased urinary dolichol in newborns whose mothers were heavy alcohol users. *Annals of Neurology* 1983;14:382.
55. Roine R, *et al.* Significant increases in urinary dolichol levels in bacterial infections, malignancies and pregnancy but not in other clinical conditions. *Ann Med* 1989;21:13-6.
56. Romppanen J, *et al.* Serum sialic acid as a marker of alcohol consumption: effect of liver disease and heavy drinking. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:1234-8.
57. Sillanaukee P, *et al.* Sialic acid: new potential marker of alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:1039-43.
58. Idiz N, *et al.* Serum sialic acid and gamma-glutamyltransferase levels in alcohol-dependent individuals. *Forensic Sci Int* 2004;146:67-70.
59. Conigrave KM, *et al.* Traditional makers of excessive alcohol use. *Addiction* 2003;98:31-43.
60. Halmesmaki E, *et al.* Gamma-glutamyltransferase, aspartate and alanine aminotransferases and their ratio, mean cell volume and urinary dolichol in pregnant alcohol abusers. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:287-91.

61. Neumann T, Spies C. Use of biomarkers for alcohol use disorders in clinical practice. *Addiction* 2003;98:81-91.
62. Javors M, Johnson BA. Current status of carbohydrate deficient transferrin, total serum sialic acid, sialic acid index of apolipoprotein J and serum beta-hexosaminidase as markers for alcohol consumption. *Addiction* 2003;98:45-50.
63. Karkkainen P, *et al.* Serum beta-hexosaminidase as a marker of heavy drinking. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:187-90.
64. Stoler JM, *et al.* The prenatal detection of significant alcohol exposure with maternal blood markers. *Journal of Pediatrics* 1998;133:346-52.
65. Lichtenstein MJ, *et al.* Derivation and validation of a prediction rule for identifying heavy consumers of alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1989;13:626-30.
66. Hartz AJ, *et al.* Identification of heavy drinkers using a combination of laboratory tests. *J Clin Epidemiol* 1997;50:1357-68.
67. Brinkmann B, *et al.* ROC analysis of alcoholism markers--100% specificity. *International Journal of Legal Medicine* 2000;113:293-9.
68. Sarkola T, *et al.* Mean cell volume and gamma-glutamyl transferase are superior to carbohydrate-deficient transferrin and hemoglobin-acetaldehyde adducts in the follow-up of pregnant women with alcohol abuse. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2000;79:359-66.
69. Harasymiw JW, *et al.* The early detection of alcohol consumption (EDAC) score in the identification of Heavy and at-risk drinkers from routine blood tests. *Journal of Addictive Diseases* 2000;19:43-59.
70. Harasymiw J, Bean P. The combined use of the early detection of alcohol consumption (EDAC) test and carbohydrate-deficient transferrin to identify heavy drinking behaviour in males. *Alcohol Alcohol* 2001;36:349-53.

ESPOSIZIONE PRENATALE AD ALCOL: APPROCCIO CLINICO ALLA DIAGNOSI*

Melanie A. Manning, H. Eugene Hoyme

Department of Pediatrics, Stanford University School of Medicine, Stanford, California, USA

Cenni storici

Gli effetti avversi dell'esposizione ad alcol sullo sviluppo del feto sono noti da secoli, come testimoniano alcuni testi di Aristotele (1) e degli scrittori biblici (Libro dei Giudici 13:4, 2). Venendo a tempi più recenti, i medici inglesi del Settecento descrivevano i figli delle donne alcoliste come "gracili, deboli e malaticci" (3). Sullivan, nel 1899 (4), prese nota di un'osservazione interessante a proposito delle donne alcoliste recluse nelle carceri inglesi: esse facevano registrare percentuali più elevate di aborto spontaneo, e i loro figli mostravano un pattern caratteristico di difetti alla nascita. Ma è ancor più interessante che Sullivan abbia notato che i bambini tendevano a godere di condizioni di salute migliori quando la gravidanza era stata trascorsa in prigione, indicando chiaramente la valenza preventiva dell'astinenza.

Il legame tra consumo di alcol in gravidanza e anomalie dello sviluppo fetale fu messo in luce per la prima volta da un lavoro di Lemoine *et al.* (5) in cui venivano descritti i problemi comunemente riscontrati nei figli di donne che facevano un notevole uso di bevande alcoliche. Tuttavia, questi autori non trassero troppe conclusioni e non proposero criteri diagnostici (6). Fu così che l'insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*, FASD) mancò di essere riconosciuto dalle comunità mediche europee e occidentali fino al 1973, anno in cui Jones *et al.* (7) e Jones e Smith (8) descrissero nei dettagli un pattern ricorrente di malformazioni e di conseguenze a lungo termine osservabili nei figli di donne che avevano assunto notevoli quantitativi di alcol in gravidanza. Gli autori denominarono questa condizione "sindrome fetoalcolica" (FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*) e proposero un insieme di criteri diagnostici. Poco tempo dopo vennero sviluppati i primi modelli animali che dimostravano gli effetti teratogeni dell'alcol sullo sviluppo del feto (9, 10).

Impatto socio-economico

Il FASD è stato indicato come uno dei principali problemi di salute pubblica nella totalità dei Paesi in cui le donne assumono bevande alcoliche durante la gravidanza (11), e la FAS è stata individuata nella totalità dei gruppi razziali ed etnici (12). A causa dell'elevato numero di fattori che influiscono sull'accertamento e sulla diagnosi dei casi, la reale prevalenza del FASD non è facile da determinare (13), ma le stime relative alla FAS nella popolazione generale degli Stati Uniti vanno da 0,5 a 2 ogni 1.000 nascite (13). In Sudafrica – il Paese che presenta il tasso di FAS più elevato al mondo – è stata stimata una prevalenza di 39,2-46,4 ogni 1.000 nascite (14). La FAS conclamata costituisce soltanto uno dei possibili esiti dell'esposizione prenatale ad

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Manning MA, Hoyme HE. Fetal alcohol spectrum disorders: a practical clinical approach to diagnosis. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):230-8.

alcol, ma la stima della prevalenza dell'insieme dei disturbi FASD può risultare ancora più difficoltosa in quanto il dibattito concernente i criteri diagnostici e di categorizzazione è ancora in corso (11). Sembra tuttavia ragionevole assumere che quest'ultima sia maggiore rispetto alla prevalenza della sola FAS, e dunque non sarebbe sorprendente una stima del 9-10%, o dell'1% dei nati vivi (13, 15).

Se realmente gli effetti dell'esposizione prenatale ad alcol riguardano l'1% dei nati vivi, l'impatto economico del FASD può essere considerato davvero significativo. Secondo la stima di Lupton *et al.* (16), la spesa media nell'arco della vita (tenendo conto di alloggio, cure mediche e perdita di produttività) per ciascun individuo con FAS ammonta a due milioni di dollari. Negli Stati Uniti, i costi sostenuti per la cura dei pazienti con FAS sono stati stimati – nel 1998 – superiori ai quattro miliardi l'anno (16). Queste cifre dimostrano oggettivamente l'enorme impatto che il consumo materno di alcol ha individualmente sui bambini con FASD e globalmente sulla società (16).

Manifestazioni cliniche e loro valutazione

Poiché la prevalenza del FASD potrebbe riguardare l'1% di tutti i nati vivi, è necessario che i medici siano a conoscenza dello spettro delle manifestazioni cliniche che questi disturbi possono presentare. Il classico fenotipo FAS descritto inizialmente da Jones e Smith (8) funge ancora oggi da riferimento fondamentale. I segni e i sintomi della FAS sono suddivisi in tre categorie principali: 1) pattern caratteristico di anomalie facciali (rime palpebrali brevi, filtro nasale ipoplasico, bordo vermiglio del labbro superiore sottile); 2) ritardo della crescita (pre- e/o postnatale); 3) anomalie del sistema nervoso centrale (es. microcefalia) (17). I medici dovrebbero prendere in particolare considerazione la possibilità di una diagnosi di FAS quando queste caratteristiche sono osservabili nei genitori, e assicurarsi di ottenere una storia prenatale completa, tenendo anche presente che il rischio di danni indotti dall'alcol non tiene conto della razza (18).

È probabile che molti medici tendano a sottodiagnosticare il FASD e che non siano preparati a riconoscerne tutte le possibili “ramificazioni” (19). Una buona soluzione può dunque essere quella di una valutazione multidisciplinare del bambino o dell'adulto con sospetto di FAS (o FASD), effettuata da un'équipe che dovrebbe comprendere: un medico esperto nella valutazione di una vasta gamma di disabilità dello sviluppo (sia genetiche sia teratogeniche), uno psicologo e/o un neuropsicologo, un pedagogista e un intervistatore esperto. Anche fisioterapisti e terapisti occupazionali e del linguaggio possono offrire un importante contributo (6, 20).

Ciascun bambino per cui esista un sospetto di disabilità dovuta a FASD va esaminato attentamente rispetto a tre grandi categorie di manifestazioni cliniche caratteristiche (6):

- 1) Pattern tipico di anomalie facciali minori, che include:
 - i. Rime palpebrali brevi, la cui misura si situa in corrispondenza o al di sotto del 10° percentile, rispetto possibilmente ai parametri tipici della razza.
 - ii. Filtro nasale ipoplasico o appiattito, corrispondente a un punteggio di 4 o 5 sulla scala a 5 punti della Guida del filtrum labiale (facilmente consultabile su Internet).
 - iii. Bordo vermiglio del labbro superiore sottile, corrispondente a un punteggio di 4 o 5 sulla scala a 5 punti della Guida del filtrum labiale.
- 2) Peso e lunghezza corporea attestanti un ritardo della crescita pre- e/o postnatale, con entrambi i valori $\leq 10\%$, rispetto possibilmente ai parametri tipici della razza.
- 3) Presenza di anomalie del sistema nervoso centrale riconducibili a danni cerebrali strutturali o funzionali. Esse possono comprendere: microcefalia (OFC - *OccipitoFrontal Circumference* - o circonferenza occipito-frontale: $\leq 10\%$), anomalie strutturali del

cervello, deficit motori, tono muscolare anomalo, tremori, deficit uditivi neurosensoriali e anomalie visive.

L'esame fisico approfondito è fondamentale per la valutazione di un individuo con sospetto di FASD. In aggiunta ai tratti facciali tipici, che fungono da criterio diagnostico, possono essere presenti, a supporto della diagnosi, ulteriori anomalie minori o maggiori, quali ipoplasia della porzione mediale del volto, pliche epicantali, ipertelorismo, palato ogivale, micrognazia, orecchie a binario, naso corto e rivolto in alto, anomalie delle pieghe palmari, ipoplasia ungueale e contratture articolari. Il punteggio assegnato a ciascuno di questi parametri potrà servire a quantificare i dismorfismi nel corso della valutazione dei pazienti con una storia di esposizione ad alcol (6), e si è dimostrata particolarmente utile nell'investigazione clinica del FASD.

I soggetti esposti ad alcol prenatalmente possono presentare malformazioni anche in altri organi, come il cuore e i reni. Le anomalie cardiovascolari possono includere difetti settali e arterie polmonari ipoplasiche (21, 22), mentre le complicazioni renali comprendono pielonefrite, ematuria, idronefrosi e ipoplasia mono o bilaterale (23, 24). Sono state inoltre descritte anomalie ortopediche come sinostosi radio-ulnare, camptodattilia delle mani, brachidattilia e clinodattilia del primo e del quinto dito del piede (25).

Oltre che sull'esame fisico approfondito, la valutazione dei possibili effetti avversi dell'esposizione prenatale ad alcol deve essere basata su un accurato esame neurocognitivo e comportamentale. In alcuni casi la diagnostica cerebrale per immagini può offrire un valido contributo. È stato ipotizzato che l'esposizione ad alcol nei primi 85 giorni di gestazione alteri lo sviluppo di strutture cerebrali specifiche, quali il corpo calloso e la commissura anteriore (26). Alcuni difetti strutturali – tra cui anomalie delle dimensioni e della forma del cervello, agenesia del corpo calloso e dimensioni ridotte del cervelletto, dei ventricoli e dei gangli basali – sono stati confermati mediante autopsia o mediante tecniche di diagnostica per immagini, come la CT (*Computed Tomography*, tomografia computerizzata) e la MRI (*Magnetic Resonance Imaging*, risonanza magnetica per immagini) (11, 27). La vasta gamma dei problemi comportamentali e cognitivi associati all'esposizione prenatale ad alcol comprende difficoltà nell'apprendimento verbale e non-verbale, ritardi del linguaggio, deficit attentivi e disturbi delle funzioni esecutive (6, 11, 20, 27, 28).

Criteri diagnostici

Da quando i criteri diagnostici classici della FAS furono delineati da Jones e Smith nel 1973 (8), numerosi altri sistemi di classificazione sono stati suggeriti nel tentativo di standardizzare e chiarire lo spettro FASD. Il *Fetal Alcohol Study Group* della *Research Society on Alcoholism* ha proposto di utilizzare il termine “effetti dell'alcol sul feto” (FAE, *Fetal Alcohol Effects*) per descrivere i bambini che mostrano alcune, ma non tutte, le caratteristiche associate alla FAS (29). Tuttavia, poiché si trattava di un'espressione piuttosto vaga, poco definita e utilizzata non specificamente, molti autori ne hanno auspicato l'abbandono (30). L'esistenza di una gamma di conseguenze più ampia di quanto previsto dalla vera e propria FAS classica si faceva però sempre più evidente, e nel 1996 l'*Institute of Medicine* (IOM) della *National Academy of Sciences* ha proposto un insieme di categorie diagnostiche che includevano questi fenotipi meno gravi (27). Esse abbracciano l'intero spettro delle anomalie fetali associate all'alcol. Tuttavia, anche queste categorie rimangono in qualche misura vaghe, e non viene definito alcun criterio diagnostico specifico, così che il sistema ha scarsa utilità clinica pratica.

Astley e Clarren (31) hanno proposto un altro sistema di classificazione che comprende le manifestazioni dell'intero spettro FASD. Esso è basato su un codice diagnostico a quattro cifre,

finalizzato a meglio quantificare e misurare oggettivamente le caratteristiche tipiche così da eliminare le ambiguità del sistema IOM. Ciascuna caratteristica è valutata su una scala Likert a 5 punti. Tuttavia, poiché a partire dai 4 criteri diagnostici fondamentali (ritardo della crescita, fenotipo facciale tipico della FAS, danno/disfunzione del sistema nervoso centrale, esposizione ad alcol *in utero*) si può giungere in sede di valutazione a 256 combinazioni uniche e a 22 sottotipi diagnostici, anche di questo sistema è stata messa in discussione l'utilità clinica pratica (6). Largamente utilizzato è tuttavia uno strumento che è stato sviluppato come parte di esso, ovvero la Guida del filtrum labiale. Essa offre un contributo importante alla valutazione del FASD (6, 20) ed è stata in grado di standardizzare e di rendere maggiormente oggettivo l'esame delle caratteristiche della porzione mediale del volto dei soggetti esposti prenatalmente ad alcol (31).

Successivamente al lavoro di Astley e Clarren sono stati proposti molti altri sistemi per la valutazione clinica dei bambini e degli adulti con sospetto di FASD. Le linee guida pubblicate nel 2004 dai *Centers for Disease Control and prevention* (CDC) hanno ribadito i criteri originariamente indicati da Jones per la diagnosi della FAS vera e propria (32) ma non hanno approfondito la definizione di FASD (33). Più recentemente sono state redatte le linee guida canadesi per la diagnosi (*Canadian Diagnostic Guidelines*) (20), che combinano il sistema IOM e il codice diagnostico a quattro cifre e che sottolineano l'importanza di un approccio multidisciplinare per garantire una diagnosi accurata e approfondita. Analogo ad esse è il nuovo sistema IOM revisionato (*Revised IOM Diagnostic Classification System*) (6), che ha in più il vantaggio di essere stato testato su un'ampia coorte internazionale e multirazziale di bambini e di essersi dimostrato inequivocabile nell'uso e riproducibile nei risultati. Oltre a raccomandare l'utilizzo di un approccio multidisciplinare, questo sistema sottolinea come, prima di diagnosticare FASD, sia fondamentale compiere un'approfondita valutazione differenziale delle possibili cause genetiche e teratogeniche delle anomalie dello sviluppo evidenziate.

Le sei categorie diagnostiche del FASD indicate dal sistema IOM revisionato (6) sono le seguenti: le categorie 1 e 2 prevedono la presenza di tutte le caratteristiche del fenotipo tipico della FAS e differiscono unicamente per la conferma o la mancata conferma dell'esposizione materna ad alcol. Entrambe implicano l'osservazione di anomalie nella totalità delle aree (ritardo della crescita, anomalie facciali minori caratteristiche, difetti della crescita o della struttura del cervello). Le categorie 3 e 4 si differenziano anch'esse tra di loro in base all'esistenza o alla mancanza di una documentazione che attesti l'esposizione materna ad alcol, ma sono denominate PFAS, ovvero sindrome fetoalcolica parziale. I bambini ricevono una diagnosi di PFAS quando mostrano le caratteristiche facciali tipiche insieme ad anomalie in una delle altre due aree (crescita e struttura/funzione del sistema nervoso centrale). I bambini e gli adulti che rientrano nella categoria 5, denominata ARBD (*Alcohol-Related Birth Defects*, difetti alla nascita alcol-correlati), sono quelli in cui si osservano una crescita e uno sviluppo normali (eccezione fatta per la facies caratteristica della FAS) ma che mostrano anomalie strutturali specifiche che sono state messe in relazione, da studi condotti sull'uomo o sugli animali, agli effetti teratogeni dell'alcol (es. anomalie minori multiple – ipoplasia unguelae, clinodattilia, anomalie delle pieghe palmari –, o malformazioni maggiori del cuore, dei reni o dell'apparato scheletrico). La categoria 6 è quella dei disordini dello sviluppo neuronale alcol-correlati (*Alcohol-Related Neurodevelopmental Disorders*, ARND). Si tratta dei bambini che, a dispetto di una crescita e di uno sviluppo anche in questo caso normali, mostrano un pattern caratteristico di alterazioni comportamentali o cognitive, le quali devono essere riconducibili a un'esposizione prenatale ad alcol e non essere spiegabili unicamente in base a predisposizioni genetiche o a caratteristiche familiari.

Se una valutazione fisica accurata e approfondita è fondamentale per individuare un fenotipo diagnostico FASD, gli esami neuroevolutivi specifici lo sono altrettanto per evidenziare le

anomalie cognitive e comportamentali che gli sono associate. I bambini con FASD mostrano spesso disturbi del funzionamento esecutivo (pianificazione, valutazione, soluzione di problemi complessi), ma i semplici test del QI (quoziente intellettivo) non sono in grado di differenziarli dai bambini le cui disabilità evolutive sono attribuibili ad altre cause (6). È dunque raccomandato l'utilizzo di test neuropsicologici atti a valutare l'esecuzione di compiti complessi che richiedano un notevole impegno cognitivo – es. *Matrici Progressive di Raven*, PPVT (*Peabody Picture Verbal Test*), CLVT (*California Verbal Learning Test*), *Matching Familiar Figures Test*, *Reversal Learning and Extinction* – (6, 28, 34). La valutazione comportamentale può avvalersi di strumenti quali l'*Adaptive Behavior Assessment System*, la *Personal Behaviors Checklist* e la *Vineland Behavior Assessment Scale* (6, 35, 36). Perché i risultati ottenuti siano validi, è importante che questi test siano eseguiti da psicologi, neuropsicologi o pedagogisti esperti nella loro somministrazione.

Diagnosi differenziale

Prima di porre una diagnosi di FASD è necessario escludere altre sindromi genetiche e malformative (6), molte delle quali hanno numerose caratteristiche cliniche in comune con la FAS. Tra le più diffuse, la sindrome di Williams, la sindrome di De Lange e la sindrome velocardiofaciale. Occorre, inoltre, essere molto cauti nell'esaminare il figlio di una donna che sappiamo aver assunto bevande alcoliche in gravidanza. Etichettare un bambino come soggetto FASD in base alla sola storia materna, senza prendere nella dovuta considerazione gli altri criteri diagnostici, è del tutto inappropriato e va assolutamente evitato.

Conclusioni

È ormai acclarato che FAS e FASD costituiscono problemi medici e di salute pubblica di grande rilievo (39). L'identificazione precoce e la diagnosi accurata sono fondamentali per poter offrire ai soggetti colpiti le cure mediche più appropriate e per dare un avvio tempestivo agli eventuali interventi comportamentali. È stato proposto un sistema revisionato di classificazione diagnostica che può essere utilizzato dai medici per valutare i pazienti con sospetto di disabilità associate ad esposizione prenatale ad alcol. Per una diagnosi accurata è fondamentale sia eseguire un esame fisico approfondito sia ottenere una storia prenatale, medica e familiare completa. La diagnosi differenziale deve tenere anche conto di altri tipi di sindromi genetiche e malformative, e quella di FASD deve rimanere una diagnosi d'esclusione. Per un approccio il più possibile completo alla gestione e al trattamento, è comunque raccomandata una valutazione multidisciplinare che si avvalga della collaborazione di un genetista clinico, di uno psicologo/neuropsicologo e di un pedagista. Il crescente riconoscimento dell'importanza di questo problema di salute pubblica fa ben sperare nella messa a punto a breve termine di valide strategie di trattamento e di prevenzione.

Bibliografia

1. Abel EL. Was the fetal alcohol syndrome recognized by the Greeks and Romans? *Alcohol Alcohol* 1999;34:868-72.
2. *Holy Bible: New International Version*. Grand Rapids, MI: Zondervan, 1978.

3. Royal College of Physicians of London. *Annals of the Royal College of Physicians* 1726:253.
4. Sullivan WC. A note on the influence of maternal inebriety on the offspring. *J Ment Sci* 1899;45:489-503.
5. Lemoine P, Harousseau H, Borteyru JP, Menuet JC. Les enfants des parents alcooliques : Anomalies observees a propos de 127 cas [The children of alcoholic parents : Anomalies observed in 127 cases]. *Ouest Med* 1968;8:476-82.
6. Hoyme HE, May PA, Kalberg WO, Kodituwakku P, Gossage JP, Trujillo PM, *et al.* A practical clinical approach to diagnosis of fetal alcohol spectrum disorders: Clarification of the 1996 Institute of Medicine criteria. *Pediatrics* 2005;115:39-47.
7. Jones KL, Smith DW, Ulleland CN, Streissguth AP. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet* 1973;1:1267-71.
8. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;2:999-1001.
9. Chernoff GF. The fetal alcohol syndrome in mice: An animal model. *Teratology* 1977;15:223-29.
10. Randall CL, Taylor WJ, Walker DW. Ethanol-induced malformations in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 1977;1:219-24.
11. Riley EP, McGee CL. Fetal alcohol spectrum disorders: An overview with emphasis on changes in brain and behavior. *Exp Biol Med* 2005;230:357-65.
12. Abel EL. An update on incidence of FAS: FAS is not an equal opportunity birth defect. *Neurotoxicol Teratol* 1995;17:437-43.
13. May PA, Gossage JP. Estimating the prevalence of fetal alcohol syndrome: A summary. *Alcohol Res Health* 2001;25:159-67.
14. May PA, Brooke L, Gossage JP, Croxford J, Adnams C, Jones KL, Robinson L, *et al.* Epidemiology of fetal alcohol syndrome in a South African community in the Western Cape Province. *Am J Public Health* 2000;90:1905-12.
15. Sampson PD, Streissguth AP, Bookstein FL, Little RE, Clarren SK, Dehaene P, *et al.* Incidence of fetal alcohol syndrome and prevalence of alcohol-related neurodevelopmental disorder. *Teratology* 1997;56:317-26.
16. Lupton C, Burd L, Harwood R. Cost of fetal alcohol spectrum disorders. *Am J Med Genet* 2004; 127C:42-50.
17. May PA, Gossage JP, White-Country M, Goodhart K, Decoteau S, Trujillo PM, *et al.* Alcohol consumption and other maternal risk factors of fetal alcohol syndrome among three distinct samples of women before, during, and after pregnancy: The risk is relative. *Am J Med Genet* 2004; 127C:10-20.
18. Stoler JM, Holmes LB. Recognition of facial features of fetal alcohol syndrome in the newborn. *Am J Med Genet* 2004;127C:21-27.
19. Morse BA, Idelson RK, Sachs WH, Weiner L, Kaplan LC. Pediatricians' perspectives on fetal alcohol syndrome. *J Subst Abuse* 1992; 4:187-95.
20. Chudley AE, Conry J, Cook JL, Loock C, Rosales T, LeBlanc N. Fetal alcohol spectrum disorder: Canadian guidelines for diagnosis. *Can Med Assoc J* 2005;172:S1-S21.
21. Dupuis C, Dehaene P, Deroubaix-Tella P, Blanc-Garin AP, Rey C, Carpenter-Courault C. Cardiomyopathy in children born of alcoholic mothers. *Ach Mal Coeur* 1978;71:565-72.
22. Steeg CN, Woolf P. Cardiovascular malformations in the fetal alcohol syndrome. *Am Heart J* 1979;139:58-63.
23. Qazi Q, Masakawa A, McGann B, Woods J. Dermatoglyphic abnormalities in the fetal alcohol syndrome. *Teratology* 1980;21:157-60.

24. Steinhausen HC, Nestler V, Spohr HL. Development and psychopathology of children with fetal alcohol syndrome. *Dev Behav Pediatr* 1982;3:49-54.
25. Spiegel PG, Pekman WM, Rich BH, Versteeg CN, Nelson V, Dudnikov M. The orthopedic aspects of the fetal alcohol syndrome. *Clin Orthop* 1979;58-63.
26. Clarren SK. Neuropathology in fetal alcohol syndrome. In: West JR (Ed.). *Alcohol and brain development*. New York: Oxford University Press; 1986. p. 158-67.
27. Stratton KR, Howe CJ, Battaglia FC (Ed.). *Fetal Alcohol Syndrome: diagnosis, epidemiology, prevention, and treatment*. Washington, DC: National Academy Press; 1996.
28. Connor PD, Sampson PD, Bookstein FL, Barr HM, Streissguth AP. Direct and indirect effects of prenatal alcohol damage on executive function. *Dev Neuropsychol* 2000;18:331-54.
29. Rosett HL. A clinical perspective of the fetal alcohol syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 1980;4:119-22.
30. Aase JM, Jones KL, Clarren SK. Do we need the term "FAE"? *Pediatrics* 1995;95: 428-30.
31. Astley SJ, Clarren SK. Diagnosing the full spectrum of fetal alcohol-exposed individuals: Introducing the 4-digit diagnostic code. *Alcohol Alcohol* 2000;35:400-10.
32. Jones KL. From recognition to responsibility: Josef Warkany, David Smith, and the fetal alcohol syndrome in the 21st century. *Birth Defects Res, Part A* 2003;67:13-20.
33. Bertrand J, Floyd RL, Weber MK, O'Connor M, Riley EP, Johnson KA, Cohen DE, National Task Force on FAS/FAE. *Fetal Alcohol Syndrome: guidelines for referral and diagnosis*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2004. Disponibile all'indirizzo: http://www.cdc.gov/ncbddd/fas/documents/FAS_guidelines_accessible.pdf; ultima consultazione 25/11/08.
34. Spreen O, Strauss E. *A compendium of neuropsychological tests: administration, norms, and commentary*. New York, NY: Oxford University Press; 1998.
35. Streissguth AP, Barr H. *Personal behaviors checklist*. Seattle, WA: University of Washington School of Medicine; 1998.
36. Streissguth AP, Bookstein FL, Barr HM, Press S, Sampson PD. A fetal alcohol behavior scale. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:325-33.
37. Thomas IT, Gaitantzis YA, Frias JL. Palpebral fissure length from 29 weeks gestation to 14 years. *J Pediatr* 1987;111:267-8.
38. Jones KL. *Smith's recognizable patterns of human malformation*. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2005.
39. Sokol RJ, Delaney-Black V, Nordstrom B. Fetal alcohol spectrum disorder. *JAMA* 2003;290:2996-9.

DIAGNOSTICA PER IMMAGINI E FASD*

Andrea D. Spadoni (a), Christie L. McGee (a), Susanna L. Fryer (a), Edward P. Riley (b)

(a) *Joint Doctoral Program in Clinical Psychology, San Diego State University / University of California, San Diego*

(b) *Department of Psychology and the Center for Behavioral Teratology, San Diego State University, San Diego, CA, USA*

Introduzione

Gli effetti devastanti esercitati dall'esposizione prenatale ad alcol sull'embrione e sul feto in via di sviluppo possono essere rappresentati come un *continuum* di anomalie fisiche e di deficit neurocognitivi e comportamentali che arriva probabilmente a riguardare l'1% di tutte nascite (1). Come dalla definizione proposta da Jones *et al.* nel 1973, la sindrome fetoalcolica (FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*) è riconoscibile da una triade di caratteristiche: (1) segni di disfunzione del Sistema Nervoso Centrale (SNC); (2) anomalie craniofacciali, quali filtro nasale appiattito (è il canale situato tra la base del naso e il labbro superiore), bordo vermiglio del labbro superiore sottile e rime palpebrali brevi; e (3) ritardi della crescita pre- e/o postnatale (2)(3). Più recentemente, l'espressione "insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol" (FASD, *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) è entrata nell'uso come termine-ombrello, non propriamente diagnostico, che riunisce sotto di sé l'intera gamma dei possibili effetti dell'esposizione prenatale ad alcol (<http://www.nofas.org/healthcare/indicators.aspx>). I soggetti con FASD non dismorfici, pur non presentando i tratti facciali distintivi che sono necessari per una diagnosi di FAS, mostrano spesso deficit funzionali e comportamentali ben documentati, che persistono in età adulta (4). Al di là delle sue conseguenze cognitive e comportamentali, il FASD costituisce anche un notevole peso economico. Negli Stati Uniti, il costo associato agli effetti dell'esposizione prenatale ad alcol è stato stimato intorno ai quattro miliardi di dollari l'anno (5). È evidente che problemi economici e di salute di tale portata rendono imprescindibile un impegno continuativo di ricerca che permetta di giungere alla sistematicità dell'identificazione, all'efficacia degli interventi e al miglioramento delle condizioni di vita degli individui con FASD. L'utilizzo di metodi di diagnostica cerebrale per immagini, come la risonanza magnetica (*Magnetic Resonance Imaging*, MRI), ci ha permesso di comprendere meglio le conseguenze neuronali e comportamentali dell'esposizione prenatale ad alcol e di potenziare notevolmente le nostre capacità diagnostiche, nella speranza di rendere migliore il futuro delle persone colpite.

Vantaggi della diagnostica per immagini

Prima dell'avvento delle tecniche di *neuroimaging*, per caratterizzare la morfologia cerebrale associata alla FAS ci si basava sugli esami autoptici. È stata in tal modo descritta una vasta gamma di esiti neuropatologici, tra cui: idranencefalia, anencefalia, oloprosencefalia, disgenesia

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Spadoni AD, Christie L. McGee CL, Fryer SL, Riley EP. Neuroimaging and fetal alcohol spectrum disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):239-45.

cerebrale, migrazione neuronale anomala, idrocefalia, microcefalia/microencefalia, ventricoli ingranditi/ridotti/assenti e grave disorganizzazione dell'SNC. Sono stati inoltre osservati difetti dei gangli basali, del diencefalo, del cervelletto, del tronco encefalico, del nervo ottico, del bulbo olfattivo, dell'ippocampo, dell'ipofisi e del tubo neurale (6). L'etereogeneità delle malformazioni è risultata tale da indurre i ricercatori a concludere che non esistesse un pattern identificabile di anomalie cerebrali specifiche della FAS (7, 8).

Tuttavia, i dati raccolti *post-mortem* non sono necessariamente rappresentativi delle alterazioni cerebrali presenti nei soggetti con FAS viventi. Pur essendo utili, i risultati delle autopsie sono costituiti in molti casi da anomalie incompatibili con la vita. Le tecniche di *neuroimaging* presentano rispetto a essi l'ovvio vantaggio di permettere la caratterizzazione degli effetti dell'esposizione prenatale ad alcol nel cervello vivente, e offrono dunque l'opportunità di studiare un campione della popolazione con FASD maggiormente rappresentativo e utile alla generalizzazione. Contrariamente agli studi autopsici, quelli per immagini sono riusciti a identificare, confrontando soggetti con FASD e soggetti di controllo con sviluppo normale, pattern di perdita/risparmio specificamente associati all'esposizione prenatale ad alcol (9). Il presente lavoro intende appunto passare in rassegna i risultati ottenuti dalle ricerche di *neuroimaging* che si sono occupate del FASD. Le anomalie strutturali osservate nel cervello verranno descritte regione per regione, così come i loro più importanti correlati cognitivi e comportamentali.

Cervello: studi morfologici e volumetrici

Le linee guida per la diagnosi di FAS includono la microcefalia quale indicatore di deficit dell'SNC. Gli studi per immagini ottengono, infatti, comunemente risultati di questo tipo, che attestano una riduzione della volta cranica e del volume cerebrale (microencefalia) nei pazienti con FAS (10-13). Oltre a questi effetti più generali sulle dimensioni del cervello, sono state riscontrate anche diverse anomalie relative a regioni specifiche.

Anomalie morfologiche regionali

Allo scopo di valutare le anomalie morfologiche regionali, Sowell *et al.* (13) hanno impiegato un'analisi di superficie del cervello intero. I rapporti tra la forma del cervello e le densità della sostanza locale sono stati studiati identificando degli indicatori a livello del solco e del giro e comparandone la "distanza dal centro" (DFC, *Distance From the Center*), o misurandone la distanza da uno specifico punto della commissura anteriore. Nei partecipanti che erano stati prenatalmente esposti ad alcol, la DFC risultava notevolmente ridotta, bilateralmente, nelle regioni parietali inferiori, che apparivano "strette" rispetto a quelle dei soggetti di controllo. Inoltre, nei soggetti con FASD, la distanza tra il "centro del cervello" e alcuni punti di riferimento delle superfici corticali parietale inferiore e orbito-frontale sinistra era minore, il che conferiva al lobo frontale un aspetto "smussato". Nel loro insieme, questi risultati suggeriscono che alcune regioni cerebrali possano essere particolarmente vulnerabili all'esposizione prenatale ad alcol.

Analisi volumetriche

Alle anomalie strutturali messe in evidenza per mezzo della misurazione della DFC corrisponde anche un ridotto volume dei lobi. Per esempio, è stato osservato che il volume del lobo parietale è significativamente ridotto nei soggetti con FASD, anche una volta corretti i dati per la microcefalia e il ridotto volume intracranico (13). I risultati delle analisi morfologiche e

volumetriche sembrano dunque indicare che la regione parietale è particolarmente vulnerabile all'esposizione prenatale ad alcol.

Inoltre, alle irregolarità strutturali corrispondono anche aree di maggiore densità della sostanza grigia e/o di ipoplasia della sostanza bianca (10, 13) – l'ipoplasia di entrambe è stata osservata soprattutto nei lobi parietali, mentre è stato notato un relativo risparmio dei lobi occipitali (10). La mappazione delle densità ha anche mostrato un significativo incremento della sostanza grigia nelle regioni parietali inferiori di entrambi gli emisferi (ma soprattutto del sinistro), laddove i soggetti esposti prenatalmente ad alcol facevano registrare DFC inferiori (13). Sempre in questa regione, la sostanza bianca sembra essere maggiormente colpita di quella grigia, un dato che rimane significativo anche quando viene tenuto sotto controllo l'effetto delle ridotte dimensioni del cervello (10). È interessante notare come, nei partecipanti che non risultavano idonei a una diagnosi di FAS, tali riduzioni abbiano invece perduto la significatività statistica in seguito alla correzione dei dati (10). In breve, la riduzione del volume dei lobi sembra correlata ad un'aumentata densità della sostanza grigia e a una ridotta densità della sostanza bianca, o almeno questo è stato riscontrato per quanto riguarda i lobi parietali (13).

Allo scopo di esplorare ulteriormente le regioni cerebrali che potrebbero essere selettivamente vulnerabili all'alcol, Sowell *et al.* hanno utilizzato la morfometria basata sui voxel (analisi VBM, *Voxel-Based Morphometric*) per l'analisi volumetrica del cervello intero e delle diverse aree cerebrali di soggetti adolescenti prenatalmente esposti (14). Questa nuova tecnica permette di misurare l'intensità del segnale dei voxel (pixel volumetrici o cubici), dell'immagine cerebrale. Tale intensità è utilizzata come indice della densità del tessuto, le cui alterazioni possono indicare anomalie dei processi di sviluppo, come per esempio un insufficiente "pruning" (cioè potatura, sfoltimento) neuronale. È importante notare come i risultati ottenuti mediante VBM siano concordi con quelli degli studi basati sulla più tradizionale segmentazione dei tessuti nel dimostrare, nel cervello dei soggetti adolescenti con FAS, una maggiore ipoplasia dei lobi parietali rispetto a quelli temporali e occipitali (14). Le riduzioni di volume osservate nella sostanza bianca delle regioni parietali sono risultate significative anche una volta corretti i dati per il ridotto volume cerebrale (14). Continua dunque a emergere un pattern specifico di anomalie lobulari e tissutali caratteristiche degli individui con FASD (10).

Nel complesso, i risultati delle varie analisi indicano che gli individui che sono stati esposti prenatalmente a notevoli quantitativi di alcol mostrano nelle regioni parietali e orbito-frontali deficit di crescita che non sono riconducibili alla più generale riduzione del volume cerebrale totale. Inoltre, l'ipoplasia della sostanza bianca che è stata osservata un po' ovunque nel cervello degli individui esposti ad alcol sembra riguardare particolarmente la regione perisilviana e le regioni parietali inferiori. Al contrario, l'aumento di densità della sostanza grigia è stato notato soprattutto nelle regioni parietali inferiori e nei lobi temporali superiori, il che suggerisce l'esistenza di un rapporto inverso tra dimensioni delle regioni e densità della sostanza grigia.

In termini di correlati neurocomportamentali, le anomalie del lobo parietale potrebbero contribuire a spiegare le ridotte capacità di memoria di lavoro spaziale osservate negli individui esposti ad alcol (15). È interessante notare come quest'area intersechi diverse regioni ritenute importanti per l'elaborazione del linguaggio (BA 21, 22) e per il riconoscimento degli oggetti e dei volti (BA 37) (14), ovvero per abilità che in vari studi hanno fatto registrare deficit cognitivi associati all'alcol. Va infine notato come le anomalie del lobo frontale siano del tutto compatibili con i deficit del funzionamento esecutivo – quali ridotte abilità di pianificazione, rigidità cognitiva e ridotta capacità di inibizione delle risposte – mostrati dagli individui con FASD (16).

Cervelletto

Il cervelletto è associato a funzioni motorie quali la postura, l'equilibrio e la coordinazione. Si ritiene inoltre che alcune sue regioni contribuiscano a vari aspetti della cognizione, tra cui i processi attentivi (17) e quelli sottesi al condizionamento classico.

All'esposizione prenatale ad alcol viene frequentemente ascritta una riduzione della superficie (11) e del volume (10) del cervelletto, e ciò suggerisce che possa trattarsi di un'altra area cerebrale particolarmente sensibile agli effetti dell'alcol. Inoltre, diversi dati indicano che all'interno del cervelletto stesso potrebbe esistere uno specifico pattern di vulnerabilità legato alle caratteristiche temporali dell'esposizione ad alcol (10).

Per esempio, gli individui con FASD hanno mostrato, rispetto ai soggetti di controllo, una riduzione del volume della volta cerebellare e delle sostanze bianca e grigia del cervelletto stesso (10). Tuttavia, una volta corretti i dati per la microcefalia, queste differenze rimanevano statisticamente significative soltanto per i soggetti con diagnosi di FAS (10). Tutti i partecipanti erano stati esposti ad alcol nel primo trimestre di gestazione, il che suggerisce che in questa fase di crescita cerebrale rapida l'alcol eserciti effetti particolarmente dannosi sulle strutture in via di sviluppo (10).

Oltre al ridotto volume generale, sono stati osservati anche danni localizzati in specifiche regioni del cervelletto. (11) Sia nei soggetti esposti ad alcol sia in quelli con diagnosi di FAS, il volume del verme cerebellare anteriore (lobuli I-V), una parte del cervelletto che si sviluppa precocemente, è risultato significativamente ridotto anche dopo la correzione dei dati per le ridotte dimensioni cerebrali (11). Le regioni a sviluppo più tardivo risultavano relativamente risparmiate (11). Analisi più specifiche hanno inoltre rivelato che le regioni superiore e anteriore del verme anteriore appaiono maggiormente dislocate rispetto ad altre nei soggetti esposti ad alcol. Gli individui con diagnosi di FAS facevano registrare la dislocazione maggiore (1-3mm), mentre ai soggetti non dismorfici corrispondevano le alterazioni meno marcate (1,4 mm) rispetto ai controlli.

Gli studi condotti su animali hanno anche mostrato che l'esposizione ad alcol durante i periodi di accrescimento cerebrale rapido produce morte neuronale e limita la crescita dell'intero cervello, del tronco encefalico, del prosencefalo e del cervelletto. (18) È importante notare che la perdita di cellule di Purkinje è significativa nei lobuli che maturano per primi, o in quelli localizzati più anteriormente (I-V) o più posteriormente (VIII, IX e X), mentre i neuroni della porzione mediale, che maturano più tardivamente (VI e VII), risultano relativamente risparmiati. Sia gli studi umani sia quelli animali indicano dunque che le strutture del cervelletto che maturano più precocemente, come il verme anteriore, potrebbero essere particolarmente sensibili agli effetti dell'esposizione prenatale ad alcol.

Considerata la natura delle funzioni attribuite al cervelletto, è probabile che le sue anomalie strutturali contribuiscano a determinare nei pazienti FASD i deficit funzionali che vengono comunemente osservati nell'equilibrio posturale, nella coordinazione bimanuale (19) e nell'attenzione (20). Inoltre, nei soggetti esposti ad alcol, è stata dimostrata l'esistenza di una correlazione negativa tra il dismorfismo vermale e le capacità di apprendimento e di memoria verbale. Sembra dunque che i danni del cervelletto possano avere un ruolo importante nell'ambito del tipico pattern di deficit neurocognitivi specifici della FAS.

Corpo calloso

Un'altra struttura mediana, il Corpo Calloso (CC), è costituita da una lamina di sostanza bianca che connette tra loro i due emisferi cerebrali. Essendo il maggiore canale attraverso il quale le informazioni vengono trasmesse da un emisfero all'altro, il CC ha un ruolo importante

nella coordinazione di varie funzioni, come quelle motorie bimanuali, l'attenzione sostenuta, la visione, e la memoria di lavoro visuo-spaziale (17).

I primi studi autoptici di casi di FAS hanno osservato un'agenesia o Assenza del Corpo Calloso (ACC) (3, 6-8). Benché l'assenza totale di questa struttura cerebrale sia in realtà rara (essa si verifica con un tasso dello 0,1% nella popolazione sana e del 2% nella popolazione con disabilità dello sviluppo), la sua frequenza risulta maggiore negli individui con FAS conclamata (21). L'ACC è generalmente accompagnata da anomalie ventricolari, poiché le strutture mediane tipicamente contingue al corpo calloso sono dislocate.

Mentre l'ACC è rara anche nella popolazione con FAS, l'ipoplasia del CC è stata osservata con una certa frequenza (11, 14, 21). Alcuni studi hanno utilizzato immagini MR medio-sagittali per misurare sistematicamente l'area e la localizzazione relativa del corpo calloso. Un'estesa ricerca condotta a San Diego ha riscontrato che, anche tenendo sotto controllo l'effetto della riduzione delle dimensioni generali del cervello, le porzioni anteriore e posteriore del CC risultano significativamente ridotte nel gruppo con FASD (21). Mediante una metodologia analoga e utilizzando un sotto-campione dello studio di San Diego, è stato osservato che nel gruppo FASD la sezione posteriore (splenio) del corpo calloso presenta una significativa riduzione dell'area e un'altrettanto significativa dislocazione (11). Nei soggetti non dismorfici la dislocazione inferiore e anteriore dello splenio appare meno pronunciata. Tali anomalie sembrano dunque indicare che le differenti regioni del corpo calloso sono dotate di una differente sensibilità all'esposizione prenatale ad alcol (11).

Anziché comparare aree, volumi e localizzazioni, altri studi hanno descritto la forma del corpo calloso osservata in soggetti con FAS o FASD (22). Quando sono state comparate le rappresentazioni morfologiche ottenute, la forma del CC degli individui esposti ad alcol ha mostrato una maggiore variabilità. Secondo Bookstein *et al.* (22), la tecnica analitica basata sulla morfologia è maggiormente completa e statisticamente valida rispetto alle tecniche usate in precedenza, e non richiede alcuna correzione spaziale per la microcefalia che comunemente si riscontra in questi soggetti. Inoltre, essa è riuscita a classificare correttamente 100 individui esposti su 117 (85%) (23). L'analisi morfometrica del corpo calloso può dunque offrire un valido contributo all'identificazione dei soggetti con FASD.

Recentemente, per valutare l'integrità della sostanza bianca nel corpo calloso degli individui esposti ad alcol è stata utilizzata la tecnica DTI (*Diffusion Tensor Imaging, imaging del tensore di diffusione*) (24). La DTI indica la coerenza della diffusione dell'acqua a partire dall'anisotropia frazionaria (FA, *Fractional Anisotropy*) e la sua circolazione a livello intra ed extra-cellulare o coefficiente di diffusione apparente (ADC, *Apparent Diffusion Coefficient*). Nella maggior parte dei casi queste due misure sono inversamente correlate: una maggiore FA denota una struttura delle fibre efficiente mentre un maggiore ADC indica un'aumentata circolazione intra- o extra-cellulare (25). In un piccolo studio condotto su giovani adulti, i soggetti esposti ad alcol sono risultati avere una minore FA media e un maggiore ADC medio nel ginocchio e nello splenio del CC rispetto ai volontari di controllo (24). Un basso valore di FA indica la presenza di anomalie nella microstruttura della sostanza bianca e una formazione di fibre meno coerente. Negli individui adulti con disordini associati al consumo di alcol la compromissione della sostanza bianca è stata associata a vari deficit funzionali (26), ma nel gruppo con FAS né FA né ADC sono risultati correlati a deficit neurocognitivi specifici (24); per evidenziare tale correlazione, tuttavia, sarebbe stato probabilmente necessario un campione maggiormente numeroso ed eterogeneo. Infine, è importante notare che, pur essendo state rilevate differenze statisticamente significative tra i gruppi per quanto riguardava FA e ADC, la riduzione dei volumi intracranici e l'ipoplasia del corpo calloso nel campione esposto ad alcol rimanevano tendenze non supportate dalla significatività statistica (24). Queste caratteristiche vengono solitamente descritte tra le alterazioni associate alla FAS, (10, 12, 14, 21, 27) ma è

possibile che la microstruttura della sostanza bianca costituisca un indicatore dell'esposizione ad alcol più sensibile rispetto ai parametri macrostrutturali (24). In breve, i dati MRI suggeriscono che anche il corpo calloso possa essere, come il cervelletto, una struttura particolarmente vulnerabile all'esposizione prenatale ad alcol.

Diversi studi sembrano attestare l'esistenza di una relazione tra dismorfismi del corpo calloso e deficit funzionali, in particolare della coordinazione bimanuale (28), dell'attenzione (29, 30), del funzionamento esecutivo (15, 16) e delle abilità di apprendimento verbale (14, 23). Sembra anche che alcune anomalie specifiche siano associate a specifici deficit cognitivi. Per esempio, alcuni studi relativi alla localizzazione del CC hanno osservato che una maggiore dislocazione anteriore dello splenio e dell'istmo era in grado di predire una ridotta abilità di apprendimento verbale (14). Inoltre, un corpo calloso "spesso" (smussato anteriormente e dunque meno proiettato verso le regioni frontali) è risultato correlato a deficit del funzionamento esecutivo, indicando una possibile compromissione dei tratti di sostanza bianca che, nelle porzioni anteriori del CC, connettono tra loro le aree cerebrali coinvolte nelle funzioni esecutive (14). Un corpo calloso "sottile" sembra essere invece associato a deficit motori: in questo caso, è possibile che le sue connessioni siano meno efficienti nella trasmissione dell'informazione ai centri cerebrali motori (23). Questi risultati sono anche in linea con quelli che associano alla FASD peggiori prestazioni nei compiti di memoria visuo-spaziale (15). Nel loro complesso, i correlati neuropsicologici delle anomalie del CC suggeriscono che nei soggetti prenatalmente esposti ad alcol l'aumentata variabilità morfologica, la dislocazione e la riduzione dell'area possano essere associate a prestazioni peggiori in una vasta gamma di compiti funzionali e cognitivi.

Gangli della base

I gangli basali sono composti da cinque strutture principali: il nucleo caudato (striato cognitivo), il *nucleus accumbens* (striato limbico), il *putamen* (striato sensomotorio), il *globus pallidus* (GP) e il nucleo subtalamico (17); al *putamen* e al *globus pallidus* insieme ci si riferisce spesso con il termine nucleo lenticolare. Tali nuclei sono situati nelle profondità del cervello e sono abbondantemente connessi alle aree motorie corticali e sottocorticali, per cui sono intimamente legati al movimento e all'apprendimento procedurale. Essi sono inoltre coinvolti in diverse funzioni cognitive, affettive e motivazionali (17).

Diversi studi hanno riscontrato una riduzione del volume dei gangli basali negli individui prenatalmente esposti ad alcol (10, 15), e marcatamente colpita è risultata anche la sostanza grigia (31). Tuttavia, se si tiene sotto controllo l'effetto della riduzione generale del volume intracranico, queste anomalie regionali rimangono evidenti soltanto nel nucleo caudato (10, 15) (31), mentre il volume del nucleo lenticolare e del *nucleus accumbens* risulta relativamente risparmiato (10, 15). Inoltre, la PET (*Positron Emission Tomography*, tomografia a emissione di positroni) ha evidenziato nei soggetti con FAS un ipometabolismo in aree similari, e specificamente nella sommità dei talami e dei caudati e nel *putamen* destro. Si ritiene che questo insieme di anomalie sia strettamente correlato a diversi deficit funzionali tipici dei soggetti con FASD, come per esempio i disturbi della memoria spaziale, la perseverazione e la speculare difficoltà nel *set-shifting* (15). Poiché dal talamo passano le vie motorie corticali e sottocorticali, le sue anomalie possono inoltre essere messe in relazione ai deficit della coordinazione motoria (9). Alcuni ricercatori associano a questo tipo di alterazioni anche disturbi del funzionamento esecutivo come l'inibizione comportamentale e le ridotte abilità di giudizio sociale (15). Sembra dunque che le anomalie regionali specifiche dei gangli della base possano modulare molte delle difficoltà funzionali osservate negli individui con FASD.

Ippocampo e amigdala

L'ippocampo e l'amigdala appartengono al sistema limbico sottocorticale che media le emozioni, i riflessi e l'istinto di sopravvivenza, orientando i relativi comportamenti. La formazione ippocampale costituisce anche una componente essenziale del circuito della memoria ed è fondamentale per l'immagazzinamento e per il recupero delle informazioni apprese (17). Alcuni studi mostrano che essa potrebbe essere coinvolta anche nelle abilità di apprendimento spaziale (33). L'amigdala elabora l'input emozionale e lo trasmette alle aree limbiche, sensoriali e cognitive della neocorteccia. Essa ha un ruolo cruciale nella regolazione delle emozioni e nell'espressione affettiva (17).

La diagnostica per immagini ha fornito dati contrastanti in merito all'esistenza o meno di un pattern specifico di anomalie regionali negli ippocampi degli individui con FASD. Alterazioni importanti di questa struttura sono state osservate più che altro in casi isolati (11, 27), e diversi studi hanno riscontrato un relativo risparmio dell'ippocampo e dell'amigdala (10, 32). Tuttavia, esiste un piccolo studio in cui nel gruppo con FASD sono state evidenziate formazioni asimmetriche, e in particolare un ippocampo destro di dimensioni maggiori rispetto al sinistro (32). Secondo alcuni studi condotti su animali, un'esposizione neonatale del tipo binge (ubriacatura, ingestione di grandi quantità di alcol in una sola occasione) è in grado di danneggiare l'ippocampo e di produrre in tal modo un deficit delle abilità di apprendimento spaziale (33). Poiché disturbi dell'apprendimento di posizione sono stati osservati anche in soggetti umani esposti ad alcol, nuovi studi sono chiamati a chiarire il ruolo di queste strutture cerebrali e l'effetto che su di esse può avere l'esposizione prenatale ad alcol (34).

Conclusioni

La diagnostica per immagini ha mostrato che l'esposizione prenatale ad alcol produce nel cervello alterazioni strutturali permanenti. I soggetti con FASD risultano avere un volume e una superficie cerebrale entrambi ridotti. Alcune aree del cervello sembrano essere inoltre particolarmente vulnerabili: negli individui con FASD sono stati dimostrati danni del corpo calloso, del verme, dei gangli basali e delle regioni perisilviane, orbito-frontali e parietali. Contrariamente ai risultati eterogenei ottenuti in precedenza dagli studi autistici, le osservazioni preliminari compiute grazie alla diagnostica per immagini sembrano suggerire l'esistenza di un pattern distruttivo specifico dell'esposizione prenatale ad alcol. Le teorie della neuropsicologia indicano le possibili corrispondenze tra questi insulti e le sequele funzionali e comportamentali del FASD.

Lo scopo di questa rassegna era quello di dimostrare che le tecniche di *neuroimaging* ci hanno permesso di ottenere notevoli progressi nella comprensione delle relazioni tra cervello e comportamento nel FASD. Ulteriori ricerche potranno fornire conferme indipendenti e permetterci di comprendere più a fondo i meccanismi sottesi agli effetti esercitati dall'esposizione prenatale ad alcol sul cervello. Fino a oggi, sono stati pubblicati soltanto dati strutturali ottenuti mediante MR e DTI. Perché le nostre conoscenze attuali possano venire confermate e ampliate è fondamentale che si prosegua nello sviluppo e nel supporto di nuove metodologie. Tra le nuove tecniche di diagnostica per immagine, la risonanza magnetica funzionale (*functional Magnetic Resonance Imaging*, fMRI) e la spettroscopia di risonanza magnetica (*Magnetic Resonance Spectroscopy*, MRS) sembrano promettenti per lo studio del FASD. La MRS può essere utilizzata per individuare la presenza di elementi chimici che fungono da marker o indicatori dell'integrità o della morte neuronale (35). La fMRI fornisce un indice dell'attività cerebrale e può contribuire a caratterizzare le basi neurali delle anomalie

osservate nei soggetti con FAS o FASD e a sviluppare interventi mirati. Focalizzandosi sui correlati neuropsicologici delle alterazioni strutturali, chimiche e funzionali associate all'esposizione prenatale ad alcol, le ricerche future ci permetteranno di comprendere in maggiore profondità sia il fenotipo comportamentale e neurocognitivo del FASD sia, più in generale, i rapporti tra cervello e comportamento.

Bibliografia

1. May PA, Gossage JP. Estimating the prevalence of fetal alcohol syndrome: A summary. *Alcohol Res Health* 2001;25:159-67.
2. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;2:999-1001.
3. Jones KL, Smith DW, Ulleland CN, Streissguth AP. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet* 1973;1:1267-71.
4. Mattson SN, Schoenfeld AM, Riley EP. Teratogenic effects of alcohol on brain and behavior. *Alcohol Res Health* 2001;25:185-91.
5. Harwood H, The Lewin Group. *Updating estimates of the economic costs of alcohol abuse in the United States: Estimates, update methods, and data*. Bethesda, MD: National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism; 2000.
6. Wisniewski K, Damska M, Sher JH, Qazi Q. A clinical neuropathological study of the fetal alcohol syndrome. *Neuropediatrics* 1983;14:197-201.
7. Clarren SK, Alvord Jr. EC, Sumi SM, Streissguth AP, Smith DW. Brain malformations related to prenatal exposure to alcohol. *J Pediatrics* 1978;92:64-7.
8. Peiffer J, Majewski F, Fishbach H, Bierich JR, Volk B. Alcohol embryo-and fetopathy. *J Neurol Sci* 1979;41:125-37.
9. Mattson SN, Riley EP. A review of the neurobehavioral deficits in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:279-94.
10. Archibald SL, Fennema-Notestine C, Gamst A, Riley EP, Mattson SN, Jernigan TL. Brain dysmorphology in individuals with severe prenatal alcohol exposure. *Dev Med Child Neurol* 2001;43:148-54.
11. Autti-Ramo I, Autti T, Korkman M, Kettunen S, Salonen O, Valanne L. MRI findings in children with school problems who had been exposed prenatally to alcohol. *Dev Med Child Neurol* 2002;44:98-106.
12. Sowell ER, Thompson PM, Mattson SN, Tessner KD, Jernigan TL, Riley EP. Voxel-based morphometric analyses of the brain in children and adolescents prenatally exposed to alcohol. *Neuroreport* 2001;12:515-23.
13. Sowell ER, Thompson PM, Mattson SN, Tessner KD, Jernigan TL, Riley EP. Regional brain shape abnormalities persist into adolescence after heavy prenatal alcohol exposure. *Cereb Cortex* 2002;12:856-65.
14. Sowell ER, Mattson SN, Thompson PM, Jernigan TL, Riley EP, Toga AW. Mapping callosal morphology and cognitive correlates: effects of heavy prenatal alcohol exposure. *Neurology* 2001;57:235-44.
15. Mattson SN, Riley EP, Sowell ER, Jernigan TL, Sobel DF, Jones KL. A decrease in the size of the basal ganglia in children with fetal alcohol syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:1088-93.
16. Kodituwakku PW, Kalberg W, May PA. The effects of prenatal alcohol exposure on executive functioning. *Alcohol Res Health* 2001;25:192-8.

17. Devinsky O, D'Esposito M. *Neurology of cognitive and behavioral disorders*. New York: Oxford University Press; 2004.
18. Goodlett CR, Marcussen BL, West JR. A single day of alcohol exposure during the brain growth spurt induces brain weight restriction and cerebellar purkinje cell loss. *Alcohol* 1990;7:107-14.
19. Roebuck-Spencer TM, Mattson SN, Marion SD, Brown WS, Riley EP. Bimanual coordination in alcohol-exposed children: Role of the corpus callosum. *J Int Neuropsychol Soc* 2004;10:536-48.
20. Lee KT, Mattson SN, Riley EP. Classifying children with heavy prenatal alcohol exposure using measures of attention. *J Int Neuropsychol Soc* 2004;10:271-77.
21. Riley EP, Mattson SN, Sowell ER, Jernigan TL, Sobel DF, Jones KL. Abnormalities of the corpus callosum in children prenatally exposed to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1995;19:1198-202.
22. Bookstein FL, Sampson PD, Streissguth AP, Connor PD. Geometric morphometrics of corpus callosum and subcortical structures in the fetal-alcohol-affected brain. *Teratol.* 2001;64:4-32.
23. Bookstein FL, Sampson PD, Connor PD, Streissguth AP. Midline corpus callosum is a neuroanatomical focus of fetal alcohol damage. *Anat Rec* 2002;269:162-74.
24. Ma X, Coles CD, Lynch ME, LaConte SM, Zurkiya DW, Hu X. Evaluation of corpus callosum anisotropy in young adults with fetal alcohol syndrome using diffusion tensor imaging. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:14-22.
25. Pfefferbaum A, Sullivan EV. Disruption of brain white matter microstructure by excessive intracellular and extracellular fluid in alcoholism: evidence from diffusion tensor imaging. *Neuropsychopharm* 2005;30:423-32.
26. Pfefferbaum A, Sullivan EV, Hedehus M, Adalsteinsson E, Lim KO, Moseley M. In vivo detection and functional correlates of white matter microstructural disruption in chronic alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24:1214-21.
27. Bhatara VS, Lovrein F, Kirkeby J, Swayze II V, Unruh E, Johnson V. Brain function in fetal alcohol syndrome assessed by single photon emission computed tomography. *S D J Med* 2002;55:59-62.
28. Roebuck TM, Mattson SN, Riley EP. A review of the neuroanatomical findings in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:339-44.
29. Coles CD, Platzman KA, Raskind-Hood CL, Brown RT, Falek A, Smith IE. A comparison of children affected by prenatal alcohol exposure and attention deficit, hyperactivity disorder. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21:150-61.
30. Coles CD, Platzman KA, Lynch ME, Freides D. Auditory and visual sustained attention in adolescents prenatally exposed to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:263-71.
31. Mattson SN, Riley EP, Jernigan TL, Ehlers CL, Delis DC, Jones KL. Fetal alcohol syndrome: a case report of neuropsychological, MRI and EEG assessment of two children. *Alcohol Clin Exp Res* 1992;16(5):1001-3.
32. Riikonen R, Salonen I, Partanen K, Verho S. Brain perfusion SPECT and MRI in foetal alcohol syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1999;41:652-9.
33. Johnson TB, Goodlett CR. Selective and enduring deficits in spatial learning after limited neonatal binge alcohol exposure in male rats. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:83-93.
34. Hamilton DA, Koditwakku P, Sutherland RJ, Savage DD. Children with fetal alcohol syndrome impaired at place learning but not cued-navigation in virtual Morris water task. *Behav Brain Res* 2003;143:85-94.
35. Adalsteinsson E, Sullivan EV, Pfefferbaum A. Biochemical, functional and microstructural magnetic resonance imaging (MRI). In: Liu Y, Lovinger DM (Ed.). *Methods in alcohol-related neuroscience research*. Boca Raton: CRC Press; 2002. p. 345-71.

ESPOSIZIONE ALCOLICA PRENATALE E NUOVI APPROCCI ALLA DIAGNOSI*

Daniela L. Caprara, Kelly Nash, Rachel Grimbaum, Joanne Rovet, Gideon Koren
*Division of Clinical Pharmacology/Toxicology and Motherisk Program, The Hospital for Sick Children
and University of Toronto, Canada*

Introduzione

Le conseguenze dell'esposizione prenatale ad alcol sono per la maggior parte irreversibili. Tuttavia, se i bambini che soffrono del cosiddetto "insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol" (FASD, *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) vengono adeguatamente supportati, e con l'ausilio di specifici interventi di stimolazione ed educazione, essi possono apprendere a integrarsi efficacemente nella società e condurre una vita normale. Diversi studi hanno riscontrato che quanto più precocemente il soggetto viene riconosciuto come FASD, tanto minore è la frequenza delle disabilità secondarie (1). La diagnosi precoce in fase neonatale è dunque fondamentale perché si riesca a contrastare efficacemente l'evolversi di questi disordini devastanti. Inoltre, la diagnosi posta ai figli può condurre all'identificazione di madri la cui dipendenza dall'alcol non era nota ma che hanno invece urgente bisogno di aiuto.

Se l'esposizione prenatale ad alcol è associata a uno spettro di conseguenze che è stato denominato FASD, la sindrome fetoalcolica (FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*) corrisponde alla forma più grave di FASD e, tra tutte le cause di difetti alla nascita, è nel mondo occidentale quella maggiormente prevenibile (2). Le caratteristiche cliniche della FAS includono malformazioni facciali patognomiche (rime palpebrali brevi, filtro nasale ipoplasico, labbro superiore sottile) e un insieme complesso di disfunzioni cerebrali, deficit cognitivi, disturbi comportamentali e danni neurologici (3). Quando sono presenti i tratti facciali distintivi, la diagnosi di FAS può essere posta senza che sia necessario ottenere la conferma del consumo di alcol da parte della madre. Tuttavia, questa situazione ideale si presenta soltanto in una minima parte dei casi. Uno dei problemi di più difficile risoluzione, per quanto riguarda il FASD, è quello della diagnosi delle forme meno evidenti, in cui non è manifesto alcun indizio fisico. La maggior parte di questi casi viene, infatti, riconosciuta soltanto quando, generalmente in età già scolare, si sviluppano le disabilità secondarie (4).

Porre una diagnosi di FASD è dunque tutt'altro che semplice, in quanto implica spesso la necessità di ottenere la certezza di un abuso materno di alcol. Tale certezza può derivare dall'osservazione clinica, dall'auto-dichiarazione materna, dalla documentazione medica, dalla positività ai test per i marker biologici dell'etanolo misurabili nel sangue, nei capelli o nel meconio, o dall'esame comportamentale e facciale del neonato. In questo lavoro passeremo in rassegna alcuni dei metodi che vengono usati per lo screening del consumo di alcol in gravidanza e presenteremo, quali nuovi approcci al processo diagnostico, lo sviluppo di biomarker dell'etanolo e la fenotipizzazione comportamentale. L'affinamento dei sistemi diagnostici utilizzati per il FASD potrebbe permettere una diagnosi maggiormente precoce e

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Caprara DL, Nash K, Grimbaum R, Rovet J, Koren G. Novel approaches to the diagnosis of fetal alcohol spectrum disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):254-60.

globale, e dunque la messa in atto degli interventi e dei trattamenti in stadi evolutivi in cui gli effetti dell'alcol possono ancora essere attenuati.

Screening del consumo materno di alcol: l'auto-dichiarazione e i questionari

In assenza dei tratti patognomici caratteristici della FAS alla nascita, la conferma dell'esposizione ad alcol *in utero* richiede spesso l'ammissione del consumo in gravidanza da parte della madre. Purtroppo, l'auto-dichiarazione è spesso poco attendibile per via del pesante stigma associato all'ammissione, da parte di una genitrice, di aver avuto comportamenti a rischio quali il consumo di alcol o droghe (5). Per questo motivo, ottenere un resoconto accurato del consumo di alcol in gravidanza può rivelarsi tutt'altro che facile.

Esistono metodi di screening che vengono utilizzati da tempo per meglio identificare, nella popolazione adulta, i bevitori problematici. Questionari come l'*Alcohol Use Disorders Identification Test* (AUDIT), il CAGE (*Cut down, Annoyed, Guilty, Eye-opener*) e le sue versioni modificate – cioè TWEAK (*Tolerance, Worried, Eye-Opener, Amnesia e (K) Cut down*) e T-ACE (*Take, Annoyed, Cut down, Eye-Opener*) –, il *Michigan Alcoholism Screening Test* (MAST) e i calendari *Time-line Follow-back* (TLFB) si sono dimostrati capaci di differenziare i bevitori a rischio da quelli non a rischio (6- 8). Tuttavia, non tutti questi strumenti sono stati sviluppati e validati per essere somministrati a donne in gravidanza.

Le linee guida del *National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* (NIAAA) raccomandano che ogni donna che abbia bevuto nell'ultimo mese più di 7 unità alcoliche a settimana, o più di 3 in uno stesso giorno, venga sottoposta a una più approfondita valutazione del rischio di problemi associati all'alcol (9). A oggi, i risultati sembrano indicare che il T-ACE e il TWEAK potrebbero essere in grado di individuare le donne che trarrebbero beneficio da un intervento focalizzato sull'assunzione di alcol in gravidanza (10). È stato anche rilevato che basandosi sulla sola documentazione medica, senza l'ausilio di test di screening, si ottengono stime di prevalenza più basse (11). La sensibilità e la specificità dei due test appena citati sono state ben documentate: il T-ACE a 4 item presenta valori rispettivamente del 76% e dell'89% nell'identificazione delle bevitrici a rischio che assumono alcol in gravidanza (12); il TWEAK a 5 item mostra un'accuratezza analoga nell'individuare le donne che assumono grosse quantità di alcol in gravidanza, con una sensibilità che va dal 70% al 79% e una specificità che va dal 63% all'83%. Inoltre, Dawson *et al.* hanno riscontrato che se si usa una soglia di 1 punto anziché di 2, per individuare le bevitrici moderate, il TWEAK mostra una sensibilità del 65,6% e una specificità del 63,7% (13). Dovrebbe dunque essere possibile utilizzare questi questionari in gravidanza non solo per lo screening delle forti bevitrici ad alto rischio ma anche per individuare gli altrettanto preoccupanti casi di donne che bevono moderatamente. Le linee guida per la diagnosi di FASD stilate dal Canada nel 2005 raccomandano che tutte le donne con una gravidanza in corso o appena conclusa vengano sottoposte dal loro medico a uno screening del consumo di alcol mediante strumenti validati come il T-ACE e il TWEAK (10).

Benché l'efficiacia di T-ACE e TWEAK sia ampiamente riconosciuta, è stato fatto notare che questo tipo di screening può essere considerato inadeguato. Un protocollo di identificazione dell'esposizione intrauterina ad alcol dovrebbe, infatti, comprendere una valutazione sia della madre sia del feto, mentre il T-ACE e il TWEAK valutano esclusivamente la dipendenza della madre e non sono dunque in grado di individuare i casi in cui il feto è stato esposto ad alcol pur non essendo la madre dipendente (12). Un protocollo di screening finalizzato all'identificazione dei feti a rischio degli effetti di un'esposizione ad alcol nell'utero dovrebbe dunque includere

due diversi tipi di strumenti: uno preposto alla valutazione della dipendenza delle madri che riferiscono di aver bevuto alcol, e uno preposto alla valutazione dell'esposizione intrauterina del feto. Lo screening materno può avvalersi di TWEAK e T-ACE. Per lo screening dei bambini, e specificamente per una valutazione accurata della frequenza di assunzione e della quantità di alcol consumato nel corso della gravidanza, possono rivelarsi utili i calendari TLFB, che includono la data del concepimento e la data in cui la gravidanza è stata "scoperta". Essi si sono dimostrati marcatamente attendibili e validi nella popolazione generale, e includono un metodo per determinare il pattern temporale di assunzione (14-15). La combinazione dei due strumenti, finalizzati all'identificazione delle madri e dei bambini a rischio di consumo o di esposizione ad alcol in gravidanza, è in grado di aumentare notevolmente l'accuratezza e l'efficacia dello screening.

Benché possa contribuire sensibilmente e attendibilmente all'identificazione delle madri e dei feti a rischio, tale screening non va considerato un metodo che possa essere utilizzato per porre la diagnosi di FASD. Esso rappresenta soltanto il primo gradino di un processo che potrebbe concludersi tanto con la conferma quanto con la disconferma di tale diagnosi. I risultati dei test di cui abbiamo parlato possono fungere da primo indizio, a partire dal quale il medico può procedere a raccogliere ulteriori informazioni sul consumo materno di alcol e specificamente sulle quantità, la frequenza e il pattern temporale di assunzione. Non si tratta dunque di strumenti diagnostici, e occorre tenere presente che il loro scopo è esclusivamente quello di segnalare gli individui che potrebbero trarre beneficio da un intervento e/o trattamento precoce dell'assunzione di alcol in gravidanza.

Biomarker dell'esposizione ad alcol *in utero*

Diagnosticare il FASD in base a ciò che la madre riferisce in merito al proprio consumo di alcol in gravidanza può essere problematico per via della resistenza che si incontra a causa dello stigma associato a tale consumo. Tra negazione, imbarazzo e timore di conseguenze legali, l'auto-dichiarazione materna è spesso non disponibile e comunque difficilmente accurata. La misurazione di un marker biologico dell'esposizione ad alcol *in utero* può servire a porre fine alla dipendenza del medico da tale strumento, e può costituire un momento cruciale del processo diagnostico nei casi in cui gli effetti di tale esposizione non sono ancora osservabili nel bambino. A oggi, sono ancora molto pochi i biomarker potenzialmente utilizzabili in tal senso.

La misurazione dell'etanolo in quanto tale non è adeguata a dimostrare un'esposizione fetale a lungo termine, poiché si tratta di una molecola altamente idrofila che *in vivo* viene eliminata rapidamente. L'associazione tra consumo di alcol in gravidanza e marker serici materni come la gamma-glutamyl transferasi (GGT, *Gamma-Glutamyl Transferase*), il volume corpuscolare medio (MCV, *Mean Corpuscular Volume*), l'acetaldeide associata all'emoglobina (HAA, *Haemoglobin-Associated Acetaldehyde*) e la transferrina carboidrato-carente (CDT, *Carbohydrate-Deficient Transferrin*) sembra promettente, e i tassi di corretta identificazione degli adulti classificabili come forti bevitori/alcolisti vanno dal 38,8% al 72,2% (16). Tuttavia, questi test hanno un valore indicativo ma non conclusivo per la diagnosi (17), e gli studi che ne hanno esaminata l'efficacia in gravidanza sono ancora molto pochi.

Gli esteri etilici degli acidi grassi (FAEE, *Fatty Acid Ethyl Esters*) sono prodotti del metabolismo non ossidativo dell'etanolo (18). A differenza di quest'ultimo, tuttavia, dopo un consumo di alcol di una certa entità essi rimangono nel sangue per più di 24 ore, e si concentrano rapidamente nel tessuto adiposo (emivita = 16,5) (19-20). A causa del loro accumularsi negli organi che risultano solitamente danneggiati dall'abuso cronico di etanolo, i FAEE sono stati indicati come possibili mediatori del danno d'organo indotto dall'alcol (21).

Inoltre, sia gli studi condotti su esseri umani sia quelli eseguiti su animali suggeriscono che gli effetti tossici dei FAEE possano estendersi anche al neonato, e in tal modo avere un ruolo potenzialmente cruciale nello sviluppo della FAS. A causa della loro stabilità e del loro accumularsi all'interno di varie matrici biologiche in cui rimangono per periodi di tempo prolungati, i FAEE sono stati proposti come marker biochimici dell'esposizione ad alcol acuta e cronica (22-23). Sembra inoltre che essi non abbiano la capacità di attraversare la placenta umana in misura apprezzabile (24), per cui è molto probabile che quelli che vengono rilevati nelle matrici biologiche del neonato siano stati prodotti a partire da etanolo trasferito dalla madre e metabolizzato dal feto stesso, e rappresentino dunque i primi biomarker diretti della reale esposizione ad alcol nell'utero.

Esame dei FAEE del meconio

I FAEE si accumulano nel meconio, una matrice biologica che è posseduta unicamente dal feto in via di sviluppo e che viene comunemente utilizzata per lo screening neonatale dell'esposizione intrauterina a droghe (25). Essa viene spesso considerata una matrice migliore, rispetto a quelle più convenzionali come il sangue e le urine, poiché si tratta di materiale di scarto, il cui prelievo è, in quanto tale, semplice e non invasivo. Tanto le sostanze endogene quanto quelle esogene cominciano ad accumularsi nel meconio a partire dalla tredicesima settimana di gestazione e proseguono sino alla nascita. A differenza dei campioni di sangue e urina, questa matrice cumulativa può fornire una storia dettagliata dell'esposizione fetale nel secondo e terzo trimestre.

Tutti gli studi che si sono occupati dell'utilità dello screening dei FAEE del meconio hanno riscontrato valori significativamente più elevati, rispetto ai controlli, nei campioni prelevati da figli di donne che riferivano di aver assunto grandi quantità di alcol (26-28). In uno studio di caso, la presenza cumulativa nel meconio di sei FAEE è risultata 32 volte più elevata in un neonato che, secondo quanto riferito dalla madre, era stato esposto *in utero* a livelli elevati di etanolo, rispetto a tre bambini che l'auto-dichiarazione materna classificava come non esposti (13126 ng/g rispetto a 410 ng/g) (29). In un altro studio, i principali FAEE individuati nel meconio di neonati esposti prenatalmente a quantità di alcol eccessive erano l'etil-palmitato (E16), l'etil-oleato (E18:1), l'etil-stearato (E18) e l'etil-linoleato (E18:2). Questi risultati fanno pensare che l'utilizzo dei FAEE come primi marker biologici dell'esposizione intrauterina ad alcol possa essere promettente.

Il nostro laboratorio ha condotto alcune ricerche sui livelli di base, e i risultati ottenuti indicano che alcuni FAEE possono essere rintracciati anche nel meconio di neonati che non hanno subito alcuna esposizione prenatale ad alcol. L'etil-laurato (E12) e l'etil-miristato (E14) sono stati individuati in campioni appartenenti sia a bambini esposti sia a bambini non esposti. L'etanolo è un comune prodotto di scarto del normale metabolismo fisiologico dell'intestino umano (30), e anche l'alimentazione e l'assunzione di medicinali possono determinare la produzione di modeste quantità di etanolo indipendentemente dal consumo materno di alcol. Tutti questi fattori possono aver contribuito a determinare i livelli di base di FAEE individuati nella nostra coorte di non-bevitori.

È ancora controversa la questione relativa a quali FAEE andrebbero inclusi nei metodi di quantificazione utilizzati per lo screening dei campioni di meconio. Alcuni laboratori si servono di un solo FAEE specifico, mentre altri preferiscono basarsi su un indice cumulativo derivato dai livelli di diversi FAEE singoli (31). Il primo metodo può produrre risultati contrastanti tra loro, ma nel contempo non esiste un insieme di FAEE che venga comunemente scelto e utilizzato da tutti gli studi. È stato ipotizzato che i tipi di FAEE prevalenti in seguito

all'esposizione ad alcol possano in parte dipendere dall'etnia di appartenenza del neonato (32), e in questo caso l'utilizzo di un FAEE specifico potrebbe produrre risultati non molto accurati, specialmente quando si sottopongano a screening popolazioni di pazienti che sono state poco studiate. Un indice cumulativo dovrebbe dunque essere maggiormente utile ed efficace nell'individuare l'esposizione prenatale ad alcol (33). Attualmente, per lo screening del meconio, il nostro laboratorio si serve di nove FAEE, i cui limiti di rilevabilità e di quantificazione vanno rispettivamente da 0,16 a 0,22 nmol/g (50 ng/g) e da 0,32 a 0,44 nmol/g (100 ng/g) (32). I risultati che abbiamo ottenuto hanno inoltre dimostrato che utilizzando una soglia cumulativa di 2 nmol/g di meconio (600 ng/g), ed escludendo l'E12 e l'E14, si hanno una sensibilità del 100% e una specificità del 98,4% nel differenziare i figli di donne che non hanno assunto alcol da quelli di donne che ne hanno assunte grandi quantità (32). Tale soglia cumulativa mostra un notevole grado di concordanza con le soglie stabilite e validate da Bearer *et al.* per lo screening mediante singoli FAEE di popolazioni di forti bevitrice con consumo in gravidanza accertato (31), e si è inoltre rivelata capace di individuare neonati a rischio che potrebbero passare inosservati utilizzando un FAEE specifico. Un simile livello di concordanza tra i risultati di due laboratori che studiano popolazioni differenti depone ulteriormente a favore dell'utilizzo dello screening dei FAEE del meconio per l'identificazione dei neonati che sono stati esposti prenatalmente ad alcol.

Esame dei FAEE dei capelli

Benché i livelli di FAEE del meconio si siano dimostrati promettenti come primi marker biologici dell'esposizione prenatale ad alcol, l'utilizzo di questa matrice biologica è soggetto a un'importante limitazione. Il meconio è, infatti, disponibile soltanto per i primi 2-3 giorni di vita neonatale, e può essere dunque prelevato esclusivamente all'interno di una "finestra" temporale assai ristretta, superata la quale non è più possibile fare alcuna diagnosi. I capelli possono invece essere prelevati fino al compimento dei 3 mesi di età, ovvero fino a quando il neonato inizia tipicamente a perderli, e in quanto tali sono stati indicati come matrice biologica alternativa per la quantificazione dei FAEE.

Questa matrice biologica viene spesso utilizzata per l'individuazione retrospettiva dell'abuso di sostanze lecite (farmaci) e illecite (droghe). Esse vengono depositate dal circolo sanguigno nello strato corticale del capello (34). Le sostanze idrofobiche, in particolare, tendono ad accumularsi significativamente nello stelo, dove rimangono per l'intera durata della vita del capello o fino a quando esso non venga tagliato (35). L'analisi del capello può dunque costituire un metodo utile anche per il monitoraggio e l'individuazione dell'uso di sostanze in gravidanza, e applicata ai neonati si è dimostrata in grado di confermare o smentire la sospetta esposizione prenatale a sostanze quali la nicotina e la cocaina (36). I capelli cominciano a crescere intorno alla terza-quarta settimana di vita fetale (34), e dunque in questa matrice dovrebbero essere teoricamente individuabili le tracce di qualsiasi esposizione avvenuta nel corso del terzo trimestre di gestazione.

I FAEE risultano avere nel capello una stabilità prolungata, per cui dovrebbero essere adeguati come biomarker a lungo termine dell'esposizione ad alcol (37). È stato osservato che, a causa della loro natura altamente idrofobica, essi si concentrano nel capello secondo una curva dose-risposta (38). Nei campioni prelevati da soggetti adulti alcolisti sono state riscontrate concentrazioni elevatissime di E16 ed E18:1, con una media rispettivamente di 5,94 e 7,08 pmol/mg di capello. Al contrario, nei capelli di bambini e di soggetti adulti astemi i livelli di FAEE sono risultati al di sotto della soglia di rilevamento. I campioni prelevati da bevitori normali, ovvero da chi consuma da 2 a 4 unità alcoliche standard a settimana, contengono livelli

di FAEE notevolmente inferiori rispetto ai campioni prelevati da alcolisti, con valori massimi di E16 ed E18:1 pari rispettivamente a 1,40 e 1,03 pmol/mg (38-39). I FAEE mostrano dunque di avere tutte le potenzialità per essere utilizzati negli adulti come biomarker del consumo eccessivo di alcol.

Per quanto riguarda i neonati, studi recenti, condotti tanto sull'uomo quanto sugli animali, indicano che le quantità di FAEE sono maggiori nei capelli/peli dei soggetti esposti prenatalmente a quantità eccessive di alcol (40). Usando la cavia come modello, Caprara *et al.* hanno dimostrato per la prima volta che l'esposizione cronica ad alcol durante la gravidanza è associata a un incremento dei livelli di FAEE sia nel pelo della madre sia in quello del figlio. Le cavie sono state esposte *in utero* a un trattamento cronico con etanolo che simulava un pattern di assunzione del tipo binge (ubriacatura, ingestione di grandi quantità di alcol in una sola occasione), con una concentrazione rilevata di alcol nel sangue pari a 260 mg/dl, ovvero più del doppio del tasso alcolico consentito dalla legge canadese. Si tratta di un regime di dosaggio che nella cavia produce effetti neurotossici (41). I campioni di pelo sono stati prelevati dalla madre e dai piccoli in vari momenti del parto, e sei esteri sono stati quantificati mediante GC-MS a ionizzazione chimica (42). Il limite di rilevabilità andava, per singolo estere, da 0,008 a 0,084 pmol/mg. La concentrazione cumulativa dei FAEE nei campioni prelevati al 57° giorno di gestazione dalle madri esposte è risultata pari a $0,431 \pm 0,140$ pmol/mg (media $\pm$ SEM), mentre il valore corrispondente era 10 volte più basso nei controlli che avevano assunto acqua e zucchero. Analogamente, i livelli rilevati nei campioni prelevati al primo giorno postnatale dai piccoli esposti (concentrazione media cumulativa dei FAEE = $0,491 \pm 0,177$ pmol/mg) erano 15 volte più elevati di quelli dei soggetti di controllo. Il 60% dei campioni provenienti da animali esposti ad alcol conteneva due o più FAEE quantificabili, mentre quasi il 90% dei campioni di controllo non superava l'uno. I risultati di questo studio indicano che i FAEE sono effettivamente in grado di accumularsi in concentrazioni significative nel pelo degli animali neonati che sono stati esposti prenatalmente a notevoli quantità di alcol.

Alcuni risultati preliminari sembrano indicare che nell'uomo le cose non vadano diversamente. Klein *et al.* (43) hanno documentato la presenza di livelli significativi di FAEE sia nei capelli di una donna che riferiva di aver consumato bevande alcoliche in gravidanza sia in quelli del suo neonato: i valori osservati erano pari, rispettivamente, a 2,6 e a 0,4 pmol/mg. Analogamente a quanto detto a proposito dello screening del meconio, le misurazioni dei livelli di base indicano che i FAEE sono presenti anche nei capelli dei figli di donne che non bevono alcol (44). Essi sono stati rilevati nella quasi totalità dei campioni di capelli prelevati da 56 figli di donne non alcoliste che partecipavano a una well baby clinic (un programma di supporto socio-sanitario ai genitori nel periodo neonatale) e analizzati mediante GC-MS (*Gas Chromatography - Mass Spectrometry*) a ionizzazione chimica. Il livello medio di tutto il gruppo era pari a $0,32 \pm 0,09$ pmol/mg, mentre i valori individuali andavano da "non rilevabile" a 2,95 pmol/mg. I livelli di FAEE osservati nei figli delle donne che riferivano un consumo modesto e infrequente non differivano da quelli rilevati nei figli delle donne che si dichiaravano totalmente astemie. Questi risultati sui livelli di base sono stati ulteriormente confermati da studi condotti su animali.

È evidente che lo screening dei FAEE nei capelli potrebbe costituire un valido supporto per il medico che voglia identificare i bambini che sono stati esposti prenatalmente ad alcol, rivoluzionando potenzialmente il sistema che viene oggi utilizzato per diagnosticare il FASD. Questo metodo potrebbe permettere di anticipare l'individuazione del problema e la diagnosi, e dunque di avviare gli interventi e i trattamenti del caso in stadi evolutivi in cui gli effetti avversi dell'alcol possono ancora essere mitigati. Tuttavia, per validare adeguatamente questi test nell'uomo e per determinarne la sensibilità e la specificità clinica, occorre che campioni prelevati da donne delle quali sia accertato un ingente uso di alcol in gravidanza e dai loro

bambini siano utilizzati per definire precisi valori di soglia. Fino a quando ciò non verrà fatto, i livelli di FAEE attesi per i campioni di capelli appartenenti alla popolazione delle forti bevitrici rimarranno ignoti.

Fenotipizzazione comportamentale e diagnosi di FASD

Poiché nella maggior parte dei casi di FASD le caratteristiche facciali patognomiche sono assenti o indistinguibili, la diagnosi è – a meno che non si abbia una storia acclarata di consumo materno di alcol – difficoltosa se non impossibile. Può forse il comportamento del bambino venirci in aiuto? Benché i clinici percepiscano da lungo tempo che i bambini esposti ad alcol *in utero* esprimono un pattern comportamentale ‘differente’ e ‘unico’, nessun lavoro ha mai descritto quantitativamente tale fenotipo. Il nostro laboratorio sta appunto cercando attualmente di delineare un fenotipo comportamentale indicativo di FASD. Avvalendoci della *Child Behaviour Check-List* (CBCL), uno strumento validato da somministrare ai genitori o a chi si prende cura del bambino, abbiamo messo a confronto le caratteristiche di tre gruppi, equivalenti tra loro per età e condizioni socio-economiche: 1) bambini con diagnosi di FASD, con consumo materno accertato (n. = 30); 2) bambini con diagnosi di disturbo da deficit dell’attenzione e iperattività (ADHD, *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*), privi di storia di consumo materno (n. = 30), e 3) bambini sani (n. = 30). Per determinare la sensibilità e la specificità dei diversi item comportamentali nel discriminare i bambini con FASD da quelli con ADHD e da quelli sani, è stata utilizzata un’analisi di funzione discriminante con metodo stepwise seguita da curva della caratteristica operativa del ricevitore (ROC, *Receiver Operating Curves*).

I risultati più recenti indicano che: 1) i bambini con FASD differiscono significativamente da quelli sani in una combinazione di 7 item che vanno a sondare l’iperattività, la carenza di attenzione, la tendenza a mentire e imbrogliare, la mancanza di senso di colpa dopo essersi comportati male, e la disubbidienza in casa (sensibilità 86%, specificità 82%); 2) i bambini con FASD differiscono significativamente da quelli con ADHD in una combinazione di 3 item che vanno a sondare la mancanza di senso di colpa dopo essersi comportati male, la crudeltà, la prepotenza o “bullismo”, il rubare in casa o fuori, e la tendenza a mentire e imbrogliare (sensibilità 70%, specificità 80%). Le differenze specifiche che sembrano esistere tra i bambini con FASD e quelli con ADHD o quelli sani sono potenzialmente utilizzabili come nuovo metodo di valutazione, il quale a sua volta potrebbe essere utilizzato in particolare dai medici delle zone remote del Paese in cui non sono disponibili servizi di psicologia, e in tal modo promuovere lo screening e facilitare l’accesso alla diagnosi a molti bambini che attualmente non hanno questa possibilità.

Conclusioni

È spesso molto difficile diagnosticare l’esposizione prenatale ad alcol, specialmente nei casi in cui non sono manifesti indicatori fisici. Nel presente articolo abbiamo presentato due fronti sui quali il processo diagnostico relativo al FASD potrebbe progredire fino a permettere di individuare la maggior parte dei bambini colpiti: (a) l’esame neonatale dei coniugati dell’etanolo, atto a identificare i soggetti che sono stati esposti *in utero* a quantitativi di etanolo clinicamente significativi, e (b) l’esame comportamentale che, eseguito da genitori, tutori o personale medico, potrebbe permettere di identificare i casi che non presentano né le alterazioni facciali patognomiche né una storia acclarata di consumo materno di alcol. Affiancando questi

due approcci allo screening del consumo materno dovrebbe essere possibile individuare la gran parte dei bambini che risentono degli effetti di un'esposizione prenatale ad alcol, e dunque fornire loro il supporto e gli stimoli educativi più appropriati per limitare le disabilità secondarie prevenibili associate al FASD.

Bibliografia

1. Streissguth AP, Bookstein FL, Barr HM, Sampson PD, O'Malley K, and Young JK. Risk factors for adverse life outcomes in fetal alcohol syndrome and fetal alcohol effects. *J Dev Behav Pediatr* 2004;25:228-38.
2. Bratton R. Fetal alcohol syndrome: how you can prevent it. *Post Graduate Medical Education* 1995;98:197-200.
3. Battaglia FC, Howe CJ, Stratton KR, Institute IOM, and National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. *Fetal alcohol syndrome : diagnosis, epidemiology, prevention, and treatment*. Washington, DC: National Academy Press; 1996.
4. Abel EL. *Fetal alcohol syndrome: from mechanism to prevention*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1996.
5. Russell M, Martier SS, Sokol RJ, Mudar P, Jacobson S, and Jacobson J. Detecting risk drinking during pregnancy: a comparison of four screening questionnaires. *Am J Public Health* 1996;86:1435-9.
6. Bradley KA, Boyd-Wickizer J, Powell SH, and Burman ML. Alcohol screening questionnaires in women: a critical review. *JAMA* 1998;280:166-71.
7. Russell M, Martier SS, Sokol RJ, Mudar P, Bottoms S, Jacobson S, and Jacobson J. Screening for pregnancy risk-drinking. *Alcohol Clin Exp Res* 1994;18:1156-61.
8. Sokol RJ, Delaney-Black V, Nordstrom B. Fetal alcohol spectrum disorder. *JAMA* 2003;290:2996-9.
9. U.S. Department of Health and Human Services. *10th special report to the U.S. Congress on alcohol and health: highlights from current research*. Washington: NIAAA, NIH, U.S. Department of Health and Human Services; 2000
10. Chudley AE, Conry J, Cook JL, Looock C, Rosales T, and LeBlanc N. Fetal alcohol spectrum disorder: Canadian guidelines for diagnosis. *CMAJ* 2005;172:S1-S21.
11. Gupman AE, Svikis D, McCaul ME, Anderson J, and Santora PB,. Detection of alcohol and drug problems in an urban gynecology clinic. *J Reprod Med* 2002;47:404-10.
12. Savage C, Wray J, Ritchey PN, Sommers M, Dyehouse J, and Fulmer M. Current screening instruments related to alcohol consumption in pregnancy and a proposed alternative method. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2003;32:437-46.
13. Dawson DA, Das A, Faden VB, Bhaskar B, Krulewicz CJ, and Wesley B. Screening for high- and moderate-risk drinking during pregnancy: a comparison of several TWEAK-based screeners. *Alcohol Clin Exp.Res* 2001;25:1342-9.
14. Sobell LC, Sobell MB, Leo GI, and Cancilla A. Reliability of a timeline method: assessing normal drinkers' reports of recent drinking and a comparative evaluation across several populations. *Br J Addict* 1988;83:393-402.
15. Sobell LC, Sobell MB. Timeline follow-back: a technique for assessing self-reported alcohol consumption. In: Litten RZ, Allen JP (Ed.). *Measuring alcohol consumption: Psychosocial and biochemical method*. Totowa, NJ: Humana Press; 1992. p. 41-72
16. Wurst FM, Alexson S, Wolfersdorf M, Bechtel G, Forster S, Alling C, *et al*. Concentration of fatty acid ethyl esters in hair of alcoholics: comparison to other biological state markers and self reported-ethanol intake. *Alcohol Alcohol* 2004;39:33-8.

17. Cook JD. Biochemical markers of alcohol use in pregnant women. *Clin Biochem* 2003;36:9-19.
18. Bearer CF, Gould S, Emerson R, Kinnunen P, Cook CS. Fetal alcohol syndrome and fatty acid ethyl esters. *Pediatr Res* 1992;31:492-5.
19. Laposata EA, Scherrer DE, Lange LG. Fatty acid ethyl esters in adipose tissue. A laboratory marker for alcohol-related death. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:762-6.
20. Laposata M. Fatty acid ethyl esters: current facts and speculations. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1999;60:313-5.
21. Refaai MA, Nguyen PN, Steffensen TS, Evans RJ, Cluette-Brown JE, Laposata M. Liver and adipose tissue fatty acid ethyl esters obtained at autopsy are postmortem markers for premortem ethanol intake. *Clin Chem* 2002;48:77-83.
22. Best CA, Laposata M. Fatty acid ethyl esters: toxic non-oxidative metabolites of ethanol and markers of ethanol intake. *Front Biosci* 2003;8:e202-e217.
23. Mac E, Pacis M, Garcia G, Ostrea Jr E. A marker of Fetal Exposure to Alcohol by Meconium Analysis. *Pediatr Res* 1994;35:238A.
24. Chan D, Knie B, Boskovic R, Koren G. Placental handling of fatty acid ethyl esters: perfusion and subcellular studies. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;310:75-82.
25. Ostrea EM Jr. Testing for exposure to illicit drugs and other agents in the neonate: a review of laboratory methods and the role of meconium analysis. *Curr Probl Pediatr* 1999;29:37-56.
26. Bearer CF, Lee S, Salvator AE, Minnes S, Swick A, Yamashita T, Singer LT. Ethyl linoleate in meconium: a biomarker for prenatal ethanol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:487-93.
27. Chan D, Bar-Oz B, Pellerin B, Paciorek C, Klein J, Kapur B, Farine D, Koren G. Population baseline of meconium fatty acid ethyl esters among infants of nondrinking women in Jerusalem and Toronto. *Ther Drug Monit* 2003;25:271-8.
28. Moore CM, Lewis D. Fatty acid ethyl esters in meconium: biomarkers for the detection of alcohol exposure in neonates. *Clin Chim Acta* 2001;312:235-7.
29. Klein J, Karaskov T, Koren G. Fatty acid ethyl esters: a novel biologic marker for heavy in utero ethanol exposure: a case report. *Ther Drug Monit* 1999;21:644-6.
30. Ostrovsky YM, Pronko PS, Shishkin SN, Kolesnikov VB, Volynets SI. An attempt to evaluate diagnostic and prognostic significance of blood endogenous ethanol in alcoholics and their relatives. *Alcohol* 1989;6:97-102.
31. Bearer CF, Jacobson JL, Jacobson SW, Barr D, Croxford J, Molteno CD, *et al.* Validation of a new biomarker of fetal exposure to alcohol. *J Pediatr* 2003;143:463-9.
32. Chan D, Caprara D, Blanchette P, Klein J, Koren G. Recent developments in meconium and hair testing methods for the confirmation of gestational exposures to alcohol and tobacco smoke. *Clin Biochem* 2004;37:429-38.
33. Moore C, Jones J, Lewis D, Buchi K. Prevalence of fatty acid ethyl esters in meconium specimens. *Clin Chem* 2003;49:133-6.
34. Robbins CR. *Chemical and physical behavior of human hair*. New York: Springer; 2002.
35. Ursitti F, Klein J, Koren G. Clinical utilization of the neonatal hair test for cocaine: a four-year experience in Toronto. *Biol Neonate* 1997;72:345-51.
36. Eliopoulos C, Klein J, Phan MK, Knie B, Greenwald M, Chitayat D, *et al.* Hair concentrations of nicotine and cotinine in women and their newborn infants. *JAMA* 1994;271:621-3.
37. Caprara D, Cartmell LW, Klein J, Koren G. The stability of Fatty Acid Ethyl Esters in human hair: measurements of alcohol exposure in the hair of South American and Egyptian mummies. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28:40A.

38. Auwarter V, Sporkert F, Hartwig S, Pragst F, Vater H, Diefenbacher A. Fatty acid ethyl esters in hair as markers of alcohol consumption. Segmental hair analysis of alcoholics, social drinkers, and teetotalers. *Clin Chem* 2001;47:2114-23.
39. Pragst F, Auwaerter V, Sporkert F, Spiegel K. Analysis of fatty acid ethyl esters in hair as possible markers of chronically elevated alcohol consumption by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC- MS). *Forensic Sci Int* 2001;121:76-88.
40. Caprara D, Brien JF, Iqbal U, Reynolds JN, Klein J, Koren G. A guinea pig model for the identification of in utero alcohol exposure using fatty acid ethyl esters in neonatal hair. *Pediatr Res* 2005;58(6):1158-63.
41. Abel EL. *Fetal alcohol syndrome. Vol III. Animal studies*. Boca Raton: CRC Press; 1982.
42. Caprara D, Klein J, Koren G. Diagnosis of fetal alcohol spectrum disorder: Fatty acid ethyl esters and neonatal hair analysis. *Ann Ist Super Sanita* 2006;42(1):39-45.
43. Klein J, Chan D, Koren G. Neonatal hair analysis as a biomarker for in utero alcohol exposure. *N Engl J Med* 2002;347:2086.
44. Caprara D, Klein J, Koren G. Baseline measures of fatty acid ethyl esters in hair of neonates born to abstaining or mild social drinking mothers. *Ther Drug Monit* 2005;27(6):811-5.

DONNA, ALCOL E AMBIENTE: RISCHI EMERGENTI*

Rosanna Mancinelli, Rosanna M. Fidente, Laura Berardi, Roberto Binetti
Centro Nazionale Sostanze Chimiche, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

Introduzione

Nell'approccio ai problemi associati all'alcol sono implicati diversi fattori, tra cui la disponibilità di bevande alcoliche, l'accettazione sociale del loro consumo e l'uso che ne fa tradizionalmente una determinata cultura. Tali fattori contribuiscono a modificare la percezione del rischio associato all'abuso di alcol tanto che la nozione stessa di "bere eccessivo" è tuttora controversa (1). Lo stile di vita moderno promuove comportamenti a rischio come l'abuso di alcol, tabacco e droghe; inoltre, molte persone sono oggi esposte a xenobiotici ambientali quali pesticidi, metalli pesanti e sostanze inquinanti. L'esposizione congiunta ad abuso di alcol e tossici ambientali può amplificare gli effetti esercitati sulla salute dai singoli fattori, con un meccanismo di interazione sinergica. Negli ultimi anni, sono state oggetto di una considerevole quantità di studi, le differenze di genere nei pattern di assunzione di alcol e nei problemi legati all'alcol e si è evidenziata la necessità di mettere a punto interventi specifici. Infatti, ormai le ricerche supportano l'ipotesi che le donne siano maggiormente vulnerabili agli effetti dell'etanolo, a causa delle loro peculiarità fisiologiche, metaboliche e ormonali ed è in costante crescita il numero di donne che assumono troppo alcol. Lo hanno dimostrato una serie di studi epidemiologici americani in cui è stato registrato un rapido incremento del tasso di consumo alcolico a rischio nelle donne (2), e anche dati epidemiologici raccolti in Europa nel 2004 dallo *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction* (EMCDDA) confermano che la percentuale di bevitori a rischio tra le donne risulta ormai del tutto paragonabile a quello maschile. Ulteriori dati epidemiologici supportano la crescente preoccupazione non solo per la salute delle donne ma anche per quella dei loro figli in cui le conseguenze di un'esposizione alcolica prenatale possono essere drammatiche (3).

Per valutare le abitudini relative all'assunzione di alcol e il tipo di bevande consumate, vengono largamente utilizzati i questionari di auto-dichiarazione. La loro attendibilità è tuttavia discutibile, poiché la maggior parte dei forti bevitori, e delle donne in particolare, è reticente nel riferire quantità e modalità del bere. Perciò, insieme a test specifici quali il MAST (*Michigan Alcoholism Screening Test*), il MALT (*Munich Alcoholism Test*), il SADQ (*Severity of Alcohol Dependence Questionnaire*) e l'AUDIT (*Alcohol Use Disorders Identification Test*) (4), un valido contributo alla valutazione e all'accertamento di bere a rischio è costituito dalla valutazione clinica, dai dati strumentali e dallo screening con bioindicatori specifici.

Il presente lavoro mette in evidenza alcune peculiarità dell'abuso alcolico femminile e delle possibili interazioni tra alcol e tossici ambientali. Vengono discussi inoltre alcuni aspetti relativi all'uso di indicatori biochimici con riferimento ai più recenti studi alcologici.

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Mancinelli R, Binetti R, Ceccanti M. Woman, alcohol and environment: emerging risks for health. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):246-53.

Metabolismo dell'alcol e differenze di genere

Gli effetti dall'etanolo sono direttamente correlati alla sua concentrazione nel sangue (*Blood Alcohol Concentration*, BAC), che a sua volta dipende dalla quantità di alcol ingerita e assorbita dal tratto gastrointestinale, dalla distribuzione dell'alcol all'interno del corpo e dalla velocità con cui esso viene eliminato. La via metabolica principale è quella dell'alcol-deidrogenasi (ADH) che trasforma l'alcol in acetaldeide la quale a sua volta finisce nel ciclo di Krebs in forma di acetato. Durante il metabolismo di primo passaggio (*First-Pass Metabolism*, FPM), una parte variabile di etanolo viene metabolizzata dall'isoenzima gastrico dell'ADH mentre la rimanente quota è metabolizzata dall'ADH epatica.

Poiché la maggior parte del metabolismo dell'alcol avviene nel fegato e, in grado minore, nello stomaco, le complicanze fisiche associate all'abuso riguardano prevalentemente questi organi. ADH utilizza come coenzima il NAD che viene ridotto a NADH. In caso di abuso, l'ossidazione dell'etanolo produce un eccesso di equivalenti riducenti, in particolare di Nicotinamide-Adenin-Dinucleotide (NADH), che producono effetti epatotossici. Inoltre l'abuso cronico di alcol induce la via metabolica aggiuntiva del MEOS (*Microsomal Ethanol Oxidizing System*), in particolare del citocromo P-450 (CYP2E1) che utilizza il coenzima NADP. Questa via non è accoppiata alla fosforilazione ossidativa per cui genera solo calore senza la formazione di legami ad alta energia. Il CYP2E1 viene indotto anche nelle cellule di Kupffer, promuovendone l'attivazione e innescando il rilascio di citochine infiammatorie tra cui il (TNF)- α (*Tumor Necrosis Factor*, fattore di necrosi tumorale) (6).

Sono state proposte molte ipotesi per spiegare la progressione più rapida del danno da alcol nelle donne rispetto agli uomini. La maggiore vulneribilità femminile sembra legata a un tasso alcolico più elevato a parità di assunzione, ma i meccanismi alla base di questo fenomeno sono dibattuti. La BAC è fortemente correlata al BMI (*Body Mass Index*, indice di massa corporea) e alla quantità d'acqua contenuta nel corpo. Entrambi i valori sono più bassi nelle donne, così che si ha una minore diffusione dell'etanolo e dunque una BAC più elevata. È stato dimostrato che se il valore di BAC viene normalizzato rispetto al contenuto totale di acqua nel corpo, le differenze di genere spariscono (7). Diversi anni fa è stato anche dimostrato che l'attività dell'ADH gastrica è significativamente inferiore nelle donne rispetto agli uomini, e che nelle forti bevitrici è prossima allo zero (8). Dunque, nelle donne, il fegato viene raggiunto da una maggiore proporzione di alcol ingerito. Uno studio sperimentale recente ha riscontrato che le differenze di genere dipendono dalla concentrazione alcolica in quanto le donne mostrano un metabolismo gastrico più lento rispetto agli uomini quando assumono bevande alcoliche al 10% o al 40% ma non al 5% (9).

È stato anche dimostrato che l'attività dell'ADH varia con l'età (10). Nei bevitori normali di sesso maschile, essa è massima tra i 20 e i 40 anni per poi decrescere, fino a dimezzarsi tra i 61 e gli 80. Al contrario, nelle donne, l'attività dell'ADH gastrica è minima tra i 20 e i 40 anni, raggiunge il suo picco tra i 40 e i 60, e decresce in seguito analogamente a quanto accade negli uomini. Il periodo critico corrisponde dunque alla fascia d'età 20-40 anni, quando la differenza di genere è più significativa e le donne sono metabolicamente più esposte agli effetti dell'alcool. Questo periodo corrisponde anche all'età fertile, per cui può essere maggiore il rischio di esposizione e danno fetale. I livelli di BAC sono correlati anche al deterioramento delle prestazioni cognitive e psicomotorie (11). L'alcol può interferire maggiormente con lo sviluppo psicologico femminile che non con quello maschile soprattutto nel periodo adolescenziale, con possibili conseguenze sul comportamento in fasi successive della vita (12). Avvalendosi della diagnostica per immagini, alcuni studi hanno evidenziato che nel cervello delle donne alcoliste sono presenti alterazioni specifiche, quali corpo calloso di dimensioni inferiori (13) e spazio intracranico di dimensioni maggiori (14) rispetto alle donne di controllo. Al contrario, gli

alcolisti maschi non differiscono in questi parametri dai non alcolisti. Altri indici di danno cerebrale associato all'alcol, come il rapporto tra il volume dei ventricoli e quello del cervello (15), rivelano deficit analoghi nei due sessi nonostante le donne abbiano pattern d'abuso meno pesanti. Ciò conferma l'ipotesi secondo la quale il cervello femminile è maggiormente vulnerabile di quello maschile agli effetti tossici dell'alcol (16). Tale vulnerabilità può essere influenzata da fattori ormonali (17) anche perché sono state osservate BAC diverse in corrispondenza di fasi diverse del ciclo mestruale (18). È stato ipotizzato che la progressione più rapida del danno epatico nella popolazione femminile sia legata al coinvolgimento degli estrogeni nei processi infiammatori (19). Inoltre, in età riproduttiva, l'uso di contraccettivi orali può aggravare le conseguenze dell'alcol per mezzo di un'attivazione ormonale del danno epatico da endotossine (20). Vi sono dati, sia clinici sia sperimentali, che dimostrano che l'abuso di alcol può essere associato ad alterazioni della normale ciclicità mestruale, a una riduzione della fertilità (21) e a un rischio maggiore di cancro al seno (22-24).

Effetti teratogeni

Gli effetti teratogeni dell'alcol sono noti da molto tempo, ma la sindrome fetoalcolica (*Fetal Alcohol Syndrome*, FAS) è stata descritta soltanto negli anni Settanta (25). L'alcol produce nel cervello fetale danni neuronali e perdita di cellule agendo in maniera diretta, quale tossina che attraversa la placenta e raggiunge il feto intollerante all'etanolo. Esso può interferire con lo sviluppo fetale e causare aborto spontaneo o morte endouterina, nascita pretermine, basso peso alla nascita, anomalie dello sviluppo mentale e fisico e alterazioni somatiche. Il danno fetale causato dall'etanolo non è direttamente correlato alla dose e può prodursi, specie nelle prime fasi della gravidanza, anche in seguito all'ingestione materna di quantità modeste. Esso non è reversibile, per cui è necessario prevenire l'eventuale danno raccomandando l'astinenza dall'alcol durante la gravidanza.

L'esposizione alcolica in gravidanza produce nella prole deficit dello sviluppo fisico e una vasta gamma di effetti neurocomportamentali (iperattività, deficit dell'attenzione, disturbi dell'apprendimento e della memoria, problemi di tipo sociale ed emozionale) che solitamente emergono in età scolare. Questi effetti sono denominati FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) ovvero insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol. La severità del danno può variare notevolmente fino alla sindrome fetoalcolica (FAS), diagnosticabile da peculiari alterazioni fisiche e deficit neuro comportamentali. La caratteristica fondamentale del fenotipo cognitivo-comportamentale FASD è rappresentata da deficit generalizzato dell'elaborazione di informazioni complesse (26) e richiede un intervento specifico. Da ribadire che anche bambini esposti a moderate quantità di etanolo possono sviluppare problemi di apprendimento e comportamento (27) e che la presenza di inquinanti ambientali può ulteriormente contribuire alla determinazione del danno con eventuali effetti sinergici. Questi effetti dipendono anche dallo stadio evolutivo fetale, ma ancora non si sa molto dell'impatto dei fattori ambientali sui bambini (28).

Le donne in età riproduttiva dovrebbero essere comunque informate dei rischi associati al consumo di alcol in gravidanza e sarebbe bene che anche insegnanti e operatori sanitari, quali pediatri e medici di medicina generale (29), fossero messi in grado di riconoscere nei bambini questo tipo di problema per attuare i necessari interventi.

Alcol e ambiente

La ricerca sul metabolismo dell'etanolo ha stabilito che l'alcol ha proprietà epatotossiche principalmente a causa della malnutrizione secondaria e dei processi ossidativi. Questi effetti sono dovuti a cambiamenti dello stato ossido-riduttivo prodotti dal NADH generato dall'attività dell'alcol-deidrogenasi epatica con conseguenti effetti sul metabolismo di lipidi, carboidrati, proteine e purine. Come già riportato, oltre che dall'ADH, l'etanolo può essere ossidato nei microsomi epatici dal citocromo P450 (CYP2E1) che contribuisce al metabolismo e alla tolleranza all'etanolo, nonché alla tossicità perivenulare epatica selettiva di vari xenobiotici. Ciò potrebbe spiegare la maggiore suscettibilità di forti bevitori agli effetti tossici di solventi industriali, anestetici, farmaci d'uso comune, carcinogeni chimici e persino fattori nutritivi come la vitamina A. Inoltre, l'induzione della via microsomiale contribuisce a un'aumentata produzione di acetaldeide e alla conseguente formazione di addotti proteici che a loro volta generano produzione di anticorpi, inattivazione enzimatica, diminuita capacità di riparazione del DNA e significativa riduzione della capacità del fegato di utilizzare l'ossigeno. Inoltre, l'acetaldeide promuove deplezione del glutathione (GSH), tossicità mediata dai radicali liberi e perossidazione lipidica, e aumenta sintesi e accumulo di collagene epatico (30).

Il consumo di alcol amplifica dunque in maniera significativa gli effetti negativi della contemporanea esposizione (professionale o ambientale) ad altri tossici. Lo stile di vita e l'ambiente giocano insieme un ruolo significativo che in questi termini non sembra avere precedenti nell'ambito delle problematiche relative alla salute mondiale. Attualmente il consumo di alcol è considerato fattore di rischio nell'ambiente di lavoro soltanto per via dei suoi possibili effetti acuti sulle prestazioni, e principalmente per attività come la guida di velivoli, automobili o autobus e per i lavoratori industriali. Sui danni organici causati dall'associazione di un'esposizione professionale (e/o ambientale) a tossici con un significativo consumo di alcol non ci sono dati, e nuovi studi sono chiamati a far luce sulla questione (31). Anche in ambito tossicologico la valutazione di assunzione alcolica è spesso basata sull'auto-dichiarazione, la cui scarsa attendibilità è stata ampiamente dimostrata. Il consumo eccessivo andrebbe invece individuato per mezzo di indicatori di esposizione e di effetto come BAC, AST e ALT (ASpartato e ALanina amino Transferasi), MCV (*Mean Corpuscular Volume*) e GGT (*Gamma-Glutamyl Transferase*). Essi sono validi strumenti di valutazione del consumo di alcol, ma occorre tenere a mente che i loro valori vengono modificati anche dall'esposizione a tossici per cui non sempre è possibile discriminare tra effetti dell'alcol e quelli di altri tossici (32).

Il consumo di alcol e/o droghe, può agire insieme ai tossici ambientali (33) e produrre neurotossicità, alterazioni del sistema GABA, danni mitocondriali, disfunzione del sistema immunitario ed effetti teratogeni (34). Inoltre l'abuso cronico può determinare squilibrio di alcuni elementi essenziali, come il ferro, lo zinco, il rame e il selenio, alterando i meccanismi omeostatici che ne mantengono le concentrazioni entro i limiti fisiologici (35). L'intossicazione cronica da alcol innalza i valori dei metalli tossici, poiché comporta una ridotta disponibilità o attività delle sostanze e dei nutrienti regolatori essenziali tale che le concentrazioni di metalli che vengono considerate sicure per la popolazione generale possono non esserlo per i forti bevitori. Un esempio di questo è costituito dal piombo che costituisce uno dei metalli maggiormente tossici e diffusi nell'ambiente, per cui ne sono state stabilite diverse limitazioni d'uso allo scopo di ridurre l'esposizione generale. La maggior parte del piombo ingerito viene per lo più escreta rapidamente, ma l'assorbimento aumenta con la dose e il piombo si accumula nelle ossa, nei capelli e anche nel fegato. È dimostrato che la simultanea esposizione a etanolo e piombo comporta conseguenze avverse (36). Diversi studi hanno osservato che la presenza di piombo nel corpo è in grado di produrre notevoli alterazioni dello sviluppo pre- e postnatale: ne risentono le prestazioni cognitive, ed è stato ipotizzato anche un aumentato rischio di patologie

psichiatriche come la schizofrenia (37). Secondo Grilo Reina *et al.* (38) l'alcol modifica il metabolismo del piombo e i forti bevitori sono a rischio di saturnismo. Il piombo e l'etanolo hanno entrambi effetti teratogeni, e i figli di madri alcoliste sono maggiormente a rischio per i danni neurocomportamentali indotti dall'uno e dall'altro. È stato dimostrato che l'esposizione a piombo, come l'esposizione prenatale ad alcol, altera notevolmente le prestazioni cognitive dei bambini e può produrre nell'adolescenza comportamenti antisociali (39).

Anche altri fattori che possono contribuire all'effetto sinergico di piombo ed etanolo. È noto che la tiamina (vitamina B1) costituisce un efficace antidoto all'intossicazione da piombo, ma i suoi livelli sono marcatamente ridotti negli alcolisti, a causa sia della malnutrizione sia della ridotta fosforilazione. La carenza di tiamina associata all'alcolismo è più grave nelle donne che non negli uomini, ragion per cui esse sono maggiormente a rischio anche per gli effetti collaterali del piombo (40, 41).

Alcuni dati sperimentali, ottenuti in modelli animali (42), hanno dimostrato che la simultanea esposizione a piombo ed etanolo produce un aumento rilevante della zinco protoporfirina nel sangue e della perossidazione lipidica epatica. Rispetto al gruppo trattato con solo piombo, il gruppo trattato con entrambi gli agenti tossici mostrava una ridotta concentrazione di magnesio e calcio nel sangue e nel fegato e un aumento della quantità di piombo presente nel sangue, nel fegato e nel cervello. Inoltre, l'abuso cronico di alcol produce una perdita di calcio e magnesio, ma l'esposizione simultanea a piombo può causare una deplezione più seria di entrambi gli elementi, suggerendo ancora una volta l'esistenza di una sinergia.

La correlazione tra abuso di alcol e aumentato rischio di cancro è ben nota. L'abuso alcolico può danneggiare il DNA mediante vari meccanismi, tra cui incremento della proliferazione cellulare, stress ossidativo, formazioni di prodotti della perossidazione dei lipidi e dei relativi addotti del DNA, e inibizione della riparazione del DNA (43). Il meccanismo principale, tra quelli responsabili della carcinogenicità dell'etanolo, sembra essere quello della formazione di acetaldeide (44).

Gli studi più recenti hanno messo in luce il ruolo delle poliamine, composti naturali essenziali per la crescita cellulare che, reagendo con l'acetaldeide, possono innescare una serie di processi che esitano nel danneggiamento del DNA (45). Le poliamine facilitano la conversione dell'acetaldeide in crotonaldeide (CrA), la quale genera a sua volta un addotto del DNA, cioè 1,N(2)-propano-2'-deossiguanosina (PdG), denominato Cr-PdG. L'addotto Cr-PdG è ritenuto responsabile di effetti mutageni e genotossici (46). La crotonaldeide è un prodotto endogeno, ma è anche un composto chimico presente nell'ambiente. È un potente irritante, soprattutto per gli occhi e per i polmoni, ed è in grado di indebolire le funzioni immunitarie e di produrre carcinomi negli animali. La crotonaldeide è naturalmente presente nel cibo, e si forma inoltre dalla combustione del legno e dei combustibili fossili (è presente nelle emissioni dei veicoli a motore), con il fumo di sigaretta e con l'uso di olii di cottura (47). Viene prodotta industrialmente quale intermedio per la produzione di acido sorbico, e per la produzione di aromi, solventi, sostanze di interesse industriale, disinfettanti per uso umano, veterinario, domestico e civile, adesivi, inchiostri e vernici. Il fatto che le poliamine possano portare alla formazione di crotonaldeide endogena e dei suoi addotti del DNA può rivestire un notevole interesse per la comprensione dei meccanismi mediante i quali il consumo di bevande alcoliche aumenta il rischio di cancro. Inoltre, il possibile ruolo della crotonaldeide esogena ed endogena nell'incremento di rischio di cancro incoraggia la ricerca di fattori genetici sottostanti, come per esempio quelli che influiscono sui meccanismi di riparazione del DNA, associati all'esposizione ad alcol e ad agenti inquinanti.

Consumo alcolico femminile e bioindicatori

I marker biologici vengono largamente utilizzati per la diagnosi di disturbi alcol relati e per monitorare il trattamento. Tuttavia, per lo screening di consumo eccessivo di alcol protratto e lontano nel tempo, come può accadere nel corso di una gravidanza, spesso ci si vale di quanto dichiarato dal/dalla paziente. Questo metodo presenta però notevoli svantaggi. Per prima cosa, non sempre è facile ricordare con sufficiente esattezza la reale quantità e frequenza di assunzione. Inoltre, il timore della disapprovazione e forse della punizione per aver bevuto alcol rende le persone – soprattutto le donne – riluttanti a rivelare il proprio consumo di alcol specie se consistente. È quindi raccomandabile affiancare all'auto-dichiarazione una serie di test biochimici anche di routine come AST, ALT, MCV e GGT, per identificare il consumo eccessivo e per monitorare il comportamento alcolico anche nel corso della gravidanza. Il problema è quello di individuare il modo migliore per utilizzare i bioindicatori a supporto della diagnosi di abuso alcolico (48). La determinazione diretta della BAC è ovviamente l'indicatore di elezione anche se può essere rilevato solo in una ristretta finestra temporale. Inoltre, anche se la maggior parte degli studi non ne tiene conto, la determinazione dell'alcolemia è essenziale per la corretta valutazione diagnostica di indicatori alcolologici. Uno studio relativo all'isoenzima mitocondriale della AST (mAST, *mitochondrial isoenzyme of AST*), in cui mAST e BAC in sono stati misurati simultaneamente in diverse fasi del trattamento di pazienti alcolisti, ha dimostrato che l'andamento dell'indicatore mAST era strettamente correlato a BAC. Ciò ha permesso una adeguata valutazione dell'idoneità diagnostica del bioindicatore in studio e un più efficace monitoraggio del trattamento (49).

Fino a pochi anni fa, molti studi longitudinali sulla dipendenza alcolica prendevano in considerazione soltanto la popolazione maschile, e ancora oggi la popolazione femminile è meno rappresentata, anche perchè le donne accedono ai Servizi territoriali per il trattamento con minore frequenza rispetto agli uomini. I dati che possediamo sull'alcol e sui biomarker dell'alcol, dunque, sono stati di solito raccolti in popolazioni maschili e generalizzati a entrambi i sessi. Vi è tuttavia un interesse crescente per le differenze di genere, e il fatto che siano state osservate alcune interazioni significative tra genere e bioindicatori incoraggia studi specifici. Per quanto concerne la valutazione diagnostica, una tematica a tutt'oggi dibattuta è quella relativa alla maggiore o minore utilità della stima dell'area sottesa alla curva (*Area Under the Curve*, AUC) della curva ROC (*Receiver Operating Curves*), che rappresenta il compromesso raggiunto tra la sensibilità diagnostica e la specificità del test. L'AUC è una misura di discriminazione, ovvero della capacità del test di classificare correttamente i soggetti come affetti o non affetti dalla patologia. Alcuni autori hanno dimostrato che l'AUC è un valido strumento per la creazione di un algoritmo finalizzato al miglioramento dell'accuratezza diagnostica di una combinazione di bioindicatori, specialmente nell'ambito degli studi di genere (50). In una ricerca che abbiamo condotto recentemente sulla tiamina e sui suoi esteri, abbiamo trovato differenze altamente significative tra alcolisti e soggetti di controllo per quanto concerne la tiamina (T) e la tiamina difosfato (TDP, o cocarbossilasi), senza che nel campione di alcolisti fossero rilevabili differenze tra i due sessi. Tuttavia, quando abbiamo valutato l'AUC delle curve ROC, l'area relativa al campione femminile è risultata significativamente maggiore rispetto a quella maschile (40-41).

La determinazione di bioindicatori quali BAC, GGT, MCV e l'acetaldeide associata all'emoglobina (HAA, *Hemoglobin Associated Acetaldehyde*) possono offrire un valido contributo alla valutazione dell'abuso alcolico femminile (51) e dei rischi di danno fetale (52). Diversi studi indicano che anche l'assunzione di quantità modeste di alcol in gravidanza può essere sufficiente a danneggiare il feto ma non è ancora ben chiaro come questi danni si producano. I test biologici, identificando chi continua a bere in gravidanza, facilitano

l'attuazione di idonei interventi per aiutarle a smettere, ad essere più preparate a prendersi cura dei loro bambini e a ridurre il rischio per gli eventuali figli successivi. Oltre a urine e sangue di madre e neonato, i campioni biologici idonei a questo scopo sono liquido amniotico, sangue di cordone, placenta, latte materno, capelli di madre e neonato, meconio e vernice caseosa (cioè la sostanza che riveste la cute del feto). Tuttavia, poiché non è stato ancora trovato un singolo marker che abbia sensibilità e specificità tali da consentire da solo l'individuazione dell'esposizione ad alcol, è raccomandato l'utilizzo congiunto di più marker (53).

Anche se sono ancora scarsi gli studi di genere, si evidenzia che i marker biochimici attualmente in uso non sempre hanno nelle donne un'efficienza diagnostica paragonabile a quella nell'uomo. È quindi necessario, soprattutto per il monitoraggio delle donne in gravidanza, valutare indicatori con migliore sensibilità e specificità diagnostica. Negli anni più recenti, un crescente interesse è stato destato dagli esteri etilici degli acidi grassi o FAEE (*Fatty Acid Ethyl Esters*), prodotti metabolici dell'interazione tra etanolo e acidi grassi. I FAEE possono essere rilevati nel sange del cordone ombelicale, nel meconio e nei capelli del neonato, così come in altri organi dell'adulto (54-56) e sono considerati tra i più promettenti indicatori di esposizione prenatale oltre che di prolungato abuso alcolico. Anche lo studio della tiamina (vitamina B1) e della sua forma esterificata cocarbossilasi, ha dimostrato che la concentrazione di tiamina è un indice altamente significativo sia di esposizione che di effetto. I risultati mostrano nelle donne danni più severi che non negli uomini, confermando il cosiddetto "effetto telescopio", ovvero la progressione più rapida del danno da alcol nel sesso femminile. L'integrazione della dieta con tiamina è quindi indicata nell'alcolista anche se asintomatico poiché la carenza di questa vitamina porta ad un significativo peggioramento delle condizioni cliniche. Nelle donne in stato interessante, tale carenza può venire esacerbata dall'iperemesi gravidica, con gravi conseguenze per la salute della donna e un rischio elevato di danno del sistema nervoso centrale fetale (57). Per quanto riguarda la proteomica, i più recenti progressi ottenuti dagli studi relativi all'alcol la indicano come assai promettente per lo sviluppo di biomarker in grado di individuare alterazioni biologiche specificamente associate ad etanolo e di distinguere astinenti da bevitori (58). È stato inoltre dimostrato che specifici cluster di proteine sono in grado di distinguere i bambini con e senza FASD. Gli ulteriori sviluppi della proteomica potrebbero rappresentare un passo davvero significativo verso la prevenzione dei danni prenatali da alcol.

Conclusioni

I risultati ottenuti da un gran numero di studi indicano che nelle donne le conseguenze dell'eccessivo consumo di alcol presentano una maggiore severità, e che è necessario mettere a punto programmi di prevenzione dedicati alle donne. In considerazione dell'abbassamento dell'età in cui le donne iniziano a fare uso di alcol, destano ulteriore preoccupazione gli effetti sulla fisiologia femminile nel periodo dell'adolescenza e il rischio di una seria compromissione della salute fisica e psicologica futura, tra cui la propensione delle future donne adulte all'uso di alcol e di altre sostanze psicotrope.

È necessario incrementare la consapevolezza dei pericoli associati al consumo di alcol in gravidanza, un aspetto spesso trascurato anche dai ginecologi, che non forniscono alle loro pazienti informazioni adeguate. Poiché dalla letteratura non emerge una chiara relazione tra danno da alcol e dose assunta, i danni sembrano dipendere da una vasta gamma di fattori, e nessuna fase prenatale si è dimostrata esente dagli effetti deleteri dell'alcol è opportuno raccomandare l'astinenza durante tutta la gravidanza. La diagnosi di FASD si vale di svariati parametri diagnostici ma si basa sulla certezza di esposizione prenatale ad alcol. Questa certezza deve essere supportata dai dati biochimici poiché non sempre emerge dalle interviste e dai

questionari di screening a causa dei sensi di colpa e dello stigma associato alle donne che bevono, soprattutto se in gravidanza. Poiché i sintomi di FASD sono simili a quelli di altre sindromi non correlate all'alcol, per la diagnosi è bene avvalersi di un'equipe multidisciplinare composta da dismorfologo/genetista clinico, pediatra dello sviluppo, professionista della salute mentale, assistente sociale e pedagogo. Il trattamento del bambino prevede il coordinamento di molteplici servizi di comunità, la costruzione di un ambiente domestico sicuro e l'offerta di un supporto educativo. Identificazione e intervento precoci consentono di raggiungere risultati significativamente migliori fornendo un adeguato supporto in età prescolare (59); inoltre le prestazioni cognitive dei bambini possono migliorare notevolmente se l'ambiente in cui crescono è stimolante e capace di prendersi cura di loro e dei loro problemi.

Bibliografia

1. Meyerhoff DJ, Bode C, Nixon SJ, de Bruin EA, Bode JC, Seitz HK. Health risks of chronic moderate and heavy alcohol consumption: how much is too much? *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29(7):1334-40.
2. Kessler RC, McGonagle KA, Zhao S, Nelson CB, Huges M. Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the USA: results from the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 1994;51:8-19.
3. Warren KR, Foudin LL. Alcohol related birth defects, the past, present and future. *Alcohol Res Health* 2001;25(3):153-8.
4. Sasso GF, Mancinelli R, Attilia ML, Cavalieri G, Balducci G, Ceccanti M. *Markers biologici dell'abuso alcolico*. Roma: Edizioni SITAC; 2004.
5. Lieber CS. Metabolism of alcohol. *Clin Liver Dis* 2005;9(1):1-35.
6. Lieber CS. New concepts of the pathogenesis of alcoholic liver disease lead to novel treatments. *Curr Gastroenterol Rep* 2004;6(1):60-5.
7. Ely M, Hardy R, Longford NT, Wadsworth MEJ. Gender differences in the relationship between alcohol consumption and drink problems are largely account for body water. *Alcohol Alcohol* 1999;34(6):894-902.
8. Frezza M, Di Padova C, Pozzato G, Terpin M, Baraona E, Lieber CS. High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first pass metabolism. *N Engl J Med* 1990;322:95-9.
9. Baraona E, Abittan CS, Dohmen K, Moretti M, Pozzato G, Chayes ZW, et al. Gender differences in pharmacokinetics of alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25(4):502-7.
10. Parlesak A, Billinger MHU, Bode C, Bode JC. Gastric alcohol dehydrogenase activity in man influence of gender, age, alcohol consumption and smoking in a Caucasian population. *Alcohol Alcohol* 2002;37(4):388-93.
11. Maruff P, Falletti MG, Collie A, Darby D, Mc Stephen M. Fatigue-related impairment in the speed, accuracy and variability of psychomotor performance: comparison with blood alcohol levels. *J Sleep Res* 2005;14(1):21-7.
12. De Bellis MD, Clark DB, Beers SR, Soloff TH, Boring AM, Hall J, et al. Hippocampal volume in adolescent-onset alcohol use disorders. *Am J Psychiatry* 2000;157(5):737-44.
13. Hommer D., Momenan, R., Rawlings, R., Ragan, P., Williams, W., Rio, D., et al. Decreased corpus callosum size among alcoholic women. *Arch Neurol* 1996;53(4):359-63.
14. Hommer D, Momenan R, Kaiser E, Rawlings R. Evidence for a gender-related effects of alcoholism on brain volumers. *Am J Psychiatry* 2001;158(2):198-204.

15. Jacobson R. The contributions of sex and drinking history to the CT brain scan changes in alcoholics. *Psychol Med* 1986;16(3):547-59.
16. Sohrabi F. Neurodegeneration in women. *Alcohol Res Health* 2003;26(4):316-18.
17. Mello NK, Mendelson JH, Teoh SK. Overview of the effects of alcohol on the neuroendocrine function in women. In: Zakhari S. (Ed.). *Alcohol and the endocrine system*. Bethesda, MD: National Institutes of Health; 1993. (National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism Research Monograph No.23. NIH Pub. No.93-3533). p. 139-69.
18. Lammers SMM. Do alcohol pharmacokinetics in women vary due to the menstrual cycle? *Addiction* 1995;90(1):23-30.
19. Day CP. Who gets alcoholic liver disease: nature or nurture? *J R Coll Physicians Lond* 2000;24:557-6.
20. Konno A, Enomoto N, Takei Y, Hirose M, Ikejima K, Sato N. Oral contraceptives worsen endotoxin induced liver injury in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26(8):70S-74S.
21. Eggert J, Theobald H, Engfeldt P. Effects of alcohol consumption on female fertility during an 18-year period. *Fertil Steril* 2004;81(2):379-83.
22. Dumitrescu RG, Shields PG. The etiology of alcohol-induced breast cancer. *Alcohol* 2005;35:213-25.
23. Suzuki R, Ye W, Rylander-Rudqvist T, Saji S, Colditz GA, Wolk A. Alcohol and postmenopausal breast cancer risk defined by estrogen and progesterone receptor status: a prospective cohort study. *J Natl Cancer Inst* 2005;2;97(21):1601-8.
24. Onland-Moret NC, Peeters PH, van der Schouw YT, Grobbee DF, van Gils CH. Alcohol and endogenous sex steroid levels in postmenopausal women: a cross sectional study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(3):1414-9.
25. Jones KL, Smith DW, Ulleland CN, Streissguth P. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet* 1973;1(7815):1267-71.
26. Riley EP, Mattson SN, Li TK, Jacobson SW, Coles CD, Kodituwakku PW, Adnams CM, Korkman MI. Neurobehavioral consequences of prenatal alcohol exposure: an international perspective. *Alcohol Clin Exp Res* 2003;27(2):362-73.
27. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Surgeon General's advisory on alcohol and pregnancy. *FDA Drug Bulletin* 1981;11 (2):9-10.
28. Lanphear BP, Bearer CF. Biomarkers in paediatric research and practice. *Archives of Disease in Childhood* 2005;90:594-600.
29. Hoyme HE, May PA, Kalberg WO, Kodituwakku P, Gossage JP, Trujillo PM, et al. A practical clinical approach to diagnosis of fetal alcohol spectrum disorders: clarification of the 1996 institute of medicine criteria. *Pediatrics* 2005;115(1):39-47.
30. Lieber CS. Biochemical factors in alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 1993;13(2):136-53.
31. Wrbitzky R. Liver fuction in workers exposed to N,N-dimethylformamide during the production of synthetic textiles. *Int arch occup Environ Health* 1999;72(1):19-25.
32. Brautbar N, Williams II J. Industrial solvents and liver toxicity. Risk assessment, risk factors and mechanisms. *Int J Hyg Environ Health* 2002;205(6):479-91.
33. Cottalasso D, Domenicotti C, Traverso N, Pronzato M, Nanni G. Influence of chronic ethanol consumption on toxic effects of 1,2-dichloroethane: glycoprotein retention and impairment of dolichol concentration in rat liver microsomes and Golgi apparatus. *Toxicology* 2002;178(3):229-40.
34. Campbell JD. Lifestyle, minerals and health. *Med Hypotheses* 2001;57(5):521-31.
35. Zima T, Fialova L, Mestek O, Janebova M, Crkovska J, Malbohan I. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol related diseases. *J Biomed Sci* 2001;8(1):59-70.

36. Verma SK, Dua R, Gill KD. Impaired energy metabolism after co-exposure to lead and ethanol. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005;96(6):475-9.
37. Opler MG, Susser ES. Fetal environment and schizophrenia. *Environ Health Perspect* 2005;113(9):1239-42.
38. Grilo Reina A, Lopez Artiguez M, Castilla L, Castro M, Garcia-Bragado F, Repetto M. Wine as source of lead contamination. Study in southern region of Sevilla. *Med Clin (Barc)* 1990;15;95(8):281-5.
39. Dietrich KM, Ris MD, Succop PA. Early exposure to lead and juvenile delinquency. *Neurotox Teratol* 2001;23: 511-8.
40. Mancinelli R, Ceccanti M, Guiducci MS, Sasso GF, Sebastiani G, Attilia ML, *et al.* Simultaneous liquid chromatography assessment of thiamine, thiamine monophosphate and thiamine diphosphate in human erythrocytes: a study on alcoholics. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2003;15:789(2):355-63.
41. Ceccanti M, Mancinelli R, Sasso GF, Allen JP, Binetti R, Mellini A, Attilia F, Toppo L, Attilia ML. Erythrocyte thiamine (Th) esters: a major factor of the alcohol withdrawal syndrome or a candidate marker for alcoholism itself? *Alcohol Alcohol* 2005;40(4):283 -90.
42. Flora SJ, Kumar D, Sachan SR, Das Gupta S. Combined exposure to lead and ethanol on tissue concentration of essential metals and some biochemical indices in rat. *Biol Trace Elem Res* 1991;28(2):157-64.
43. Morozov AV, Havranek JJ, Baker D, Siggia ED. Protein-DNA binding specificity predictions with structural. *Nucleic Acid Research* 2005;33(18):5781-98.
44. Brooks PJ, Theruvathu JA. DNA adducts from acetaldehyde: implications for alcohol-related carcinogenesis. *Alcohol* 2005;35(3):187-93.
45. Theruvathu JA, Jaruga P, Nath RG, Dizdaroglu M, Brooks PJ. Polyamines stimulate the formation of mutagenic 1,N2-propanodeoxyguanosine adducts from acetaldehyde Nucleic Acid. *Research* 2005;33(11):3513-20.
46. Pan J, Chung FL. Formation of cyclic deoxyguanosine adducts from omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids under oxidative conditions. *Chem Res Toxicol* 2002;15:367-72.
47. Eder E, Budiawan. Cancer risk assessment for the environmental mutagen and carcinogen crotonaldehyde on the basis of TD50 and comparison with 1,N2-propanodeoxyguanosine adduct levels. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:883-8.
48. Schwan R, Albuissou E, Malet L, Loiseaux MN, Reynaud M, Schellenberg F, *et al.* The use of biological laboratory markers in the diagnosis of alcohol misuse: an evidence-based approach. *Drug Alcohol Depend* 2004;11:74(3):273-9
49. Macchia T, Mancinelli R, Gentili S, Ceccanti M, Devito R, Attilia ML, *et al.* Mitochondrial aspartate aminotransferase isoenzyme: a biochemical marker for the clinical managements of alcoholics? *Clin Chim Acta* 1997;4:263(1):79-96.
50. Chen J, Conigrave KM, Macaskill P, Whitfield JB. Combining CDT and GGT to increase diagnostic accuracy for problem drinking. *Alcohol Alcohol* 2003;38(6):574-82.
51. Cook JD. Biochemical markers of alcohol use in pregnant women. *Clin Biochem* 2003;36(1):9-19.
52. Bearer CF, Stoler JM, Cook JD, Carpenter SJ. Biomarkers of alcohol use in pregnancy. *Alcohol Res Health* 2004/2005;28(1):38-43.
53. Sarkola T, Ersson CJ, Nemela O. MCV and GGT are superior to CDT and HAA in the follow-up of pregnant women with alcohol abuse. *Acta Obstetricia Gynaecologica Scandinavica* 2000;79:359-66.
54. Bearer CF, Santiago LM, O'Riordan MA, Buck K, Lee Sc, Singer LT. Fatty Acid Ethyl Esters: quantitative biomarkers for maternal alcohol consumption. *J. Pediatr* 2005;146(6):824-30.

55. Bearer CF, Jacobson JL, Jacobson SW. Validation of a new biomarker of fetal exposure to alcohol. *The Journal of Pediatrics* 2003;143(4):463-9.
56. Chan D, Caparra D, Blanchette P, Klein J, Koren G. Recent developments in meconium and hair testing methods for the confirmation of gestational exposure to alcohol and tobacco use. *Clin Biochem* 2004;37(6):429-38.
57. Ba A, Seri BV, Aka KJ, Glin L, Tako A. Comparative effects of developmental thiamine deficiencies on the morphometry of the CA3 pyramidal cells. *Neurotoxicol Teratol* 1999;21(5):579-86.
58. Neuhold LA, Gud QM, Alper J. High-throughput proteomics for alcohol research. *Alcohol Clin Exper Res* 2004;28:203-10.
59. Wattendorf DJ, Muenke M. Fetal alcohol spectrum disorders. *Am Fam Physician* 2005;15;72(2):279-85.

SECONDA SEZIONE
Ricerca clinica e sperimentazione animale

FATTORI METABOLICI E GENETICI CHE PREDISPONGONO AL DANNO DA ALCOL E ALLA SINDROME FETO-ALCOLICA*

Simonetta Gemma, Susanna Vichi, Emanuela Testai

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

Introduzione

L'esposizione all'alcol durante la gravidanza aumenta la probabilità di aborti spontanei, causa mortalità prenatale e varie patologie, descritte nel complesso come "spettro dei disordini feto-alcolici" (FASD, *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) o "sindrome feto-alcolica" ((FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*) (1, 2). I danni provocati dall'esposizione all'alcol su neonati e bambini includono un'ampia varietà di patologie che vanno da anomalie facciali fino al ritardo mentale e/o ad aborti spontanei (2,3). Negli Stati Uniti e in altri Paesi occidentali, si è stimato che la prevalenza di FAS vari fra 0,2 e 2,0 ogni 1000 nati vivi (4).

Il consumo di alcol durante la gravidanza però non porta necessariamente alla nascita di bambini con FAS o altre patologie alcol-correlate: la FAS, infatti, colpisce meno del 10% delle donne che abusano di alcol durante la gestazione. Inoltre, nell'1% della popolazione statunitense sono stati trovati altri deficit che possono essere responsabili dell'insorgenza di FASD (5).

La comprensione dei fattori di rischio, per le donne consumatrici di alcol in gravidanza, di avere figli con FAS è un aspetto sicuramente rilevante: è stato ipotizzato che nello sviluppo della FAS giochino un ruolo importante fattori di rischio sia ambientali che genetici (Figura 1); tuttavia, quale sia il possibile meccanismo alla base degli effetti teratogeni dell'alcol ancora non è stato chiarito.

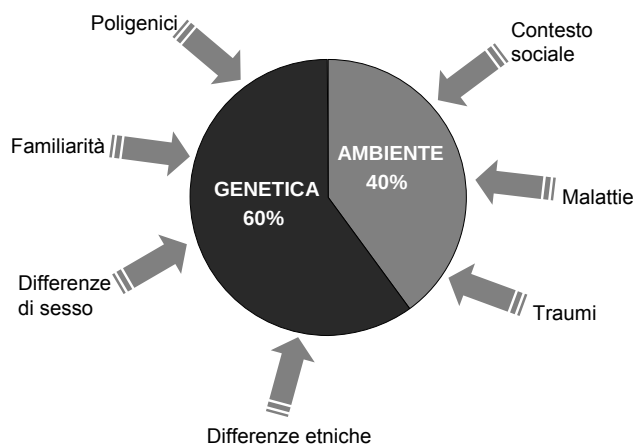


Figura 1. Alcolismo: geni e ambiente

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Gemma S, Vichi S, Testi E. Metabolic and genetic factors contributing to alcohol induced effects and fetal alcohol syndrome. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):221-9.

Una delle cause è sicuramente la molteplicità degli effetti che l'etanolo induce a livello cellulare e che sono sotto il controllo di segnali genetici e molecolari (5): si è ipotizzato che, nei tessuti embrionali, l'esposizione all'alcol inneschi una serie di eventi, inclusi apoptosi, difetti di adesione cellulare, accumulo di radicali liberi, effetti sui fattori di crescita e antagonismo nella biosintesi dell'acido retinico (6).

Esistono comunque molte evidenze che indicano che alla base degli effetti teratogeni indotti dall'alcol siano coinvolti meccanismi multipli dipendenti dalla quantità e dalla frequenza del consumo di alcol, dallo stato generale di salute e dall'età della madre oltre che dall'uso/abuso contemporaneo di altre sostanze (7). È inoltre essenziale la finestra espositiva, strettamente correlata allo stadio di sviluppo del feto. Infatti, la suscettibilità alle malformazioni conseguenti all'esposizione all'alcol *in utero* mostra selettività di organo, dipendente dalle caratteristiche temporali dell'esposizione, dalla dose e dalla sensibilità all'effetto del teratogeno delle cellule in divisione in ciascun organo. È stato riportato che la finestra di maggiore suscettibilità agli effetti indotti dall'alcol si ha durante lo sviluppo embrionale (corrispondente alle prime 8 settimane di gestazione) (8). Al consumo di alcol da parte della gestante in questa fase della gravidanza sono state associate malformazioni facciali e del cranio, le più comuni nella FAS (7). Anche fattori ormonali e lo stato nutrizionale materno hanno un'influenza diretta sullo sviluppo delle cellule embrionali, influenzando di conseguenza, la formazione e la crescita degli organi del nascituro (7).

La FASD non è ereditaria: il danno causato dall'etanolo al tessuto cerebrale fetale deriva da un'azione diretta delle sostanze tossiche che si formano in conseguenza di un'esposizione all'alcol, in grado di produrre danno neuronale e perdita di cellule. Ciò nonostante, sembra esserci una predisposizione genetica che influenza la severità dei danni subiti e la tendenza alla dipendenza da alcol (5).

Il ruolo delle caratteristiche genetiche quali fattori di rischio nello sviluppo della FASD, è stato avvalorato da studi su modelli animali, effettuati mediante incroci diallelici fra tre diversi ceppi di topo, caratterizzati da differenze nell'attività degli enzimi responsabili del metabolismo dell'etanolo. La severità degli effetti teratogeni è stata messa in relazione al picco ematico di concentrazione dell'etanolo, misurato in madri che nei diversi ceppi erano caratterizzate da livelli diversi di attività dell'alcol-deidrogenasi (ADH), regolata con alta probabilità a livello genetico (9). In questa prospettiva, gli studi sui meccanismi molecolari che regolano nell'uomo la diversa suscettibilità agli effetti tossici e teratogeni dell'alcol si sono concentrati sul ruolo degli enzimi responsabili del metabolismo l'etanolo. Uno dei fattori principali nel determinare il picco ematico di esposizione all'alcol nel feto è, infatti, l'attività metabolica della madre: la diversa efficienza delle madri nel metabolizzare l'alcol può portare a differenze nell'esposizione fetale all'alcol, spiegando, almeno in parte, il rischio di sviluppare la FAS.

La caratteristica di alcuni individui di metabolizzare l'alcol più o meno velocemente può essere il risultato della presenza di polimorfismi nei geni che codificano per gli enzimi coinvolti nella biotrasformazione dell'etanolo.

Metabolismo dell'etanolo

Gli effetti tossici indotti dall'etanolo mostrano un'ampia variabilità interindividuale, dovuta principalmente a differenze nella sua tossicocinetica, nella quale giocano un ruolo importante sia fattori genetici che ambientali (Figura 2). Infatti, il metabolismo dell'alcol può essere influenzato sia dal polimorfismo genetico degli enzimi coinvolti, sia dall'instaurarsi di fenomeni di induzione in conseguenza di esposizione all'etanolo stesso o ad altri xenobiotici (10). La tossicità dell'alcol è stata imputata sia all'alcol *per se*, sia ai prodotti del suo metabolismo, incluse le specie reattive dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS), prodotti secondari della sua biotrasformazione.

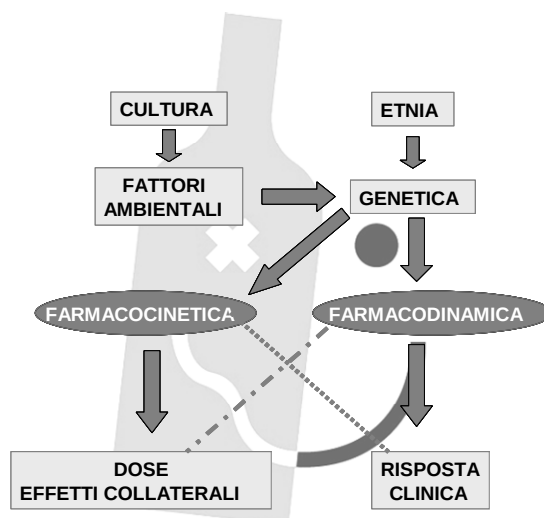


Figura 2. Molteplicità dei fattori coinvolti nei meccanismi di tossicità dell'alcol

Dopo l'ingestione, l'etanolo è assorbito rapidamente dal tratto gastro-intestinale, con una velocità che varia in relazione alla dose assunta, allo schema temporale di assunzione, alle modalità dell'assunzione, oltre che allo stato nutrizionale del soggetto esposto. A causa della sua solubilità in acqua, l'etanolo si distribuisce velocemente e uniformemente nei vari distretti corporei, con un elevato volume di distribuzione (11).

L'eliminazione (Figura 3) avviene principalmente attraverso la biotrasformazione metabolica (95-98%), e solo frazioni minori di etanolo come tale sono state rilevate nell'aria espirata (0,7%), nel sudore (0,1%) e nell'urina (0,3%) (11, 12).

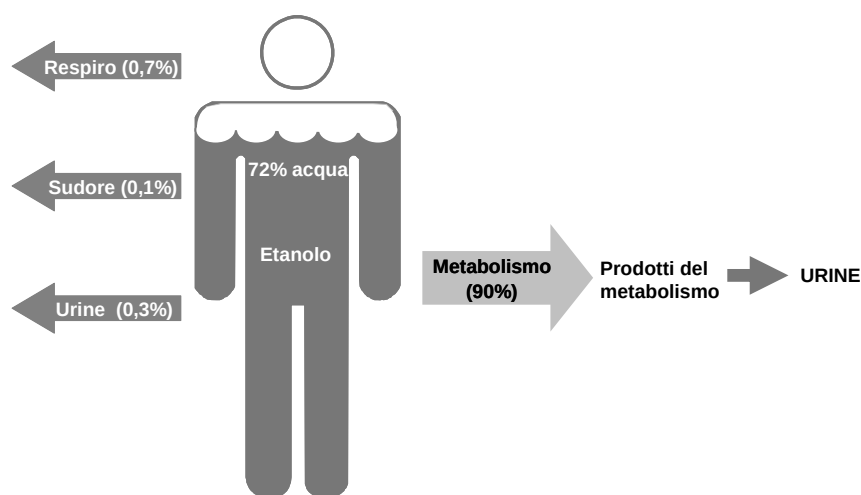


Figura 3. Tossicocinetica dell'etanolo: eliminazione

Nell'uomo più del 90% della dose ingerita subisce biotrasformazione ossidativa e non-ossidativa a livello epatico (13).

La principale reazione di biotrasformazione dell'etanolo è catalizzata dall'ADH citosolica con produzione di un metabolita altamente tossico, l'acetaldeide, che viene poi metabolizzata dall'aldeide deidrogenasi (ALDH) mitocondriale ad acetato, per essere eliminata dall'organismo, trasformata in CO_2 e acqua (Figura 4).

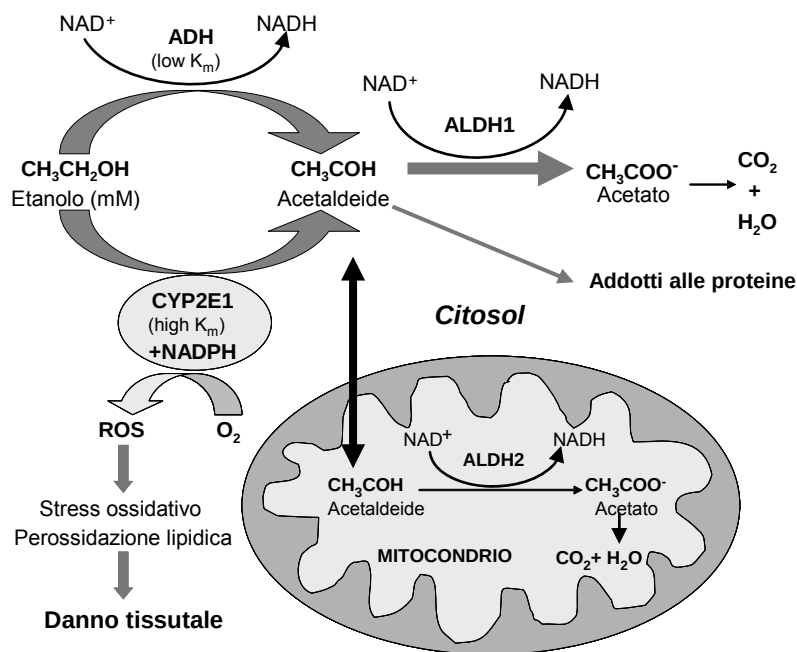


Figura 4. Reazioni di biotrasformazione dell'etanolo

L'acetaldeide normalmente si trova nell'organismo in concentrazioni micromolari; nonostante le basse concentrazioni, in seguito alla deplezione del glutathione e conseguente induzione di danno ossidativo, è in grado di promuovere morte cellulare. L'acetaldeide si lega a specifici residui amminoacidici di proteine strutturali e funzionali, per formare addotti acetaldeide-proteina, che inducono una risposta anticorpale contribuendo ai danni cellulari osservati negli alcolisti (14).

Il metabolismo catalizzato dal CYP2E1 converte l'etanolo in acetaldeide, che viene a sua volta ossidato con rilascio, come prodotti secondari, di radicali liberi derivati dall'ossigeno (vedi Figura 4) (15). Il CYP2E1 epatico, caratterizzato da un'affinità per l'etanolo molto più bassa di quella dell'ADH, in seguito all'ingestione di dosi di alcol moderate è responsabile dell'ossidazione dell'etanolo ad acetaldeide solo per una quota limitata (circa 10%). A livelli di dose più alti (>100 g/d), o dopo assunzione cronica, quando l'ADH è saturata, il contributo del CYP2E1 diviene invece rilevante (16). Inoltre, il CYP2E1 mostra come caratteristica peculiare quella di essere indotto dall'etanolo stesso (17). Molti studi dimostrano che il contenuto di CYP2E1 aumenta da 4 a 10 volte in biopsie epatiche di soggetti che abbiano bevuto di recente, con un corrispondente aumento di mRNA (18). Dopo consumo cronico di alcol, il CYP2E1 aumenta l'entità della clearance dell'etanolo e contribuisce alla tolleranza metabolica che si osserva negli alcolisti, in parallelo alla tolleranza del sistema nervoso centrale (18).

Sono stati scoperti vari polimorfismi nei geni che codificano per gli enzimi responsabili della biotrasformazione dell'alcol: le varianti hanno una diversa attività catalitica e conseguentemente risulta alterata la tossicocinetica dell'etanolo, ovvero la rimozione dell'alcol e/o produzione dei suoi metaboliti tossici. Queste caratteristiche genetiche e la loro diversa frequenza nelle varie etnie possono essere considerate come fattori di rischio e/o fattori protettivi nei confronti dell'abuso di alcol e delle patologie ad esso correlate (13).

Polimorfismo degli enzimi del metabolismo dell'alcol e FAS

Lo sviluppo dell'epidemiologia molecolare ha permesso di indagare la possibilità di un'interazione gene-ambiente e di evidenziare una possibile correlazione tra la presenza di specifici polimorfismi genetici e un'aumentata suscettibilità alla FAS, in conseguenza ad una esposizione *in utero* all'alcol. Alcune delle associazioni identificate attraverso studi caso-controllo sono controverse, molto probabilmente a causa dei diversi parametri analizzati in diverse etnie; tuttavia, alcune delle ipotesi fatte relativamente al coinvolgimento delle varianti alleliche dell'ADH e del CYP2E1 sono biologicamente plausibili e meritano ulteriori approfondimenti. Nonostante sia ragionevole aspettarsi anche un ruolo per il polimorfismo dell'ALDH, fino ad ora, non sono stati condotti studi in grado di chiarire se l'ALDH2*2, la variante a bassa attività che si ritrova nel 30% circa degli Asiatici, possa o meno avere un possibile effetto protettivo.

ADH

L'ADH è il principale enzima coinvolto nella biotrasformazione dell'etanolo e presenta un'ampia specificità di substrato. È una proteina citosolica, codificata da una famiglia poligenica (sette geni) localizzata sul cromosoma 4. Le forme molecolari dell'ADH possono essere divise in 5 classi principali, caratterizzate dall'associazione in dimeri di 8 diversi tipi di subunità di 40 kD: α -, β 1-, β 2-, β 3-, γ 1-, γ 2-, π - e χ -, caratterizzate da differenti proprietà fisico-chimiche (Tabella 1) (19). Questa molteplicità di strutture viene spiegata come prodotto di 5 loci: ADH1-ADH5.

Nell'uomo il metabolismo dell'etanolo mostra una significativa variabilità, il 50% della quale può avere una base genetica: è stato ipotizzato che uno dei possibili determinanti alla base di questa variabilità sia il polimorfismo dell'allele ADH2 (Tabella 1) (20).

L'ADH di classe I, formata da diverse subunità (α , β 1, β 2, β 3, γ 1), generalmente mostra un'alta affinità per l'etanolo, con una bassa K_m (definita come la concentrazione a cui l'enzima lavora a metà della sua velocità massima, V_{max}). Gli alleli polimorfici, ADH2 e ADH3, che codificano per le subunità β e γ , sono i soli per i quali, fino ad adesso, siano stati descritti polimorfismi rilevanti da un punto di vista funzionale. Le varianti alleliche del gene ADH2 sono ADH2*1, ADH2*2, ADH2*3 e codificano per le subunità β 1, β 2 e β 3 che, benché differiscano solo per la sostituzione di un aminoacido, mostrano una differenza sostanziale di affinità verso l'etanolo, come evidenziato dai loro valori di K_m : 0,05, 0,9 e 40,0 mM, rispettivamente (21). Nonostante una più bassa affinità, testimoniata dai loro valori di K_m , i genotipi che esprimono le varianti β 2 o β 3 hanno una *clearance* dell'etanolo più efficiente rispetto a quelli che esprimono solo la variante β 1 (β 1 β 1) (20).

Tabella 1. Polimorfismo del gene ADH

Classe	Gene	Sub-unità	Cambiamento nucleotide/esone	Effetto sulla proteina	K_m (Mm) / V_{max} (min ⁻¹)	Frequenze alleliche
<i>Classe I</i>						
ADH1	ADH1*1	α	nessuno	<i>Wild type</i> (a.a.-etanolo:b.a. RA)	4,0/30	n.d.
ADH2	ADH2*1	$\beta 1$	nessuno	<i>Wild type</i>	0,05/4	Caucasici 95%
	ADH2*2	$\beta 2$	47G>A / esone 3	Arg > His ⁴⁷	0,9/350	Asiatici 20%
	ADH2*3	$\beta 3$	369C>T / esone 9	Arg > Cys ³⁶⁹	40,0/300	Asiatici 90%
ADH3	ADH3*1	$\gamma 1$		<i>Wild type</i>	1,0/90	Africani 24%
	ADH3*2	$\gamma 2$	271C>T; 349G>A / esone 8	Arg > Gin ²⁷¹ ; Ile > Val ³⁴⁹	0,6/40	Asiatici 90%
						Caucasici 50%
<i>Classe II</i>						
ADH4	ADH4	π	-192; -159; -75 / promotore	Espressione alterata	30,0/20	n.d.
<i>Classe III</i>						
ADH5	ADH5	χ	nessuno	<i>Wild type</i>	n.d./10	n.d.
<i>Classe IV</i>						
ADH7	ADH7	σ	nessuno	<i>Wild type</i> (b.a.-etanolo:a.a. RA)	n.d.	n.d.
<i>Classe V</i>						
ADH6	ADH6	？**	？**	？**	n.d.	n.d.

a.a. = alta affinità; b.a. = bassa affinità; RA = acido retinoico; ** sconosciuto; n.d. = dato non disponibile

La prevalenza delle varianti enzimatiche differisce fra popolazioni di diversa etnia: il 95% dei Caucasici possiede la forma $\beta 1$; nell'area del "Pacific Rim" il 90% dei popoli asiatici (Cinesi, Giapponesi e Coreani) hanno la forma $\beta 2$; fra gli Africani e gli Afro-Americani il 24% ha la forma $\beta 3$, che non è stata trovata in altre popolazioni (22).

Non è così chiara l'influenza funzionale delle varianti ADH3 poiché la differenza in termini di attività è limitata (23). Per ciò che riguarda la distribuzione etnica, il 90% degli Asiatici ha la forma $\gamma 1$ e il 50% dei Caucasici possiede la forma $\gamma 2$ (22).

L'ADH di classe II (o π) ha una K_m relativamente alta per l'etanolo (34 mM), mentre la classe III (χ -ADH), a causa della sua bassissima affinità per il substrato, non partecipa all'ossidazione dell'etanolo nel fegato. Più recentemente è stato purificato dallo stomaco umano un nuovo isoenzima dell'ADH definito σ - o (classe IV) μ -ADH (18). Non esistono, allo stato attuale, evidenze dell'esistenza di polimorfismi per le ADH α -, π - o χ - (13).

Sono stati pubblicati vari articoli, spesso con risultati contrastanti, sulla correlazione fra polimorfismi dell'ADH2 e rischio teratogeno dell'alcol.

Uno studio sugli individui della popolazione a discendenza mista della provincia di Western Cape in Sud Africa ha esaminato il polimorfismo dell'ADH2 e l'incidenza di FAS. In questa popolazione è stata riportata una prevalenza di 39-46 casi di FAS ogni 1000 nati (24), uno dei più alti tassi fino ad ora osservati, molto probabilmente associati con l'alta incidenza di forti bevitori fra gli individui di entrambi i sessi di questa popolazione. Lo studio riporta che l'allele ADH2*2 è significativamente più comune fra gli individui di controllo, suggerendo un ruolo protettivo dell'allele ADH2*2, sia nella madre che nel feto, rispetto alla FAS. Non è stata invece trovata alcuna differenza significativa associabile alla presenza dell'allele ADH2*3, che comunque è presente in una percentuale della popolazione molto bassa, il che limita la

possibilità di trovare avere il potere statistico sufficiente negli studi per evidenziare alcuna associazione tra questo allele e gli effetti (25). Questi risultati supportano l'ipotesi che varianti dell'ADH maggiormente attive da un punto di vista cinetico, possano fornire protezione attraverso un aumento dei livelli di acetaldeide con conseguente ridotto consumo materno di alcol. In alternativa, è stato ipotizzato che un altro gene, fino ad ora non identificato e in grado di influenzare l'instaurarsi della FAS, possa essere in *linkage disequilibrium* con l'ADH2 (21).

Uno studio osservazionale effettuato su un numero limitato di madri all'interno della stessa popolazione Sudafricana, ha evidenziato che rispetto a madri con prole 'normale', le madri con prole affetta da FAS consumano quantità più alte di alcol e raggiungono picchi di concentrazione di etanolo esalato significativamente più alti. Parzialmente in contrasto con l'ipotesi sviluppata sulla base dei risultati dello studio precedente sull'ADH2*2, fra i due gruppi non sono state evidenziate differenze significative nella tossicocinetica, anche se la velocità di diminuzione delle concentrazioni plasmatiche di alcol ha mostrato una variazione di 2 volte fra i soggetti. Questa indagine, comunque, presenta varie e importanti limitazioni nel disegno dello studio, che includono il numero limitato di individui nel campione (10 donne per gruppo), le modalità di arruolamento e il controllo di possibili fattori confondenti (storia di consumo di alcol, stato nutrizionale, minore peso corporeo e di conseguenza diverso volume di distribuzione dei soggetti) (26).

È stata riportata un'associazione fra la suscettibilità degli Afro-Americanì all'esposizione intrauterina all'etanolo e le differenze alleliche al locus ADH2, sia nella madre che nel nascituro; lo studio ha dimostrato un ruolo protettivo per l'isoforma ADH- β 3 β 3, codificata dall'allele ADH2*3, presente unicamente negli Afro-americanì (27,28). Il danno dovuto all'esposizione intrauterina all'alcol è stato associato a concentrazioni di etanolo nel range di 20-40 mM. In queste condizioni, sulla base dei valori di K_m sopra menzionati, l'enzima codificato dall'allele ADH2*1 verrebbe saturato, al contrario di quello codificato dall'ADH2*3. Di conseguenza gli enzimi codificati dall'allele ADH2*3, essendo enzimi a bassa affinità/alta capacità, sono in grado, ad alte concentrazioni di alcol, rilevanti per la promozione di effetti indotti da etanolo, di metabolizzare l'etanolo con maggiore efficienza rispetto all'ADH- β 1 β 1. Benché questi risultati forniscano una spiegazione plausibile su base genetica per le differenze di suscettibilità del nascituro agli effetti avversi correlati all'esposizione ad alcol, la limitata influenza del polimorfismo dell'ADH2 sulla variabilità suggerisce che siano coinvolti altri fattori genetici e/o ambientali nel determinare aumento di rischio (27, 28).

L'ipotesi che il genotipo ADH2 sia materno che fetale possa essere collegato alla suscettibilità alla FASD è avvalorato da uno studio, che riporta che nella progenie di donne che abbiano consumato alcol durante la gravidanza, la presenza dell'allele ADH2*3 è protettiva rispetto alla morfologia facciale normale. Il meccanismo responsabile di questo effetto può essere correlato al metabolismo dell'etanolo ma anche ad altri fattori che determinano gli effetti dell'alcol sulla morfologia facciale (29). Inoltre, uno studio prospettico di consumo di alcol durante la gravidanza ha mostrato una relazione inversa fra la presenza di ADH1B*3 nella madre e un numero di deficit fisici e neurocomportamentali, mentre non è stata trovata alcuna influenza dovuta al genotipo del bambino (30).

Risultati opposti sono stati descritti da Stoler *et al.* (31): questi autori hanno, infatti, trovato un'associazione positiva fra il genotipo ADH1*1/*3 materno e un rischio maggiore di avere un bambino con alterazioni della grandezza del corpo e della testa o affetto da anomalie facciali. La ragione per le differenze nelle osservazioni riportate dai vari studi può essere attribuita alla diversità dei parametri studiati e ai differenti periodi di osservazione degli effetti nonché alla variabilità dei metodi usati per valutare il livello di esposizione materna all'alcol, che è critico per l'interpretazione dei risultati.

Tuttavia, anche con risultati contrastanti, sia la presenza della variante ADH2*2 che di quella ADH2*3 sembra influenzare la teratogenesi dovuta all'alcol, anche se a tuttora non è chiaro quale sia il meccanismo. È possibile che la protezione possa essere correlata a differenze nella tossicocinetica dell'etanolo, influenzate dalle modalità di assunzione dell'alcol. Inoltre è possibile che il polimorfismo dell'ADH sia rilevante in associazione a varianti geniche di altri enzimi coinvolti nel metabolismo dell'etanolo o nei processi dello sviluppo; per definire queste eventuali interazioni gene-gene oltre che gene-ambiente sono, in ogni caso, necessari altri studi sui polimorfismi di altre classi di ADH.

Un altro possibile meccanismo implicato nello sviluppo della FAS, che coinvolge l'ADH, è stato individuato nell'effetto dell'alcol sulla sintesi dell'Acido Retinoico (AR), catalizzata proprio dall'ADH a partire dalla Vitamina A (retinolo, ROL). L'AR è un riconosciuto modulatore di molti processi dello sviluppo e regola il differenziamento di molteplici tipi cellulari durante l'embriogenesi dei vertebrati (6). Poiché è stato dimostrato, *in vitro*, che etanolo e ROL sono substrati dell'ADH di classe I (ADH-I) e di classe IV (ADH-IV) (18), la loro interazione competitiva, durante periodi critici dello sviluppo embrionale, è stata indicata come un possibile meccanismo di teratogenesi nelle cellule derivate dalla cresta neurale (7). È stato dimostrato che la deficienza di AR può produrre difetti alla nascita tanto quanto la carenza di Vitamina A. Infatti, c'è ampia somiglianza fra il fenotipo Vitamina A-carente e quello indotto da etanolo, che, agendo come inibitore competitivo della sintesi dell'AR, può causare una riduzione transiente dei suoi livelli durante l'embriogenesi. Tuttavia, non essendo i roditori un buon modello animale per l'ADH umana, questo meccanismo necessita di ulteriori approfondimenti (29); d'altra parte, i parametri cinetici ottenuti *in vitro* con l'enzima umano non sono completamente consistenti con questa ipotesi (32).

CYP2E1

Fra i citocromi P450, il CYP2E1 è codificato da un singolo gene, CYP2E1, con localizzazione cromosomiale 10q 24.3-qter, che consiste di 9 esoni e 8 introni e codifica per una proteina di 493 aminoacidi (33). Nell'uomo il CYP2E1 è espresso in vari tessuti, inclusi fegato, polmoni, placenta, pelle e cervello (34, 35).

Per il CYP2E1 umano sono stati riportati vari polimorfismi, la maggior parte dei quali nelle regioni *flanking* e negli introni, compresa una ripetizione in tandem nella regione 5'-*flanking* (33). Mediante analisi RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, polimorfismo dei frammenti di restrizione) sono stati identificati nel gene CYP2E1 cinque loci polimorfici (RsaI, DraI, MspI, XmnI, TaqI) (Tabella 2) ed è stata ampiamente studiata la loro correlazione sia con l'attività del CYP2E1, che con la suscettibilità ad alcune patologie (36). Due mutazioni puntiformi nella regione 5'-*flanking*, upstream rispetto al gene, generano i polimorfismi dei frammenti di restrizione PstI e RsaI (alleli c1 e c2 rispettivamente), che risultano essere in stretto *linkage disequilibrium* e alterano l'attività trascrizionale del gene e la suscettibilità individuale (37).

Alcuni studi di popolazione indicano l'esistenza in soggetti Giapponesi, ma non in quelli Caucasici, di un'associazione fra patologie epatiche dovute all'esposizione all'alcol e polimorfismo c1/c2 (36). Altri studi mostrano che la frequenza del genotipo c2 in pazienti con patologie alcol-correlate a livello del fegato è dell'84%, significativamente più alta che in soggetti di controllo (62-68%), il che suggerisce una qualche influenza dei genotipi del CYP2E1 sullo sviluppo di condizioni patologiche (37).

Tabella 2. Polimorfismo del gene CYP2E1

Proteina	Gene	Cambiamento nucleotide/esone	Effetto sulla proteina	RFLP
CYP2E1.1	CYP2E1*1A	nessuno	<i>Wild type</i>	PstI/RsaI+ (allele c1)
	CYP2E1*1B	9893>G	n.d.	TaqI-
	CYP2E1*1C	6 repeats nella regione 5'-flanking	n.d.	n.d.
	CYP2E1*1D	8 repeats nella regione 5'-flanking	aumento inducibilità	DraI-xbaI
CYP2E1.2	CYP2E1*2	1132G>A	His ⁷⁶	n.d.
CYP2E1.3	CYP2E1*3	10023G>A	Ile ³⁸⁹	n.d.
CYP2E1.4	CYP2E1*4	4768G>A	Ile ¹⁷⁹	n.d.
CYP2E1.1	CYP2E1*5A	-1293G>C;-1053C>T;7632T>A	n.d.	PstI+/RsaI-/DraI-
	CYP2E1*5B	-1293G>C;-1053>T	n.d.	PstI+/RsaI-(c2 allele)
	CYP2E1*6	7632T>A	n.d.	DraI-
	CYP2E1*7A	261T>A	n.d.	n.d.
	CYP2E1*7B	-71G>T;261T>A	n.d.	n.d.
	CYP2E1*7C	-261>A;280G>A	n.d.	n.d.

n.d. = dato non disponibile

Il CYP2E1*D polimorfico (DraI, MspI), che contiene una sequenza ripetitiva nella regione 5'-flanking del gene che può disturbare elementi regolatori negativi, è stato associato con una più alta inducibilità della proteina CYP2E1. Ad avvalorare questa ipotesi, gli individui omo- ed eterozigoti per il gene CYP2E1*D dopo consumo di etanolo hanno una maggiore attività CYP2E1-dipendente (33). Per questo è stato suggerito un suo contributo allo sviluppo della dipendenza all'alcol. Le informazioni disponibili sono troppo poche per definire una possibile associazione fra polimorfismi nell'introne IV (DraI, MspI) e lo sviluppo di patologie epatiche alcol-correlate (38).

McCarver (28) ha descritto un polimorfismo caratterizzato da una inserzione di 96bp nella regione regolatoria del CYP2E1 che è stato associato ad un aumento della attività enzimatica, in presenza di assunzione di etanolo, obesità o altre condizioni ambientali correlate all'induzione del CYP2E1. Questo polimorfismo varia in relazione all'etnia: nel 31% circa degli Afro-Americani è presente almeno un allele variante, mentre nei Caucasicci la frequenza è del 7%. Poiché la frequenza è sufficientemente alta da avere un'influenza sulla suscettibilità alle patologie della progenie correlate all'esposizione all'alcol, è stato suggerito, ma non ancora realizzato, di analizzare, in coppie madre-figlio con genotipo ADH2 noto, queste varianti insieme al consumo materno di alcol. Lo studio della correlazione fra più loci genici ed esposizioni ambientali è cruciale nello studio di patologie multifattoriali come quelle legate all'esposizione *in utero* all'alcol nelle quali fattori ambientali e geni multipli interagiscono secondo schemi complessi (28).

Capacità metaboliche della placenta e la FAS

La placenta è il principale organo di comunicazione fra madre e feto e non è semplicemente una barriera naturale in grado di proteggere il feto in sviluppo dall'esposizione a sostanze tossiche. Infatti, molti xenobiotici, fra le quali l'etanolo, attraversano rapidamente il tessuto placentare entrando nel circolo sanguigno fetale. Di conseguenza, l'alcol ingerito dalla gestante viene veicolato direttamente al feto. Inoltre, la placenta di per sé, essendo fornita di enzimi metabolizzanti, è in grado di biotrasformare gli xenobiotici sia detossificandoli che attivandoli,

giocando un ruolo nella protezione e/o nella produzione di un danno del feto. Il profilo enzimatico placentare subisce cambiamenti durante la gravidanza: durante il primo trimestre la placenta esprime una più ampia varietà di enzimi funzionali rispetto a fine gestazione; inoltre il contenuto di enzimi del metabolismo può essere influenzato dall'esposizione della madre a diverse sostanze in grado di indurli o inibirli (39). Tuttavia, se comparate a quelle del fegato materno o fetale, le attività degli enzimi placentari sono relativamente basse e si pensa che questi sistemi enzimatici abbiano come funzione principale il metabolismo degli steroidi (40). Nonostante ciò, molti studi hanno ipotizzato che la variazione dell'attività del CYP2E1 placentare possa avere un ruolo nella variabilità che si osserva nei difetti correlati al danno al nascituro dovuto all'alcol.

Il CYP2E1 è stato misurato nella placenta umana in diversi periodi di gestazione (Tabella 3). In 11 donne non bevitrici, alla fine della gravidanza, nelle placente è stata rilevata la presenza di mRNA del CYP2E1 (41); la misura dell'ossidazione placentare dell'etanolo ad acetaldeide dimostra che l'enzima è funzionalmente attivo (42). I livelli di proteina CYP2E1 nella placenta umana sono stati messi in relazione con il consumo di alcol in donne con gravidanze concluse positivamente e non (43): nelle placente di madri consumatrici di alcol i risultati hanno dimostrato un'alta variabilità nell'aumento di espressione del CYP2E1, suggerendo che l'induzione del CYP2E1 placentare è molto probabilmente sotto controllo genetico. Le differenze nell'induzione del CYP2E1, associate con un aumento di incidenza di FAS, potrebbero avere un ruolo nella suscettibilità fetale all'esposizione intrauterina ad etanolo, pur non potendo escludere altri meccanismi (42).

Anche l'ADH è espressa nella placenta umana (Tabella 3) pur essendo probabilmente molto più importante in questo tessuto l'espressione del CYP2E1: infatti, l'affinità dell'ADH placentare per l'etanolo è significativamente più bassa di quella del CYP2E1 placentare che, al contrario dell'ADH, è anche indotto dall'alcol così come da altri xenobiotici o farmaci (43).

Tabella 3. Ontogenesi dei principali enzimi coinvolti nel metabolismo dell'alcol nell'uomo

Gene	Placenta	Cervello fetale	Fegato				
			Trimestre prenatale			Neonato	1 mese-1 anno
			1	2	3		
CYP2E1	+	+	?	+	+	+	+
ADH1	+	-	+	+	+	+	-
ADH2	+	-	-	+	+	+	+
ADH3	+	-	-	-	+	+	+

+: attività o proteina misurabile; -: attività o proteina non misurabile; ?: risultati non chiari

Studi sui gemelli, benché indichino l'importanza dei fattori genetici, danno tuttavia risultati inconcludenti: infatti, è stata riportata una discordanza significativa fra coppie dizigotiche nelle quali solo un gemello ha presentato FAS conclamata (44), mentre un altro studio ha trovato concordanza nella diagnosi fra cinque coppie di gemelli monozigoti e discordanza in 7 su 11 paia di gemelli dizigoti (45).

Questi risultati non permettono di escludere un ruolo per le differenze di placentazione nell'instaurarsi della patologia ma focalizzano comunque l'attenzione sulla necessità di considerare le interazioni materno-fetali mediate dall'unità feto-placentare.

Sistema enzimatico fetale per il metabolismo degli xenobiotici e FAS

Nell'uomo l'ADH è espressa nel fegato fetale a partire dal secondo trimestre di gravidanza (vedi Tabella 3) (20): durante i primi stadi della gestazione gli α -enzimi di classe I sono i più abbondanti, poi i livelli di enzimi β - e γ - aumentano, fino a raggiungere livelli paragonabili non solo nel fegato, ma anche nel rene e nel polmone. La presenza degli enzimi indica che il tessuto fetale è in grado di biotrasformare l'etanolo *in situ*. Nel cervello fetale, invece, non è stata ancora mai individuata la presenza di ADH.

Livelli misurabili di CYP2E1 epatico, corrispondenti al 10-30% dei livelli di un adulto, sono stati trovati già alla sedicesima settimana di gestazione (46). In relazione alla FAS è di estremo interesse la dimostrata plausibilità di una bioattivazione degli xenobiotici mediata dal CYP2E1 nel cervello fetale, organo bersaglio della teratogenesi dovuta all'esposizione all'alcol. Livelli significativi di attività e specifici mRNA sono misurabili fra il 45° e il 53° giorno di gestazione corrispondente al periodo dell'embriogenesi, pur sovrapponendosi parzialmente con l'organogenesi, che si ha al 50-60° giorno di gestazione. I livelli aumentano fino all'80-84° giorno, per rimanere poi costanti per tutto il restante periodo di vita fetale (47). Tali livelli potrebbero essere anche incrementati dall'etanolo o dallo stato nutrizionale materno (es. da alterazioni nell'assunzione di grassi o vitamine), condizioni favorevoli all'induzione del CYP2E1. La presenza di un CYP2E1 attivo nel cervello del feto esposto *in utero* all'etanolo durante l'organogenesi, è stata associata con lo sviluppo della FAS. Infatti, è noto che un contributo significativo alle alterazioni indotte dall'etanolo in vari organi, inclusi fegato e cervello (48-50), è dato dal danno ossidativo innescato dalla produzione di radicali idrossietilici o superossido durante l'ossidazione dell'etanolo ad acetaldeide e poi ad acetato, catalizzata dal CYP2E1 (51, 52) (Figura 5).

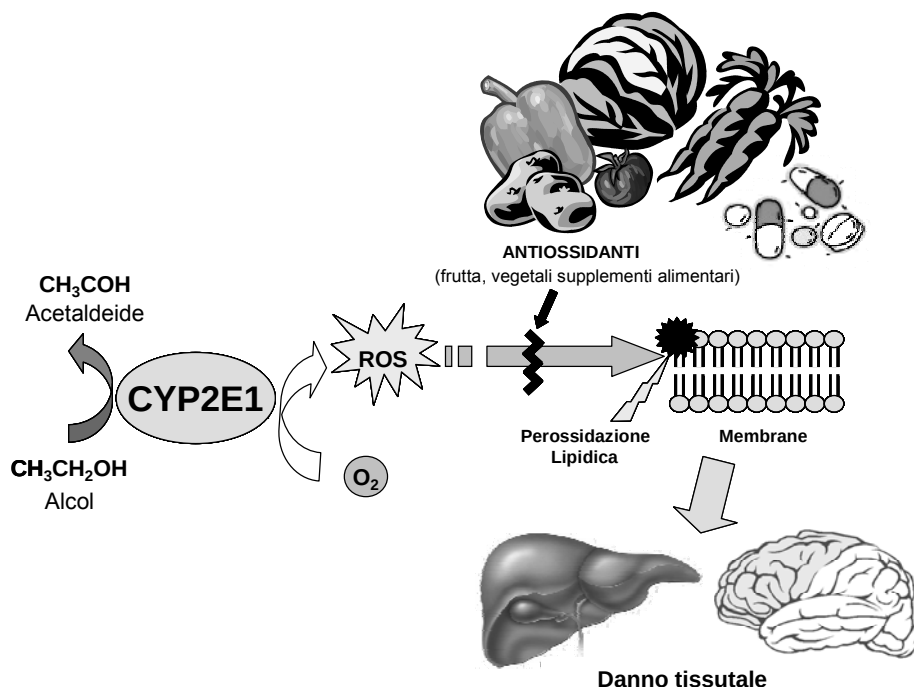


Figura 5. Ipotesi di meccanismo di danno ossidativo indotto dall'etanolo

I ROS, insieme alla deplezione del GSH da essi stessi prodotta, sono in grado di promuovere danno ossidativo inattivando gli enzimi e innescando la perossidazione lipidica, una reazione a catena che provoca danni nelle membrane (18). La presenza di molte catene laterali di acidi grassi polinsaturi nelle membrane del cervello embrionale e fetale rende questo tessuto un bersaglio sensibile ai ROS e ai radicali che si formano dal metabolismo dell'etanolo, *in situ*, mediato dal CYP2E1.

È stato ipotizzato che i danni cerebrali causati dai processi perossidativi dei lipidi di membrana delle cellule neuronali fetali potrebbero manifestarsi come disfunzioni postnatali del sistema nervoso centrale.

Conclusioni

Poiché gli effetti della FAS sono permanenti e irreversibili, è chiara la necessità di un appropriato piano di prevenzione. Al momento l'unica strategia possibile sembra essere l'astensione dall'assunzione di alcol immediatamente dopo il concepimento e durante la gravidanza, con evidenze crescenti però che la somministrazione di supplementi antiossidanti possa prevenire almeno in parte il danno indotto dall'etanolo. È tuttavia ampiamente riconosciuto che la conoscenza del meccanismo alla base dello sviluppo della FAS possa essere un punto chiave per l'identificazione di biomarcatori di effetto e suscettibilità, da utilizzare come metodi di predizione precoce dell'instaurarsi della sindrome. Benché allo stato attuale non possano essere tirate chiare conclusioni per spiegare perché bere alcol durante la gravidanza non sempre porti alla nascita di bambini con FAS, si stanno accumulando informazioni che suggeriscono che la presenza di varianti alleliche codificanti per gli enzimi coinvolti nel metabolismo dell'etanolo ponga, per alcune etnie, un rischio maggiore di avere bambini affetti da FAS, in seguito ad assunzione di alcol durante la gravidanza.

In questi casi di solito si conclude puntualizzando la necessità di ulteriori ricerche. Ciò è sicuramente necessario, ma nel disegno degli studi futuri vanno tenute in debita considerazione le informazioni ricavabili dall'analisi dei dati disponibili. Prima di tutto andrebbero utilizzati approcci più standardizzati per la valutazione dei livelli di esposizione materna, cercando di estrapolare il livello di esposizione fetale, anche mediante l'utilizzo di modelli matematici come quelli fisiologici-farmacocinetici (PBPK). Secondariamente, andrebbero utilizzati metodi e parametri uniformi per categorizzare i dati relativi allo sviluppo della patologia e per la diagnosi degli individui affetti. Sarà necessario lo screening di più di una variante allelica, che, se presente, sia plausibilmente in grado di interferire con la tossicocinetica dell'etanolo e con i processi dinamici e possibilmente correlare il genotipo al fenotipo, che può essere influenzato da fattori esterni.

Bibliografia

1. Koren G, Nulman I, Chudley AE, Looke C. Fetal alcohol spectrum disorder. *CMAJ* 2003;169(11):1181-85.
2. Sokol RJ, Delaney-Black V, Nordstrom B. Fetal alcohol spectrum disorder. *JAMA* 2003;290(22):2996-99.
3. Thomson AD. Alcohol and nutrition. *Clin Endocrinol Metab* 1978;7(2):405-28.
4. May PA, Gossage JP. Estimating the prevalence of fetal alcohol syndrome. A summary. *Alcohol Res Health* 2001;25(3):159-167.

5. Wattendorf DJ, Muenke M. Fetal alcohol spectrum disorders. *Am Fam Physician* 2005;72(2):279-85.
6. Yelin R, Schyr RB, Kot H, Zins S, Frumkin A, Pillemer G. Ethanol exposure affects gene expression in the embryonic organizer and reduces retinoic acid levels. *Dev Biol* 2005;279(1):193-204.
7. Michaelis EK, Michaelis ML. Cellular and molecular bases of alcohol's teratogenic effects. *Alcohol Health and Research World* 1994;18:17-21.
8. Goodlett CR, Horn KH, Zhou FC. Alcohol teratogenesis: mechanisms of damage and strategies for intervention. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005 Jun;230(6):394-406.
9. Chernoff GF. The fetal alcohol syndrome in mice: maternal variables. *Teratology* 1980;22(1):71-5.
10. Cogswell ME, Weisberg P, Spong C. Cigarette smoking, alcohol use and adverse pregnancy outcomes: implications for micronutrient supplementation. *J Nutr* 2003;133(5 Suppl 2):1722S-1731S.
11. Norberg A, Jones AW, Hahn RG, Gabrielsson JL. Role of variability in explaining ethanol pharmacokinetics: research and forensic applications. *Clin Pharmacokinet* 2003;42(1):1-31.
12. Holford NH. Clinical pharmacokinetics of ethanol. *Clin Pharmacokinet* 1987;13(5):273-92.
13. Agarwal DP. Genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes. *Pathol Biol (Paris)* 2001;49(9):703-9.
14. Cook JD. Biochemical markers of alcohol use in pregnant women. *Clin Biochem* 2003;36(1):9-19.
15. Cederbaum AI, Wu D, Mari M, Bai J. CYP2E1-dependent toxicity and oxidative stress in HepG2 cells. *Free Radic Biol Med* 2001;31(12):1539-43.
16. Howard LA, Ahluwalia JS, Lin SK, Sellers EM, Tyndale RF. CYP2E1*1D regulatory polymorphism: association with alcohol and nicotine dependence. *Pharmacogenetics* 2003;13(6):321-8.
17. Takahashi T, Lasker JM, Rosman AS, Lieber CS. Induction of cytochrome P-4502E1 in the human liver by ethanol is caused by a corresponding increase in encoding messenger RNA. *Hepatology* 1993;17(2):236-45.
18. Lieber CS. Alcohol: its metabolism and interaction with nutrients. *Annu Rev Nutr* 2000;20:395-430.
19. Jornvall H, Hoog JO. Nomenclature of alcohol dehydrogenases. *Alcohol Alcohol* 1995;30(2):153-61.
20. Arfsten DP, Silbergeld EK, Loffredo CA. Fetal ADH2*3, maternal alcohol consumption, and fetal growth. *Int J Toxicol* 2004;23(1):47-54.
21. Warren KR, Li TK. Genetic polymorphisms: impact on the risk of fetal alcohol spectrum disorders. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005;73(4):195-203.
22. Foroud T, Li TK. Genetics of alcoholism: a review of recent studies in human and animal models. *Am J Addict* 1999;8(4):261-78.
23. Eriksson CJ, Fukunaga T, Sarkola T, Chen WJ, Chen CC, Ju JM. Functional relevance of human adh polymorphism. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25(5 Suppl ISBRA):157S-163S.
24. May PA, Brooke L, Gossage JP, Croxford J, Adnams C, Jones KL, *et al.* Epidemiology of fetal alcohol syndrome in a South African community in the Western Cape Province. *Am J Public Health* 2000;90(12):1905-12.
25. Viljoen DL, Carr LG, Foroud TM, Brooke L, Ramsay M, Li TK. Alcohol dehydrogenase-2*2 allele is associated with decreased prevalence of fetal alcohol syndrome in the mixed-ancestry population of the Western Cape Province, South Africa. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25(12):1719-22.
26. Khaole NC, Ramchandani VA, Viljoen DL, Li TK. A pilot study of alcohol exposure and pharmacokinetics in women with or without children with fetal alcohol syndrome. *Alcohol Alcohol* 2004;39(6):503-8.

27. McCarver DG, Thomasson HR, Martier SS, Sokol RJ, Li T. Alcohol dehydrogenase-2*3 allele protects against alcohol-related birth defects among African Americans. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;283(3):1095-101.
28. McCarver DG. ADH2 and CYP2E1 genetic polymorphisms: risk factors for alcohol-related birth defects. *Drug Metab Dispos* 2001;29(4 Pt 2):562-5.
29. Das UG, Cronk CE, Martier SS, Simpson PM, McCarver DG. Alcohol dehydrogenase 2*3 affects alterations in offspring facial morphology associated with maternal ethanol intake in pregnancy. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28(10):1598-606.
30. Croxford J, Jacobson SW, Carr L. Protective effects of the ADH2*3 allele in African American children exposed to alcohol during pregnancy. *Alcohol Clin Exp Res* 2003;27(suppl.): 39A.
31. Stoler JM, Ryan LM, Holmes LB. Alcohol dehydrogenase 2 genotypes, maternal alcohol use, and infant outcome. *J Pediatr* 2002;141(6):780-5.
32. Yang ZN, Davis GJ, Hurley TD, Stone CL, Li TK, Bosron WF. Catalytic efficiency of human alcohol dehydrogenases for retinol oxidation and retinal reduction. *Alcohol Clin Exp Res* 1994;18(3):587-91.
33. Hu Y, Hakkola J, Oscarson M, Ingelman-Sundberg M. Structural and functional characterization of the 5'-flanking region of the rat and human cytochrome P450 2E1 genes: identification of a polymorphic repeat in the human gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;263(2):286-93.
34. Farin FM, Omiecinski CJ. Regiospecific expression of cytochrome P-450s and microsomal epoxide hydrolase in human brain tissue. *J Toxicol Environ Health* 1993;40(2-3):317-35.
35. Botto F, Seree E, el Khyari S, de Sousa G, Massacrier A, Placidi M, *et al.* Tissue-specific expression and methylation of the human CYP2E1 gene. *Biochem Pharmacol* 1994;48(6):1095-103.
36. Itoga S, Harada S, Nomura F. Polymorphism of the 5'-flanking region of the CYP2E1 gene: an association study with alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25(6 Suppl):11S-5S.
37. Nakajima T, Aoyama T. Polymorphism of drug-metabolizing enzymes in relation to individual susceptibility to industrial chemicals. *Ind Health* 2000;38(2):143-52.
38. Savolainen VT, Pajarinen J, Perola M, Penttilä A, Karhunen PJ. Polymorphism in the cytochrome P450 2E1 gene and the risk of alcoholic liver disease. *J Hepatol* 1997;26(1):55-61.
39. Myllynen P, Pasanen M, Pelkonen O. Human placenta: a human organ for developmental toxicology research and biomonitoring. *Placenta* 2005;26(5):361-71.
40. Syme MR, Paxton JW, Keelan JA. Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clin Pharmacokinet* 2004;43(8):487-514.
41. Hakkola J, Pasanen M, Hukkanen J, Pelkonen O, Maenpää J, Edwards RJ, *et al.* Expression of xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 forms in human full-term placenta. *Biochem Pharmacol* 1996;51(4):403-11.
42. Cummings AM, Kavlock RJ. Gene-environment interactions: a review of effects on reproduction and development. *Crit Rev Toxicol* 2004;34(6):461-85.
43. Rasheed A, Hines RN, McCarver-May DG. Variation in induction of human placental CYP2E1: possible role in susceptibility to fetal alcohol syndrome? *Toxicol Appl Pharmacol* 1997;144(2):396-400.
44. Christoffel KK, Salafsky I. Fetal alcohol syndrome in dizygotic twins. *J Pediatr* 1975;87(6 Pt 1):963-7.
45. Streissguth AP, Dehaene P. Fetal alcohol syndrome in twins of alcoholic mothers: concordance of diagnosis and IQ. *Am J Med Genet* 1993;47(6):857-61.
46. Hines RN, McCarver DG. The ontogeny of human drug-metabolizing enzymes: phase I oxidative enzymes. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;300(2):355-60.

47. Brzezinski MR, Boutelet-Bochan H, Person RE, Fantel AG, Juchau MR. Catalytic activity and quantitation of cytochrome P-450 2E1 in prenatal human brain. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;289(3):1648-53.
48. Montoliu C, Valles S, Renau-Piqueras J, Guerri C. Ethanol-induced oxygen radical formation and lipid peroxidation in rat brain: effect of chronic alcohol consumption. *J Neurochem* 1994;63(5):1855-62.
49. Kurose I, Higuchi H, Kato S, Miura S, Watanabe N, Kamegaya Y, *et al.* Oxidative stress on mitochondria and cell membrane of cultured rat hepatocytes and perfused liver exposed to ethanol. *Gastroenterology* 1997;112(4):1331-43.
50. Bailey SM, Pietsch EC, Cunningham CC. Ethanol stimulates the production of reactive oxygen species at mitochondrial complexes I and III. *Free Radic Biol Med* 1999;27(7-8):891-900.
51. Montoliu C, Sancho-Tello M, Azorin I, Burgal M, Valles S, Renau-Piqueras J, *et al.* Ethanol increases cytochrome P4502E1 and induces oxidative stress in astrocytes. *J Neurochem* 1995;65(6):2561-70.
52. Mari M, Wu D, Nieto N, Cederbaum AI. CYP2E1-dependent toxicity and up-regulation of antioxidant genes. *J Biomed Sci* 2001;8(1):52-8.

POLIMORFISMI GENICI DEI NEUROTRASMETTITORI

Esterina Pascale

Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi Sapienza, Roma, Italia

Introduzione

I processi coinvolti nell'alcol-dipendenza risiedono principalmente nel cervello e risultano da una complessa interazione tra fattori genetici e ambientali (1). La componente genetica contribuisce per circa il 60%, come dimostrato da studi condotti su famiglie, gemelli e individui adottati. Anche le modalità di utilizzo dell'alcol in termini di quantità, frequenza e intossicazione sono geneticamente controllati. Gli studi di genetica molecolare sono attualmente meno rivolti ai geni coinvolti nel metabolismo dell'alcol, focalizzando invece l'attenzione sui concetti principali di dipendenza, come il piacere, la ricompensa, il desiderio e l'impulsività. Le funzioni neurocognitive, i tratti caratteriali e le specificità psico-comportamentali dei pazienti alcol-dipendenti hanno consentito di selezionare un nuovo gruppo di geni candidati (Tabella 1).

Tabella 1. Geni candidati nel dominio farmacodinamico che conferiscono suscettibilità all'alcolismo e alla risposta al trattamento

Gene	Polimorfismo	Funzionalità	Effetti potenziali
OPRM1	Asn40Asp	Affinità del ligando	Azione del naltrexone, emozione, ricompensa
HTT	HTTLPR	Trascrizione	Ansia, ossessione
GABA	Pro385Ser	Alterato binding di benzodiazepine e/o etanolo	Diminuita sensibilità a benzodiazepine e/o etanolo
DR	DRD2, DRD4	Alterato rilascio e sintesi di dopamina	Effetto di ricompensa

Questi geni complessivamente sono indicati come profilo farmacodinamico poiché determinano differenze nella neurobiologia delle funzioni cognitive, di ansia, depressione, del meccanismo della gratificazione e della plasticità neuronale in risposta all'alcol. Comprendono i geni che mediano la funzione dei principali neurotrasmettitori, come il trasportatore della serotonina (5-HTT), i recettori della dopamina D2 e D4, la sub unità $\beta 3$ del recettore GABAA e il recettore μ degli oppioidi che svolgono un ruolo importante nella variazione individuale alla suscettibilità all'alcol-dipendenza. L'identificazione di geni coinvolti nella dipendenza all'alcol potrebbe consentire di individuare varianti geniche funzionali che conferiscono protezione o vulnerabilità, definire strategie per identificare i meccanismi fisiologici che determinano l'abuso per alcune sostanze, rappresentare marcatori biochimici di dipendenza e riuscire a predire la risposta individuale ai trattamenti farmacologici.

5-HTT

La serotonina (5-hydroxytryptamine, 5-HT) svolge un ruolo importante nella modulazione di diverse funzioni del sistema nervoso centrale sia in condizioni fisiologiche che di malattia, come la depressione, i disturbi bipolari, l'ansia, i disturbi ossessivi-compulsivi, l'abuso di sostanze, la schizofrenia, le malattie neurodegenerative e i disturbi alimentari (2). Il trasporto della serotonina nel cervello e in numerosi tessuti periferici come le cellule enterocromaffini, le piastrine e altre cellule è mediato dal trasportatore della serotonina (5-HTT/SERT). Nel cervello, il 5-HTT è situato sia nelle membrane perisinaptiche delle terminazioni nervose che nelle ramificazioni dendritiche. I neuroni serotoninergici sono situati sulla linea mediana del tronco cerebrale a livello del bulbo, ponte e mesencefalo, concentrati nei nuclei del rafe. Il 5-HTT media la rapida rimozione e il riciclaggio della serotonina liberata nello spazio sinaptico successiva alla stimolazione neuronale. Ha un ruolo importante quindi nel controllo omeostatico dell'ampiezza, durata e distribuzione spaziale dei segnali che giungono ai recettori serotoninergici (3). Modificazioni della trasmissione serotoninergica sono implicate anche nell'alcol-dipendenza (4).

Studi condotti già nel 1968 hanno evidenziato un'associazione tra il sistema 5-HT e il consumo di alcol dimostrando che ratti trattati con para chlorophenylalanine (pCPA), un inibitore della sintesi di 5-HT, mostravano una riduzione dell'assunzione di alcol (5). Studi più recenti hanno evidenziato che l'aumento della trasmissione di 5-HT indotto da farmaci (stimolazione del rilascio di 5-HT, blocco dell'*uptake* di 5-HT o mediante agonisti diretti) determina una riduzione dell'assunzione di alcol, mentre bassi livelli di 5-HT nel cervello correlano con un elevato utilizzo di etanolo (6-9). Un altro studio ha dimostrato un elevato *uptake* di 5-HT in piastrine di alcolisti e loro discendenti, suggerendo un'associazione tra la funzionalità dell'*uptake* di 5-HT e l'alcol dipendenza (10). In generale, un aumento nella neurotrasmissione di 5-HT è associato con una ridotta preferenza all'alcol. Il sistema 5-HT è stato ulteriormente studiato con le finalità di conoscere i determinanti dell'abuso e dell'alcol-dipendenza. Per il ruolo centrale svolto nel regolare la trasmissione serotoninergica, gli studi genetici di 5-HT nell'alcol dipendenza sono stati focalizzati sul gene codificante il trasportatore della serotonina (5-HTT).

Il gene umano 5-HTT si estende per 37,8 kb sul cromosoma 17q11.2, risulta composto da 14 esoni e codifica una proteina di 630 aminoacidi (11, 12). Nell'uomo, l'attività trascrizionale del gene 5-HTT è modulata da un elemento ripetuto di lunghezza variabile presente nella regione 5' *flanking* a circa 1,4 kb a monte del sito di inizio della trascrizione, denominata regione polimorfica del gene 5-HTT (5-HTTLPR). Altre variazioni sono state descritte nelle regioni non tradotte: 1) una delezione di circa 380 bp[del(17)(q11.2)] tra 5-HTTLPR e il sito di inizio della trascrizione, che genera instabilità *in vivo*; 2) un numero variabile di ripetizioni in tandem, (*Variable Number Tandem Repeat*, VNTR) nell'introne 2; e 3) una trasversione da G a T in un probabile sito di adenilazione nella regione 3'UTR (13, 14). L'analisi genetica della serotonina nell'alcol-dipendenza è stata principalmente indirizzata verso un polimorfismo funzionale del gene del trasportatore della serotonina che regola l'attività trascrizionale del gene stesso. Gli alleli 5-HTTLPR sono costituiti da 14 (*short* o allele S) o 16 (*long* o allele L) elementi ripetuti (ognuno costituito da 20 a 23 bp), mentre alleli più lunghi costituiti da 15, 18-20 o 22 elementi ripetuti sono più rari. La distribuzione allelica e genotipica varia notevolmente tra popolazioni di etnie diverse. Le varianti S e L modulano in modo diverso l'attività trascrizionale del promotore 5-HTT con diversi livelli di 5-HTT mRNA, di densità di proteina e di *uptake* di serotonina in cellule linfoblastoidi umane, nelle piastrine e nel cervello (15, 16). L'analisi condotta su colture cellulari linfoblastoidi umane ottenute da individui con genotipo diverso hanno mostrato che i livelli di 5-HTT mRNA in cellule omozigoti per l'allele L erano da 1,4 a

1,7 volte più elevati rispetto a genotipi L/S o S/S. Queste differenze di polimorfismo del gene 5-HTT associate a modificazioni di attività 5-HTT potrebbero spiegare le variazioni interindividuali osservate riguardanti l'*uptake* della serotonina. Il polimorfismo funzionale del gene del trasportatore della serotonina (5-HTTLPR) è stato associato con numerosi disordini, tra cui l'alcolismo (16, 17).

Studi genetici di associazione hanno riportato risultati contrastanti, che possono essere spiegati sia da differenze nella distribuzione allelica delle popolazioni analizzate, che dalla limitata potenza statistica riscontrata in numerosi studi. In particolare, due studi di meta-analisi hanno confermato che l'allele S del polimorfismo 5-HTTLPR costituisce un fattore di rischio per fenotipi correlati all'alcol-dipendenza (18, 19).

Recettori della dopamina DRD2 e DRD4

Studi neurochimici, farmacologici, fisiologici e comportamentali suggeriscono che il sistema dopaminergico riveste un ruolo importante nei comportamenti alcol-correlati (20). L'utilizzo di alcol aumenta sia i livelli di dopamina nel cervello che la neurotrasmissione nel nucleus accumbens (21, 22). Inoltre è stato osservato che alcuni farmaci dopaminergici, come il SKF 38393, l'agonista parziale del recettore D2 e il raclopride un antagonista del recettore D2 riducono la somministrazione di alcol (23, 24). Il gene DRD2 è stato studiato in relazione all'alcol-dipendenza poiché le modificazioni della disponibilità di dopamina a livello dei suoi recettori è stata implicata nei meccanismi neurali di ricompensa (25). Il gene DRD2 localizzato sul cromosoma 11q22-23 presenta due alleli che risultano polimorfici per la presenza o assenza di un sito di restrizione per l'enzima Taq I A e può essere evidenziato mediante RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (26). Il polimorfismo Taq I A consiste nel cambiamento di un nucleotide che crea il sito di restrizione per l'endonucleasi di restrizione Taq I.

Il primo studio di associazione tra il polimorfismo Taq I A D2 del gene DRD2 e l'alcolismo ha focalizzato notevoli interessi sul recettore D2 (27). Il sito polimorfico Taq I A è localizzato al 3' della sequenza codificante del gene. I due alleli identificati dall'endonucleasi di restrizione sono A1 (il frammento di 310bp non tagliato dall'enzima) e A2 (il frammento che viene digerito generando i frammenti di 180 e 130bp). Un'elevata prevalenza dell'allele A1 è stata osservata negli alcolisti rispetto ai soggetti di controllo. Risultati controversi sono stati riportati da studi successivi. Alcuni ricercatori hanno riportato associazione statisticamente significativa (28-30), mentre altri gruppi non hanno confermato l'associazione (31-33). Recentemente è stato riportato che il polimorfismo Taq I A determina una sostituzione aminoacidica in un gene vicino, ANKK1 (*ANKyrin repeat and Kinase domain containing 1*) (34). Questi dati non sembrano contribuire all'interpretazione degli studi precedenti riguardanti il coinvolgimento dei recettori dopaminergici nell'alcol-dipendenza.

Anche il recettore D4 della dopamina è stato studiato in relazione all'alcolismo. Il gene DRD4 è nella stessa classe del recettore D2, ma presenta alcune caratteristiche farmacologiche diverse. Anche il polimorfismo nel gene DRD4 presenta differenze funzionali nel recettore della dopamina e pertanto è stato studiato rispetto alla vulnerabilità all'alcol in diverse popolazioni con risultati diversi (35-40). I risultati degli studi finora condotti sul polimorfismo dei recettori DRD2 e DRD4 in associazione all'alcol-dipendenza non hanno portato a evidenze definitive.

GABA

Numerosi studi condotti su modelli animali, umani e modelli cellulari *in vitro* suggeriscono che l'acido gamma-aminobutirrico (GABA), il principale neurotrasmettitore di tipo inibitorio nel sistema nervoso centrale umano, è coinvolto in molti pathway neurochimici che influenzano il misuse alcolico (41). Studi elettrofisiologici e biochimici hanno dimostrato l'esistenza di due differenti recettori GABA convenzionalmente denominati: GABAA e GABAB che differiscono fra loro per profilo farmacologico, struttura molecolare e meccanismo di trasduzione del segnale. I recettori GABAA sono recettori-canale permeabili allo ione Cl^- mentre i recettori GABAB sono accoppiati a proteine G inibitorie. I recettori GABAA sono il principale sito di azione delle benzodiazepine, che aumentano la conduttanza del cloro in risposta al legame con GABA (42, 43). Il recettore GABAA è anche un importante sito di azione di neurosteroidi endogeni e dell'alcol (44). Poiché gli antagonisti GABAA riducono gli effetti comportamentali indotti dall'alcol, mentre gli agonisti del recettore GABAA tendono a potenziare questi effetti, i geni codificanti proteine GABA-correlate sono candidati funzionali di rischio di alcol-dipendenza (45). Il recettore GABAA contiene 5 subunità: due alfa (α), due beta (β) e una gamma (γ), delta (δ), omega (ω), epsilon (ϵ) oppure pi greco (π). Sono inoltre state identificate delle varianti costituite da sei alfa, tre beta, tre gamma e tre subunità pi greco (43), come pure delle forme derivate da splicing alternativo e formate da beta2, beta3 e gamma2 (47). La maggior parte dei geni del recettore GABAA sono organizzati in cluster. Il più grande progetto genetico intrapreso per identificare i geni che influenzano la suscettibilità all'alcolismo è il COGA (*Collaborative Study on the Genetics of Alcoholism*). È uno studio multicentrico condotto negli USA su famiglie di alcolisti che analizza l'intero genoma al fine di identificare regioni di DNA contenenti geni che influenzano il rischio di sviluppare alcolismo e fenotipi correlati (48-50). Alcune evidenze suggeriscono che i geni del recettore GABAA localizzati sul cromosoma 15 possono essere coinvolti nell'alcolismo e fenotipi correlati (51). Il gene beta3 (GABR β 3) codifica per la subunità maggiore del recettore GABAA ed è raggruppato sul cromosoma 15 (52). In uno studio caso-controllo condotto sulla popolazione Caucasica è stata evidenziata un'associazione tra β 3 e alcolismo grave (53). Questa associazione è stata confermata da uno studio di associazione condotto su famiglie dello studio COGA (54). Questo studio recente ha utilizzato diversi metodi di analisi che comprendono studi di *linkage* su famiglie, polimorfismi multipli costituiti da variazioni di un singolo nucleotide (*Single-Nucleotide Polymorphism*, SNP) in ogni gene, e l'utilizzo di pattern di disequilibrio (*Linkage Disequilibrium*, LD) tra gli SNP al fine di interpretare i risultati delle associazioni e ridurre la possibilità di falsi positivi. Quasi tutti gli SNP testati mostrano associazione con GABR β 3. Nessuna associazione statisticamente significativa è stata descritta per gli altri geni del recettore GABAA sul cromosoma 15. Questi risultati suggeriscono che varianti del gene GABR β 3 contribuiscono al rischio di alcolismo, sebbene la funzione del gene non sia stata ancora ben compresa. Begleiter and Porjesz (55) hanno ipotizzato che la predisposizione all'alcolismo possa essere ereditata come uno stato generale di disinibizione/ipereccitabilità del sistema nervoso centrale associato anche a diverse condizioni patologiche. Il GABA potrebbe essere coinvolto in questo meccanismo poiché i neuroni GABAergici forniscono un segnale che regola le ricorrenti eccitazioni e lo stato di disinibizione/ipereccitabilità potrebbe essere generato da un'alterata risposta al GABA. L'associazione descritta in letteratura tra alcol-dipendenza e le variazioni genetiche in GABR β 3 sono di sostegno a questa teoria.

Recettori degli oppioidi

Il sistema oppioide endogeno, che media una serie di funzioni neurologiche e fisiologiche sembra svolgere un ruolo determinante anche nello sviluppo e mantenimento dell'alcolismo (57). Studi condotti sia in modelli animali che nell'uomo hanno evidenziato che soggetti con familiarità per l'alcolismo (rischio elevato) hanno bassi livelli plasmatici di beta-endorfine, ma un maggiore rilascio di beta-endorfine dopo esposizione all'alcol, rispetto a soggetti senza familiarità per l'alcolismo (basso rischio) (58). Dati più recenti suggeriscono che l'etanolo aumenta la sintesi e la secrezione dei peptidi oppioidi, la neurotrasmissione mediata da oppioidi e potrebbe svolgere un ruolo importante negli effetti di rinforzo dell'etanolo che conducono ad un aumento del suo consumo (59). Inoltre, è stato dimostrato da studi condotti sia su modelli animali che umani che gli antagonisti dei recettori oppioidi riducono il consumo di alcol (60, 61). La scoperta di variazioni genetiche che influenzano il sistema oppioide sia in condizioni basali che dopo attivazione indotta da etanolo potrebbe essere importante per determinare la suscettibilità all'alcol-dipendenza.

Sono noti tre gruppi principali di peptidi oppioidi endogeni: le endorfine che derivano dal precursore beta-endorfine/ACTH (62); le encefaline che derivano dal precursore proencefalina (63) e le dinorfine e neoendorfine derivanti da prodinorfina (64), che interagisce almeno con tre sottotipi di recettori oppioidi: mu, delta e kappa (65). A causa del significato fisiologico del recettore mu oppioide coinvolto nel mediare gli effetti analgesici e di ricompensa dei farmaci oppioidi, molti ricercatori hanno condotto studi di polimorfismo di questo gene associato ad alcune dipendenze, incluso l'alcolismo. Il gene umano codificante il recettore mu-oppioide è stato clonato e mappato nella regione cromosomica 6q24-q25 (66). Numerosi SNP sono stati identificati in questo gene. Il più frequente è il cambiamento in posizione 118 (A118G), che codifica la sostituzione dell'amminoacido asparagina in acido aspartico (Asn40Asp) nel dominio extracellulare N-terminale corrispondente ad un sito di glicosilazione altamente conservato. La mutazione A118G è un polimorfismo funzionale, poiché come dimostrato *in vitro* la variante Asp40 ha la capacità di legare la beta-endorfina e di attivare i canali del potassio mediante una G-protein tre volte maggiore rispetto ai recettori codificati dalla variante Asn40 (67). Questo polimorfismo ha una prevalenza di circa il 10% nella popolazione generale, con variazioni tra gruppi etnici diversi. Diversi studi di associazione sono stati condotti tra questo polimorfismo e l'alcolismo con risultati contrastanti (68-72). Una possibile spiegazione per questi risultati contrastanti potrebbe essere il piccolo campione di soggetti studiato, come pure l'eterogeneità da un punto di vista etnico della popolazione. In un recente studio di revisione della letteratura su questo aspetto, LaForge (73) ha concluso che l'allele 118G non ha nessun effetto o risulta protettivo rispetto all'alcol-dipendenza. Inoltre, è stato osservato che individui con una o due copie dell'allele Asp40 presentano un'aumentata risposta dell'asse ipotalamo-pituitario-surrenale (HPA, *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal*) indotta dal naloxone, un antagonista del recettore oppioide (74, 75). In un altro studio (76) è stato osservato che individui con la variante Asp40 presentano un'elevata sensibilità dopaminergica durante la sospensione della somministrazione di alcol. La risposta sia agli agonisti che agli antagonisti dei recettori oppioidi sembra regolata dal polimorfismo Asn40Asp. Soggetti sani con l'allele G, che codifica per la variante Asp40, hanno livelli maggiori di cortisolo al blocco con naloxone.

Il sistema oppioide endogeno è coinvolto nell'azione di rinforzo determinata dall'abuso di alcol, l'azione del farmaco naloxone che blocca questa azione di rinforzo, può essere di aiuto nel trattamento dell'alcolismo. Poiché il naloxone ha un effetto maggiore nei soggetti con la variante Asp40, è stato proposto che la genotipizzazione potrebbe essere di aiuto nel predire la risposta clinica al trattamento con questo farmaco. Gli antagonisti oppioidi diminuiscono il consumo di alcol e l'autosomministrazione in modelli animali (76, 77). Simili effetti sono stati

riportati sia con il naloxone che con il naltrexone nel trattamento dell'alcol-dipendenza (78, 79). Recenti studi condotti su alcolisti americani di origine europea con una o due copie dell'allele Asp40 trattati con naltrexone hanno evidenziato una significativa riduzione di recidive (80). Questo studio costituisce il primo esempio di polimorfismo genico del recettore oppioide associato a risposta terapeutica al naltrexone.

Bibliografia

1. Gelernter J. Genetic factors in alcoholism: evidence and implications. In Kranzler HR (Ed.). *The pharmacology of alcohol abuse*. New York: Springer-Verlag; 1995. p. 297-313.
2. Gingrich JA, Hen R. Dissecting the role of the serotonin system in neuropsychiatric disorders using knockout mice. *Psychopharmacology* 2001;155:1-10.
3. Murphy DL, Lerner A, Rudnick G, Lesch KP. Serotonin transporter: gene, genetic disorder, and pharmacogenetics. *Molecular Interventions* 2004;4(2):109-23.
4. Heinz A, Mann K, Weinberger DR, Goldman D. Serotonergic dysfunction, negative mood states, and response to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25:487-495.
5. Myers RD, Weale WL. Alcohol preference in rats: reduction following depletion of brain serotonin. *Science* 1968;160:1469-71.
6. Daoust M, Legrand E, Henry JP, Boucly P. Ethanol intake and 3H-serotonin uptake I: a study in Fawn-Hooded rats. *Life Sci* 1991;48:1969-76.
7. Daoust M, Lhuintre JP, Ernouf D, Breton P, Legrand E, Henry JP, Boucly P. Ethanol intake and 3H-serotonin uptake II: a study in alcoholic patients using platelets 3H paroxetine binding. *Life Sci* 1991;48:1977-83.
8. Sellers EM, Higgins GA, Sobell MB. 5-HT and alcohol abuse. *Trends Pharmacol Sci* 1992;13:69-75.
9. Hammoumi S, Payen A, Favre JD, Balmes JL, Benard JY, Husson M, Ferrand JP, Martin JP, Daoust M. Does the short variant of the serotonin transporter linked polymorphic region constitute a marker of alcohol dependence? *Alcohol* 1999;17:107-12.
10. Ernouf D, Compagnon P, Lothion P, Narcisse G, Bénard JY, Daoust M. Platelets 3H-5HT uptake in descendants from alcoholic patients: a potential risk factor for alcohol dependence? *Life Sci* 1993;52:989-95.
11. Lesch KP, Balling U, Gross J, Strauss K, Wolozin BL, Murphy DL, Riederer P. Organization of the human serotonin transporter gene. *J Neural Trans Gen Sect* 1994;95:157-62.
12. Ramamoorthy S, Bauman AL, Moore KL, Han H, Yang-Feng T, Chang AS, Ganapathy V, Blakely RD. Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:2542-46.
13. Battersby S, Ogilvie AD, Blackwood DH, Shen S, Muqit MM, Muir WJ, *et al.* Presence of multiple functional polyadenylation signals and a single nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of the human serotonin transporter gene. *J Neurochem* 1999;72:1384-88.
14. Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, *et al.* Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996;274:1527-31.
15. Greenberg BD, Tolliver TJ, Huang SJ, Li Q, Bengel D, Murphy DL. Genetic variation in the serotonin transporter promoter region affects serotonin uptake in human blood platelets. *Am J Med Genet* 1999;88:83-7.
16. Gorwood P, Batei P, Ades J, Hamon M, Boni C. Serotonin transporters gene polymorphisms, alcoholism, and suicidal behaviour. *Biol Psychiatry* 2000;48:259-64.

17. Sander T, Harms H, Lesch KP, Dufeu P, Kuhn S, Hoehe M, *et al.* Association analysis of a regulatory variation of the serotonin transporter gene with severe alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21(8):1356-59.
18. Feinn R, Nellissery M, Kranzler HR. Meta-analysis of the association of a functional serotonin transporter promoter polymorphism with alcohol dependence. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005;133:79-84.
19. Gorwood P, Lanfumey L, Hamon M. Alcohol dependence and polymorphisms of serotonin-related genes. *Med Sci* 2004;20:1132-38.
20. Noble EP. Alcoholism and the dopaminergic system: a review. *Addict Biol* 1996;1:333-48.
21. Weiss F, Lorang MT, Bloom FE, Koob GF. Oral alcohol self-administration stimulates dopamine release in the rat nucleus accumbens: genetic and motivational determinants. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;267:250-8.
22. Brodie MS, Shefner SA, Dunwiddie TV. Ethanol increases the firing rate of dopamine neurons of the rat ventral tegmental area in vitro. *Brain Res* 1990;508:65-9.
23. Silvestre JS, O'Neill MF, Fernandez AG, Palacios JM. Effects of a range of dopamine receptor agonists and antagonists on ethanol intake in the rat. *Eur J Pharmacol* 1996;318:257-65.
24. Czachowski CI, Chappell AM, Samson HH. Effects of raclopride in the nucleus accumbens on ethanol seeking and consumption. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25:1431-40.
25. Koob GF, Swerdlow NR. The functional output of the mesolimbic dopamine system. *Ann NY Acad Sci* 1988;537:216-27.
26. Grandy DK, Litt M, Allen L, Bunzow JR, Marchionni M, Makam H, Reed L, *et al.* The human dopamine receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqI RFLP. *Am J Hum Genet* 1989;45:778-85.
27. Blum K, Noble EP, Sheridan PJ, Montgomery A, Ritchie T, Jagadeeswaran P, *et al.* Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA* 1990;263:2055-60.
28. Parsian A, Todd RD, Devor EJ, O'Malley KL, Suarez BK, Reich T, *et al.* Alcoholism and alleles of the human D2 dopamine receptor locus. Studies of association and linkage. *Arch Gen Psychiatry* 1991;48:655-63.
29. Pato CN, Macciardi F, Pato MT, Verga M, Kennedy JL. Review of the putative association of dopamine D2 receptor and alcoholism: a meta-analysis. *Am. J. Med. Genet.* 1993;48:78-82.
30. Neiswanger K, Hill SY, Kaplan BB. Association and linkage studies of the TAQI A1 allele at the dopamine D2 receptor gene in samples of female and male alcoholics. *Am J Med Genet* 1995;60:267-71.
31. Gelernter J, O'Malley S, Risch N, Kranzler HR, Krystal J, Merikangas K, *et al.* No association between an allele at the D2 dopamine receptor gene DRD2 and alcoholism. *JAMA* 1991;266:1801-7.
32. Goldman D, Dean M, Brown GL, Bolos AM, Tokola R, Virkkunen M, *et al.* Dopamine receptor genotype and cerebrospinal fluid homovanillic acid, 5-hydroxyindoleacetic acid and 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol in alcoholics in Finland and the United States. *Acta Psychiatr Scand* 1992;86:351-7.
33. Turner E, Ewing J, Shilling P, Smith TL, Irwin M, Schuckit M, *et al.* Lack of association between an RFLP near the D2 dopamine receptor gene and severe alcoholism. *Biol Psychiatry* 1992;31:285-90.
34. Neville MJ, Johnstone EC, Walton RT. Identification and characterization of ANKK1 a novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. *Hum Mut* 2004;23:540-5.
35. Parsian A, Chakraverty S, Fisher L, Cloninger CR. No association between polymorphisms in the human dopamine D3 and D4 receptors genes and alcoholism. *Am J Med Genet* 1997;74:281-5.

36. Adamson MD, Kennedy J, Petronis A, Dean M, Virkkunen M, Linnoila M, *et al.* DRD4 dopamine receptor genotype and CSF monoamine metabolites in Finnish alcoholics and controls. *Am J Med Genet* 1995;60:199-205.
37. Chang FM, Ko HC, Lu RB, Pakstis AJ, Kidd KK. The dopamine D4 receptor gene (DRD4) is not associated with alcoholism in three Taiwanese populations: six polymorphisms tested separately and as haplotypes. *Biol Psychiatry* 1997;41:394-405.
38. George SR, Cheng R, Nguyen T, Israel Y, O'Dowd BF. Polymorphisms of the D4 dopamine receptor alleles in chronic alcoholism. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;196:107-14.
39. Kotler M, Cohen H, Segman R, Gritsenko I, Nemanov L, Lerer B, *et al.* Excess dopamine D4 receptor (D4DR) exon III seven repeat allele in opioid-dependent subjects. *Mol Psychiatry* 1997;2:251-4.
40. Muramatsu T, Higuchi S, Murayama M, Matsushita S, Hayashida M. Association between alcoholism and the dopamine D4 receptor gene. *J Med Genet* 1996;33(2):113-5.
41. Buck KJ. Molecular genetic analysis of the role of GABAergic system in the behavioural and cellular actions of alcohol. *Behav Genet* 1996;26: 313-23.
42. Korpi ER, Grunder G, Luddens H. Drug interactions at GABA(A) receptors. *Prog Neurobiol* 2002;67:113-59.
43. Mohler H, Fritschy JM, Rudolph U. A new benzodiazepine pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;300:2-8.
44. Grobin AC, Matthews DB, Devand LL, Morrow AL. The role of GABA-A receptors in the acute and chronic effects of ethanol. *Psychopharmacology* 1998;139:2-19.
45. Davies M. The role of GABA-A receptors in mediating the effects of alcohol in the central nervous system. *J Psychiatry Neurosci* 2003;28:263-74.
46. Chang Y, Wang R, Barot S, Weiss DS. Stoichiometry of recombinant GABAA receptor. *J Neurosci* 1996;16:5415-24.
47. Harvey RJ, Chinchetru MA, Darlison MG. Alternative splicing of a 51-nucleotide exon that encodes a putative protein kinase C phosphorylation site generates two forms of the chicken gamma-aminobutyric acidA receptor beta 2 subunit. *J Neurochem* 1994;62:10-16.
48. Reich T, Edenberg HJ, Goate A, Williams JT, Rice JP, VanEerdewegh P, *et al.* Genome-wide search for gene affecting the risk for alcohol dependence. *Am J Med Genet* 1998;81:207-15.
49. Foroud T, Edenberg HJ, Goate A, Rice J, Flury L, Koller DL, *et al.* Alcoholism susceptibility loci: confirmation studies in a replicate sample and further mapping. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24:933-45.
50. Edenberg HJ. The collaborative study on the genetic of alcoholism: an update. *Alcohol Res Health* 2002;26:214-18.
51. Song J, Koller DL, Foroud T, Rice J, Nummerger JI Jr, Begleiter H, Porjesz B, *et al.* Association of GABA-A receptors and alcohol dependence and the effects of genetic imprinting. *Am J Med Genet* 2003;117B:39-45.
52. Wagstaff J, Kuoll Jh, Fleming J, Kirkness EF, Martin-Gallardo A, Greenberg F, *et al.* Localization of the gene encoding the GABA-A receptor subunit to the Angelman/Prader Willi region of the human chromosome 15. *Am J Hum Genet* 1991;49:330-7.
53. Noble EP, Zhang X, Ritchie T, Lawford BR, Grosser SC, Young RM, *et al.* D2 dopamine receptor and GABA(A) receptor beta3 subunit genes and alcoholism. *Psychiatry Res* 1998;81:133-47.
54. Dick DM, Edenberg HJ, Xuei X, Goate A, Kuperman S, Schuckit M, *et al.* Association of GABRG3 with alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28:4-9.

55. Begleiter H, Porjesz B. What is inherited in the predisposition toward alcoholism? *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:1125-35.
56. Kreek MJ. Opioid receptors some perspectives from early studies of their role in normal physiology, stress responsivity, and in specific addictive diseases. *Neurochem Res* 1996;21:1469-88.
57. Gianoulakis C, Krishnan B, Thavundayil J. Enhanced sensitivity of pituitary beta-endorphin to ethanol in subjects at high risk of alcoholism. *Arch Gen Psychiatry* 1996;53:250-7.
58. Widdowson PS, Holman RB. Ethanol-induced increase in endogenous dopamine release may involve endogenous opiates. *J Neurochem* 1992;59:157-63.
59. Ulm RR, Volpicelli JR, Volpicelli LA. Opiates and alcohol self-administration in animals. *J Clin Psychiatry* 1995;56:5-14.
60. Volpicelli JR, Alterman AI, Hayashida M, O'Brien CP. Naltrexone in the treatment of alcohol dependence. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:876-80.
61. Nakanishi S, Inoue A, Kita T, Nakamura M, Chang AC, Cohen SN, *et al.* Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin-beta-lipotropin precursor. *Nature* 1979;278:423-7.
62. Noda M, Teranishi Y, Takahashi H, Toyosato M, Notake M, Nakanishi S, *et al.* Isolation and structural organization of the human preproenkephalin gene. *Nature* 1982;297:431-4.
63. Kakidani H, Furutani Y, Takahashi H, Noda M, Morimoto Y, Hirose T, *et al.* Cloning and sequence analysis of cDNA for porcine β -neoendorphin/dynorphin precursor. *Nature* 1982;298:245-9.
64. Reisine T, Bell GI. Molecular biology of opioid receptors. *Trends Neurol Sci* 1993;16:506-10.
65. Wang JB, Imai Y, Eppler CM, Gregor P, Spivak CE, Uhl GR. Mu opiate receptor cDNA cloning and expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:10230-4.
66. Bond C, LaForge KS, Tian M, Melia D, Zhang S, Borg L, *et al.* Single-nucleotide polymorphism in the human mu opioid receptor gene alters beta-endorphin binding and activity: possible implications for opiate addiction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:9608-13.
67. Bergen AW, Kokoszka J, Peterson R, Long JC, Virkkunen M, Linnoila M, *et al.* Mu-opioid receptor gene variants: lack of association with alcohol dependence. *Mol Psychiatry* 1997;2:490-4.
68. Gelernter J, Kranzler H, Cubells J. Genetics of two μ opioid receptor gene (OPRM1) exon 1 polymorphism: population studies, and allele frequencies in alcohol- and drug-dependent subjects. *Mol Psychiatry* 1999;4:476-83.
69. Rommelspacher H, Smolka M, Schmidt LG, Samochowiec J, Hoehe MR. Genetic analysis of the μ -opioid receptor in alcohol-dependent individuals. *Alcohol* 2001;24:129-35.
70. Sander T, Gscheidel N, Wendel B, Samochowiec J, Smolka M, Rommelspacher H, *et al.* Human μ -opioid receptor variation and alcohol dependence. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 1998;22:2108-10.
71. Town T, Abdullah L, Crawford F, Schinka J, Ordorica PI, Francis E, *et al.* Association of a functional μ -opioid receptor allele (+118A) with alcohol dependency. *Am J Med Genet* 1999;88:458-61.
72. LaForge KS, Yuferov V, Kreek MJ. Opioid receptor and peptide gene polymorphisms: potential implications for addictions. *Eur J Pharmacol* 2000;410:249-68.
73. Wand GS, McCaul M, Yang X, Reynolds J, Gotjen D, Lee S, *et al.* The mu-opioid receptor gene polymorphism (A118G) alters HPA axis activation induced by opioid receptor blockade. *Neuropsychopharmacology* 2002;26:106-14.
74. Hernandez-Avila CA, Wand G, Luo X, Gelernter J, Kranzler HR. Association between the cortisol response to opioid blockade and the Asn40Asp polymorphism at the mu-opioid receptor locus (OPRM1). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2003;118:60-5.

75. Smolka M, Sander T, Schmidt LG, Samochowiec J, Rommelspacher H, Gscheidel N, *et al.* μ -opioid receptor variants and dopaminergic sensitivity in alcohol withdrawal. *Psychoneuroendocrinology* 24:629-38.
76. Altschuler HL, Phillips p, Fernhandler DA. Alterations of ethanol self-administrations by naltrexone. *Life Sci* 1980;26:679-88.
77. Siviyy S, Calcagnetti D, Reid L. A temporal analysis of naloxone's suppressant effect on drinking. *Pharmacol. Biochem Behav* 1982;16:173-5.
78. Kranzler H and VanKirk J. Efficacy of naltrexone and acamprosate for alcoholism treatment: a meta analysis. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25:1335-41.
79. Bouza C, Angels M, Munoz A, Amate JM. Efficacy and safety of naltrexone and acamprosate in the treatment of alcohol dependence: a systematic review. *Addiction* 2004;99:811-28.
80. Oslin DW, Berrettini W, Kranzler HR, Pettinati H, Gelernter J, Volpicelli JR, *et al* A functional polymorphism of the mu-opioid receptor gene is associated with naltrexone response in alcohol-dependent patients. *Neuropsychopharmacology* 2003;28:1546-52.

ESPERIENZE AMBIENTALI ED ESPOSIZIONE AD ALCOL IN FASI PRECOCI DELLO SVILUPPO: IL CONTRIBUTO DEI MODELLI ANIMALI*

Simone Macrì (a), Simona Spinelli (b), James Dee Higley (b), Giovanni Laviola (a)

(a) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia*

(b) *Laboratory of Clinical and Translational Studies, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, NIH Animal Center, Poolesville, USA*

Vulnerabilità e plasticità dello sviluppo

Il modo in cui un organismo adulto fa fronte alle sfide che gli vengono poste dall'ambiente è notevolmente influenzato dalle esperienze precoci, e la qualità del milieu infantile ha un influsso consistente e persistente sul successivo sviluppo neurocomportamentale (1-4). In questo senso, eventi negativi quali l'esposizione pre- o postnatale ad alcol, l'abuso infantile o il neglect emozionale (ovvero, una notevole negligenza o trascuratezza da parte delle persone che dovrebbero prendersi cura del bambino) possono accrescere la vulnerabilità allo sviluppo di disturbi di tipo neuro-psichiatrico in fasi evolutive successive (5-7).

Gli studi epidemiologici indicano che l'esposizione ad alcol nel periodo fetale o in fasi evolutive precoci è in grado di alterare in maniera persistente il fenotipo adulto dell'individuo. I criteri diagnostici della sindrome fetoalcolica (FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*) includono ritardo della crescita, dismorfismi cranio-facciali e anomalie d'organo (8). Al di là delle conseguenze di tipo periferico, l'esposizione precoce a etanolo comporta effetti avversi a lungo termine sullo sviluppo del sistema nervoso centrale (9). I risultati sperimentali indicano inoltre che l'esposizione fetale produce modificazioni persistenti nel cervello, e che queste possono avere effetti disfunzionali sulle abilità cognitive. Grazie alla diagnostica per immagini, diversi studi hanno potuto rilevare sia una riduzione globale delle dimensioni del cervello sia una serie di anomalie della sostanza grigia e di quella bianca. È stato ipotizzato che tutte queste anomalie siano connesse alle diminuite capacità cognitive che sono state osservate in una varietà di ambiti differenti (come attenzione e memoria) riportate in letteratura (10, 11).

È stato rilevato che l'assunzione di alcol in età precoce è inoltre in grado di causare disfunzioni in diversi sistemi di neurotrasmettitori, tra cui quello serotoninergico (12-15), dopaminergico (16), glutammatergico (17), istaminergico (18), colinergico e noradrenergico (19). È interessante notare come, per mezzo della tomografia computerizzata a emissione di fotone singolo (SPECT, *Single-Photon Emission Computed Tomography*), sia stata osservata una diminuzione del legame dei trasportatori della serotonina e della dopamina sia in bambini con FAE (*Fetal Alcohol Exposure*, esposizione fetale ad alcol) sia in bambini con FAS. In linea con questi dati, è stato dimostrato che l'esposizione precoce a etanolo produce, in fasi evolutive successive, anomalie comportamentali attribuibili a una cattiva regolazione del sistema serotoninergico, come una ridotta capacità di attenzione e un'accresciuta impulsività (20,21).

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Macrì S, Spinelli S, Adriani W, Higley JD, Laviola G. Early adversity and alcohol availability persistently modify serotonin and hypothalamic-pituitary-adrenal-axis metabolism and related behaviour. What experimental research on rodents and primates can tell us. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):172-80.

L'esposizione fetale ad alcol è associata a una maggiore vulnerabilità allo sviluppo in età adolescenziale e adulta di disturbi legati al consumo di alcol (22), nonché a una ridotta concentrazione di uno dei principali metaboliti della serotonina, l'acido 5-idrossiindolacetico, nel liquido cerebrospinale (CSF 5-HIAA). Quest'ultimo è stato messo in relazione diretta con livelli elevati di consumo di alcol in fasi successive della vita (23), e associato – nell'uomo e nei primati – a una ridotta capacità di controllo degli impulsi e agli atti di violenza impulsiva (23-25). Si ritiene che, a sua volta, l'impulsività contribuisca, negli individui con un funzionamento difettoso del sistema della serotonina, allo sviluppo dell'alcolismo. Il ridotto controllo degli impulsi induce ad assumere alcol con modalità binge (ingestione di grandi quantità di alcol in una sola occasione) e in generale in quantità eccessive, e rende maggiormente difficoltosa l'astinenza nel corso del trattamento (26).

Infine, è stato dimostrato che l'esposizione precoce a etanolo ha effetti a lungo termine sullo sviluppo dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA, *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal*) (27). Le esperienze negative o traumatiche subite nel periodo fetale o neonatale hanno una serie di conseguenze notevolmente simili a quelle che derivano dall'esposizione precoce ad alcol e, in particolare, risultano essere direttamente collegate all'insorgenza di disfunzioni dell'asse HPA. Per esempio, lo stress prenatale e l'abuso o neglect infantile sono associati a un incremento del rischio di sviluppare disturbi connessi all'asse HPA come depressione, ansia, disturbo da stress post-traumatico, abuso di sostanze e alcolismo (28, 29). Il neglect e i maltrattamenti pongono il bambino in una condizione di stress cronico che innesca una serie di reazioni endocrine specifiche, regolate proprio da tale asse. Il funzionamento difettoso dell'asse HPA e/o dei circuiti cerebrali serotoninergici sembra avere un ruolo di primo piano nell'eziologia dei disordini neuropsichiatrici più comuni (30, 31) che sono spesso associati all'alcolismo (32). È stato dimostrato che le condizioni ambientali avverse esperite nella fase pre- o postnatale inducono una persistente sovra-regolazione della risposta allo stress sia nei primati (33, 34) sia nei roditori (35-37). Al contrario, si ritiene che condizioni favorevoli (ovvero, un buon livello di sicurezza e di supporto sociale) siano in grado di ridurre il rischio di sviluppare, in seguito, patologie connesse allo stress (38); è stato inoltre osservato che un ambiente postnatale stimolante mitiga nel ratto gli effetti negativi esercitati sulla risposta dell'asse HPA da condizioni prenatali avverse (39).

Abbiamo introdotto il concetto di vulnerabilità, che sarà uno dei concetti "portanti" della presente rassegna: esso fa riferimento a una situazione in cui una predisposizione innata e/o acquisita è sufficiente a incrementare le probabilità che l'individuo sviluppi una specifica patologia qualora si trovi in determinate condizioni ambientali avverse. Per esempio, Caspi *et al.* (40) hanno recentemente dimostrato che una particolare caratteristica genetica (la presenza della variante allelica corta del gene che codifica per il trasportatore della serotonina) è correlata nell'essere umano a un maggiore rischio di sviluppare una depressione in seguito a tre o più eventi traumatici (divorzio, morte del partner, cancro, ecc.). Dunque, uno specifico tratto genetico costituisce un fattore di incremento del rischio di sviluppare una specifica patologia; tuttavia, esso non è di per sé sufficiente a spiegare l'insorgenza della patologia stessa. L'esposizione precoce ad alcol e gli eventi avversi perinatali (ovvero, situati tra l'ultimo stadio della vita fetale e il primo della vita postnatale) vanno considerati proprio da questa prospettiva, in cui l'uno o l'altro fattore possono finire per precipitare l'insorgenza di disordini neuropsichiatrici sottostanti.

La nostra rassegna analizza questo aspetto, focalizzandosi in particolare sulle informazioni che può fornirci in merito lo studio sperimentale degli animali. Partendo da un certo numero di articoli selezionati, che riportano i risultati di esperimenti condotti sui primati e sui roditori, esamineremo l'interazione tra esposizione precoce a etanolo e sfide poste dall'ambiente e le sue conseguenze sull'organismo adulto. Il nostro intento è quello di inserire il problema dell'esposizione precoce ad alcol nella prospettiva più ampia della plasticità comportamentale. Infatti, se da un lato il consumo di alcol è associato di per sé al malfunzionamento di molteplici sistemi neurobiologici, dall'altro

sembrerebbero essere proprio alcune predisposizioni prenatali o postnatali precoci (di natura sia ambientale sia genetica) ad avere un ruolo cruciale nel condurre – interagendo con il consumo di alcol – a un fenotipo funzionale oppure a uno patologico.

I modelli animali vengono impiegati per ottenere informazioni – relative per esempio agli adattamenti più o meno patologici con i quali un organismo risponde alle sfide che gli vengono precocemente poste dall'ambiente – in un sistema più semplice e maggiormente controllabile rispetto all'essere umano (8). Mentre nell'uomo i disordini legati all'alcol di cui ci stiamo occupando sono direttamente riconducibili a un'esposizione intrauterina, quando si utilizza il ratto come modello animale di FAS occorre prolungare l'esposizione fino al quindicesimo giorno postnatale, poiché solo allora ha termine il periodo che in questa specie corrisponde al terzo trimestre di gestazione nell'uomo. Anche il modello dei primati non umani si è rivelato molto utile per comprendere meglio i meccanismi sottesi agli effetti del consumo eccessivo di alcol. Alcune specie di scimmie, come il macaco reso (*Macaca mulatta*) hanno in comune con l'uomo importanti caratteristiche di fisiologia dello sviluppo: la maturazione fetale è relativamente lenta e il periodo di gestazione prolungato (23-24 settimane), viene partorito un solo piccolo, e la maturazione postnatale è anch'essa lenta. Primati umani e non umani condividono in parte anche le modalità di consumo dell'alcol: anche nelle scimmie, infatti, questo suscita avversione quando viene offerto a concentrazioni superiori al 2%, ma quando viene offerto in una soluzione zuccherina viene assunto dalla maggior parte degli animali in quantità moderate, e da una minoranza di soggetti che si aggira intorno al 15-20% in quantità da intossicazione (24, 41, 42). Purtroppo, solo un numero ristretto di studi ha analizzato, in primati non umani, gli effetti dell'esposizione precoce ad alcol sullo sviluppo di sintomi assimilabili all'alcolismo.

Asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA)

Sia l'esposizione fetale ad alcol sia la modulazione sperimentale dell'interazione madre-prole sono in grado di modificare l'organizzazione dell'asse HPA e delle vie cerebrali serotoninergiche, e questo sia nell'uomo sia nei modelli animali. I due fattori esercitano i loro effetti primariamente in modo diretto e indipendentemente l'uno dall'altro, ma quello che ci interessa sottolineare nel presente contesto è come sia l'interazione tra esposizione, condizioni ambientali e corredo genetico a determinare il fenotipo adulto che verrà osservato.

Diversi studi (27) hanno mostrato che l'esposizione a etanolo nel corso della vita fetale ha effetti a lungo termine che arrivano a modificare il funzionamento dell'asse HPA nell'adulto. Per esempio, ratti esposti *in utero* mostrano da adulti maggiori livelli di corticosterone, ACTH (*AdrenoCorticoTropin Hormone*) e CRH (*Cortocotropin-Releasing Hormone*, ormone di rilascio della corticotropina) in risposta a situazioni stressanti (43-45).

Indipendentemente dall'assunzione di alcol, anche le modificazioni dell'ambiente sociale precoce sono in grado di modulare il funzionamento dell'asse HPA nei ratti adulti. Per esempio, se nelle prime due settimane postnatali vengono tenuti separati dalla madre (MS, *Maternal Separation*, separazione materna) per 3-6 ore al giorno, i ratti mostreranno una volta adulti una maggiore risposta dell'asse HPA allo stress (46) rispetto ai loro conspecifici che sono stati separati dalla madre per periodi più brevi (3-15 min). In particolare, le procedure di MS producono nei ratti adulti una sovra-regolazione dell'ACTH, del corticosterone e del CRH in risposta allo stress (3). Al contrario, le separazioni più brevi (3-15 min) imposte al gruppo EH (*Early Handling*, manipolazione precoce) producono nell'adulto, sia rispetto al gruppo di controllo sia rispetto al gruppo MS, “modificazioni neuroendocrine, neurochimiche e comportamentali salutari” (4), come per esempio una ridotta risposta allo stress in termini di ACTH e corticosterone (47,48). Liu *et al.* (49) hanno ipotizzato che tali effetti dipendano dal fatto che le madri del gruppo EH esibiscono

livelli maggiori di cure materne attive, e ciò sembrerebbe confermato da altri lavori in cui analoghi effetti sono stati associati a livelli di cure materne spontaneamente elevati (3, 50). È stato ipotizzato che a produrre i cambiamenti a lungo termine del funzionamento dell'asse HPA siano piuttosto i fattori di disturbo fisiologico che sono associati ai periodi prolungati di separazione, come per esempio la riduzione della temperatura corporea, la diminuzione della quantità di cibo ingerito e l'alterazione della distribuzione circadiana degli episodi di allattamento (51, 52).

Gli esempi che abbiamo proposto mostrano come sia le modificazioni ambientali sia l'esposizione ad alcol siano in grado di alterare in maniera persistente il funzionamento di alcuni sistemi neuroendocrini. È dunque plausibile che queste esperienze agiscano in maniera congiunta, e che il fenotipo "d'arrivo" sia determinato dai loro effetti combinati. Ma, se è vero che condizioni ambientali precoci avverse possono esacerbare gli effetti dell'esposizione ad alcol, è anche vero che condizioni favorevoli (es. stimolanti) possono essere in grado di "controbilanciarli". Tra i pochi studi che si sono occupati di questi possibili benefici c'è quello di Weinberg *et al.* (53), in cui, in seguito a manipolazione precoce (EH), non è stato osservato nei ratti adulti l'incremento della risposta endocrina solitamente associato all'esposizione prenatale a etanolo. Tuttavia, questi risultati non sono stati replicati, e in altri studi la manipolazione precoce ha avuto effetti nulli o persino opposti (54-56).

Il gruppo di Schneider ha esaminato le conseguenze di eventi prenatali e postnatali precoci, e in particolare dell'esposizione ad alcol e di condizioni ambientali avverse, nei primati non umani (57-61). I ricercatori hanno selezionato le femmine di macaco reso che consumavano spontaneamente quantità moderate di etanolo (0,6 g/kg al giorno in soluzione zuccherina) e hanno permesso loro di farlo durante la gravidanza. Il dosaggio assunto induceva una concentrazione di etanolo nel sangue pari a 20-50 mg/dl, paragonabile a quella rilevabile in una donna che beva una o due unità alcoliche al giorno. La corrispondente esposizione fetale è risultata associata ad alterazioni permanenti di diversi parametri neurocomportamentali della prole, tra cui la capacità di orientamento e le abilità motorie. Inoltre, i piccoli esposti ad alcol che all'età di sei mesi sono stati sottoposti a tre ore di separazione dalla madre hanno mostrato, due ore dopo, un incremento della risposta dell'ACTH. Per finire, a quattro anni di età le scimmie prenatalmente esposte a etanolo hanno mostrato di avere bisogno di un numero maggiore di sessioni rispetto ai soggetti di controllo per portare a termine un compito di apprendimento. È dunque sufficiente l'esposizione a quantitativi relativamente moderati di alcol nel corso della vita intrauterina per produrre in questi animali effetti a lungo termine significativi in termini sia di abilità cognitive sia di funzionamento dell'asse HPA.

Se l'esposizione fetale costituisce di per sé un importante fattore di rischio nell'eziologia di future anomalie di ordine neurocomportamentale, va anche detto che essa si verifica frequentemente in concomitanza con disturbi psichiatrici della madre. È, infatti, in particolare nelle donne che è stato dimostrato che esperienze traumatiche quali l'abuso sessuale sono associate a un incremento del rischio di sviluppare problemi legati all'alcol; ed è in particolare nelle donne che si verifica frequentemente la comorbidità tra alcolismo e depressione, ansia, disturbo da stress post-traumatico o abuso di sostanze (32, 62-64). La "deviazione" di un individuo dalla consueta traiettoria evolutiva può dunque essere attribuita agli effetti combinati dell'esposizione a etanolo e dello stress perinatale associato a particolari caratteristiche materne.

Allo scopo di studiare tali effetti combinati, il gruppo di Schneider ha effettuato un'ulteriore ricerca, in cui le femmine di macaco erano suddivise in tre gruppi: quelle del primo gruppo erano esposte ad alcol nel corso della gestazione, secondo le modalità già descritte; quelle del secondo gruppo venivano sottoposte quotidianamente a 10 min di stress psicologico uditivo dal giorno 90 al giorno 145 a partire dal giorno della concezione; il terzo gruppo era esposto a entrambi i fattori. A sei mesi di età, la prole di queste femmine è stata sottoposta a una separazione materna di tre giorni, e due ore dopo ne è stata esaminata la risposta dell'asse HPA.

allo stress. I soggetti che erano stati esposti sia all'alcol sia allo stress psicologico hanno fatto registrare i valori di ACTH più elevati, seguiti da quelli osservati nei soggetti che erano stati esposti soltanto all'alcol. Analogamente, a quattro anni di età, mentre l'esperienza precoce di stress non risultava influire di per sé sulle prestazioni delle scimmie in un compito di apprendimento, i soggetti che erano stati esposti a entrambi i fattori mostravano deficit cognitivi e avevano bisogno di un numero maggiore di sessioni rispetto ai soggetti di controllo. Questi animali fanno registrare inoltre un livello più elevato di iperattività e stereotipie comportamentali. Nel complesso, i risultati di questi esperimenti confermano che l'esposizione prenatale ad alcol comporta conseguenze i cui effetti persistono in età adulta, e che livelli di stress prenatale di per sé non in grado di produrre alterazioni significative possono potenziare gli effetti avversi a lungo termine di tale esposizione.

Sistema serotoninergico

Analogamente ai suoi effetti sullo sviluppo dell'asse HPA, l'esposizione prenatale ad alcol modifica lo sviluppo dei circuiti cerebrali serotoninergici provocando alterazioni a lungo termine. Per esempio, nel ratto, i piccoli le cui madri hanno assunto etanolo prima del parto mostrano una ridotta densità di neuroni serotoninergici (5-HT) nel rafe dorsale e in quello mediano (13, 65) e una minore concentrazione di 5-HT e 5-HIAA (il principale metabolita della serotonina) nella corteccia motoria (66, 67). Oltre alla fisiologia della serotonina, l'esposizione ad alcol in fasi precoci dello sviluppo modifica anche l'espressione da parte degli individui adulti dei comportamenti più direttamente legati a questo sistema neurotrasmettitoriale: esso peggiora le prestazioni, per esempio, nell'ambito dell'abilità locomotoria in generale (68), dell'aggressività (69) e delle capacità di termoregolazione (70). Un ridotto turnover (velocità di utilizzo) della serotonina a livello centrale è stato inoltre messo in relazione a una diminuzione della capacità di controllare gli impulsi, e questo è stato confermato da studi di lesione condotti nel ratto (71, 72).

Ancora una volta analogamente a quanto abbiamo già visto per l'asse HPA, la modificazione sperimentale delle interazioni madre-piccoli è anch'essa in grado di alterare in maniera persistente e duratura l'organizzazione del sistema serotoninergico cerebrale. In particolare, separazioni dalla madre prolungate e ripetute nel corso delle primissime settimane di vita postnatale sono state associate nell'individuo adulto a una riduzione a lungo termine della trasmissione serotoninergica, a un calo dei livelli di serotonina nell'ippocampo dorsale, e a una ridotta velocità di scarica (*firing*) dei neuroni 5-HT in risposta al citalopram (73-75).

Al di là di questi effetti, esercitati sullo sviluppo delle regolazioni serotoninergiche separatamente e indipendentemente dall'esposizione fetale ad alcol o dalle condizioni ambientali postnatali, le conseguenze che i due fattori potrebbero comportare agendo in maniera combinata tra loro meritano senz'altro ulteriori approfondimenti.

Sistema serotoninergico, esperienze di stress e assunzione di alcol

Lo stress sembra avere un ruolo importante per quanto riguarda il consumo di quantitativi eccessivi di alcol e l'induzione di ricadute negli individui che presentano dipendenza (76). Analogamente all'essere umano, il macaco reso consuma spontaneamente maggiori quantitativi di etanolo se viene esposto a una situazione stressante, come per esempio una separazione sociale (77). Vi sono inoltre studi clinici che attestano che i sottogruppi di individui che consumano quantitativi

eccessivi di alcol mostrano concentrazioni ridotte di CSF 5-HIAA, insieme a livelli elevati di impulsività e aggressività (23). Anche nelle scimmie con livelli bassi di CSF 5-HIAA sono stati osservati un incremento del comportamento aggressivo, una perdita della capacità di controllare gli impulsi e l'assunzione di maggiori quantitativi di alcol. Inoltre, è stata dimostrata una correlazione negativa tra livelli di CSF 5-HIAA e quantitativo di etanolo consumato (77). È interessante notare come nei primati non umani che hanno di base una bassa concentrazione di CSF 5-HIAA e livelli elevati di aggressività l'alcol aumenti la probabilità di espressione dei comportamenti aggressivi, mentre esso non produce effetti significativi negli animali che presentano di base livelli ridotti di aggressività e concentrazioni elevate di CSF 5-HIAA (78, 79). La ricerca sull'alcol suggerisce anche che negli esseri umani vi sia una forte correlazione tra esperienze infantili negative e rischio di sviluppare in fasi successive della vita depressione, ansia, disturbi da stress post-traumatico, abuso di sostanze e alcolismo (63, 80). De Bellis (28) ha ipotizzato che questo sottogruppo di persone sia particolarmente vulnerabile all'ansia e ai disturbi dell'umore, e che pertanto faccia uso di notevoli quantitativi di alcol e/o di svariate altre sostanze nel tentativo di auto-medicarsi.

Higley *et al.* hanno modificato sperimentalmente l'ambiente sociale precoce di alcuni macachi reso, crescendoli per i primi sei mesi di vita in gruppi di pari (ovvero coetanei) in presenza (gruppo MR, *Mother-Reared*) oppure in assenza (gruppo PR, *Peer-Reared*) della madre e degli altri conspecifici adulti. Il gruppo PR rappresenta un modello di stress psicosociale precoce, in quanto era privato dell'interazione con i genitori e delle relative opportunità di apprendimento sociale e contestuale. Dopo sei mesi, tutti gli animali sono stati messi insieme a formare un nuovo e più ampio gruppo sociale. Come accade in tutti i mammiferi, i piccoli di macachi reso dipendono dalla madre per quanto riguarda la nutrizione e la termoregolazione. Nei primati, tuttavia, le madri hanno anche un ruolo fondamentale nel plasmare e modellare lo sviluppo del sistema nervoso centrale e nel favorire lo sviluppo della stabilità emotiva. È stato dimostrato che in assenza dei conspecifici adulti i piccoli macachi si trasformano in adulti cronicamente paurosi ed emotivamente instabili (78), e che la crescita in un ambiente di tipo PR esercita un effetto profondamente avverso sullo sviluppo dell'asse HPA e del sistema serotoninergico. Gli individui PR sviluppano un'ansia cronica, che potremmo definire "di tratto", come indicato da parametri comportamentali quali, per esempio, l'incremento del *clinging*, un'elevata espressione dei comportamenti autodiretti e una ridotta espressione dei comportamenti ludici (81). Essi mostrano anche un incremento dell'attività dell'asse HPA, come indicato dagli elevati livelli di base di cortisolo che fanno registrare nei primi mesi di vita, nonché dal maggiore innalzamento dei livelli di cortisolo e CRH con cui, da adolescenti, rispondono allo stress da separazione sociale (81). Inoltre, Higley *et al.* (77) hanno dimostrato che gli elevati livelli di ansia osservati nelle scimmie PR erano positivamente correlati all'assunzione di alcol, e che una volta adolescenti questi individui consumavano spontaneamente maggiori quantitativi di alcol rispetto ai conspecifici del gruppo MR (77-79, 82). È anche interessante notare come le scimmie PR facessero registrare livelli inferiori di metaboliti della CSF 5-HIAA: tutti questi parametri risultano positivamente correlati con il quantitativo di alcol consumato (77). Nel loro complesso, questi dati indicano che nei primati non umani lo stress postnatale precoce è in grado di influenzare lo sviluppo del sistema serotoninergico cerebrale e dell'asse HPA, predisponendo inoltre l'individuo a un eccessivo consumo di alcol nell'adolescenza.

Polimorfismi del trasportatore della serotonina e vulnerabilità all'assunzione di alcol

Gli studi condotti sui gemelli e sui bambini adottati indicano che il corredo genetico ha un ruolo di primo piano nel favorire lo sviluppo di problemi legati all'alcol (83-86). Per far luce su come le

variabili ambientali modulino questi effetti genetici, sono state utilizzate nel macaco reso la modificazione sperimentale delle condizioni di crescita e l'analisi del pedigree. Tra i fattori genetici che si ipotizzano coinvolti nella determinazione della suscettibilità individuale all'alcolismo e all'abuso di sostanze vi è un polimorfismo del sistema neurochimico della serotonina. In particolare, è stato dimostrato che la variante allelica corta (s, short) del promotore del gene trasportatore della serotonina (5-HTTLPR) è associata a una ridotta trascrizione rispetto alla variante lunga (l, long) (87), e dunque a una ridotta funzione serotoninergica (88, 89). Recentemente, l'interazione tra geni e ambiente è stata studiata nei macachi reso, ed è stato rilevato che, nell'adolescenza, gli individui PR portatori della variante allelica corta (rh5-HTTLPR) hanno una minore concentrazione di CSF 5-HIAA e una maggiore preferenza per l'alcol (anche a livelli tossici) rispetto sia agli individui MR sia agli altri individui PR omozigoti per la variante allelica lunga (90-92). Tale variante sembra dunque capace di esercitare un importante effetto protettivo rispetto alle possibili conseguenze a lungo termine di condizioni ambientali precoci avverse.

Conclusioni

Come schematicamente rappresentato nella Figura 1, abbiamo discusso i risultati di alcune ricerche sperimentali, condotte in ratti e primati non umani, che dimostrano come l'esposizione precoce ad alcol e la modificazione dell'ambiente perinatale convergano nell'alterare – in maniera persistente e duratura nel tempo – due sistemi di regolazione centrale che nell'uomo hanno un ruolo cruciale nella patogenesi dei disturbi dell'umore: i circuiti cerebrali serotoninergici e l'asse HPA (30, 31).

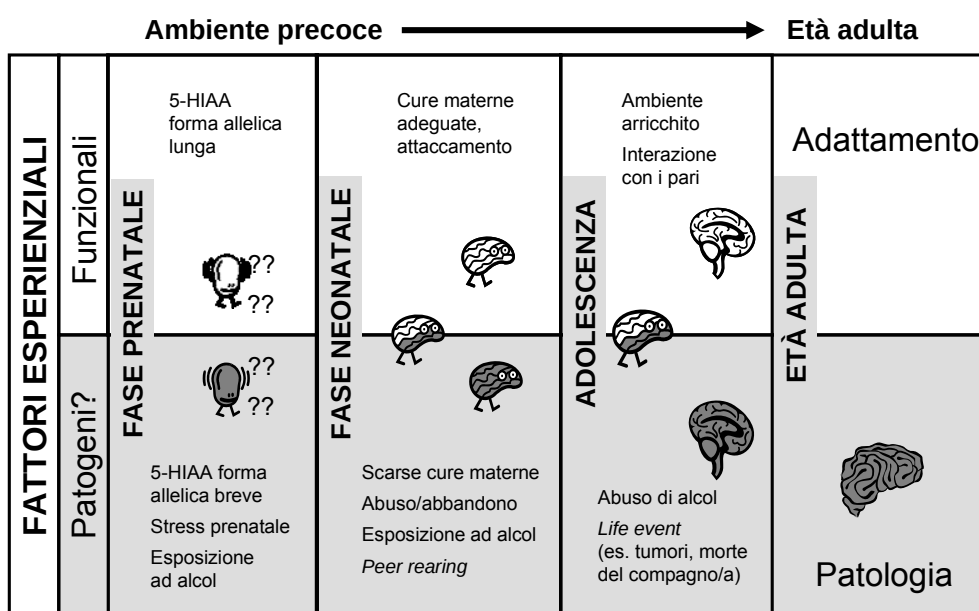


Figura 1. Esempi di eventi in grado di favorire l'insorgenza di patologie (parte in grigio) ed esempi di fattori di protezione genetici e/o ambientali che possono neutralizzare gli esiti negativi degli eventi descritti in precedenza nel cervello in fase di sviluppo

Abbiamo inoltre descritto alcuni studi che mostrano come il verificarsi nel corso dello sviluppo di eventi di diversa natura sia in grado da un lato di predisporre l'individuo allo sviluppo di disturbi dell'umore in fasi successive della vita, e dall'altro di determinarne lo specifico fenotipo "d'arrivo" interagendo con altri fattori. Riteniamo molto importante sottolineare il fatto che, se è vero che una specifica predisposizione (genetica e/o ambientale) può risultare predittiva di un esito negativo, è altrettanto vero che eventi o interventi ambientali situati nelle prime fasi evolutive possono riuscire a "controbilanciare" e dunque a ostacolare lo sviluppo del fenotipo "deviante" atteso (39).

Pur non essendo direttamente estrapolabili all'uomo, i risultati ottenuti grazie all'utilizzo di modelli animali possono rivelarsi utili ai fini di una migliore comprensione della patogenesi dei disturbi neuropsichiatrici legati al verificarsi di condizioni ambientali avverse in fasi evolutive precoci, e forse contribuire a definire meglio le potenziali strategie terapeutiche.

Ringraziamenti

Questo progetto è stato supportato dal grant "Behavioral and physiological effects of psychoactive agents as a function of socio-environmental factors and perinatal stress (SPRE6)" della Presidenza del Consiglio dei Ministri, e dal programma di collaborazione ISS-NIH "Implication of auto-antibodies to neuro-receptor 3 fragments in etiology of compulsive behaviour and drug addiction (0F14)".

Bibliografia

1. Bateson P, Barker D, Clutton-Brock T, *et al.* Developmental plasticity and human health. *Nature* 2004;430(6998):419-21.
2. Laviola G, Terranova ML. The developmental psychobiology of behavioural plasticity in mice: the role of social experiences in the family unit. *Neurosci Biobehav Rev* 1998;23(2):197-213.
3. Meaney MJ. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:1161-92.
4. Sapolsky RM. The importance of a well-groomed child. *Science* 1997;277(5332):1620-1.
5. Grossman AW, Churchill JD, McKinney BC, Kodish IM, Otte SL, Greenough WT. Experience effects on brain development: possible contributions to psychopathology. *J Child Psychol Psychiatry* 2003;44(1):33-63.
6. Heim C, Nemeroff CB. The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. *Biol Psychiatry* 1999;46(11):1509-22.
7. Heim C, Newport DJ, Heit S, *et al.* Pituitary-adrenal and autonomic responses to stress in women after sexual and physical abuse in childhood. *Jama* 2000;284(5):592-7.
8. Kelly SJ, Day N, Streissguth AP. Effects of prenatal alcohol exposure on social behavior in humans and other species. *Neurotoxicol Teratol* 2000;22(2):143-9.
9. Floyd RL, O'Connor M J, Sokol RJ, Bertrand J, Cordero JF. Recognition and Prevention of Fetal Alcohol Syndrome. *Obstet Gynecol* 2005;106(5):1059-64.
10. Chen WJ, Maier SE, Parnell SE, West JR. Alcohol and the developing brain: neuroanatomical studies. *Alcohol Res Health* 2003;27(2):174-80.
11. Riley EP, McGee CL. Fetal alcohol spectrum disorders: an overview with emphasis on changes in brain and behavior. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005;230(6):357-65.
12. Sari Y, Zhou FC. Prenatal alcohol exposure causes long-term serotonin neuron deficit in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28(6):941-8.

13. Tajuddin NF, Druse MJ. In utero ethanol exposure decreased the density of serotonin neurons. Maternal ipsapirone treatment exerted a protective effect. *Brain Res Dev Brain Res* 1999;117(1):91-7.
14. Zafar H, Shelat SG, Redei E, Tejani-Butt S. Fetal alcohol exposure alters serotonin transporter sites in rat brain. *Brain Res* 2000;856(1-2):184-92.
15. Zhou FC, Sari Y, Powrozek TA. Fetal alcohol exposure reduces serotonin innervation and compromises development of the forebrain along the serotonergic pathway. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29(1):141-9.
16. Druse MJ, Tajuddin N, Kuo A, Connerty M. Effects of in utero ethanol exposure on the developing dopaminergic system in rats. *J Neurosci Res* 1990;27(2):233-40.
17. Farr KL, Montano CY, Paxton LL, Savage DD. Prenatal ethanol exposure decreases hippocampal 3H-vinylidene kainic acid binding in 45-day-old rats. *Neurotoxicol Teratol* 1988;10(6):563-8.
18. Rawat AK. Development of histaminergic pathways in brain as influenced by maternal alcoholism. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1980;27(1):91-103.
19. Detering N, Collins RM Jr., Hawkins RL, Ozand PT, Karahasan A. Comparative effects of ethanol and malnutrition on the development of catecholamine neurons: changes in norepinephrine turnover. *J Neurochem* 1980;34(6):1788-91.
20. Huizink AC, Mulder EJ. Maternal smoking, drinking or cannabis use during pregnancy and neurobehavioral and cognitive functioning in human offspring. *Neurosci Biobehav Rev* 2005.
21. Roebuck TM, Mattson SN, Riley EP. Behavioral and psychosocial profiles of alcohol-exposed children. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23(6):1070-6.
22. Spear NE, Molina JC. Fetal or infantile exposure to ethanol promotes ethanol ingestion in adolescence and adulthood: a theoretical review. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29(6):909-29.
23. Linnoila M, Virkkunen M, George T, et al. Serotonin, violent behavior and alcohol. *EXS* 1994;71:155-63.
24. Gerald MS, Higley JD. Evolutionary underpinnings of excessive alcohol consumption. *Addiction* 2002;97(4):415-25.
25. Limson R, Goldman D, Roy A, et al. Personality and cerebrospinal fluid monoamine metabolites in alcoholics and controls. *Arch Gen Psychiatry* 1991;48(5):437-41.
26. Robinson TE, Berridge KC. Addiction. *Annu Rev Psychol* 2003;54:25-53.
27. Zhang X, Sliwowska JH, Weinberg J. Prenatal alcohol exposure and fetal programming: effects on neuroendocrine and immune function. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005;230(6):376-88.
28. De Bellis MD. Developmental traumatology: a contributory mechanism for alcohol and substance use disorders. *Psychoneuroendocrinology* 2002;27(1-2):155-70.
29. Gordon HW. Early environmental stress and biological vulnerability to drug abuse. *Psychoneuroendocrinology* 2002;27(1-2):115-26.
30. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron* 2002;34(1):13-25.
31. Pryce CR, Ruedi-Bettschen D, Dettling AC, et al. Long-term effects of early-life environmental manipulations in rodents and primates: potential animal models in depression research. *Neurosci Biobehav Rev* 2005;29(4-5):649-74.
32. Clark DB, Lesnick L, Hegedus AM. Traumas and other adverse life events in adolescents with alcohol abuse and dependence. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997;36(12):1744-51.
33. Harlow HF, Harlow MK. The effect of rearing conditions on behavior. *Int J Psychiatry* 1965;13:43-51.

34. Levine S. Influence of psychological variables on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Eur J Pharmacol* 2000;405(1-3):149-60.
35. Morley-Fletcher S, Rea M, Maccari S, Laviola G. Environmental enrichment during adolescence reverses the effects of prenatal stress on play behaviour and HPA axis reactivity in rats. *Eur J Neurosci* 2003;18(12):3367-74.
36. Vallee M, Mayo W, Dellu F, Le Moal M, Simon H, Maccari S. Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. *J Neurosci* 1997;17(7):2626-36.
37. Vallee M, Mayo W, Maccari S, Le Moal M, Simon H. Long-term effects of prenatal stress and handling on metabolic parameters: relationship to corticosterone secretion response. *Brain Res* 1996;712(2):287-92.
38. Smith J, Prior M. Temperament and stress resilience in school-age children: a within-families study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1995;34(2):168-79.
39. Laviola G, Rea M, Morley-Fletcher S, *et al.* Beneficial effects of enriched environment on adolescent rats from stressed pregnancies. *Eur J Neurosci* 2004;20(6):1655-64.
40. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, *et al.* Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 2003;301(5631):386-9.
41. Higley JD, Linnoila M. Low central nervous system serotonergic activity is traitlike and correlates with impulsive behavior. A nonhuman primate model investigating genetic and environmental influences on neurotransmission. *Ann N Y Acad Sci* 1997;836:39-56.
42. Higley JD, Linnoila M. A nonhuman primate model of excessive alcohol intake. Personality and neurobiological parallels of type I- and type II-like alcoholism. *Recent Dev Alcohol* 1997;13:191-219.
43. Lee S, Rivier C. Gender differences in the effect of prenatal alcohol exposure on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to immune signals. *Psychoneuroendocrinology* 1996;21(2):145-55.
44. Lee S, Schmidt D, Tilders F, Rivier C. Increased activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of rats exposed to alcohol in utero: role of altered pituitary and hypothalamic function. *Mol Cell Neurosci* 2000;16(4):515-28.
45. Weinberg J, Taylor AN, Gianoulakis C. Fetal ethanol exposure: hypothalamic-pituitary-adrenal and beta-endorphin responses to repeated stress. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20(1):122-31.
46. Plotsky PM, Meaney MJ. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Brain Res Mol Brain Res* 1993;18(3):195-200.
47. Levine S, Alpert M, Lewis GW. Infantile experience and the maturation of the pituitary adrenal axis. *Science* 1957;126(3287):1347.
48. Weininger O. Physiological damage under emotional stress as a function of early experience. *Science* 1954;119(3087):285-6.
49. Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, *et al.* Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 1997;277(5332):1659-62.
50. Macri S, Mason GJ, Wurbel H. Dissociation in the effects of neonatal maternal separations on maternal care and the offspring's HPA and fear responses in rats. *Eur J Neurosci* 2004;20(4):1017-24.
51. Pryce CR, Bettschen D, Feldon J. Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. *Dev Psychobiol* 2001;38(4):239-51.

52. Ruedi-Bettschen D, Feldon J, Pryce CR. Circadian- and temperature-specific effects of early deprivation on rat maternal care and pup development: short-term markers for long-term effects? *Dev Psychobiol* 2004;45(2):59-71.
53. Weinberg J, Kim CK, Yu W. Early handling can attenuate adverse effects of fetal ethanol exposure. *Alcohol* 1995;12(4):317-27.
54. Gabriel KI, Yu W, Ellis L, Weinberg J. Postnatal handling does not attenuate hypothalamic-pituitary-adrenal hyperresponsiveness after prenatal ethanol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24(10):1566-74.
55. Hannigan JH, Armant DR. Alcohol in pregnancy and neonatal outcome. *Semin Neonatol* 2000;5(3):243-54.
56. Ogilvie KM, Rivier C. Prenatal alcohol exposure results in hyperactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the offspring: modulation by fostering at birth and postnatal handling. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21(3):424-9.
57. Schneider ML, Moore CF, Barnhart TE, *et al.* Moderate-level prenatal alcohol exposure alters striatal dopamine system function in rhesus monkeys. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29(9):1685-97.
58. Schneider ML, Moore CF, Becker EF. Timing of moderate alcohol exposure during pregnancy and neonatal outcome in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25(8):1238-45.
59. Schneider ML, Moore CF, Kraemer GW. Moderate alcohol during pregnancy: learning and behavior in adolescent rhesus monkeys. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25(9):1383-92.
60. Schneider ML, Moore CF, Kraemer GW. Moderate level alcohol during pregnancy, prenatal stress, or both and limbic-hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis response to stress in rhesus monkeys. *Child Dev* 2004;75(1):96-109.
61. Schneider ML, Moore CF, Kraemer GW, Roberts AD, DeJesus OT. The impact of prenatal stress, fetal alcohol exposure, or both on development: perspectives from a primate model. *Psychoneuroendocrinology* 2002;27(1-2):285-98.
62. Becker KL, Walton-Moss B. Detecting and addressing alcohol abuse in women. *Nurse Pract* 2001;26(10):13-6, 9-23; quiz 4-5.
63. Clark DB, Pollock N, Bukstein OG, Mezzich AC, Bromberger JT, Donovan JE. Gender and comorbid psychopathology in adolescents with alcohol dependence. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997;36(9):1195-203.
64. Johnson JL, Leff M. Children of substance abusers: overview of research findings. *Pediatrics* 1999;103(5 Pt 2):1085-99.
65. Tajuddin NF, Druse MJ. A persistent deficit of serotonin neurons in the offspring of ethanol-fed dams: protective effects of maternal ipsapirone treatment. *Brain Res Dev Brain Res* 2001;129(2):181-8.
66. Druse MJ, Kuo A, Tajuddin N. Effects of in utero ethanol exposure on the developing serotonergic system. *Alcohol Clin Exp Res* 1991;15(4):678-84.
67. Rathbun W, Druse MJ. Dopamine, serotonin, and acid metabolites in brain regions from the developing offspring of ethanol-treated rats. *J Neurochem* 1985;44(1):57-62.
68. Kaneko WM, Riley EP, Ehlers CL. Electrophysiological and behavioral findings in rats prenatally exposed to alcohol. *Alcohol* 1993;10(2):169-78.
69. Krsiak M, Elis J, Poschlova N, Masek K. Increased aggressiveness and lower brain serotonin levels in offspring of mice given alcohol during gestation. *J Stud Alcohol* 1977;38(9):1696-704.
70. Janicke B, Coper H. The effects of prenatal alcohol exposure on the behavior of rats during their life span. *J Gerontol* 1993;48(4):B156-67.

71. Winstanley CA, Dalley JW, Theobald DE, Robbins TW. Global 5-HT depletion attenuates the ability of amphetamine to decrease impulsive choice on a delay-discounting task in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2003;170(3):320-31.
72. Winstanley CA, Dalley JW, Theobald DE, Robbins TW. Fractionating impulsivity: contrasting effects of central 5-HT depletion on different measures of impulsive behavior. *Neuropsychopharmacology* 2004;29(7):1331-43.
73. Arborelius L, Hawks BW, Owens MJ, Plotsky PM, Nemeroff CB. Increased responsiveness of presumed 5-HT cells to citalopram in adult rats subjected to prolonged maternal separation relative to brief separation. *Psychopharmacology (Berl)* 2004;176(3-4):248-55.
74. Gartside SE, Johnson DA, Leitch MM, Troakes C, Ingram CD. Early life adversity programs changes in central 5-HT neuronal function in adulthood. *Eur J Neurosci* 2003;17(11):2401-8.
75. Matthews K, Dalley JW, Matthews C, Tsai TH, Robbins TW. Periodic maternal separation of neonatal rats produces region- and gender-specific effects on biogenic amine content in postmortem adult brain. *Synapse* 2001;40(1):1-10.
76. Sinha R, Fuse T, Aubin LR, O'Malley SS. Psychological stress, drug-related cues and cocaine craving. *Psychopharmacology (Berl)* 2000;152(2):140-8.
77. Higley JD, Hasert MF, Suomi SJ, Linnoila M. Nonhuman primate model of alcohol abuse: effects of early experience, personality, and stress on alcohol consumption. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88(16):7261-5.
78. Higley JD, Suomi SJ, Linnoila M. A nonhuman primate model of type II alcoholism? Part 2. Diminished social competence and excessive aggression correlates with low cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid concentrations. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20(4):643-50.
79. Higley JD, Suomi SJ, Linnoila M. A nonhuman primate model of type II excessive alcohol consumption? Part 1. Low cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid concentrations and diminished social competence correlate with excessive alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20(4):629-42.
80. Moran PB, Vuchinich S, Hall NK. Associations between types of maltreatment and substance use during adolescence. *Child Abuse Negl* 2004;28(5):565-74.
81. Fahlke C, Lorenz JG, Long J, Champoux M, Suomi SJ, Higley JD. Rearing experiences and stress-induced plasma cortisol as early risk factors for excessive alcohol consumption in nonhuman primates. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24(5):644-50.
82. Higley JD, Bennett AJ. Central nervous system serotonin and personality as variables contributing to excessive alcohol consumption in non-human primates. *Alcohol Alcohol* 1999;34(3):402-18.
83. Cutrona CE, Cadoret RJ, Suhr JA, *et al.* Interpersonal variables in the prediction of alcoholism among adoptees: evidence for gene-environment interactions. *Compr Psychiatry* 1994;35(3):171-9.
84. Heath AC, Bucholz KK, Madden PA, *et al.* Genetic and environmental contributions to alcohol dependence risk in a national twin sample: consistency of findings in women and men. *Psychol Med* 1997;27(6):1381-96.
85. Liu IC, Blacker DL, Xu R, Fitzmaurice G, Tsuang MT, Lyons MJ. Genetic and environmental contributions to age of onset of alcohol dependence symptoms in male twins. *Addiction* 2004;99(11):1403-9.
86. Nurnberger JI Jr., Wiegand R, Bucholz K, *et al.* A family study of alcohol dependence: coaggregation of multiple disorders in relatives of alcohol-dependent probands. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61(12):1246-56.
87. Lesch KP, Bengel D, Heils A, *et al.* Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996;274(5292):1527-31.

88. Hallikainen T, Saito T, Lachman HM, *et al.* Association between low activity serotonin transporter promoter genotype and early onset alcoholism with habitual impulsive violent behavior. *Mol Psychiatry* 1999;4(4):385-8.
89. Sander T, Harms H, Dufeu P, *et al.* Serotonin transporter gene variants in alcohol-dependent subjects with dissocial personality disorder. *Biol Psychiatry* 1998;43(12):908-12.
90. Barr CS, Newman TK, Becker ML, *et al.* Serotonin transporter gene variation is associated with alcohol sensitivity in rhesus macaques exposed to early-life stress. *Alcohol Clin Exp Res* 2003;27(5):812-7.
91. Barr CS, Schwandt ML, Newman TK, Higley JD. The use of adolescent nonhuman primates to model human alcohol intake: neurobiological, genetic, and psychological variables. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1021:221-33.
92. Bennett AJ, Lesch KP, Heils A, *et al.* Early experience and serotonin transporter gene variation interact to influence primate CNS function. *Mol Psychiatry* 2002;7(1):118-22.

ESPOSIZIONE PRENATALE AD ALCOL E AUMENTO DELLA PROPENSIONE AL CONSUMO IN FASI EVOLUTIVE SUCCESSIVE: STUDI SU ANIMALI*

M. Gabriela Chotro (a), Carlos Arias (a), Giovanni Laviola (b)

(a) *Facoltà di Psicologia, Università del País Vasco (UPV/EHU), San Sebastián, Spagna*

(b) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia*

Nei primi anni Settanta, i risultati di diversi studi clinici hanno indicato una maggiore prevalenza dell'alcolismo tra i genitori dei bambini iperattivi, e un maggior numero di casi di abuso di alcol nei soggetti adulti che avevano sofferto di disturbi da iperattività durante l'infanzia (1-3). Benché venisse preso in considerazione anche il possibile ruolo di fattori ambientali quali l'esposizione ad alcol durante la gestazione, per lo più questi dati venivano interpretati facendo l'ipotesi di una trasmissione genetica di tali "disturbi psichiatrici" (4). A causa dell'impossibilità di isolare e analizzare le interazioni tra i diversi fattori coinvolti nella determinazione delle conseguenze dell'esposizione prenatale ad alcol nell'ambito di uno studio clinico, ci si è allora rivolti con particolare interesse alla sperimentazione animale. La presente rassegna è dedicata soprattutto alle ricerche che si sono occupate di valutare gli effetti dell'esposizione in gravidanza sul successivo consumo spontaneo di alcol da parte della prole.

Il primo lavoro importante in questo senso, pubblicato da Bond e DiGiusto (5), mostrava che i figli di femmine di ratto cui era stato somministrato etanolo nel corso della gravidanza erano maggiormente attivi e assumevano spontaneamente maggiori quantità di questa sostanza rispetto ai soggetti di controllo. Tali risultati, così come quelli degli studi clinici da cui si era partiti, resero necessario domandarsi se fosse l'iperattività a predisporre all'abuso di alcol o se, viceversa, fosse l'esposizione prenatale ad alcol a predisporre sia all'alcolismo in età adulta sia all'iperattività. Benché le conclusioni di questo primo studio non disconoscessero il ruolo dell'interazione tra fattori genetici, familiari e sociali, esse evidenziavano chiaramente l'importanza degli effetti esercitati sull'iperattività e sul consumo di alcol dall'esposizione a questa sostanza nel corso dello sviluppo fetale.

Le ricerche, soprattutto di tipo teratologico, si sono da allora in poi susseguite e hanno ampiamente confermato queste prime osservazioni, in differenti ceppi di ratto e di topo, utilizzando differenti soluzioni (etanolo, birra, vino) somministrate per periodi gestazionali più o meno prolungati, e misurandone gli effetti in età infantile come in età adolescenziale e in età adulta; nell'ultimo decennio, si sono dedicate anche a comprendere che cosa il feto apprenda sull'etanolo in seguito all'esposizione.

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Chotro MG, Arias C, Laviola G. Increased ethanol intake after ethanol exposure: studies with animals. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):181-91.

Esposizione prenatale e propensione successiva al consumo

Periodo d'esposizione

La maggior parte dei risultati sembra indicare che un'esposizione a etanolo nel corso della gestazione sia sufficiente a incrementare il futuro consumo della stessa sostanza (6-18). Negli studi in cui la somministrazione è proseguita, dopo la nascita, anche nel periodo dell'allattamento, gli effetti erano o comunque presenti (19-20) o, in alcuni casi, maggiori. Tali dati corroborano i risultati recentemente ottenuti da uno studio clinico longitudinale, in cui è stata evidenziata una chiara relazione tra l'esposizione prenatale a modesti quantitativi di alcol e la presenza di problematiche connesse all'abuso di alcol in adolescenti di 14 anni (21) e in giovani adulti di 21 (22). Da questo studio è emerso che l'esposizione prenatale a etanolo costituisce un predittore migliore – di eventuali problemi successivi connessi all'alcol – rispetto ad altri fattori, come la storia familiare di alcolismo, l'esposizione a nicotina e variabili ambientali quali l'abuso di altre sostanze da parte dei genitori.

Ma una domanda importante è: esiste una fase prenatale in cui il feto è maggiormente sensibile agli effetti esercitati dall'etanolo sul successivo consumo? In generale, un'esposizione nel corso delle ultime due settimane di gestazione sembra essere sufficiente a indurre un incremento del consumo successivo di alcol. Tuttavia, gli studi in cui l'etanolo è stato somministrato in particolari sotto-fasi del periodo prenatale hanno permesso di identificare, nel ratto, due momenti particolarmente importanti in questo senso. Uno di essi è l'ottavo giorno di gestazione (GD 8, *Gestational Day*): la somministrazione di due dosi di etanolo alla madre in corrispondenza di questo giorno sembra essere da sola sufficiente a incrementare l'assunzione della stessa sostanza da parte della prole adulta. È probabile che ciò sia riconducibile al fatto che il GD 8 corrisponde alla fase della gastrulazione, uno stadio embrionale che potrebbe essere particolarmente suscettibile agli effetti teratogeni fisici dell'etanolo (23). L'altro periodo critico è quello degli ultimissimi giorni di gestazione (GD 17-20): a produrre conseguenze significative sul consumo infantile e adolescente è sufficiente, in corrispondenza di questa fase, anche la somministrazione di un basso dosaggio. Tale criticità potrebbe essere riconducibile al fatto che il feto è esposto non soltanto agli effetti tossici dell'etanolo, ma anche agli aspetti chemio-sensoriali associati (24).

Dosaggio

Un'altra domanda importante è la seguente: esiste una soglia, ovvero un quantitativo di etanolo, al di sotto del quale gli effetti sul consumo spontaneo successivo non vengono osservati? Tutte le ricerche di cui abbiamo parlato hanno usato dosi di etanolo la cui gamma, pur esprimendo una notevole variabilità, andava comunque dal basso al moderato. Per esempio, gli effetti sul consumo spontaneo sono stati ottenuti in seguito a sole 4 somministrazioni intragastriche di 1 g/kg o in seguito a un consumo materno giornaliero pari a 16,5 g/kg al giorno, ma anche a 10,5 o 7,6 g/kg, per l'intera durata della gravidanza (10-11). Gli studi che, al contrario, non hanno riscontrato effetti sul consumo spontaneo successivo della prole, sono stati condotti utilizzando una gamma di dosaggi del tutto analoghi (25-26), e dunque non è alla quantità di etanolo assunta dal feto che si può attribuire la presenza o l'assenza degli effetti dell'esposizione prenatale. Tuttavia, poiché le conseguenze di un'esposizione a dosi di etanolo inferiori a 1 g/kg non sono state ancora indagate, è difficile trarre qualsiasi conclusione in termini di soglia.

Fattori genetici

Diversi studi clinici indicano che un ruolo fondamentale, nella determinazione della suscettibilità individuale agli effetti teratogeni dell'alcol, potrebbe essere giocato dalle differenze genetiche (27-28), e ciò è stato confermato da studi condotti su animali dal punto di vista tanto morfologico (29 -31) quanto neurocomportamentale (32-33). In particolare, Hilakivi *et al.* (11) hanno mostrato che l'entità dell'incremento del consumo spontaneo di etanolo in seguito a esposizione prenatale differiva notevolmente in due ceppi di ratti appositamente selezionati in base alla loro preferenza per l'alcol. Mentre i ratti ANA (*Alcohol-Avoiding*, ovvero quelli che spontaneamente tendevano a evitare l'alcol) incrementavano il loro consumo in caso di esposizione prenatale, questo non si verificava nei ratti AA (*Alcohol-Preferring*, ovvero quelli che mostravano una preferenza per l'alcol). Dunque, l'esposizione prenatale a etanolo produce un incremento successivo del consumo spontaneo in ratti che sono stati selezionati geneticamente per una scarsa propensione al consumo spontaneo stesso.

Genere sessuale

Sull'espressione degli effetti teratogeni dell'alcol potrebbe incidere il genere sessuale di appartenenza. È difficile trarre conclusioni univoche a partire dagli studi passati in rassegna nel presente lavoro, perché molti di essi hanno esaminato esclusivamente maschi o esclusivamente femmine, e in molti di quelli che utilizzavano animali di entrambi i sessi questo fattore non è stato preso in considerazione al momento di analizzare i dati (10-11, 16, 34). Nei pochi studi utili in tal senso, è stato generalmente osservato che il genere non influenzava il consumo di alcol a seconda del trattamento prenatale, benché in alcuni casi sia stato riscontrato che le femmine tendevano a mostrare – in generale – un consumo di etanolo maggiore rispetto ai maschi (35). C'è un solo studio dal quale risulta che l'effetto dell'esposizione prenatale sul consumo successivo è modulato dal genere: in un gruppo di ratti adolescenti, a mostrare un maggiore consumo di alcol erano le femmine che erano state esposte a 1 g/kg, ma non a 2 g/kg, di etanolo, mentre per i maschi valeva l'opposto (8).

Età alla valutazione

Un altro fattore importante, per quanto riguarda il riscontro o meno delle conseguenze dell'esposizione prenatale, è costituito dall'età dei soggetti al momento del test. Varie ricerche indicano, infatti, che alcune delle alterazioni associate all'esposizione prenatale ad alcol sono tanto più facilmente osservabili quanto più gli animali sono giovani. Per esempio, l'iperattività indotta è stata riscontrata soprattutto prima dei 70 giorni di età (36), e Holloway e Tapp hanno trovato effetti significativi nel periodo dell'adolescenza (28 giorni) ma non nell'età adulta (70 giorni). C'è uno studio in cui l'incremento del consumo spontaneo è stato osservato quando la prole è stata esaminata dopo i 170 giorni di età (20), ma si tratta di un caso particolare, in cui il trattamento precoce con etanolo era stato prolungato per l'intera durata dell'allattamento, ovvero fino al venticinquestimo giorno postnatale.

Stress

Sembra che lo stress percepito dal soggetto al momento del test possa influire sulla manifestazione degli effetti dell'esposizione prenatale ad alcol sul consumo successivo. Infatti, se gli animali vengono esaminati in presenza di fattori di stress o di difficoltà aggiuntive, è

possibile tornare a osservare effetti teratogenici anche nei soggetti più maturi, che in condizioni normali hanno smesso di manifestarli probabilmente grazie all'intervento di meccanismi compensatori (37-38).

Ipotesi sui meccanismi

Suscettibilità agli effetti teratogeni

Come già accennavato, sembra che alcuni fattori genetici possano essere almeno in parte responsabili dei diversi gradi di suscettibilità mostrata dai differenti individui agli effetti teratogeni dell'etanolo (39-40). Le differenze tra i ratti ANA e AA (11), descritte nel paragrafo precedente, sono state messe in relazione a differenze tra i due ceppi nel metabolismo dell'etanolo (41). I ratti ANA mostrano, rispetto agli AA, un maggiore accumulo di acetaldeide nel sangue (42). Benché l'attività dell'enzima ADH (alcol-deidrogenasi) sia pressoché nulla nel feto (43-44), una parte dell'acetaldeide prodotta dal metabolismo epatico materno attraversa la placenta e ne raggiunge i tessuti (45). Tuttavia, perché ciò avvenga, è necessario che la concentrazione di acetaldeide nel sangue materno sia piuttosto elevata (46). Diversi studi, sia umani (47) sia animali (48-49), hanno mostrato che gli effetti tossici di questo metabolita sono alla base di uno dei meccanismi con cui l'esposizione prenatale ad alcol interferisce con lo sviluppo normale del feto. Benché gli effetti teratogeni dell'esposizione ad alcol in fasi evolutive precoci siano stati ampiamente studiati, sono pochissimi i dati che li mettono in relazione diretta con l'incremento del consumo successivo di alcol. Secondo Riley *et al.* (50), tale incremento potrebbe essere riconducibile a una ridotta capacità di inibizione delle risposte.

Alterazioni neurochimiche

Oltre all'effetto di incremento del consumo, Hilakivi (10) ha riscontrato nei soggetti prenatalmente esposti a etanolo anche alcune modificazioni della fase di sonno attivo. Secondo questo autore, i meccanismi mediante i quali l'alcol *in utero* produce l'incremento del consumo adulto potrebbero essere costituiti da alterazioni del ciclo sonno-veglia nella fase immediatamente postnatale e dalle possibili modificazioni a lungo termine dei sistemi monoaminergici che le sottendono. Diversi dati confermano che il consumo spontaneo di etanolo è regolato, almeno in parte, proprio da questi circuiti neurochimici, e in particolare da quello dopaminergico (51-52). Il sistema dopaminergico mesencefalico sembra avere un ruolo importante nell'acquisizione delle abitudini relative al consumo di alcol (53), e ne è stato ampiamente dimostrato il coinvolgimento diretto nella regolazione delle proprietà rinforzanti della sostanza (54-55). Più specificamente, è stato ipotizzato che il progressivo aumento dell'auto-somministrazione possa essere messo in relazione con il fenomeno della sensibilizzazione comportamentale, in cui tale circuito è implicato (56-57). D'altro canto, è stato osservato che l'esposizione prenatale ad alcol influenza a sua volta lo sviluppo del sistema dopaminergico (58-60). Queste alterazioni sono state messe in relazione con l'iperattività indotta dall'etanolo prenatale (61). Nei ratti esposti prenatalmente sono state osservate da una lato una maggiore risposta agli agonisti dopaminergici (61) e dall'altro una maggiore sensibilità agli effetti stimolanti e rinforzanti dell'etanolo (62-63), assieme a una risposta invece ridotta alle sue proprietà tossiche e avversive. Come già suggerito da Reyes *et al.* (64), è molto probabile che l'interazione tra tutti questi fattori abbia un ruolo importante nel determinare l'incremento del consumo di alcol. L'esposizione prenatale a etanolo sembra anche in grado di modificare

altri sistemi neurochimici, i quali a loro volta – direttamente o indirettamente – possono modulare gli effetti incondizionati dell'alcol e il suo consumo spontaneo. In seguito a tale trattamento precoce sono stati osservati, per esempio, effetti a lungo termine sulla regolazione dell'espressione dei recettori GABAA nella corteccia cerebrale (65), riduzione del numero dei neuroni serotoninergici (66), e alterazione del normale sviluppo del sistema oppioide (67). Tutti questi sistemi sono coinvolti – direttamente o indirettamente – nella regolazione degli aspetti motivazionali dell'ingestione volontaria di alcol.

Alterazioni della risposta allo stress

A spiegare l'associazione tra esposizione prenatale e consumo successivo potrebbero contribuire anche alterazioni della risposta allo stress. Il legame tra stress e assunzione di alcol è stato dimostrato da studi sia umani (68) sia animali (69-71), e sembra essere mediato da svariati sistemi ormonali e neurochimici, tra cui l'asse HPA (*Hypothalamic-Pituitary-Adrenal*) e le beta-endorfine ipofisarie. L'esposizione prenatale a etanolo modifica i livelli di ormone adrenocorticotropo (ACTH, *AdrenoCorticoTropin Hormone*) e di corticosterone (72-75), come anche di beta-endorfine (76), con cui il soggetto risponde a vari tipi di situazioni stressanti. In uno studio di Nelson *et al.* del 1983, l'effetto di incremento del consumo dovuto all'esposizione prenatale è risultato significativo soltanto in seguito a stress cronico. Inoltre, gli stessi autori hanno riscontrato che l'esposizione prenatale era in grado di intensificare l'analgesia mediata da oppioidi con la quale i ratti reagivano alla somministrazione di shock elettrici. Essi ipotizzano dunque che lo stress cronico possa provocare perturbazioni del sistema oppioide che sono più pronunciate nei soggetti che sono stati prenatalmente esposti ad alcol, e in tal modo contribuire al fenomeno dell'incremento del consumo spontaneo di etanolo. In relazione a questo, è interessante notare come l'isolamento sociale costituisca per i ratti, e specialmente per i ratti adolescenti, un importante fattore di stress (77), e come in tutti gli studi esaminati nella presente rassegna i soggetti siano stati testati in condizioni appunto di isolamento.

Apprendimento chemiosensoriale prenatale

Nella maggior parte degli studi che abbiamo passato in rassegna, gli effetti esercitati dall'esposizione prenatale ad alcol sulla propensione ad assumere spontaneamente questa sostanza in fasi evolutive successive è stata ricondotta a fattori genetici e/o agli effetti teratogeni dell'etanolo sui diversi sistemi neuroendocrini. Esiste tuttavia un'altra possibilità, ed è quella della percezione da parte del feto, *in utero*, delle caratteristiche chemiosensoriali dell'etanolo. Vi sono studi, condotti sull'uomo, che hanno dimostrato come il feto sia in grado di identificare alcuni stimoli chemiosensoriali all'interno del liquido amniotico (78), e come tale identificazione possa modificare la risposta che darà agli stessi stimoli dopo la nascita (79). Ebbene, uno di questi stimoli è proprio l'odore dell'etanolo (80). Analogamente, in alcune ricerche condotte su animali, è stata messa in luce una relazione diretta tra la percezione delle caratteristiche chemiosensoriali dell'etanolo da parte del feto e le successive risposte a tale stimolo da parte del neonato (81, 93). Nel ratto, quando viene somministrato alla madre gravida, l'etanolo arriva rapidamente ai tessuti fetali, e raggiunge in quella sede livelli paragonabili a quelli misurabili nel sangue materno (82). L'alcol si accumula inoltre nel liquido amniotico ed è stato dimostrato che, un'ora dopo la somministrazione di una dose relativamente bassa alla madre, la sua concentrazione vi raggiunge livelli tali da essere percepibile dal feto (83). Quest'ultimo è dunque esposto tanto agli effetti tossici quanto alle proprietà chemiosensoriali dell'etanolo. È stato inoltre dimostrato che, a partire dal GD 17, il feto del ratto è in grado di

acquisire e manifestare forme rudimentali di apprendimento non associativo e associativo (84 - 90). Alla luce di tutto questo, sembra dunque ragionevole supporre che l'ingestione di alcol da parte della madre possa condurre il feto ad apprendere qualcosa su questa sostanza. Alcuni studi, finalizzati a verificare la validità di tale ipotesi, hanno scoperto che un'esposizione acuta a etanolo nell'ultima fase della gestazione (1-2 g/kg, GD 17-20) è associata a un significativo incremento sia dell'ingestione sia della gradevolezza percepita della sostanza in età infantile e adolescenziale. Benché un'esposizione acuta di questo tipo nella fase immediatamente prenatale possa produrre effetti teratogeni di entità minima (91-92), la maggiore preferenza per l'alcol era qui chiaramente legata alla percezione delle caratteristiche chemiosensoriali della sostanza da parte del feto. Esperimenti più recenti hanno dimostrato che, in questi casi, l'incremento del consumo di etanolo è riconducibile a una preferenza condizionata acquisita *in utero* grazie all'associazione, mediata dal sistema oppioide, tra le proprietà chemiosensoriali e quelle rinforzanti dell'alcol (6, 8).

Ma com'è possibile che dosi di etanolo che hanno indiscusse proprietà avversive nei ratti giovani e adulti (93-99) risultino invece gradite nella fase prenatale? Vi sono diverse possibilità. Innanzitutto, può darsi che il feto risenta meno delle proprietà avversive poiché è esposto a livelli minori di acetaldeide periferica, che di tali proprietà è almeno in parte responsabile (100). Questi livelli minori sarebbero a loro volta riconducibili da un lato all'incapacità pressoché totale del feto di metabolizzare l'etanolo, e dall'altro all'azione protettiva della placenta (101). Una seconda possibilità, che non esclude la prima, fa riferimento all'importante ruolo che nelle fasi evolutive precoci è giocato dal sistema oppioide nell'apprendimento delle preferenze per i sapori e gli odori (102). Vi è, infatti, un periodo sensibile, che termina al nono giorno postnatale (103), durante il quale i piccoli tendono ad acquisire le preferenze per gli odori con particolare facilità e anche in presenza di uno stimolo incondizionato di natura avversiva (104-105). È probabile che tale periodo sensibile comprenda anche l'ultimissima fase prenatale. Infatti, come già accennato, è stato osservato che negli ultimi giorni di gestazione il feto acquisisce facilmente preferenze di tipo chemiosensoriale, e nell'apprendimento che ha luogo in questa fase è coinvolto il sistema oppioide (106). In altri termini, se si considerano il ruolo giocato dal sistema oppioide in questa fase evolutiva, il fatto che le proprietà rinforzanti dell'alcol sono mediate proprio da tale sistema neurochimico (107), e la ridotta valenza avversiva dell'etanolo per il feto, sembra plausibile ipotizzare che un'intossicazione da questa sostanza possa essere percepita dal feto come un rinforzo positivo (108). È difficile calcolare il peso specifico che una risposta appresa di questo genere può avere nella determinazione dell'incremento del consumo di alcol in seguito a esposizione prenatale, né conosciamo esattamente le sue interazioni con gli effetti teratologici dell'etanolo (109). Tuttavia, le evidenze sperimentali di cui siamo in possesso supportano l'ipotesi che le preferenze condizionate diano un loro importante contributo.

Ringraziamenti

Supporto finanziario: grant MEC (SEJ2005-02495/PSIC) e grant Governo basco (IT-276-07) a M.G.C.; postdoctoral fellowships MEC e CONICET a C.A.

Bibliografia

1. Cantwell DP Psychiatric illness in the families of hyperactive children. *Arch Gen Psychiatry* 1972;27:414-7.
2. Goodwin DW, Schulsinger F, Hermansen L, Guze SB, Winokur G Alcoholism and the hyperactive child syndrome. *J Nerv Ment Dis* 1975;160:349-53.

3. Morrison JR, Stewart MA. A family study of the hyperactive child syndrome. *Biol Psychiatry* 1971;3:189-95.
4. Morrison JR, Stewart MA. The psychiatric status of the legal families of adopted hyperactive children. *Arch Gen Psychiatry* 1973;28:888-91.
5. Bond NW, DiGiusto EL. Effects of prenatal alcohol consumption on open-field behaviour and alcohol preference in rats. *Psychopharmacologia* 1976;46:163-5.
6. Arias C, Chotro MG. Increased palatability of ethanol after prenatal ethanol exposure is mediated by the opioid system. *Pharmacol Biochem Behav* 2005;82:434-42.
7. Arias C, Chotro MG. Increased preference for ethanol in the infant rat after prenatal ethanol exposure, expressed on intake and taste reactivity tests. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:337-46.
8. Chotro MG, Arias C. Prenatal exposure to ethanol increases ethanol consumption: a conditioned response? *Alcohol* 2003;30:19-28.
9. Dominguez HD, Lopez MF, Molina JC. Neonatal responsiveness to alcohol odor and infant alcohol intake as a function of alcohol experience during late gestation. *Alcohol* 1998;16:109-17.
10. Hilakivi L. Effects of prenatal alcohol exposure on neonatal sleep-wake behaviour and adult alcohol consumption in rats. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1986;59:36-42.
11. Hilakivi L, Tuomisto L, Hilakivi I, Kiiianmaa K, Hellevuo K, Hyytia P. Effect of prenatal alcohol exposure on neonatal sleep-wake behaviour and adult alcohol consumption in the AA and ANA rat lines. *Alcohol Alcohol* 1987;22:231-40.
12. Holloway JA, Tapp WN. Effects of prenatal and/or early postnatal exposure to ethanol on offspring of rats. *Alcohol Technical Reports* 1978;7:108-15.
13. Lancaster FE, Spiegel KS. Voluntary beer drinking by pregnant rats: offspring sensitivity to ethanol and preference for beer. *Alcohol* 1989;6:207-17.
14. Molina JC, Chotro MG, Dominguez HD. Fetal alcohol learning derived from ethanol contamination of the prenatal environment. In: Lecanuet JP, Fifer WP, Krasnegor N, Smotherman WP (Ed.). *Fetal development: a psychobiological perspective*. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates; 1995. p. 419-38.
15. Molina JC, Hoffmann H, Spear LP, Spear NE. Sensorimotor maturation and alcohol responsiveness in rats prenatally exposed to alcohol during gestational day 8. *Neurotoxicol Teratol* 1987;9:121-8.
16. Nash SM, Weaver MS, Cowen CL, Davis SF, Tramill JL. Taste preference of the adult rat as a function of prenatal exposure to ethanol. *J Gen Psychol* 1984;110:129-35.
17. Nelson LR, Lewis JW, Liebeskind JC, Branch BJ, Taylor AN. Stress induced changes in ethanol consumption in adult rats exposed to ethanol in utero. *Proc West Pharmacol Soc* 1983;26:205-9.
18. Randall CL, Hughes SS, Williams CK, Anton RF. Effect of prenatal alcohol exposure on consumption of alcohol and alcohol-induced sleep time in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1983;18 Suppl 1:325-9.
19. Buckalew LW. Alcohol preference, housing effect and bottle position effect in maternally-exposed offspring. *Addict Behav* 1979;4:275-7.
20. Phillips DS, Stainbrook GL. Effects of early alcohol exposure upon adult learning ability and taste preference. *Physiological Psychology* 1976;4:473-5.
21. Baer JS, Barr HM, Bookstein FL, Sampson PD, Streissguth AP. Prenatal alcohol exposure and family history of alcoholism in the etiology of adolescent alcohol problems. *J Stud Alcohol* 1998;59:533-43.
22. Baer JS, Sampson PD, Barr HM, Connor PD, Streissguth AP. A 21-year longitudinal analysis of the effects of prenatal alcohol exposure on young adult drinking. *Arch Gen Psychiatry* 2003;60:377-85.

23. Sulik KK, Johnston MC Sequence of developmental alterations following acute ethanol exposure in mice: craniofacial features of the fetal alcohol syndrome. *Am J Anat* 1983;166:257-69.
24. Dominguez HD, Lopez MF, Chotro MG, Molina JC Perinatal responsiveness to alcohol's chemosensory cues as a function of prenatal alcohol administration during gestational days 17-20 in the rat. *Neurobiol Learn Mem* 1996;65:103-12.
25. Abel EL, York JL. Absence of effect of prenatal ethanol on adult emotionality and ethanol consumption in rats. *J Stud Alcohol* 1979;40:547-53.
26. Reyes E, Garcia KD, Jones BC. Effects of the maternal consumption of alcohol on alcohol selection in rats. *Alcohol* 1985;2:323-6.
27. Riikonen RS. Difference in susceptibility to teratogenic effects of alcohol in discordant twins exposed to alcohol during the second half of gestation. *Pediatr Neurol* 1994;11:332-6.
28. Streissguth AP, Dehaene P. Fetal alcohol syndrome in twins of alcoholic mothers: concordance of diagnosis and IQ. *Am J Med Genet* 1993;47:857-61.
29. Boehm SL, 2nd, Lundahl KR, Caldwell J, Gilliam DM. Ethanol teratogenesis in the C57BL/6J, DBA/2J, and A/J inbred mouse strains. *Alcohol* 1997;14:389-95.
30. Gilliam DM, Kotch LE, Dudek BC, Riley EP. Ethanol teratogenesis in selectivity bred long-sleep and short-sleep mice: a comparison to inbred C57BL/6J mice. *Alcohol Clin Exp Res* 1989;13:667-72.
31. Goodlett CR, Gilliam DM, Nichols JM, West JR. Genetic influences on brain growth restriction induced by development exposure to alcohol. *Neurotoxicology* 1989;10:321-34.
32. Gilliam DM, Stilman A, Dudek BC, Riley EP Fetal alcohol effects in long- and short-sleep mice: activity, passive avoidance, and in utero ethanol levels. *Neurotoxicol Teratol* 1987;9:349-57.
33. Thomas JD, Melcer T, Weinert S, Riley EP Neonatal alcohol exposure produces hyperactivity in high-alcohol-sensitive but not in low-alcohol-sensitive rats. *Alcohol* 1998;16:237-42.
34. Grace GM, Rockman GE, Glavin GB Effect of prenatal exposure to ethanol on adult ethanol preference and response to zimelidine in rats. *Alcohol* 1986;21:25-31.
35. McGivern RF, Clancy AN, Mousa S, Couri D, Noble EP. Prenatal alcohol exposure alters enkephalin levels, without affecting ethanol preference. *Life Sci* 1984; 34:585-9.
36. Bond NW. Prenatal alcohol exposure in rodents: A review of its effects on offspring activity and learning ability. *Australian Journal of Psychology* 1981;33:331-44.
37. Riley EP. The long-term behavioral effects of prenatal alcohol exposure in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:670-3
38. Spear LP. Assessment of the effects of developmental toxicants: pharmacological and stress vulnerability of offspring. *NIDA Res Monogr* 1996; 164:125-45.
39. Hannigan JH. What research with animals is telling us about alcohol-related neurodevelopmental disorder. *Pharmacol Biochem Behav* 1996;55:489-99.
40. Tattoli M, Cagianò R, Gaetani S, Ghiglieri V, Giustino A, Mereu G, *et al.* Neurofunctional effects of developmental alcohol exposure in alcohol-preferring and alcohol-nonpreferring rats. *Neuropsychopharmacology* 2001;24:691-705.
41. Chernoff GF The fetal alcohol syndrome in mice: maternal variables. *Teratology* 1980;22:71-5.
42. Eriksson CJ. Ethanol and acetaldehyde metabolism in rat strains genetically selected for their ethanol preference. *Biochem Pharmacol* 1973;22:2283-92.
43. Hayashi M. Ethanol and acetaldehyde concentrations in pregnant rats after administration of ethanol. *Arukuru Kenkyuto Yakubutsu Ison* 1991;26:89-95.
44. Sanchis R, Guerri C Alcohol-metabolizing enzymes in placenta and fetal liver: effect of chronic ethanol intake. *Alcohol Clin Exp Res* 1986;10:39-44.

45. Guerri C, Sanchis R Acetaldehyde and alcohol levels in pregnant rats and their fetuses. *Alcohol* 1985;2:267-70.
46. Zorzano A, Herrera E. Disposition of ethanol and acetaldehyde in late pregnant rats and their fetuses. *Pediatr Res* 1989;25:102-6.
47. Hard ML, Einarson TR, Koren G. The role of acetaldehyde in pregnancy outcome after prenatal alcohol exposure. *The Drug Monit* 2001;23:427-34.
48. Campbell MA, Fantel AG Teratogenicity of acetaldehyde in vitro: relevance to the fetal alcohol syndrome. *Life Sci* 1983;32:2641-7.
49. Qu W, Wu D [Effects of alcohol and metabolite acetaldehyde on the proliferation of astroglial cells of fetal brain]. *Wei Sheng Yan Jiu* 1999;28:206-7.
50. Riley EP, Lochry EA, Shapiro NR Lack of response inhibition in rats prenatally exposed to alcohol. *Psychopharmacology (Berl)* 1979;62:47-52.
51. Ericson M, Blomqvist O, Engel JA, Soderpalm B. Voluntary ethanol intake in the rat and the associated accumbal dopamine overflow are blocked by ventral tegmental mecamylamine. *Eur J Pharmacol* 1998;358:189-96.
52. Gonzales RA, Weiss F Suppression of ethanol-reinforced behavior by naltrexone is associated with attenuation of the ethanol-induced increase in dialysate dopamine levels in the nucleus accumbens. *J Neurosci* 1998;18:10663-71.
53. Gianoulakis C. Influence of the endogenous opioid system on high alcohol consumption and genetic predisposition to alcoholism. *J Psychiatry Neurosci* 2001;26:304-18.
54. Gonzales RA, Job MO, Doyon WM. The role of mesolimbic dopamine in the development and maintenance of ethanol reinforcement. *Pharmacol Ther* 2004;103:121-46.
55. Tupala E, Tiitonen J. Dopamine and alcoholism: neurobiological basis of ethanol abuse. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004;28:1221-47.
56. Grahame NJ, Rodd-Henricks K, Li TK, Lumeng L. Ethanol locomotor sensitization, but not tolerance correlates with selection for alcohol preference in high- and low-alcohol preferring mice. *Psychopharmacology (Berl)* 2000;151:252-60.
57. Hunt WA, Lands WE. A role for behavioral sensitization in uncontrolled ethanol intake. *Alcohol* 1992;9:327-8.
58. Druse MJ, Tajuddin N, Kuo A, Connerty M. Effects of in utero ethanol exposure on the developing dopaminergic system in rats. *J Neurosci Res* 1990;27:233-40.
59. Maier SE, Chen WJ, West JR Prenatal binge-like alcohol exposure alters neurochemical profiles in fetal rat brain. *Pharmacol Biochem Behav* 1996;55:521-9.
60. Shen RY, Hannigan JH, Kapatos G. Prenatal ethanol reduces the activity of adult midbrain dopamine neurons. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:1801-7.
61. Hannigan JH. Behavioral plasticity after teratogenic alcohol exposure as recovery of function. In: Spear NE, Spear L, Woodruff ML (Ed.). *Neurobiological plasticity. Learning, development, and response to brain insults*. Hillsdale, New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates; 1995. p. 283-311.
62. Becker HC, Hale RL, Boggan WO, Randall CL. Effects of prenatal ethanol exposure on later sensitivity to the low-dose stimulant actions of ethanol in mouse offspring: possible role of catecholamines. *Alcohol Clin Exp Res* 1993;17:1325-36.
63. Rockman GE, Markert LE, Delrizzo M. Effects of prenatal ethanol exposure on ethanol-induced locomotor activity in rats. *Alcohol* 1989;6:353-6.
64. Reyes E, Duran E, Switzer SH. Effects of in utero administration of alcohol on alcohol sensitivity in adult rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1993;44:307-12.

65. Bailey CD, Brien JF, Reynolds JN. Chronic prenatal ethanol exposure increases GABA(A) receptor subunit protein expression in the adult guinea pig cerebral cortex. *J Neurosci* 2001;21:4381-9.
66. Sari Y, Zhou FC. Prenatal alcohol exposure causes long-term serotonin neuron deficit in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28:941-8.
67. Shoemaker WJ, Baetge G, Azad R, Sapin V, Bloom FE. Effect of prenatal alcohol exposure on amine and peptide neurotransmitter systems. *Monogr Neural Sci* 1983;9:130-9.
68. Kushner MG, Sher KJ, Beitman BD. The relation between alcohol problems and the anxiety disorders. *Am J Psychiatry* 1990;147:685-95.
69. Fahlke C, Lorenz JG, Long J, Champoux M, Suomi SJ, *et al.* Rearing experiences and stress-induced plasma cortisol as early risk factors for excessive alcohol consumption in nonhuman primates. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24:644-50.
70. Nash JF Jr., Maickel RP. Stress-induced consumption of ethanol by rats. *Life Sci* 1985;37:757-65.
71. Prasad C, Prasad A. A relationship between increased voluntary alcohol preference and basal hypercorticoesteronemia associated with an attenuated rise in corticosterone output during stress. *Alcohol* 1995;12:59-63.
72. Taylor AN, Branch BJ, Liu SH, Wiechmann AF, Hill MA, Kokka N. Fetal exposure to ethanol enhances pituitary-adrenal and temperature responses to ethanol in adult rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1981;5:237-46.
73. Taylor AN, Branch BJ, Van Zuylen JE, Redei E. Maternal alcohol consumption and stress responsiveness in offspring. *Adv Exp Med Biol* 1988;245:311-7.
74. Weinberg J. Prenatal ethanol exposure alters adrenocortical development of offspring. *Alcohol Clin Exp Res* 1989;13:73-83.
75. Weinberg J, Taylor AN, Gianoulakis C. Fetal ethanol exposure: hypothalamic-pituitary-adrenal and beta-endorphin responses to repeated stress. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:122-31.
76. Angelogianni P, Gianoulakis C. Prenatal exposure to ethanol alters the ontogeny of the beta-endorphin response to stress. *Alcohol Clin Exp Res* 1989;13:564-71.
77. Spear L. Modeling adolescent development and alcohol use in animals. *Alcohol Res Health* 2000;24:115-23.
78. Schaal B, Orgeur P, Rognon C. Odor sensing in the human fetus: Anatomical, functional, and chemoeological bases. In: Lecanuet JP, Fifer WP, Krasnegor N, Smotherman WP (eds) *Fetal development: A psychobiological perspective*. Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale, NJ, 1995; pp 205-37.
79. Mennella JA, Jagnow CP, Beauchamp GK. Prenatal and postnatal flavor learning by human infants. *Pediatrics* 2001;107:E88.
80. Faas AE, Sponton ED, Moya PR, Molina JC. Differential responsiveness to alcohol odor in human neonates: effects of maternal consumption during gestation. *Alcohol* 2000;22:7-17.
81. Molina JC, Chotro MG. Association between chemosensory stimuli and cesarean delivery in rat fetuses: neonatal presentation of similar stimuli increases motor activity. *Behav Neural Biol* 1991;55:42-60.
82. Szeto HH. Maternal-fetal pharmacokinetics and fetal dose-response relationships. *Ann N Y Acad Sci* 1989;562:42-55.
83. Chotro MG, Molina JC. Acute ethanol contamination of the amniotic fluid during gestational day 21: postnatal changes in alcohol responsiveness in rats. *Dev Psychobiol* 1990;23:535-47.
84. Smotherman WP. Odor aversion learning by the rat fetus. *Physiol Behav* 1982;29:769-71.
85. Smotherman WP. Classical conditioning in the rat fetus: involvement of mu and kappa opioid systems in the conditioned response. *Dev Psychobiol* 2002;40:104-15.

86. Smotherman WP. Classical conditioning in the rat fetus: temporal characteristics and behavioral correlates of the conditioned response. *Dev Psychobiol* 2002;40.
87. Smotherman WP, Robinson SR. The rat fetus in its environment: behavioral adjustments to novel, familiar, aversive, and conditioned stimuli presented in utero. *Behav Neurosci* 1985;99:521-30.
88. Smotherman WP, Robinson SR. Behavior of rat fetuses following chemical or tactile stimulation. *Behav Neurosci* 1988;102:24-34.
89. Smotherman WP, Robinson SR. Response of the rat fetus to acute umbilical cord occlusion: an ontogenetic adaptation? *Physiol Behav* 1988;44:131-5.
90. Stickrod G, Kimble DP, Smotherman WP. In utero taste/odor aversion conditioning in the rat. *Physiol Behav* 1982;28:5-7.
91. Chotro MG, Spear NE. Repeated exposure to moderate doses of alcohol in the rat fetus: evidence of sensitization to toxic and chemosensory aspects of alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21:360-7.
92. Dominguez HD, Chotro MG, Molina JC. Alcohol in the amniotic fluid prior to cesarean delivery: effects of subsequent exposure to the drug's odor upon alcohol responsiveness. *Behav Neural Biol* 1993;60:129-38.
93. Bienkowski P, Iwinska K, Piasecki J, Kostowski W. 5,7-dihydroxytryptamine lesion does not affect ethanol-induced conditioned taste and place aversion in rats. *Alcohol* 1997;14:439-43.
94. Hunt PS, Molina JC, Spear LP, Spear NE. Ethanol-mediated taste aversions and state-dependency in preweanling (16-day-old) rats. *Behav Neural Biol* 1990;54:300-22.
95. Hunt PS, Spear LP, Spear NE. An ontogenetic comparison of ethanol-mediated taste aversion learning and ethanol-induced hypothermia in preweanling rats. *Behav Neurosci* 1991;105:971-83.
96. Molina JC, Bannoura MD, Chotro MG, McKinzie DL, Arnold HM, Spear NE. Alcohol-mediated tactile conditioned aversions in infant rats: devaluation of conditioning through alcohol-sucrose associations. *Neurobiol Learn Mem* 1996;66:121-32.
97. Molina JC, Chotro G, Spear NE. Early (preweanling) recognition of alcohol's orosensory cues resulting from acute ethanol intoxication. *Behav Neural Biol* 1989;51:307-25.
98. Philpot RM, Badanich KA, Kirstein CL. Place conditioning: age-related changes in the rewarding and aversive effects of alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 2003;27:593-9.
99. Van der Kooy D, O'Shaughnessy M, Mucha RF, Kalant H. Motivational properties of ethanol in naive rats as studied by place conditioning. *Pharmacol Biochem Behav* 1983;19:441-5.
100. Brown ZW, Amit Z, Smith B, Rockman GE. Differential effects on conditioned taste aversion learning with peripherally and centrally administered acetaldehyde. *Neuropharmacology* 1978;17:931-5.
101. Espinet C, Argiles JM. Ethanol and acetaldehyde concentrations in the rat foeto-maternal system after an acute ethanol administration given to the mother. *Arch Int Physiol Biochim* 1984;92:339-44.
102. Kehoe P. Opioids, behavior, and learning in mammalian development. In Blass EM (Ed.). *Handbook of behavioral neurobiology. Developmental psychobiology and behavioral ecology* Vol. 9. New York: Plenum Press; 1988. p. 309-46.
103. Roth TL, Sullivan RM. Consolidation and expression of a shock-induced odor preference in rat pups is facilitated by opioids. *Physiol Behav* 2003;78:135-42.
104. Camp LL, Rudy JW. Changes in the categorization of appetitive and aversive events during postnatal development of the rat. *Dev Psychobiol* 1988;21:25-42.
105. Roth TL, Sullivan RM. Endogenous opioids and their role in odor preference acquisition and consolidation following odor-shock conditioning in infant rats. *Dev Psychobiol* 2001;39:188-98.
106. Arnold HM, Robinson SR, Spear NE, Smotherman WP. Conditioned opioid activity in the rat fetus. *Behav Neurosci* 1993;107:963-9.

107. Gianoulakis C. Endogenous opioids and addiction to alcohol and other drugs of abuse. *Curr Top Med Chem* 2004;4:39-50.
108. Arias C, Chotro MG. Interactions between prenatal ethanol exposure and postnatal learning about ethanol in rat pups. *Alcohol* 2006;40:51-9.
109. Abate P, Pueta M, Spear NE, Molina JC. Fetal learning about ethanol and later ethanol responsiveness: Evidence against "Safe" amounts of prenatal exposure. *Exp Biol Med* 2008;233:139-54.

TERZA SEZIONE
Strategie di intervento

FENOTIPO COGNITIVO-COMPORTAMENTALE FASD: UNA RASSEGNA DELLA LETTERATURA*

Piyadasa W Kodituwakku

Center for Development and Disability, University of New Mexico, Albuquerque NM, USA

Introduzione

È ormai accertato che l'esposizione prenatale ad alcol provoca tutta una serie di effetti morfologici e cognitivo-comportamentali cui spesso si fa riferimento con l'espressione "insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol" (FASD, *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*). Tra di essi, i più evidenti e devastanti sono i deficit cognitivo-comportamentali. Negli ultimi tre decenni la ricerca ha fatto considerevoli progressi nella comprensione del funzionamento cognitivo-comportamentale dei bambini con tale diagnosi, e tuttavia non è ancora chiaro se esista un pattern o un fenotipo specificamente associato al FASD. La sua identificazione è invece fondamentale per poter giungere alla pianificazione di strategie di intervento adeguate ed efficaci.

Un fenotipo comportamentale è "l'insieme delle caratteristiche motorie, cognitive, linguistiche e sociali che vengono tipicamente associate a un determinato disturbo biologico" (1). Per definirlo occorre dunque, nel nostro caso, confrontare le prestazioni ottenute – in una batteria di test atti a valutare il funzionamento motorio, cognitivo, linguistico e sociale – da bambini del gruppo FASD e da bambini appartenenti a gruppi con caratteristiche neurocomportamentali simili. In termini causali, sembra ragionevole pensare che gli effetti teratogeni dell'alcol alterino lo sviluppo del cervello e che questo, a sua volta, produca i deficit cognitivi osservabili. Tali deficit specifici sono infine responsabili dei problemi cui più in generale queste persone andranno incontro, in ambiti tanto diversi quanto la riuscita scolastica e la vita sociale ed emozionale. In questo senso, Streissguth *et al.* nel 2004 (2) hanno denominato i deficit cognitivi "disabilità primarie" e i problemi comportamentali che ne derivano "disabilità secondarie". Nel presente lavoro, utilizzeremo il termine "fenotipo cognitivo-comportamentale", anziché "comportamentale", proprio per sottolineare questa differenza tra disabilità primarie e secondarie.

Per definire il fenotipo comportamentale occorre dunque rispondere innanzitutto a due domande basilari: 1) i soggetti prenatalmente esposti ad alcol mostrano un pattern specifico di deficit cognitivi? 2) i soggetti prenatalmente esposti ad alcol mostrano un pattern specifico di disfunzioni comportamentali? La determinazione delle connessioni causali tra esposizione prenatale a etanolo e problemi cognitivo-comportamentali non è facile dal punto di vista metodologico, poiché la variabilità individuale è prodotta in quest'ambito tanto da fattori ambientali quanto da fattori genetici, nonché dalla loro interazione. Anche la severità degli effetti varia in funzione delle caratteristiche dell'esposizione (es. quantità e frequenza) e delle caratteristiche materne (es. età e peso corporeo) (3 -4).

Nonostante tale variabilità, stanno emergendo modalità di funzionamento cognitivo-comportamentale che sembrano essere specificamente associate ai soggetti con FASD. Nella

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Kodituwakku PW. Defining the behavioral phenotype in children with fetal alcohol spectrum disorders: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):192-201.

prima parte del presente lavoro passeremo in rassegna la letteratura relativa al funzionamento cognitivo degli individui con diagnosi di FASD, occupandoci in particolare delle abilità intellettive, dell'attenzione, dell'elaborazione delle informazioni, del funzionamento esecutivo, del linguaggio, della percezione visiva, dell'elaborazione dei numeri e della memoria. La seconda parte sarà dedicata al comportamento adattivo e ai problemi comportamentali così come vengono valutati da genitori e insegnanti. Infine, la parte conclusiva offrirà di tutto questo una visione d'insieme e proporrà un'ipotesi sul fenotipo cognitivo-comportamentale del FASD.

Disfunzioni cognitive

Abilità intellettive

La vasta letteratura relativa al funzionamento intellettivo dei bambini e degli adolescenti con FASD è già stata passata in rassegna da Mattson e Riley (5). Sono state regolarmente registrate prestazioni intellettive ridotte (6-7), con punteggi QI (Quoziente Intellettivo) che andavano in media da un ritardo lieve a risultati ai limiti della norma (5,7) hanno osservato che bambini esposti prenatalmente a notevoli quantità di alcol mostrano deficit intellettivi significativi anche in assenza dei segni fisici tipicamente associati alla sindrome fetoalcolica (FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*), e dai risultati di uno studio prospettivo sul FASD è emersa una riduzione delle abilità intellettive dose-dipendente (8). Dall'elevata significatività delle correlazioni test-retest dei punteggi QI, Streissguth *et al.* (9) hanno dedotto che i deficit di questo tipo rimangono relativamente stabili nel tempo. Che i bambini, gli adolescenti e gli adulti con storia di esposizione prenatale ad alcol mostrino deficit del funzionamento intellettivo è stato dimostrato e confermato utilizzando per la valutazione svariate metodologie differenti: dal *Fagan Test of Infant Intelligence* (10) e dalle *Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence- Revised* (7), *Bayley Scales of Infant Mental and Motor Development* (11), *Kaufman Assessment Battery for Children* (12) e *McCarthy Scales* (13), fino alle *Raven Progressive Matrices* (14), alla *Wechsler Intelligence Scale for Children* (7) e alle *Griffiths Mental Developmental Scales* (15).

Ci si è anche domandati se le cattive prestazioni intellettive dei soggetti con FASD siano selettivamente riconducibili al mancato sviluppo di alcune abilità specifiche. Da un lato, studiando una popolazione di bambini che erano stati esposti prenatalmente a notevoli quantitativi di alcol, è emerso che la riduzione dei punteggi di QI verbale e di *performance* era del tutto paragonabile (5, 7). Dall'altro Kodituwakku *et al.* (14), in uno studio pilota, hanno riscontrato che i bambini con FASD ottenevano punteggi significativamente inferiori rispetto ai soggetti di controllo quando venivano sottoposti alle *Raven Standard Progressive Matrices* (SPM), con cui si valuta l'intelligenza cosiddetta fluida, ma non quando il test impiegato era il *Peabody Picture Vocabulary Test* (PPVT), che si ritiene misuri l'intelligenza cristallizzata. Tuttavia, poiché il PPVT è relativamente più semplice delle SPM, è possibile che gli effetti osservati fossero principalmente riconducibili alla differente complessità degli strumenti di valutazione. Adnams *et al.* (15) hanno inoltre osservato che i bambini con FASD mostrano un funzionamento deficitario quando vengono sottoposti alle *Griffiths Scales* ma non a test meno impegnativi dal punto di vista intellettivo. Sembra dunque plausibile concludere che le prestazioni deficitarie dei bambini con FASD siano principalmente riferibili ai compiti di una certa complessità intellettiva.

Attenzione e velocità di elaborazione delle informazioni

Numerosi studi sono stati dedicati alle capacità attentive dei bambini con FASD poiché i deficit in questo ambito sono considerati una delle loro caratteristiche maggiormente distintive (16-17), ma i risultati ottenuti non sono del tutto univoci. Streissguth *et al.* (16) hanno osservato in bambini esposti ad alcol prestazioni deficitarie al *Continuous Performance Test*, e hanno dunque ipotizzato per questo gruppo una ridotta capacità di vigilanza. Si è anche visto che variabili relative all'esposizione, come la quantità di alcol assunta, sono associate all'interno dello stesso compito a varie misure di distraibilità e ai tempi di reazione. Somministrando una batteria di test dell'attenzione basati sul paradigma sperimentale proposto da Douglas (18), Nanson e Hiscock hanno scoperto che i bambini con FASD, così come quelli con disturbo da deficit dell'attenzione (ADD, *Attention Deficit Disorder*), hanno difficoltà da un lato a investire, organizzare e mantenere l'attenzione nel tempo, e dall'altro a inibire le proprie risposte. Ancora nell'ambito delle somiglianze tra le prestazioni dei soggetti FASD e ADD, Coles *et al.* (19) hanno utilizzato una batteria di test finalizzata a valutare i quattro fattori dell'attenzione delineati da Mirsky *et al.* (20), e hanno riscontrato che i due gruppi mostravano pattern di deficit distinti, basati su difficoltà nel primo caso di codifica e di spostamento e nel secondo caso di allerta e di attenzione sostenuta. In un altro lavoro, gli stessi autori (21) hanno invece di nuovo osservato deficit dell'attenzione sostenuta nel gruppo FASD: si trattava di soggetti adolescenti, e l'effetto era maggiormente marcato nella modalità visiva che non in quella uditiva. Anche Lee *et al.* (22) hanno riscontrato prestazioni peggiori in un test di attenzione sostenuta di tipo visivo (*Test of Variable Attention*), ma un'analisi di regressione logistica ha rivelato che due test basati sulla modalità uditiva (*Digit Span* e *Arithmetic*) erano in grado di discriminare tra i soggetti esposti ad alcol e quelli di controllo meglio di quanto non facesse il test di attenzione visiva sostenuta. Poiché entrambi questi strumenti implicano l'utilizzo di abilità intellettive, sembra ragionevole concludere che i test dell'attenzione maggiormente complessi possiedano una capacità discriminativa maggiore che non quelli più semplici.

I bambini prenatalmente esposti ad alcol mostrano anche una ridotta velocità di elaborazione delle informazioni al *Fagan Test of Infant Intelligence*, e tempi di reazione più lenti alla presentazione di uno stimolo visivo (10). In linea con questi risultati, Burden *et al.* (23) hanno osservato una minore efficienza dell'elaborazione in bambini di età scolare che erano stati esposti ad alcol *in utero*: tale differenza emergeva nei compiti che richiedevano uno sforzo di elaborazione, ma non in quelli basati sull'elaborazione automatica. Ancora, Simmons *et al.* (24) hanno riscontrato nel gruppo FASD un'elaborazione dell'informazione meno efficiente nei termini sia di una ridotta velocità di elaborazione centrale dello stimolo sia di un ritardo della risposta motoria periferica. Secondo Roebuck *et al.* (25), questi bambini hanno particolari difficoltà nei compiti che richiedono la trasmissione interemisferica delle informazioni. Anche questi ricercatori, inoltre, hanno notato che le prestazioni dei soggetti con FASD peggiorano progressivamente con l'aumentare della complessità del compito.

Funzionamento esecutivo

“Funzionamento esecutivo” è una sorta di termine-ombrello, con cui si indicano svariati tipi di abilità coinvolte nel comportamento conscio e orientato allo scopo, tra cui la pianificazione, il *set-shifting*, l'inibizione delle risposte non pertinenti e il mantenimento degli scopi nella memoria di lavoro. Poiché i compiti atti a valutare queste abilità richiedono la messa in atto di uno sforzo consapevole, sembra ragionevole ipotizzare che i bambini con FASD sperimentino in quest'ambito significative difficoltà (26) e, in effetti, numerose ricerche lo confermano. Il gruppo FASD mostra prestazioni peggiori, rispetto al gruppo di controllo, in test di

pianificazione cognitiva come il *Progressive Planning Test* (14) e il *California Tower Task* (27-28). Un *set-shifting* deficitario è attestato dal numero maggiore di errori di perseverazione compiuti da questo gruppo in test come il *Wisconsin Card Sorting Test* (19, 29-30), e sembra che i bambini con FASD impieghino strategie poco efficaci di *problem-solving* (28). Sono state osservate inoltre una ridotta fluenza verbale e non verbale (31), e in particolare una ridotta fluenza per lettere (generazione di parole che iniziano con determinate lettere secondo particolari regole) (14,27). Infine, gli adulti con FASD mostrano prestazioni deficitarie in vari test di valutazione delle funzioni di controllo esecutivo, come la memoria di lavoro, l'inibizione delle risposte, il *set-shifting* (32) e la fluenza (33). I risultati di diverse linee di ricerca convergono nell'indicare che la corteccia prefrontale dorsolaterale è coinvolta primariamente nei compiti esecutivi basati sulla cognizione, come la pianificazione cognitiva e il *set-shifting* extra-dimensionale (34), e che la corteccia orbitofrontale ha invece un ruolo importante nell'apprendimento legato alle emozioni (35) e nell'abilità di prendere decisioni vantaggiose (36). Queste due forme di controllo esecutivo sono state denominate, rispettivamente, "fredda" e "calda" (37-39), mediante una serie di compiti di discriminazione visiva, hanno dimostrato che le prestazioni dei bambini con FASD sono deficitarie in entrambi gli ambiti.

Linguaggio

Benché gli aspetti intellettivi del funzionamento verbale dei bambini con FASD siano stati ampiamente studiati, sono molto limitati i dati disponibili sugli effetti esercitati dall'esposizione prenatale ad alcol sui vari processi linguistici specifici. Sono stati documentati deficit nell'assegnazione di nomi (5), nella comprensione delle parole (40), nelle abilità grammaticali e semantiche (41), e nella pragmatica (42). Streissguth *et al.* (43) hanno riscontrato peggiori prestazioni al sub-test *Word Attack* dei *Woodcock Reading Mastery Tests*, che richiede la pronuncia di termini non familiari, e in linea con questo dato si situa la ridotta memoria di lavoro fonologica osservata dal nostro gruppo di ricerca misurando la ripetizione di non-parole (dati non pubblicati). Altre ricerche indicano, tra bambini con FASD e soggetti di controllo, differenze significative nella comprensione della grammatica nell'elaborazione centrale del linguaggio (il "deficit dell'ascolto centrale" di Church e Kaltenbach 1997 (44) e, come già menzionato, nella fluenza verbale e in particolare in quella per lettere. Altre ricerche, tuttavia, non hanno evidenziato differenze significative tra bambini FASD e soggetti di controllo nello sviluppo del linguaggio (45-46). Tale discrepanza è molto probabilmente riconducibile da un lato al fatto che le ricerche che non hanno trovato effetti significativi sono state generalmente condotte su soggetti che erano stati esposti a quantitativi di alcol mediamente minori, e dall'altro al fatto che gli studi da cui sono invece emerse le differenze hanno impiegato per le misurazioni test relativamente più complessi e che chiamavano in causa la memoria di lavoro.

Percezione e costruzione visiva

Benché siano state frequentemente osservate, nei bambini esposti prenatalmente ad alcol, anomalie oculari, è stato pubblicato soltanto un numero limitato di ricerche relative alle abilità percettivo-visive di questi soggetti. Uecker e Nadel (47) hanno osservato che se i bambini con FASD ottengono risultati paragonabili a quelli dei soggetti di controllo in test di percezione visiva basati sul riconoscimento di volti, le loro prestazioni risultano invece inferiori nei test di costruzione visiva come per esempio il *Beery Visual Motor Integration* e il *Clock Drawing*. Ci si è anche domandati se i bambini con FASD elaborino in modo diverso le informazioni relative alle caratteristiche globali e locali degli stimoli visivi. I risultati di diversi studi sono concordi

nell'indicare che l'emisfero destro si occupa preferenzialmente dell'elaborazione delle caratteristiche globali e l'emisfero sinistro di quelle locali. È stato dimostrato che il gruppo FASD ha difficoltà nel "copiare" e nel richiamare le caratteristiche locali degli stimoli organizzati gerarchicamente, come per esempio una grande lettera "D" (globale) composta da tante piccole lettere "y" (locali). Questi dati sembrano indicare che i bambini con FASD hanno problemi nei compiti di percezione visiva che richiedono un'integrazione delle informazioni. Uecker e Nadel (47) hanno dimostrato che questi soggetti sono competenti quanto i soggetti di controllo nei compiti di abbinamento visivo, ma che essi sperimentano notevoli difficoltà nel fare disegni che richiedono capacità di pianificazione e di integrazione visuo-motoria. Le basi dell'effetto differenziale dell'esposizione ad alcol sull'elaborazione delle informazioni globali e locali non sono ancora chiare. Come suggerito da Mattson *et al.* (48-49), una spiegazione alternativa potrebbe essere quella per cui i bambini con FASD hanno difficoltà a spostare l'attenzione dal globale al locale nel corso dell'elaborazione di stimoli complessi e organizzati in maniera gerarchica. Le prestazioni misurate in questi compiti risultano correlate con le abilità intellettive individuali, e ciò sembra suggerire che nell'integrazione delle caratteristiche globali e locali siano coinvolte abilità cognitive di ordine superiore.

Apprendimento e memoria

I risultati di diverse linee di ricerca sono concordi nell'indicare che l'apprendimento e la memoria sono particolarmente vulnerabili agli effetti dell'esposizione prenatale ad alcol. In uno dei primi studi su bambini, Streissguth *et al.* (50) hanno osservato che tale esposizione era associata a un ridotto funzionamento dei processi di condizionamento e di abituazione. Gli studiosi del comportamento animale, dal canto loro, hanno dimostrato che l'ippocampo – una struttura cerebrale implicata proprio nell'apprendimento e nella memoria – è particolarmente vulnerabile agli effetti tossici esercitati dall'alcol durante lo sviluppo del cervello (51), e avvalendosi di diversi paradigmi di apprendimento (come, per esempio, quello della navigazione spaziale) hanno riscontrato una precisa associazione tra danno ippocampale derivato da esposizione prenatale ad alcol e deficit dell'apprendimento e della memoria (52). Diversi ricercatori hanno tentato di estendere all'uomo i risultati di questi studi servendosi di test sensibili alla funzionalità ippocampale. Uecker e Nadel (47), utilizzando lo *Smith and Milner Memory for 16 Objects Task*, hanno osservato che ai bambini con FASD risulta difficile il richiamo di oggetti dilazionato nel tempo, ma non quello immediato, il che sembra suggerire che alla base vi sia un danno dell'ippocampo destro. Gli stessi autori hanno tuttavia rilevato anche difficoltà relative a compiti visivi di natura non ippocampale, come quello previsto dal *Test of Visual Motor Integration*, e hanno dunque ipotizzato l'esistenza di deficit visivi generalizzati. Analoghi risultati – compresi i deficit di natura non ippocampale – sono stati rilevati da Hamilton *et al.* (53), che hanno studiato la navigazione spaziale dei bambini con FASD servendosi di una versione computerizzata (virtuale) del classico test di funzionamento ippocampale utilizzato per gli animali denominato *Morris Water Maze*.

Per la maggior parte, le ricerche finalizzate a valutare le capacità di apprendimento e memoria dei bambini con FASD hanno utilizzato test neuropsicologici standard. Mattson *et al.* (48-49), per mezzo del *California Verbal Learning Test - Children's Version* (CVLT-C), hanno rilevato che la prestazione del gruppo FASD era significativamente deficitaria nell'area dell'apprendimento verbale, come evidenziato dalle difficoltà a richiamare liberamente liste di parole e dal numero significativamente più elevato di errori da perseverazione e da intrusione. L'esistenza di un deficit dell'apprendimento verbale nei bambini con FASD è stata confermata da numerose ricerche. Wilford *et al.* (54) hanno dimostrato che l'esposizione ad alcol nel corso del primo trimestre di gravidanza è in grado di predire le successive abilità di apprendimento

verbale, e che i deficit associati emergono quando si chiede ai soggetti di richiamare liberamente in maniera dilazionata nel tempo ma non quando si chiede loro di riconoscere, benché sempre in maniera dilazionata. Mattson e Roebuck (55), esaminando l'apprendimento verbale e non verbale mediante due test con struttura paragonabile (il CVLT-C e il *Biber Figure Learning Test*, che richiedevano entrambi di richiamare liberamente una serie di elementi in più di una sessione), hanno scoperto che il gruppo FASD presenta deficit sia della memoria verbale sia di quella visiva. Analoghi risultati sono stati ottenuti da Kaemingk *et al.* (56) mediante il *Wide Range Assessment of Learning and Memory* (WRAML). Malgrado le difficoltà relative all'apprendimento iniziale, il gruppo FASD era in grado di trattenere in memoria le informazioni acquisite, e questi soggetti presentano deficit della memoria esplicita ma non di quella implicita.

Elaborazione dei numeri

Diversi tipi di dati hanno evidenziato che i bambini con FASD hanno maggiori difficoltà con l'elaborazione dei numeri che non con altre materie scolastiche. Essi ottengono punteggi relativamente bassi in aritmetica con le normali batterie di test del rendimento accademico, e le batterie basate sulle più recenti acquisizioni delle neuroscienze hanno mostrato che, se da un lato essi se la cavano piuttosto bene con la lettura e la scrittura dei numeri, hanno invece notevoli difficoltà a eseguire compiti più complessi come quelli di calcolo e di valutazione cognitiva (57-58). In un lavoro recente, Burden *et al.* (23) hanno messo in luce l'esistenza, nei bambini prenatalmente esposti ad alcol, di un deficit specifico dell'abilità di confrontare i numeri. Sembra tuttavia che soltanto i compiti di elaborazione numerica più complessi siano in grado di differenziare i bambini prenatalmente esposti ad alcol dai soggetti di controllo.

Disfunzioni comportamentali

I deficit cognitivi che abbiamo descritto esitano in svariati tipi di problemi comportamentali, che comprendono principalmente difficoltà scolastiche e relative alle abilità sociali e alla sfera emotiva. Streissguth *et al.* (2), che a Seattle hanno seguito gli sviluppi di un'ampia coorte di bambini con FASD in età adolescenziale e adulta, hanno rilevato che i tassi di prevalenza degli esiti avversi nell'arco della vita erano piuttosto elevati: il 61% dei soggetti aveva avuto un iter scolastico "disordinato" e il 60% problemi con la legge, il 50% era stato sottoposto a misure detentive, il 49% aveva manifestato comportamenti sessuali inappropriati e il 35% aveva avuto problemi con alcol o droghe. Due fattori, ovvero un'età precoce al momento della diagnosi di FAS o FAE (*Fetal Alcohol Effects*) e un ambiente di vita sufficientemente stabile e buono, erano associati a esiti meno severi. Questi risultati indicano dunque che l'ambiente postnatale influisce direttamente e indirettamente (mediante un funzionamento cognitivo deficitario) sullo sviluppo comportamentale, e in presenza di tale variabilità viene da domandarsi se sia ancora possibile identificare un fenotipo comportamentale.

Funzionamento scolastico

Carmichael Olson *et al.* (29-30) hanno studiato il comportamento in classe dei bambini con FASD somministrando agli insegnanti questionari che indagavano su variabili come il livello di attenzione e di attività, la condotta, le abilità motorie fini e i risultati scolastici. Sono state identificate in tal modo diverse problematiche, e in particolare un'elevata distraibilità, una

notevole difficoltà a mantenere l'attenzione fissa su un compito e una diffusa irrequietezza o agitazione psicomotoria. Ai soggetti prenatalmente esposti ad alcol venivano inoltre attribuite difficoltà nell'elaborazione delle informazioni e nel ragionamento. In uno studio di popolazione recentemente condotto in Italia, gli insegnanti hanno classificato i bambini con FASD come iperattivi e scarsamente attenti. Tuttavia, solamente la prima variabile era realmente in grado di differenziare il gruppo FASD da quello di controllo. La mancanza di attenzione viene generalmente associata a una lentezza nell'elaborazione delle informazioni e a un cattivo funzionamento intellettuale.

Comportamento adattivo

Diversi studi hanno dimostrato che i bambini, gli adolescenti e gli adulti prenatalmente esposti ad alcol hanno significative difficoltà nell'ambito del comportamento adattivo, e in particolare delle abilità sociali (59). Quando Thomas *et al.* (60) 1998) hanno messo a confronto bambini con FASD, bambini con QI verbale basso e soggetti di controllo, utilizzando la *Vineland Adaptive Behavior Scales* (VAB), il primo gruppo ha ottenuto i punteggi più bassi ed è stato inoltre classificato come quello maggiormente in difficoltà nelle relazioni interpersonali. I deficit sociali dei bambini con FASD si fanno maggiormente pronunciati mano a mano che i soggetti si avvicinano all'adolescenza (61), ovvero quando si rendono necessarie abilità sociali più complesse. Per interagire socialmente in maniera efficace è, infatti, necessario coordinare tra loro molte abilità diverse, come la comprensione delle espressioni affettive facciali e vocali, del linguaggio del corpo e degli aspetti pragmatici del linguaggio. Sembra dunque ragionevole concludere che i bambini con FASD hanno maggiori difficoltà nei compiti adattivi più complessi che non in quelli relativamente semplici.

Funzionamento emozionale

Diverse ricerche hanno documentato la presenza di problemi emozionali nei bambini, negli adolescenti e negli adulti con FASD (62, 2). In un campione di 23 bambini inviati a un centro per la diagnosi dei disturbi associati all'alcol, l'87% dei soggetti soddisfaceva i criteri diagnostici relativi a un qualche tipo di disordine psichiatrico, e la maggior parte di essi mostrava i sintomi tipici dei disturbi dell'umore (61%). È ragionevole ipotizzare che le difficoltà di natura emozionale manifestate da questa popolazione siano riconducibili all'interazione di diverse variabili, tra cui i danni subiti dal sistema nervoso centrale, i fattori genetici familiari e le esperienze postnatali avverse (63).

Conclusioni

Ricercatori e clinici hanno regolarmente osservato che i bambini e gli adulti prenatalmente esposti ad alcol manifestano deficit del funzionamento intellettuale. Ciò è valido tanto per le abilità verbali quanto per quelle non verbali. Questi soggetti sono più lenti dei controlli nell'elaborazione delle informazioni, e mostrano prestazioni deficitarie nei test di valutazione delle funzioni di controllo esecutivo come la pianificazione, il *set-shifting* concettuale e affettivo, l'inibizione delle risposte e la fluenza. I risultati di numerosi studi finalizzati a esaminare abilità cognitive specifiche (come per esempio il linguaggio, la memoria o la percezione visiva) hanno evidenziato che le difficoltà non emergono di fronte a richieste relativamente semplici ma si fanno invece evidenti quando si tratta di eseguire compiti di una

certa complessità. Per quanto concerne la memoria, i bambini con FASD ottengono punteggi più bassi dei soggetti di controllo nei test in cui gli si chiede di richiamare liberamente una serie di elementi ma non quando gli si chiede di riconoscerli. I risultati rientrano nella media nel caso di semplici test di percezione visiva ma non nei più complessi compiti di costruzione visiva.

Ampiamente documentata è anche l'associazione tra esposizione prenatale ad alcol e problemi di comportamento, e in particolare di quello adattivo. Dalla somministrazione di questionari a genitori e insegnanti è emerso che i bambini con FASD mostrano deficit di attenzione e di memoria a breve termine. Inoltre, negli adolescenti e negli adulti prenatalmente esposti è stata rilevata una maggiore prevalenza di esiti negativi nell'arco della vita, come disturbi psichiatrici e problemi legali. Anche in questo caso, tuttavia, va sottolineato come le difficoltà degli individui con FASD riguardino soprattutto i comportamenti adattivi intrinsecamente complessi, come quelli di natura sociale, e molto meno le abilità di base, come quelle richieste dalla vita quotidiana.

Da tutto questo si può ragionevolmente concludere che il fenotipo cognitivo-comportamentale associato al FASD può essere essenzialmente definito come un deficit generalizzato dell'elaborazione di informazioni complesse. A favore di un modello di questo tipo depongono sia in generale il cattivo funzionamento intellettivo e la lentezza dell'elaborazione delle informazioni, sia la maggiore difficoltà nell'esecuzione di compiti di una certa complessità. Per portare a termine questi ultimi è necessario utilizzare contemporaneamente, e coordinare tra loro, diverse regioni del cervello, e sembra plausibile che i bambini e gli adulti con FASD non siano capaci di integrare le informazioni. Il fatto che alcune aree cerebrali specifiche siano state alterate dall'esposizione prenatale ad alcol, non significa che le altre stiano funzionando normalmente. Come sottolineato da Thomas e Karmiloff-Smith (64), l'assunto secondo il quale uno sviluppo cerebrale atipico si limita a produrre deficit selettivi mentre il resto del cervello si sviluppa normalmente – ovvero, quello che questi autori hanno chiamato l'assunto della “normalità residua” – non è in alcun modo sostenibile nell'ambito delle neuroscienze dello sviluppo.

Ringraziamenti

La preparazione di questo contributo è stata supportata da una “fellowship awarded” all'autore dall'Università di Roma “La Sapienza”. Si ringraziano il professor Mauro Ceccanti dell'Università “La Sapienza” e il *Center for Development and Disability* della *University of New Mexico*.

Bibliografia

1. O'Brien G, Yule W (Ed.). *Behavioural phenotypes*. London: Mac Keith Press; 2000. (Clinics in Developmental Medicine No. 138).
2. Streissguth AP, Bookstein FL, Barr HM, Sampson PD, O'Malley K, Young JK. Risk factors for adverse life outcomes in fetal alcohol syndrome and fetal alcohol effects. *J Dev Behav Pediatr* 2004;25(4):228-38.
3. May PA. A multi-level comprehensive approach to the prevention of fetal alcohol syndrome (FAS) and other alcohol related birth defects (ARBD). *Int J Addict* 1995;30:549-602.
4. Jacobson JL, Jacobson SW, Sokol RJ, Ager Jr JW. Relation of maternal age and pattern of pregnancy drinking to functionally significant cognitive deficit in infancy. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:345-51.
5. Mattson SN, Riley EP. A review of the neurobehavioral deficits in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22: 279-94.

6. Streissguth AP, Barr HM, Sampson PD. Moderate alcohol exposure: Effects on child IQ and learning problem at 7 ½ years. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:662-9.
7. Mattson SN, Riley EP, Gramling L, Delis DC, Jones KL. Heavy prenatal alcohol exposure with or without physical features of fetal alcohol syndrome leads to IQ deficits. *J Pediatr* 1997;131:718-21.
8. Streissguth AP, Barr HM, Sampson PD, Darby BL, Martin DC. IQ at age 4 in relation to maternal alcohol use and smoking during pregnancy. *Dev Psychol* 1989;25:3-11.
9. Streissguth AP, Herman CS, Smith DW. Intelligence, behavior, and dysmorphogenesis in the fetal alcohol syndrome: A report on 20 patients. *J Pediatr* 1978;92:363-7.
10. Jacobson SW. Specificity of neurobehavioral outcomes associated with prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998;22:313-24.
11. O'Connor MJ, Brill NJ, Sigman M. Alcohol use in primiparous women older than 30 years of age: Relation to infant development. *Pediatrics* 1986;78:444-50.
12. Coles CD, Brown RT, Smith IE, Platzman KA, Erickson S, Falek A. Effects of prenatal alcohol exposure at school age: Physical and cognitive development. *Neurotoxicol Teratol* 1991;13:357-67.
13. Larroque B, Kaminiski M. Prenatal alcohol exposure and development at preschool age: main results of a French study. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:295-303.
14. Kodituwakku PW, Handmaker NS, Cutler SK, Weathersby EK, Handmaker SD. Specific impairments in self-regulation in children exposed to alcohol prenatally. *Alcohol Clin Exp Res* 1995;6:1558-64.
15. Adnams CM, Kodituwakku PW, Hay A, Molteno CD, Viljoen D, May PA. Patterns of cognitive-motor development in children with fetal alcohol syndrome from a community in south Africa. *Alcohol Clin Exp Res*. 2001;25:557-62.
16. Streissguth AP, Barr HM, Sampson PD, Parrish-Johnson JC, Kirchner GL, Martin DC. Attention, distraction and reaction time at age 7 years and prenatal alcohol exposure. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1986;8:717-25.
17. Nanson JL, Hiscock M. Attention deficits in children exposed to alcohol prenatally. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:656-61.
18. Douglas VI. Attentional and cognitive problems, In: Rutter M (Ed.). *Developmental neuropsychiatry*. New York: Guilford; 1983. p. 280-329.
19. Coles CD, Platzman KA, Raskind-Hood CL, Brown RT, Falek A, Smith IE. A comparison of children affected by prenatal alcohol exposure and attention deficit, hyperactivity disorder. *Alcohol Clin Exp Res*. 1997;21:150-61.
20. Mirsky AF, Anthony BJ, Duncan CC, Ahern MB, Kellam CG. Analysis of the elements of attention: A neuropsychological approach. *Neuropsychol Rev* 1991;2:75-88.
21. Coles CD, Platzman KA, Lynch ME, Freides D. Auditory and visual sustained attention in adolescents prenatally exposed to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:263-71.
22. Lee KT, Mattson SN, Riley EP. Classifying children with heavy prenatal alcohol exposure using measures of attention. *J Int Neuropsychol Soc* 2004;10:271-77.
23. Burden MJ, Burden SW, Jacobson JL. Relation of prenatal alcohol exposure cognitive processing speed and efficiency in childhood. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:1473-83.
24. Simmons RW, Wass T, Thomas JD, Riley EP. Fractionated simple and choice reaction time in children with prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res*. 2002;26:1412-18.
25. Roebuck TM, Mattson SN, Riley EP. Interhemispheric transfer in children with heavy prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res*. 2002;26:1863-71.
26. Rasmussen C. Executive functioning and working memory in fetal alcohol spectrum disorder. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:1359-67.

27. Mattson SN, Goodman AM, Caine C, Delis DC, Riley EP. Executive functioning in children with heavy prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:1808-50.
28. Mattson SN, Riley EP. Implicit and explicit memory functioning in children with heavy prenatal alcohol exposure. *J Int Neuropsychol Soc* 1999;5:462-471.
29. Carmichael Olson H, Sampson PD, Barr H, Streissguth AP, Bookstein FL. Prenatal exposure to alcohol and school problems in late childhood: a longitudinal prospective study. *Dev Psychopathol* 1992;4:341-59.
30. Carmichael Olson H, Streissguth AP, Sampson PD, Barr HM, Bookstein FL, Thiede K. Association of prenatal alcohol exposure with behavioral and learning problems in early adolescence. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997;36:1187-94.
31. Schonfeld AM, Mattson SN, Lang AR, Delis DC, Riley EP. Verbal and nonverbal fluency in children with heavy prenatal alcohol exposure. *J Stud Alcohol* 2001;62:239-46.
32. Connor P, Sampson P, Bookstein F, Carr H, Streissguth AP. Direct and indirect effects of prenatal alcohol damage on executive function. *Dev Neuropsychol* 2000;18:331-54.
33. Kerns KA, Audrey D, Mateer CA, Streissguth AP. Cognitive deficits in non-retarded adults with fetal alcohol syndrome. *J Learn Disabil* 1997;30:685-93.
34. Robbins TW. Dissociating executive functions of the prefrontal cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1996;351:1463-70.
35. Rolls ET, Hornak DW, McGrath J. Emotion-related learning in patients with social and emotional changes associated with frontal lobe damage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:1518-24.
36. Bechara A, Damasio AR, Damasio H, Anderson SW. Insensitivity to future consequences following damage to human frontal cortex. *Cognition* 1994;50:7-15.
37. Zelazo PD, Muller U. Executive function in typical and atypical development, In: Goswami U (Ed.). *Handbook of childhood cognitive development*. Malden, MA: Blackwell Publishers Ltd; 2002, p. 445-70.
38. Kodituwakku PW, May PA, Clericuzio CL, Weers D. Emotion-related learning in individuals prenatally exposed to alcohol: an investigation of the relation between set shifting, extinction of responses, and behavior. *Neuropsychologia* 2001;39:699-707.
39. Kodituwakku PW, Kalberg W, May PA. The effects of prenatal alcohol exposure on executive functioning. *Alcohol Res Health* 2001;25:192-8.
40. Conry J. Neuropsychological deficits in fetal alcohol syndrome and fetal alcohol effects. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:650-5.
41. Becker M, War-Leeper GA, Leeper HA Jr. Fetal alcohol syndrome: A description of oral motor, articulatory, short-term memory, grammatical, and semantic abilities. *J Com Disord* 1990;23:97-124.
42. Abkarian GG. Communication effects of prenatal alcohol exposure. *J Com Disord* 1992;25:221-40.
43. Streissguth AP, Barr HM, Olson HC, Sampson PD, Bookstein FL, Burgess DM. Drinking during pregnancy decreases word attack and arithmetic scores on standardized tests: adolescent data from a population-based prospective study. *Alcohol Clin Exp Res* 1994;18:248-54.
44. Church MW, Kaltenbach JA. Hearing, speech, language, and vestibular disorders in the fetal alcohol syndrome: A literature review. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21:495-512.
45. Greene T, Earnhart CB, Martier S, Sokol R, Ager J. Prenatal alcohol exposure and language development. *Alcohol Clin Exp Res*. 1990;14:937-45.
46. Fried PA, O'Connell CM, Watkinson B. 60- and 72-month follow-up of children prenatally exposed to marijuana, cigarettes, and alcohol: cognitive and language assessment. *J Dev Behav Pediatr* 1992;13:383-91.

47. Uecker A, Nadel L. Spatial locations gone awry: Object and spatial memory deficits in children with fetal alcohol syndrome. *Neuropsychologia* 1996;34: 209-22.
48. Mattson SN, Riley EP, Delis DC, Stern C, Jones KL. Verbal learning and memory in children with fetal alcohol syndrome. *Alcohol Clin Exp Res.* 1996;20:810-6.
49. Mattson SN, Gramling L, Delis DC, Jones KL, Riley EP. Global-local processing in children prenatally exposed to alcohol. *Neuropsychol Dev Cogn C Child Neuropsychol* 1996;2:165-75.
50. Streissguth AP, Barr HM, Martin DC. Maternal alcohol exposure and neonatal habituation assessed with Brazelton scale. *Child Dev* 1983;54:1109-18.
51. Berman RF, Hannigan JH. Effects of prenatal alcohol exposure on hippocampus: spatial behavior, electrophysiology, and neuroanatomy. *Hippocampus* 2000;10:94-110.
52. Sutherland RJ, Mc Donald RJ, Savage DD. Prenatal exposure to moderate levels of ethanol can have long-lasting effects on learning and memory in adult offspring. *Psychobiology* 2000;28: 532-9.
53. Hamilton DA, Kodituwakku P, Sutherland RJ, Savage DD. Children with fetal alcohol syndrome are impaired at place learning but not cued-navigation in a virtual Morris water task. *Behav Brain Res* 2003;143:85-94.
54. Willford JA, Richardson GA, Leech SL, Day NL. Verbal and visuospatial learning and memory function in children with moderate prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28:497-507.
55. Mattson SN, Roebuck TM. Acquisition and retention of verbal and nonverbal information in children with heavy prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:875-82.
56. Kaemingk KL, Mulvaney S, Halverson PT. Learning following prenatal alcohol exposure: performance on verbal and visual multitrial tasks. *Arch Clin Neuropsychol* 2002;18:33-47.
57. Kopera-Frye K, Dehaene S, Streissguth AP. Impairments of number processing induced by prenatal alcohol exposure. *Neuropsychologia* 1996;34:1187-96.
58. Dehaene S. *The number sense*. New York: Oxford University Press; 1997.
59. LaDue RA, Streissguth AP, Randels SP. Perinatal substance abuse: Research findings and clinical implications. John Hopkins University Press, Baltimore 1992.
60. Thomas SE, Kelly SJ, Mattson SN, Riley EP. Comparison of social abilities of children with fetal alcohol syndrome to those of children with similar IQ scores and normal controls. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:528-33.
61. Whaley SE, O'Connor MJ, Gunderson B. Comparison of the adaptive functioning of children prenatally exposed to alcohol to a nonexposed clinical sample. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25:1018-24.
62. Spohr HL, Steinhausen H.-Chr. Follow-up studies of children with fetal alcohol syndrome. *Neuropediatrics* 1987;18:13-7.
63. Auti-Rämö I. Twelve-year follow-up of children exposed to alcohol in utero. *Dev Med Child Neurol* 2000;42:406-11.
64. Thomas M, Karmiloff-Smith A. Are developmental disorders like cases of adult brain damage? Implications from connectionist modelling. *Behav Brain Sci* 2002;25:727-88

TRATTAMENTO E RIABILITAZIONE: QUALI INTERVENTI?*

Wendy O. Kalberg, David Buckley

Center on Alcoholism, substance Abuse and Addictions, University of New Mexico, Albuquerque, NM, USA

Introduzione

La sindrome fetoalcolica (FAS, *Fetal Alcohol Syndrome*) è presente nella maggior parte delle aree del mondo. Uno studio recentemente condotto in Italia, nelle vicinanze di Roma, ha riscontrato in un gruppo di bambini esposti all'alcol le caratteristiche tipiche o della sindrome fetoalcolica vera e propria o dello spettro FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) ovvero l'insieme dei disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol (1). Le conseguenze che l'esposizione prenatale ad alcol ha sullo sviluppo dipendono da molti fattori diversi, tra cui la quantità e il pattern temporale dell'esposizione stessa, l'età e le condizioni nutrizionali della madre, nonché l'intelligenza e il livello di educazione di entrambi i genitori. Tali conseguenze sono dunque molto variabili, e non tutti i bambini che sono stati esposti a considerevoli quantitativi di alcol mostrano tutte le caratteristiche della sindrome fetoalcolica.

Non è facile stabilire in quali casi l'esposizione produca effetti neurocomportamentali avversi: secondo alcuni ricercatori, anche sette unità alcoliche a settimana possono bastare a mettere a rischio i processi di sviluppo (2). Nella valutazione di tali effetti occorre considerare un insieme complesso di variabili: a determinare la gravità delle conseguenze e le potenzialità evolutive contribuiscono, infatti, tanto fattori genetici quanto fattori ambientali (le condizioni nutritive del bambino, il suo stato di salute generale, lo stile genitoriale, ecc.), così come le condizioni di salute e di nutrizione materne. Essendo i fattori causali così complessi e le conseguenze sullo sviluppo così variabili, gli studiosi della FAS hanno cominciato a riferirsi a un continuum che comprende l'intero spettro degli effetti osservati nei bambini le cui madri hanno fatto uso di bevande alcoliche in gravidanza (FASD).

Processo di valutazione e sviluppo dei profili di apprendimento

Sia negli Stati Uniti che in Italia, i sistemi educativi prevedono che i bambini con bisogni speciali vengano iscritti alle classi regolari in tutti i casi in cui ve ne sia la possibilità (al fine di educarli in un ambiente che sia il meno restrittivo possibile) (3-5). Ciò vuol dire che ai bisogni individuali del soggetto con disabilità va risposto nel contesto di una classe normale. Il fine ultimo, nel mettere a punto un piano educativo adatto ai soggetti esposti ad alcol, è quello di determinare quale sia il modo migliore di aiutare il singolo bambino nel contesto della sua casa, della sua scuola e della sua comunità di riferimento. Se il principio guida è rappresentato dalla

* Versione in italiano ampiamente rielaborata e aggiornata dal testo originale: Kalberg WO, Buckley D. FASD: what types of intervention and rehabilitation are useful. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):278-85.

filosofia dell'inclusione, il primo passo da fare per mettere a punto programmi dedicati ai bambini con questo tipo di problemi consiste nel determinare chiaramente il profilo di apprendimento di ciascun soggetto. Benché i bambini con FAS abbiano ricevuto tutti la stessa diagnosi, il profilo di apprendimento individuale di ciascuno di essi è, infatti, unico. Gli interventi scolastici appropriati dovrebbero offrire il supporto accademico e funzionale necessario affinché ogni bambino possa sviluppare le abilità di cui ha bisogno per diventare un adulto indipendente. La strada verso il funzionamento adulto indipendente comincia da un'attenzione precoce alle abilità accademiche e funzionali di ciascun singolo bambino.

Molto spesso, i bambini con problemi cognitivi e comportamentali legati all'esposizione prenatale ad alcol richiamano l'attenzione del sistema educativo proprio a causa delle loro difficoltà di apprendimento e/o di comportamento, e non perché abbiano ricevuto una diagnosi di FAS. Quando questo avviene, la scuola avvia generalmente un iter di valutazione delle capacità e delle difficoltà individuali del bambino. Tale valutazione comprende molto spesso la misurazione del Quoziente Intellettivo (QI) per mezzo di test standardizzati, la somministrazione di test di profitto, e lo screening specifico di eventuali disturbi dell'apprendimento.

Mediamente, i punteggi di intelligenza dei bambini prenatalmente esposti ad alcol vanno a situarsi due deviazioni standard al di sotto della media. I soggetti con FAS presentano all'incirca nel 50% dei casi ritardo mentale, ma ottengono in realtà una gamma di punteggi QI che va da valori corrispondenti a ritardo grave a valori elevati (6). A causa di tale variabilità dei punteggi di QI e dei deficit delle funzioni cognitive superiori (7-11) è necessario mettere a punto per ciascuno di essi un programma di apprendimento individuale. Molti di quelli con diagnosi di FASD non sono eleggibili all'accesso a servizi speciali, poiché le loro abilità intellettive rientrano spesso nella media.

Per i bambini di intelligenza media prenatalmente esposti all'alcol la miglior soluzione consiste nella somministrazione di una batteria di test atti a rilevare eventuali problematiche specifiche relative all'attenzione, all'apprendimento e al recupero verbale, alla memoria verbale, uditiva e spaziale, e all'elaborazione dell'informazione uditiva e verbale. Tipicamente, l'iter scolastico prevederà la seguente batteria standard: test del QI, prove di profitto e valutazione delle competenze adattive. Inoltre, è consigliabile avvalersi di test neurocomportamentali atti a delucidare meglio il profilo di apprendimento individuale dei bambini.

I soggetti che sono stati esposti a quantità moderate di alcol possono non presentare tutte le caratteristiche fisiche tipiche della sindrome vera e propria ma manifestare ugualmente problematiche neurocomportamentali, in particolare nell'ambito del funzionamento esecutivo. Quest'ultimo consiste nelle abilità cognitive che permettono a un individuo di pianificare e ordinare in sequenza i comportamenti più efficaci per il raggiungimento di un obiettivo. I neuroscienziati valutano tali capacità presentando ai soggetti problemi la cui soluzione richiede lo sforzo di decidere quali azioni intraprendere avvalendosi della memoria di lavoro (ovvero mantenendo e manipolando mentalmente le informazioni possedute). Inoltre, sempre nell'ambito del paradigma del funzionamento esecutivo, vengono di solito esaminate le capacità attentive.

Il funzionamento esecutivo dei bambini esposti prenatalmente ad alcol è stato indagato in diversi studi. È risultato che sia gli individui con diagnosi di FAS sia quelli con esposizione nota ma privi di tale diagnosi presentano difficoltà in quest'ambito (9). Deficit del funzionamento esecutivo sono stati rilevati anche in bambini i cui punteggi di intelligenza rientravano nella media. Specificamente, i soggetti mostravano notevoli difficoltà nel portare a termine compiti complessi basati sull'utilizzo della memoria di lavoro, nel *set-shifting* (sia cognitivo sia emozionale), nella pianificazione, nella flessibilità cognitiva, nell'inibizione selettiva, nella formazione di concetti e nel ragionamento (8). Questo tipo di problemi sembra inoltre

strettamente correlato ai disturbi del comportamento che vengono frequentemente osservati nei bambini esposti prenatalmente ad alcol.

Riteniamo che una batteria di test neuropsicologici finalizzata alla valutazione di specifiche aree di funzionamento sia anche in grado di fornire utili informazioni in merito allo stile di apprendimento, alle attitudini e alle difficoltà del bambino. I risultati della valutazione neuropsicologica del funzionamento esecutivo dei soggetti colpiti possono essere utili in particolare in due modi: in primo luogo, contribuendo a una migliore comprensione degli effetti neurocomportamentali esercitati sullo sviluppo dall'esposizione ad alcol; e, in secondo luogo, fornendo importanti informazioni sui processi di attenzione, memoria, *problem-solving* e controllo inibitorio – la cui valutazione è a sua volta di importanza decisiva per la messa a punto di interventi personalizzati che rispondano ai bisogni specifici di ciascun bambino. Questo tipo di valutazione permette alla famiglia, al personale medico e agli insegnanti di comprendere con maggiore chiarezza i problemi che interferiscono con un apprendimento e con un comportamento normale – in classe, a casa e più in generale nella comunità di appartenenza. La sezione che segue descrive i deficit empiricamente osservati nei bambini esposti prenatalmente ad alcol e i problemi funzionali che ne derivano.

Problemi funzionali connessi a deficit del funzionamento esecutivo

Come abbiamo visto, i disturbi del funzionamento esecutivo sono piuttosto comuni nei bambini che sono stati prenatalmente esposti ad alcol (7-11). Le difficoltà di questo tipo possono impedire di portare a termine con successo anche alcuni tra i compiti più semplici inerenti alla vita quotidiana, l'ambito accademico e il *problem-solving* in generale. Le difficoltà associate a deficit del funzionamento esecutivo possono essere suddivise in due grandi categorie: quelle su base cognitiva e quelle su base emozionale.

Le limitazioni su base cognitiva possono manifestarsi nell'incapacità di comprendere e mantenere in memoria le specifiche sequenze di una varietà di compiti previsti dalla vita quotidiana e da quella accademica. Per esempio, i bambini con questo tipo di problemi hanno difficoltà a seguire i diversi passi di cui è composta una routine quotidiana tipica, le diverse fasi implicite negli scambi sociali e le tipiche sequenze di apprendimento. Alla maggior parte di noi le routine quotidiane appaiono chiare, e non abbiamo bisogno di compiere un grande sforzo cognitivo per mantenerne la comprensione, ma non è detto che sia così per un bambino che risenta di danni da esposizione prenatale ad alcol. Egli può anzi avere bisogno di un supporto ambientale che lo aiuti a “mantenere la rotta” della tipica routine di un giorno qualunque. Analogamente, la maggior parte di noi apprende in età precoce l'appropriata sequenzialità degli scambi sociali, e lo fa per lo più osservando gli altri e lasciandosi guidare dagli adulti o dagli altri bambini con cui interagisce, così che di solito non è necessario alcun insegnamento esplicito. Per i bambini che sono stati esposti prenatalmente ad alcol, invece, le fasi successive di cui si compongono le interazioni sociali possono non essere così evidenti e facili da comprendere, ed essi possono aver bisogno di mandarle a memoria e di consolidarne l'apprendimento con la ripetizione.

Anche le sequenze inerenti all'apprendimento possono essere molto difficili da afferrare per un bambino con FASD. Nei processi di apprendimento, molti compiti richiedono l'utilizzo di abilità di funzionamento esecutivo basate sulla cognizione. Un buon esempio è costituito dall'aritmetica. Per eseguire correttamente un compito di calcolo è necessario comprendere chiaramente l'ordine e la funzione specifica dei numeri su cui si sta lavorando. Se tali ordini e tali funzioni non vengono cognitivamente trattiene nella memoria di lavoro, e se i passi successivi che servono a risolvere correttamente il problema non vengono compresi, il bambino non riuscirà a completare il compito con successo.

I soggetti con deficit del funzionamento esecutivo hanno difficoltà a mantenere in memoria le informazioni per poterle utilizzare in seguito (memoria di lavoro), a risolvere nuovi problemi, a pianificare una sequenza di azioni finalizzata al raggiungimento di un obiettivo, e a mantenere l'attenzione necessaria a portare a termine un compito. In classe, ciò può tradursi nell'incapacità del bambino di seguire le indicazioni dell'insegnante, di trattenere le informazioni che gli sono state fornite in precedenza, di generalizzarle da una situazione a un'altra o di organizzare gli eventi secondo una sequenza o una successione temporale logica. Anche le abilità organizzative più generali possono rappresentare una sfida per un alunno che sia stato prenatalmente esposto ad alcol: egli può trovare molto difficile mettere e tenere a posto i suoi oggetti personali e il materiale scolastico, organizzare indipendentemente una sequenza appropriata per lo svolgimento di un compito di apprendimento, e comprendere che la maggior parte dei compiti ha un inizio, una fase intermedia e una fine. Inoltre, i deficit della memoria di lavoro interferiscono con l'acquisizione delle abilità accademiche: gli strumenti necessari si sviluppano spesso assai più lentamente nei bambini con FAS, così che l'acquisizione di concetti fondamentali – come quelli corrispondenti alle forme, alle lettere, ai numeri e alle parole – presenta per loro più di una difficoltà.

Mirsky *et al.* (12) hanno proposto di definire l'attenzione mediante un modello teorico a quattro componenti: attenzione focalizzata, attenzione sostenuta, spostamento dell'attenzione e codifica di nuove informazioni. Servendosi di questo modello, Claire Coles *et al.* (13) hanno confrontato bambini con diagnosi di FAS e bambini con diagnosi di disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività (ADHD, *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*) e hanno rilevato che, mentre questi ultimi avevano maggiori difficoltà a focalizzare e a mantenere l'attenzione, i bambini con FAS trovavano particolarmente problematico spostarla e codificare nuove informazioni. Le difficoltà di spostamento dell'attenzione implicano una maggiore tendenza alla perseverazione. Il bambino può allora trovare estremamente difficoltoso passare da un argomento all'altro, rimanere confuso di fronte a un cambiamento della routine, o opporsi agli spostamenti da un luogo a un altro. Inoltre, chi ha problemi attentivi di questo tipo può rimanere notevolmente frustrato e perplesso di fronte a cambiamenti di vita come quelli che possono riguardare i componenti del nucleo familiare o il trasferimento da una scuola a un'altra, e persino da una classe alla classe successiva.

Esaminando l'apprendimento e la memoria verbale e visuospatiale di bambini esposti prenatalmente a moderati quantitativi di alcol, Willford *et al.* (11) hanno rilevato un deficit generalizzato dell'apprendimento (codifica) e della memoria, un disturbo dell'apprendimento (codifica) e della memoria specificamente relativi al dominio uditivo-verbale, e un malfunzionamento dei processi di codifica/immagazzinamento e recupero. In altri termini, questi bambini avevano serie difficoltà a cogliere nuove informazioni verbali mediante i canali uditivi e a mantenere tali informazioni in memoria per utilizzarle in seguito. Tali deficit sono in linea con quelli precedentemente osservati in bambini esposti prenatalmente a notevoli quantitativi di alcol (14-16). Essi si traducono, a livello funzionale, in difficoltà relative al recupero dell'informazione uditivo-verbale, al seguire indicazioni presentate in forma verbale, e alla capacità di generalizzare le informazioni da un contesto a un altro. Queste caratteristiche dei bambini prenatalmente esposti ad alcol danno luogo a quello che potremmo chiamare un "paradosso produzione/comprendimento": infatti, i soggetti con FAS risultano spesso loquaci e provvisti di un vocabolario piuttosto ampio, e tuttavia, a causa della memoria verbale deficitaria, hanno capacità di comprensione notevolmente inferiori alle capacità espressive, finendo in tal modo per sembrare molto più abili di quanto non siano.

I deficit del funzionamento esecutivo su base emozionale si manifestano per lo più sotto forma di un'incapacità di inibizione delle risposte. In altri termini, i bambini prenatalmente esposti ad alcol hanno spesso difficoltà a "trattenere" le proprie risposte alle persone e alle

circostanze. Possono allora parlare o agire in maniera inappropriata. Questo problema si può manifestare anche sotto forma di un eccesso di attività. Può accadere che, in classe, il bambino dica qualcosa prima ancora di essersi chiesto se ciò che sta per dire è adeguato o meno alla situazione. Per i soggetti con FASD, comprendere che cosa sia o non sia appropriato per una determinata circostanza può non essere facile. Essi hanno inoltre difficoltà a controllare le proprie emozioni e nell'interazione con gli altri mostrano frequenti "passaggi all'atto".

Quello di agire senza considerare le conseguenze delle proprie azioni è un tratto caratteristico dei bambini con FAS. Per esempio, essi sono spesso socialmente intrusivi: invadono lo spazio personale degli altri bambini, non riescono a "trattenersi" per attendere il proprio turno, e sotto il profilo comunicativo parlano in maniera "avventata" e inappropriata. Sono tutti esempi delle difficoltà che questa popolazione ha con la "pragmatica sociale" (le regole e le alternanze proprie delle interazioni sociali). Logicamente, deficit di questo tipo interferiscono notevolmente con le capacità del bambino di fare amicizia e di mantenere le relazioni.

Perché il soggetto possa comprendere i propri problemi di apprendimento, tuttavia, sono i professionisti che lavorano con lui a dover portare a termine una valutazione completa e approfondita delle sue capacità, in base alla quale identificarne i punti di forza e di debolezza e individuare la migliore strategia di supporto ambientale e accademico. Per farlo al meglio è consigliabile servirsi di una combinazione di strumenti e procedure. Al fine di determinare le aree specifiche in cui il bambino ha bisogno di aiuto occorre esaminarne le abilità neurocognitive, le prestazioni accademiche, il profilo comportamentale e le capacità adattative. Inoltre, è importante studiare il suo specifico ambiente di apprendimento per poter mettere a punto un adeguato programma di supporto ambientale.

Diagnosi vs valutazione: una distinzione importante

Una volta posta la diagnosi, il problema diventa quello di determinare i bisogni individuali di ciascun bambino mediante processi di tipo valutativo (*assessment*). Questi ultimi sono chiamati a stabilire i supporti e le modifiche specificamente adeguate a ciascun singolo caso, e vanno a definire direttamente gli scopi generali e gli obiettivi specifici che saranno inclusi nel piano educativo individualizzato. Spesso le scuole passano direttamente dalla valutazione dell'eleggibilità alla definizione degli scopi e degli obiettivi, senza approfondire nel dettaglio le reali abilità del bambino e i reali bisogni che esso potrebbe avere nei vari ambienti scolastici. Una valutazione scolastica completa può essere effettuata in molti modi diversi. Idealmente, essa dovrebbe essere basata sulle informazioni ottenute da svariate fonti: dai genitori, dagli insegnanti precedenti e dall'osservazione del bambino in diversi contesti.

Accorpare le informazioni derivate da questi processi valutativi ai dati empirici di cui siamo in possesso relativamente ai bambini con FASD (e, in particolare, ai loro possibili problemi cognitivi, comportamentali e accademici), è possibile cominciare a creare il profilo individuale di ciascun bambino. I risultati della valutazione, assieme ai deficit documentati nella popolazione di riferimento (in base ai quali ci si orienta nella ricerca), rendono possibile individuare il migliore metodo di intervento scolastico applicabile al singolo caso.

È importante a questo punto ribadire quanto sia importante, per la pianificazione degli interventi, basarsi sulle caratteristiche di ciascun singolo bambino e del suo specifico profilo di apprendimento. Ogni soggetto con FASD è un individuo, e il tipo di supporto di cui ha bisogno dipende dalla sua particolare situazione.

Valutazione funzionale

Al fine di comprendere i punti di forza e di debolezza di uno specifico bambino occorre valutarne le abilità funzionali nella vita quotidiana. Le informazioni ottenute mediante tale valutazione vanno a completare quelle derivate dai test diagnostici (QI, abilità accademiche, comportamentali e neuropsicologici), dalla famiglia e dai reali risultati scolastici. Come intraprendere questo processo di valutazione funzionale? Per prima cosa, esso deve includere un'approfondita osservazione del bambino, e deve essere eseguita in molteplici contesti naturali. Ciò aiuta l'osservatore a valutare come il soggetto "funziona" in differenti contesti e a stimare l'impatto che sulle sue capacità hanno le condizioni ambientali. Le osservazioni vanno condotte in almeno due o tre occasioni diverse per ciascuno dei molteplici contesti, così da poter evidenziare eventuali problemi "innescati" da un contesto specifico e da poter valutare il bambino nel corso del tempo. Le osservazioni multiple permettono di delineare le abilità attuali e di determinare quali aspettative si possano ragionevolmente avere per il futuro. Questo processo comporta inoltre una migliore comprensione delle condizioni che potrebbero essere necessarie al bambino per poter raggiungere un "funzionamento" ottimale, così come di quelle che potrebbero al contrario impedirglielo. I fattori chiave da valutare nel corso delle osservazioni sono i seguenti: 1) abilità, 2) attenzione, 3) indipendenza, 4) interazioni sociali, 5) linguaggio funzionale, 6) punti di forza e interessi, e 7) comportamento.

Una volta completate questa valutazione informale e la valutazione funzionale del comportamento, la scuola e la famiglia possono congiuntamente utilizzare le informazioni che ne derivano per mettere a punto per il bambino uno specifico profilo di apprendimento. I risultati dei test formali e di questi processi di *assessment* rivelano tanto i bisogni quanto i punti di forza del soggetto, e vanno tutti insieme a completare una sorta di puzzle dal quale può finalmente prendere le mosse la pianificazione del programma di intervento. I profili di apprendimento sono unici, proprio come gli esseri umani: benché possano presentare delle similarità, ciascun profilo riflette l'unicità del bambino cui è riferito, e non esistono due profili di apprendimento uguali.

Intervento

Strutturazione e insegnamento sistematico

Quando un bambino con FASD viene inserito in una classe di coetanei, va tenuto presente che non necessariamente le sue abilità corrisponderanno a quelle dei compagni. Occorre quindi dedicare tutto il tempo necessario alla valutazione delle sue reali capacità per poter pianificare attività educative corrispondenti agli stadi evolutivi appropriati. Occorre inoltre prendere attentamente in considerazione i supporti e le modifiche ambientali delle quali il bambino può avere bisogno.

Può essere utile pensare all'ambiente come a una sorta di sistema nervoso esterno, in cui è possibile implementare supporti appunto esterni (ambientali) che sostengano il soggetto nelle sue aree deficitarie. Per il successo dell'intervento sui bambini con FASD, caratterizzati peraltro da una notevole variabilità dei problemi di apprendimento, un'appropriata strutturazione dell'ambiente è imprescindibile. Nel contesto educativo, essa aiuta il soggetto a comprendere che cosa ci si aspetta da lui. A volte, tuttavia, di fronte all'escalation del comportamento del bambino, si sente la necessità di tenerlo maggiormente sotto controllo, e in tal senso è molto importante sforzarsi di capire quando la struttura è appropriata ai suoi bisogni e quando invece essa risponde soprattutto a un desiderio di controllo da parte degli adulti. È consigliabile in

questi casi cercare di capire che cosa non sta funzionando e ri-strutturare l'ambiente in base alle nuove considerazioni. Infine, nella fase di implementazione, è molto importante tenere conto del fatto che i bambini con FASD hanno spesso difficoltà a trasferire le informazioni da una situazione a un'altra.

La strutturazione ambientale (routine funzionali e insegnamento strutturato) è uno strumento molto utile alla popolazione con FASD. Le routine funzionali vengono utilizzate naturalmente da tutti noi e forniscono una struttura che offre la possibilità di prevedere e comprendere chiaramente le azioni che stanno per verificarsi e le giuste sequenze da seguire per portare a termine un compito. Esse danno ai genitori e agli insegnanti l'opportunità di impartire un insegnamento sistematico. Per prima cosa, occorre identificare i compiti, le abilità e le attività che possono essere insegnate mediante la pratica delle routine, come per esempio il vestirsi, il prepararsi per andare a dormire, il lavarsi, ecc. Per insegnare una routine funzionale va quindi creato un apposito piano, che include lo sviluppo delle strategie/obiettivi, l'identificazione del luogo più idoneo e dei materiali necessari, e la determinazione dei passi successivi da seguire, dei segnali che indicheranno l'inizio della routine, e delle risposte che ne indicheranno un'esecuzione corretta o non corretta. L'insegnamento delle routine funzionali in età precoce offre al bambino una chiarezza e un'organizzazione alle quali esso può imparare ad appoggiarsi.

Strutturazione visiva

Essa rende l'ambiente e i compiti di apprendimento prevedibili e chiari dal punto di vista visivo. Dando struttura alla giornata di un bambino non soltanto gli si rende la vita maggiormente prevedibile ma gli si offre anche un supporto esterno che lo assiste nelle sue capacità organizzative. Le tecniche di strutturazione esterna fungono da compensazione dei deficit presenti in aree quali il funzionamento esecutivo, il *set-shifting*, la memoria di lavoro e l'attenzione. La strutturazione visiva comprende la strutturazione fisica dell'ambiente, atta a ridurre le possibilità di distrazione sia visiva sia uditiva, l'utilizzo di programmi della giornata individualizzati e delle routine, e la strutturazione del compito, che offre visivamente organizzazione, chiarezza e istruzioni.

Per quanto riguarda l'organizzazione visiva, è possibile per esempio utilizzare dei contenitori per tenere separati i differenti materiali o delimitare con dei nastri le diverse zone di una stanza in cui vengono svolte le diverse attività. La chiarezza visiva è ottenibile mettendo in evidenza le informazioni più importanti e pertinenti relative a un determinato compito o attività, assegnando diversi colori alle diverse aree contenutistiche o etichettando i differenti compiti. Le istruzioni visive offrono al bambino indicazioni chiare relative alla sequenza di azioni da seguire per completare il compito: esse prevedono per esempio l'utilizzo di frecce di orientamento, la numerazione delle azioni successive che compongono una data sequenza o la loro descrizione per iscritto, e il fornire al soggetto un esempio di compito già finito perché esso possa vedere che cosa ci si aspetta da lui.

Uno strumento di strutturazione visiva frequentemente utilizzato è costituito dai programmi della giornata. Essi possono essere di diverso tipo e vengono utilizzati per diversi scopi. Molti di noi se ne servono normalmente per organizzare la giornata o la settimana: c'è chi compila liste, chi scrive sul calendario e chi ha l'agenda. Questi schemi o prospetti visivi aiutano a stabilire che cosa accadrà nel corso della giornata e in quale sequenza i diversi eventi si susseguiranno. Ai bambini con FASD essi sono particolarmente utili, poiché permettono di alleviare l'ansia legata ai momenti di transizione e di reperire facilmente le informazioni grazie alle quali è possibile anticipare e predire che cosa accadrà dopo e in quale ordine. Essi risultano inoltre motivanti, in quanto forniscono al bambino dei riferimenti concreti che gli dicono quanto durerà ancora la giornata. Poiché possono essere modificati a seconda delle esigenze dell'ambiente,

questi programmi favoriscono anche la flessibilità del pensiero. Infine, essi aiutano il bambino a lavorare con una certa indipendenza, appoggiandosi allo schema (un oggetto) piuttosto che non all'insegnante (una persona).

Strutturazione ambientale

Essa contribuisce a mettere il bambino nelle condizioni ottimali per l'apprendimento e a definire ciò di cui c'è bisogno in un particolare ambiente. Per esempio, può accadere che un soggetto con FASD sia in grado di portare a termine compiti accademici di una certa difficoltà, per i quali sono necessarie concentrazione vigile e attenzione, solamente se si trova in uno spazio privo di elementi distraenti di natura visiva e uditiva. Questi bambini vengono spesso distratti dalla confusione visiva, per cui un ambiente semplice, in cui il numero e la "vistosità" delle decorazioni siano ridotti al minimo, può essere di notevole aiuto.

Un altro esempio di strutturazione ambientale è costituito da una chiara differenziazione degli spazi dedicati alle diverse attività: possono allora essere presenti, all'interno della classe, un "angolo" per l'aritmetica, uno per la lettura, uno per l'informatica, ecc. Questo fa sì che l'alunno possa comprendere meglio l'ambiente in cui si trova e le aspettative specifiche a esso collegate, rendendo meno probabile il manifestarsi di difficoltà comportamentali.

Strutturazione del compito

Anche la strutturazione specifica dei compiti, fornendo al soggetto una traccia chiara e sistematizzata da seguire, può rivelarsi estremamente utile per i bambini con FASD. Essi possono in tal modo capire che cosa ci si aspetta da loro, quanti compiti devono eseguire, quando un compito è terminato e quale compito viene dopo.

Inoltre, è possibile strutturare un compito specifico in modo da far comprendere al bambino i passi successivi da compiere per portarlo a termine, rendendone chiari l'inizio, la fase intermedia e la fine. A volte è utile in tal senso l'esempio di un compito analogo completato correttamente, altre volte le diverse fasi possono essere sottolineate da materiali che utilizzano un codice di colori.

Terapia dei controlli cognitivi

Attualmente il nostro gruppo sta conducendo, negli Stati Uniti e in Sudafrica, una serie di ricerche pilota finalizzate alla valutazione di alcune modalità di intervento scolastico a favore dei bambini con diagnosi di FAS o FASD. Il metodo più promettente sembra essere rappresentato dalla terapia dei controlli cognitivi (17). Si tratta di un intervento basato su un processo di costruzione progressiva delle abilità, che culmina nell'acquisizione da parte del bambino della capacità di comprendere il proprio stile e le proprie difficoltà di apprendimento. Tale approccio metacognitivo ha dato finora buoni risultati.

Prima di entrare nei dettagli del paradigma della terapia dei controlli cognitivi, è importante vedere che cos'è la cognizione e in che modo la teoria dei processi metacognitivi può esserci d'aiuto. A partire da Jean Esquirol (18) che per primo, nel 1838, operò la distinzione tra deficienza mentale e malattia mentale, fino a Howard Gardner (19) che nel 1983 elaborò la teoria delle intelligenze multiple identificando otto competenze intellettive autonome, molti studiosi si sono fatti promotori di diversi modelli finalizzati alla descrizione della cognizione e dell'abilità intellettuale. Oggi, a prescindere dalla specifica teoria professata, i ricercatori sono tutti d'accordo nel ritenere importante la nozione secondo la quale l'intelligenza/cognizione

dipende da un lato dalla biologia e dai processi evolutivi o di sviluppo e dall'altro dall'esperienza, che la modifica.

Una delle teorie proposte per spiegare il funzionamento dell'intelletto/cognizione è quella dell'elaborazione delle informazioni *information-processing* (20). Essa si occupa del modo in cui gli individui creano rappresentazioni mentali a partire dagli input ricevuti e di come tali informazioni vengono poi elaborate a un livello più profondo, e considera la cognizione umana come un processo che si verifica secondo una successione di stadi discreti. Le informazioni vengono prima ricevute e quindi trasferite a uno stadio di ordine superiore per l'ulteriore elaborazione mentale. L'attenzione, lo span di memoria, le capacità di ritenzione e la velocità di codifica e decodifica dell'informazione sono tutti fattori che contribuiscono a determinare l'abilità di ricezione dell'input primario. Essi sono legati a loro volta alle capacità percettive e riflettono le abilità sensoriali e l'integrità del sistema nervoso dell'individuo.

Una volta ricevuta, l'informazione viene ulteriormente elaborata da processi mentali di ordine superiore (sistema esecutivo) che consistono nei controlli esecutivi, ovvero in una serie di fattori appresi che guidano la soluzione di problemi, come: 1) le conoscenze di base, 2) gli schemi, 3) i processi di controllo, e 4) la metacognizione. Tali fattori sono interdipendenti tra loro e comprendono le conoscenze possedute, l'attenzione, la pianificazione, il recupero delle informazioni dalla memoria a lungo termine, la memoria di lavoro, l'assimilazione e l'accomodamento delle informazioni nuove, e quindi l'utilizzo di strategie come quelle di auto-valutazione (*self-checking*) e di reiterazione (*rehearsal*) per ottenere una maggiore generalizzazione delle informazioni (processi di controllo cognitivo). Infine, le informazioni vengono filtrate dai processi metacognitivi. Questi consistono nell'avere consapevolezza delle proprie strategie e processi di pensiero, e permettono dunque di sapere, per esempio, se una certa strategia finalizzata all'apprendimento di determinate informazioni nuove ha funzionato o se viceversa ha ostacolato il processo (21)

L'interrelazione tra l'esperienza interna e l'ambiente esterno è alla base della filosofia cognitiva proposta da Sebastiano Santostefano e dal suo modello dei controlli cognitivi. Il concetto di controllo cognitivo ha origine nei lavori di George Klein (22-23), che era finalizzato a mettere in relazione tra loro la cognizione, l'affetto e la personalità. Klein ha osservato che ciascun individuo utilizza un suo particolare insieme di strategie cognitive per accogliere, evitare, selezionare, comparare e raggruppare le informazioni, e ha teorizzato che le persone si servono di tali strategie allo scopo di coordinare tra loro le informazioni che provengono dalla realtà esterna e quelle che provengono dall'ambiente interno – le emozioni, le fantasie e le motivazioni – e di mantenere in tal modo il controllo adattativo delle informazioni.

Secondo questo approccio, gli individui hanno a disposizione fin dalla nascita un certo numero di controlli cognitivi. I bambini sono dapprima incapaci di dirigere chiaramente il proprio comportamento, e questo passa soltanto progressivamente da uno stato di mancanza di integrazione a uno stato di sempre maggiore differenziazione, articolazione e integrazione. I controlli cognitivi (pattern di elaborazione mentale) costituiscono variabili intervenienti mediante le quali il comportamento motorio, la percezione, la memoria e altri aspetti della cognizione vengono organizzati e infine coordinati in modo che rispondano alle domande specifiche dell'ambiente individuale.

La terapia metacognitiva si concentra su cinque pattern di elaborazione mentale (controlli cognitivi): 1) regolazione sé corporeo-tempo: il modo in cui l'individuo si rappresenta il proprio corpo e ne regola mentalmente i movimenti; 2) attenzione focalizzata: il modo in cui l'individuo esamina un campo di informazioni; 3) articolazione del campo: il modo in cui l'individuo presta selettivamente attenzione a un determinato stimolo ignorando tutti gli altri; 4) livellamento/puntualizzazione: il modo in cui l'individuo confronta le immagini delle

informazioni passate con le percezioni delle informazioni attuali; e 5) suddivisione in classi di equivalenza – il modo in cui l'individuo categorizza e concettualizza le informazioni.

In Sudafrica, abbiamo cominciato a studiare sistematicamente l'efficacia della terapia dei controlli cognitivi in una coorte di bambini con diagnosi di FASD, e più specificamente in 101 individui tra soggetti con FASD e soggetti di controllo. I risultati preliminari ottenuti mediante la *Child Behavior CheckList* (CBCL) di Achenbach (24) appaiono promettenti, in quanto sono stati osservati miglioramenti significativi del comportamento dopo soli sei mesi di intervento. Benché sia troppo presto per valutare la reale entità dei benefici ottenibili, quanto abbiamo conseguito finora fa ben sperare in merito alle potenzialità dei metodi di intervento metacognitivo nel trattamento della popolazione con problemi associati all'esposizione ad alcol.

Ruolo della famiglia

La famiglia ha un ruolo cruciale nel definire e nell'orientare il piano educativo. I professionisti mettono a disposizione la loro competenza, ma per forza di cose essi entrano ed escono dalla vita del bambino con FAS, e vengono remunerati finanziariamente per il loro lavoro. Difficilmente un professionista seguirà il soggetto per l'intero arco della sua vita. Insegnanti e operatori devono dunque riconoscere e prendere nella dovuta considerazione le speranze, i desideri e le volontà dei familiari dei bambini con FAS. Un'ottima risorsa, che può aiutare le scuole a lavorare con le famiglie per mettere a punto insieme gli obiettivi a lungo termine, è costituita da uno strumento di pianificazione educativa sviluppato da Michael Giangreco (25) e chiamato COACH (*Choosing Outcomes and Accommodations for Children*).

Conclusioni

Grazie alle informazioni raccolte nella fase diagnostica e valutativa, ovvero una volta comprese le specifiche difficoltà di apprendimento del singolo alunno con FASD, chi si occupa di educarlo e supportarlo può mettere a punto un piano di intervento adeguato, che sia in grado di aiutarlo a raggiungere risultati migliori. Nel presente articolo abbiamo descritto due possibili metodi di intervento. Il primo consiste nel costruire, all'interno dell'ambiente di apprendimento, supporti esterni finalizzati alla strutturazione e ai processi di insegnamento sistematico. Poiché si tratta di strumenti creati "su misura" per i bisogni specifici di un determinato soggetto, è sempre necessario valutare e rivalutare in corso d'opera se stanno funzionando bene o se è invece consigliabile modificarli in qualche modo. Il secondo metodo, la terapia dei controlli cognitivi, è in corso di valutazione in una coorte di bambini sudafricani e ha dato finora risultati promettenti: il focus sui processi metacognitivi sembra, infatti, in grado di rendere maggiormente mediato e moderato il comportamento scolastico dei soggetti con FASD. Anche in questo caso, si tratta di un processo dinamico e continuo e non di un qualcosa di fatto e concluso.

Per i bambini con FASD, l'ambiente scolastico può essere scoraggiante e difficile da affrontare, sia dal punto di vista accademico sia da quello sociale, e ciò può trasformare la scuola in un'esperienza negativa. Aiutandoli a comprendere metacognitivamente il proprio stile di apprendimento e le proprie difficoltà, gli si dà la possibilità di moderare adeguatamente il proprio comportamento. Le tecniche di strutturazione e di insegnamento sistematico, se adeguatamente adattate alle specifiche esigenze del singolo, sono in grado di rendere il mondo maggiormente comprensibile e prevedibile, e dunque di dare al soggetto un senso di sicurezza e di tranquillità. Se comprende i propri punti di forza e debolezza, e se è sereno e fiducioso

nell'ambiente che lo circonda, il bambino si sente più competente ed è maggiormente disposto ad assumersi i rischi che l'apprendimento comporta, e così ha modo di sviluppare nuove abilità e capacità. Come in un circolo virtuoso, lo sviluppo di nuove abilità promuove a sua volta un concetto maggiormente positivo di sé e, più in generale, un miglioramento della qualità della vita.

Bibliografia

1. May PA, Fiorentino D, Gossage JP, Kalberg WO, Hoyme HE, Robinson LK, *et al.* The epidemiology of FASD in a province in Italy: prevalence and characteristics of children in a random sample of schools. *Alcohol Clin Exp Res* 2006;30(9):1562-75.
2. Jacobson JL, Jacobson SW. Prenatal alcohol exposure and neurobehavioral development: where is the threshold? *Alcohol Health and Research World* 1994;18(1):30-6.
3. Fitch EF. Disability and inclusion: from labeling deviance to social valuing. *Educational Theory* 2002;52:463-77.
4. Lopes J, Monteiro I, Sil V, Quinn MM. Teachers' perceptions about teaching problem students in regular classrooms. *Education and Treatment of children* 2004;27:394-419.
5. Vitello S. Integration of handicapped students in the United States and Italy: a comparison. *International Journal of Special Education* 1991;6(2):386-402.
6. Streissguth A, Barr H, Kogan J, Bookstein F. *Understanding the occurrence of secondary disabilities in clients with fetal alcohol syndrome (FAS) and fetal alcohol effects (FAE). Final Report, August, 1996.* Seattle: University of Washington School of Medicine, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences; 1996.
7. Connor PD, Sampson PD, Bookstein FL, Barr HM, Streissguth AP. Direct and indirect effects of prenatal alcohol damage on executive function. *Developmental Neuropsychology* 2000;18:331-54.
8. Kodituwakku PW, Kalberg WO, May PA. The effects of prenatal alcohol exposure on executive functioning. *Alcohol Health and Research World* 2001;25(3):192-8.
9. Mattson SN, Goodman AM, Caine C, Delis DC, Riley EP. Executive functioning in children with heavy prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:1808-15.
10. Mattson SN, Riley EP. A review of the neurobehavioral deficits in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:279-94.
11. Willford J, Richardson GA, Leech SL, Day NL. Verbal and visuospatial learning and memory function in children with moderate prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28(3): 497-507.
12. Mirsky AF, Anthony BJ, Duncan CC, Ahearn MB, and Kellam SG. Analysis of the elements of attention: a neuropsychological approach. *Neuropsychological Review* 1991;2:109-45
13. Coles CD, Platzman KA, Raskind-Hood CL, Brown RT, Falek A, Smith IE. A comparison of children affected by prenatal alcohol exposure and attention deficit, hyperactivity disorder. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21:150-61.
14. Mattson SN, Roebuck TM. Acquisition and retention of verbal and nonverbal information in children with heavy prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:875-82.
15. Mattson SN, Riley E P, Delis DC, Stern C, Jones KL. Verbal learning and memory in children with fetal alcohol syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:810-6.
16. Streissguth A, Bookstein FL, Sampson PD, Barr HM. Neurobehavioral effects of prenatal alcohol: Part III. PLS analyses of neuropsychological tests. *Neurotoxicology and Teratology* 1989;11:493-507.

17. Santostefano S. *Cognitive control battery (CCB) manual*. Los Angeles: Western Psychological Services; 1988.
18. Esquirol JE. *A treatise on insanity. Des Maladies Mentales*. 1838.
19. Gardner H. *Frames of mind: the theory of multiple intelligences*. New York: Basic Books; 1983.
20. Campione JC, Brown AL. Toward a theory of intelligence: Contributions from research with retarded children. *Intelligence* 1978;2:279-304.
21. Borkowski JG. Signs of intelligence: strategy generalization and meta-cognition. In: Yussen S (Ed.). *The development of reflection in children*. San Diego: Academic Press; 1985. p. 105-44.
22. Klein GS, Schlesinger HJ. Where is the perceiver in perceptual theory? *Journal of Personality* 1949;18:32-47.
23. Klein GS. *Cognitive control and motivation*. New York: Scientific American Reader; 1953.
24. Achenbach TM. *Manual for the child behavior checklist*. Burlington, VT: University of Vermont Department of Psychiatry; 1991.
25. Giangreco MF, Cloninger CJ, Iverson VS. *Choosing outcomes and accommodations for children: A guide to educational planning for students with disabilities*. 2nd ed. Baltimore, Maryland: Brookes Publishing Co.; 2000.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

Roma, ottobre-dicembre 2008 (n. 4) 16° Suppl.