

# INDICE

<b>Presentazione</b> .....	iii
----------------------------	-----

## PRIMA PARTE

---

### Clinica e diagnostica nella donna e nel bambino

<b>Determinanti di genere nelle problematiche alcol-correlate</b> <i>Rosanna Mancinelli</i> .....	3
<b>Stress ossidativo alcol-correlato e differenze di genere</b> <i>Eleonora Barlocchi, Mauro Ceccanti, Rosanna M. Fidente, Rosa Draisci, Rosanna Mancinelli</i> .....	9
<b>Biomarcatori materno-fetali dell'esposizione prenatale all'alcol etilico</b> <i>Simona Pichini, Renata Solimini, Enrica Pizzi, Adele Minutillo, Roberta Pacifici</i> .....	15
<b>Aspetti 80</b>	
<b>clinici della sindrome feto-alcolica</b> <i>Luigi Tarani, Chiara Mancini, Michela Martini, Francesca Tarani, Giovanni Parlapiano, Leonardo Pimpolari, Francesca Mancini</i> .....	34
<b>Disturbi neuro-comportamentali: diagnosi e trattamento</b> <i>Giovanna Coriale, Daniela Fiorentino, Bruna Scalsese, Francesca Di Lauro, Marina Romeo, Mauro Ceccanti</i> .....	49

## SECONDA PARTE

---

### Ricerca clinica e preclinica

<b>Studi genetici sul trasportatore della serotonina per l'individuazione di efficaci trattamenti farmacologici dell'alcol-dipendenza</b> <i>Esterina Pascale</i> .....	63
<b>Alcol e fattori di crescita neuronali</b> <i>Sara De Nicolò, Rosanna Mancinelli, Valentina Carito, Paola Tirassa, Marco Fiore, Mauro Ceccanti</i> .....	69
<b>Alcol e ormoni: differenze di genere</b> <i>Carolina Ferranti, Luca Palleschi, Marco Famele, Carmelo Abenavoli, Rosa Draisci, Rosanna Mancinelli</i> .....	80

## TERZA PARTE

---

### Esperienze sul territorio e strategie di intervento

<b>Prevalenza della sindrome feto-alcolica in Italia e percorsi di prevenzione dei disturbi connessi all'esposizione all'alcol in utero</b> <i>Daniela Fiorentino, Giovanna Coriale, Mauro Ceccanti</i> .....	91
<b>Servizi a supporto delle problematiche legate all'alcol: l'esperienza del Telefono Verde Alcol dell'Istituto Superiore di Sanità</b> <i>Enrica Pizzi, Alessandra Di Pucchio, Luisa Mastrobattista, Roberta Pacifici</i> .....	100
<b>Servizi territoriali e gestione dei problemi alcol-correlati nella donna: esperienze sul campo</b> <i>Claudio Leonardi, Roberto Fagetti, Francesco Flavio Castracane, Elisabetta Faedda, Domenica Rita Gioffré, Annalisa Pascucci, Elena Cortese, Dina Pero, Paola Rizzo, Valentina Scarpino</i> .....	111
<b>Alcol e gravidanza</b> <i>Aldo Maina</i> .....	121
<b>Prevenzione dei problemi alcol-correlati nella donna con particolare riferimento alla gravidanza: esperienza in un servizio specialistico territoriale</b> <i>Vito Donnola</i> .....	129
<b>ONDa: un osservatorio nazionale a tutela della salute della donna</b> <i>Francesca Merzagora</i> .....	132

## PRESENTAZIONE

In questo volume sono raccolti i contributi di esperti italiani che, con varie professionalità, si occupano di problemi alcol-correlati e di salute della donna. I contenuti di questo rapporto sono stati in parte presentati dagli autori in qualità di docenti ai corsi ECM (Educazione Continua in Medicina) sul tema “Donna e alcol” organizzati dall’Istituto Superiore di Sanità (ISS) a partire dal 2007.

Il positivo riscontro che questi corsi formativi hanno ottenuto negli anni ha dimostrato quanto sia vivo l’interesse degli operatori sanitari e sociali verso i problemi alcol-correlati e quanto possano essere utili e ben recepite le informazioni e gli aggiornamenti scientifici proposti dall’ISS. Da tale esperienza nasce la proposta di questa raccolta tematica multidisciplinare che affronta in un’ottica di genere gli svariati aspetti fisici, psichici e comportamentali che caratterizzano gli effetti alcol-correlati.

I contributi qui presentati sono raccolti in tre parti.

- Clinica e diagnostica nella donna e nel bambino;
- Ricerca clinica e preclinica;
- Esperienze sul territorio e strategie di intervento.

Nella prima parte “Clinica e diagnostica nella donna e nel bambino” sono raccolti i lavori riguardanti le peculiarità fisiologiche che contraddistinguono le differenze di genere, i problemi aperti nella clinica e i recenti progressi nella comprensione dei meccanismi patogenetici del danno alcol-correlato e degli effetti teratogeni. Per la diagnostica, sono presentati dati recenti sull’uso dei bioindicatori per individuare esposizione ed eventualmente danno alcol-correlato nella donna e nel neonato esposto ad alcol durante la gravidanza. La sezione si conclude con un lavoro che presenta aggiornamenti sulla diagnosi e il trattamento del bambino affetto da disturbi della sfera neuro-comportamentale dovuti a esposizione alcolica prenatale. Questo tema molto delicato presenta ancora notevoli problematiche e necessita di un intervento terapeutico integrato (bambino-genitori-scuola) sostenuto da un’adeguata formazione dei genitori e degli educatori.

Nella seconda parte sono riportati i risultati di innovative ricerche nel campo della farmacogenetica, della neuroscienze, dell’endocrinologia che dimostrano quanto i problemi alcol-correlati siano il risultato di complesse interazioni tra fattori ambientali e genetici. La ricerca nell’ambito della farmacogenetica dell’alcolismo è volta ad una più dettagliata caratterizzazione dei pazienti che permetta di conoscere l’efficacia del farmaco sul soggetto prima della sua somministrazione per migliorare gli esiti ed evitare effetti tossici e inutili sprechi.

Gli studi di neurobiologia e lo sviluppo di modelli animali stanno ampliando significativamente le conoscenze sull’azione/interazione alcol neurotrofine e, mettendo in relazione la sostanza e i suoi effetti tossici, aprono nuovi orizzonti nelle conoscenze riguardo gli effetti dell’alcol e il trattamento.

Lo studio dei profili ormonali sta dimostrando che c’è uno stretto rapporto tra ormoni sessuali e il consumo alcolico e che gli studi clinici per valutare la inter-relazione tra ormoni sessuali e alcol devono essere interpretati con particolare attenzione. Nella donna tale studio è fortemente complicato dalle variazioni fisiologiche legate alle fasi del ciclo vitale (prima del menarca, in età fertile e dopo la menopausa) nonché alle fasi del ciclo mestruale e alla gravidanza. Nel lavoro vengono affrontati anche problemi relativi ai metodi analitici per la determinazione e lo studio degli ormoni steroidei anche in relazione al tema della prevenzione oncologica.

La terza e ultima parte è innovativa perché raccoglie il contributo scientifico di operatori sanitari che lavorano in ambiti molto diversi e che, rappresentando la loro esperienza sul campo, offrono al lettore l'opportunità di osservare il problema da diversi punti di vista e di valutare possibili soluzioni. Sono riportate le esperienze sul territorio a partire dagli studi innovativi effettuati per la prima volta in Italia nel 2006 per definire e stimare la prevalenza dei disturbi fetali dovuti ad esposizione alcolica (*Fetal Alcohol Spectrum Disorder*, FASD) in Italia. Viene testimoniata l'esperienza maturata dagli operatori del Telefono Verde Alcol (TVAI) 800 632000 dell'Istituto Superiore di Sanità che si qualifica come strumento di interrogazione sulle molteplici informazioni riguardanti l'alcol e rappresenta un importante collegamento tra l'Istituzione e i cittadini. Nella stessa sezione troviamo l'esperienza dei Ser.T in cui sono descritti i vecchi e i nuovi modelli di consumo alcolico a rischio che si diagnosticano nei Ser.T all'interno della popolazione femminile e si confrontano con quelli del sesso maschile. Nella stessa Sezione sono riportati anche i contributi di medici che lavorano per la salute della donna nell'ambito dei servizi territoriali del Servizio Sanitario Nazionale rispettivamente in un grande ospedale a larga utenza del Nord e in un servizio specialistico ambulatoriale territoriale del Sud. Infine, viene testimoniata l'attenzione ai problemi alcol-correlati anche nell'attività di ONDa, l'Osservatorio Nazionale sulla salute della Donna che nasce nel 2005 con l'intento da parte dei suoi fondatori di studiare la salute femminile a 360 gradi nei vari cicli vitali della donna e di promuovere in Italia una maggior attenzione nei confronti della salute di genere presso tutti i livelli della società civile e scientifica.

I curatori ringraziano sentitamente i colleghi che con il loro impegno e la loro preziosa disponibilità hanno reso possibile la realizzazione di questa opera che, ci auguriamo, possa fornire ai lettori strumenti scientifici efficaci per un approccio globale ai problemi alcol-correlati e possa stimolare maggiore attenzione verso le problematiche di genere e i rischi correlati all'esposizione alcolica prenatale.

*I curatori*

**PRIMA PARTE**  
**Clinica e diagnostica nella donna e nel bambino**



# DETERMINANTI DI GENERE NELLE PROBLEMATICHE ALCOL-CORRELATE

Rosanna Mancinelli

Centro Nazionale Sostanze Chimiche, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

## Introduzione

L'uso di alcol è forse uno degli esempi più significativi di come l'azione/interazione di una serie di determinanti di tipo sociale, ambientale, economico e genetico possa sinergicamente produrre una serie di effetti sulla salute a breve e lungo termine. Oggi ciò che più largamente si conosce dell'alcol sono gli effetti immediati come l'incidente stradale, il comportamento morboso o il cambiamento di carattere ma questo rappresenta solo la punta dell'iceberg. In realtà, gli effetti dell'alcol sono molto più complessi e la diffusione delle problematiche alcol-correlate è oggi uno dei più pressanti problemi di salute pubblica nei Paesi occidentali. Facile disponibilità, diffusa accettazione sociale e profondi cambiamenti degli stili di vita favoriscono oggi il diffondersi dell'abitudine al consumo alcolico con conseguenze individuali e sociali difficilmente valutabili ma sicuramente significative. Nel 2010 è stato pubblicato su *The Lancet* un lavoro in cui, per la prima volta, viene misurato e confrontato l'impatto globale sulla società delle 20 sostanze d'abuso più consumate in Gran Bretagna (1). Il modello utilizzato è il *Multicriteria Decision Analysis* (MCDA), e attribuisce a ciascuna sostanza un punteggio da 1 a 100 valutato sulla base di 16 indicatori di danno individuale, sociale e ambientale. I dati dimostrano che, globalmente, il *burden of disease* dell'alcol è superiore alle altre sostanze d'abuso e che l'alcol è quella più dannosa per la società con un punteggio di 72, seguita da eroina (55) e crack/cocaina (54). Al di là di opinioni e soggettive quindi, i risultati *evidence based* quantificano la pericolosità dell'uso di alcol e dimostrano la necessità di una particolare attenzione verso questo tema in ambito di politica sanitaria.

Nel rilevamento delle abitudini alcoliche, due aspetti emergono oggi come fonte di particolare allarme: l'abbassamento dell'età di primo uso e l'aumento del numero di donne bevitrici. In Italia, i dati epidemiologici registrano una diminuzione della quantità totale di alcol consumato, ma una percentuale crescente di giovani e donne che bevono (2). Aumentano i cosiddetti comportamenti a rischio, cioè l'uso giornaliero non moderato (più di 3 Unità Alcoliche/die per gli uomini e 2 per le donne), il bere fuori pasto e il cosiddetto *binge drinking*, cioè l'ubriacatura. I comportamenti a rischio sono dichiarati dal 18,9% della popolazione totale e, nella fascia d'età 11-17 anni, il 23,3% dei ragazzi e il 14,2% delle ragazze italiane dichiara almeno uno dei comportamenti a rischio nell'ultimo anno. In particolare, i consumi fuori pasto nella fascia d'età 18-24 sono aumentati dal 33,7% al 41,9%, nella fascia di 14-17 anni, dal 14,5% al 16,9% con la percentuale di ragazze che bevono fuori pasto quasi triplicata dal 1995 (6%) al 2010 (14,6%). Il *binge drinking* nel 2010 ha coinvolto il 13,4% degli uomini e il 3,5% delle donne e, a partire dal 2003, risulta in costante aumento tra uomini e donne nella classe di età 11-25 anni. Sotto i 16 anni la frequenza di consumi a rischio delle ragazze è ormai analoga a quella maschile. A questo proposito ricordiamo la relazione già pubblicata nel 2005 dallo *European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction* (EMCDDA), per presentare i risultati comparati dello *European School Survey Project on Alcohol and Other Drugs* (ESPAD) *school surveys* sugli adolescenti di 15-16 anni negli anni 1995, 1999 e 2003 (3). La relazione evidenziava il *narrowing of the gap*, cioè la riduzione del divario tra ragazzi e ragazze

europee sia nell'uso di sostanze che nell'età di primo uso, confermando tendenze già segnalate da studi statunitensi degli anni '90 del secolo scorso. Tale tendenza, a distanza di un decennio, è pienamente confermata. Oggi in Italia le donne che consumano alcol sono circa il 70% a fronte del 43% negli anni '80 del XX secolo. Nella fascia d'età 35-45 anni troviamo il maggior numero di consumatrici e tra di loro è comune il *binge drinking* in compagnia, ma anche in solitudine. Il titolo di studio non sembra un fattore protettivo, anzi: tra le bevitrice prevalgono le donne con titolo di studio superiore (73,7%), rispetto a chi ha titolo di scuola primaria (43%). Ciò suggerisce che nelle donne più colte c'è una maggiore tendenza verso stili di consumo tipicamente maschili con conseguenze fisiche, psichiche e comportamentali (4, 5). Studi recenti stanno incrementando significativamente le conoscenze sulle differenze di genere e questo lavoro fornisce un succinto *excursus* sui determinanti fisici e neuro-psicologici che caratterizzano gli effetti dell'alcol nella donna.

## Determinanti fisici

Le donne, a parità di alcol ingerito, hanno una concentrazione ematica di alcol (*Blood Alcohol Concentration*, BAC) fino a 3-4 volte superiore a quella maschile. Inoltre, a parità di BAC le donne mostrano maggiori alterazioni della performance, per esempio nei test di guida, e quindi sono esposte a un rischio relativo più elevato. Clinicamente, nelle bevitrice si osserva il cosiddetto "effetto telescopio", cioè insorgono patologie più gravi in tempi più brevi rispetto agli uomini e con consumi alcolici inferiori a quelli maschili. Infine, le donne che abusano di alcol sono più esposte a rischi personali e sono più facilmente vittime di violenza.

La vulnerabilità femminile agli effetti dell'alcol è fisiologica ed è legata a differenze del contenuto di acqua corporea, dell'attività enzimatica dell'alcol deidrogenasi e degli ormoni sessuali (6). Il corpo femminile è composto di una maggiore percentuale di tessuto grasso e una minore percentuale di acqua rispetto all'uomo perciò l'alcol, che si diffonde solo nella parte acquosa, si concentra maggiormente nel sangue della donna (7).

L'alcol è metabolizzato principalmente dall'enzima alcol deidrogenasi (*Alcohol DeHydrogenases*, ADH), che presenta differenti isoforme e ha attività diversa in relazione alla razza, al genere e anche all'età, poiché varia nel corso della vita. Nel 1990 Frezza *et al.* dimostrarono che nella donna l'attività dell'ADH gastrica responsabile della prima fase del metabolismo (il cosiddetto *First Pass Metabolism*) è significativamente inferiore a quella maschile (8). Durante, la gravidanza, l'alcol ingerito dalla madre arriva anche al feto che non è in grado di metabolizzarlo perché l'ADH non è ancora attiva. L'alcol produce nel feto danni permanenti di varia entità globalmente denominati FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*), e in alcuni casi si sviluppa la vera e propria la sindrome feto-alcolica (*Fetal Alcohol Syndrome*, FAS). Dalla nascita in poi l'attività dell'ADH aumenta, ma negli adolescenti (sia uomini che donne) è ancora scarsa. A 20-40 anni l'attività dell'ADH raggiunge il massimo nell'uomo, ma è ancora bassa per la donna che, in questa fascia d'età, ha la maggiore probabilità di avere una gravidanza e quindi di esporre il feto a danno alcolico. A 41-60 anni la situazione s'inverte e nella donna l'attività dell'ADH è massima, mentre nell'uomo tende a diminuire. Dopo i 60 anni l'attività dell'enzima diminuisce drasticamente in entrambi i sessi (9).

Rispetto agli ormoni, la correlazione tra estrogeno/progesterone e alcol sta divenendo oggetto di sempre maggiore interesse in ambito di ricerca clinica e preclinica (10). Gli estrogeni influiscono sull'attività enzimatica dell'ADH, peggiorano la risposta infiammatoria all'etanolo e così aumentano il rischio di epatopatia alcolica (steatosi, infiammazione e necrosi). L'uso di contraccettivi progestinici rallenta l'eliminazione dell'alcol, aumenta la permeabilità intestinale alle endotossine con sensibilizzazione delle cellule di Kupffer e aumento dei processi

infiammatori (11). Anche i cambiamenti ormonali del ciclo mestruale sembrano influire sul metabolismo dell'etanolo e modulano sia il desiderio di bere che gli effetti stessi dell'alcol (12). Alcuni degli effetti dell'alcol sono mediati dai neurotrasmettitori, come la dopamina, che interagiscono con estrogeni e progesterone; in particolare l'ormone allopregnanolone, metabolita del progesterone coinvolto nel metabolismo dell'etanolo, aumenta gli effetti gratificanti dell'alcol (13). Le differenze ormonali sembrano inoltre responsabili della minore soglia di tossicità dell'alcol nelle donne e degli esiti peggiori soprattutto a livello cerebrale. Di contro, l'alcol influenza gli ormoni: l'uso precoce di alcol può causare ritardo del menarca e alterazioni mestruali la cui frequenza è dose-correlata con l'uso di alcol. A lungo termine, il consumo di alcol può indurre menopausa precoce e ridurre significativamente la fertilità sia maschile che femminile (14).

Generalmente, medici e specialisti tengono poco conto di quanto l'alcol possa agire sulla salute riproduttiva, anche se valutare i possibili rischi di infertilità connessi al consumo di alcol potrebbe aumentare significativamente le possibilità di prevenzione e recupero della fertilità stessa. In ambito oncologico, tutti gli studi ormai confermano che nelle bevitrici aumenta significativamente il rischio di cancro del seno (15) e di abbassamento dell'età di insorgenza al di sotto dei 50 anni. Addirittura, nel 2010 furono pubblicati su *Pediatrics* i risultati di una ricerca della *Washington University School of Medicine* di St. Luis e della *Harvard University*, che aveva preso in esame i dati di circa 7.000 ragazze (9-15 anni d'età), residenti negli USA e seguite dal 1996 al 2007. Le ragazze che dichiaravano di bere alcol tutti i giorni mostravano una frequenza di lesioni benigne al seno 5,5 volte più alta di quelle astemie o che bevevano solo una volta alla settimana, dimostrando che l'alcol può essere un fattore di rischio anche a questa età (16).

A livello cerebrale, il danno alcol-correlato si manifesta diversamente nel corso della vita, a partire dall'esposizione alcolica prenatale, che causa molteplici danni cerebrali sia morfologici che funzionali/comportamentali (FADS) (17). Di sicuro l'alcol è particolarmente nocivo per la salute femminile e, già dal 2004, l'*American Medical Association* segnalava che al crescere dei consumi alcolici corrispondeva un aumento tra le ragazze del numero dei ricoveri per intossicazione alcolica acuta, delle malattie sessualmente trasmesse, dei disordini ormonali nonché del numero di gravidanze indesiderate al di sotto dei vent'anni.

## Determinanti neuro-psicologici

È noto che l'alcol interferisce con la sfera neuro-psicologica e comportamentale anche se con meccanismi diversi modulati anche dall'età. Negli adolescenti, l'alcol interferisce con il normale processo di maturazione cerebrale, compromettendo memoria e apprendimento e influenzando anche il futuro comportamento dell'adulto (18); nell'età matura, l'alcol favorisce e accelera i processi neuro-degenerativi (19). Anche per il danno cerebrale lo sviluppo degli studi di neuroscienze ha permesso di evidenziare che il genere è un fattore che influenza significativamente gli effetti dell'alcol (20). È stato dimostrato che negli alcolisti diminuisce il volume cerebrale di materia grigia e bianca, ma tale diminuzione è significativamente più marcata nelle donne rispetto agli uomini (21); le donne sono maggiormente a rischio di blackout e perdite di memoria rispetto agli uomini anche se bevono quantità di alcol comparabili (22).

Il rischio di sviluppare dipendenza da alcol cresce con la quantità di alcol consumato, ma tale rischio nelle donne aumenta significativamente già per consumi moderati di 1-7 drink/settimana, mentre per gli uomini aumenta per consumi superiori a 22 drink/settimana (23). In occasione della *Alzheimer's Association International Conference*, tenutasi a Vancouver il 14-19 luglio 2012, sono stati presentati i risultati di uno studio basato sull'osservazione dello

stato di salute per 20 anni di 1300 donne over 65 anni, che dimostrano che bere anche moderate quantità di alcol aumenta significativamente il rischio di demenza. Da notare che i dati epidemiologici stanno registrando tra le donne, non solo un consumo alcolico crescente, ma anche aumento di patologie, quali depressione e disordini alimentari ormai sempre più frequenti e diversificati, globalmente definiti EDNOS (*Eating Disorders Not Otherwise Specified*). Queste evidenze suggeriscono la domanda se abuso di alcol, depressione, disordini alimentari siano connessi tra di loro (4). Alcune evidenze supportano questa ipotesi, basti pensare al diffondersi della “drunkorexia”, un neologismo derivato da *drunk* (ubriaco) e *anorexia* (anoressia) coniato per indicare la pratica di assumere sempre meno cibo e bere sempre più alcol senza acquistare peso (5). Quest’abitudine, diffusa soprattutto tra le giovani donne, è estremamente dannosa poiché sostituisce le calorie derivate dal cibo con le calorie “vuote” dell’alcol. Lo stato di carenza nutrizionale che ne deriva rende l’organismo ancor più vulnerabile agli effetti devastanti dell’alcol. Studi molto recenti (24) di sperimentazione animale, focalizzati alle differenze di genere, dimostrano che l’etanolo causa neuro-infiammazione e danno cerebrale attraverso l’attivazione del sistema neuro-immune e dei recettori Toll-like 4 (TLR4). A parità di esposizione ad alcol, le femmine risultano più vulnerabili dei maschi agli effetti neurotossici e neuro-infiammatori dell’alcol e ciò supporta ulteriormente l’ipotesi che le donne siano più suscettibili dell’uomo alle conseguenze dell’abuso di alcol.

## Conclusioni

Gli studi clinici dimostrano che il consumo eccessivo di alcol è un fattore di rischio per la salute e che i determinanti di genere sono significativi nello sviluppo di problematiche alcol-correlate. Le donne sono fisiologicamente più vulnerabili agli effetti dell’alcol e inoltre assumere alcol in gravidanza significa esporre il nascituro a un tossico verso il quale il feto non ha tolleranza e che può provocare danni fisici e psichici irreversibili. Tali danni sono totalmente prevenibili evitando di bere alcol durante la gestazione.

Se, come sembra, la tendenza all’aumento di donne che consumano alcol verrà confermata nei prossimi anni, è verosimile che i danni da alcol diventeranno ancor più pesanti per la società. Per evitare che ciò accada bisogna partire da idonee strategie di prevenzione supportate dalle evidenze scientifiche, sviluppare la ricerca biomedica e perseguire i seguenti obiettivi prioritari: informazione e aggiornamento scientifico degli operatori sanitari e sociali, sensibilizzazione delle donne particolarmente in età fertile per evitare l’uso di alcol in gravidanza, miglioramento della capacità diagnostica per individuare il bere a rischio prima che diventi patologia.

In quest’ambito, temi di ricerca traslazionale come lo studio dei bioindicatori diagnostici, dovrebbero essere sviluppati in un’ottica di genere e per tutte le fasce d’età perché l’aumento dei consumi a rischio è in aumento tra gli adolescenti ma anche tra gli over 60. Per questo è importante puntare alla sensibilizzazione non solo del medico di famiglia e del ginecologo, ma anche del pediatra e del geriatra. Purtroppo, i problemi di salute dovuti all’alcol sono più comuni di quanto venga normalmente accertato nella pratica clinica e spesso è difficile individuare una eziologia alcolica perché chi beve troppo, soprattutto se donna, tende a nascondere molto bene per vergogna e per timore di disapprovazione familiare e sociale. Una politica socio-sanitaria *gender-oriented* potrà validamente supportare l’azione di promozione della salute sul territorio.

## Bibliografia

1. Nutt D, *et al.* Drug harms in the UK: a multicriteria decision analysis. *Lancet* 2010;376(9752):1558-65.
2. *Relazione del Ministro della Salute al Parlamento sugli interventi realizzati ai sensi della legge 30/3/2001 n.125 "Legge quadro in materia di alcol e problemi alcol correlati"*. Roma. Ministero della Salute; 2011.
3. European Monitoring Centre for Drug and Drug Addiction. *Annual Report*. Lisbona; EMCDDA; 2005.
4. Flensburg-Madsen T. Alcohol use disorders and depression – the chicken or the egg? *Addiction* 2011;106(5):916-8.
5. Di Matteo J, Reed SC, Evans SM. Alcohol consumption as a function of dietary restraint and the menstrual cycle in moderate/heavy ("at-risk") female drinkers. *Eat Behav* 2012;13(3):285-8.
6. Mancinelli R, Guiducci MS. La donna e l'alcol: vulnerabilità biologica? *Ann Ist Super Sanità* 2004;40(1):19-23
7. Ely M, Hardy R, Longford NT, Wadsworth ME. Gender differences in the relationship between alcohol consumption and drink problems are largely accounted for by 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. Parlesak A, Billinger MH, 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.
10. Lenz B, Müller CP, Stoessel C, Sperling W, Biermann T, Hillemacher T, Bleich S, Kornhuber J. Sex hormone activity in alcohol addiction: integrating organizational and activational effects. *Prog Neurobiol* 2012;96(1):136-63.
11. 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 Suppl):70S-74S.
12. Evans SM, Levin FR. Response to alcohol in women: role of the menstrual cycle and a family history of alcoholism. *Drug Alcohol Depend* 2011;114(1):18-30.
13. Kiesner J. Affective response to the menstrual cycle as a predictor of self-reported affective response to alcohol and alcohol use. *Arch Womens Ment Health* 2012;15(6):423-32.
14. US Department of Health and Human Services, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, National Institutes of Health. *Alcohol: a women's health issue*. NIAAA- NIH; 2008 (NIH publication no 03-4956. Revised 2008).
15. Seitz HK, Pelucchi C, Bagnardi V, La Vecchia C. Epidemiology and pathophysiology of alcohol and breast cancer: update 2012. *Alcohol Alcohol* 2012;47(3):204-12.
16. Berkey CS, Willett WC, Frazier AL, Rosner B, Tamimi RM, Rockett HR, Colditz GA. Prospective study of adolescent alcohol consumption and risk of benign breast disease in young women. *Pediatrics* 2010;125(5):e1081-7.
17. Mancinelli R. Salute del bambino ed esposizione alcolica. *Medico e bambino* 2011;9:565-70.
18. Mancinelli R. Alcol, giovani e differenze di genere. In: Barbaro MC, Salinetti S (Ed.). *Femmine e maschi: cervelli diversi? Un approccio alla salute partendo dalle differenze di genere*. Roma, 14 maggio 2010. *Atti*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2011. (Dispense per la scuola 11/2). p. 21-31.

19. Gupta S and Warner J. Alcohol-related dementia: a 21st-century silent epidemic? *The British Journal of Psychiatry* 2008;193: 351-353.
20. Mancinelli R, Vitali M, Ceccanti M. Woman, alcohol and environment: update and perspectives in neuroscience. *Functional Neurology* 2009;24(2):77-81.
21. Hommer D, Momenan R, Kaiser E, Rawlings R. Evidence for a gender-related effect of alcoholism on brain volumes. *Am J Psychiatry* 2001;158(2):198-204.
22. Hommer DW. Male and female sensitivity to alcohol induced brain damage. *Alcohol Res Health* 2003;27(2):181-5.
23. Flensburg-Madsen T, Knop J, Mortensen EL, Becker U, Grønbaek M. Amount of alcohol consumption and risk of developing alcoholism in men and women. *Alcohol Alcohol* 2007;42(5):442-7.
24. Alfonso-Loeches S, Pascual M, Guerri C. Gender differences in alcohol-induced neurotoxicity and brain damage. *Toxicology* 2013;311(1-2):27-34.

# STRESS OSSIDATIVO ALCOL-CORRELATO E DIFFERENZE DI GENERE

Eleonora Barlocchi (a), Mauro Ceccanti (b), Rosanna M. Fidente (a), Rosa Draisci (a),  
Rosanna Mancinelli (a)

(a) *Centro Nazionale Sostanze Chimiche, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Centro Riferimento Alcolologico, Regione Lazio, Roma*

## Introduzione

La regolazione ossidoriduttiva (o redox) gioca un ruolo fondamentale per la vita e il corretto funzionamento della cellula. La condizione di equilibrio ossidativo è dinamica ed essenziale per le funzioni fisiologiche della cellula in quanto molte proteine coinvolte nelle catene di trasduzione intracellulare dei segnali (recettori, chinasi e fosfatasi, fattori di trascrizione) sono sensibili alle alterazioni anche lievi di tale equilibrio. Variazioni di piccola entità hanno quindi significato fisiologico di “modulazione” (1).

Quando, però, per motivi endogeni (patologie) o esogeni (esposizione a sostanze, radiazioni ionizzanti), intervengono fattori che alterano la omeostasi redox, si genera il cosiddetto stress ossidativo cioè la condizione patologica causata dalla rottura dell’equilibrio fisiologico, in un organismo vivente, fra la produzione di specie chimiche ossidanti e la loro eliminazione da parte dei sistemi di difesa antiossidanti (2). Alterazioni vere e proprie di tale equilibrio inducono stress ossidativo elevato e prolungato nel tempo con gravi disfunzioni funzionali, danni cellulari, apoptosi, necrosi, modificazioni epigenetiche. Lo squilibrio redox che compare in un processo patologico può essere la causa iniziale del fenomeno patologico, ma anche l’effetto finale del processo patologico. Riuscire a chiarire questi aspetti e quindi a comprendere il ruolo dello stress ossidativo nell’evento patologico può contribuire significativamente alla scelta dell’approccio terapeutico e al successo dell’intervento.

È noto che il consumo alcolico può generare stress ossidativo e questo è uno degli effetti più significativi che l’alcol induce a livello cellulare e che sono sotto il controllo di segnali genetici e molecolari (3). L’alcol induce stress ossidativo sia con azione diretta aumentando la produzione di specie chimiche ossidanti, sia con azione indiretta riducendo la capacità antiossidante della cellula. Le conseguenze sono alterazioni di lipidi e proteine e modificazioni epigenetiche del DNA che è particolarmente sensibile agli effetti dello stress ossidativo.

Il cervello è uno dei principali organi affetti dall’azione dell’alcol e studi recenti dimostrano che lo stress ossidativo alcol-correlato colpisce soprattutto il cervello (4). Ciò accade perché il cervello è di “per sé” un forte generatore di specie ossidanti in quanto utilizza il 20% dell’ossigeno dell’intero organismo, e anche perché il sistema antiossidante cerebrale è meno efficace ed efficiente di quello di altri organi come fegato e reni. È stato dimostrato anche che lo stress ossidativo alcol-correlato può contribuire in maniera significativa al danno prenatale che è influenzato da un insieme multifattoriale di fattori endogeni ed esogeni che lo modulano con meccanismi molecolari diversi. Tra i fattori coinvolti nella azione patogena alcol-correlata, nell’adulto come nel feto, lo stress ossidativo svolge un ruolo significativo tanto che molti studi clinici sono oggi focalizzati proprio su questo aspetto.

Il presente lavoro riporta sinteticamente alcune evidenze dalla letteratura recente e discute criticamente alcuni dei risultati di sperimentazioni cliniche condotte dagli autori.

## Metabolismo dell'alcol e stress ossidativo

Il metabolismo dell'etanolo comporta la scissione della molecola ad anidride carbonica e acqua attraverso gli intermedi acetaldeide e acetato. L'etanolo ingerito è convertito dall'alcol deidrogenasi nell'aldeide corrispondente cioè l'acetaldeide. Questa molecola viene a sua volta convertita dall'aldeide deidrogenasi mitocondriale ad acetato che entrerà nella biosintesi di molecole più complesse (acidi grassi) o nel ciclo di Krebs. Il metabolismo dell'alcol è influenzato da fattori genetici poiché dipende dal polimorfismo genetico degli enzimi coinvolti, ma anche ambientali poiché è soggetto ad induzione dovuta ad esposizione all'etanolo stesso o ad altri xenobiotici (5). Le vie metaboliche dell'alcol sono tre:

### 1. *Alcol-deidrogenasi (Alcohol DeHydrogenases, ADH)*

È il principale enzima coinvolto nella biotrasformazione dell'etanolo. Presenta ampia specificità di substrato ed è una proteina citosolica codificata da una famiglia poligenica (sette geni) localizzata sul cromosoma 4. Nell'uomo il metabolismo dell'etanolo mostra una notevole variabilità dovuta alla genetica e in particolare al polimorfismo dell'allele ADH2. È stato dimostrato che l'isoforma gastrica dell'ADH presente nella donna è meno attiva di quella dell'uomo e questo genera significative differenze di genere nel metabolismo dell'alcol (6). L'attività dell'ADH dipende anche dall'età: nel bambino, nell'adolescente e nell'anziano è minore rispetto a quella dell'adulto (7). Le possibili varianti enzimatiche compaiono con diversa frequenza tra popolazioni di diversa etnia e si stanno studiando le possibili correlazioni tra tali varianti e il rischio teratogeno dell'alcol. In particolare, si sta valutando l'ipotesi che il genotipo ADH2 sia materno che fetale possa essere collegato alla suscettibilità alla insorgenza di *Fetal Alcohol Spectrum Disorders* (FASD) (8).

### 2. *Citocromo P4502E1 (CYP2E1)*

È caratterizzato da un'affinità per l'etanolo molto più bassa di quella dell'ADH. In caso di consumo moderato è responsabile dell'ossidazione dell'etanolo ad acetaldeide solo per una quota del 10% circa. Quando il consumo alcolico aumenta o a seguito di assunzione cronica, l'ADH viene saturata e il contributo di CYP2E1 diventa rilevante. Il metabolismo catalizzato da CYP2E1 converte l'etanolo ad acetaldeide che viene a sua volta ossidata con rilascio di radicali liberi. Il citocromo P450 2E1 (CYP2E1) è inducibile dall'etanolo e contribuisce ad aumentare stress ossidativo e steatosi nei modelli di esposizione cronica ad alcol. Inoltre, a seguito di consumo cronico di alcol, CYP2E1 aumenta la clearance dell'etanolo e contribuisce all'instaurarsi della tolleranza metabolica in parallelo alla tolleranza del sistema nervoso centrale. A prova del fatto che il CYP2E1 è inducibile dall'etanolo, molti studi dimostrano che il contenuto di CYP2E1 aumenta da 4 a 10 volte in biopsie epatiche di persone che abbiano bevuto di recente (9) Nei bevitori cronici l'etanolo viene quindi convertito ad acetaldeide molto più velocemente e si liberano più radicali liberi. Il *binge drinking* è un ulteriore fattore di rischio di danno associato all'induzione di CYP2E1 (10).

### 3. *Catalasi*

È un enzima appartenente alla classe delle ossidoreduttasi, coinvolto nella detossificazione della cellula da specie reattive dell'ossigeno. Partecipa solo in minima parte al metabolismo dell'alcol, arrivando a non più del 10%, quando l'alcolemia è molto elevata.

Tutte e tre le vie metaboliche portano alla formazione di acetaldeide e di radicali liberi (*Reactive Oxygen Species* ROS). L'acetaldeide è una molecola estremamente tossica

responsabile in gran parte degli effetti negativi dell'alcol (11). L'acetaldeide è molto reattiva e tende a formare addotti proteici e lipidici, stimolando la risposta linfocitaria e macrofagica del nostro organismo con conseguente produzione di citochine e specie reattive dell'ossigeno e quindi flogosi e alterazioni immunitarie (12). Inoltre l'acetaldeide riduce la disponibilità di antiossidanti a livello epatico, causando la deplezione di glutatione e di SAM (S-adenosil metionina): la diminuzione di glutatione riduce la difesa dai radicali liberi, e la deplezione di SAM, che comporta una ipo-metilazione degli acidi nucleici della cellula, potrebbe essere correlabile con una maggiore probabilità di cancerogenesi. Per quanto riguarda i radicali liberi, in caso di consumo eccessivo l'alcol induce aumento della produzione di ROS a livello mitocondriale con effetti anche sul DNA che è particolarmente suscettibile allo stress ossidativo (13). Il principale agente ossidante il DNA è il radicale idrossilico (HO•) che si attacca a diversi siti reattivi presenti sulle basi azotate e sul gruppo zuccherino fosforilato, provocando modificazioni epigenetiche quali idrossilazione, apertura dell'anello o frammentazione. A seguito della iperproduzione di ROS aumenta anche la sintesi di malondialdeide che è il principale prodotto della perossidazione degli acidi grassi polinsaturi ed è causa di citotossicità nelle cellule causando degradazione delle membrane plasmatiche con conseguenze patologiche come aterosclerosi, invecchiamento cellulare, malattie cardiovascolari ed epatiche. La malondialdeide inoltre è in grado di reagire con la deossiadenosina e deossiguanina nel DNA formando composti mutageni precursori di carcinogenesi.

Globalmente, nel determinare gli effetti dell'alcol entrano in gioco fattori genetici come l'etnia e il genere, epigenetici e ambientali e ciò giustifica l'elevata differenza individuale nella risposta all'alcol.

## **Alcol, stress ossidativo e differenze di genere: evidenze sperimentali**

Nel corso degli anni, gli studi alcolologici stanno dimostrando che esistono significative differenze di genere nella risposta fisiologica all'alcol e che è necessario approfondire gli studi *gender-oriented* (14). Questa evidenza e le numerose prove del ruolo dello stress ossidativo nell'insorgenza di patologie alcol-correlate, hanno indotto il nostro gruppo di ricerca ad approfondire gli studi sperimentali sulle differenze di genere in relazione allo stress ossidativo. Sono state quindi studiate popolazioni diverse di uomini e donne alcolisti cronici per valutare eventuali differenze di genere, efficacia/efficienza diagnostica di biomarkers diversi, fattibilità/praticabilità di diverse procedure analitiche.

Lo studio dei metaboliti reattivi dell'ossigeno (radicale idrossile, anione superossido, perossido di idrogeno, ossigeno singoletto), i cosiddetti ROM (*Reactive Oxygen Metabolites*), è stato effettuato tramite test colorimetrico che misura la capacità ossidante del plasma nei confronti di un cromogeno (un'ammina aromatica modificata) che funge da indicatore. La popolazione di pazienti alcolisti esaminati era costituita da uomini e donne di età comparabile intorno ai 45 anni, ma con differente tempo di esposizione ad alcol in quanto gli uomini avevano iniziato a bere mediamente 10 anni prima delle donne. I risultati dimostrano che, globalmente, la media dei valori dei ROM degli alcolisti è significativamente più alta rispetto alla popolazione di controllo ( $p < 0,05$ ) ma l'analisi separata per genere dimostra significatività per le donne ( $p < 0,005$ ) ma non per gli uomini:  $p = 0,17$  (15). Studi successivi sono stati effettuati per verificare i livelli di malondialdeide (MDA) plasmatica che è considerata, insieme ai suoi addotti, uno dei più affidabili bioindicatori di stress ossidativo anche in ambito neonatologico (16). I risultati dell'analisi della malondialdeide, dosata tramite procedura HPLC

(*High-Performance Liquid Chromatography*), dimostrano nelle donne alcoliste concentrazioni di MDA significativamente più alte che nei controlli ( $p < 0,0001$ ). Allo studio della malondialdeide è stato quindi associato lo studio di altri bioindicatori di stress ossidativo cioè la capacità antiossidante e la concentrazione di specie reattive dell'ossigeno nel sangue. Tali bioindicatori sono stati rispettivamente determinate con il FORT (*Free Oxygen Radicals Test*) e il test FORD (*Free Oxygen Radicals Defence*), test rapidi colorimetrici per la misura nel sangue intero dei livelli di radicali liberi e di difese antiossidanti (17). I risultati ottenuti confermano che nelle donne i livelli di stress ossidativo sono più alti e quindi è maggiore il rischio per la salute femminile e anche per il feto in caso di esposizione alcolica prenatale. Infatti, studi recenti stanno aprendo nuove conoscenze sul ruolo dello stress ossidativo nel determinare l'effetto teratogeno dell'alcol e sui meccanismi biologici implicati.

## Stress ossidativo ed effetto teratogeno dell'alcol

L'esposizione alcolica causa aumento dello stress ossidativo negli organi in via di sviluppo incluso il cervello e anche una breve esposizione può produrre alterazione dell'equilibrio redox. Recenti sperimentazioni su modelli animale di FASD dimostrano chiaramente che l'azione diretta dell'alcol tramite iperproduzione di ROS, e la azione indiretta tramite disregolazione dei sistemi antiossidanti endogeni sono implicati nella patologia dei disordini del neuro-sviluppo (18).

Anche un'esposizione alcolica occasionale può produrre squilibrio dello stato redox intracellulare e produrre danno soprattutto a livello cerebrale. Il cervello, infatti, è particolarmente sensibile alle variazioni redox perché è un forte generatore di ROS (fosforilazione ossidativa) utilizzando il 20% dell'ossigeno consumato dall'intero organismo. Inoltre ha un alto contenuto di ferro e i neurotrasmettitori come dopamina, serotonina, norepinefrina, possono reagire spontaneamente con l'ossigeno generando ioni superossido. Si ipotizza che l'etanolo induca la iper-produzione di ROS aumentando l'attività di xantina ossidasi e NADPH (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*) ossidasi. Inoltre sembra che l'alcol diminuisca la capacità antiossidante intracellulare riducendo il glutathione ridotto e l'attività di SOD (*Super Oxidase Dismutase*), catalasi, glutathione perossidasi, glutathione reduttasi nelle cellule fetali dove peraltro le difese antiossidanti sono inferiori rispetto all'adulto.

Lo squilibrio redox subito durante la vita fetale potrebbe avere effetti a lungo termine e ridurre l'efficienza del sistema antiossidante nel corso della vita (19). È stato dimostrato che l'effetto tossico indiretto dell'alcol è correlato alla patologia placentare e che quindi la placenta ha un ruolo significativo nel danno alcol-correlato. Nelle placente di ratto esposte ad etanolo si osservano ischemia e/o infarti che ne riducono lo spessore per aumento di necrosi cellulare compromettendo il passaggio di nutrienti al feto e quindi la crescita intrauterina. L'esposizione alcolica cronica inoltre ostacola o danneggia la conversione fisiologica dei vasi sanguigni uterini necessaria per espandere la circolazione materna nella placenta. Gundogan *et al.* hanno dimostrato l'impatto dello stress ossidativo alcol-relato sulla funzione del trofoblasto placentare e quindi il potenziale danno alla gravidanza (20). Inoltre il metabolita acetaldeide attraversa la placenta e causa direttamente danni allo sviluppo fetale. Tutto ciò viene a determinare una condizione di ipossia che, associata a stress ossidativo e apoptosi, potrebbe spiegare alcune delle anomalie nello sviluppo cerebrale e anche i problemi comportamentali osservati nei pazienti affetti da FASD (21).

## Conclusioni

I risultati sperimentali dimostrano concordemente che lo stress ossidativo costituisce un fattore di rischio per chi abusa alcol e che le differenze di genere sono significative. Infatti nelle donne alcoliste i livelli di stress ossidativo risultano significativamente superiori a quelli maschili anche se la storia di abuso è di parecchi anni più breve rispetto agli uomini di età comparabile. In gravidanza, ciò implica un rischio maggiore sia per la madre che per il feto anche perché il sistema antiossidante fetale non è così efficiente da poter contrastare l'aumento delle specie ossidanti. Lo stato dell'arte negli studi sperimentali, pur indicando lo stress ossidativo come fattore di rischio, dimostra anche che ci sono molti aspetti da chiarire e molti problemi aperti nella ricerca soprattutto per quanto riguarda lo studio degli effetti dell'alcol in gravidanza. Tra questi certamente la scelta del modello sperimentale poiché la trasferibilità del modello di esposizione è un aspetto essenziale per migliorare la comparabilità dei risultati degli studi su FAS (*Fetal Alcohol Syndrome*) e FASD. Inoltre, non è noto qual è il periodo gestazionale di maggiore suscettibilità e quindi quali potrebbero essere la/le finestre terapeutiche ottimali per l'eventuale uso di antiossidanti. Sarebbe auspicabile approfondire gli studi quantificando e comparando i livelli di difese antiossidanti e specie ossidative nei diversi periodi dello sviluppo. Queste informazioni potrebbero essere utili anche per il trattamento e indicare se la supplementazione pre-postnatale con antiossidanti e/o particolari vitamine (es. la vitamina B1) potrebbe avere effetti benefici. Alcuni studi hanno dimostrato che il trattamento con antiossidanti può migliorare alcuni deficit associati con disordini del neuro-sviluppo come autismo e ADHD (*Attention Deficit Hyperactivity Disorder*) ma il tema necessita di approfondimenti.

Comunque, anche se gli studi clinici sono ancora insufficienti a dare risposte conclusive, le evidenze sperimentali suggeriscono l'opportunità di introdurre lo studio dello stress ossidativo nella diagnostica di routine attraverso l'utilizzo di bioindicatori di stress ossidativo per evidenziare un danno alcolico soprattutto nelle donne. Anche in ambito di diagnostica ostetrica e neonatale l'uso di tali indicatori potrebbe migliorare le conoscenze sui meccanismi patogenetici ed evidenziare precocemente situazioni a rischio. La disponibilità di biomarcatori sensibili e specifici, e di metodologie analitiche di elevata affidabilità e praticabilità rende oggi più facilmente realizzabile questo obiettivo.

## Bibliografia

1. Corti A, De Tata V, Pompella A. Agenti e meccanismi di stress ossidativo nella patologia umana. *Ligand Assay* 2009;14(1):8-15.
2. Ficociello B, Sturchio E, Minoia C, Casorri, L, Imbriani P, Signorini S. Epigenetica ed esposizione ambientale a xenobiotici. *Med Lav G Ital Erg* 2010;32(1):13-22.
3. Zima T, Fialová L, Mestek O, Janebová M, Crkovská J, Malbohan I, Štípek S, Mikulíková L, Popov P. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases. *J Biomed Sci* 2001;8:59-70.
4. Chandrasekar R. Alcohol and NMDA receptor: current research and future direction. *Front Mol Neurosci* 2013;28:6-14
5. Gemma S, Vichi S, Testai E. Fattori metabolici e genetici che predispongono al danno da alcol e alla sindrome feto-alcolica. In: 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). p. 81-95.

6. 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;322:95-7.
7. Mancinelli R, Guiducci MS. La donna e l'alcol: vulnerabilità biologica? *Ann Ist Super Sanità* 2004; 40(1):19-23
8. 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.
9. Lieber CS. Alcohol: its metabolism and interaction with nutrients. *Annu Rev Nutr* 2000;20:395-430.
10. Abdelmegeed MA, Banerjee A, Jang S, Yoo SH, Yun JW, Gonzalez FJ, Keshavarzian A, Song BJ. CYP2E1 potentiates binge alcohol-induced gut leakiness, steatohepatitis, and apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2013;65:1238-45.
11. Muggironi G, Fois GR, Diana M. Ethanol-derived acetaldehyde: pleasure and pain of alcohol mechanism of action. *Front Behav Neurosci* 2013;7-87.
12. Buttari B, Profumo E, Mancinelli R, Cesta Incani U, Tosti ME, Attilia ML, Ceccanti M, Riganò R. Chronic and acute alcohol exposure prevents monocytes derived dendritic cells from differentiating and maturing. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2008;21(4):929-39.
13. Mukhopadhyay P, Horváth B, Zsengellér Z, Bátkai S, Cao Z, Kechrid M, Holovac E, Erdélyi K, Tanchian G, Liaudet L, Stillman IE, Joseph J, Kalyanaraman B, Pacher P. Mitochondrial reactive oxygen species generation triggers inflammatory response and tissue injury associated with hepatic ischemia-reperfusion: therapeutic potential of mitochondrially targeted antioxidants. *Free Radic Biol Med* 2012;53(5):1123-38.
14. Mancinelli R. Gender differences in alcohol related impairment: a critical review. *OA Alcohol* 2013;1(1):8.
15. Mancinelli R, Barlocchi E, Ciprotti M, Senofonte O, Fidente RM, Draisci R, Attilia ML, Vitali M, Fiore M, Ceccanti M. Blood thiamine, zinc, selenium, lead and oxidative stress in a population of male and female alcoholics: clinical evidence and gender differences. *Ann Ist Super Sanità* 2013;49(1):65-72.
16. Cipierre C, Haÿs S, Maucourt-Boulch D, Steghens JP, Picaud JC. Malondialdehyde adduct to hemoglobin: a new marker of oxidative stress suitable for full-term and preterm neonates. *Oxid Med Cell Longev* 2013;2013:694014.
17. Pavlatou MG, Papastamataki M, Apostolakou F, Papassotiriou I, Tentolouris N. FORT and FORD: two simple and rapid assays in the evaluation of oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2009;58(11):1657-62.
18. Goodlett CR, Horn KH. Mechanisms of alcohol-induced damage to the developing nervous system. *Alcohol Res Health* 2001;25(3):175-84.
19. Brocardo PS, Gil-Mohapel J, Christie BR. The role of oxidative stress in fetal alcohol spectrum disorders. *Brain Res Rev* 2011;67(1-2):209-25.
20. Gundogan F, Elwood G, Mark P, Feijoo A, Longato L, Tong M, de la Monte SM. Ethanol-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in rat placenta: relevance to pregnancy loss. *Alcohol Clin Exp Res* 2010;34(3):415-23.
21. Bosco C and Diaz E. Placental Hypoxia and Foetal Development Versus Alcohol Exposure in Pregnancy. *Alcohol Alcohol* 2012;47:109-17.

# BIOMARCATORI MATERNO-FETALI DELL'ESPOSIZIONE PRENATALE ALL'ALCOL ETILICO

Simona Pichini, Renata Solimini, Enrica Pizzi, Adele Minutillo, Roberta Pacifici  
Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

## Introduzione

L'alcol etilico è la sostanza d'abuso legale attualmente più popolare, e il suo consumo da parte delle donne in età riproduttiva rimane un problema significativo per la salute pubblica. Gli effetti negativi del bere in gravidanza sono ben documentati e conosciuti ormai da tempo. L'uso gestazionale di alcol può provocare un *continuum* di eventi avversi fetali noto come spettro dei disordini feto-alcolici (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*, FASD) (1), che comprende dismorfismi cranio-facciali caratteristici, ritardo di crescita e deficit dello sviluppo neurologico e cognitivo (2). La prevalenza di FASD nelle diverse parti del mondo può raggiungere e anche superare il valore dell'1% di tutti i nati vivi e la persona colpita è a rischio di sviluppare una vasta gamma di disturbi mentali e sociali che la danneggiano per l'intero ciclo di vita (3). D'altra parte FASD è uno dei disturbi dello sviluppo psicocognitivo più ricorrenti e al tempo stesso più facilmente e totalmente prevenibili (4).

Un altro aspetto da considerare è il costo della cura e della gestione dei bambini e adulti con FASD. Negli Stati Uniti è stato calcolato che il costo medio annuo solo per l'assistenza sanitaria per un bambino affetto da FASD, dalla nascita fino all'età 21 anni, è di circa duemila dollari in più rispetto a un bambino senza tale disturbo (5). Nel complesso, il costo di gestione e cura per FASD comprende diversi aspetti quali: l'assistenza sanitaria, l'affidamento, il trattamento per disturbi dello sviluppo, i programmi di intervento precoce, l'educazione specifica, la salute mentale, il trattamento per l'abuso di sostanze associate spesso al disturbo, la cura delle persone colpite durante tutta la loro vita, e l'eventuale sistema di correzione, tra cui frequente è la giustizia minorile (6).

Attualmente, l'individuazione dell'esposizione prenatale all'alcol si basa sulla relazione materna del consumo, o su un sospetto basato su una serie di evidenze (la mancanza di cure prenatali, eventi di vita correlati all'uso eccessivo di alcol, alcoldipendenza o infrazioni delle norme del codice della strada alcol-correlate, ecc.) (7). Tuttavia, uno degli svantaggi principali del questionario autosomministrato è che le donne in gravidanza o partorienti tendono a non riportare la reale quantità e la frequenza della loro assunzione di alcol e sono riluttanti a rivelare l'uso gestazionale di alcol, per paura di un giudizio sociale o di problemi giudiziari (es. la sospensione della patria potestà sul minore) (8).

Pertanto, a causa della difficoltà nel valutare oggettivamente il reale consumo di alcol gestazionale, negli ultimi decenni sono stati proposti una serie di marcatori biologici considerati molto più affidabili per documentare l'uso di alcol etilico. Questi marcatori comprendono le misure dirette di alcol etilico nelle varie matrici biologiche, i biomarcatori indiretti di patologie alcol-indotte e i prodotti del metabolismo ossidativo e non ossidativo dell'alcol etilico.

## Biomarcatori indiretti materni

I parametri clinici utilizzati di routine per la diagnosi di uso cronico eccessivo di alcol sono indicatori indiretti di patologie alcol-indotte, come ad esempio gli enzimi epatici quali: la gamma-glutamilttransferasi (GGT), l'aspartato aminottransferasi (AST) e l'alanina aminottransferasi (ALT); il volume corpuscolare medio degli eritrociti (*Mean Corpuscular Volume*, MCV), la transferrina carboidrato carente (*Carbohydrate Deficient Transferrine*, CDT). Inoltre, ci sono anche alcuni marcatori indiretti a basso peso molecolare, come ad esempio il rapporto plasmatico 5-idrossitriptofolo/acido 5-idrossiindolacetico (5-hydroxytryptophol/5-hydroxyindolylacetic acid, 5-HTOL/5-HIAA) che cambia in seguito all'uso eccessivo di alcol etilico. La maggior parte di questi biomarcatori sono misurati esclusivamente nella matrice sangue (siero o plasma) e sono indicativi soltanto di un uso cronico di alcol da parte della madre.

### GGT

#### Breve descrizione e storia

La gammaglutamilttransferasi (GGT) è un enzima glicoproteico situato sulla membrana cellulare in diversi tessuti. Sebbene la GGT sia prodotta in molti tessuti, solo l'isoforma epatica è rilevabile nel siero. La misura della GGT è uno dei più antichi test biochimici per l'individuazione di uso eccessivo di alcol (9). Clinicamente è stata utilizzata per la valutazione del danno epatico. Tuttavia, i livelli sierici di GGT possono aumentare in risposta all'esposizione ad una serie di farmaci e alcol. Pertanto, l'uso della GGT come strumento di screening per l'uso eccessivo di alcol è limitato dalla sua aspecificità e anche dalla sua sensibilità relativamente bassa. Solo il 30-50% (10, 11) di bevitori eccessivi presenta livelli significativamente più elevati della media nella popolazione generale. Inoltre, i livelli di GGT normalmente si correlano solo moderatamente con la quantità consumata di alcol (10) e questo marcatore non si modifica in seguito ad una singola dose di alcol.

#### Determinazione

La reazione chimica in cui la GGT agisce come catalizzatore è il trasferimento di un residuo glutamile, legato mediante l'acido gamma carbossilico del glutammato ad un'ammina o di un altro amminoacido, che agisce come accettore. Una vasta gamma di composti possono agire come gamma-glutamilt donatore o accettore. Tra i gamma-glutamilt donatori il substrato naturale più significativo è rappresentato dal glutatione (gamma-glutamilt cisteinil glicina), ma una serie di substrati artificiali possono essere attivati dalla GGT. Gli accettori sono amminoacidi o peptide e la glicilglicina è la più comunemente usata. Sono stati descritti anche immunodosaggi e i metodi altamente sensibili basati sulla fluorescenza per usi specifici (9, 12).

#### Uso per la diagnosi di uso di alcol gestazionale

La bassa sensibilità della GGT nel rilevare il bere rischioso nelle donne non si presta all'applicazione di questo biomarcatore, ma alcuni gruppi di ricerca hanno pubblicato risultati in questo campo. Un primo studio di Larsson del 1983, ha coinvolto un gruppo di donne in gravidanza che si presentavano alla visita antenatale in quattro diversi ospedali scandinavi (13). Lo studio ha evidenziato un 4% di bevitrice eccessive, e due donne con neonati che presentavano disordini alcol-correlati. Diversamente, lo studio di Halmesmäki *et al.* del 1992 reclutava soltanto gestanti ad alto rischio (14). Venticinque donne che assumevano almeno 150

g di alcol a settimana sono state confrontate con venti donne astemie. Tredici delle venticinque bevitrici hanno dato alla luce neonati affetti da sindromi alcol-correlate. Il valore medio della GGT materna era significativamente superiore nelle donne bevitrici che davano alla luce bambini sani e ancora superiore nelle tredici bevitrici che avevano partorito neonati con problemi, rispetto al valore misurato nelle donne astemie.

Nonostante questi studi, l'utilizzo di GGT nello screening per l'abuso di alcol in gravidanza ha scarsa sensibilità, con molti risultati falsi positivi. Tuttavia, è interessante notare che il valore della GGT è più alto nelle donne che danno alla luce neonati con sindromi alcol-correlati. Non è chiaro se la GGT elevata nelle madri che bevono in modo eccessivo rifletta semplicemente un'assunzione maggiore di alcol, o una risposta diversa e più dannosa all'assunzione di alcol.

## **AST e ALT**

### **Breve descrizione e storia**

Le AST e le ALT sono enzimi epatici che presentano un valore significativamente più elevato nel siero di alcolisti poiché l'alcol è una epatotossina indiretta. Questi enzimi catalizzano la trasformazione reversibile degli alfa-chetoacidi in aminoacidi trasferendo gruppi amminici. La loro velocità di eliminazione è intorno alle 3 settimane. Similmente alla GGT, la concentrazione delle aminotrasferasi non aumenta dopo un singolo episodio di bere eccessivo (15). Le aminotrasferasi sono ancor meno sensibili della GGT nel rilevamento di un eccessivo consumo di alcol etilico (16).

### **Determinazione**

Le AST e le ALT sono tipicamente misurate sulla base della loro attività catalitica (17); entrambi richiedono il piridossale 5'-fosfato (P5'-P) per l'attività massima, sebbene l'effetto della carenza della P5'-P sull'attività della ALT è maggiore che non su quella della AST (18).

### **Uso per la diagnosi dell'uso gestazionale di alcol**

Nelle donne in gravidanza, è comune trovare una diminuzione nelle concentrazioni di AST e ALT. Pertanto, questi enzimi sono indicatori inadeguati del bere eccessivo a causa della bassa sensibilità (19). Come nel caso della GGT, le aminotrasferasi sono parte di una serie di test biochimici di routine (20). Nello studio previamente menzionato di Halmesmäki *et al.* (14), oltre alla GGT, venivano misurate le concentrazioni di transaminasi nel siero delle donne in gravidanza. Le concentrazioni di AST e di ALT risultavano aumentate nelle donne con consumo eccessivo di alcol, ma lo studio ha dimostrato che questi biomarcatori non erano ottimali per la valutazione di un uso cronico di alcol.

## **MCV**

### **Breve descrizione e storia**

È noto da molti anni, che il volume medio dei globuli rossi (*Mean Corpuscular Volume*, MCV) aumenta con un consumo eccessivo di alcol che porta alla macrocitosi (21,22). A causa della elevata emivita dei globuli rossi, che normalmente è di 120 giorni, qualsiasi cambiamento nell'abitudine al bere si rifletterà nei livelli di MCV solo dopo diversi mesi (23). Similmente, sembra sia necessario un bere eccessivo cronico per produrre elevati livelli di MCV. La misura

dell'MCV può essere applicata nello screening ma ha un valore limitato come un singolo marcatore (24).

### **Determinazione**

Esiste un'ampia gamma di metodi analitici per la stima dell'MCV. Questo marcatore viene misurato di routine ogni volta che si esegue un esame completo del sangue. La conta delle cellule con metodi automatizzati è più accurata rispetto ai metodi manuali (25).

### **Uso per la diagnosi dell'uso gestazionale di alcol**

Uno studio di Sarkola *et al.* nel 2000, ha misurato la MCV in 18 forti bevitrice in stato di gravidanza e ha concluso che in questo caso il biomarcatore risulta efficace nel rilevare il consumo eccessivo di alcol (26).

## **CDT**

### **Breve descrizione e storia**

La transferrina viene sintetizzata e secreta nel fegato. Con una emivita di 7-10 giorni agisce da trasportatore di ferro nel sangue. La CDT è un gruppo di isoforme minori di transferrina umana, con un minor grado di glicosilazione rispetto alle isoforme principali di questa glicoproteina. La CDT è un marker relativamente nuovo, che è, però, sempre più utilizzato per la rilevazione di abuso di alcol grazie alla sua elevata specificità (27,28).

### **Determinazione**

Sono attualmente disponibili diversi metodi per la misurazione della CDT. In passato, i metodi più utilizzati esprimevano la concentrazione di CDT come unità semplici (U/L); mentre con i metodi più recenti, i risultati sono espressi come percentuale di transferrina carboidrato carente rispetto alla transferrina totale (% CDT). Il principale vantaggio di quest'ultimo approccio è che tiene conto della variabilità naturale della transferrina serica (29). Ad oggi, la tecnica più comune isola la CDT con una microcolonna cromatografica a scambio anionico, basandosi sulle diverse cariche delle isoforme desialate della transferrina, seguita da immunosaggio per la quantificazione. Grazie allo sviluppo di anticorpi monoclonali umani per la CDT e all'automazione, il biomarcatore può essere analizzato più rapidamente con un'unica procedura. Per un migliore isolamento, e una più accurata quantificazione, sono disponibili la cromatografia liquida, l'elettroforesi capillare e la focalizzazione isoelettrica (30,31). La cromatografia liquida è attualmente considerata il metodo candidato ad essere di riferimento (31).

### **Uso per la diagnosi dell'uso gestazionale di alcol**

L'accuratezza diagnostica della CDT per rilevare l'abuso di alcol, può essere limitata nelle donne in gravidanza e deve essere attentamente valutato in relazione al consumo di alcol (32). Recentemente, lo studio di Kenan *et al.* ha messo in luce un aumento fisiologico della CDT durante la gestazione che suggerisce l'eventuale rischio di risultati falsi positivi, quando la CDT viene utilizzata per rilevare l'abuso cronico di alcol nelle donne in gravidanza (33). Nel 2011 anche il gruppo di studio di Bianchi *et al.* (34), ha dimostrato che i livelli di CDT sono direttamente correlati alla lunghezza della gestazione e, in un contesto legale, il suo uso come biomarcatore per l'uso gestazionale di alcol può essere limitato.

## HTOL / 5-HIAA

### Breve descrizione e storia

Un biomarcatore alternativo più incentrato sul bere moderato ed elevato recente è il 5-idrossitriptofolo (5-hydroxytryptophol, 5-HTOL), che viene escreto nelle urine principalmente come 5-idrossitriptofol-glucuronide (35). Un uso frequente del 5-HTOL come marcatore è stato ostacolato principalmente da problemi metodologici, a causa della elevata sensibilità richiesta per la sua misurazione, visto che la sostanza è presente a basse concentrazioni (35). Nell'uso clinico di routine, viene misurato il rapporto con l'acido 5-idrossi-indolacetico (5-HTOL/5-HIAA) per compensare le interferenze dovute a variazioni di diluizione delle urine, nonché al turnover della serotonina, di cui queste due sostanze sono metaboliti urinari (36).

### Determinazione

L'approccio analitico comune per la misurazione urinaria del 5-HTOL e del 5-HIAA è l'impiego di metodi individuali per ciascun composto: tipicamente la gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa per 5-HTOL e la cromatografia liquida per il 5-HIAA (35). Recentemente è stato commercializzato un test immunoenzimatico per la misura diretta del 5-idrossitriptofol-glucuronide, che risulta essere una valida alternativa alla metodologia gascromatografica che, determinando il solo 5-HTOL, necessita di una previa idrolisi del glucuronide urinario (37). I ricercatori del gruppo svedese di Helander e Beck, hanno messo a punto una metodologia in cromatografia liquida-spettrometria di massa per la misurazione simultanea del 5-idrossitriptofol-glucuronide e del 5-HIAA nelle urine, in associazione alla sola misura del glucuronide con un metodo immunologico (38, 39).

### Uso per la diagnosi di uso di alcol gestazionale

Non sono stati condotti fino ad ora studi su donne in gravidanza.

## Biomarcatori diretti

I biomarcatori diretti derivano direttamente dalla molecola di alcol etilico e contengono tutti i due gli atomi di carbonio della molecola parente. Si tratta in primo luogo dell'alcol etilico stesso o dei suoi prodotti del metabolismo ossidativo e non ossidativo, come gli esteri etilici degli acidi grassi (*Fatty Acid Ethyl Esters*, FAEE), l'etil glucuronide (EtG) e l'etisulfato (EtS) o il fosfatidiletanolo (*Phosphatidylethanol*, PEth). L'alcol etilico viene normalmente misurato nell'espriato e nel sangue per rilevare l'eventuale assunzione nelle ore immediatamente precedenti. Tale misura è quindi inutile per valutare l'uso gestazionale di alcol e la conseguente esposizione prenatale a questo teratogeno (40).

## FAEE

### Breve descrizione e storia

I FAEE si formano per esterificazione di alcol etilico con gli acidi grassi liberi e acidi grassi legati all'acilcoenzima A endogeni. Il processo di esterificazione è facilitato da due enzimi: la FAEE sintasi e l'acil-Coenzima A/etanol O-acil-transferasi (41,42). Negli esseri umani, le FAEE sintasi si trovano principalmente nel fegato e nel pancreas (41). Il gruppo dei FAEE è

costituito da più di 20 diversi esteri di acidi grassi a diversi numeri di atomi di carbonio. I FAEE più rappresentativi sono l'etil laurato (E12:0), l'etil miristato (E14:0), l'etil palmitato (E16:0), l'etil palmitoleato (E16:1), l'etil stearato (E18:0), l'etil oleato (E18:1), l'etil linoleato (E18:2), l'etil linolenato (E18:3), l'etil arachidonato (E20:4) e l'etil docosaesanoato (E22:6). L'eliminazione plasmatica dei FAEE ha un profilo cinetico bifasico con un'emivita primaria di circa 3 ore e un'emivita terminale di circa 11 ore, seguita dalla distribuzione tissutale o dall'idrolisi ad opera delle FAEE idrolasi (43). A causa della fase di eliminazione secondaria più lunga, i FAEE persistono nel sangue almeno 24 ore dopo l'ultima assunzione di alcol etilico (44).

### **Determinazione in matrici biologiche materne**

I FAEE possono essere misurati in diverse matrici biologiche materne. Tra queste, le più significative per misurare il consumo di alcol etilico gestazionale sono il sangue e i capelli (45).

I metodi utilizzati per l'analisi dei FAEE nel sangue (siero o plasma) si basano generalmente su una estrazione degli analiti dalla matrice con solventi apolari (es. acetone/n-esano), seguita da un'ulteriore purificazione su colonna di estrazione in fase solida (es. colonne amminopropiliche) (46-49). Dopo l'estrazione e la purificazione, gli analiti vengono identificati e quantificati mediante gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa, utilizzando i FAEE deuterati come standard interni o il meno costoso etil eptadecanoato (E17:0), di natura non endogena. L'analisi dei FAEE nel sangue, come biomarcatori di assunzione di alcol, fornisce un'informazione solo sul consumo recente (47). Secondo gli studi di Borucki *et al.* (50), i FAEE non sono più rilevabili nel siero dopo 29 ore dall'ultima assunzione di alcol etilico.

La metodologia di determinazione dei FAEE nei capelli è completamente diversa da quella riportata per il plasma e/o il siero. I metodi riportati per queste ultime due matrici non sono adatti per i capelli, a causa della sensibilità insufficiente per la poca quantità di campione disponibile (10-30 mg di capelli) e un elevato rumore di fondo cromatografico, causato da altri lipidi presenti nell'estratto di capelli. L'analisi dei FAEE nei capelli utilizza una microestrazione in fase solida a spazio di testa, dopo una procedura di lavaggio dei capelli con n-eptano e una purificazione con dimetilsolfossido-n-eptano, seguita dall'analisi in gas cromatografia-spettrometria di massa.

La somma della concentrazione di quattro FAEE (etil miristato E14:0, etil palmitato E16:0, etil stearato E18:0 ed etiloleato E18:1) nel segmento prossimale alla cute di 3 cm campioni dà una sensibilità del 90% e una specificità del 90%, con un valore soglia (cut-off) per la positività al consumo gestazionale di alcol di 0,5 ng/mg di capelli (51).

### **Uso per la diagnosi del consumo gestazionale di alcol**

Non ci sono dati relativi alla concentrazione media dei FAEE nel sangue e/o plasma delle donne in gravidanza. Esistono soltanto dati sulla concentrazione plasmatica media dei FAEE E16:0, E18:0, E18:1 e E18:2, nel plasma di individui con una storia di abuso cronico di alcol (valore medio = 15,09 mg/L), rispetto ad un gruppo di individui con una storia di abuso acuto di alcol (valore medio = 4,25 mg/L), che mostrano una differenza significativa tra i due gruppi (52). Ad oggi, l'opzione migliore per la valutazione di uso cronico di alcol in gravidanza è la determinazione di FAEE nei capelli materni. Il gruppo tedesco di Pragst *et al.* è stato il primo a suggerire questa possibilità (53). Il loro studio ha individuato una correlazione tra le concentrazioni di FAEE in campioni di capelli materni e la quantità di alcol etilico, consumato anche dopo 2 mesi di astinenza continuativa. Analogamente, Kulaga *et al.* hanno utilizzato la determinazione dei FAEE nei genitori a rischio di avere bambini con spettro dei disordini feti

alcolici, e hanno quantificato la prevalenza del consumo di alcol in questa popolazione. Su un totale di 26 madri in gravidanza i cui capelli sono stati analizzati per la presenza dei FAEE, il 19% è risultato positivo (sopra il valore di cut-off di 0,5 ng FAEE/mg nei capelli) per la modalità di bere eccessivo (54). Anni dopo, Kulaga *et al.* hanno dimostrato che le madri risultate positive per un uso cronico eccessivo di alcol, avevano un rischio tre volte maggiore di essere positive anche alla cocaina, utilizzando l'analisi dei capelli per questa sostanza (55). Tuttavia, una recente ricerca di Morini *et al.* ha dimostrato che la determinazione dei FAEE nei capelli di donne in gravidanza, non è utile per rilevare l'assunzione di alcol etilico inferiore a 30 g/giorno (56). Inoltre, sorprendentemente, una bassa concentrazione di FAEE: 0,06-0,37 ng/mg (media 0,17 ng/mg, n = 17), è stato rilevato nei capelli di astemie (57,58). In generale, i livelli di FAEE misurati nei campioni di capelli devono essere interpretati con cautela, in quanto l'incorporazione dei FAEE nei capelli può essere influenzata da differenze inter-individuali nel metabolismo dell'alcol, nella fisiologia della crescita dei capelli, nell'attività delle ghiandole sebacee, nell'igiene e nella cosmesi dei capelli (57, 58).

### Determinazione in matrici biologiche neonatali

La misura dei FAEE E16:0, E18:0, E18:2, E18:3 e E20:4 nel meconio neonatale è stata indicata per valutare oggettivamente l'esposizione prenatale all'alcol gestazionale. (59-61). La somma delle concentrazioni di questi cinque FAEE al disopra del valore soglia di 2 nmol/g o 50 ng/g meconio è stato raccomandato come prova di uso di alcol materno (53). Tradizionalmente, tutti i metodi analitici per la determinazione dei FAEE si basano sulla metodologia descritta per la prima volta nel 1996 da Bernhardt *et al.* (62). Questo metodo comporta una doppia estrazione dei FAEE dal meconio con solventi apolari e una estrazione successiva in fase solida. Una volta estratti dalla matrice biologica, i FAEE vengono determinati in cromatografia gassosa accoppiata ad un rivelatore a ionizzazione di fiamma o, nel caso di metodologie messe a punto successivamente, ad un rivelatore in spettrometria di massa (*Mass Spectrometry*, MS) (61, 63, 64).

Il primo metodo che ha utilizzato come rivelatore la spettrometria di massa tandem in accoppiamento alla gas cromatografia, è stato pubblicato da Bearer *et al.* nel 2003 (65). L'impiego di questo rivelatore ha permesso di incrementare notevolmente la sensibilità delle analisi. Nel 2009, Hutson *et al.* hanno introdotto una nuova tecnica di estrazione e purificazione dei FAEE, impiegando la microestrazione in fase solida con microfibra in silice, seguita da un'analisi in gas cromatografia-spettrometria di massa (66). Secondo gli autori, questo è un metodo ideale per la routine di campioni clinici poiché riduce al minimo il lavoro manuale. C'è però da obiettare che la microfibra è un dispositivo molto delicato, che presenta problemi di riproducibilità nell'estrazione di campioni successivi e di un certo costo. Pertanto, successivamente vari gruppi di studio hanno cercato di implementare e migliorare il metodo della microestrazione, cercando di renderlo meno costoso, più riproducibile e più sensibile (67, 68).

I metodi in cromatografia liquida, accoppiati alla spettrometria di massa tandem, hanno il vantaggio di essere più specifici in quantificare contemporaneamente svariati analiti di differente natura lipofila o idrofila, in matrici biologiche complesse. Il primo metodo utilizzato per quantificare i FAEE nel meconio con questa metodologia, è stato sviluppato da Pichini *et al.* (69). Tale metodo quantifica ben sette differenti FAEE – etil palmitato (E16:0), etil palmitoleato (E16:1), etil stearato (E18:0), etil oleato (E18:1), etil linoleato (E18:2), etil linolenato (E18:3), etil arachidonato (E20:4) – due in più dei cinque inizialmente considerati per dimostrare l'esposizione prenatale all'alcol. Il valore soglia per dimostrare la positività neonatale all'esposizione rimane comunque di 2 nmol per grammo di meconio, come suggerito dal gruppo canadese di Chan e Koren (63). Nel 2011, Kwak *et al.* hanno migliorato il metodo

precedentemente pubblicato, utilizzando una quantità inferiore di meconio come matrice biologica, un tempo di analisi più breve e un più piccolo volume di iniezione (70).

### **Uso per la diagnosi dell'esposizione prenatale all'alcol etilico**

La determinazione dei FAEE nel meconio è stata utilizzata in diversi studi epidemiologici per evidenziare esposizione fetale all'alcol etilico, durante il secondo e il terzo trimestre di gravidanza (71). In questo senso, è importante ricordare che i FAEE materni non attraversano la placenta per raggiungere la circolazione fetale, come dimostrato da Chan *et al.* (72), ma sono prodotti direttamente dal feto per reazione tra gli acidi grassi fetali e l'alcol etilico che attraversa la placenta. Poiché il meconio si accumula nell'intestino fetale a partire dalla ventesima settimana di gestazione fino alla nascita, esso fornisce un'ampia finestra di rilevamento dell'esposizione cronica fetale all'alcol. Tuttavia, il peso totale di meconio aumenta esponenzialmente da circa 1 g nelle settimane 23-26 di gestazione, a 5 g nelle settimane 27-32 e infine a 20-80 g alla nascita. Almeno il 75% del campione di materiale proviene dalle ultime 8 settimane di gravidanza (73).

I primi a utilizzare la misura dei FAEE nel meconio per la valutazione dell'esposizione in utero all'alcol etilico furono gli americani nel 1999 (59), seguiti dai canadesi che, nello stesso anno, misurando i FAEE nel meconio neonatale, misero in luce una esposizione fetale all'uso di alcol in gravidanza da parte di una madre che lo negava all'intervista antenatale (60).

Come già riportato precedentemente, al fine di discriminare tra neonati con e senza esposizione prenatale, poiché una certa quantità di FAEE può provenire dall'alcol etilico endogeno, o da tracce di alcol etilico contenute in alimenti comuni, i canadesi hanno condotto uno studio di popolazione, stabilendo un cut-off di 2 nmol per grammo di meconio quale valore soglia per evidenziare una esposizione prenatale all'alcol (63). Invece, gli americani del gruppo di Moore *et al.* (74) hanno suggerito che una concentrazione totale dei cinque FAEE, maggiormente presenti nel meconio superiore a 10.000 ng/g, può indicare che il neonato è stato esposto a notevoli quantità di alcol durante la gestazione. Sebbene questi siano i valori soglia al momento utilizzati per discriminare l'esposizione prenatale all'alcol, è bene ribadire che, al momento, non è mai stata dimostrata una correlazione lineare tra l'uso materno di alcol etilico auto-riferito e la concentrazione dei FAEE nel meconio (75). Al contrario, sia Bearer *et al.* nel 2005 (65) che Ostrea *et al.* nel 2006 (61) e Peterson *et al.* nel 2008 (76), hanno dimostrato che il solo etil linoleato (E18:2) presenta elevata specificità per l'esposizione prenatale ad alcol e correla con l'alcol materno auto-riferito.

Una serie di studi ha indagato la prevalenza dell'esposizione prenatale all'alcol in diverse popolazioni. Nel 2008, Gareri *et al.* hanno misurato la concentrazione dei FAEE in 682 campioni di meconio anonimi di un ospedale della regione di Grey Bruce, Ontario in Canada (77). Diciassette campioni su 682 di meconio (pari al 2,5%) sono risultati positivi per l'esposizione prenatale all'alcol etilico. Nello stesso anno, Garcia-Algar *et al.* hanno evidenziato a Barcellona, in Spagna, una esposizione intrauterina nel 45% di 353 neonati, provenienti da una coorte madre-neonato di basso status socio-economico (71). Una percentuale simile, un 44% di neonati esposti all'alcol materno su 905 studiati, è stata individuata da Hutson *et al.* a Montevideo, Uruguay (78). Lo studio più recente è quello di Pichini *et al.*, che ha coinvolto le Unità di Neonatologia di sette ospedali distribuiti sul territorio italiano, da nord al sud della penisola, per un totale di 607 neonati. L'analisi nel meconio dei FAEE e dell'etilglucuronide ha evidenziato un'esposizione prenatale all'alcol nel 7,9% di neonati a livello nazionale, con range variabili dallo 0% nella città di Verona, al 4,0% nella città di San Daniele del Friuli, 4,9% a Napoli, 5,0% a Firenze, 6,2% a Crotone, fino al 10,6% a Reggio Emilia e infine il 29,4% nella città di Roma (79).

## EtG ed EtS

### Breve descrizione e storia

L'EtG e l'EtS sono entrambi metaboliti diretti non ossidativi minori dell'alcol etilico. L'EtG si forma dalla coniugazione dell'alcol etilico con acido glucuronico mediata dalla UDP-glucuronil transferasi, l'etil sulfato dal trasferimento di un gruppo solforico 3'-fosfoadenosin-5'-fosfosolfato sull'alcol etilico ad opera della sulfotransferasi mitocondriale (80,81).

### Determinazione in matrici biologiche materne

I primi metodi per la determinazione dell'EtG nel sangue e nelle urine risalgono alla metà degli anni 90 del secolo precedente, e si basavano su tecniche analitiche in gas cromatografia-spettrometria di massa (50, 82). Nel 2001 Janda *et al.* proposero un miglioramento delle precedenti metodologie, prevedendo un'estrazione in fase solida dell'analita dalla matrice biologica con cartucce amino propiliche. Con questa estrazione specifica era possibile raggiungere un limite di quantificazione nel siero di 0,17 mg/L e 0,56 mg/L nelle urine (83).

Ad oggi, la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem è considerata la tecnica di scelta e la più sensibile per la determinazione di questi due biomarcatori. Metodi analitici che prevedono altri tipi di strumentazione risultano meno sensibili. Tra questi, l'EtG è stato determinato nelle urine con cromatografia liquida e rivelatore elettrochimico ad impulsi (84), oppure mediante una procedura di screening immunochimico (85) e con una metodologia immunologica a sandwich con anticorpi policlonali (86). Similmente, per quanto riguarda la determinazione dell'EtG nel siero, è stata proposta l'elettroforesi capillare con rivelatore ad assorbanza di luce ultravioletta, senza necessità di estrazione dell'analita, ottenendo un limite di sensibilità più che adeguato di 0,047 mg/L (87). Tale metodo è stato proposto anche per la determinazione dell'EtS nelle urine (88).

Come già visto nel caso dei FAEE, per ampliare la finestra di rilevazione dell'EtG e poter individuare un consumo ripetuto di alcol, è necessario determinarlo nei capelli. I metodi tradizionali per l'analisi dell'EtG nei capelli si basano sulla cromatografia gassosa e liquida, entrambi accoppiate alla spettrometria di massa (89-92). In entrambi i casi, il limite di quantificazione è nell'intervallo dei pg per mg di capelli, poiché le concentrazioni di questo analita nella matrice cheratinica variano da pochi pg/mg di capelli nel caso degli astemi, a valori superiori di 30-50 pg/mg di capelli nel caso di bevitrice e bevitori cronici. Il passaggio critico dell'analisi dell'EtG nel capello è l'estrazione dell'analita dalla matrice solida prima della sua quantificazione. L'EtG può essere facilmente estratto dalla matrice cheratinica utilizzando una soluzione acquosa alcalina. Tuttavia, probabilmente a causa della instabilità dei glucuronidi a pH non neutro, è meglio incubare i campioni di capelli soltanto in acqua distillata con l'aiuto di un bagno ad ultrasuoni per facilitare l'estrazione dell'analita, e in un paio di casi è stata utilizzata una miscela di acqua e solvente organico. I più recenti metodi per l'analisi dell'EtG nel capello prevedono un'estrazione in fase acquosa seguita da un'analisi in cromatografia liquida, accoppiata alla spettrometria di massa tandem. L'estrema sensibilità che si può raggiungere con questa strumentazione ha consentito di poter estrarre invece dei 50 o 100 mg di capelli solitamente utilizzati per l'analisi dell'EtG, soltanto 25 mg di matrice (93). Tali metodiche presentano un limite di quantificazione nell'ordine dei 20 pg/mg di capello, in accordo con il valore soglia di 30 pg/mg stabilito dal consenso della Società internazionale dei test sui capelli (*Society of Hair Testing*, SoHT), sui test dei capelli per l'uso cronico di alcol (89, 94-96).

## Uso per la diagnosi del consumo gestazionale di alcol

Negli ultimi dieci anni, per l'importanza dei tempi di esposizione all'alcol materno durante la gravidanza e i conseguenti esiti neonatali, è stata proposta la misura dell'EtG e dell'EtS nelle diverse matrici biologiche materne (sangue, urine e capelli materni) come supporto alla diagnosi del consumo materno.

Le concentrazioni massime di EtG e EtS nel sangue sono raggiunte 2-3,5 ore dopo il picco dell'alcol etilico e sono rilevabili fino a 4-8 ore dopo l'eliminazione dell'alcol etilico (97, 98).

Nelle urine, l'EtG è rilevabile nell'intervallo da 1 ora fino a 5 giorni dopo l'assunzione di alcol etilico (99), mentre l'ETS ha un periodo più breve di rilevamento: fino a 30 ore dopo l'assunzione di alcol (100). Pertanto sia l'EtG che l'EtS sono considerati biomarcatori urinari sensibili, che possono essere escreti nelle urine per periodi di tempo più prolungati rispetto a quelli dell'alcol etilico (101). In questo contesto, è importante ricordare la possibilità di risultati falsi negativi nelle donne in gravidanza a causa dell'eventuale idrolisi dell'EtG da parte dell'*Escherichia coli* qualora ci siano infezioni del tratto urinario, particolarmente comuni tra le donne in gravidanza (102). Attualmente, esiste un solo studio di Bianchi *et al.* che ha misurato le concentrazioni di EtG nel siero e nelle urine delle 64 gestanti mediante tecniche immunochimiche, rilevando sempre valori inferiori a 500 ng/mL di siero o di urina, valore soglia stabilito per lo studio riportato (34).

Con la determinazione dell'EtG nei capelli può essere possibile discriminare tra astemi, bevitori sociali e forti bevitori. Yegles e Pragst sono stati i primi a proporre dei valori soglia nei capelli, discriminativi delle differenti condizioni: EtG <8 pg/mg nel caso di astemi, tra 8 e 25 pg/mg nel caso di bevitori sociali e EtG >25 pg/mg per i bevitori pesanti (90). Tale valore soglia si è poi innalzato a 30 pg/mg, secondo il consenso della SoHT, come prima riportato (96).

L'analisi dell'EtG in campioni di capelli di donne in gravidanza è stata eseguita per la prima volta nel 2008, in uno studio pilota in Svezia, indicando che la misura sia dell'EtG che dei FAEE era in grado di identificare le potenziali consumatrici di alcol tra le donne in gravidanza più che il solo questionario AUDIT autosomministrato, senza indicare però la sensibilità del test (103). Ultimamente, Morini *et al.* (71) hanno misurato le concentrazioni di EtG in una coorte di donne in gravidanza mediante una metodologia in cromatografia liquida-spettrometria di massa tandem, concludendo che l'EtG nei capelli materni non è un buon predittore di consumo di alcol gestazionale a causa della sua impossibilità di diagnosticare un apporto di alcol etilico inferiore 30g al giorno.

## Determinazione in matrici biologiche neonatali

La determinazione dell'EtG e dell'EtS nel meconio è stata proposta come alternativa alla determinazione dei FAEE, allo scopo di discriminare tra uso eccessivo di alcol etilico gestazionale, uso occasionale o astinenza. Nel 2008, per la prima volta, il gruppo di studio italiano di Morini *et al.* ha messo a punto e validato un metodo analitico in cromatografia liquida-spettrometria di massa tandem con aggiunta post-colonna di acetonitrile, per la misurazione di EtG e ETS nel meconio (104). Questo metodo è stato successivamente migliorato nelle sue prestazioni, utilizzando la cromatografia liquida ad interazione idrofilica dal gruppo di Tarcomnicu *et al.* (93); mentre Bakdash *et al.* (82) hanno proposto, come nel caso dei FAEE nel meconio, una microestrazione in fase solida in combinazione con il metodo in gas cromatografia-spettrometria di massa (67).

## Uso per la diagnosi dell'esposizione prenatale all'alcol etilico

Utilizzando la misura dell'EtG e dell'EtS nel meconio, Pichini *et al.* hanno condotto diversi studi per valutare l'esposizione prenatale all'alcol etilico gestazionale in coorti madre-neonato

di due città del Mediterraneo: Reggio Emilia e Barcellona (105). Se da un lato, non è stato possibile stabilire una correlazione diretta tra le concentrazioni di EtG e EtS e quelle dei sette FAEE nel meconio, è stata evidenziata una buona correlazione tra EtG e EtS e singoli esteri etilici quali l'etil stearato (E18:0), o etil palmitoleato (E16:1) (56). Anche in mancanza di una correlazione diretta, gli studi sulle due coorti mediterranee hanno mostrato valori medi di EtG statisticamente più elevati nei campioni di meconio con FAEE > 2 nmol/g, rispetto ai valori medi dell'EtG in campioni di meconio con FAEE < 2 nmol/g, e una buona correlazione qualitativa tra EtG e EtS. Quest'ultimo biomarcatore era presente soltanto in campioni con EtG elevato, fungendo quindi da ulteriore conferma di una esposizione prenatale all'alcol materno (105, 106). Uno studio di popolazione su donne astemie in gravidanza e bevitrici croniche, ha permesso di stabilire anche nel caso dell'EtG un valore soglia per poter discriminare fra neonati esposti e non esposti in utero all'alcol materno. Questo valore soglia, calcolato con il metodo della curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*), è risultato essere di 2 nmol EtG per grammo di meconio (106). Proprio utilizzando questo valore soglia, è stato possibile effettuare lo studio multicentrico in sette neonatologie italiane, menzionato in precedenza che per la prima volta ha indagato sulla esposizione prenatale all'alcol gestazionale in diverse città italiane (79).

L'EtG e l'EtS sono biomarcatori del consumo materno di alcol anche all'inizio della gravidanza, come ha dimostrato uno studio di Morini *et al.* (107), che ha potuto identificare questi due biomarcatori nei tessuti placentari e fetali ottenuti da donne sottoposte a interruzione volontaria della gravidanza a 12 settimane di gestazione. Lo studio ha indicato che, già all'inizio della gravidanza, questi due metaboliti diretti del consumo di alcol passano dalla circolazione sistemica materna alla placenta e ai tessuti fetali di neoformazione.

## **PEth**

### **Breve descrizione e storia**

I fosfatidiletanoli sono un gruppo di fosfolipidi derivati dell'alcol etilico che hanno in comune una di molecola di fosfoetanolo su cui si agganciano due molecole di acido grasso. Il PEth si forma dalla fosfatidilcolina delle membrane cellulari mediante una reazione di transfosfatidilazione catalizzata dalla fosfolipasi D (108, 109). La fosfolipasi D normalmente idrolizza la fosfatidilcolina in acido fosfatidico e colina, ma poiché l'affinità per l'alcol etilico è di più di mille volte superiore a quella dell'acqua, il PEth si forma a spese della fosfatidilcolina quando è presente l'alcol etilico (110-112). Poiché il PEth si forma specificamente in presenza di alcol etilico, e ha una lunga emivita grazie alla sua velocità di degradazione lenta (113, 114), è stato suggerito che il PEth potrebbe potenzialmente essere usato come marcatore di consumo di alcol etilico. Infatti, il PEth ha una emivita media di circa quattro giorni nel sangue di alcolisti, ed era ancora misurabile dopo un massimo di due settimane di sobrietà (113).

### **Determinazione nelle matrici biologiche materne**

Diversi approcci analitici sono stati utilizzati per quantificare il PEth nel sangue e di altre matrici biologiche e tissutali: la cromatografia su strato sottile (112), la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa a elettronebulizzazione (115, 116) o alla spettrometria a tempo di volo (117), la cromatografia liquida accoppiata ad rivelatore evaporativo a diffusione di luce laser (114, 116, 118), l'elettroforesi capillare in mezzo non acquoso con rivelazione ad assorbimento di luce ultravioletta (119) o accoppiata alla spettrometria di massa a elettronebulizzazione (120). L'ultimo metodo menzionato ha dimostrato di essere il più sensibile e preciso, ed è quindi attualmente il più utilizzato.

## Uso per la diagnosi del consumo gestazionale di alcol

Il fatto che il PEth può essere misurato fino a 15-20 giorni dopo l'ultima assunzione di alcol, suggerisce che esso potrebbe essere un utile biomarcatore per la rilevazione retrospettiva dell'uso di alcol durante le prime settimane di gravidanza, quando la donna non è neanche consapevole della sua gravidanza. Tuttavia, ad oggi non ci sono studi pubblicati su questo argomento, ad esclusione dello studio di Stewart e colleghi che dimostra che il PEth è un indicatore molto sensibile di uso moderato ed eccessivo di alcol nelle donne in età riproduttiva (121). Al momento non sono stati condotti studi su matrici neonatali.

## Conclusioni e prospettive

Le matrici biologiche materne, fetali e neonatali sono, in misura diversa, depositi di sostanze, tra le quali l'alcol etilico e suoi biomarcatori, a cui è esposto il feto durante la vita uterina.

Pertanto, la valutazione accurata della esposizione del feto all'alcol etilico attraverso l'uso di questi biomarcatori oggettivi, potrebbe essere di grande importanza in quanto fornisce la base per un trattamento appropriato e adeguato follow-up dei neonati esposti. Laddove i biomarcatori materni indiretti sono indicativi di uso cronico di alcol, e possono essere aspecifici e influenzati da molte variabili fisiologiche e patologiche diverse dal consumo di alcol etilico, i biomarcatori diretti sono altamente specifici soprattutto se misurati in matrici biologiche fetali/neonatali. Solo in questo ultimo caso può essere dimostrata l'esposizione reale all'alcol etilico durante la vita intrauterina.

A questo proposito, il meconio neonatale è facilmente ottenibile e fornisce informazioni circa l'esposizione sia nel secondo che nel terzo trimestre di gravidanza. Al contrario, i capelli neonatali, formati soltanto durante l'ultimo trimestre, sono una matrice biologica per misurare l'esposizione all'alcol nell'ultima fase della gravidanza. Differentemente dal meconio, che si raccoglie solo nelle prime 24-48 ore dalla nascita, i capelli neonatali sono disponibili solo in piccola quantità, ma per un periodo postnatale (mesi) più esteso di quello del meconio. Per quanto riguarda i biomarcatori da misurare, la quantificazione dei FAEE nel meconio e nei capelli è attualmente il metodo più utilizzato per stimare l'incidenza dell'esposizione prenatale all'alcol etilico, grazie alla elevata sensibilità e specificità della misura. Al contrario, il metabolita alternativo ai FAEE, l'EtG, è di quindici anni più giovane, e ci sono ancora pochi studi di popolazione che confermino la validità della sua misura a fini diagnostici. Tuttavia, a differenza dei FAEE, che sono sette differenti composti misurabili soltanto con metodi cromatografici accoppiati alla spettrometria di massa, l'EtG è una sola molecola che al momento è anche essa misurata mediante cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa, ma che potrebbe essere potenzialmente misurata dopo l'estrazione dal meconio con una metodica immunochimica a basso costo, attualmente disponibile per campioni di urina e di sangue. Questa prospettiva di un test immunochimico, in sperimentazione nell'ultimo anno potrebbe aprire le porte ad un test applicato di routine nei reparti di neonatologia per la diagnosi precoce di esposizione prenatale all'alcol etilico (79).

L'utilizzo di biomarcatori oggettivi in una vasta gamma di matrici biologiche, già nel periodo prenatale, è stato un enorme passo avanti nella valutazione degli effetti deleteri di esposizione prenatale a xenobiotici.

Idealmente, dovrebbero essere raccolte e analizzate il maggior numero possibile di matrici biologiche per ottenere un quadro preciso di esposizione nel periodo prenatale. Sono necessari studi prospettici su larga scala, che coinvolgano coppie madre-neonato, per i quali si abbia a disposizione una storia dettagliata dell'uso gestazionale dell'alcol etilico, per stabilire un

biomarcatore e un valore soglia definitivo da utilizzare nel test di screening e poter correlare le diverse abitudini al bere delle donne in gravidanza con i risultati ottenuti.

## Bibliografia

1. Barr HM, Streissguth AP. Identifying maternal self-reported alcohol use associated with fetal alcohol spectrum disorders. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25:283-7.
2. Olson HC, Morse BA, Huffine C. Development and psychopathology: fetal alcohol syndrome and related conditions. *Semin. Clin. Neuropsychiatry* 2001;3:262-84.
3. 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;25:228-38.
4. Abel EL. Prevention of alcohol abuse-related birth effects--I. Public education efforts, *Alcohol Alcohol* 1998;33:411-16.
5. Klug MG, Burd L. Fetal alcohol syndrome prevention: annual and cumulative cost saving, *Neurotoxicol Teratol* 2003;25:763-65.
6. Lupton C, Burd L, Harwood R. Cost of fetal alcohol spectrum disorders. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2004;127C:42-50.
7. Chang G. Alcohol-screening instruments for pregnant women. *Alcohol Res Health* 2001;25:204-9.
8. Russell M, Martier SS, Sokol RJ, Mudar P, Jacobson S, Jacobson J. Detecting risk drinking during pregnancy: a comparison of four screening questionnaires. *Am. J Public Health* 1996;86:1435-9.
9. Rosalki SB, Rau D, Lehmann D, Prentine M. Gamma-glutamyl transpeptidase in chronic alcoholism. *Lancet* 1970;21139
10. Sillanaukee P, Massot N, Jousilahti P, Vartiainen E, Sundvall J, Olsson U, Poikolainen K, Ponnio M, Allen JP, Alho H. Dose response of laboratory markers to alcohol consumption in a general population. *Am. J Epidemiol* 2000;152:747-51.
11. Poikolainen K, Vartiainen E. Determinants of gamma-glutamyltransferase: positive interaction with alcohol and body mass index, negative association with coffee. *Am J Epidemiol* 1997;146:1019-24.
12. Masuiki M, Ogawa M, Kitahara T, Murata A, Matsuda K, Kosaki G. Development of radioimmunoassay for gamma-glutamyl transferase using pancreatic enzyme. *Ann Clin Biochem* 1983;20:247-50.
13. Larsson G. Prevention of fetal alcohol effects. An antenatal program for early detection of pregnancies at risk. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1983;62:171-8.
14. Halmesmaki E, Roine R, Salaspuro M. Gamma-glutamyltransferase, aspartate and alanine aminotransferases and their ratio, mean cell volume and urinary dolichol in pregnant alcohol abusers. *B. J Obstet Gynaecol* 1992;99:287-91.
15. Devgun MS, Dunbar JA, Hagart J, Martin BT. Alcohol intake and liver function tests. *Ann Clin Biochem* 1985;22:104-5.
16. Helander A, Beck O, Jones AW. Laboratory testing for recent alcohol consumption: comparison of ethanol, methanol, and 5-hydroxytryptophol. *Clin Chem* 1996;42:618-24.
17. Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24:58-73.
18. Vanderlinde RE. Review of pyridoxal phosphate and the transaminases in liver disease. *Ann Clin Lab Sci* 1986;16:79-93.

19. Littner Y, Bearer CF. Detection of alcohol consumption during pregnancy--current and future biomarkers. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31:261-9.
20. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med* 2000;342:1266-71.
21. Wu A, Chanarin I, Levi AJ. Macrocytosis of chronic alcoholism. *Lancet* 1974;1:829-83.
22. Conigrave KM, Davies P, Haber P, Whitfield JB. Traditional markers of excessive alcohol use. *Addiction* 2003;98:31-43.
23. Hasselblatt M, Martin F, Maul O, Ehrenreich H, Kernbach-Wighton G. Persistent macrocytosis following abstinence from chronic alcohol use. *JAMA* 2001;286:2946.
24. Meerkerk GJ, Njoo KH, Bongers IM, Trienekens P, van Oers JA. Comparing the diagnostic accuracy of carbohydrate-deficient transferrin, gamma-glutamyltransferase, and mean cell volume in a general practice population. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:1052-59.
25. Davidson RJ, Hamilton PJ. High mean red cell volume: its incidence and significance in routine haematology. *J Clin Pathol* 1978;31:493-8.
26. Sarkola T, Eriksson CJ, Niemela O, Sillanaukee P, Halmesmaki E. 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 Obstet Gynecol Scand* 2000;79:359-66.
27. Conigrave KM, Degenhardt LJ, Whitfield JB, Saunders JB, Helander A, Tabakoff B. CDT, GGT, and AST as markers of alcohol use: the WHO/ISBRA collaborative project. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:332-9.
28. Allen JP, Litten RZ. Recommendations on use of biomarkers in alcoholism treatment trials. *Alcohol Clin Exp Res* 2003;27:1667-70.
29. Helander A, Vabo E, Levin K, Borg S. Intra- and interindividual variability of carbohydrate-deficient transferrin, gamma-glutamyltransferase, and mean corpuscular volume in teetotalers. *Clin Chem* 1998;44:2120-5.
30. Bortolotti F, De Paoli G, Pascali JP, Trevisan MT, Floreani M, Tagliaro F. Analysis of carbohydrate-deficient transferrin: comparative evaluation of turbidimetric immunoassay, capillary zone electrophoresis, and HPLC. *Clin Chem* 2005;51:2368-71.
31. Helander A, Wielders JP, Te Stroet R, Bergstrom JP. Comparison of HPLC and capillary electrophoresis for confirmatory testing of the alcohol misuse marker carbohydrate-deficient transferrin. *Clin Chem* 2005;51:1528-31.
32. Stauber RE, Jauk B, Fickert P, Hausler M. Increased carbohydrate-deficient transferrin during pregnancy: relation to sex hormones. *Alcohol Alcohol* 1996;31:389-92.
33. Kenan N, Larsson A, Axelsson O, Helander A. Changes in transferrin glycosylation during pregnancy may lead to false-positive carbohydrate-deficient transferrin CDT; results in testing for riskful alcohol consumption. *Clin Chim Acta* 2011;412:129-33.
34. Bianchi V, Ivaldi A, Raspagni A, Arfini C, Vidali M. Pregnancy and variations of carbohydrate-deficient transferrin levels measured by the candidate reference HPLC method. *Alcohol Alcohol* 2011;46:123-7.
35. Beck O, Helander A. 5-hydroxytryptophol as a marker for recent alcohol intake. *Addiction* 2003;98:63-72.
36. Helander A, Beck O, Jones AW. Urinary 5HTOL/5HIAA as biochemical marker of postmortem ethanol synthesis. *Lancet* 1992;340:1159.

37. Dierkes J, Wolfersdorf M, Borucki K, Weinmann W, Weisbeck G, Beck O, Borg S, Wurst FM. Determination of glucuronidated 5-hydroxytryptophol GTOL; a marker of recent alcohol intake, by ELISA technique. *Clin Biochem* 2007;40:128-31
38. Stephanson N, Helander A, Beck O. Alcohol biomarker analysis: simultaneous determination of 5-hydroxytryptophol glucuronide and 5-hydroxyindoleacetic acid by direct injection of urine using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2007;42:940-9
39. Beck O, Stephanson N, Bottcher M, Dahmen N, Fehr C, Helander A. Biomarkers to disclose recent intake of alcohol: potential of 5-hydroxytryptophol glucuronide testing using new direct UPLC-tandem MS and ELISA methods. *Alcohol Alcohol* 2007;42:321-5
40. Helander A. Biological markers in alcoholism. *J Neural Transm Suppl* 2003;15-32
41. Laposata EA, Lange LG. Presence of nonoxidative ethanol metabolism in human organs commonly damaged by ethanol abuse. *Science* 1986;281:497-9
42. Kaphalia BS, Ansari GA. Fatty acid ethyl esters and ethanol-induced pancreatitis. *Cell Mol Biol* 2001;47:173-9
43. Doyle KM, Bird DA, al-Salihi S, Hallaq Y, Cluette-Brown JE, Goss KA, Laposata M. Fatty acid ethyl esters are present in human serum after ethanol ingestion. *J Lipid Res* 1994;35:428-37
44. Doyle KM, Cluette-Brown JE, Dube DM, Bernhardt TG, Morse CR, Laposata M. Fatty acid ethyl esters in the blood as markers for ethanol intake. *JAMA* 1996;276:1152-6
45. Bearer CF, Gould S, Emerson R, Kinnunen P, Cook CS. Fetal alcohol syndrome and fatty acid ethyl esters. *Pediatr Res* 1992;31:492-5
46. 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
47. Borucki K, Kunstmann S, Dierkes J, Westphal S, Diekmann S, Bogerts B, Luley C. In heavy drinkers fatty acid ethyl esters in the serum are increased for 44 hr after ethanol consumption. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28:1102-6
48. Kaluzny MA, Duncan LA, Merritt MV, Epps DE. Rapid separation of lipid classes in high yield and purity using bonded phase columns. *J Lipid Res* 1985;26:135-40
49. Dan L, Cluette-Brown JE, Kabakibi A, Laposata M. Quantitation of the mass of fatty acid ethyl esters synthesized by Hep G2 cells incubated with ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:1125-31
50. Borucki K, Schreiner R, Dierkes J, Jachau K, Krause D, Westphal S, Wurst FM, Luley C, Schmidt-Gayk H. Detection of recent ethanol intake with new markers: comparison of fatty acid ethyl esters in serum and of ethyl glucuronide and the ratio of 5-hydroxytryptophol to 5-hydroxyindole acetic acid in urine. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:781-7
51. Kintz P. Consensus of the Society of Hair Testing on hair testing for chronic excessive alcohol consumption 2011. *Forensic Sci Int* 2012 May 10;218(1-3):2
52. Kaphalia BS, Cai P, Khan MF, Okorodudu AO, Ansari GA. Fatty acid ethyl esters: markers of alcohol abuse and alcoholism. *Alcohol* 2004;34:151-8
53. Pragst F, Yegles M. Determination of fatty acid ethyl esters FAEE; and ethyl glucuronide EtG; in hair: a promising way for retrospective detection of alcohol abuse during pregnancy? *Ther Drug Monit* 2008;30:255-63
54. Kulaga V, Koren G. Hair analysis of fatty acid ethyl esters in the detection of excessive drinking in the context of fetal alcohol spectrum disorders. *Ther Drug Monit* 2009;31:261-66
55. Kulaga V, Shor S, Koren G. Correlation between drugs of abuse and alcohol by hair analysis: parents at risk for having children with fetal alcohol spectrum disorder. *Alcohol* 2011;44:615-21

56. Morini L, Marchei E, Vagnarelli F, Garcia-Algar O, Groppi A, Mastrobattista L, Pichini S. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate in meconium and hair-potential biomarkers of intrauterine exposure to ethanol. *Forensic Sci Int* 2011;196:74-77
57. 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
58. Auwarter V, Kiessling B, Pragst F. Squalene in hair--a natural reference substance for the improved interpretation of fatty acid ethyl ester concentrations with respect to alcohol misuse. *Forensic Sci Int* 2004;145:149-59
59. 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
60. 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
61. Ostrea EM, Hernandez JD, Bielawski DM, Kan JM, Leonardo GM, Abela MB, Church MW, Hanningan JH, Janisse JJ, Ager JW, Sokol RJ. Fatty acid ethyl esters in meconium: are they biomarkers of fetal alcohol exposure and effect? *Alcohol Clin Exp Res* 2006;30:1152-9
62. Bernhardt TG, Cannistraro PA, Bird DA, Doyle KM, Laposata M. Purification of fatty acid ethyl esters by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1996; 675:189-96.
63. 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
64. Moore CM, Lewis D. Fatty acid ethyl esters in meconium: biomarkers for the detection of alcohol exposure in neonates. *Clin Chim Acta* 2001;31:2235-7
65. Bearer CF, Jacobson JL, Jacobson SW, Barr D, Croxford J, Moltano CD, Viljoen DL, Marais AS, Chiodo LM, Cwik AS. Validation of a new biomarker of fetal exposure to alcohol. *J Pediatr* 2003;143:463-9.
66. Hutson JR, Aleksa K, Pragst F, Koren G. Detection and quantification of fatty acid ethyl esters in meconium by headspace-solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009;877:8-12.
67. Bakdash A, Burger P, Goecke TW, Fasching PA, Reulbach U, Bleich S, Hastedt M, Rothe M, Beckmann MW, Pragst F, Kornhuber J. Quantification of fatty acid ethyl esters FAEE; and ethyl glucuronide EtG; in meconium from newborns for detection of alcohol abuse in a maternal health evaluation study. *Anal Bioanal Chem* 2011;396:2469-77.
68. Hutson JR, Rao C, Fulga N, Aleksa K, Koren G. An improved method for rapidly quantifying fatty acid ethyl esters in meconium suitable for prenatal alcohol screening. *Alcohol* 2011;45:193-99.
69. Pichini S, Pellegrini M, Gareri J, Garcia-Algar O, Vall O, Vagnarelli F, Zuccaro P, Marchei E. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for fatty acid ethyl esters in meconium: assessment of prenatal exposure to alcohol in two European cohorts. *J Pharm Biomed Anal* 2008;48:927-33.
70. Kwak HS, Kang YS, Han KO, Moon JT, Chung YC, Choi JS, Han JY, Kim MY, Velanzquez-Armenta EY, Nava-Ocampo AA. Quantitation of fatty acid ethyl esters in human meconium by an improved liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2011;878:1871-4
71. Garcia-Algar O, Kulaga V, Gareri J, Koren G, Vall O, Zuccaro P, Pacifici R, Pichini S, Alarming prevalence of fetal alcohol exposure in a Mediterranean city. *Ther Drug Monit* 2008;30:249-54.

72. 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.
73. Burd L, Hofer R. Biomarkers for detection of prenatal alcohol exposure: a critical review of fatty acid ethyl esters in meconium. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2008;82:487-93.
74. Moore C, Jones J, Lewis D, Buchi K. Prevalence of fatty acid ethyl esters in meconium specimens. *Clin Chem* 2003;49:133-6.
75. Derauf C, Katz AR, Easa D. Agreement between maternal self-reported ethanol intake and tobacco use during pregnancy and meconium assays for fatty acid ethyl esters and cotinine. *Am. J.Epidemiol.* 2003;158:705-9.
76. Peterson J, Kirchner HL, Xue W, Minnes S, Singer LT, Bearer CF. Fatty acid ethyl esters in meconium are associated with poorer neurodevelopmental outcomes to two years of age. *J Pediatr* 2008;152:788-92.
77. Gareri J, Lynn H, Handley M, Rao C, Koren G. Prevalence of fetal ethanol exposure in a regional population-based sample by meconium analysis of fatty acid ethyl esters. *Ther Drug Monit* 2008;30:239-45.
78. Hutson JR, Magri R, Gareri JN, Koren G. The Incidence of Prenatal Alcohol Exposure in Montevideo Uruguay As Determined by Meconium Analysis. *Ther Drug Monit* 2010;32:311-17.
79. Pichini S, Marchei E, Vagnarelli F, Tarani L, Raimondi F, Maffucci R, Sacher B, Bisceglia M, Rapisardi G, Elicio MR, Biban P, Zuccaro P, Pacifici R, Pierantozzi A, Morini L. Assessment of prenatal exposure to ethanol by meconium analysis: results of an Italian multicenter study. *Alcohol Clin Exp Res* 2012;36:417-24.
80. Wurst FM, Skipper GE, Weinmann W. Ethyl glucuronide--the direct ethanol metabolite on the threshold from science to routine use. *Addiction* 2003;98:51-61.
81. Pragst F, Balikova MA. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin. Chim. Acta* 2006;370:17-49.
82. Schloegl H, Dresen S, Spaczynski K, Stoertzel M, Wurst FM, Weinmann W. Stability of ethyl glucuronide in urine, post-mortem tissue and blood samples. *Int J Legal Med* 2006;120:83-8.
83. Janda I, Alt A. Improvement of ethyl glucuronide determination in human urine and serum samples by solid-phase extraction. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001;758:229-34
84. Shar R, Lacourse WR. An improved method to detect ethyl glucuronide in urine using reversed-phase liquid chromatography and pulsed electrochemical detection. *Anal Chim Acta* 2006;576:239-45.
85. Latvala J, Parkkila S, Melkko J, Niemela O. Acetaldehyde adducts in blood and bone marrow of patients with ethanol-induced erythrocyte abnormalities. *Mol Med* 2001;7:401-5.
86. Zimmer H, Schmitt G, Aderjan R. Preliminary immunochemical test for the determination of ethyl glucuronide in serum and urine: comparison of screening method results with gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 2002;26:11-6.
87. Krivankova L, Caslavská J, Malásková H, Gebauer P, Thormann W. Analysis of ethyl glucuronide in human serum by capillary electrophoresis with sample self-stacking and indirect detection. *J Chromatogr A* 2005;1081:2-8.
88. Esteve-Turrillas FA, Bicker W, Lammerhofer M, Keller T, Lindner W. Determination of ethyl sulfate--a marker for recent ethanol consumption--in human urine by CE with indirect UV detection. *Electrophoresis* 2006;27:4763-71.
89. Jurado C, Soriano T, Gimenez MP, Menendez M. Diagnosis of chronic alcohol consumption. Hair analysis for ethyl-glucuronide. *Forensic Sci Int* 2004;145:161-6.

90. Yegles M, Labarthe A, Auwarter V, Hartwig S, Vater H, Wennig R, Pragst F. Comparison of ethyl glucuronide and fatty acid ethyl ester concentrations in hair of alcoholics, social drinkers and teetotalers. *Forensic Sci Int* 2004;145:167-73.
91. Kharbouche H, Sporkert F, Troxler S, Augsburge M, Mangin P, Staub C. Development and validation of a gas chromatography-negative chemical ionization tandem mass spectrometry method for the determination of ethyl glucuronide in hair and its application to forensic toxicology. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009;877:2337-43.
92. Janda I, Weinmann W, Kuehnle T, Lahode M, Alt A. Determination of ethyl glucuronide in hair by SPE and LC-MS/MS. *Forensic Sci Int* 2002;128:59-65.
93. Tarcomnicu I, van Nuijs AL, Aerts K, De Doncker M, Covaci A, Neels H. Ethyl glucuronide determination in meconium and hair by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Forensic Sci Int* 2011;196:121-7.
94. Morini L, Politi L, Groppi A, Stramesi C, Poletini A. Determination of ethyl glucuronide in hair samples by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry *J Mass Spectrom* 2006;41:34-42.
95. Lamoureux F, Gaulier JM, Sauvage FL, Mercerolle M, Vallejo C, Lachatre G. Determination of ethyl-glucuronide in hair for heavy drinking detection using liquid chromatography-tandem mass spectrometry following solid-phase extraction. *Anal Bioanal Chem* 2009;394:1895-901.
96. Kintz P. Consensus of the Society of Hair Testing on hair testing for chronic excessive alcohol consumption. *Forensic Sci Int* 2010;196:2.
97. Schmitt G, Aderjan R, Keller T, Wu M. Ethyl glucuronide: an unusual ethanol metabolite in humans. Synthesis, analytical data, and determination in serum and urine. *J Anal Toxicol* 1995;19:91-4.
98. Halter CC, Dresen S, Auwaerter V, Wurst FM, Weinmann W. Kinetics in serum and urinary excretion of ethyl sulfate and ethyl glucuronide after medium dose ethanol intake. *Int J Legal Med* 2008;122:123-8.
99. Wurst FM, Alling C, Aradottir S, Pragst F, Allen JP, Weinmann W, Marmillot P, Ghosh P, Lakshman R, Skipper GE, Neumann T, Spies C, Javors M, Johnson BA, Ait-Daoud N, Akhtar F, Roache JD, Litten R. Emerging biomarkers: new directions and clinical applications. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:465-73.
100. Kissack JC, Bishop J, Roper AL. Ethylglucuronide as a biomarker for ethanol detection. *Pharmacotherapy* 2008;28:769-81.
101. Junghanns K, Graf I, Pfluger J, Wetterling G, Ziemer C, Ehrental D, Zollner M, Dibbelt L, Backhaus J, Weinmann W, Wurst FM Urinary ethyl glucuronide EtG; and ethyl sulphate EtS; assessment: valuable tools to improve verification of abstinence in alcohol-dependent patients during in-patient treatment and at follow-ups. *Addiction* 2009;104:921-6.
102. Wurst FM, Wiesbeck GA, Metzger JW, Weinmann W. On sensitivity, specificity, and the influence of various parameters on ethyl glucuronide levels in urine--results from the WHO/ISBRA study. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28:1220-8
103. Wurst FM, Kelso E, Weinmann W, Pragst F, Yegles M, Sundstrom Poromaa I. Measurement of direct ethanol metabolites suggests higher rate of alcohol use among pregnant women than found with the AUDIT--a pilot study in a population-based sample of Swedish women. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:401-5.
104. Morini L, Marchei E, Pellegrini M, Groppi A, Stramesi C, Vagnarelli F, Garcia-Algar O, Pacifici R, Pichini S. Liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection for the measurement of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in meconium: new biomarkers of gestational ethanol exposure? *Ther Drug Monit* 2008;30:725-32.

105. Pichini S, Morini L, Marchei E, Palmi I, Rotolo MC, Vagnarelli F, Garcia-Algar O, Vall O, Zuccaro P. Ethylglucuronide and ethylsulfate in meconium to assess gestational ethanol exposure: preliminary results in two Mediterranean cohorts. *Can J Clin Pharmacol* 2009;16:370-5.
106. Morini L, Groppi A, Marchei E, Vagnarelli F, Garcia-Algar O, Zuccaro P, Pichini S. Population baseline of meconium ethyl glucuronide and ethyl sulfate concentrations in newborns of nondrinking women in 2 mediterranean cohorts. *Ther Drug Monit* 2010;32:359-62.
107. Morini L, Falcon M, Pichini S, Garcia-Algar O, Danesino P, Groppi A, Luna A. Ethyl-glucuronide and ethyl-sulfate in placental and fetal tissues by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Anal Biochem* 2011;418:30-6.
108. Gustavsson L, Alling C. Formation of phosphatidylethanol in rat brain by phospholipase D *Biochem Biophys Res* 1987;142:958-63.
109. Kobayashi M, Kanfer JN. Phosphatidylethanol formation via transphosphatidylation by rat brain synaptosomal phospholipase D *J Neurochem* 1987;48:1597-603.
110. Exton JH. Phospholipase D: enzymology, mechanisms of regulation, and function. *Physiol Rev* 1977;77:303-20.
111. Chalifa-Caspi V, Eli Y, Liscovitch M. Kinetic analysis in mixed micelles of partially purified rat brain phospholipase D activity and its activation by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *Neurochem Res* 1998;23:589-99.
112. Hansson P, Caron M, Johnson G, Gustavsson L, Alling C. Blood phosphatidylethanol as a marker of alcohol abuse: levels in alcoholic males during withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21:108-10.
113. Varga A, Hansson P, Lundqvist C, Alling C. Phosphatidylethanol in blood as a marker of ethanol consumption in healthy volunteers: comparison with other markers. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:1832-7
114. Varga A, Hansson P, Johnson G, Alling C. Normalization rate and cellular localization of phosphatidylethanol in whole blood from chronic alcoholics. *Clin Chim Acta* 2000;299:141-50
115. Gunnarsson T, Karlsson A, Hansson P, Johnson G, Alling C, Odham G. Determination of phosphatidylethanol in blood from alcoholic males using high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering or electrospray mass spectrometric detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998;705:243-9.
116. Gunnarsson T, Ekblad L, Karlsson A, Michelsen P, Odham G, Jergil B. Separation of polyphosphoinositides using normal-phase high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection or electrospray mass spectrometry. *Anal Biochem* 1997;254:293-6.
117. Tolonen A, Lehto TM, Hannuksela ML, Savolainen MJ. A method for determination of phosphatidylethanol from high density lipoproteins by reversed-phase HPLC with TOF-MS detection. *Anal Biochem* 2005;341:83-8
118. Aradottir S, Olsson BL. Methodological modifications on quantification of phosphatidylethanol in blood from humans abusing alcohol, using high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection. *BMC Biochem* 2005;6:18.
119. Varga A, Nilsson S. Nonaqueous capillary electrophoresis for analysis of the ethanol consumption biomarker phosphatidylethanol. *Electrophoresis* 2008;29:1667-71.
120. Nalesso A, Viel G, Cecchetto G, Frison G, Ferrara SD. Analysis of the alcohol biomarker phosphatidylethanol by NACE with on-line ESI-MS. *Electrophoresis* 2011;31:1227-33.
121. Stewart SH, Law TL, Randall PK, Newman R. Phosphatidylethanol and alcohol consumption in reproductive age women. *Alcohol Clin Exp Res* 2011;34:488-92.

## ASPETTI CLINICI DELLA SINDROME FETO-ALCOLICA

Luigi Tarani, Chiara Mancini, Michela Martini, Francesca Tarani, Giovanni Parlapiano, Leonardo Pimpolari, Francesca Mancini  
Dipartimento di Pediatria e Neuropsichiatria Infantile, "Sapienza" Università di Roma, Roma

### Introduzione

La sindrome feto-alcolica (*Fetal Alcohol Syndrome*, FAS) è una condizione malformativa complessa del neonato e del bambino, descritta nel 1968 da Lemoine, e classificata da K. Jones, dovuta all'effetto teratogeno dell'alcol consumato durante la gravidanza. Numerosi studi di epidemiologia hanno evidenziato che l'alcolismo materno in gravidanza è la più frequente causa prevenibile di ritardo mentale nell'infanzia. Gli effetti dell'alcol sul feto variano dall'aborto ad uno spettro di manifestazioni cliniche definito FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) che, oltre alla FAS, comprende la FAS parziale (PFAS), i difetti congeniti neonatali associati all'alcol (*Alcohol Related Birth Defects*, ARBD) e i disturbi dello sviluppo neurologico associati all'alcol (*Alcohol Related Neurodevelopmental Disorders*, ARND). Nel 2006 è stata pubblicata la prima indagine epidemiologica su FASD in Italia che ha rilevato una prevalenza nel campione del Lazio del 3,5%, contro una prevalenza che negli USA varia tra 0,5 e 9%, a seconda degli studi.

Le prime segnalazioni riguardo agli effetti teratogeni dell'alcol, risalgono, nella letteratura medica moderna, alla fine degli anni '60 del secolo scorso, quando Lemoine in Francia pubblicò un articolo intitolato "Les enfants de parents alcooliques: anomalies observes a propos de 127 cases". Cinque anni più tardi, nel 1973, alcuni membri della *Dysmorphology Unit* dell'Università di Washington pubblicarono tre articoli sulla rivista britannica *The Lancet*. In uno di questi articoli venne introdotta, per la prima volta, la definizione di FAS per indicare lo specifico spettro di malformazioni causate dalla esposizione intrauterina all'alcol (1, 2).

Nel 1978, Clarren e Smith (3) introdussero il termine *Fetal Alcohol Effects* (FAE), sostituita infine con la definizione di disturbo da fetopatia alcolica (FASD).

Con l'aumentare dei dati di letteratura e delle segnalazioni su casi di FAS, si sono delineate forme sfumate della sindrome, cosiddette a sintomatologia "parziale" (PFAS), da difetti congeniti associati all'alcol (ARBD), da disturbi dello sviluppo neurologico associati all'alcol (ARND).

Pertanto l'acronimo FASD viene utilizzato per indicare la gamma degli effetti che possono, eventualmente, manifestarsi in un individuo la cui madre abbia consumato alcol in gravidanza. Questi effetti possono comprendere: anomalie fisiche, alterazioni mentali, comportamentali e/o deficit dell'apprendimento che, generalmente, sono permanenti.

FASD è una causa comune di disabilità dovuta all'uso-abuso di alcol durante la gravidanza. Molti paesi, inclusa l'Italia, non hanno dati concordanti sulla reale prevalenza della sindrome, e una reale stima della diffusione di tale patologia nel mondo non è stata ancora effettuata. Le ragioni di questa lacuna sono molte: c'è una scarsa conoscenza delle problematiche alcol-correlate. In molti paesi FASD è scarsamente nota in ambito medico, questo porta a sottostimare il problema e a non identificare i soggetti affetti (4).

La diagnosi fino a poco tempo fa non era basata su linee guida uniformemente convalidate e molto spesso veniva posta sulla osservazione delle sole anomalie facciali, di fatto non sempre

presenti nei soggetti affetti. Nel 1973 Jones *et al.* (2) propose la definizione di sindrome feto-alcolica, FAS, come, un quadro patologico, espresso da una triade caratterizzata da: (a) segni di disfunzione del Sistema Nervoso Centrale (SNC); (b) anomalie cranio-facciali, quali filtro nasale lungo e appiattito, labbro superiore sottile e rime palpebrali brevi; (c) ritardo di crescita pre e/o post natale.

Più recentemente, l'espressione di "spettro di disturbi associati ad esposizione prenatale all'alcol", FASD, è entrata nell'uso comune come termine ombrello che riunisce sotto di sé l'intera gamma dei possibili effetti dell'esposizione prenatale all'alcol.

## Epidemiologia

### Incidenza

Negli USA i dati sull'incidenza di FASD derivano da una rete di 1500 ospedali partecipanti al progetto "Birth defect Monitoring Program" dei *Centers for Disease Control and prevention* (CDC). Questi dati rilevano un'incidenza nazionale di FAS di 1-3 per 1.000 nati vivi e per FASD di 9,1 per 1.000 nati vivi (5-7).

Molti studi hanno stimato che il 25-40% delle donne alcoliste darà alla luce un bambino affetto da FASD, se continueranno a bere durante la gravidanza (8). Il rischio di FASD sembra aumentare nelle alcoliste che continuano a bere nel corso del periodo fertile, ossia, è probabile che il figlio affetto da FASD sia l'ultimogenito, sebbene i figli più grandi possano mostrare segni più sfumati della malattia. Non esistono dati sull'incidenza di FASD in Italia.

### Prevalenza

La prevalenza di FASD varia tra 0,2 e 1,5 casi su 1.000 nati vivi in varie popolazioni. Altri studi, che hanno utilizzato metodiche di accertamento variabile, hanno messo in evidenza tassi di prevalenza compresi tra 0,2 e 2 casi su 1.000 nati vivi. Questi sono dati comparabili, o superiori, a quelli di altre comuni patologie, come la sindrome di Down o la Spina bifida.

Si può stimare che negli USA, su circa 4 milioni di nati ogni anno, da 1.000 a 6.000 bambini presentino quadri ricollegabili a FASD.

Alla luce di tali dati il consumo di alcol in gravidanza, qualsiasi sia la sua frequenza o quantità, deve essere considerato rischioso.

È allarmante notare che negli USA il 50% delle donne in età fertile assume alcol, gran parte di loro solo occasionalmente ma ben il 15% del campione ha dichiarato consumi eccessivi. Il 13% ha affermato di aver consumato 5 UA (Unità Alcoliche)/die, o più, di alcol in almeno un'occasione, nel mese precedente l'intervista. Da questi dati si è stimato che il 2% delle donne americane ha una gravidanza a rischio di FASD, a causa del bere.

Da questi studi sono emersi numerosi fattori di rischio per la nascita di bambini con FASD, tra cui: continuare ad assumere alcol durante la gravidanza, la frequenza del consumo di alcol, la dipendenza o la polidipendenza da alcol, aver assunto alcol nelle gravidanze precedenti, l'abuso di alcol da parte di un convivente.

Come detto in precedenza non esistono dei livelli di alcol definiti sicuri. Si è calcolato che il 32% dei neonati di madri forti bevitrici (>5 UA/die) presenta anomalie congenite, contro il 9% dei figli di madri astemie e il 14% dei figli di madri che bevono con moderazione (<3 UA/die).

I principali sistemi di metabolizzazione dell'alcol sono: il sistema alcol deidrogenasi (*Alcohol DeHydrogenases*, ADH) presente a livello epatico, gastrico e cerebrale; il sistema

ossidante microsomiale (*Microsomal Ethanol Oxidizing System*, MEOS) nel reticolo endoplasmatico liscio e la catalasi perossisomiale.

Un elemento che espone il feto al rischio teratogeno dell'alcol è la ridotta capacità della donna di metabolizzare tale sostanza. È stato dimostrato che l'attività dell'ADH varia con l'età. 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 (9). 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, le donne sono metabolicamente più esposte agli effetti dell'alcol e soprattutto sono in età fertile, per cui i rischi di esposizione e danno fetale aumentano

A tale proposito assume importanza la funzione del filtro placentare.

La placenta, infatti, è il principale organo di comunicazione "biochimica" fra madre e feto e non è sempre una barriera naturale, in grado di proteggere il feto dall'esposizione a sostanze tossiche. Infatti, molti xenobiotici, fra i quali l'etanolo, che ha una molecola molto piccola e diffusibile, attraversano rapidamente il tessuto placentare entrando nel circolo sanguigno fetale.

Di conseguenza, l'alcol ingerito dalla gestante viene veicolato direttamente al feto. Tuttavia la placenta, essendo fornita di enzimi metabolizzanti, è in grado di bio-trasformare gli xenobiotici sia detossificandoli che attivandoli, giocando un ruolo decisivo 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 alla fine della gestazione; inoltre il contenuto di enzimi del metabolismo può essere influenzato dall'esposizione della madre a diverse sostanze in grado di indurli o inibirli. 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. 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 del nascituro dovuto all'alcol. Il CYP2E1 è stato misurato nella placenta umana in diversi periodi di gestazione. In donne non bevitrici, alla fine della gravidanza, nelle placente è stata rilevata la presenza di mRNA del CYP2E1; la misura dell'ossidazione placentare dell'etanolo ad acetaldeide dimostra che l'enzima è funzionalmente attivo.

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: 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. Anche l'ADH è espressa nella placenta umana 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.

Sappiamo, infatti, che il consumo di alcol amplifica 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 termini così gravi, non sembrano avere situazioni paragonabili nell'ambito delle problematiche relative alla salute

mondiale, lasciando un ampio margine di intervento efficace alle politiche di prevenzione della disabilità e del disagio sociale.

La possibilità di diagnosticare tempestivamente un abuso alcolico durante la gravidanza consentirebbe di contrastare più efficacemente la FASD e a tal proposito molto si attende dallo studio dei biomarcatori (FAEE, EtG ed EtS).

## Meccanismi del danno sul feto

Gli effetti devastanti esercitati dall'esposizione prenatale all'alcol, sull'embrione e sul feto in via di sviluppo, possono essere rappresentati come un *continuum* di anomalie fisiche e di deficit neuro-cognitivi e comportamentali. La consapevolezza che l'alcol possa essere dotato di un effetto teratogeno sul prodotto del concepimento è di recente acquisizione (7, 10, 11). Questo, a causa della grande variabilità degli effetti che l'esposizione prenatale può indurre, che impedisce una facile e immediata correlazione con uno specifico meccanismo. Diversi studi hanno evidenziato come alterazioni, in particolar modo a carico dell'SNC (dovute ad esposizione dalla 3<sup>a</sup> alla 16<sup>a</sup> settimana), ricorrano con elevata frequenza nei soggetti con FASD (12-18).

Sono vari i meccanismi di danno indotti dall'alcol sull'embrione/feto, e si possono riassumere come danni in grado di poter interferire con la neurogenesi, la migrazione neuronale (19), l'adesione cellulare. Agiscono attraverso diversi meccanismi, quali: alterazione dell'espressione di geni regolatori, la distruzione della sinaptogenesi, l'interferenza con i segnali molecolari che regolano la morte e la sopravvivenza cellulare.

Sono stati proposti vari meccanismi teratogeni dell'alcol, tra i quali:

1. ridotta sintesi delle prostaglandine;
2. ridotto trasporto placentare di glucosio, amminoacidi e ipossia;
3. ridotta sintesi dell'*insulin-like growth factor*;
4. alterazioni della trasmissione cellulare IL1-mediata;
5. induzione dell'apoptosi neuronale;
6. aumento dello stress ossidativo;
7. disturbo sviluppo recettore GABA, NMDA e GABA/A durante la sinaptogenesi;
8. *downregulation* di reti funzionali di geni dello sviluppo (Shh, Pax6);
9. inibizione DNA-metiltransferasi.

Lo stress ossidativo è il danno maggiormente compreso fino ad oggi. L'alcol incrementa la formazione di radicali liberi dell'ossigeno attraverso la respirazione mitocondriale con produzione di superossido e radicali idrossilici, o attraverso l'ossidazione dell'etanolo da parte dell'isoforma 2E1 del citocromo P450 che genera il radicale idrossietile, o superossido, durante l'ossidazione dell'acetaldeide ad acetato. Il perossido induce a sua volta, danni cellulari sufficienti a produrre la morte di cellule, quali astrociti, neuroni corticali, cellule della cresta neurale, neuroni cerebellari tramite l'induzione dell'apoptosi.

Pax6, ad esempio, è un gene che funziona come fattore di trascrizione importante per lo sviluppo di cervello, midollo spinale, occhi, naso, ipofisi e pancreas; e l'alcol stimola la produzione di radicali liberi che danneggiano tutte le classi di biomolecole (DNA, proteine, ecc.) determinando alterazioni epigenetiche (metilazione del DNA) della trascrizione di geni neurali o delle reti di segnali neuro genetici.

Si potrebbe concludere, in via del tutto speculativa, che la FAS sia una malattia genetica multifattoriale; infatti risponde ai criteri inclusi nella definizione poiché necessita di una familiarità, e sono note famiglie con FAS, collegata evidentemente ad una predisposizione

poligenica, e abbiamo visto che i geni coinvolti nel danno sono numerosi, poi è caratteristica una manifestazione “a soglia”, infatti, anche se non è ancora nota, deve esistere una soglia di dose alcolica oltre la quale si determina il danno e, infine, necessita di un fattore ambientale scatenante, rappresentato dall'alcol stesso.

## Principali effetti fisici

L'encefalo è la struttura cerebrale più suscettibile al danno ossidativo per relativa carenza dell'attività della catalasi, che è il 10% rispetto di quella epatica, e per l'elevato consumo di ossigeno. Inoltre, a livello cerebrale è rilevante la presenza di acidi grassi polinsaturi, che sono i principali bersagli della perossidazione lipidica. Da ciò si deduce come l'assunzione di alcol durante la gestazione determini la comparsa di alterazioni cranio-facciali nel feto.

Le strutture cerebrali maggiormente colpite dal danno alcolico, sono state studiate tramite RMN e sono, soprattutto, il corpo calloso, i nuclei della base, il verme cerebellare e alcune aree associative corticali (20, 21). I problemi neuro-cognitivi e comportamentali, espressi costantemente in questi bambini, sono il risultato di precise alterazioni embriogenetiche in queste strutture.

Oltre alla stretta associazione causale con l'assunzione materna di alcol, è determinante anche il periodo nel quale tale esposizione si verifica. Esiste, infatti, un periodo critico di maggiore vulnerabilità all'azione teratogena dell'alcol che corrisponde ai primi 90 giorni di gravidanza, periodo dell'embriogenesi in cui avviene la differenziazione morfo-funzionale delle principali strutture cerebrali.

Prima dell'avvento delle tecniche di neuroimaging, per caratterizzare la morfologia cerebrale associata alla FAS ci si basava su esami autoptici.

È stata in tal modo descritta una vasta gamma di esiti neuropatologici, tra cui: idranencefalia, anencefalia, oloprosencefalia, disgenesia cerebrale, migrazione cerebrale anomala, idrocefalia, microcefalia, microencefalia, grave disorganizzazione dell'SNC. Sono stati osservati, inoltre, difetti dei gangli della base, del cervelletto, del tronco encefalico, del nervo ottico, del bulbo olfattivo, dell'ippocampo, dell'ipofisi e del tubo neurale. Tuttavia, i dati raccolti *post-mortem* non sono necessariamente rappresentativi delle alterazioni presenti nei soggetti FAS viventi; infatti molti bambini presentano risonanze magnetiche (*Magnetic Resonance Imaging*, MRI) dell'encefalo esenti da danni strutturali, pur avendo deficit funzionali.

Attualmente, le linee guida per la diagnosi di FAS includono la microcefalia al disotto del 10° percentile, quale indicatore di deficit dell'SNC.

Le tecniche di neuroimaging ci consentono la comprensione delle relazioni tra cervello e comportamento del bambino-ragazzo con FASD. Tra le nuove tecniche di diagnostica per immagini, la risonanza magnetica funzionale (*functional Magnetic Resonance Imaging*, fMRI) e la spettroscopia di risonanza magnetica (*Magnetic Resonance Spectroscopy*, MRS; individua la presenza di marker di integrità o di morte cellulare), sono promettenti per lo studio di FASD.

## Linee guida diagnostiche

Da quando è stata descritta per la prima volta nel 1973, la FAS è apparsa nella sua complessità: le persone affette hanno una variabilità fenotipica che può comprendere, variamente assortite, disabilità intellettive, difetti di crescita pondero-staturale e caratteristici dismorfismi facciali, che persistono per tutta la vita.

I primi criteri diagnostici per bambini FASD risalgono al 1996, redatti dall'*Institute of Medicine* (IOM) della *National Academy of Science*. L'intento era quello di definire l'intero spettro di disturbi fetali correlati all'alcol, ma la loro utilità era limitata e non abbastanza specifica. Nel 2004, i CDC propongono criteri diagnostici per adulti e bambini con FASD, ma anche in questo caso non comprendeva la vasta gamma di possibili manifestazioni della sindrome.

Attualmente, le due linee guida utilizzate universalmente sono: le *Canadian Diagnostic Guidelines* e i criteri IOM revisionati (22).

Il primo passo per l'identificazione di un possibile soggetto affetto da FASD consiste nell'accertare il consumo alcolico materno durante la gravidanza. Molto spesso questo è un dato difficile da ottenere: l'ammissione di aver consumato alcolici proprio durante la gravidanza è accompagnato dal senso di colpa della madre.

Comunque, l'impossibilità di ottenere questa informazione non esclude la diagnosi di FASD, possiamo, infatti, distinguere due condizioni:

1. *FASD con esposizione prenatale all'alcol confermata*

I dati vengono ottenuti con l'anamnesi algologica, una storia di patologie alcol-correlate o la dipendenza da alcol, il riscontro di *marker* biologici (gammaglutamiltransferasi, GGT; aspartato amino transferasi, AST; alanina amino transferasi, ALT; volume corpuscolare medio degli eritrociti, *Mean Corpuscular Volume*, MCV; *Fatty Acid Ethyl Esters*, FAEE) alterati e di BAC (*Blood Alcohol Concentration*) positivo.

2. *FASD senza conferma di esposizione prenatale all'alcol*

In questo caso non è possibile accertare se la madre abbia consumato alcolici durante la gravidanza, ma questo non esclude la diagnosi di FASD, sostenuta dalla presenza di altri elementi clinici.

## Criteri IOM per la diagnosi FASD

I criteri IOM revisionati per la diagnosi FASD (22) sono raggruppabili in sei categorie:

1. *FAS con conferma materna di esposizione all'alcol in gravidanza*  
(richiesti tutti i parametri A-D)

- A. Confermata assunzione di alcol in gravidanza
- B. Evidenza di 2 o più anomalie facciali tra:
  - a. rime palpebrali brevi (<10° percentile)
  - b. labbro superiore sottile (score 4 o 5 *lip/philter guide*)
  - c. filtro lungo e piatto (score 4 o 5 *lip/philter guide*)
- C. Ritardo di crescita pre/post natale: statura e/o peso <10° percentile
- D. Difetto di crescita o morfologia cerebrale incluso:
  - anomalie strutturali del cervello
  - circonferenza cranica (CC) <10° percentile

2. *FAS senza conferma dell'assunzione di alcol in gravidanza*

B, C, D come nel tipo 1.

3. *FAS Parziale (PFAS) (richiesti tutti i parametri A-C)*

- A. Confermata assunzione di alcol in gravidanza
- B. Evidenza di 2 caratteristiche facciali
  - a, b, c della FAS
- C. Una delle seguenti caratteristiche:

1. Ritardo di crescita pre- / post-natale
2. Difetto di crescita / morfologia cerebrale
3. Anomalie cognitive: difficoltà nella soluzione di problemi complessi, di astrazione, di pianificazione, di giudizio, di esecuzione di calcoli matematici; nonché il basso livello evolutivo del linguaggio espressivo e recettivo.  
Anomalie del comportamento: difficoltà di assumere un contegno appropriato, labilità emotiva, rendimento scolastico e interazione sociale molto carenti.

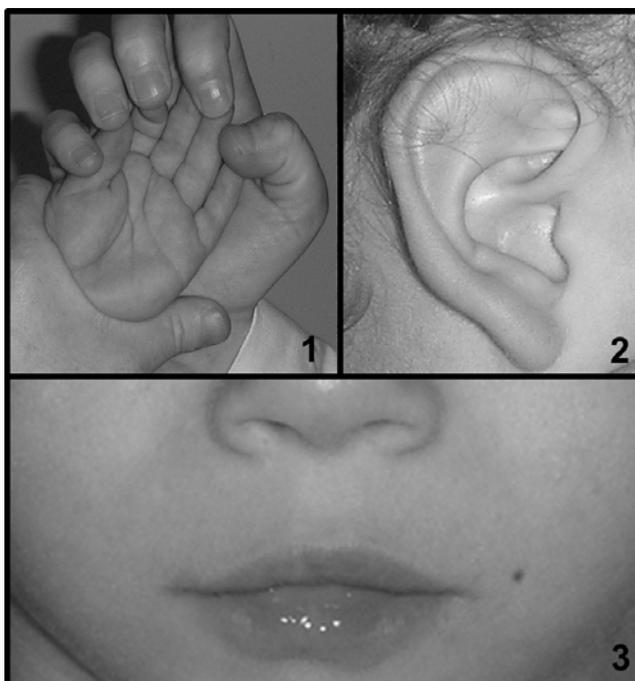
4. *FAS Parziale*

- A. Manca la conferma materna dell'assunzione di alcol in gravidanza
- B.C. come nella 3

5. *Difetti congeniti correlati all'uso di alcol (ARBD)*

(richiesti tutti i parametri A-C)

- A. Conferma materna di assunzione di alcol in gravidanza
- B. 2 o più anomalie facciali tra a, b, c della FAS
- C. Difetti congeniti strutturali:
  - Cuore: DIA, DIV, anomalie cono-troncolari o dei grossi vasi.
  - Reni: a/ipo-displasie, reni a ferro di cavallo, duplicazioni reno-ureterali.
  - Scheletro: sinostosi radio-ulnare, difetti di segmentazione vertebrale, contratture grosse articolazioni, scoliosi.
  - Orecchie: ipoacusia trasmissiva e neurosensoriale.
  - Occhi: strabismo, ptosi palpebrale, anomalie vascolari retiniche.
  - Anomalie minori: ipoplasia ungueale, brevità e clinodattilia V dito, camptodattilia, plica palmare a mazza da hockey, *pectus excavatum/carinatum*, aspetto a "binario di treno" della cartilagine dell'antielice auricolare (Figura 1).



**Figura 1. 1) Particolare conformazione della plica palmare "a mazza da hockey";  
2) aspetto a "binario" della cartilagine dell'antielice auricolare;  
3) filtro naso-labiale lungo e appiattito, labbro superiore sottile**

6. *Disturbi dello sviluppo neuro-psicologico associati all'alcol (ARND)*  
 (richiesti entrambi i parametri A-B)
- A. Conferma assunzione di alcol in gravidanza
  - B. Almeno uno dei seguenti:
    - Difetto di crescita e morfologia cerebrale
    - Anomalie cognitive-comportamentali analoghe a PFAS.

## Quadro clinico

### Ritardo di crescita

I soggetti FASD mostrano costantemente un ritardo di crescita. I parametri più utilizzati per le valutazioni sono: il peso, l'altezza e la circonferenza cranica occipito-frontale (*Occipito-Frontal Circumference*, OFC) valutati in base ad età, sesso e gruppo etnico di appartenenza. Il ritardo di crescita pre o post natale, si riscontra quando peso e altezza sono al 10° percentile o inferiori, o quando esiste una sproporzione del rapporto di crescita tra peso e altezza (sempre inferiore al 10° percentile). I bambini esposti all'alcol nella vita intrauterina possono avere deficit sia prenatali che postnatali. Possono essere piccoli per l'età gestazionale (*Small for Gestational Age*, SGA) e rimanere al di sotto della media durante la loro vita adulta. Molti bambini possono avere dei normali parametri di crescita ma sviluppare secondariamente un deficit di apprendimento e deficit cognitivi. Se non c'è stata esposizione fetale all'alcol nell'ultimo trimestre di gestazione i parametri di crescita potranno essere normali. Sono disponibili dei nomogrammi definiti "grafici dei percentili di peso, altezza e circonferenza cranica" prodotti dalla *World Health Organization* (WHO) e anche relativi ad alcune specifiche etnie studiate, che possono essere facilmente scaricati dal sito della WHO e che tengono conto anche delle possibili problematiche di malnutrizione che spesso si associano all'alcolismo.

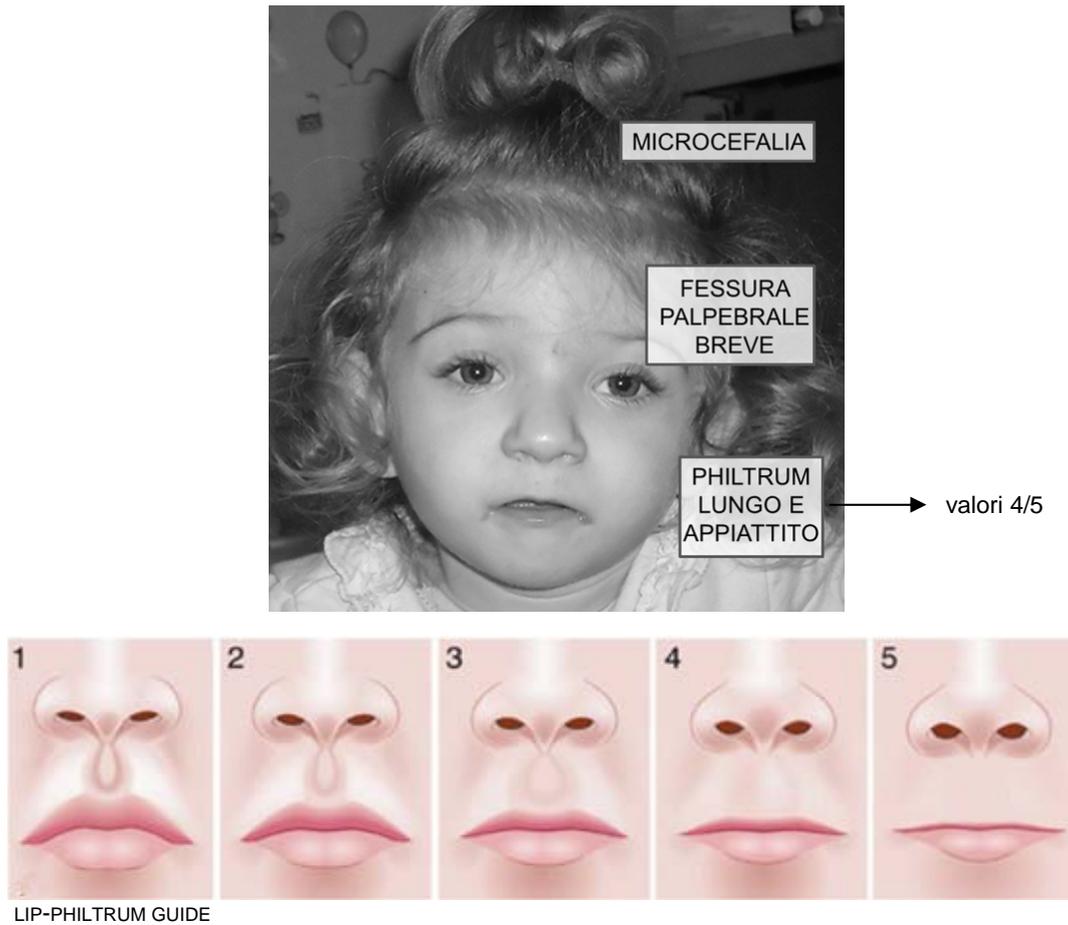
### Anomalie facciali

I soggetti FASD mostrano un particolare tipo di anomalie che includono:

- filtro naso-labiale allungato e appianato, da valutare con apposita *lip-philtrum guide*, con punteggio da tra 4 e 5;
- labbro superiore sottile, con punteggio tra 4 e 5 (Figura 3);
- rime palpebrali brevi, pari o inferiori al 10° percentile.

Queste malformazioni sono la diretta conseguenza del danno alcolico durante l'embriogenesi. Infatti poiché l'aspetto del volto è determinato dallo sviluppo della porzione rostrale dell'encefalo, il blocco maturativo di questa, determina l'ipoplasia delle strutture medio-facciali che contribuisce in modo decisivo allo sviluppo della tipica facies dismorfica del bambino con FAS.

Il danno sull'embrione porterà a evidenti problemi fisici divisibili in: deficit di sviluppo (peso, altezza e circonferenza cranica al di sotto del 10° percentile) e deficit di nascita (danno o incompleta formazione d'organo). Fondamentale per il corretto inquadramento è anche la valutazione delle anomalie facciali minori (classe 5 dei criteri Hoyme 2005) tra le quali, come già accennato: ipoplasia del massiccio facciale, anomalie di posizionamento delle orecchie, aspetto a binario ferroviario della cartilagine dell'antelice auricolare, ipertelorismo, malformazione delle creste palmari ("a mazza da hockey").



**Figura 2. Anomalie facciali caratteristiche di FAS secondo la guida di riferimento (philtrum labiale corrispondente a punteggio 4/5)**

L'identificazione delle tre principali alterazioni facciali, riscontrabili nei soggetti con FASD, può essere effettuata facilmente confrontandosi con le guide di riferimento come quelle di labbra e philtrum e con l'ausilio dei monogrammi con i percentili di crescita secondo età e sesso.

Invece, per la misurazione della lunghezza delle rime palpebrali, così come della distanza intercantale e interpupillare, è necessario esclusivamente munirsi di un righello rigido possibilmente trasparente (Figura 3). I parametri dismorfologici devono essere misurati in tutti i gruppi di età. Se i segni facciali del paziente cambiano nel tempo, con l'età, la diagnosi di anomalie facciali dovrà essere posta basandosi sul periodo in cui queste erano più severamente espresse (Figura 4).



**Figura 3. Misurazione lunghezza rime palpebrali**



Figura 4. Volti tipici di bambini con FASD

Visitando adulti ci si potrà aiutare con una fotografia dell'infanzia. È importante infatti osservare come la facies dei soggetti affetti da FAS rimane fondamentale inalterata nel tempo.

## Diagnosi differenziale

Poiché la diagnosi di FAS è eminentemente clinica, non essendo ancora disponibili sicuri marker biochimici o genetici del danno da alcol, è indispensabile escludere altre condizioni poli-malformative con facies dismorfica. È utile quindi elencare le possibili diagnosi differenziali delle singole anomalie facciali tipiche da FASD, anche se nessuna delle sindromi citate presenta la triade completa: rime palpebrali brevi, assottigliamento del labbro superiore e appiattimento e allungamento del philtrum (Tabella 1).

Tabella 1. Diagnosi differenziale dei segni associati a FASD

Segni	Diagnosi associata
Appiattimento del filtro	Sindrome di Cornelia de Lange Sindrome di Floating-Harbor Displasia geleofisica Sindrome di Opitz Embriopatia da toluene
Assottigliamento del labbro superiore	Sindrome di Miller-Dieker Sindrome da valproato Displasia geleofisica Sindrome di Cornelia de Lane Embriopatia da toluene
Rime palpebrali brevi	Displasia campo melica Sequenza di George Sindrome di Dubowitz Sindrome FG Effetti sul feto della fenilchetonuria materna Sindrome oculodentodigitale Sindrome di Opitz Sindrome trisomia 18 Sindrome di Williams Sindrome velocardiofaciale Embriopatia da toluene

Esistono altresì alcune sindromi genetiche o da teratogeni, in cui l'insieme di segni dismorfici e difetti congeniti dà luogo ad un quadro generale simile a FASD. Queste sindromi andrebbero considerate per completare la diagnosi differenziale (Tabella 2).

**Tabella 2. Diagnosi differenziali tra FAS e altre sindromi**

<b>Sindrome</b>	<b>Segni in comune con FASD</b>	<b>Caratteri differenziali</b>
Sindrome di Aarskog	Naso piccolo a sella, narici anteverse, philtrum ampio, ipertelorismo	Faccia rotonda, ptosi palpebrale, piega sotto il labbro inferiore, problemi di eruzione dentale
Sindrome di Williams	Rime palpebrali brevi, narici anteverse, philtrum allungato, epicanto, naso a sella	Bocca ampia, pattern a stella dell'iride, rigonfiamento periorbitale, disturbi delle cartilagini
Sindrome di Noonan	Ponte nasale abbassato, ipertelorismo, epicanto	Cheratocono, ptosi palpebrale, bocca ampia con protrusione del labbro superiore
Sindrome di Dubowitz	Rime palpebrali brevi, ipertelorismo, epicanto	Cresta sovraorbitale bassa con ponte del naso a livello della fronte
Sindrome di Brachmann-De Lange	Philtrum allungato, labbro superiore assottigliato, ponte nasale depresso	Sopracciglio singolo a cespuglio lungo la fronte, ciglia lunghe, arti corti, palato ad arco acuto
Embriopatia da toluene	Rime palpebrali brevi, ipoplasia viso mediano, labbro superiore assottigliato	Micrognazia, fontanella anteriore aperta, anomalie dei capelli, restringimento bifrontale
Sindrome fetale da Dilantin	Ipertelorismo, ponte nasale depresso	Naso corto con labbro superiore ad arco
Sindrome fetale da valproato	Narici anteverse, philtrum allungato, ipertelorismo	Fronte alta, piega infraorbitale, bocca piccola
Effetti sul feto da fenilchetonuria materna	Epicanto, rime palpebrali brevi, philtrum appiattito, labbro superiore sottile	Naso piccolo a sella, glabella prominente, faccia arrotondata

## Anomalie dell'SNC

I numerosi studi sui danni dovuti a esposizione intrauterina all'alcol mostrano con evidenza uno spettro di esiti, cognitivi e comportamentali, a breve e lungo termine, derivanti proprio da anomalie dell'SNC. Le problematiche neurologiche sono di natura strutturale, funzionale od anche una loro combinazione.

### Alterazioni strutturali

L'alterazione strutturale principale da FASD è la microcefalia, che si rileva quando la circonferenza cranica è al di sotto del 10° percentile rispetto all'età e al sesso, specie se accompagnata da uno scarso accrescimento complessivo (peso e altezza al di sotto del 10° percentile).

La comprensione sui vasti e vari effetti negativi che l'esposizione prenatale all'alcol ha sullo sviluppo del cervello si fonda anche sugli studi di *neuroimaging*.

Studi di MRI mostrano una riduzione complessiva del volume cerebrale e disorganizzazione del sistema nervoso centrale, con specifiche anomalie strutturali di corpo calloso, cervelletto, nucleo caudato e ippocampo.

I progressi nelle tecniche di *neuroimaging* hanno rilevato aumenti localizzati dello spessore corticale e della materia grigia, associati a diminuzione del volume e disorganizzazione della materia bianca negli individui FASD.

Questi studi hanno cominciato ad evidenziare l'associazione tra la gamma di anomalie strutturali e i disturbi neuropsicologici osservati in soggetti FASD.

La variabilità nelle dimensioni e funzioni del corpo calloso e del cervelletto potrebbe determinare una scarsa comunicazione interemisferica e contribuire ai deficit motori e dell'attenzione. Mentre le difficoltà di memoria e di apprendimento possono essere effetto delle alterazioni strutturali dell'ippocampo.

Anomalie a carico della corteccia frontale e dei gangli della base rappresentano i più frequenti difetti dell'SNC riscontrati negli studi strutturali e funzionali, suggerendo una associazione tra le reti sottocorticali-frontali aberranti, il deficit di apprendimento verbale e le funzioni esecutive nei bambini esposti all'alcol nel periodo prenatale. Inoltre, le anomalie della corteccia parietale e l'alterato funzionamento temporale e occipitale, segnalati attraverso i vari studi, possono contribuire alla disabilità nel linguaggio e nell'elaborazione visuo-spaziale.

## **Alterazioni neurologiche**

Le alterazioni neurologiche evidenziabili sono problematiche che comprendono quadri convulsivi non riconducibili a traumi o febbre, ma anche quadri più sfumati come l'incoordinazione motoria, le difficoltà visuo-motorie, il nistagmo.

## **Alterazioni funzionali**

Le alterazioni funzionali a carico del sistema nervoso centrale sono inizialmente aspecifiche e generalizzate, si fanno tuttavia sempre più focalizzate con la crescita.

Le aree altamente vulnerabili al danno alcolico (corpo calloso, gangli della base e cervelletto) sono responsabili della variabilità dei deficit strutturali, neurologici o funzionali, o di una loro combinazione. Le capacità funzionali lese, corrispondono ad alterazioni multiple a carico di diverse aree del cervello e dagli studi di RMN encefalo e TDI sono state individuate delle correlazioni anatomico-cliniche tra danno strutturale e deficit specifico, come ad esempio il deficit di coordinazione motoria nell'ipoplasia cerebellare, il deficit delle capacità attentive, verbali ed esecutive nelle anomalie del corpo calloso, il deficit di memoria e di apprendimento nelle anomalie dell'ippocampo, il deficit delle funzioni esecutive nelle anomalie dei nuclei della base; quando è ispessita la corteccia frontale è compromesso l'apprendimento verbale, quando la parietale il linguaggio stesso e quando l'occipitale il deficit è visuo-spaziale (23).

Le alterazioni funzionali tipiche dei bambini con FASD possono essere così elencate:

– *Deficit cognitivo, o significativa discrepanza evolutiva*

Per deficit cognitivo si intende scarso rendimento scolastico, discrepanze tra abilità verbali e non verbali e rallentamento delle capacità di movimento o di reazione a stimoli e persone. I bambini con FASD sono caratterizzati da un deficit generalizzato nell'elaborazione e integrazione dell'informazione.

– *Deficit di funzionalità esecutiva*

Il funzionamento esecutivo è l'appropriata capacità di risolvere i problemi per il raggiungimento di un obiettivo. Comprende la pianificazione, l'inibizione, le rappresentazioni mentali con un ridotto funzionamento intellettivo.

- *Ritardata funzionalità motoria*  
Nella ritardata funzionalità motoria sia la motricità fine che la grossolana sono alterate. La coordinazione visuo-motoria e visuo-spaziale rappresentano aree funzionali particolarmente vulnerabili. I bambini hanno difficoltà a scrivere o disegnare, presentano una certa goffaggine, problemi di bilanciamento, tremori e scarsa destrezza. Nei neonati è possibile osservare una scarsa capacità di suzione, disturbi del sonno, pianto prolungato, irritabilità e aumentata sensibilità agli stimoli esterni.
- *Problemi di attenzione e iperattività*  
Bambini con FASD sono spesso diagnosticati come affetti da disturbo da iperattività e deficit di attenzione (*Attention Deficit Hyperactivity Disorder*, ADHD), ma, a differenza di questi ultimi, hanno problemi a decodificare le informazioni con capacità di attenzione divergente e flessibile, mentre nell'ADHD c'è una incapacità a focalizzare e a sostenere l'attenzione. Anche l'impulsività e l'iperattività contraddistinguono i bambini con FASD, caratteristicamente descritti come indaffarati, distratti, difficili da calmare, iperattivi, con difficoltà a portare a termine un compito assegnatogli.
- *Problemi socio-relazionali*  
Tipicamente, in questi bambini, è alterata la percezione, in ambito sociale, delle sfumature relazionali con problemi comunicativi, che rendono loro difficile la possibilità di afferrare i più sottili aspetti delle relazioni umane.

Inoltre, altre componenti meno specifiche possono essere deficitarie nei bambini con FASD, come ad esempio i problemi sensoriali quali: ridotta sensibilità tattile e orale; le problematiche inerenti il linguaggio pragmatico; il deficit di memoria; la difficoltà a rispondere appropriatamente alle comuni pratiche parentali, come la difficoltà a comprendere il ruolo educativo dei genitori.

La valutazione diagnostica di un bambino affetto da FASD deve mirare ad indagare i diversi domini funzionali e deve essere eseguita con il ricorso a metodi di misurazione normalizzati e standardizzati da parte di personale adeguatamente formato.

## Percorso diagnostico

FASD può essere sospettata alle varie età in base a segni e sintomi che impongono una diagnosi differenziale con altre sindromi e, soprattutto, la ricerca della conferma dell'assunzione di alcol da parte della madre durante la gravidanza che è l'unico test diagnostico affidabile. Un ulteriore elemento di sospetto diagnostico rilevato all'anamnesi, può essere rappresentato dal fatto che il bimbo in esame sia stato adottato dai paesi dell'Est Europeo, infatti si è constatato che molte donne alcoliste abbandonano il loro figli che, successivamente, rientrano nel circuito dell'adozione internazionale.

In epoca neonatale si può sospettare in presenza di un piccolo per l'età gestazionale (SGA) con microcefalia e dimorfismi tipici. Il dato della microcefalia è saliente in quanto gli SGA in genere sono relativamente macrocefalici. Di recente è stato dimostrato che l'assunzione di alcol in gravidanza aumenta di 7 volte il rischio di SIDS (*Sudden Infant Death Syndrome*) (24).

Durante l'età pediatrica la diagnosi è più agevole perché, oltre al difetto di crescita e ai segni dimorfici del volto si possono rilevare il deficit psicomotorio, i disturbi del comportamento e il deficit di attenzione e concentrazione.

Nell'adolescenza, ai segni tipici dell'età pediatrica si possono sommare i problemi comportamentali, scolastici e, soprattutto, sociali.

La definizione dei segni dismorfici richiede che vengano eseguite precise misurazioni della statura, del peso e della circonferenza cranica, ma anche della lunghezza delle fessure palpebrali e del filtro. Tutti questi dati possono essere confrontati con le relative tabelle dei percentili. Anche l'aspetto del filtro e del labbro superiore, che sono dati qualitativi, sono stati resi misurabili come dati quantitativi dall'impiego della guida del filtro (*lip-philtrum guide*) mostrata in Figura 2.

Una volta sospettato un quadro sindromico, va ricordato che quella di FASD è una diagnosi di esclusione, quindi è bene ricercare difetti congeniti associati mediante le ecografie dell'encefalo, cuore e addome, l'Rx dello scheletro e l'eventuale RMN dell'encefalo, il test audiometrico e l'esame della vista, nonché i test genetici di screening come l'esame del cariotipo e l'array-CGH.

In questo modo è possibile porre la diagnosi differenziale con le sindromi che hanno segni in comune e, una volta raggiunta la ragionevole certezza, avviare il bambino ai test psicometrici specifici che sono volti a confermare il sospetto diagnostico e a programmare l'intervento riabilitativo e il follow up clinico assistenziale.

In Italia la FAS è classificata tra le malattie rare, e il DM 279 del 18/5/200 ha assegnato a questa condizione il codice di esenzione: RP0040.

## Bibliografia

1. Lemoine P, Harousseau H, Borteyru JP, Menuet JC. Les enfants de parents alcooliques Anomalies observées à propos de 127 cas. *Ouest Med* 1968;21:476-82.
2. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;302(7836):999-1001.
3. Clarren SK, Smith DW. The fetal alcohol syndrome. *N Engl J Med* 1978;298(19):1063-7.
4. Canadian Paediatric Society, Fetus and Newborn Committee. Position statement. Prevention of Fetal Alcohol Syndrome (FAS) and Fetal Alcohol Effects (FAE) in Canada. A joint statement with 17 other co-signatories. *Paediatr Child Health* 1997;2(2):143-5.
5. Abel EL, Sokol RJ. Incidence of fetal alcohol syndrome and economic impact of FAS-related anomalies. *Drug Alcohol Depend* 1987;19(1):51-70.
6. Little BB, Snell LM, Rosenfeld CR, Gilstrap LC 3rd, Gant NF. Failure to recognize fetal alcohol syndrome in newborn infants. *Am J Dis Child* 1990;144(10):1142-6.
7. Sokol RJ, Martier SS, Ager JW. The T-ACE questions: practical prenatal detection of risk-drinking. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160(4):863-8.
8. Stratton K, Howe C, Battaglia F. *Fetal alcohol syndrome: diagnosis, epidemiology, prevention, and treatment*. Washington DC: National Academy Press; 1996.
9. Ferrence RG, Janecek Helen Elizabeth Ross and Eva. *Women and substance abuse: literature review*. Toronto: Addition Research Foundation; 1990.
10. Chávez GF, Cordero JF, Becerra JE. Leading major congenital malformations among minority groups in the United States, 1981-1986. *MMWR CDC Surveill Summ* 1988;37(3):17-24.
11. Sampson PD, Bookstein FL, Barr HM, Streissguth AP. Prenatal alcohol exposure, birthweight, and measures of child size from birth to age 14 years. *Am J Public Health* 1994;84(9):1421-8.
12. Agarwal DP. Genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes. *Pathol Biol (Paris)* 2001;49(9):703-9.

13. Goodlett CR, Horn KH, Zhou FC. Alcohol teratogenesis: mechanisms of damage and strategies for intervention. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005;230(6):394-406.
14. Koren G, Nulman I, Chudley AE, Looke C. Fetal alcohol spectrum disorder. *CMAJ* 2003;169(11):1181-5.
15. Michaelis EK, Michaelis ML. Cellular and molecular bases of alcohol's teratogenic effects. *Alcohol Health Res World* 1994;18(1):17-21.
16. Sokol RJ, Delaney-Black V, Nordstrom B. Fetal alcohol spectrum disorder. *JAMA* 2003;290(22):2996-9.
17. Wattendorf DJ, Muenke M. Fetal alcohol spectrum disorders. *Am Fam Physic* 2005;72(2):279-85.
18. Yelin R, Schyr RB, Kot H, Zins S, Frumkin A, Pillemer G, Fainsod A. Ethanol exposure affects gene expression in the embryonic organizer and reduces retinoic acid levels. *Dev Biol* 2005;279(1):193-204.
19. Marcucio RS, Cordero DR, Hu D, Helms JA. Molecular interactions coordinating the development of the forebrain and face. *Dev Biol* 2005;284(1):48-61.
20. Jeret JS, Serur D, Wisniewski K, Fisch C. Frequency of agenesis of the corpus callosum in the developmentally disabled population as determined by computerized tomography. *Pediatr Neurosci* 1985-1986;12(2):101-3.
21. Johnston MC. The neural crest in abnormalities of the face and brain. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1975;11(7):1-18.
22. Hoyme HE, May PA, Kalberg WO, Kodituwakku P, Gossage JP, Trujillo PM, Buckley DG, Miller JH, Aragon AS, Khaole N, Viljoen DL, Jones KL, Robinson LK. 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.
23. Norman AL, Crocker N, Mattson SN, Riley EP. Neuroimaging and fetal alcohol spectrum disorders. *Dev Disabil Res Rev* 2009;15(3):209-17.
24. O'Leary CM, Jacoby PJ, Bartu A, D'Antoine H, Bower C. Maternal alcohol use and sudden infant death syndrome and infant mortality excluding SIDS. *Pediatrics* 2013;131:3 e770-8.

# DISTURBI NEURO-COMPORTAMENTALI: DIAGNOSI E TRATTAMENTO

Giovanna Coriale (a), Daniela Fiorentino (a), Bruna Scalese (b), Francesca Di Lauro (c),  
Marina Romeo (a), Mauro Ceccanti (a)

(a) *Centro Riferimento Alcolologico Regione Lazio, Dipartimento di Medicina Clinica, Università degli Studi "Sapienza", Roma*

(b) *Società Italiana sulla Sindrome Feto-Alcolica, Roma*

(c) *Società Italiana per il Trattamento dell'Alcolismo e le sue Complicanze, Roma*

## Introduzione

Il termine FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) è ormai entrato nell'uso comune come termine-ombrello, non propriamente diagnostico, per riferirsi all'intera gamma delle anomalie strutturali, disabilità comportamentali e neuro-cognitive che possono manifestarsi negli individui le cui madri hanno assunto alcol in gravidanza. Rispetto al *continuum* proposto, la sindrome feto-alcolica (*Fetal Alcohol Syndrome*, FAS) rappresenterebbe un punto dello spettro che può avere al suo estremo ultimo anche la morte del feto (1-4). La FAS è l'espressione più grave della patologia del feto indotta dal consumo di alcol durante la gravidanza (5, 6). Evidenze fornite dagli studi sugli animali (7) e sugli esseri umani (8) sottolineano una notevole variabilità con cui si esprime l'effetto teratogeno dell'uso dell'alcol durante la gravidanza. La variabilità dipende da numerosi fattori: la quantità di alcol consumata durante la gravidanza; la modalità di assunzione (uso continuo *vs* abbuffate); il periodo della gestazione in cui si è verificato l'abuso (I, II o III trimestre di gravidanza); l'età della madre; l'indice di massa corporea; la genetica della madre; variabili post-natali come la qualità della nutrizione del neonato, condizioni socio-culturali del nucleo familiare e la ricchezza di stimolazioni da parte dell'ambiente (9-11).

## Deficit cognitivi-comportamentali

Indipendentemente dalla collocazione lungo il *continuum*, i bambini con FASD possono mostrare un profilo cognitivo e comportamentale simile e presentare deficit in più di uno dei dominio del funzionamento cognitivo e comportamentale (4, 12). Lo spettro dei deficit cognitivi e comportamentali osservati nei bambini affetti da FASD è molto ampio. Nonostante l'abuso di alcol durante la gravidanza sia la prima causa di ritardo mentale di origine non genetica, la maggior parte dei soggetti con FASD non presenta un ritardo intellettuale ma un punteggio medio di Quoziente Intellettivo (QI) ai limiti inferiori della norma (punteggio medio QI=70) (13-14). Nei bambini con FAS, però, i deficit intellettivi tendono ad essere più gravi (4, 15). Possono essere presenti problemi nella soluzione di problemi e di pianificazione (16), difficoltà a formare e identificare concetti astratti e di "spostamento" da una categoria concettuale all'altra (15, 17), problemi di inibizione della risposta (18, 19) e difficoltà a mantenere e manipolare informazioni nella memoria di lavoro (16, 20, 21). I problemi di memoria verbale, riscontrati nei bambini con FASD, sembrano essere determinati da un problema di codifica dell'informazione piuttosto che da un problema nel recupero dell'informazione. I bambini con

FASD presentano gli stessi problemi di apprendimento nel dominio non verbale (22, 23). Clinicamente, sembrano esibire problemi nelle aree della comunicazione recettiva ed espressiva (24): la valutazione neuropsicologica evidenzia infatti problemi di linguaggio in produzione ma soprattutto in comprensione. In uno studio condotto in Italia (14, 25) su bambini frequentanti la I elementare, la comprensione fu valutata tramite il test di Rustioni (26). I bambini con FASD (n.=45) mostrarono punteggi, relativi alla comprensione, significativamente più bassi rispetto ai bambini non esposti all'alcol (n.=117). I bambini con FASD presentano prestazioni non buone a test visuo-motori (27) tali da suggerire un deficit delle abilità prassico-costruttive. Inoltre, è stata riscontrata una difficoltà di elaborazione delle caratteristiche locali rispetto a quelle globali in un insieme di stimoli visivi (22).

Molti studi hanno messo in evidenza un'associazione tra esposizione prenatale all'alcol e difficoltà motorie (28). La motricità grossolana (che riguarda l'intero corpo) sembrerebbe maggiormente preservata rispetto alla motricità fine (che riguarda l'utilizzo delle mani) (29). Meno chiaro è se i deficit motori persistano nel tempo. È stato ipotizzato che in caso di FASD ci sia un ritardo nello sviluppo motorio che tenderebbe a normalizzarsi con la crescita (4). Tuttavia, si rendono necessari ulteriori studi per fare maggiore chiarezza.

I bambini con FASD presentano, frequentemente, disturbi dell'attenzione quando vengono valutati dal punto di vista neuropsicologico con test di vigilanza, tempi di reazione ed elaborazione dell'informazione (4). È stato stimato che il disturbo dell'attenzione, che riguarda più del 60% dei soggetti affetti da FASD, ha una probabilità molto elevata di sfociare in un disturbo dell'attenzione e dell'iperattività (*Attention Deficit Hyperactivity Disorder*, ADHD). In uno studio condotto in Italia (14, 25), su bambini frequentanti la I elementare, i problemi comportamentali relativi all'inattenzione e iperattività furono valutati utilizzando le scale del deficit attentivo e dell'iperattività del Questionario del disordine del comportamento distruttivo di Pelham (30). Le maestre e i genitori rilevarono nei bambini con FASD (n.= 45) la presenza di comportamenti inattentivi rispetto ai bambini non esposti all'alcol (n.= 117); nessuna differenza fu, invece, riscontrata tra i due gruppi rispetto ai comportamenti impulsivi. Quando la prestazione ai test di comprensione linguistica, di ragionamento non verbale e di profitto scolastico venne valutata pesando statisticamente l'influenza dell'inattenzione, i due gruppi oggetto di studio non mostrarono differenze significative rispetto ai domini cognitivi indagati. Il gruppo con FASD aveva, quindi, un profilo neuropsicologico caratterizzato principalmente da un disturbo dell'attenzione che influenzava negativamente gli altri domini cognitivi indagati nello studio. I deficit cognitivi evidenziati tramite valutazione neuropsicologica contribuiscono, se non trattati tempestivamente, a determinare un'ampia gamma di difficoltà comportamentali note come disabilità secondarie. Le disabilità secondarie sono difficoltà non presenti alla nascita, che si manifestano come conseguenze di difficoltà primarie.

Studi longitudinali hanno dimostrato che gli adolescenti con FASD hanno una maggiore probabilità di sviluppare disabilità secondarie quali: problemi di salute mentale (90%); comportamenti sessuali non appropriati (49%); problemi con la legge (60%); basso profitto scolastico e abbandono della scuola (60%); problemi di tossico-dipendenza e dipendenza da alcol (33%) (31, 32). Nel corso del tempo, i soggetti con FASD possono sviluppare una serie di comportamenti dannosi, sia per sé stessi che per la comunità. Il contesto familiare e le caratteristiche socio-economiche e culturali dell'ambiente in cui il soggetto vive possono fungere da fattore contenitivo o esacerbare le disabilità secondarie (33).

Molti studi hanno messo in evidenza la presenza di difficoltà scolastiche, nel dominio sia verbale che della matematica (34); quest'ultima si configura come il dominio che più risente degli effetti dell'esposizione prenatale all'alcol. Le difficoltà maggiori riguarderebbero le abilità di base necessarie per l'elaborazione numerica (35). I soggetti con FASD presentano marcate difficoltà nel funzionamento adattivo (36); esso fa riferimento a comportamenti che

garantiscono l'indipendenza personale e la responsabilità sociale (37). È possibile valutare il funzionamento adattivo in modo indiretto, tramite questionari compilati da persone che conoscono il soggetto esaminato. Essi sono elaborati per valutare le azioni effettivamente svolte dall'individuo nella vita quotidiana: il sapersi lavare o vestire autonomamente; mantenere un comportamento adeguato quando si è in compagnia di altre persone; l'utilizzare in modo appropriato del linguaggio; gestire il proprio tempo libero.

Il dominio delle abilità sociali e delle relazioni interpersonali sembrerebbe essere particolarmente pregiudicato (38) in caso di FASD. La difficoltà a riconoscere le emozioni utilizzando indizi non verbali quali l'espressione facciale e il tono della voce potrebbero rendere conto, in parte, delle difficoltà riscontrate nelle interazioni sociali (39). I soggetti con FASD hanno, inoltre, una specifica difficoltà a cogliere le differenze nelle espressioni facciali. Sembrerebbe che le difficoltà nel riconoscimento emotivo aumentino con il crescere della complessità dello stimolo: situazioni emotive che cambiano velocemente o situazioni con sfumate e mal definite connotazioni emotive sono difficilmente gestite dai soggetti con FASD. I disturbi cognitivi preesistenti possono in molti casi esacerbare le difficoltà adattive e sociali. I soggetti con FASD potrebbero non comprendere gli scopi sociali di una conversazione per un problema prettamente linguistico; potrebbero avere difficoltà a distinguere gli eventi della realtà da quelli della fantasia o a discriminare forme di comunicazione umoristica e ironica utilizzate dall'interlocutore. In aggiunta, problemi di ragionamento astratto potrebbero determinare problemi sociali a causa di errori nel giudizio ed, inoltre, problemi di memoria potrebbero causare fraintendimenti.

Un gran numero di studi ha evidenziato la presenza di difficoltà emozionali nei bambini e negli adulti con FASD (40). Sono presenti problemi di regolazione del comportamento che, spesso, includono cambiamenti d'umore: i soggetti affetti da FASD possono passare rapidamente da uno stato di eccitazione ad uno stato di tristezza o di rabbia. La rabbia e il comportamento impulsivo in età adulta sfociano, spesso, in scatti di ira e comportamenti aggressivi. Altre difficoltà emotive includono ripetizioni ossessive di azioni o perseverazione di particolari azioni o idee.

## Diagnosi di FASD: indicazioni

Nel 2005 sono state pubblicate le linee guida canadesi che forniscono importanti indicazioni per valutare la presenza di deficit neuro-cognitivi che si accompagnano ai sintomi di FASD (41).

Le funzioni da valutare dovrebbero essere: il funzionamento intellettivo (QI); la comunicazione ricettiva ed espressiva; il rendimento scolastico; la memoria; il funzionamento esecutivo e la capacità di astrazione; il comportamento adattivo; le abilità sociali e di comunicazione. Inoltre, informazioni dovrebbero essere raccolte per valutare la presenza di deficit di attenzione/iperattività.

Le varie funzioni dovrebbero essere valutate indipendentemente e considerate compromesse:

1. se la prestazione al test per valutare la funzione cognitiva in esame si discosta di  $\pm 2$  deviazioni standard rispetto al valore medio;
2. se si utilizzano test che misurano più aspetti della stessa funzione, dovrebbe essere indicativo di patologia una discordanza di almeno 1 deviazione standard (es. abilità verbale *vs* abilità non verbale nei test standard per valutare il QI; linguaggio espressivo *vs* linguaggio ricettivo; memoria verbale *vs* memoria visiva).

È possibile diagnosticare un caso di FASD quando si evidenzia la compromissione di tre domini, ma una valutazione completa richiede che ciascun dominio sia valutato singolarmente per metterne in luce i punti di forza e le debolezze.

Le anomalie fetali alcol-correlate sono usualmente classificate in 5 categorie diagnostiche:

1. FAS con accertata esposizione materna all'alcol caratterizzata dalla presenza di una triade di sintomi: dismorfismi facciali, ritardo della crescita e anomalie nello sviluppo neurologico del sistema nervoso centrale;
2. FAS senza accertata esposizione materna all'alcol dove è presente la triade di sintomi della categoria 1 ma non c'è la certezza di un consumo materno di alcol;
3. FAS parziale definita dalla presenza di alcune delle caratteristiche anomalie facciali accompagnate o ad un ritardo nell'accrescimento e anomalie nello sviluppo del sistema nervoso centrale, o ad alterazioni comportamentali e cognitive.
4. ARBD (*Alcohol-Related Birth Defects*, difetti congeniti alcol-correlati) caratterizzata dalla presenza di malformazioni congenite e displasie come risultato della tossicità dell'alcol;
5. ARND (*Alcohol-related Neurodevelopmental Disorders*, disordini nello sviluppo neurologico alcol-correlati) caratterizzata dalla presenza di un pattern complesso di anomalie comportamentali e/o cognitive (5,6).

Le linee guida canadesi forniscono indicazioni importanti sulla metodologia da utilizzare per poter stabilire la presenza di deficit cognitivo-comportamentali, ma ci aiutano poco a capire se i deficit riscontrati siano specificamente dovuti a FASD soprattutto in presenza di FAS parziale e ARND e in assenza di informazioni se la madre abbia bevuto durante la gravidanza.

Per formulare una diagnosi di FAS nella sua espressione piena, l'informazione sull'uso o abuso di alcol durante la gravidanza può non essere necessaria per emettere la diagnosi.

Nei bambini con ARND, le caratteristiche facciali distintive della sindrome e il ritardo della crescita sono assenti. Per fare una diagnosi di ARND, sono necessari la co-presenza di disturbi neuro-comportamentali nonché l'ammissione, da parte della madre, di aver bevuto durante la gravidanza. Generalmente, è molto difficile che la madre ammetta di aver bevuto durante la gravidanza sia per un motivo di desiderabilità sociale (accettazione sociale) che per le implicazioni emotive che comporterebbe la consapevolezza di essere stata responsabile, con il suo comportamento a rischio (bere durante la gravidanza), di un problema serio (diagnosi di sindrome feto-alcolica) nel proprio figlio.

Partendo dalla considerazione che i soggetti con ARND rappresentano circa il 90% della popolazione con FASD (42), ne consegue l'importanza di elaborare un profilo neuro-comportamentale che sia specifico e che aiuti nel formulare una diagnosi di FASD e nel programmare il trattamento.

Se, da una parte, esiste una vasta letteratura sui deficit cognitivi e comportamentali che caratterizzano i casi di FASD attualmente non c'è ancora molta chiarezza sulla possibilità di un profilo neuro-comportamentale che definisca in maniera univoca i casi di FASD. Mattson (43) confrontò la prestazione di bambini esposti prenatalmente all'alcol con FAS, bambini esposti prenatalmente all'alcol senza FAS (gruppo ARND) e bambini non esposti all'alcol (controlli) utilizzando una composita batteria di test neuro-psicologici. I risultati indicarono che uno stesso profilo di disturbi neuropsicologici distingueva i casi di FAS e quelli di ARND dai controlli. I due gruppi clinici (FAS-ARND) presentavano difficoltà nella memoria di lavoro, fluency verbale, pianificazione, flessibilità, attenzione, nella regolazione delle emozioni e nel ragionamento spaziale. Kodituwakku (36, 37), invece, propone un modello di deficit generalizzato dell'elaborazione dell'informazione alla base delle difficoltà specifiche esibite dai bambini FASD. La diminuzione dell'efficienza intellettuale, la lenta elaborazione dell'informazione e la

difficoltà con compiti complessi caratteristiche delle persone affette da FASD sarebbero, secondo l'autore, congruenti con l'ipotesi di un deficit generalizzato. Nash (42), invece, definisce dettagliatamente il profilo comportamentale FASD come caratterizzato da comportamenti inattentivi e di iperattività, simili a quelli esibiti dai soggetti affetti da ADHD; a differenza di questi ultimi, i bambini con FASD presenterebbero in aggiunta una difficoltà a sentire il senso di colpa e una tendenza ad avere comportamenti crudeli e infantili.

L'interesse delle più recenti ricerche scientifiche si è concentrato sul confronto dei bambini affetti da FASD con bambini con altre patologie, che condividono clinicamente gli stessi comportamenti, allo scopo di definire meglio il profilo neuro-comportamentale che li distingue. Nello specifico, l'attenzione si è focalizzata sul comparare bambini affetti da FASD con bambini che hanno una diagnosi di ADHD. La percentuale di bambini con FASD diagnosticati ADHD, è correlata positivamente con la quantità di alcol assunta durante la gravidanza. La prevalenza di ADHD in bambini FAS si colloca in un valore compreso tra il 49,4% e il 94% (32). In generale i soggetti con FASD hanno il 70% di probabilità di sviluppare un disturbo dell'attenzione e di iperattività (42). Nonostante che dal punto di vista fenomenologico, soggetti affetti da FASD e ADHD e soggetti con ADHD sembrano appartenere alla stessa categoria clinica, in realtà gli studi hanno dimostrato che il profilo neuro-comportamentale che definisce i due gruppi, è sostanzialmente differente. I sintomi di inattenzione persistono nell'adolescenza e nell'età adulta e, diversamente dai sintomi di iperattività, sono maggiormente presenti nei soggetti affetti da FASD e ADHD rispetto agli ADHD senza FASD (38, 25, 44, 45). Il comportamento adattivo è deficitario in entrambe le popolazioni, con delle differenze.

In uno studio di Crocker *et al.* (46) tre gruppi (ADHD senza FASD, FASD con ADHD e bambini con uno sviluppo nella norma) furono confrontati utilizzando le *Vineland Adaptive Behaviour Scales* (47). Rispetto agli ADHD, i soggetti FASD presentarono prestazioni peggiori nel dominio delle abilità sociali e della comunicazione. Nel dominio delle abilità del vivere quotidiano, gli ADHD mostrarono maggiori difficoltà rispetto ai FASD. Inoltre i soggetti FASD, a differenza degli ADHD, mostrarono una correlazione negativa tra l'età e il punteggio: il deficit della funzione adattiva peggiorava all'aumentare dell'età. In un altro lavoro di Nash *et al.* (42), i soggetti FASD (FAS n.=11; ARND n.=43) furono confrontati con un gruppo di ADHD (n.=30) utilizzando *The Child Behaviour Checklist* (CBCL) (48, 49) per avere una misura dei problemi comportamentali. Entrambi i gruppi risultarono avere deficit dell'attenzione e di iperattività. D'altra parte i FASD, diversamente dagli ADHD, mostrarono una maggiore tendenza a non avere senso di colpa, a esibire crudeltà, sottrazione illecita e comportamenti più infantili. Riguardo il funzionamento adattivo, entrambi i gruppi presentano problemi nel dominio della socializzazione e della comunicazione: mentre per gli ADHD si parla di un ritardo dello sviluppo, nei FASD non si registrano miglioramenti con l'aumentare dell'età.

I soggetti FASD inoltre presentano difficoltà nelle abilità di vivere quotidiano, nella cognizione sociale e nel riconoscimento dell'emozione tramite la comunicazione non verbale (espressione facciale). Dal punto di vista cognitivo, molti studi hanno evidenziato differenze nella natura del deficit attentivo. Coles *et al.* (50) valutarono l'attenzione nei FASD e negli ADHD utilizzando il modello a quattro fattori di Mirsky *et al.* (51): focalizzazione, attenzione, codifica e spostamento dell'attenzione. Mentre i bambini con FASD erano deficitari nel processo di codifica e spostamento dell'attenzione, gli ADHD presentarono difficoltà maggiori nel processo dell'attenzione sostenuta e selettiva. Inoltre, a differenza dei FASD, gli ADHD nei test Go/No-Go mostrarono una scarsa abilità ad inibire la risposta. In riferimento al funzionamento esecutivo, i due gruppi hanno prestazioni simili al WCST (*Wisconsin Card Sorting Test*), ma solo i bambini FASD hanno prestazioni deficitarie al test di fluency di lettere e al TMT (*Trail Making Test*). L'apprendimento verbale è deficitario in entrambi i gruppi. La

natura del deficit è diversa: nei FASD il deficit di apprendimento è conseguenza di una difficoltà a codificare l'informazione, nei bambini ADHD il problema è da ricondurre ad una difficoltà nel recupero dell'informazione appresa (52). Il controllo motorio e dell'equilibrio è differentemente deficitario nei due gruppi. Entrambi presentano difficoltà nei test che implicano l'utilizzo di abilità motorie e di equilibrio complesse ma i FASD, differentemente dagli ADHD, presentano abilità motorie di base integre (53).

## Trattamento dei casi di FASD

La variabilità dei fattori di rischio a cui è sottoposta la popolazione FASD la rende eterogenea nelle sue caratteristiche eziopatologiche e difficoltosa da trattare con un trattamento valido per tutti (37, 54). Considerando il fatto che l'efficacia di un trattamento è strettamente connesso alla capacità di una valutazione neuropsicologica di cogliere i punti di forza e di debolezza di un bambino portatore di disagio, il bambino con FASD impone, per essere trattato adeguatamente, l'uso di una specifica e dettagliata sessione di valutazione diagnostica. D'altra parte, l'individuazione precoce di bambini FASD è un'altra sfida da vincere per poter sviluppare dei programmi di intervento efficaci.

Gli operatori che lavorano nei vari ambienti medici (ostetriche, ginecologi, medici di base, pediatri) non sempre sono preparati a chiedere alle mamme il consumo di alcol durante la gravidanza; pochi sono i medici capaci di riconoscere gli indici dismorfologici che definiscono la sindrome; pochi centri sono in grado di effettuare una diagnosi di FASD. Questi e altri fattori contribuiscono a ritardare di molto la diagnosi di FASD riducendo di molto i benefici di un intervento precoce.

Per Streissguth *et al.* (40) la diagnosi precoce è il più importante predittore di una buona riuscita dei trattamenti, anche perché riduce di molto l'insorgenza delle disabilità secondarie. Sebbene in questi ultimi anni molti lavori siano stati pubblicati sulle disabilità cognitive e comportamentali che caratterizzano i casi di FASD, pochi dati sono disponibili sul trattamento dei bambini affetti (37). Inoltre gli studi pubblicati presentano alcune limitazioni metodologiche: i campioni di soggetti utilizzati sono piccoli rendendo difficile la generalizzazione dei risultati; pochi studi hanno previsto dei controlli successivi alla fine del trattamento per verificare se i cambiamenti osservati si mantengono nel tempo; la maggior parte degli studi ha preso in considerazione bambini in età scolare. Pochi studi, ad esempio, sono stati condotti avendo come popolazione trattata la prima infanzia, adolescenti e adulti (55).

Nonostante queste limitazioni i recenti studi, condotti sia sugli animali che sugli esseri umani, hanno fornito interessanti spunti per il trattamento. La maggior parte degli studi sugli animali esposti prenatalmente all'alcol ha dimostrato come, manipolando l'ambiente rendendolo più ricco di cure parentali (56), oppure più ricco di stimoli (57), oppure capace di fornire la possibilità di esercitarsi in un dominio specifico, ad esempio quello motorio (58), oppure arricchendo la dieta di composti antiossidanti (9-11), si attenuano visibilmente gli effetti avversi dell'alcol, suggerendo una notevole plasticità del cervello a modificarsi se le condizioni del contesto sono favorevoli e se l'intervento è tempestivo.

L'esame della letteratura sugli esseri umani mette in evidenza l'esistenza di quattro grandi aree di ricerca: interventi diretti ai genitori (59, 60), interventi cognitivi (61) ed educazionali (62), addestramento alle abilità adattive (59) e intervento farmacologico (63). In generale, i trattamenti integrati che si focalizzano sul contesto familiare e sul bambino sembrano avere una maggiore efficacia (37, 55, 59). Bertrand (59), infatti, ha identificato due fattori determinanti che devono essere presenti contemporaneamente per un buon esito del trattamento: il *Parent Training* e il trattamento dei disturbi cognitivi e comportamentali coinvolgendo direttamente il

bambino. Il coinvolgimento dei genitori nell'intervento è molto importante per assicurare la frequenza del bambino alle sessioni di terapia e per creare un ambiente familiare e sociale che permetta la generalizzazione di ciò che viene appreso in terapia. Kodituwakku (37) propone un modello a più ampio respiro, in cui il successo dell'intervento dipende da quanto quest'ultimo coinvolga e si rivolga alla dimensione sociale (famiglia, scuola e comunità), biologica e neuro-comportamentale del bambino FASD. Kodituwakku (37) sottolinea come l'addestramento precoce nel controllo cognitivo e nell'auto-regolazione, fornisca risultati migliori di un lavoro diretto sulle difficoltà cognitive specifiche perché aiuta il bambino ad interagire con i pari in modo più efficace creando inoltre una condizione comportamentale facilitante l'apprendimento. Nell'ambito scolastico, i FASD sono frequentemente bambini che presentano disturbi dell'apprendimento e problemi comportamentali (64) e sono anche quelli che frequentemente vengono sospesi, o abbandonano la scuola (65). Per questi bambini, è molto importante che vengano modificate le strategie di insegnamento e "l'ambiente" della classe, in modo che si tengano presenti le loro difficoltà (62). Parallelamente, sono da prevedere degli interventi che aiutino il bambino a fronteggiare le difficoltà di apprendimento, cognitive e comportamentali. A tal proposito, sembrerebbe molto efficace la terapia del controllo cognitivo (*Cognitive Control Therapy*, CCT) nel ridurre i problemi comportamentali e di apprendimento nei bambini FASD, impegnandoli in una serie di attività di difficoltà crescente che vanno dalla concettualizzazione del movimento del corpo nello spazio alla categorizzazione dell'informazione (66, 67).

I bambini con FASD mostrano di avere problemi della funzione adattiva, inclusi quelli relativi alla comunicazione, alla socializzazione e alle abilità personali e di comunità, alcune volte molto più gravi dei problemi cognitivi (68). O'Connor *et al.* (69) adattarono un programma di addestramento delle abilità sociali chiamato "addestramento dei bambini alle relazioni" (70) su un gruppo di bambini FASD di età compresa tra i 6 e 12 anni. La procedura sperimentale incluse i genitori in qualità di facilitatori sociali. Le abilità considerate furono: la gestione del conflitto e la negoziazione e le attività di gioco a casa e tra i pari. Le tecniche comportamentali usate compresero: *modelling*, prove di ripetizione, feedback sulla prestazione, compiti a casa e gioco con i pari mediato dai genitori. I risultati dimostrarono l'efficacia del training sulle abilità sociali: in particolare, i bambini mostrano miglioramenti significativi nei comportamenti sociali e un decremento dei comportamenti problematici.

## Conclusioni

Ormai è scientificamente riconosciuto come l'alcol assunto durante la gravidanza abbia un potente effetto teratogeno sullo sviluppo neuro-comportamentale.

I bambini FASD possono presentare vari deficit cognitivi (4, 12). Tali deficit cognitivi che, se non trattati tempestivamente, determinano le "disabilità secondarie", le quali compaiono più tardi nel corso della vita dei soggetti includendo problemi con la legge, difficoltà scolastiche, comportamenti disadattativi e difficoltà emotive (31, 32).

Evidenze cliniche/sperimentali mostrano che una diagnosi precoce e un intervento mirato possono diminuire il manifestarsi della patologia attenuando il progredire delle disabilità secondarie (31). La letteratura presa in considerazione ci fornisce un quadro di quanto fino a questo momento è stato fatto per trattare i bambini FASD (37, 55, 59). Avendo a che fare con l'età evolutiva non si può prescindere dalla centralità del bambino, indipendentemente dal deficit di cui egli stesso è portatore.

Inoltre, l'intervento terapeutico deve essere integrato (bambino-genitori-scuola) e accompagnato da un'adeguata formazione e psico-educazione dei genitori ed degli educatori, così da assicurare una portata di cambiamenti più ampia.

## Bibliografia

1. Lemoine P, Haroussseau H, Borteyru JP, Menuet JC. Les enfants de parents alcooliques: Anomalies observées, à propos de 127 cas. *Ouest Med* 1968;21:476-82.
2. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet*. 1973;2:999-1001.
3. Astley SJ, Clarren SK. Diagnosing the full spectrum of fetal alcohol-exposed individuals: introducing the 4-digit diagnostic code. *Alcohol Alcohol* 2000; 35:400-14
4. Mattson SN, Crocker N, Nguyen T. Fetal alcohol spectrum disorders: neuropsychological and behavioral features. *Neuropsychol Rev* 2011;21:81-101
5. Stratton K, Howe C, Battaglia F. *Fetal alcohol syndrome: diagnosis, epidemiology, prevention, and treatment*. Washington, DC: National Academy Press; 1996.
6. Hoyme H, May PA, Kalberg WO, Koditwakku 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. May PA, Gossage JP. Maternal risk factors for fetal alcohol spectrum disorders: not as simple as it might seem. *Alcohol Research & Health*, 2011;34(1):15-26.
8. Haycock PC. Fetal Alcohol Spectrum Disorders: *The Epigenetic Perspective Biol Reprod* 2009;81(4):607-17.
9. Jacobson SW, Carr LG, Croxford J, Sokol RJ, Li TK, Jacobson JL. Protective effects of the alcohol dehydrogenase-ADH1B allele in children exposed to alcohol during pregnancy. *J Pediatr* 2006;148:30-7.
10. Fiore M, Laviola G, Aloe L, Di Fausto V, Mancinelli R, Ceccanti M. Early exposure to ethanol but not red wine at the same alcohol concentration induces behavioral and brain neurotrophin alterations in young and adult mice. *Neurotoxicology* 2009;30:59-71.
11. Ceccanti M, Mancinelli R, Tirassa P, Laviola G, Rossi S, Romeo M, *et al*. Early exposure to ethanol or red wine and long-lasting effects in aged mice. A study on nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, hepatocyte growth factor, and vascular endothelial growth factor. *Neurobiol Aging* 2012;33:359-67.
12. Mattson SN, Crocker N, Nguyen T. Fetal alcohol spectrum disorders: neuropsychological and behavioral features. *Neuropsychol Rev* 2011;21:81-101.
13. Streissguth AP, Aase JM, Clarren SK, Randels SP, LaDue RA, Smith DF. Fetal alcohol syndrome in adolescents and adults. *JAMA* 1991;265:1961-7.
14. May PA, Fiorentino D, Coriale G, Kalberg WO, Hoyme HE, Aragón AS, *et al*. Prevalence of children with severe fetal alcohol spectrum disorders in communities near Rome, Italy: new estimated rates are higher than previous estimates. *Int J Environ Res Public Health* 2011;8:2331-51.
15. Chasnoff IJ, Wells AM, Telford E, Schmidt C, Messer G. Neurodevelopmental functioning children with FAS, pFAS, and ARND. *J Dev Behav Pediatr* 2010;31:192-201.
16. Koditwakku 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;19:1558-64.
17. Mattson SN, Riley EP. Implicit and explicit memory functioning in children with heavy prenatal alcohol exposure. *J Int Neuropsychol Soc* 1999;5:462-71.
18. Burden MJ, Andrew C, Saint-Amour D, Meintjes EM, Molteno CD, Hoyme HE, *et al*. The effects of fetal alcohol syndrome on response execution and inhibition: an event-related potential study. *Alcohol Clin Exp Res* 2009; 33: 1994-2004.

19. Burden MJ, Westerlund A, Muckle G, Dodge N, Dewailly E, Nelson CA, *et al.* The effects of maternal binge drinking during pregnancy on neural correlates of response inhibition and memory in childhood. *Alcohol Clin Exp Res* 2011;35:69-82.
20. Rasmussen C. Executive functioning and working memory in fetal alcohol spectrum disorder. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:1359-67.
21. Burden MJ, Jacobson SW, Sokol RJ, Jacobson JL. Effects of prenatal alcohol exposure on attention and working memory at 7.5 years of age. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:443-52.
22. Mattson SN, Gramling L, Delis DC, Jones KL, Riley EP. Global-local processing in children prenatally exposed to alcohol. *Child Neuropsychol* 1996;2:165-75.
23. 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.
24. Coggins TE, Friet T, Morgan T. Analyzing narrative production in older school-age children and adolescents with fetal alcohol syndrome: an experimental tool for clinical applications. *Clinical Linguistics & Phonetics* 1998;12:221-36.
25. Kodituwakku P, Coriale G, Fiorentino D, Aragon AS, Kalberg WO, Buckley D, *et al.* Neurobehavioral characteristics of children with fetal alcohol spectrum disorders in communities in Italy: preliminary results. *Alcohol Clin Exp Res* 2006;30:1551-61.
26. Rustioni DML. *Prove di valutazione della comprensione linguistica*. Firenze: Giunti; 1994.
27. Uecker A, Nadel L. Spatial locations gone awry: object and spatial memory deficits in children with fetal alcohol syndrome. *Neuropsychologia* 1996;34:209-23.
28. Chiodo LM, Janisse J, Delaney-Black V, Sokol RJ, Hannigan JH. A metric of maternal prenatal risk drinking predicts neurobehavioral outcomes in preschool children. *Alcohol Clin Exp Res* 2009;33:634-44.
29. Kalberg WO, Provost B, Tollison SJ, Tabachnick BG, Robinson LK, Eugene Hoyme H, Trujillo PM, Buckley D, Aragon AS, May PA. Comparison of motor delays in young children with fetal alcohol syndrome to those with prenatal alcohol exposure and with no prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 2006;30:2037-45.
30. Pelham WE Jr, Gnagy EM, Greenslade KE, Milich R. Teacher ratings of DSM-III-R symptoms for the disruptive behavior disorders. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1992;31(2):210-8.
31. 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;1:248-54.
32. Peadon E, Elliott EJ. Distinguishing between attention-deficit hyperactivity and fetal alcohol spectrum disorders in children: clinical guidelines. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2010;6:509-15.
33. Rasmussen C, Bisanz J. Executive functioning in children with fetal alcohol spectrum disorders: profiles and age-related differences. *Child Neuropsychol* 2008;15:1-15.
34. Rasmussen C, Bisanz J. The relation between mathematics and working memory in young children with fetal alcohol spectrum disorders. *The Journal of Special Education* 2011;45:184-91.
35. Meintjes EM, Jacobson JL, Molteno CD, Gatenby JC, Warton C, Cannistraci CJ. An fMRI study of number processing in children with fetal alcohol syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 2010;34:1450-64.
36. Kodituwakku PW. Defining the behavioral phenotype in children with fetal alcohol spectrum disorders: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31:192-201.
37. Kodituwakku PW. A neurodevelopmental framework for the development of interventions for children with fetal alcohol spectrum disorders. *Alcohol* 2010;44:717-28.

38. Nanson JL, Hiscock M. Attention deficits in children exposed to alcohol prenatally. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:656-61.
39. Greenbaum RL, Stevens SA, Nash K, Koren G, Rovet J. Social cognitive and emotion processing abilities of children with fetal alcohol spectrum disorders: a comparison with attention deficit hyperactivity disorder. *Alcohol Clin Exp Res* 2009;33:1656-70.
40. 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; 5(4):228-38
41. Chudley AE, Conry J, Cook JL, Looock C, Rosales T, Le-Blanc N; Public Health Agency of Canada's National Advisory Committee on Fetal Alcohol Spectrum Disorder. Fetal alcohol spectrum disorder: Canadian guidelines for diagnosis. *CMAJ* 2005;172 (5 Suppl):S1-S21.
42. Nash K, Rovet J, Greenbaum R, Fantus E, Nulman I, Koren G. Identifying the behavioural phenotype in Fetal Alcohol Spectrum Disorder: sensitivity, specificity and screening potential. *Arch Womens Ment Health* 2006;9:181-6.
43. Mattson SN, Roesch SC, Fagerlund A, Autti-Rämö I, Jones KL, May PA *et al.* Toward a neurobehavioral profile of fetal alcohol spectrum disorders. *Alcohol Clin Exp Res* 2010;34:1640-50.
44. Fryer SL, McGee CL, Matt GE, Riley EP, Mattson SN. Evaluation of psychopathological conditions in children with heavy prenatal alcohol exposure. *Pediatrics* 2007;119:733-41.
45. Aragon AS, Coriale G, Fiorentino D, Kalberg WO, Buckley D, Gossage JP, *et al.* Neuropsychological characteristics of Italian Children with Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Alcohol Clin Exp Res* 2008;32:1909-19.
46. Crocker N, Vaurio L, Riley EP, Mattson SN. Comparison of adaptive behavior in children with heavy prenatal alcohol exposure or attention-deficit/hyperactivity disorder. *Alcohol Clin Exp Res* 2009;33:2015-23.
47. Sparrow SS, Cicchetti DV, Balla DA. *Vineland adaptive behavior scales*. 2<sup>nd</sup> edition. Minneapolis, MN: Pearson Assessments; 2005.
48. Achenbach TM, Rescorla LA. *Manual for the ASEBA preschool forms and profiles*. Burlington, VT: University of Vermont Department of Psychiatry; 2000.
49. Achenbach TM, Rescorla LA. *Manual for the ASEBA school-age forms and profiles*. Burlington, VT: University of Vermont, Research Center for Children, Youth, and Families; 2001.
50. 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.
51. Mirsky AF, Anthony BJ, Duncan CC, Ahearn MB, Kellam SG. Analysis of the elements of attention: a neuropsychological approach. *Neuropsychol Rev* 1991;2:109-45.
52. Crocker N, Vaurio L, Riley EP, Mattson SN. Comparison of verbal learning and memory in children with heavy prenatal alcohol exposure or attention-deficit/hyperactivity disorder. *Alcohol Clin Exp Res* 2011;35:1114-21.
53. Kooistra L, Crawford S, Gibbard B, Ramage B, Kaplan BJ. Differentiating attention deficits in children with fetal alcohol spectrum disorder or attention-deficit-hyperactivity disorder. *Dev Med Child Neurol* 2010;52:205-11.
54. Astley S, Stachowiak J, Sterling Clarren SK, Cherie C. Application of the fetal alcohol syndrome facial photographic screening tool in a foster care population. *J Pediatr* 2002;141:712-17.
55. Paley P. Early intervention for children with fetal alcohol spectrum disorders. *Encyclopedia on Early Childhood Development* 2011;1-10.

56. Lee MH, Rabe A. Infantile handling eliminates reversal learning deficit in rats prenatally exposed to alcohol. *Alcohol* 1999;18:49-53.
57. Mothes HK, Opitz B, Werner R, Clausing P. Effects of prenatal ethanol exposure and early experience on home-cage and open-field activity in mice. *Neurotoxicol Teratol* 1996;18:59-65.
58. Klintsova AY, Scamra C, Hoffman M, Goodlett CR, Napper RMA, Greenough WT. Therapeutic effect of complex motor skill learning on binge-like postnatal alcohol-induced motor performance deficits: II. Quantitative study of synaptic plasticity using unbiased stereology. *Brain Res* 2002;937:83-93.
59. Bertrand J. Interventions for children with fetal alcohol spectrum disorders: Overview of findings for five innovative research projects. *Res Dev Disabil* 2009;30:986-1006.
60. Grant TM, Ernst CC, Streissguth AP. Intervention with high-risk alcohol and drug-abusing mothers: Administrative strategies of the Seattle model of paraprofessional advocacy. *J Community Psychology* 1999;27:1-18.
61. Kable JA, Coles CD, Taddeo E. Socio-cognitive habilitation using the math interactive learning experience program for alcohol-affected children. *Alcohol Clin Exp Res* 2007;31:1425-34.
62. Kalberg WO, Buckley D. FASD: what types of intervention and rehabilitation are useful? *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31:278-85.
63. Doig J, McLennan JD, Gibbard WB. Medication effects on symptoms of attention-deficit hyperactivity disorder in child with fetal alcohol spectrum disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2008;18:365-71.
64. Burd L, Klug MG, Martsof JT, Kerbeshian J. Fetal alcohol syndrome: neuropsychiatric phenomics. *Neurotoxicol Teratol* 2003;25:697-705.
65. Olson HC, Streissguth A, Sampson PD. Association of prenatal alcohol exposure with behavioral and learning problems in early adolescence. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997; 36: 1187-94.
66. Riley EP, Mattson SN, Li TK, Jacobson SW, Coles CD, Koditwakku PW, *et al.* Neurobehavioral consequences of prenatal alcohol exposure: an international perspective. *Alcohol Clin Exp Res* 2003;27:362-73.
67. Santostefano S. Cognitive control therapy with children and adolescents. Oxford: Pergamon Press 1985
68. Jirikowic T, Kartin D, Olson HC. Children with fetal alcohol spectrum disorders: a descriptive profile of adaptive function. *Canadian Journal of Occupational Therapy* 2008;75:238-48.
69. O'Connor MJ, Mcracken J, Best A. Under recognition of prenatal alcohol exposure in a child inpatient psychiatric setting. *Mental Health Aspects of Developmental Disabilities* 2006;9:105-8.
70. Frankel F, Myatt R. *Children's friendship training*. New York: Brunner-Routledge; 2003.



**SECONDA PARTE**  
**Ricerca clinica e preclinica**



# STUDI GENETICI SUL TRASPORTATORE DELLA SEROTONINA PER L'INDIVIDUAZIONE DI EFFICACI TRATTAMENTI FARMACOLOGICI DELL'ALCOL-DIPENDENZA

Esterina Pascale

Dipartimento di Scienze e Biotechnologie Medico Chirurgiche, "Sapienza" Università di Roma, Roma

## Introduzione

L'alcol-dipendenza risulta da complesse interazioni tra fattori ambientali e genetici. La componente ereditaria nello sviluppo di questa dipendenza costituisce circa il 50-60%. Numerosi studi condotti sia in modelli animali che nell'uomo hanno evidenziato che il sistema serotonergico è associato al suo sviluppo e mantenimento. Il gene del trasportatore della serotonina è stato ampiamente esaminato visto il fondamentale ruolo svolto dalla proteina da esso codificata nel controllo della concentrazione della serotonina nello spazio sinaptico. Tuttavia i trattamenti farmacologici con inibitori specifici del re-uptake della serotonina (*Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*, SSRI) o con l'antagonista del recettore 5-HT<sub>3</sub> (5-hydracryptamine) (Ondansetron), in popolazioni eterogenee di individui alcol-dipendenti, non hanno prodotto risultati riproducibili. Tra le principali cause di variazione interindividuale nelle risposte farmacologiche particolare attenzione è stata rivolta allo studio dei polimorfismi genici. La conoscenza sempre più dettagliata del genoma umano ha portato alla nascita della farmacogenetica che studia come le differenze inter-individuali presenti nel DNA determinano risposte diverse ai farmaci e come queste informazioni possono essere applicate per realizzare terapie che tengono conto dell'unicità del genoma. In quest'ambito recenti trial clinici hanno prodotto risultati interessanti quando si considera il genotipo del trasportatore della serotonina in gruppi omogenei di alcolisti.

## Polimorfismi genici

Si parla di polimorfismo genetico quando una variazione a livello del DNA presenta una prevalenza maggiore dell'1% nella popolazione. Sebbene il genoma degli individui sia identico per il 99,9%, la differenza dello 0,1% è in grado di dare luogo a tre milioni di polimorfismi. La variazione può essere costituita da sostituzioni, delezioni o inserzioni di basi nel DNA e può riguardare regioni codificanti e regioni non codificanti. Le differenze in singole paia di basi sono note invece come polimorfismi a singolo nucleotide (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP). Alcuni polimorfismi sono "silenti", in altre parole non condizionano in maniera significativa la funzione del prodotto genico, mentre altri, detti polimorfismi "funzionali", modificano l'espressione della proteina codificata, determinando alterazioni che possono influenzare la manifestazione di particolari patologie o condizionare la risposta ai farmaci. Il loro significato è particolarmente importante per l'individuazione e la personalizzazione delle terapie farmacologiche. L'esito di queste terapie può essere molto diverso tra soggetti della stessa popolazione. I fattori che contribuiscono a questa variabilità comprendono età, razza,

nesso, interazione con altri farmaci, la presenza di particolari patologie, comprese le funzionalità renali ed epatiche. Evidenze sempre più numerose sottolineano come anche le differenze genetiche tra gli individui, dovute a polimorfismi in particolari geni, costituiscono un fattore molto importante nell'influenzare la variabilità del trattamento farmacologico (1). La frequenza con cui gli alleli di un gene sono presenti in una popolazione può variare sensibilmente in etnie diverse.

I determinanti genetici della risposta a un farmaco possono influenzare il suo profilo farmacocinetico e/o farmacodinamico. Le variazioni che si riferiscono al profilo farmacodinamico possono determinare una mancanza di risposta alla presenza di concentrazioni terapeutiche del farmaco. Queste variazioni possono dipendere da polimorfismi a carico di geni che codificano per trasportatori, recettori, enzimi e altre proteine coinvolte nel meccanismo di azione del farmaco, o dei geni che influenzano significativamente la progressione della malattia.

La variabilità osservata nella risposta ai trattamenti farmacologici nell'alcol-dipendenza ha indirizzato la ricerca verso la farmacogenetica e la farmacogenomica con l'obiettivo di identificare un trattamento farmacologico più efficace. L'utilizzo di test genetici semplici, condotti mediante la metodica della PCR e della real-time PCR, consente di analizzare i polimorfismi genici coinvolti nella risposta ai farmaci per fornire indicazioni sull'efficacia dei trattamenti farmacologici prima della somministrazione. Recenti studi clinici in quest'ambito hanno prodotto risultati interessanti per alcuni polimorfismi funzionali presenti nel gene del trasportatore della serotonina.

## Trasportatore della serotonina e polimorfismi funzionali

La serotonina (5-HT) è un neurotrasmettitore coinvolto nel processo fisiopatologico di diverse condizioni psichiatriche, tra cui anche l'alcol-dipendenza (2, 3). Il trasportatore della serotonina (5-HTT) è una proteina che costituisce il meccanismo principale di rimozione della 5-HT dallo spazio sinaptico, modulando così la trasmissione serotonergica a livello del sistema nervoso centrale. Il grado di ricaptazione dipende dalla densità del trasportatore presente sulla membrana presinaptica.

Il gene che codifica per il 5-HTT, (SLC6A4) è stato oggetto di numerosi studi nell'ambito dell'alcol-dipendenza per le seguenti osservazioni: (a) la proteina svolge un ruolo critico nel determinare la dimensione e la durata della neurotrasmissione serotoninergica (4), (b) il gene 5-HTT è associato con l'alcolismo (5), e con sottotipi di alcolismo (6), e (c) composti farmacologici, quali gli inibitori specifici del re-uptake della serotonina (SSRI) o gli antagonisti del recettore 5-HT<sub>3</sub> (Ondansetron) hanno dimostrato avere importanti applicazioni terapeutiche (7-9). I livelli di espressione del gene SLC6A4 sono regolati da tre principali meccanismi: elementi che regolano la trascrizione a livello del promotore al 5' del gene (10), *splicing* differenti (11), e siti diversi di poliadenilazione al 3' del gene (12).

Tra le varianti funzionali del gene per il trasportatore della serotonina, numerosi studi riguardo all'alcol-dipendenza sono stati condotti sul polimorfismo 5HTTLPR, caratterizzato dalla presenza o dall'assenza di un tratto di 43 bp che dà origine a due varianti alleliche, una lunga (L) e una corta (S) (13) che possono condizionare l'attività trascrizionale del gene SLC6A4. La variante S è associata a una ridotta trascrizione del gene, rispetto alla variante L con conseguente aumento della serotonina disponibile nelle sinapsi e down-regulation dei siti di binding post-sinaptici (14).

Numerosi studi genetici sono stati condotti per valutare l'associazione tra gli alleli S e L nell'alcol-dipendenza. I risultati sono a tutt'oggi conflittuali: in alcuni studi non è stata trovata

associazione tra genotipo e dipendenza, mentre in altri, è descritto un ruolo patogenetico per la variante S e in altri ancora per quella L (15, 16).

Oltre agli alleli L e S, il livello di espressione del 5-HTT è influenzato da altri polimorfismi più recentemente identificati nel gene (12, 17-21). In particolare, il polimorfismo a singolo nucleotide rs25531 è in grado di modulare l'efficienza trascrizionale del 5-HTTLPR (18). Il rs25531 è un polimorfismo funzionale con la sostituzione di una Adenina (A) in Guanina (G) che modifica i livelli di espressione della variante L creando un sito di legame funzionale per il fattore di trascrizione AP2 che agisce come repressore della trascrizione genica. Pertanto, la modulazione di 5-HTTLPR da parte di rs25531 risulta in tre alleli comuni: LA (a più elevata espressione), LG e S (a bassa espressione). L'identificazione di questo nuovo polimorfismo, definito triallelico, potrebbe spiegare i risultati contrastanti ottenuti dagli studi di associazione genica finora condotti.

Un altro polimorfismo funzionale a singolo nucleotide è stato recentemente descritto nel gene SLC6A4, denominato rs1042173 e consiste nella sostituzione di una Guanina (G) in Timina (T) (21). L'allele G mostra livelli di espressione di mRNA e di proteina più elevati rispetto all'allele T. Questo polimorfismo è localizzato nella regione regolatrice al 3' del gene in prossimità sia del sito di poliadenilazione che del sito di legame con micro RNA (Tabella1). Il cambiamento di sequenza in questa regione potrebbe modificare il livello di espressione del gene e della proteina alterando la stabilità del mRNA (12, 22, 23).

**Tabella 1. Polimorfismi funzionali del trasportatore della serotonina: rs25531, 5-HTTLPR e rs1042173**

Polimorfismo	Localizzazione nel gene SLC6A4	Alleli	Funzione
5-HTTLPR	Promotore	S= Short L= Long	S=ridotta trascrizione L= aumentata trascrizione
rs25531	Promotore	SNP: A/G	A= elevata trascrizione G= ridotta trascrizione
rs1042173	3'-UTR	SNP: T/G	G= elevata trascrizione T= ridotta trascrizione

## Sistema serotonergico: farmacogenetica del trattamento dell'alcol-dipendenza

Gli studi di associazione genica tra il polimorfismo 5-HTTLPR e alcol-dipendenza hanno prodotto risultati contrastanti nelle varie popolazioni analizzate (15, 16). Anche il trattamento dell'alcol-dipendenza utilizzando farmaci serotonergici non ha prodotto risultati conclusivi.

L'eterogeneità dei soggetti alcol-dipendenti potrebbe costituire un importante fattore di variabilità. Tra i diversi criteri utilizzati per rendere più omogenei i gruppi di alcolisti, l'età d'insorgenza della dipendenza costituisce un fattore molto importante. Utilizzando questo criterio è possibile distinguere i soggetti alcolisti in due gruppi: il gruppo con insorgenza della dipendenza più tardiva (*Late-Onset Alcoholism*, LOA) definita dopo i 25 anni di età, con una più bassa vulnerabilità in età infantile e minori complicanze patologiche, e il tipo con alcol-dipendenza che inizia a un'età inferiore o uguale a 25 anni (*Early-Onset Alcoholism*, EOA), più elevata vulnerabilità in età infantile e complicanze psicopatologiche. Il genotipo 5-HTTLPR è stato studiato e utilizzato per indirizzare la farmacoterapia in sottogruppi di alcolisti classificati in base all'età d'insorgenza della dipendenza.

Studi genetici sono stati condotti per verificare se tra i due sottogruppi di alcolisti LOA ed EOA esistano differenze genotipiche per quanto riguarda i polimorfismi del trasportatore della serotonina. In particolare per il polimorfismo 5-HTTLPR è stata evidenziata un'associazione tra i genotipi S/S e S/L e il sottotipo a insorgenza tardiva, mentre il genotipo L/L è associato con il sottogruppo di alcolisti ad esordio precoce e che presentano complicanze più gravi.

L'associazione tra LOA e il genotipo S/S e L/S del trasportatore della serotonina suggerirebbe un normale funzionamento del recettore 5-HT3 e la presenza dell'allele S potrebbe influenzare il rischio di ricaduta in soggetti alcol-dipendenti in astinenza. Mentre, soggetti EOA con genotipo L/L presentano livelli ridotti di serotonina a livello sinaptico che potrebbe determinare una up-regolazione del recettore 5-HT3 durante il consumo di alcol e un aumentato rilascio di dopamina nel *nucleus accumbens*.

Le differenze neurobiologiche tra questi due sottotipi di alcolisti possono avere implicazioni efficaci per il trattamento farmacologico dell'alcol-dipendenza. Da un punto di vista clinico, gli antagonisti del recettore 5-HT3, come l'Ondansetron, potrebbero costituire un trattamento efficace nei soggetti EOA rispetto a LOA. Mentre il trattamento farmacologico con inibitori del re-uptake della serotonina (SSRI), come la Sertalina, faciliterebbe la trasmissione serotonergica e l'inibizione della dopamina e potrebbe invece essere più efficace nei soggetti LOA che presentano prevalentemente i genotipi S/S e L/S.

I risultati di trial clinici hanno mostrato l'efficacia del trattamento con Sertalina, inibitore del re-uptake della serotonina (24), in pazienti LOA, mentre l'Ondansetron, un antagonista del recettore 5-HT3 si è dimostrato più efficace tra soggetti EOA (8).

Recenti trial clinici hanno preso in considerazione sia la distinzione dei soggetti alcolisti in EOA o LOA che la presenza dei polimorfismi funzionali del trasportatore della serotonina in risposta al trattamento con farmaci serotonergici con interessanti risultati. In particolare, il trattamento con Ondansetron per 11 settimane si è dimostrato più efficace nei soggetti con genotipo L/L nel ridurre il consumo di alcol con un periodo di astinenza più prolungata rispetto ai pazienti sottoposti a trattamento con placebo. Inoltre, la presenza contemporanea del genotipo LL e del polimorfismo rs1042173 rende il trattamento farmacologico con Ondansetron ancora più efficace in termini di riduzione del consumo alcolico e dei giorni di astinenza, rispetto ai soggetti con tutti gli altri genotipi sottoposti al trattamento (25).

In un altro trial clinico controllato con placebo, la somministrazione di Sertralina per 12 settimane ha mostrato un effetto farmacologico maggiore tenendo conto di entrambi i fattori età d'insorgenza dell'alcol-dipendenza e genotipo 5-HTTLPR. Il trattamento risulta più efficace in soggetti EOA rispetto ai pazienti sottoposti al trattamento con placebo, ma solo in soggetti con il genotipo LL. I pazienti di questo studio sono stati seguiti dopo il trattamento, che è efficace anche fino a tre mesi successivi (9). Gli stessi risultati sono stati ottenuti anche considerando il polimorfismo triallelico, determinato dai due polimorfismi 5-HTTLPR e rs25531 (26).

Questi studi recenti hanno valutato l'effetto del genotipo 5-HTTLPR sulla risposta al trattamento con farmaci serotonergici evidenziando come il genotipo LL risponda in modo diverso ai diversi trattamenti in gruppi omogenei di alcolisti e dimostrando che trattamenti farmacologici efficaci possono essere raggiunti mettendo insieme le conoscenze genetiche funzionali e la corrispondenza dei pazienti ottenuta mediante caratterizzazione del sottotipo clinico. Nuovi studi prospettici con Ondansetron e altri agenti serotonergici sono necessari per validare l'utilizzo di questo polimorfismo come predizione del trattamento terapeutico. Inoltre, sarebbe opportuno valutare sia il contributo di altri polimorfismi funzionali in aggiunta al polimorfismo S/L, come pure definire ulteriori criteri volti a identificare sottogruppi ancora più omogenei di alcolisti.

## Conclusioni

I risultati degli studi clinici condotti negli ultimi due anni hanno evidenziato come la definizione di gruppi più omogenei di pazienti e la conoscenza di varianti genetiche funzionali sia di fondamentale importanza nell'identificazione di trattamenti farmacologici efficaci. Vi è un'ampia variazione individuale nella risposta ai farmaci. La ricerca nell'ambito della farmacogenetica dell'alcolismo è volta a una più dettagliata caratterizzazione dei pazienti che tenga conto di altre variabili, oltre all'età d'insorgenza della dipendenza e ad altri polimorfismi di geni che codificano per enzimi coinvolti nel metabolismo dei farmaci, nei suoi recettori e trasportatori. L'obiettivo ultimo della farmacogenetica è quello di conoscere l'efficacia del farmaco sul soggetto prima della sua somministrazione ed evitare effetti tossici. Ciò permetterebbe di somministrare solo i farmaci con attività terapeutica accertata, diminuendo notevolmente anche gli sprechi.

## Bibliografia

1. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics. An opportunity to a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Intern Med* 2001;250:186-200.
2. Sellers EM, Higgins GA, Sobell MB. 5-HT and alcohol abuse. *Trends Pharmacol Sci* 1992;13:69-75.
3. LeMarquand D, Pihl RO, Benkelfat C. Serotonin and alcohol intake, abuse, and dependence: findings of animal studies. *Biol Psychiatry* 1994;36:395-421.
4. Lesch KP, Mossner R. Genetically driven variation in serotonin uptake: is there a link to affective spectrum, neurodevelopmental and neurodegenerative disorders? *Biol Psychiatry* 1998;44:179-92.
5. Matsushita S, Yoshino A, Murayama M, Kimura M, Muramatsu T, Higuchi S. Association study of serotonin transporter gene regulatory region polymorphism and alcoholism. *Am J Med Genet* 2001;105:446-50.
6. Parsian A, Cloninger CR. Serotonergic pathway genes and subtypes of alcoholism: association studies. *Psychiatr Genet* 2001;11:89-94.
7. Kenna GA. Medications acting on the serotonergic system for the treatment of alcohol dependent patients. *Curr Pharm Des* 2010;16:2126-35.
8. Johnson BA. Serotonergic agents and alcoholism treatment: rebirth of the subtype concept and hypothesis. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24:1597-601.
9. Kranzler HR, Armeli S, Tennen H, Covault J, Feinn R, Arias AJ, Pettinati H, Oncken C. Double-blind, randomized trial of sertraline for alcohol dependence: moderation by age of onset and 5-HTTLPR genotype. *J Clin Psychopharmacol* 2011;31:22-30.
10. Ramamoorthy S, Bauman AL, Moore KR, 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.
11. Bradley CC, Blakely RD. Alternative splicing of the human serotonin transporter gene. *J Neurochem* 1997;69:1356-67.
12. Battersby S, Ogilvie AD, Blackwood DH, Shen S, Muqit MM, Muir WJ, Teague P, Goodwin GM, Harmar AJ. 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;72:1384-8.
13. Heils A, Teufel A, Petri S, Stober G, Riederer P, Bengel D, Lesch KP. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem* 1996;66:2621-4.

14. Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Muller CR, Hamer DH, Murphy DL. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996;274:1527-31.
15. 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 (Neuropsychiatr Genet)* 2005;133:79-84.
16. McHugh RK, Hofmann SG, Asnaani A, Sawyer AT, Otto MW. The serotonin transporter gene and risk for alcohol dependence: a meta-analytic review. *Drug and Alcohol Depend* 2010;108:1-6.
17. MacKenzie A, Quinn J. A serotonin transporter gene intron 2 polymorphic region, correlated with affective disorders, has allele-dependent differential enhancer-like properties in the mouse embryo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:15251-5.
18. Hu XZ, Lipsky RH, Zhu G, Akhtar LA, Taubman J, Greenberg BD, Xu K, Arnold PD, Richter MA, Kennedy JL, Murphy DL, Goldman D. Serotonin transporter promoter gain-of-function genotypes are linked to obsessive-compulsive disorder. *Am J Hum Genet* 2006;78:815-26.
19. Wendland JR, Moya PR, Kruse MR, Ren-Patterson RF, Jensen CL, Timpano KR, Murphy DL. A novel, putative gain-of-function haplotype at SLC6A4 associated with obsessive-compulsive disorder. *Hum Mol Genet* 2008;17:717-723
20. Lipsky RH, Hu XZ, Goldman D. Additional functional variation at the SLC6A4 gene. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2009;150B(1):153.
21. Seneviratne C, Huang W, Ait-Daoud N, Li MD, Johnson BA. Characterization of a functional polymorphism in the 3'UTR of SLC6A4 and its association with drinking intensity. *Alcohol Clin Exp Res* 2009;33:332-9.
22. Beaudoin E, Freier S, Wyatt JR, Claverie JM, Gautheret D. Patterns of variant polyadenylation signal usage in human genes. *Genome Res* 2000;10:1001-10.
23. Chen K, Rajewsky N. Natural selection on human microRNA binding sites inferred from SNP data. *Nature Genetics* 2006;38:1452-6.
24. Chick J, Aschauer H, Hornik K. Efficacy of fluvoxamine in preventing relapse in alcohol dependence. A one year, double-blind, placebo-controlled multicentre study with analysis by typology. *Drug Alcohol Depend* 2004;74:61-70.
25. Johnson BA, Ait-Daoud N, Seneviratne C, Roache JD, Javors MA, Wang XQ, Liu L, Penberthy JK, Di Clemente C, Li MD. Pharmacogenetic approach at the serotonin transporter gene as a method of reducing the severity of alcohol drinking. *Am J psychiatry* 2011;168:265-75.
26. Kranzler HR, Feinn R, Armeli S, Tennen H. Comparison of alcoholism subtypes as moderators of the response to sertraline treatment. *Alcohol Clin Exp Res* 2012, 36:509-16.

# ALCOL E FATTORI DI CRESCITA NEURONALI

Sara De Nicolò (a), Rosanna Mancinelli (b), Valentina Carito (a), Paola Tirassa (a),  
Marco Fiore (a), Mauro Ceccanti (c)

(a) *Istituto di Biologia Cellulare e Neurobiologia, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma*

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

(c) *Centro Riferimento Alcolologico Regione Lazio, "Sapienza" Università di Roma, Roma*

## Introduzione

L'etanolo, conosciuto anche come alcol etilico, è una molecola organica costituita da una catena alifatica contenente due atomi di carbonio e un gruppo ossidrilico. L'etanolo è un anfotero a causa della presenza contemporanea della componente idrossilica ed etilica che gli conferiscono proprietà idrofile e lipofile.

L'alcol etilico è alla base di tutte le bevande alcoliche consumate dall'uomo, ed è considerato la sostanza d'abuso più diffusa al mondo, poiché il suo consumo è legalizzato in quasi tutti i Paesi del mondo.

Il consumo cronico e prolungato nel tempo di alcol porta all'insorgenza di una patologia nota come alcolismo. Negli ultimi anni si è assistito ad un incremento di assunzione di alcol anche tra le giovani donne. Per questo motivo si ritiene che l'esposizione precoce all'alcol da parte della madre e il consumo di questa sostanza durante la gravidanza, sia una delle cause principali dell'induzione di malformazioni nei nascituri (1, 2).

L'esposizione in utero all'etanolo determina effetti teratogeni come il mancato sviluppo cerebrale e fisico del nascituro (3-5), e inoltre è la causa principale di un insieme di anomalie note come spettro di disordini fetto-alcolici o FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*). La forma più grave di tali anomalie è nota come sindrome fetto-alcolica o FAS (*Fetal Alcohol Syndrome*) identificata inizialmente come causa di ritardo mentale (6).

Questa patologia è caratterizzata da microcefalia, anomalie neurologiche e muscolo-scheletriche e varie forme di ritardo mentale (7-10), inoltre sono presenti difetti nell'apparato visivo, uditivo, riproduttivo e cardiocircolatorio (5, 11, 12). Gli individui affetti da FASD presentano un rischio maggiore di sviluppare problemi comportamentali, di apprendimento o psichiatrici; spesso sono anche più propensi a consumare sostanze illegali o ad abusare di alcol (13, 14).

FASD è una malattia ancora poco conosciuta, proprio per questo motivo e per l'assenza di informazioni adeguate alle gestanti, la sua incidenza è elevata; si parla di circa 9 bambini colpiti da FASD su 1000 nati nei paesi occidentali (15, 16).

Tra i fattori di rischio che contribuiscono all'insorgenza di FASD occorre menzionare la quantità di alcol assunta prima della gravidanza (circa il 50% delle gravidanze non sono pianificate ciò comporta un'esposizione precoce del feto all'alcol), il tempo di esposizione a questa sostanza (aumentando i giorni di esposizione all'alcol aumenta anche il rischio di sviluppare FASD) (4, 17), il consumo di alcuni farmaci, la componente genetica, le cure parentali pre- e post-natali (18), ma anche carenze nutrizionali di componenti essenziali (19). In quest'ultimo caso, fondamentale per un corretto sviluppo fetale e per contrastare lo stress ossidativo e la produzione di radicali liberi, è il consumo di alimenti ricchi di vitamine e antiossidanti di origine naturale come frutta, verdura e olio extra-vergine d'oliva (20).

## Metabolismo dell'alcol: dalla madre al feto

Inizialmente, dopo essere stato ingerito, l'alcol è assorbito tramite diffusione passiva nello stomaco (20%), la restante parte nel duodeno (21), viene poi distribuito nei liquidi corporei (10).

La concentrazione ematica di etanolo dipende dalla gradazione alcolica e dalla quantità di bevanda ingerita, dalla velocità di assorbimento da parte dell'apparato digestivo e dall'attività degli enzimi che metabolizzano questa sostanza.

La sensibilità più o meno marcata all'etanolo è correlata anche al sesso del bevitore. Infatti, le donne, essendo fisicamente più minute degli uomini e dotate di un minor contenuto corporeo di acqua per chilogrammo di peso, risentono maggiormente degli effetti dell'alcol. Per questo motivo, a parità di dose alcolica della bevanda ingerita, le donne presentano nel flusso sanguigno una maggior concentrazione ematica di etanolo, poiché questa sostanza si distribuisce e si diluisce in un volume d'acqua inferiore rispetto a quello degli uomini (22, 23).

La velocità di distribuzione dell'etanolo verso i tessuti è parzialmente correlata alla loro vascolarizzazione, pertanto in organi molto irrorati (come cervello, fegato, polmoni e reni) l'equilibrio si instaura più rapidamente. L'etanolo è completamente metabolizzato e ossidato nel fegato in due fasi successive (10) e in minor misura nello stomaco, reni, polmoni e muscoli. Nella prima fase avviene una reazione di ossidazione mediata da un enzima citoplasmatico, l'alcol deidrogenasi, che trasforma l'etanolo in acetaldeide. Successivamente, nella seconda fase, avviene un'altra reazione di ossidazione da parte dell'aldeide deidrogenasi, che trasforma l'acetaldeide in acido acetico (2).

L'aumento della concentrazione di etanolo nel flusso sanguigno porta alla saturazione degli enzimi coinvolti con il metabolismo di questa sostanza. Esistono diversi enzimi deputati alla metabolizzazione dell'alcol; tra questi occorre citare la catalasi presente nei perossisomi, e il citocromo P450 nei microsomi (10, 24, 25). L'etanolo, a causa della sua solubilità, non si lega né alle proteine plasmatiche né a nessun tessuto, anzi entra rapidamente nel flusso sanguigno materno e per diffusione facilitata attraversa la barriera ematoencefalica e la placenta (26-28), e da qui si distribuisce al sistema circolatorio fetale (29). Pochi minuti dopo l'assunzione di una bevanda alcolica la concentrazione alcolemica nel sangue del feto e nel fluido amniotico è simile a quella della madre (4). A differenza dell'adulto, il feto non può metabolizzare l'alcol, poiché privo degli enzimi atti a questo compito. Di conseguenza, l'etanolo, ma soprattutto i suoi metaboliti come l'acetaldeide (10) si accumulano nel sistema nervoso e in altri organi, come il fegato, alterandone lo sviluppo (2, 25).

## Etanolo e il sistema nervoso

Ultimamente, la risonanza magnetica nucleare è stata utilizzata per studiare in individui esposti precocemente all'etanolo le anomalie a livello cerebrale indotte da questa sostanza. Da questi studi è emersa una riduzione globale del volume cerebrale; in particolare le aree più colpite sono la corteccia prefrontale, il cervelletto e le strutture subcorticali e il sistema limbico in generale (30).

L'etanolo è considerato una sostanza stimolante, ma in realtà dal punto di vista farmacologico è stato classificato come un deprimente del sistema nervoso centrale. Gli effetti deprimenti dell'alcol sono i principali responsabili dell'effetto euforizzante e della disinibizione del comportamento (31). A dosi moderate provoca effetti ansiolitici, innalzamento della soglia del dolore e del freddo, aumento della componente inibitoria, una deplezione dei riflessi nocicettivi ed eccitatori e una riduzione della coordinazione motoria. A dosi tossiche porta

all'offuscamento della memoria, del giudizio, riduce i tempi di reazione e altera la percezione del pericolo. L'abuso cronico di alcol è mutagenico e carcinogenico (10, 25, 32) ed è associato all'induzione di varie patologie (25, 33, 34) i cui meccanismi d'insorgenza ancora non sono noti (25, 35).

Un effetto indiretto dell'alcol è l'ipossia fetale che potrebbe essere dovuta ad un danno indotto da questa sostanza sulla placenta e probabile causa del ritardo mentale, caratteristico degli individui affetti da FAS (36, 37). La placenta, è essenziale per il metabolismo e crescita fetale, trasporta tutte le sostanze nutritive ed elimina anidride carbonica e metaboliti tossici. La placenta produce normalmente specie reattive all'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS), ma questa produzione in caso di patologie, come preeclampsia, diabete pre-gestazionale (38) o consumo di alcol (39), è notevolmente incrementata. L'assenza di ossigeno nel cervello del feto potrebbe essere dovuta alla diminuzione di flusso sanguigno al cordone ombelicale (probabilmente regolato dall'ossido nitrico (NO) i cui livelli di produzione sono ridotti in seguito dell'esposizione all'alcol) (27) e all'aumento dello stress ossidativo nei villi della placenta (40). È stato osservato che l'etanolo somministrato in forma acuta inibisce i recettori NMDA (N-metil-D aspartato) (41). In forma cronica causa una regolazione adattativa di questi stessi recettori nella corteccia cerebrale e nell'ippocampo, e un aumento di vulnerabilità alla risposta citotossica indotta dal glutammato (esotossicità indotta) (41, 42), ciò potrebbe spiegare l'ipereccitabilità osservabile durante i fenomeni di astinenza (43). L'aumento del flusso di calcio attraverso i recettori NMDA potenzierebbe ulteriormente la produzione dei ROS nel cervello e nel fegato (25, 44-46). In età adulta, l'abuso di alcol sembrerebbe essere responsabile della neurodegenerazione di popolazioni neuronali in diverse aree cerebrali, soprattutto dell'ippocampo (25, 47), e di conseguenza potrebbe interferire con i processi di apprendimento e memoria (10). La morte dei neuroni sarebbe dovuta ad una disregolazione dei fattori di crescita e in questo caso l'alcol sarebbe il diretto responsabile della morte dei neuroni (48-50).

## Neurotrofine e i fattori trofici: caratteristiche generali

Le neurotrofine sono delle molecole segnale appartenenti alla vasta famiglia dei fattori di crescita, della quale fanno parte l'NGF (*Nerve Growth Factor*) e il BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor*), NT-3 (neurotrofina 3), NT4-5 e NT-6 (35, 51, 52). Questi polipeptidi influenzano la sopravvivenza e lo sviluppo dei neuroni del sistema nervoso centrale e periferico (53), sono prodotte e rilasciate da vari tipi cellulari localizzati sia nel sistema nervoso (centrale e periferico), sia nel sistema endocrino e immunitario (35, 50, 54).

È stato dimostrato che l'assunzione cronica e/o acuta di etanolo può alterare la sintesi e il rilascio di neurotrofine come l'NGF e il BDNF (49,50). Questa stessa modificazione viene riscontrata anche nelle donne che durante la gravidanza e/o l'allattamento hanno fatto uso di bevande alcoliche causando l'insorgenza di FASD nel nascituro (36).

L'NGF fu il primo fattore di crescita ad essere scoperto e fu purificato la prima volta dalle ghiandole salivari di topi maschi (52, 55, 56). Questa proteina nella forma matura pesa 26 kDa (52) ed è prodotta dai neuroni colinergici, GABAergici, cellule cromaffini, oltre che dalle cellule del sistema immunitario ed endocrino (51, 52, 56).

Il BDNF fu purificato la prima volta dal cervello di maiale come un fattore di sopravvivenza e mantenimento dei neuroni sensoriali, dei gangli della retina, dei neuroni colinergici e motori spinali e dopaminergici (52, 57, 58). È una proteina omodimerica e pesa 28 kDa, è formato da 2 foglietti  $\beta$  antiparalleli, contenenti un cluster di cisteina (59). La produzione di BDNF nell'ippocampo e nella corteccia è fondamentale per consentire la plasticità sinaptica, inoltre rafforza o demolisce le connessioni neuronali (con conseguente aumento o diminuzione della

formazione di sinapsi e spine dendritiche) facilitando la sintesi e il consolidamento di nuovi ricordi (tramite il meccanismo del potenziamento a lungo termine) (52, 60) e i processi di apprendimento e memoria (61). Il BDNF è coinvolto anche con disturbi psichiatrici come depressione, stress, ansia e abuso di droghe (60).

Durante l'embriogenesi e l'organogenesi, le neurotrofine promuovono la sopravvivenza, la differenziazione neuronale, stimolano la crescita assonale, partecipano alla formazione delle sinapsi e contrastano la morte per apoptosi di sottopopolazioni neuronali specifiche (62). La sopravvivenza neuronale sembra dipenda non da un singolo fattore di crescita ma da fattori multipli, che possono appartenere alla stessa o a diverse famiglie di fattori di crescita (63). I fattori neurotrofici interagiscono con proteine recettoriali transmembranalmente dotate di un dominio extracellulare a cui si legano i fattori trofici e di un dominio citosolico sede dell'attività regolatoria e catalitica tirosinchinasica (64). I recettori dell'NGF e del BDNF appartengono alla classe dei recettori Trk (*Tropomyosin-kinase receptors*), mentre il p75 alla classe dei TNFr (*Tumor Necrosis Factor receptors*). L'NGF si lega al TrkA, il BDNF e l'NT-4 al TrkB, l'NT-3 al TrkC (52, 58, 65). Le neurotrofine si legano a un tipo specifico di recettore Trk, ma tutte possono anche legarsi al p75. Questo recettore aumenterebbe la possibilità della neurotrofina di legarsi al suo specifico recettore. Tutti i meccanismi mediati dai recettori (differenziazione, sopravvivenza, morte cellulare, infiammazione) sono ovviamente correlati all'attivazione dei recettori Trk e p75, ma anche a tutti i percorsi intracellulari che si innescano e sono ad essi associati. Il dominio citoplasmatico dei Trk contiene molte tirosine che fanno da substrato per la fosforilazione del recettore stesso. Quando avviene il legame tra neurotrofina e recettore i residui di tirosina vengono fosforilati; si forma così il core del sito di legame per proteine adattatrici ed enzimi che mediano la cascata di segnale intracellulare. I principali percorsi intracellulari attivati dai recettori Trk sono Ras, PI3-chinasi (66), PLC- $\gamma$ 1 e i loro effettori successivi (65). La risposta attivata dal legame tra ligando (fattore di crescita) e il suo recettore (Trk e/o p75) giunge ai neuroni tramite meccanismi paracrini e autocrini (62).

## Modelli animali di FASD

I roditori sono stati ampiamente utilizzati come modelli efficaci di esposizione prenatale all'alcol per comprendere in che modo questa sostanza possa indurre alterazioni all'organismo sia durante la fase embrionale, l'adolescenza e l'età adulta. Il ciclo vitale breve di questi animali si presta bene allo studio degli effetti dell'alcol poiché hanno un periodo di crescita e riproduzione relativamente rapido, ed è dunque possibile avere più generazioni in breve tempo. Se l'alcol viene somministrato nei 10 giorni finali della gestazione murina, equivalente al terzo periodo di gestazione umana una fase di elevata vulnerabilità ai danni dell'alcol (67-69) si assiste ad una cospicua riduzione delle cellule neurali a causa di anomalie nella proliferazione e nella sopravvivenza delle cellule neurali progenitrici e della glia (70). In generale, l'effetto globale è la riduzione del volume cerebrale della prole esposta precocemente all'etanolo (71).

Gli studi animali su FASD hanno dimostrato come i deficit di attenzione, l'iperattività (72, 73), l'aumento della risposta agli stimoli sensoriali (74) sono il risultato dell'esposizione prenatale all'alcol. Naassila *et al.* hanno intossicato ratti Wistar tramite inalazione di vapore di etanolo dimostrando che alcune regioni del cervello sono più sensibili di altre agli effetti dell'etanolo (75). L'esposizione cronica all'etanolo modifica l'espressione del gene NOS1 (ossido nitrico sintasi di tipo 1), un enzima che sintetizza, a partire dalla L-arginina, l'ossido nitrico (NO) (76), un neurotrasmettitore prodotto in risposta all'attivazione dei recettori NMDA (77). È stato dimostrato che non tutte le aree cerebrali sono sensibili all'alcol alla stessa maniera, infatti, nell'ippocampo i livelli mRNA codificanti per NOS1 diminuiscono dopo

l'esposizione cronica all'etanolo, mentre si assiste all'incremento di sintesi di NOS1 nello striato ma non nella corteccia frontale. Questo dimostra che l'ippocampo è molto più sensibile all'etanolo rispetto alle altre aree cerebrali analizzate. Ancora non è noto quale sia la quantità di etanolo che regoli l'espressione di NOS1. Probabilmente l'esposizione cronica all'alcol potrebbe deregolare la sintesi di NOS1 durante le fasi pre e post-trascrizionali, oppure il suo assemblaggio enzimatico. I risultati suggeriscono che NOS1 giochi un ruolo fondamentale nel determinare la tolleranza, la dipendenza e l'astinenza all'etanolo e dunque potrebbe essere sfruttato come bersaglio terapeutico per lo sviluppo di farmaci per la cura dell'intossicazione e la dipendenza da alcol (78).

Dati sperimentali provenienti da primati, soprattutto macachi, mostrano come gli effetti dell'alcol prima della nascita risultano tossici già a dosi moderate (equivalenti a circa due bicchieri al giorno per una donna). Nei primati, è stato dimostrato che gli effetti più gravi, come aborti o alterazioni comportamentali o strutturali, sono dovuti a una somministrazione eccessiva di etanolo prima della nascita (maggiore di circa 200 mg/dL), oppure quando il feto in fase di sviluppo è stato esposto sia a questa sostanza sia a stress prenatale (79). I dati ottenuti dagli animali impieganti nella sperimentazione e quelli provenienti dagli uomini hanno mostrato come a causa delle predisposizioni genetiche alcuni individui sono molto più suscettibili di altri ai danni indotti dall'esposizione prenatale dell'etanolo (80). La ricerca sui primati, se pur notevolmente più complessa e economicamente dispendiosa rispetto a quella effettuata sui roditori, sembra essere quella che più si avvicina a chiarire i meccanismi tossici indotti dal consumo di etanolo durante la gestazione (81). È stata posta l'attenzione anche sugli effetti che il consumo di etanolo produce nella madre. I comportamenti materni sono stati studiati utilizzando i ratti (82). I ricercatori suggeriscono che l'alterazione del comportamento della prole possa essere dovuto ad un cambiamento del comportamento materno a seguito dell'ingestione prolungata di alcol, oppure ad effetti sinergici dati dagli effetti teratogeni e anomalie nel comportamento della gestante. Il comportamento materno alterato potrebbe essere dovuto a cambiamenti nel cervello oppure dei livelli degli ormoni (81, 83).

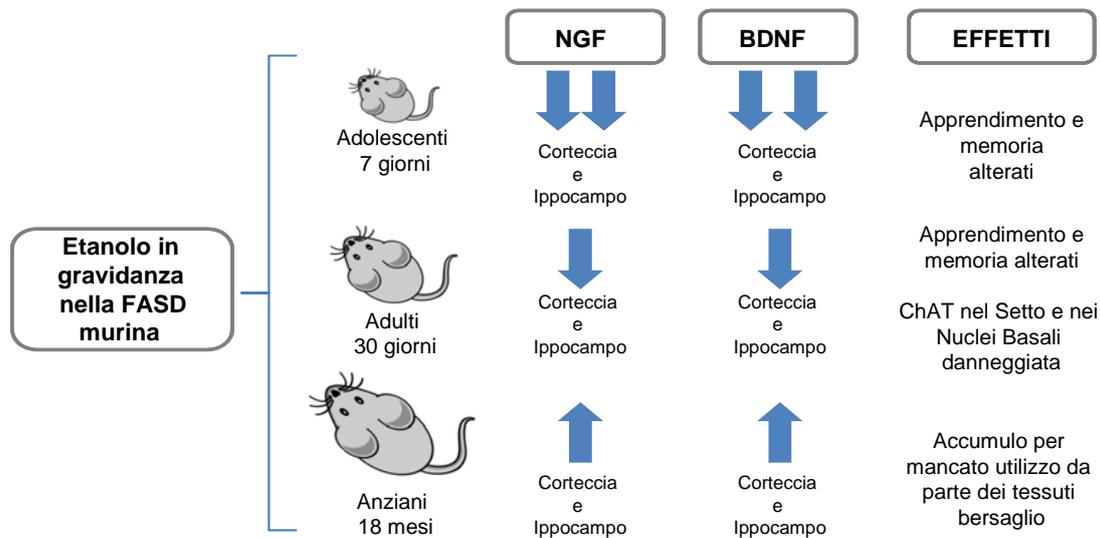
## **Interazione tra etanolo e le neurotrofine in caso di FASD**

Negli ultimi anni, a causa del crescente consumo di alcol e dei problemi ad esso correlati, i lavori scientifici che mettono in relazione questa sostanza e i suoi effetti, a livello metabolico e organico, sono notevolmente aumentati. I danni da alcol possono essere dovuti a diversi meccanismi cellulari (84) e possono colpire ogni tessuto o organo. L'esposizione alcolica in gravidanza è neurotossica per i neuroni corticali, neuroni ipotalamici, neuroni ippocampali e granulari del giro dentato, neuroni del bulbo olfattivo (84, 85) e soprattutto per le cellule del Purkinje (68, 86); queste ultime sono particolarmente vulnerabili alla neuropatologia da alcol come è emerso da studi condotti sull'uomo (87) e sui roditori (88). Miller e collaboratori hanno dimostrato come, nei ratti adolescenti e adulti, la neurogenesi dei precursori dei neuroni granulari dell'ippocampo sia ridotta o inibita a causa dell'esposizione precoce all'etanolo. Un meccanismo simile potrebbe avvenire in gravidanza durante lo sviluppo ippocampale (84). I danni da alcol possono essere dovuti a diversi meccanismi cellulari (89) e possono colpire ogni tessuto o organo. Uno di questi meccanismi comporta l'alterazione nella sintesi dei fattori trofici. È infatti stato accertato che l'alcol interferisce con il normale sviluppo cerebrale riducendo il numero di cellule che sintetizzano le neurotrofine e compromettendo l'utilizzazione delle stesse. Nei ratti è stata osservata una diminuzione della vitalità delle cellule che producono

BDNF (90) La riduzione di questa neurotrofina potrebbe essere dovuta ad una diminuzione del numero di cellule che sintetizzano BDNF oppure ad anomalie durante la trascrizione.

La nostra attività di ricerca si è appunto concentrata sulla comprensione della relazione che intercorre tra somministrazione cronica nei topi femmine gravide e gli effetti che l'alcol produce nella sintesi delle neurotrofine nella prole.

Il nostro campo di studi riguarda in particolar modo le interazioni tra l'etanolo e sistema nervoso centrale. I tessuti di indagine analizzati nei nostri esperimenti sono l'ippocampo, l'ipotalamo, la corteccia, il fegato, i reni, gli stessi che risultano maggiormente colpiti e alterati nei consumatori abituali d'alcol o negli individui affetti da FASD. Alle mamme gravide è stato somministrato etanolo per via orale sotto forma di soluzione alcolica all'11% oppure sotto forma di vino rosso a stessa concentrazione alcolica per tutto il periodo della gravidanza e in parte durante l'allattamento per imitare un consumo cronico continuo di alcol nella donna mamma alcolista. Il vino rosso è stato considerato perché soprattutto nei paesi dell'area mediterranea rappresenta la bevanda alcolica più comune consumata abitualmente. Dai risultati ottenuti (Figura 1) abbiamo dimostrato che negli animali giovani (7 giorni) esposti all'etanolo prima della nascita i fattori di crescita nell'ippocampo e nella corteccia diminuiscono a causa della loro minor sintesi (50); fenomeno simile si osserva negli animali adulti (30 giorni) (45). Questo cambiamento nella sintesi delle neurotrofine, nel gruppo trattato con etanolo, è anche associato ad una diminuzione delle cellule positive alla ChAT (acetilcolin-transferasi) sia nel setto e sia nei Nuclei Basali (50). Tuttavia, nei topi anziani (18 mesi) esposti in fase prenatale e durante l'allattamento ad etanolo si osserva un aumento della presenza della proteina NGF e della proteina BDNF nell'ippocampo e corteccia (91).



**Figura 1. Effetti su NGF e BDNF dovuti alla somministrazione di etanolo durante la gravidanza in relazione all'età della prole: diminuzione (freccia in basso) e aumento (freccia in alto)**

Questo dato è stato interpretato e discusso come un mancato utilizzo delle neurotrofine da parte dei tessuti dell'animale anziano. A sostegno di questa ipotesi ci sono dati anche nell'uomo che dimostrano come durante l'invecchiamento l'NGF e il BDNF tendono ad accumularsi per il mancato utilizzo da parte dei tessuti bersaglio nelle malattie neurodegenerative per la mancata

presenza e supporto dei recettori per l'NGF e/o il BDNF (50). Inoltre, abbiamo anche dimostrato come nella tiroide, nelle ghiandole surrenali e nei testicoli di topi anziani esposti all'etanolo durante la gravidanza la sintesi dell'NGF e del BDNF è aumentata. Perciò si ritiene che la somministrazione precoce di etanolo può indurre cambiamenti rilevanti nella sintesi delle neurotrofine anche nel sistema endocrino murino (dati ancora non pubblicati). La somministrazione acuta di etanolo potrebbe anche alterare l'espressione del mRNA per il BDNF in varie regioni del cervello associate allo sviluppo della dipendenza da alcol e altre sostanze d'abuso come la corteccia frontale, nucleo accumbens, nell'ippocampo, e nell'amigdala (92).

I dati ottenuti nei topi esposti prenatalmente al vino rosso sono in parte differenti a quelli esposti a soluzione alcolica normale. I risultati ottenuti dimostrano che a livello del sistema nervoso centrale l'effetto tossico nel topo risulta essere minore mentre in altri organi periferici bersaglio come il fegato l'effetto tossico dell'etanolo è simile. Tale effetto protettivo sui danni da etanolo del vino rosso a livello del sistema nervoso centrale (ma non per altri organi bersaglio come il fegato) è probabilmente da ricercare nei suoi stessi componenti (50). Questa bevanda, infatti, contiene elevate concentrazioni di sostanze con capacità antiossidante come polifenoli, tannini e antociani, tra cui il più noto è il resveratrolo, che potrebbero contribuire a limitare il danno indotto dall'etanolo (45, 50, 93). In ogni caso, l'unica considerazione da fare durante la gravidanza e l'allattamento è quella di smettere completamente di assumere bevande alcoliche di ogni tipo, anche quelle contenenti composti antiossidanti come il vino rosso. Tale considerazione di cessare il consumo di bevande alcoliche deve essere fatta anche per le donne che prevedono una gravidanza nel periodo precedente il concepimento.

## Bibliografia

1. Randall V, Cervenka J, Arday D, Hooper T, Hanson J. Prevalence of life-threatening conditions in children. *Am J Hosp Palliat Care* 2011;28(5):310-15.
2. Shankar K, Ronis MJ, Badger TM. Effects of pregnancy and nutritional status on alcohol metabolism. *Alcohol Res Health* 2007;30(1):55-9.
3. Wells PG, Callum GP, Chen CS. Oxidative stress in developmental origins of disease: teratogenesis, neurodevelopmental deficits, and cancer. *Toxicol Sci* 2009;108:4-18.
4. Painter A, Andrew D, Burd L. Fetal alcohol spectrum disorders- implications for child neurology. Part I: Prenatal exposure and dosimetry. *J Child Neurol* 2012;27(2):258-63.
5. Bosco C, Diaz E. Placental hypoxia and foetal development versus alcohol exposure in pregnancy. *Alcohol Alcohol* 2012;47(2):109-17.
6. Abel EL, Sokol RJ. Incidence of fetal alcohol syndrome and economic impact of FAS-related anomalies. *Drug Alcohol Depend* 1987;19(1):51-70.
7. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;302:999-1001.
8. Mancinelli R, Ceccanti M, Laviola G. Fetal alcohol spectrum disorders (FASD): from experimental biology to the search for treatment. *Neurosci Biobehav* 2007;31:165-7.
9. Ikonomidou C. Triggers of apoptosis in the immature brain. *Brain & Development* 2009;31:488-92.
10. Manzo-Avalos S, Saavedra- Molina A. Cellular and mitochondrial effects of alcohol consumption. *Int J Environ Res Public Health* 2010;7:4281-304.
11. Sardor GG, Smith DF, MacLeod PM. Cardiac malformations in the fetal alcohol syndrome. *J Pediatr* 1981;98:771-3.

12. Terrapon M, Schneider P, Friedli B. Aortic arch interruption type A with aortopulmonary fenestration in an offspring of chronic alcoholic mother ('fetal alcohol syndrome'). *Helv Paediatr Acta* 1977;32:141-8.
13. Famy C, Streissguth AP, Unis AS. Mental illness in adults with fetal alcohol syndrome or fetal alcohol effects. *Am J Psychiatry* 1998;155:552-4.
14. Kane CJM, Phelan KD, Drew PD. Neuroimmune mechanisms in fetal alcohol spectrum disorder. *Dev Neurobiol* 2012;72(10):1302-16.
15. Sampson PD, Streissguth AP, Bookstein FL, Little RE, Clarren SK, Dehaene P, Hanson JW, Graham JM Jr. Incidence of fetal alcohol syndrome and prevalence of alcohol-related neurodevelopmental disorder. *Teratology* 1997;56(5):317-26
16. O'Leary CM. 2004. Fetal alcohol syndrome: diagnosis, epidemiology, and developmental outcomes. *J Paediatr Child Health* 2004;40(1-2):2-7.
17. Streissguth AP, Sampson PD, Barr HM. Neurobehavioral dose-response effects of prenatal alcohol exposure in humans from infancy to adulthood. *Ann NY Acad Sci* 1989;562:145-58.
18. Abel EL, Hannigan, JH. Maternal risk factors in fetal alcohol syndrome: provocative and permissive influences *Neurotoxicol Teratol* 1995;17(4):445-62.
19. Miller SI, Del Villano BC, Flynn A, Krumhansl M. Interaction of alcohol and zinc in fetal dysmorphogenesis. *Pharmacol Biochem Behav* 1983;18(1):311-5.
20. De Nicoló S, Tarani L, Ceccanti M, Maldini M, Natella F, Vania A, Chaldakov GN, Fiore M. Effects of olive polyphenols administration on nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in the mouse brain. *Nutrition* 2013;29(4):681-7.
21. 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.
22. Wilsnack RW, Vongeltanz ND, Wilsnack SC, Harris TR. Gender differences in alcohol consumption and adverse drinking consequences: cross-cultural patterns. *Addiction* 2000;95(2):251-65.
23. Nolen-Hoeksema S. Gender differences in risk factors and consequences for alcohol use and problems. *Clin Psychol Rev* 2004;24:981-1010.
24. Deng XS, Deitrich RA. Putative role of brain acetaldehyde in ethanol addiction. *Curr Drug Abuse Rev* 2008;1(1):3-8.
25. Kruman I, Henderson I, Bergeson S. DNA damage and neurotoxicity of chronic alcohol abuse. *EBM* 2012; 237(7):740-1.
26. Streissguth AP, Landersman-Dwyer S, Martin JC, Smith DW. Teratogenic effects of alcohol in humans and laboratory animals. *Science* 1980;209(4454):353-61.
27. Jones PJ, Leichter J, Lee M. Placental blood flow in rats fed alcohol before and during gestation. *Life Sci* 1981;29(11):1153-9.
28. Miller MW. Effects of alcohol on the generation and migration of cerebral cortical neurons. *Science* 1986; 233(4770):1308-11.
29. Waltman, R., Iniquez, ES. Placental transfer of ethanol and its elimination at term. *Obstet and Gynecol* 1972;40(2):180-5.
30. Levi-Montalcini R, Aloe L, Alleva E. A role for nerve growth factor in nervous, endocrine and immune system. *Prog Neurol Endocrinol Immunol* 1990;3:1-10.
31. Agarwal DP, Goedde HW. Pharmacogenetics of alcohol metabolism and alcoholism. *Pharmacogenetics* 1992;2(2):48-62.
32. Kryston TB, Georgiev AB, Pissis P, Georgakilas AG. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutat Res* 2011;711(1-2):193-201.

33. Brooks PJ. DNA damage, DNA repair, and alcohol toxicity. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21(6):1073-82.
34. Harper C, Matsumoto I. Ethanol and brain damage. *Curr Opin Pharmacol* 2005;5(1):73-8.
35. Fiore M, Chaldakov GN, Aloe L. Nerve growth factor as a signaling molecule for nerve cells and also for the neuroendocrine-immune systems. *Rev Neurosci* 2009;20(2):133-45
36. Abel EL. Prenatal effects of alcohol. *Drug Alcohol Depend* 1984;14(1):1-10.
37. Abel EL. Prenatal effects of alcohol on growth: a brief overview. *Fed Proc* 1985;44(7):2318-22.
38. Webster RP, Roberts VH, Myatt L. Protein nitration in placenta: functional significance. *Placenta* 2008;29:985-94.
39. Ornoy A. Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy. *Reprod Toxicol* 2007;24(1):31-41.
40. Kay HH, Grindle KM, Magness RR. Ethanol exposure induces oxidative stress and impairs nitric oxide availability in the human placental villi: a possible mechanism of toxicity. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182(3):682-8.
41. Carpenter-Hyland EP, Chandler LJ. Adaptive plasticity of NMDA receptors and dendritic spines: implications for enhanced vulnerability of the adolescent brain to alcohol addiction. *Pharmacol Biochem Behav* 2007;86(2):200-8.
42. Krystal JH, Petrakis IL, Mason G, Trevisan L, D'Souza DC. N-methyl-D-aspartate glutamate receptors and alcoholism: reward, dependence, treatment, and vulnerability. *Pharmacol Ther* 2003;99(1):79-94.
43. Gulya K, Grant KA, Valverius P. Brain regional specificity and time-course of changes in the NMDA receptor-ionophore complex during ethanol withdrawal. *Brain Res* 1991;547(1):129-34.
44. Seitz HK, Stickel F. Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 2007;7(8):599-612.
45. Fiore M, Mancinelli R, Aloe L, Laviola G, Sornelli F, Vitali M, Ceccanti M. Hepatocyte growth factor, vascular endothelial growth factor, glial cell-derived neurotrophic factor and nerve growth factor are differentially affected by early chronic ethanol or red wine intake. *Toxicol Lett* 2009;188(3):208-13.
46. Sakaguchi S, Takahashi S, Sasaki T, Kumagai T, Nagata K. Progression of alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis: common metabolic aspects of innate immune system and oxidative stress. *Drug Metab Pharmacokinet* 2011;26(1):30-46.
47. Obeiner JA, Bouldin TW, Crews FT. Binge Ethanol exposure in adult rats causes necrotic cell death. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26(4):547-57.
48. Feng M J, Yan SE, Yan QS. Effects of prenatal alcohol exposure on brain-derived neurotrophic factor and its receptor tyrosine kinase B in offspring. *Brain Research* 2005;1042(2):125-32.
49. Aloe L. Alcohol intake during prenatal life affects neuroimmune mediators and brain neurogenesis. *Ann Ist Super Sanità* 2006;42(1):17-21.
50. Fiore M, Laviola G, Aloe L, di Fausto V, Mancinelli R, Ceccanti M. Early exposure to ethanol but not red wine at the same alcohol concentration induces behavioral and brain neurotrophin alterations in young and adult mice. *Neurotoxicology* 2009;30(1):59-71.
51. Aloe L. Rita Levi-Montalcini and the discovery of NGF, the first nerve cell growth factor. *Arch Ital Biol* 2011;149(2):175-81.
52. Allen SJ, Watson JJ, Shoemark KD, Barua NU, Patel NK. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration. *Pharmacol Ther* 2013;138(2):155-75.
53. Levi-Montalcini R. Nerve growth factor thirty-five years later. *EMBO J* 1987;6(5):1145-54.

54. Levi-Montalcini R, Aloe L, Alleva E. A role for nerve growth factor in nervous, endocrine and immune system. *Prog Neurol Endocrinol Immunol* 1990;3:1-10.
55. Aloe L, Alleva E, Bohm A, Levi-Montalcini R. Aggressive behavior induces release of nerve growth factor from mouse salivary gland into the bloodstream. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83(16):6184-7.
56. Aloe L, Chalidakov GN. Homage to Rita Levi-Montalcini, the queen of modern neuroscience. *Cell Biol Int* 2013; doi:10.1002/cbin.10098.
57. Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian *Brain*. *EMBO J* 1982;1(5):549-53.
58. Davis MI. Ethanol- BDNF interactions: Stil more questions than answers. *Pharmacol Ther* 2008;118(1):36-57.
59. Van Kesteren RE, Fainzilber M, Hauser G, van Minnen J, Vreugdenhil E, Smit AB, Ibáñez CF, Geraerts WP, Bulloch AG. Early evolutionary origin of the neurotrophin receptor family. *EMBO J* 1998;17(9):2534-42.
60. Hauser SR, Getachew B, Taylor ER, Tizabi Y. Alcohol induced depressive-like behavior is associated with a reduction in hippocampal BDNF. *Pharmacol Biochem Behav* 2011;100(2):253-8.
61. Aloe L, Alleva E, Fiore M. Stress and nerve growth factor: findings in animal models and humans. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;73(1):159-66.
62. Davies AM. Regulation of neuronal survival and death by extracellular signals during development. *EMBO J* 2003;22(11):2537-45.
63. Snyder JS, Kee N, Wojtowicz JM. Effects of adult neurogenesis on synaptic plasticity in the rat dentate gyrus. *J Neurophysiol* 2001;85(6):2423-31.
64. Ibáñez CF. Emerging themes in structural biology of neurotrophic factors. *Trends Neurosci* 1998;21(10):438-44.
65. Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem* 2003;72:609-42.
66. Sornelli F, Lambiase A, Mantelli F, Aloe L. NGF and NGF-receptor expression of cultured immortalized human corneal endothelial cells *Mol Vis* 2010;16:1439-47.
67. West JR. Fetal alcohol-induced brain damage and the problem of determining temporal vulnerability: a review. *Alcohol Drug Res* 1987;7(5-6):423-41.
68. Napper RMA, West JR. Permanent neuronal cell loss in the cerebellum or rats exposed to continuous low blood alcohol levels during the brain growth spurt: a stereological investigation. *J Comp Neurol* 1995;362(2):283-92.
69. Maier SE, Chen WJ, Miller JA *et al*. Fetal alcohol exposure and temporal vulnerability regional differences in alcohol-induced microcephaly as a function of the timing of binge-like alcohol exposure during rat brain development. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21:1418-28.
70. Cameron RS, Rakic P. Identification of membrane proteins that comprise the plasmalemmal junction between migrating neurons and radial glial cells. *J Neurosci* 1994;14:3139-55.
71. O'Leary-Moore SK, Parnell SE, Lipinski RJ, Sulik KK. Magnetic resonance-based imaging in animal models of fetal alcohol spectrum disorder. *Neuropsychol Rev* 2011;21(2):167-85.
72. Nanson, JL, Hiscock M. Attention deficits in children exposed to alcohol prenatally. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14(5):656-61.
73. O'Malley KD, Nanson J L. Clinical implications of a link between fetal alcohol spectrum disorder and attention-deficit hyperactivity disorder. *Can J Psychiatry* 2002;47(4):349-54.
74. Schneider ML, Moore CF, Gajewski LL, Larson JA, Roberts AD, Converse AK. Sensory processing disorder in a primate model: evidence from a longitudinal study of prenatal alcohol and prenatal stress effects. *Child Dev* 2008;79(1):100-13.

75. Vilpoux C, Warnault V, Pierrefiche O, Daoust M, Naassila M. Ethanol-sensitive brain regions in rat and mouse: a cartographic review, using immediate early gene expression. *Alcohol Clin Exp Res* 2009;33(6):945-69.
76. Forstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwartz P, Gath I, Kleinert H, Nitric oxide synthase isozymes: characterization, purification, molecular cloning and functions. *Hypertension* 1994;23(6):1121-31.
77. Garthwaite J, Boulton CL. Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol* 1995;57:683-706.
78. Naassila M, Pierrefiche O, Beaugé FJ, Sébire N, Daoust M. Chronic ethanol exposure differentially regulates NOS1 mRNA levels depending on rat brain area. *Neurosci Lett* 2003;6:338(3):221-4.
79. Schneider ML, Colleen F, Adkins M, Adkins MM. The effects of prenatal alcohol exposure on behavior: rodent and primate studies. *Neuropsychol Rev* 2011;21(2):186-203.
80. Schneider ML, Roughton EC, Lubach GR. Moderate alcohol consumption and psychological stress during pregnancy induces attention and neuromotor impairments in primate infants. *Child Dev* 1997;68(5):747-59.
81. Kelly SJ, Goodlett CR, Hannigan JH. Animal models of fetal alcohol spectrum disorders: impact of the social environment. *Dev Disabil Res Rev*. 2009;15(3):200-8.
82. Fleming AS, O'Day DH, Kraemer GW. Neurobiology of mother-infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. *Neurosci Biobehav Rev* 1999;23(5):673-85.
83. Wilson JH, Kelly SJ, Wilson MA. 1996. Early postnatal alcohol exposure in rats: maternal behavior and estradiol levels. *Physiol Behav* 1996;59(2):287-93.
84. Miller MW. Generation of neurons in the rat dentate gyrus and hippocampus: Effects of prenatal and postnatal treatment with ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* 1995;19(6):1500-9.
85. Bonthius DJ, Bonthius NE, Napper RMA, West JR. Early postnatal alcohol exposure acutely and permanently reduces the number of granule cells and mitral cells in the rat olfactory bulb: a stereological study. *J Comp Neurol* 1992;324(4):557-66.
86. Pierce DR, Goodlett CR, West JR. Differential neuronal loss following early postnatal alcohol exposure. *Teratology* 1989;40(2):113-26.
87. Riikonen R, Salonen I, Partanen K, Verho S. Brain perfusion SPECT and MRI in foetal alcohol syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1999;41(10):652-9.
88. Barnes DE, Walker DW. Prenatal ethanol exposure permanently reduces the number of pyramidal neurons in rat hippocampus. *Brain Res* 1981;227(3):333-40.
89. West JR, Chen W-JA, Pantazis NJ. Fetal alcohol syndrome: the vulnerability of the developing brain and possible mechanisms of damage. *Metab Brain Dis* 1994;9(4):291-322.
90. Mitchell JJ, Paiva M, Moore DB, Walker DW, Heaton MB. A comparative study of ethanol, hypoglycemia, hypoxia and neurotrophic factor interactions with fetal rat hippocampal neurons: a multi-factor in vitro model for developmental ethanol effects. *Dev Brain Res* 1998;105:241-50.
91. Ceccanti M, Mancinelli R, Tirassa P, Laviola G, Rossi S, Romeo M, Fiore M. Early exposure to ethanol or red wine and long-lasting effects in aged mice. A study on nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, hepatocyte growth factor, and vascular endothelial growth factor. *Neurobiol Aging* 2012;33(2):359-67.
92. Raivio N, Tiraboschi E, Saarikoski ST, Castrén E, Kiianmaa K. Brain-derived neurotrophic factor expression after acute administration of ethanol. *Eur J Pharmacol*. 2012;15:687(1-3):9-13.
93. Sun AY, Simonyi A, Sun Gy. The "French Paradox" and beyond: the neuroprotective affects of polyphenols. *Free Radic Biol Med* 2002;32(4):314-8.

## ALCOL E ORMONI: DIFFERENZE DI GENERE

Carolina Ferranti, Luca Palleschi, Marco Famele, Carmelo Abenavoli, Rosa Draisci, Rosanna Mancinelli  
Centro Nazionale Sostanze Chimiche, Istituto Superiore di Sanità, Roma

### Introduzione

Secondo il rapporto dell'Organizzazione Mondiale della Sanità pubblicato nel 2011, il consumo di alcol è responsabile di circa 2,5 milioni di decessi all'anno nel mondo. Le conseguenze negative dell'alcol non riguardano esclusivamente l'individuo ma a seguito degli alti costi necessari per il trattamento delle patologie alcol-indotte, quali ad esempio le pancreatiti, le malattie del fegato e le neoplasie, e dei danni dovuti ad incidenti e a comportamenti antisociali, le ripercussioni alcol-correlate incidono pesantemente sull'intera comunità (1). Nutt *et al.* nel 2010 (2) brillantemente dimostrarono con modelli matematici complessi che il danno sociale da alcol è di gran lunga superiore a quello dovuto a tutte le altre più diffuse sostanze d'abuso.

Fino a 20 anni fa, si riteneva che i problemi alcol-correlati fossero pressoché peculiari della popolazione maschile e che le donne ne fossero affette in misura molto limitata. In anni più recenti però i rapidi e globali cambiamenti sociali e di stili di vita hanno portato ad un uso sempre più ampio dell'alcol anche nella popolazione femminile e quindi allo sviluppo di nuove problematiche e alla necessità di affrontarle in un'ottica di genere.

Le ricerche condotte da vari autori concordano sull'evidenza di significative differenze di genere nei problemi alcol-correlati. Tali differenze sono correlate alle modalità d'uso di alcol, alla quantità di alcol consumato, al metabolismo dell'alcol, alle conseguenze fisiologiche e comportamentali, e ai meccanismi patogenetici molecolari sottostanti. Un tema di ricerca che negli ultimi anni sta presentando sviluppi significativi è la interazione alcol-ormoni in particolare ormoni sessuali. Ad esempio, il sesso maschile rappresenta di per sé un importante fattore di rischio di insorgenza della dipendenza da alcol proprio a causa del ruolo diretto rappresentato dal testosterone che è uno steroide androgeno anabolizzante che esercita effetti psicoattivi, tra i quali la ricompensa, l'euforia (3) e il comportamento aggressivo (4, 5). Gli ormoni sessuali steroidei si suddividono in ormoni androgeni, estrogeni e progestinici. Essi sono prodotti non solo nelle gonadi ma anche nella corteccia della ghiandola surrenale e nel tessuto placentare. La loro secrezione è regolata da parte di una gerarchia di ormoni ipotalamici e ipofisari. L'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH) è sintetizzato e rilasciato dai neuroni nell'ipotalamo. Il GnRH induce la secrezione dell'ormone luteinizzante (LH) e dell'ormone follicolo-stimolante (FSH) dalla ghiandola pituitaria anteriore. Questi due ormoni regolano i livelli di ormoni sessuali derivanti dal colesterolo e prodotti nei testicoli maschili, nelle ovaie femminili e in piccole quantità nelle ghiandole surrenali. Il testosterone è l'ormone sessuale maschile e ha proprietà anabolizzanti, quali la crescita del tessuto muscolare, delle ossa e dei peli del corpo. Il testosterone è ridotto a diidrotestosterone (DHT) che aumenta la sua affinità per il recettore degli androgeni. L'estrone e l'estradiolo influenzano le funzioni riproduttive e sessuali negli uomini e nelle donne. Il progesterone interviene principalmente regolando il ciclo mestruale e durante la gravidanza.

L'alcol interferisce con l'attività degli ormoni sessuali, promuovendo ad esempio l'aromatizzazione degli androgeni nel processo di biosintesi che conduce alla formazione degli estrogeni (6) e influenzando pertanto il rapporto androgeni/estrogeni. Per quanto riguarda i

progestinici, uno studio (7) ha evidenziato una correlazione tra gli effetti di intossicazione acuta da alcol e i livelli plasmatici di progesterone e allopregnanolone (un potente neurosteroido endogeno, metabolita del progesterone) negli adolescenti di sesso femminile, sia nella fase follicolare che luteale del ciclo mestruale. Poiché l'alcol e l'allopregnanolone modulano positivamente i recettori di tipo A per l'acido gamma-aminobutirrico (GABA-A), tali studi hanno attribuito all'allopregnanolone un importante ruolo negli effetti ansiolitici e gratificanti dell'alcol dovuto sia tramite azione diretta, sia tramite modifica della sensibilità dei recettori GABA-A all'alcol.

## Effetti degli ormoni sessuali sullo sviluppo cerebrale

Gli ormoni sessuali esercitano sul cervello umano sia effetti permanenti (di tipo organizzativo) che transitori (di tipo attivazionale), per i quali il periodo sensibile dura tutta la vita. Durante lo sviluppo gli ormoni gonadici organizzano in modo permanente il differenziamento dei centri nervosi che controllano i comportamenti specifici di ciascun sesso (effetto organizzativo), mentre nell'adulto gli ormoni gonadici agiscono sui centri nervosi sessualmente dimorfici per attivare i comportamenti sessualmente specifici (effetto attivazionale) (8, 9). Ricerche recenti hanno proposto che la precoce esposizione agli ormoni sessuali inneschi neuro-adattamenti strutturali (di tipo organizzativo) che influenzano le risposte cellulari e comportamentali agli ormoni sessuali dell'adulto. Tali neuro-adattamenti si ritiene che giochino un ruolo fondamentale anche nella sensibilizzazione del sistema di ricompensa del cervello e quindi anche nelle proprietà di rinforzo dell'alcol e nella modulazione del comportamento di abuso alcolico. Una combinazione di esposizione prenatale a ormoni sessuali e alcol durante le prime fasi dello sviluppo può pertanto contribuire significativamente al rischio per il nascituro di sviluppare danni neuro-comportamentali e di incorrere nell'alcol-dipendenza nel corso della vita (10).

Il rapporto tra ormoni sessuali e il consumo alcolico è bidirezionale: i livelli degli ormoni sessuali influenzano l'assunzione volontaria di alcol e gli effetti correlati e, a sua volta, il consumo di alcol altera i livelli degli ormoni sessuali. Gli studi clinici per valutare la interrelazione tra ormoni sessuali e alcol devono essere interpretati con particolare attenzione, poiché entrano in gioco numerosi fattori quali l'età, il sesso e il grado di maturazione sessuale dei soggetti studiati, i ritmi circadiani e stagionali, la variabilità individuale. È stato osservato comunque che in studenti universitari maschi sani livelli di testosterone più elevati sono associati ad un aumento del consumo di alcol (11). I maschi con elevati livelli di testosterone hanno maggiore probabilità di ubriacarsi più frequentemente, di praticare il *binge drinking*, e di sviluppare dipendenza da alcol rispetto ai maschi con bassi livelli di testosterone (12-14). In passato, la maggior parte degli studi alcologici riguardava individui di sesso maschile, ma oggi sono in fase di sviluppo ricerche di genere che evidenziano l'elevata vulnerabilità della donna agli effetti dannosi dell'alcol. Nelle donne, infatti, si riscontra maggiore suscettibilità allo sviluppo di patologie alcol-correlate tra le quali anche quelle di interesse endocrinologo (sindrome di Cushing), quelle legate all'apparato riproduttivo come ritardo del menarca, irregolarità mestruali, riduzione della fertilità dovuta anche ad anovulazione, disfunzioni della fase luteinica, amenorrea, e menopausa precoce, alterato metabolismo osseo (osteoporosi), e insorgenza di tumori in particolare di carcinoma mammario. Le modificazioni dell'assetto ormonale dovute all'esposizione ad alcol sembrano avere un ruolo significativo nello sviluppo di tali patologie.

## Effetti dell'alcol sugli ormoni sessuali nella donna

Lo studio degli effetti dell'alcol sui livelli degli ormoni sessuali nella donna è fortemente complicato dalle variazioni fisiologiche di tali ormoni che sono legate alle fasi del ciclo vitale della donna (prima del menarca, in età fertile e dopo la menopausa) nonché alle fasi del ciclo mestruale. Il quadro ormonale è poi ulteriormente condizionato dall'assunzione per via orale o trans-dermica di contraccettivi e dall'utilizzo della terapia ormonale sostitutiva in donne dopo la menopausa. Per questo motivo, i risultati delle ricerche volte a valutare le correlazioni tra consumo di alcol e livelli degli ormoni androgeni, estrogeni e progestinici risultano spesso difficilmente comparabili. Tale fenomeno è da imputarsi non solo ai fattori di cui sopra ma anche a tutta una serie di condizioni di cui occorre tenere conto, tra i quali risulta fondamentale la conoscenza dell'eventuale esposizione dei soggetti studiati ad altre sostanze chimiche, lo stile di vita, e modalità e durata di esposizione alcolica.

Le ricerche sperimentali evidenziano che l'alcol induce un incremento della concentrazione plasmatica di estradiolo sia in donne in età fertile (15-17) che in donne dopo la menopausa sottoposte a terapia ormonale sostitutiva (18). Questo fenomeno si accompagna ad un decremento dei livelli plasmatici di estrone (18). Gli stessi autori attribuiscono l'innalzamento dei livelli plasmatici di estradiolo al processo di degradazione enzimatica dell'alcol nel fegato, che determina un cambiamento nel rapporto tra le due forme del coenzima nicotinammide adenin dinucleotide (NAD) con aumento della forma ridotta NADH (19). Tale sbilanciamento rallenta la conversione dell'estradiolo ad estrone, con conseguente accumulo nel plasma dell'estradiolo. Conclusioni simili sono state raggiunte da altri autori (20) che hanno evidenziato in donne in età fertile un'associazione positiva tra il consumo moderato di alcol e i livelli plasmatici di estradiolo, estrone e deidroepiandrosterone solfato. L'aumento dei livelli plasmatici di estradiolo è stato inoltre evidenziato in uno studio condotto su donne in età fertile che assumevano contraccettivi per via orale (21, 22); gli stessi autori hanno ipotizzato l'azione dell'enzima 17 $\beta$ -idrossisteroide-deidrogenasi tipo 2, indotto dai progestinici sintetici contenuti in alcuni contraccettivi orali. Altri autori (23) non hanno al contrario evidenziato alcuna correlazione tra esposizione ad alcol e livelli plasmatici di estrogeni. Katsouyanni *et al.* 1991, Hankinson *et al.* 1995 e Nagata *et al.* 1997 (24, 25, 26) hanno evidenziato in donne dopo la menopausa un'associazione positiva tra consumo moderato di alcol ed estrogeni (estradiolo, estrone) e un rapporto estradiolo/testosterone più elevato rispetto a donne non bevitrici. L'ipotesi è che questo effetto sia dovuto all'aumento della velocità di aromatizzazione del testosterone indotta dall'etanolo. Altri autori (18) al contrario non riportano cambiamenti significati nei livelli plasmatici dell'estradiolo in donne bevitrici in età post-menopausa. Purohit *et al.* 1998 (27), valutano l'incongruenza dei risultati ottenuti dagli studi riportati in letteratura, mettendo in luce alcuni punti critici che possono esserne la causa quali il tipo di bevanda somministrata (vino, birra, liquori), il tipo di esposizione e i protocolli sperimentali. Studi più recenti (28) hanno evidenziato in donne in età fertile e dopo la menopausa un'associazione positiva tra consumo di alcol e livelli sierici di androgeni sia di origine surrenale (deidroepiandrosterone solfato, androstenedione e testosterone) che di origine ovarica (androstenedione e testosterone) suggerendo un'azione dell'alcol sulla genesi degli steroidi in entrambi i tipi di ghiandola. La concentrazione delle globuline leganti gli ormoni sessuali (SHBG) è risultata inversamente associata al consumo di alcol solo nelle donne dopo la menopausa. Non è stata rilevata alcuna correlazione tra estradiolo e consumo di alcol in entrambe le popolazioni studiate. Gli autori suggeriscono quale possibile motivazione per la mancata rilevazione dell'associazione tra estradiolo e consumo di alcol, l'effettuazione della misurazione dei livelli di estradiolo in un solo ciclo mestruale.

Anche gli studi osservazionali relativi all'effetto dell'alcol sugli ormoni androgeni in donne in età fertile hanno portato a risultati diversi: infatti alcuni hanno evidenziato una correlazione positiva tra la concentrazione di testosterone e testosterone libero (29), androstenedione, DHEA e DHEAs (23), SHBG (30) e livelli di estrogeni (23, 31, 32), mentre altri autori non hanno evidenziato le medesime associazioni. Analogamente e in maniera più pronunciata in donne dopo la menopausa, non sottoposte a cure ormonali, gli studi osservazionali hanno mostrato risultati non concordi relativamente all'effetto dell'alcol sugli ormoni androgeni: infatti alcuni studi evidenziano un'associazione positiva tra testosterone, DHEAs e SHBG e consumo di alcol (26, 33), altri mostrano un'associazione negativa (34, 35), o nessuna associazione (30, 36).

In merito all'effetto dell'assetto ormonale sulla propensione al consumo di alcol è stato osservato che livelli più elevati sia di testosterone che di estradiolo sono associati a una maggiore probabilità di uso di alcol sia in donne adolescenti, che in età fertile e dopo la menopausa (27, 32, 37). Analogamente, l'uso prolungato (5 anni) di contraccettivi orali è legato ad un aumentato consumo di alcol (38). Per le donne con cicli mestruali regolari che sono "bevitrice sociali" è riportata una maggiore frequenza di assunzione solitaria di alcol durante il ciclo mestruale. Tale relazione non è tuttavia stata riscontrata nelle donne che assumono contraccettivi orali (39).

Gli studi sugli animali mostrano inoltre che gli ormoni sessuali influenzano il comportamento alcol-correlato in modi diversi e in particolare gli androgeni e gli estrogeni determinano la preferenza per l'uso di alcol inducendo tolleranza e sensibilizzazione. Di contro, l'alcol influenza l'attività degli ormoni sessuali e quindi di nuovo anche il comportamento nel bere in una relazione bidirezionale e "circolare" tra ormoni sessuali e alcol.

## Alcol e tumore del seno: il ruolo degli estrogeni

L'associazione tra alcol e tumore del seno fu ipotizzata per la prima volta negli anni '80 del secolo scorso con studi caso-controllo ed è stata poi confermata da numerosi studi epidemiologici negli anni successivi.

Nel "Million Women Study" (40) venne accertato il nesso di causalità alcol/tumore del seno e studi diversi forniscono evidenza di una positiva relazione dose-rischio tra aumento di consumo alcolico e aumentato rischio di cancro del seno anche se i meccanismi responsabili di questo effetto non sono ancora completamente chiariti (41).

Alcuni particolari aspetti di questa relazione tra cui gli effetti del bere moderato (un drink al giorno) e il rischio legato allo status dei recettori degli estrogeni e del progesterone, non sono stati ancora sufficientemente studiati.

Si sa che l'uso di alcol induce innalzamento dei livelli sierici di estrogeni, e poiché questi ormoni hanno effetto oncogeno sul tessuto mammario si ipotizza che anche l'effetto oncogeno dell'alcol sia mediato proprio dagli estrogeni (42) insieme ad altri fattori di rischio alcol-correlati quali l'aumento dell'acetaldeide e dello stress ossidativo.

Sin dagli anni '90 studi di sperimentazione animale hanno dimostrato che l'esposizione a lungo termine ad estrogeni aumenta il rischio di sviluppare tumore del seno, anche se non è ancora del tutto chiarito attraverso quali meccanismi ciò avvenga. Un'ipotesi ben supportata è che il legame degli estrogeni al loro recettore nucleare alfa (*Estrogen Receptor alfa*, ER $\alpha$ ) dia l'avvio ad una complessa serie di segnali intracellulari che stimolano la proliferazione cellulare (43). Come già detto, l'alcol aumenta i livelli plasmatici di estrogeni e in donne in età fertile si è osservato significativo aumento dei livelli di estradiolo non solo a seguito del consumo di alte dosi corrispondenti a tre unità alcoliche, ma anche a dosi moderate corrispondenti ad una sola unità alcolica cioè circa 12 grammi di alcol puro (44). Ad alte dosi, l'effetto risulta più marcato

durante la fase ovulatoria e nelle donne che usano contraccettivi orali. A dosi moderate, l'innalzamento si osserva in tutte le fasi del ciclo ma soprattutto a metà ciclo quando l'estradiolo è già alto e, a causa dell'etanolo, aumenta ulteriormente di oltre il 30% (45).

Recentemente la ricerca della *Washington University School of Medicine* di St. Luis e della *Harvard University* pubblicata su *Pediatrics*, ha preso in esame i dati di circa 7.000 ragazze (9-15 anni d'età), residenti negli USA e seguite dal 1996 al 2007. Le giovani che dichiaravano di bere alcol tutti i giorni mostravano una frequenza di lesioni benigne al seno 5,5 volte più alta di quelle astemie o che bevevano solo una volta alla settimana. Che l'alcol sia un fattore di rischio nelle donne adulte era già noto, ma molte iniziano a bere già in adolescenza, proprio quando il tessuto del seno è in rapida formazione. I risultati hanno confermato che l'alcol può essere un fattore di rischio di sviluppare lesioni benigne del seno anche a questa età (46).

Sono stati ipotizzati meccanismi diversi attraverso i quali l'etanolo modula i livelli di estrogeni. Una ipotesi è che l'aumento dello stress ossidativo epatico alcol-indotto generi diminuzione del metabolismo degli steroidi. Un'altra è che l'aumento degli estrogeni sia dovuto al fatto che l'alcol aumenta l'attività della aromatasi che converte il testosterone ad estrogeni con conseguente diminuzione del testosterone e aumento degli estrogeni. Inoltre l'alcol inibisce l'attività degli enzimi sulfotransferasi e 2-idrossilasi responsabili del catabolismo degli estrogeni, e diminuisce la melatonina che inibisce la produzione di estrogeni. Di fatto, l'aumento dei livelli di estrogeni indotto dal consumo alcolico non solo aumenta significativamente il rischio di tumore del seno, ma può almeno in parte spiegare la maggiore suscettibilità delle donne alle patologie epatiche alcol-correlate. Infatti, gli estrogeni inducono danno epatico mitocondriale e quindi steatosi, apoptosi e aumento dello stress ossidativo (47).

## **Metodi analitici per la determinazione e lo studio degli ormoni steroidei**

I metodi di analisi utilizzati per la ricerca degli ormoni sessuali nei fluidi biologici sono basati essenzialmente su tecniche di screening, quali i saggi immunometrici *ImmunoAssay* (IA), *RadioImmunoAssay* (RIA), *Enzyme ImmunoAssay* (EIA) ed *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (ELISA). I vantaggi dell'impiego di tali metodi sono da ricondurre alla loro praticabilità, intesa come elevata efficienza analitica ed elevato numero di campioni analizzabili nell'unità di tempo, e di conseguenza alla rapidità, alla buona sensibilità e alla capacità di evidenziare classi di sostanze. Le principali limitazioni sono rappresentate dall'approssimazione delle informazioni che richiedono la conferma con metodi di livello superiore, dalla possibilità di avere risultati falsi positivi o falsi negativi e dalle possibili interferenze dovute alla matrice biologica. La standardizzazione e la validazione di tali dosaggi utilizzati dai laboratori ai fini della determinazione degli ormoni steroidei sessuali, rappresentano fasi necessarie per garantire l'affidabilità dei risultati, la possibilità di correlazioni e, in ultima analisi, per tutelare la salute pubblica.

Ad oggi infatti i dosaggi degli steroidi sessuali sono tutt'altro che standardizzati, con importanti variabilità intra- e soprattutto inter-laboratorio, fra diversi kit in commercio e fra diversi lotti dello stesso tipo di kit. Molti test inoltre sono tarati per evidenziare condizioni patologiche, mentre lo studio della correlazione tra consumo di alcol e ormoni si gioca all'interno dell'intervallo di normalità apparente, ove la sensibilità dei sistemi commerciali per discriminare ad esempio fra donne ad alto e a basso rischio, può essere molto modesta. Fino a quando non saranno disponibili test validati sui livelli attualmente considerati normali,

l'interpretazione dei risultati sarà molto delicata e richiederà controlli di qualità più stringenti e ulteriori, progressivi aggiustamenti delle soglie di attenzione.

## Conclusioni

La relazione bidirezionale e “circolare” tra ormoni sessuali e alcol indica che il ruolo degli ormoni sessuali può cambiare durante il corso della esposizione ad alcol. L'intricata interazione di testosterone, estradiolo e progesterone complica ulteriormente la previsione di come i profili endocrini possano agire sui comportamenti assuntivi. Sicuramente la conoscenza di questi processi richiederà ulteriori studi sul ruolo degli ormoni sessuali nell'influenzare il comportamento alcolico a partire dalla propensione ad iniziare e mantenere l'uso di alcol, la reazione all'astinenza, l'esito dell'eventuale trattamento in caso di abuso e la probabilità di ricaduta. Lo studio dei profili ormonali risulta particolarmente complesso per la donna che è già fisiologicamente sottoposta a profondi mutamenti ormonali legati alle fasi del suo ciclo vitale (prima del menarca, in età fertile, in gravidanza e dopo la menopausa) nonché alle fasi del ciclo mestruale. È comunque accertato che l'uso di alcol costituisce per la donna un significativo fattore di rischio per molte patologie e in particolare per il tumore del seno verso il quale è stato accertato il nesso di causalità. Già da ora, infatti, i dati disponibili ci permettono di affermare che, diversamente da altri organi, la carcinogenesi del tessuto mammario è stimolata dall'etanolo già a livelli di consumo molto bassi che non sembrano invece avere effetto su altri tessuti. Il/i meccanismi potrebbero essere tessuto-specifici e legati agli estrogeni poiché anche basse concentrazioni di alcol nel sangue aumentano significativamente gli estrogeni circolanti. Si auspica che nuove ricerche sperimentali possano aumentare le attuali conoscenze su alcol e ormoni anche grazie al supporto di innovative e sempre più avanzate metodologie analitiche. Per quanto si conosce ad oggi, ai fini di una efficace prevenzione è raccomandabile che le donne in buona salute limitino il consumo giornaliero a non più di una unità alcolica equivalente a circa 12 g di alcol puro. Le donne a rischio di tumore del seno per familiarità e altre cause fisiche e/o ambientali, dovrebbero consumare ancora meno o evitare del tutto le bevande alcoliche.

## Bibliografia

1. World Health Organization. *Global status report on alcohol and health*. Geneva: WHO; 2011. Disponibile all'indirizzo: [http://www.who.int/substance\\_abuse/publications/global\\_alcohol\\_report/msbgsruprofiles.pdf](http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msbgsruprofiles.pdf), ultima consultazione 26/6/2013.
2. Nutt DJ, King LA, Phillips LD; Independent Scientific Committee on Drugs. Drug harms in the UK: a multicriteria decision analysis. *Lancet* 2010;376(9752):1558-65.
3. Kashkin KB, Kleber HD. Hooked on hormones? An anabolic steroid addiction hypothesis. *JAMA* 1989;262:3166-70.
4. Kouri EM, Lukas SE, Pope Jr HG, Oliva PS. Increased aggressive responding in male volunteers following the administration of gradually increasing doses of testosterone cypionate. *Drug Alcohol Depend* 1995;40:73-9.
5. Pope Jr HG, Kouri EM, Hudson JI. Effects of supraphysiologic doses of testosterone on mood and aggression in normal men: a randomized controlled trial. *Arch Gen Psychiatry* 2000;57:133-40 discussion 155-6.
6. Purohit V. Can alcohol promote aromatization of androgens to estrogens? A review. *Alcohol* 2000;22:123-7.

7. Torres JM, Ortega E. Alcohol intoxication increases allopregnanolone levels in female adolescent humans. *Neuropsychopharmacology* 2003;28(6):1207-9.
8. Sisk CL, Zehr JL. Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Front Neuroendocrinol* 2005;26:163-74.
9. Arnold AP. The organizational-activational hypothesis as the foundation for a unified theory of sexual differentiation of all mammalian tissues. *Horm. Behav* 2009;55:570-8.
10. Weinberg J, Sliwowska JH, Lan N, Hellemans KGC. Prenatal alcohol exposure: foetal programming, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and sex differences in outcome. *J Neuroendocrinol* 2008;20:70-88.
11. La Grange L, Jones TD, Erb L, Reyes E. Alcohol consumption: biochemical and personality correlates in a college student population. *Addict Behav* 1995;20:93-103.
12. Eriksson CJP, Kaprio J, Pulkkinen L, Rose RJ. Testosterone and alcohol use among adolescent male twins: testing between-family associations in within family comparisons. *Behav Gen* 2005;35:359-68.
13. Suzuki R, Allen NE, Appleby PN, Key TJ, Dossus L, Tjønneland A, Føns Johnsen N, Overvad K, Sacerdote C, Palli D, Krogh V, Tumino R, Rohrmann S, Linseisen J, Boeing H, Trichopoulou A, Makrygiannis G, Misirli G, Buenode-Mesquita HB, May AM, Di'az MJ, Sa' nchez MJ, Barricarte Gurrea A, Rodri'guez Sua' rez L, Buckland G, Larrañaga N, Bingham S, Khaw KT, Rinaldi S, Slimani N, Jenab M, Riboli E, Kaaks R. Lifestyle factors and serum androgens among 636 middle aged men from seven countries in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Cancer Cause Control* 2009;20:811-21.
14. Lenz B, Muller CP, Stoessel C, Sperling W, Biermann T, Hillemacher T, Bleich S, Kornhuber J. Sex hormone activity in alcohol addiction: Integrating organizational and activational effects. *Prog Neurobiol* 2012;96:136-63.
15. Mendelson JH, Mello NK, Cristofaro P, Ellingboe J, Skupny A, Palmieri SL, Benedikt R, Schiff I. Alcohol effects on naxolone-stimulated luteinizing hormone, prolactin and estradiol in women. *J Stud Alcohol* 1987;48:287-94
16. Mendelson JH, Lukas SE, Mello NK, Amass L, Ellingboe J, Skupny A. Acute alcohol effects on plasma estradiol levels in women. *Psychopharmacology* 1988;94:464-7.
17. Mendelson JH, Mello NK, Teoh SK, Ellingboe J. Alcohol effects on luteinizing hormone releasing hormone-stimulated anterior pituitary and gonadal hormones in women. *J Pharmacol Exp Ther* 1989;250:902-9.
18. Ginsburg ES, Mello NK, Mendelson JH, Barbeiri RL, Teoh SK, Rothman M, Gao X, Sholar JW. Effect of alcohol ingestion on estrogens in postmenopausal women. *JAMA* 1996;276:1747-51.
19. Lieber CS. Metabolism of alcohol. *Clin Liver Dis* 2005;9(1):1-35.
20. Reichman ME, Judd JT, Longcope C, Schatzkin A, Clevidence BA, Nair PP, Campbell WS, Taylor PR. Effects of moderate alcohol consumption on plasma urinary hormone concentrations in premenopausal women. *Journal of the National Cancer Institute* 1993;85:722-7
21. Sarkola T, Mäkisalo H, Fukunaga T, Eriksson CJP. Acute effect of alcohol on estradiol, estrone, prolactin, cortisol and luteinizing hormone in premenopausal women. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:976-82.
22. Sarkola T. *Effect of alcohol on hormones in women*. Helsinki: University of Helsinki; 2001. [academic dissertation]
23. Dorgan JF, Reichman ME, Judd JT, Brown C, Longcope C, Schatzkin A, Campbell WS, Franz C, Khale L, Taylor PR. The relation of reported alcohol ingestion to plasma levels of oestrogens and androgens in premenopausal women. *Cancer Causes and Control* 1994;5:53-60.
24. Katsouyanni K, Boyle P, Trichopoulos D. Diet and urine estrogens among post-menopausal women. *Oncology* 1991;48:490-4

25. Hankinson SE, Willet WC, Manson JE, Hunter DJ, Colditz GA, Stampfer MJ, Longcope C, Speizer FE. Alcohol, height and adiposity in relation to estrogen and prolactin levels in postmenopausal women. *JNCI* 1995;87:1297-302.
26. Nagata C, Kabuto M, Takatsuka N, Shimizu H. Associations of alcohol, height and reproductive factors with serum hormone concentrations in postmenopausal Japanese women. *Breast Cancer Research and Treatment* 1997;44:235-41
27. Purohit V. Moderate alcohol consumption and estrogen levels in postmenopausal women: a review. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:994-7.
28. Rinaldi S, Peeters PH, Bezemer ID, Dossus L, Biessy C, Sacerdote C, Berrino F, Panico S, Palli D, Tumino R, Khaw KT, Bingham S, Allen NE, Key T, Jensen MK, Overvad K, Olsen A, Tjønneland A, Amiano P, Ardanaz E, Agudo A, Martínez-García C, Quirós JR, Tormo MJ, Nagel G, Linseisen J, Boeing H, Schulz M, Grobbee DE, Bueno-de-Mesquita HB, Koliava M, Kyriazi G, Thrichopoulou A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Ferrari P, Slimani N, Saracci R, Riboli E, Kaaks R. Relationship of alcohol intake and sex steroid concentrations in blood in pre- and post-menopausal women: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer Causes Control* 2006;17(8):1033-43.
29. Cigolini M, Targher G., Bergamo Andreis IA, Tonoli M., Filippi F, Muggeo M, De Sandre G. Moderate alcohol consumption and its relation to visceral fat and plasma androgens in healthy women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20:206-12.
30. Verkasalo PK, Thomas HV, Appley PN, Davey GK, Key TJ. Circulating levels of sex hormones and their relation to risk factors for breast cancer: a cross-sectional study in 1092 pre and postmenopausal women (United Kingdom). *Cancer Cause Control* 2001;12:47-59.
31. Garcia-Closas M., Herbstam J, Schiffman M, Glass A, Dorgan JF. Relationship between serum hormone concentrations, reproductive history, alcohol consumption and genetic polymorphisms in pre-menopausal women. *Int J Cancer* 2002;102:171-8.
32. Muti P, Trevisan M, Micheli A, Krogh V, Bolelli G, Sciajno R, Schünemann HJ, Berrino F. Alcohol consumption and total estradiol in premenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:189-93.
33. Madigan MP, Troisi R, Potishman N, Dorgan JF, Brinton LA, Hoover RN. Serum hormone levels in relation to reproductive and lifestyle factors in postmenopausal women (United States). *Cancer Cause Control* 1998;9:199-207.
34. Wu F, Ames R, Evans MC, France JT, Reid IR. Determinants of sex hormone-binding globulin in normal postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;54:81-97.
35. Cauley JA, Gutai JP, Kuller LH, Le Donne D, Powell JG. The epidemiological of serum hormones in post menopausal women. *Am J Epidemiol* 1989;129:1120-31.
36. Onland-Moret NC, Peeters PH, Van der Schouw YT, Grobbee DE, van Gils CH. Alcohol and endogenous sex steroid levels in postmenopausal women: a cross-sectional study. *J. Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1414-9.
37. Martin CA, Mainous AG, Curry T, Martin D. Alcohol use in adolescent females: correlates with estradiol and testosterone. *Am J Addict* 1999;8:9-14.
38. Lund E, Jacobsen BK. Use of oral contraceptives in relation to dietary habits and alcohol consumption. *Contraception* 1990;42:171-7.
39. Sutker PB, Libet JM, Allain AN, Randall CL. Alcohol use, negative mood states, and menstrual cycle phases. *Alcohol Clin Exp Res* 1983;7:327-31.
40. Allen NE, Beral V, Casabonne D, Kan SW, Reeves GK, Brown A, Green J. million women study collaborators. Moderate alcohol intake and cancer incidence in women. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101(5):296-305.

41. Seitz HK, Pelucchi C, Bagnardi V, La Vecchia C. Epidemiology and pathophysiology of alcohol and breast cancer: Update 2012. *Alcohol Alcohol* 2012;47(3):204-12.
42. Fernandez SV. Estrogen, alcohol consumption, and breast cancer. *Alcohol Clin Exp Res* 2011;35(3):389-91.
43. Zhang Q, Jin J, Zhong Q, Xiaoli Yu, Levy D, Zhong S. ER $\alpha$  mediates alcohol-induced deregulation of Pol III genes in breast cancer cells. *Carcinogenesis* 2013;34(1):28-37.
44. Seitz HK, Maurer B. The relationship between alcohol metabolism, estrogen levels, and breast cancer risk. *Alcohol Res Health* 2007;30(1):42-3.
45. Coutelle C, Höhn B, Benesova M, Oneta CM, Quattrochi P, Roth HJ, Schmidt-Gayk H, Schneeweiss A, Bastert G, Seitz HK. Risk factors in alcohol associated breast cancer: alcohol dehydrogenase polymorphism and estrogens. *Int J Oncol.* 2004;25(4):1127-32.
46. Berkey CS, Willett WC, Frazier AL, Rosner B, Tamimi RM, Rockett HR, Colditz GA. Prospective study of adolescent alcohol consumption and risk of benign breast disease in young women. *Pediatrics* 2010;125(5):1081-7.
47. Eagon PK. Alcoholic liver injury: influence of gender and hormones. *World J Gastroenterol* 2010;16(11):1377-84.

**TERZA PARTE**  
**Esperienze sul territorio e strategie di intervento**



# PREVALENZA DELLA SINDROME FETO-ALCOLICA IN ITALIA E PERCORSI DI PREVENZIONE DEI DISTURBI CONNESSI ALL'ESPOSIZIONE ALL'ALCOL IN UTERO

Daniela Fiorentino (a), Giovanna Coriale(a), Mauro Ceccanti (a, b)

(a) Centro di Riferimento Alcolologico della Regione Lazio, Roma

(b) Dipartimento di Medicina Clinica, "Sapienza" Università di Roma, Roma

## Introduzione

La sindrome feto-alcolica (*Fetal Alcohol Syndrome*, FAS) e gli altri disturbi correlati all'esposizione all'alcol in utero (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*, FASD) rappresentano un *continuum* di patologie che in Italia sono ancora misconosciute ai più.

Gli operatori sanitari che conoscono questa condizione la ritengono specifica dei bambini nati da donne francamente alcoliste. In realtà non è così e anche consumi che, al di fuori della gravidanza non verrebbero considerati a rischio, possono avere effetti sul feto, tanto che ad oggi non esiste una dose soglia di consumo che possa dirsi sicura, con grande variabilità individuale.

La letteratura ha definito come a rischio in gravidanza un consumo medio di più di 1 drink (circa 14 g di alcol) al giorno (1); così come il consumo di 7 o più drink a settimana (2-7). Altra condizione di rischio è rappresentata dal cosiddetto *binge drinking*, cioè il consumo di grandi quantità di alcol nella stessa occasione.

Il *National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* (NIAAA) ha definito *binge drinking*, per le donne, quella modalità di consumo che provoca un BAC (*Blood Alcohol Concentration*) pari a 0,08 grammi per litro, o più. Una donna adulta raggiunge questi livelli tipicamente consumando 4 o più drink in circa due ore (8).

La definizione di *binge drinking* applicata alla gravidanza può essere modificata in un consumo di tre o più drink in una sola occasione, dal momento che diversi studi hanno mostrato come questa modalità di consumo sia altamente correlata con evidenze morfologiche e comportamentali di danno sul bambino (9,10). È questa una condizione particolarmente a rischio poiché è il picco di concentrazione di alcol nel sangue che produce i danni maggiori (11).

I costi sanitari e sociali che derivano dall'esposizione all'alcol in utero sono notevoli, dal momento che l'alcol danneggia potenzialmente qualsiasi organo nei bambini che vi sono esposti.

I bambini con FASD hanno bisogno di cure mediche a causa delle patologie conseguenti all'esposizione all'alcol. Il tipo di patologia inoltre è tale da interferire con la capacità di adattamento del bambino all'ambiente per tutto l'arco della sua vita.

Gli adolescenti con FASD incorrono facilmente in problemi legali, poiché i disturbi cognitivi e psicologici derivanti da questa condizione spesso si accompagnano in adolescenza a comportamenti devianti (12).

I costi di questa condizione si esprimono dunque in termini di spese mediche, necessità di un'assistenza speciale con insegnanti di sostegno a scuola, stato di disoccupazione con tutti i disagi che ne derivano, delinquenza. Le gravi conseguenze di questa patologia prefigurano la necessità di interventi in grado di prevenire la sua diffusione.

## Studio di prevalenza italiano

Nel 2006 nel Lazio è stato ultimato il primo studio epidemiologico italiano teso a definire la prevalenza dei disturbi dello spettro feto-alcolico (13-18). In letteratura non esistono molti studi sull'epidemiologia della sindrome. La maggior parte dei dati sulla sua diffusione proviene da studi americani. Frequentemente la valutazione della prevalenza viene effettuata attraverso la consultazione delle diagnosi presenti nei registri delle nascite. Uno studio di Chavez (19) realizzato in questo modo riportava una prevalenza che andava dallo 0,37 allo 0,67 per mille. Questo tipo di metodologia, definita passiva, sottostima il problema (20, 21), se paragonata ad una metodologia di accertamento attivo, dove il ricercatore valuta attivamente sul campo la presenza della sindrome (22).

Lo studio italiano qui descritto è stato il primo studio europeo che ha valutato la prevalenza di FASD attraverso una metodologia attiva, su popolazione generale, non clinica e non a rischio. L'unico altro studio di tipo attivo e non clinico era stato pubblicato negli USA nel 2001 e riportava una prevalenza di FAS del 3 per mille (23). Recentemente, uno studio croato ha riportato prevalenze simili a quelle dello studio italiano (24).

### Metodologia e strumenti

Lo studio si è svolto in forma di screening ed ha riguardato la popolazione di bambini frequentanti la prima elementare durante gli anni scolastici 2003-2004 e 2004-2005 in aree urbane e rurali della provincia di Roma.

I dati sul consumo di alcol durante la gravidanza sono stati raccolti da esperti alcolisti attraverso una vasta intervista semi-strutturata alle mamme dei bambini inclusi nello studio, riguardante non solo i consumi alcolici, ma anche lo stato di salute e tutte le variabili sociodemografiche di interesse. L'anamnesi alcolologica è stata svolta secondo il metodo Quantità/Frequenza/Variabilità (QFV) che tiene conto delle quantità medie consumate nei giorni in cui la persona beve, della frequenza dei consumi e anche della loro variabilità in modo da poter cogliere anche l'esistenza di picchi di consumo (25). La valutazione dei bambini si è svolta in tre fasi successive, secondo una metodologia a imbuto già ampiamente sperimentata da un gruppo multiprofessionale di esperti statunitensi, durante diversi studi sul campo effettuati in Sudafrica, su popolazioni a rischio (26-29). Lo stesso team statunitense ha affiancato quello italiano durante lo studio.

In un primo momento si sono individuati i bambini che risultavano sotto-peso, o di bassa statura o con una circonferenza cranica inferiore alla norma ( $\leq 10^{\circ}$  percentile) e attraverso questionari standardizzati è stata valutata la possibile presenza di problematiche a carico di attenzione e iperattività e dei prerequisiti dell'apprendimento. I bambini così selezionati, sono entrati nella seconda fase dello screening e sono stati valutati, in doppio cieco, sia dal punto di vista dimorfologico, sia dal punto di vista neuropsicologico attraverso una batteria di test. Il gruppo di controllo è stato valutato attraverso lo stesso processo. Nella terza fase dello studio, due diverse consensus conference hanno consentito di riunire insieme tutti i dati raccolti e di giungere alla diagnosi finale, effettuata secondo i criteri dell'*Institute Of Medicine* (IOM) statunitense (30).

### Risultati

La richiesta di autorizzazione alle famiglie, per includere il singolo bambino nello screening, ha portato ad un tasso di partecipazione del 50%: sono stati dunque valutati 976 bambini sul

totale di 1988 iscritti alla prima elementare in quegli anni. Sono entrati nella seconda fase dello studio 416 bambini, poiché sotto il 10° percentile per altezza, peso o circonferenza cranica o perché individuati attraverso i questionari di valutazione di attenzione, iperattività e pre-requisiti dell'apprendimento. La visita morfologica e il testing neuropsicologico hanno portato all'individuazione di 46 bambini ricadenti nello spettro dei disturbi dovuti all'esposizione ad alcol in utero (figura n. 1), pari al 4,7% della popolazione esaminata: 0,8% FAS; 3,7% Partial FAS; 0,2% *Alcohol Related Birth Defects* (ARBD) ed *Alcohol Related Neurodevelopmental Defects* (ARND). Volendo fare una stima della prevalenza, di massima prudenza, queste percentuali si dimezzano se le ricalcoliamo includendo nel totale della popolazione anche i bambini le cui famiglie non hanno aderito allo studio (Tabella 1).

**Tabella 1. Risultati dello studio di prevalenza nel Lazio**

Sindrome	n.	Per 1000 nel campione*	Per 1000 nella popolazione**
FAS	8	8,2	4,0
Parzial FAS	36	36,9	18,1
ARBD	1	1,0	0,5
ARND	1	1,0	0,5
Totale	46	47,1	23,1

\*n=976

\*\*N=1988

La prevalenza ottenuta si è rivelata inaspettatamente alta, sostanziando con dati concreti la necessità di interventi capaci di ridurre l'impatto di tale problematica sul singolo e sulla società in genere.

## Percorsi di prevenzione

L'esigenza di tutela della salute del cittadino che deriva da questi dati ha preso forma in alcuni Paesi stranieri rendendo obbligatoria l'etichettatura delle bottiglie di alcolici con scritte recanti avvertenze sulla pericolosità del consumo di alcolici durante la gravidanza. Tali avvertenze sono diventate obbligatorie negli Stati Uniti nel 1989, in Francia dal 2006 e in Gran Bretagna nel 2008. In Italia, benché non esista tale obbligo di legge, le linee guida per una sana alimentazione italiana, pubblicate dall'INRAN (Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione) nel 2003, raccomandano la totale astensione dall'alcol in gravidanza e allattamento (31). Nonostante questo, i dati raccolti dall'Osservatorio sui casi di FASD, istituito all'interno del Policlinico Umberto I di Roma, ci dicono che il 36% delle donne beve alcolici durante la gravidanza e che, una volta scoperta la gravidanza, solo il 44% sospende i consumi (32).

Un altro dato interessante emerge dalle interviste effettuate alle mamme durante lo screening di prevalenza laziale: il 65% delle intervistate aveva, infatti, dichiarato di non aver ricevuto alcun consiglio da parte del medico curante in merito al consumo di alcol durante i 9 mesi della gestazione (33).

Il punto di partenza per promuovere la salute della donna e del bambino è rappresentato dunque dalla sensibilizzazione e formazione degli operatori che entrano in contatto con la donna, e in generale con le famiglie, in questo delicato momento di vita, in quanto agenti di cambiamento. Per intervenire efficacemente bisogna poi programmare interventi che agiscano a diversi livelli: dalla prevenzione universale a quella selettiva fino a quella specifica.

## Interventi di prevenzione universale

Gli interventi di prevenzione universale hanno l'obiettivo di aumentare la consapevolezza dei danni legati al consumo di alcol durante la gravidanza e si rivolgono alla popolazione generale. Molteplici sono gli interventi possibili: l'affissione di poster, la distribuzione di brochure informative, la diffusione dei risultati della ricerca scientifica attraverso i media, l'etichettatura delle bottiglie di alcolici, così come i consigli del curante. Sebbene non tutti gli interventi citati abbiano la stessa efficacia (34) e spesso gli interventi informativi non hanno effetto sul cambiamento dello stile di vita (35), quello della gravidanza è un momento in cui la donna è molto motivata a proteggere la propria salute e quella del bambino. In base a quanto asserito dagli studi psicosociali sui processi di persuasione, nel contesto della gravidanza, e in assenza di comportamenti di consumo particolarmente problematici, è molto alta la probabilità che un messaggio di salute, dato da una fonte considerata attendibile, ad un destinatario molto interessato all'argomento e motivato a proteggere la propria salute, venga accettato e fatto proprio (36,37).

## Interventi di prevenzione selettiva

Gli interventi selettivi sono quelli dedicati a tutte le donne in età fertile che consumano alcol, al fine di diminuire o eliminare i consumi in gravidanza e si realizzano effettuando lo screening dei consumi a rischio in maniera routinaria durante le visite di controllo e fornendo una consulenza che favorisca il cambiamento dei consumi.

Condurre una dettagliata anamnesi alcolica presenta notevoli problemi, sia per la naturale reticenza a dichiarare i propri consumi in conseguenza dello stigma sociale associato con questi comportamenti, sia per la difficoltà nel misurare e standardizzare le unità di misura dei drink alcolici. La variabilità di capienza dei bicchieri utilizzati e le diverse gradazioni alcoliche delle varie bevande, costituiscono motivo di grande confusione sia per le donne intervistate, sia per gli addetti ai lavori e questo si riflette in una imprecisione nella individuazione delle esatte quantità consumate. Si è cercato dunque di ricorrere a strumenti di misura e individuazione standardizzati, che vanno da interviste approfondite a rapidi test di screening, fino a test biochimici per la misurazione dei markers biologici del consumo di alcol a rischio. In ambito alcolico esistono molti strumenti di screening destinati alla popolazione generale e alcuni sono specifici per le donne in gravidanza. Sulla rivista *Addiction* (38) è stata pubblicata una rassegna che ha valutato l'efficacia dei diversi strumenti di screening per la valutazione breve di situazioni di consumo a rischio nelle donne in gravidanza, in termini di sensibilità, specificità e valore predittivo dello strumento. Attraverso una ricerca sui maggiori data-base elettronici disponibili, gli autori sono arrivati ad individuare 5 studi, cross-sectional o di coorte (per un totale di 6724 partecipanti) nei quali uno o più strumenti di screening venivano confrontati con le informazioni ottenute tramite intervista strutturata per la valutazione di situazioni di rischio, di abuso o di dipendenza in donne in gravidanza che si erano rivolte ai servizi di ostetricia e ginecologia. Gli autori hanno così potuto valutare 7 diversi strumenti:

1. TWEAK (*Tolerance, Worried, Eye-opener, Amnesia, C/Kut-down*);
2. T-ACE (*Take, Annoyed, Cut-down, Eye-opener*);
3. CAGE (*Cut-down, Annoyed, Guilty, Eye-opener*);
4. NET (*Normal drinker, Eye-opener, Tolerance*);
5. AUDIT (*Alcohol Use Disorder Identification Test*);
6. AUDIT-C (*AUDIT-Consumption*);
7. SMAST (*Short Michigan Alcohol Screening Test*).

L'AUDIT-C, il TWEAK e il T-ACE hanno dimostrato la maggiore sensibilità e un'alta specificità nell'individuazione del bere a rischio. Mentre il CAGE e lo SMAST hanno invece ottenuto i risultati peggiori. Andando poi a vedere l'abilità dei vari strumenti nell'individuare comportamenti patologici, gli autori rilevano come un punteggio maggiore o uguale a 3 nell'AUDIT-C identifica la condizione di dipendenza (nell'ultimo anno) o il disturbo da uso di alcol con un'altissima sensibilità (e moderata specificità). In sintesi dunque i tre test sopraccitati sono i migliori per identificare velocemente le situazioni di rischio e l'AUDIT-C si rileva sufficientemente esatto anche nella individuazione di situazioni francamente patologiche.

Possono porsi forse problemi di natura culturale nel trasferire l'utilizzo di questi test di screening dalla cultura anglosassone a quella italiana, sulla popolazione generale. Ma il T-ACE (39) offre uno spunto particolarmente interessante. Il test consta di 5 domande, tra cui una sulla eventuale tolleranza che la donna ha sviluppato nei confronti delle bevande alcoliche. Se la persona risponde che le è necessario bere più di due drink prima di sentire gli effetti dell'alcol, si può concludere che abbia sviluppato tolleranza nei confronti della sostanza e che quindi i suoi consumi siano da considerare a rischio. La domanda sulla tolleranza è un buon indicatore per il clinico, perché meno soggetta all'effetto che la scarsa desiderabilità sociale di un comportamento come il consumo di alcol in gravidanza esercita sulla attendibilità delle risposte, e può quindi essere utilizzata per capire se ci troviamo di fronte ad una persona che ha dei consumi potenzialmente a rischio.

Alcuni studi hanno dimostrato come la semplice somministrazione di un test di screening sia in grado, da sola, di provocare una riduzione dei consumi (40).

Sempre nell'ambito degli interventi di prevenzione selettiva si fa ampio ricorso al counselling motivazionale, una metodologia di colloquio che da anni viene efficacemente utilizzata in tutti i casi in cui sia auspicabile un cambiamento nello stile di vita delle persone. Il colloquio di motivazione è così chiamato poiché si basa sulla capacità del consulente di sintonizzarsi, attraverso tecniche di colloquio specifiche, sulla motivazione o disponibilità della persona a cambiare stile di vita, stimolandola a passare da una motivazione scarsa o dubbiosa ad un impegno verso il cambiamento. Diversi studi hanno mostrato l'efficacia di questo approccio nella riduzione dei consumi in gravidanza (41-43).

Un esempio di utilizzo delle tecniche motivazionali, lo troviamo nello studio di Handmaker (44) che ha riguardato un gruppo di 42 donne in gravidanza che consumavano alcol. Il gruppo sperimentale veniva sottoposto ad una sessione di counseling di 45 minuti, mentre quello di controllo riceveva una lettera con informazioni sui rischi legati al bere in gravidanza. I risultati hanno mostrato che in entrambi i gruppi i consumi si riducevano, senza differenze significative, ma il sottogruppo di donne che presentava consumi a rischio modificava tali consumi solo se inserito nel gruppo di controllo.

Anche una rassegna Cochrane del 2009 (45) sull'efficacia degli interventi destinati alle donne che bevono in gravidanza, effettuata valutando 4 interventi psicoeducativi o di counseling, conclude che tutti gli studi valutati erano stati efficaci nel ridurre i consumi, senza differenze significative tra gruppo sperimentale e gruppo di controllo.

## **Interventi di prevenzione specifica**

Diverso è il caso degli interventi specifici, destinati alle donne alcolodipendenti o che hanno già avuto figli affetti da FASD, e hanno l'obiettivo di prevenire la nascita di nuovi bambini affetti. L'intervento qui prevede il trattamento dell'alcol-dipendenza e l'adozione di misure di controllo delle nascite efficaci. L'azione diventa dunque molto complessa e in letteratura non se ne trovano molti esempi. È del 1999 un report che descrive il *Seattle Birth to 3 Advocacy Project* (46), dove un gruppo di 65 donne, in condizioni di fragilità sociale, che avevano già

avuto un bambino con FASD, veniva seguito per un periodo di 3 anni, da tutor appositamente addestrati, con l'obiettivo di apprendere nuove strategie di gestione della vita quotidiana e rimanere in contatto con i servizi sociosanitari. La valutazione dell'intervento a distanza di due anni ha mostrato che l'80% aveva seguito un trattamento per l'alcol-dipendenza, il 60% era rimasto astinente e il 62% aveva iniziato a seguire metodi contraccettivi a lungo termine. Successive sperimentazioni di questo modello hanno portato all'elaborazione del *Parent-Child Assistance Program* (47).

Attualmente in diversi paesi degli Stati Uniti sono stati attivati servizi di sostegno dedicati specificatamente alle famiglie dove è presente un bambino con FASD, come il *Coaching Parents*: un programma che cerca di mantenere la famiglia in contatto con i servizi favorendo l'accesso ai servizi, mira ad identificare risorse e bisogni presenti, punta a favorire il supporto nella comunità, e a dare informazioni sui sintomi di FASD e sul tipo di disabilità vissuta dal bambino (48).

## Conclusioni

La prevalenza di FASD si è rivelata inaspettatamente alta nello screening laziale ed ha portato alla luce l'esistenza di un problema ancora poco considerato in Italia. Al vuoto di conoscenze ufficiali e scientifiche sull'esistenza della sindrome, si affianca una serie di conoscenze e credenze errate sulla non dannosità e addirittura sull'utilità del consumo di alcolici durante la gravidanza.

Questa mancata conoscenza non si rileva solo nell'ambito della popolazione generale ma anche nei professionisti della salute, da quelli più strettamente a contatto con la donna nel periodo della gravidanza, alle varie professionalità che ogni giorno affrontano tematiche correlate alla salute più in generale, fino ad arrivare addirittura ad alcuni libri e manuali destinati a preparare e formare tali figure.

La letteratura scientifica dimostra però che gli interventi destinati alla popolazione generale sono efficaci nel cambiare credenze e comportamenti delle donne in gravidanza. Si tratta di interventi di facile attuazione e a basso costo, implementabili anche solo sensibilizzando gli operatori del settore ad inserire le problematiche derivanti dall'esposizione ad alcol in utero tra gli elementi cui prestare attenzione quando incontrano le loro pazienti. Diverso è il caso del sanitario che si trovi di fronte una problematica di abuso o dipendenza. In questo caso è necessario per l'operatore disporre di una rete psico-socio-sanitaria di intervento, cui inviare la donna per un eventuale trattamento della dipendenza, come condizione di assoluta attenzione medica, psicologica, sociale. In questo caso l'intervento diventa più complesso e investe l'ambito sanitario e sociale.

Un'ultima parola va spesa per il trattamento delle complesse problematiche cui va incontro il bambino con FASD e la sua famiglia. Questo settore di intervento è ancora poco sviluppato. È quindi auspicabile che la comunità scientifica si dedichi in futuro alla implementazione e valutazione di programmi efficaci nel limitare il danno subito dal bambino.

## Bibliografia

1. Hankin JR, Sokol RJ. Identification and care of problems associated with alcohol ingestion in pregnancy. *Semin Perinatol* 1995;19:286-92.
2. Snood B, Delaney-Black V, Covington C, *et al.* Prenatal alcohol exposure and childhood behavior at 6 to 7 years: I. Dose-response. *Pediatrics* 2001;108:1-9.

3. Moore CA, Khoury MJ, Liu Y. Does light-to-moderate alcohol consumption during pregnancy increase the risk for renal anomalies among offspring? *Pediatrics* 1997;99:1-5.
4. Day NL, Richardson GA, Geva D, Robles N. Alcohol, marijuana, and tobacco: Effects of prenatal exposure on offspring growth and morphology at age six. *Alcohol Clin Exp Res* 1994;18:786-94.
5. Jacobson JL, Jacobson SW. Prenatal alcohol exposure and neurobehavioral development: where is the threshold? *Alcohol Health and Res World* 1994; 18:30-6.
6. 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.
7. Windham GC, Von Behren J, Fenster L, Schaeffer C, Swan, SH. Moderate maternal alcohol consumption and the risk of spontaneous abortion. *Epidemiology* 1998;8:509-14.
8. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. *NIAAA Newsletter* 2004;3:1-4. Disponibile all'indirizzo: [http://www.niaaa.nih.gov/sites/default/files/newsletters/Newsletter\\_Number3.pdf](http://www.niaaa.nih.gov/sites/default/files/newsletters/Newsletter_Number3.pdf); ultima consultazione 8/8/2013.
9. May PA, Gossage JP, Marais AS, *et al.* The epidemiology of fetal alcohol syndrome and partial FAS in a South African community. *Drug and Alcohol Dependence* 2007;88:259-71.
10. May PA, Gossage JP, Marais AS, *et al.* Maternal risk factors for fetal alcohol syndrome and partial fetal alcohol syndrome in South Africa: A third study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2008;32:738-53
11. Abel EL. *Fetal alcohol abuse syndrome*. New York: Plenum Press; 1998.
12. 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, *Alcoholism Clinical and Experimental Research* 1988; 22(2), 528-33.
13. Aragón A, Coriale G, Fiorentino D, Kalberg W, Buckley D, Gossage JP, Ceccanti M, Mitchell E, May PA. Neuropsychological characteristics of Italian children with fetal alcohol spectrum disorders. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2008;32:1909-19.
14. Ceccanti M, Spagnolo PA, Tarani L, Attilia ML, Chessa L, Mancinelli R, Stegagno M, Sasso GF, Romeo M, Jones KL, Robinson LK, Del Campo M, Gossage JP, May PA, Hoyme HE. Clinical delineation of fetal alcohol spectrum disorders (FASD) in Italian children: comparison and contrast with other racial/ethnic groups and implications for diagnosis and prevention, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2007;31:270-7.
15. Fiorentino D, Coriale G, Spagnuolo V, Prattero A, Attilia ML, Mancinelli R, Ceccanti M. Fetal alcohol syndrome disorders: experience on the field. The Lazio Study preliminary report. *Ann Ist Super di Sanità* 2006;42(1):53-7.
16. Kodituwakku P, Coriale G, Fiorentino D, Aragon AS, Kalberg WO, Buckley D, Gossage JP, Ceccanti M, May PA. Neurobehavioral characteristics of children with fetal alcohol spectrum disorders in communities from Italy: Preliminary results. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2006;30:1551-61.
17. May PA, Fiorentino D, Gossage JP, Kalberg W, Hoyme HE, Robinson LK, Coriale G, Jones KL, del Campo M, Tarani L, RomeoM, Kodituwakku, PW, Deiana L, Buckley D, Ceccanti M. Epidemiology of FASD in a province in Italy: prevalence and characteristics of children in a random sample of schools. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2006;30:1562-75.
18. May PA, Fiorentino D, Coriale G, Kalberg WO, Hoyme HE, Aragón AS, Buckley D, Stellavato C, Gossage JP, Robinson LK, Jones KL, Manning M, Ceccanti M. Prevalence of children with severe fetal alcohol spectrum disorders in communities near Rome, Italy: New estimated rates are higher than previous estimates. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2011;8:2331-51.

19. Chavez GF, Corderro JF, Becerra JE. Leading major congenital malformations among minority groups in the United States, 1981–1986. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1988;37:17-24.
20. Leversha AM, Marks RE. The prevalence of fetal alcohol syndrome in New Zealand. *New Zealand Medical Journal* 1995;108:502-5.
21. May PA, Gossage JP, Kalberg WO, Robinson LK, Buckley DG, Manning M, Hoyme HE. The Prevalence and epidemiologic characteristics of FASD from various research methods with an emphasis on in-school studies. *Developmental Disabilities Research Reviews* 2009;15:176-92.
22. Stratton K, Howe C, Battaglia F. *Fetal alcohol syndrome: diagnosis, epidemiology, prevention, and treatment*. Washington, DC: National Academy Press; 1996.
23. Clarren SK, Randels SP, Sanderson M, Fineman R.. Screening for fetal alcohol syndrome in primary schools: a feasibility study. *Teratology* 2001;63:3-10.
24. Petkovic G, Barisic I. Fas prevalence in a sample of urban schoolchildren in Croatia. *Reproductive Toxicology* 2010;29(2):237-41.
25. Allen JP, Columbus M. Assessing alcohol problems: a guide for clinicians and researchers, *NIAAA Treatment Handbook Series 4, NIH Publication* 1995; 95-3745, 55-73
26. May PA, Brooke L, Gossage JP, Croxford J, Adnams C, Jones KL, Robinson L, Viljoen D. Epidemiology of fetal alcohol syndrome in a South African community in the Western Cape Province. *American Journal of Public Health* 2000;90:1905-12.
27. May PA, Brooke LE, Gossage JP, Snell C, Hendricks L, Croxford J, Marais A.-S, Viljoen DL. Maternal risk factors for fetal alcohol syndrome in the Western Cape Province of South Africa: A population-based study. *American Journal of Public Health* 2005;95:1190-99.
28. May PA, Gossage JP, Marais AS, Adnams CM, Hoyme HE, Jones KL, Robinson LK, Khaole NC, Snell C, Kalberg WO, Hendricks L, Brooke L, Stellavato C, Viljoen DL. The epidemiology of fetal alcohol syndrome and partial FAS in a South African community. *Drug and Alcohol Dependence* 2007;88:259-71.
29. May PA, Gossage JP, Marais AS, Hendricks L, Snell C, Tabachnick BG, Stellavato C, Buckley DG, Brooke L, Viljoen DL. Maternal risk factors for fetal alcohol syndrome and partial fetal alcohol syndrome in south Africa: a third study. *Alcoholism Clinical and Experimental Research* 2008;32:738-53.
30. Hoyme HE, May PA, Kalberg WO, Kodituwakku P, Gossage JP, Trujillo PM, Buckley DG, Miller JH, Aragon AS, Khaole N, Viljoen DL, Jones KL, Robinson LK. A practical clinical approach to diagnosis of fetal alcohol spectrum disorders: clarification of the 1996 institute of medicine criteria *Pediatrics* 2005;115:39-47.
31. 'Istituto nazionale di ricerca per gli alimenti e la nutrizione. *Linee guida per una sana alimentazione italiana*. Roma: INRAN; 2003
32. Fiorentino D, Solombrino S, Scamporrino MCM, Ciolli P, Coriale G, Romeo M, Ceccanti M. Women who quit and women che keep on drinking during pregnancy: are they different? *Alcohol* (in corso di stampa)
33. May PA, Fiorentino D, Gossage JP, Kalberg W, Hoyme HE, Robinson LK, Coriale G, Jones KL, del Campo M, Tarani L Romeo M, Kodituwakku PW, Deina L, Buckley D, Ceccanti M. Epidemiology of FASD in a province in Italy: prevalence and characteristics of children in a random sample of schools. *Alcoholism: Clinical and Experiment Research* 2006;30:1562-75.
34. Hankin JR. Fetal alcohol syndrome prevention research. *Alcohol Research and Health* 2002;26(1):58-65.
35. Babor T. Preventing illicit drug use by young people. In: *Drug policy and the public good*. Oxford: Oxford University Press; 2010 .p. 105-22.

36. Petty R, Cacioppo JT, Goldman R. Personal involvement as a determinant of argument-based persuasion. *Journal of Personality and Social Psychology* 1981;41:847-55.
37. Petty R, Cacioppo JT. *Communication and persuasion: central and peripheral routes to attitude change*. New York: Springer; 1986.
38. Burns E, Gray R, Smith LA. Brief screening questionnaires to identify problem drinking during pregnancy: a systematic review, *Addiction* 2010;105:601-61.
39. Sokol RJ, Martier SS, Ager JW. The T-ACE questions: practical prenatal detection of risk-drinking. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:863-8, discussion 868-70.
40. Chang G, Wilkins-Haug L, Berman S, Goetz M. A brief intervention for alcohol use in pregnancy: A randomized trial. *Addiction* 1999;94:1499-508.
41. Handmaker NS, Miller WR, Manicke M. Finding of a pilot study of motivational interviewing with pregnant drinkers. *Journal of Studies on Alcohol* 1999; 60:285-7.
42. Project CHOICES Intervention Research Group. Reducing the Risk of Alcohol-Exposed Pregnancies: A Study of a Motivational Intervention in Community Settings. *Pediatrics* 2003;111(5):1131-5.
43. Floyd RL, Sobell M, Velasquez MM, Ingersoll K, Nettleman M, Sobell L, et al. Preventing alcohol-exposed pregnancies: A randomized controlled trial. *American Journal of Preventive Medicine* 2007;32:1-10.
44. Handmaker N., Miller WR, Manicke M. Findings of a pilot study of motivational interviewing with pregnant drinkers. *J Stud Alcohol* 1999;60(2):285-7.
45. Stade BC, Bailey C, Dzentoletas D, Sgro M, Dowswell T, Bennet D. Psychological and/or educational interventions for reducing alcohol consumption in pregnant women and women planning pregnancy (Review). *The Cochrane Library* 2009;2:1-30
46. Streissguth A. *Fetal alcohol syndrome: a guide for families and communities*. Baltimore, MD: Paul H. Brookes Publishing; 1997.
47. Grant TM, Ernst CC, Streissguth A, Stark K. Preventing alcohol and drug exposed births in Washington State: intervention findings from three Parent-Child Assistance Program Sites. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 2005;31:471-90.
48. Leenars LS, Denys K, Henneveld D, Rasmussen C. The impact of fetal alcohol spectrum disorders on families: evaluation of a family intervention program. *Community Ment Health J* 2012;48(4):431-5.

## **SERVIZI A SUPPORTO DELLE PROBLEMATICHE LEGATE ALL'ALCOL: L'ESPERIENZA DEL TELEFONO VERDE ALCOL DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ**

Enrica Pizzi, Alessandra Di Pucchio, Luisa Mastrobattista, Roberta Pacifici  
*Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

### **Introduzione**

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha sottolineato in vari documenti l'urgenza di intervenire sui fattori di rischio legati agli stili di vita tra questi un ruolo importante lo ricopre la riduzione significativa dell'uso e abuso di sostanze che causano dipendenza (1, 2).

Il fenomeno delle dipendenze negli ultimi decenni si è diffuso in modo preoccupante nei paesi industrializzati tanto da incidere in modo pesante sulla salute degli individui e più in generale sulla società, e il consumo dannoso di alcol rappresenta una delle problematiche più urgenti. Sebbene, solo la metà della popolazione mondiale consuma bevande alcoliche, l'alcol è la terza causa di malattia e morte prematura a livello mondiale, dopo il basso peso alla nascita e il sesso non sicuro, e prima del tabacco. Il danno causato dall'alcol, oltre che al bevitore, si estende alle famiglie e alla collettività, gravando sull'intera società.

La Regione Europea dell'OMS è la regione del mondo con i più alti livelli di consumo di alcol e danni alcol-correlati. Tale consumo è stato identificato come un fattore di rischio per il carico di malattia e di mortalità prematura a livello globale, e come un problema sostanziale nella Regione Europea dell'OMS (3-5). L'ultimo Piano d'Azione Europeo per ridurre il consumo dannoso di alcol 2012-2020, approvato da 53 Stati Membri del Comitato regionale per l'Europa nel settembre 2011 a Baku, Azerbaijan, sottolinea l'urgenza di dare delle risposte concrete per far fronte a tale scenario, fornendo delle linee guida per la riduzione dei danni causati dall'alcol (6, 7).

Un recente rapporto ha indicato che nell'Unione Europea, 1 ogni 7 decessi negli uomini e 1 in ogni 13 decessi in donne nel gruppo di età 15-64 anni è stato a causa dal consumo di alcol (5).

In Italia la popolazione con consumi a rischio nel 2011 è pari al 23,9% degli uomini e al 6,9% delle donne di età superiore a 11 anni, per un totale di oltre 8 milioni di persone (8). Inoltre negli ultimi anni i dati sui modelli di consumo evidenziano anche nel nostro Paese c'è stato un cambiamento: da un tradizionale modello di consumo mediterraneo, caratterizzato da consumi quotidiani e moderati, sempre meno diffuso e che riguarda le fasce d'età più mature e anziane si è passati ad un modello di consumo occasionale e fuori pasto, tra i giovani e giovani adulti (8).

Il Piano d'Azione sull'Alcol ribadisce la necessità di formulare o, se necessario, riformulare politiche nazionali e rafforzare la collaborazione internazionale di fronte a crescenti livelli di sfide comuni in questo settore (6).

I governi e le organizzazioni internazionali sulla salute, tenendo conto delle indicazioni fornite dall'OMS, in questi anni stanno, infatti, sostenendo piani di intervento multifattoriali al fine di prevenire e contrastare tale problematica programmando interventi di prevenzione e promozione della salute (9, 10).

Tra questi la diffusione di informazioni corrette sulle sostanze attraverso campagne di comunicazione e l'accesso ai servizi per la cura delle dipendenze, sono tra le attività ritenute fondamentali per contrastare tale problematica. Oggi, infatti, si dà molta importanza al coinvolgimento delle persone affinché contribuiscano al mantenimento della propria salute, a migliorarla e a tutelarla attraverso la messa in atto di processi decisionali che portano a compiere alcuni comportamenti piuttosto di altri.

In questo scenario si inserisce l'attività dell'Osservatorio Fumo, Alcol e Droga (OssFAD) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), quale organo di informazione e formazione sulle dipendenze. L'OssFAD in questi anni ha promosso numerose attività e progetti con la finalità di contrastare il fenomeno delle dipendenze, tra queste l'attivazione di Servizi di Telefono Verde, anonimi e gratuiti, tra i quali il Telefono Verde Alcol 800 63 2000 (TVAl).

Di seguito, dopo una breve panoramica su alcuni aspetti teorici inerenti la salute e la sua tutela, descriviamo l'attività svolta in questi anni dal Telefono Verde Alcol.

## **Nuovi orientamenti sulla salute**

Sul concetto di salute e sulla sua definizione si è sviluppato in questi ultimi anni un dibattito internazionale molto intenso. I governi nazionali attraverso gli ultimi Piani Sanitari Nazionali, l'Unione Europea tramite le proprie direttive e l'Organizzazione Mondiale della Sanità sottolineano la necessità di promuovere la salute nella sua complessità e totalità, rintracciando in quest'ultima un bene comune per la collettività.

Il concetto di salute ha assunto un significato profondamente diverso e se in passato era considerata come assenza di malattia, negli ultimi anni si sta sempre più sviluppando l'idea che essa rappresenti uno stato più generale di benessere che coinvolge la sfera personale, sia psichica che fisica, sociale e relazionale dell'individuo (11). Poiché la salute è il risultato di una serie di determinanti di tipo sociale, ambientale, economico e genetico (determinanti della salute), è necessario programmare interventi che coinvolgano i diversi settori della società in grado, con la loro azione, di influenzare la salute (12-14).

In questa prospettiva la salute viene considerata una risorsa e quindi un mezzo che consente alle persone di condurre una vita produttiva a livello individuale, sociale ed economico; diventando così un bene sia personale che sociale e come tale le responsabilità della sua tutela spettano all'individuo, alla famiglia alla collettività e naturalmente alle agenzie di sanità pubblica.

Tenendo conto di questi aspetti epistemologici è necessario progettare sia interventi di promozione della salute ossia azioni socio-politico globali volte a modificare le condizioni sociali, ambientali e economiche dove gli individui vivono (ambienti lavorativi, educativi, sanitari e familiari), che di prevenzione della salute (universale, selettiva, indicata) ossia quelle misure volte a prevenire l'insorgenza di un disturbo e a fermarne l'evoluzione riducendone le conseguenze una volta insorto (15).

Tali nuovi orientamenti culturali implicano un nuovo modo di pensare da parte di tutta la società e pongono molta enfasi sul concetto di empowerment quale processo dell'azione sociale attraverso il quale le persone, le organizzazioni e le comunità sviluppano competenza sulle proprie vite, al fine di apportare dei cambiamenti nel proprio ambiente sociale e politico e migliorare la qualità di vita (16-19).

A livello internazionale, l'OMS, infatti, sin dal 1978, attraverso le diverse Conferenze sulla Promozione della Salute, chiede infatti agli Stati membri l'impegno ad assumersi responsabilità precise sul tema della partecipazione dei cittadini, rintracciando nell'empowerment individuale e

della comunità delle strategie fondamentali per implementare concretamente ed efficacemente azioni a favore della salute (20-23).

Senza entrare nella disamina che c'è in merito al costrutto dell'empowerment (24,25), in sintesi possiamo dire che il "cittadino empowered" è un soggetto che comprende e sceglie, è un costruttore dei propri stili di vita e un protagonista del proprio benessere, ed è pertanto un soggetto in grado di interagire razionalmente e responsabilmente con il proprio ambiente di riferimento (26). Questo aspetto è tra l'altro facilitato anche dalla maggiore facilità che la popolazione ha ad accedere alle informazioni sulla salute e la sua tutela, grazie all'ampia diffusione delle vecchie e nuove tecnologie (mezzi di comunicazione, internet, telefonia, ecc.), (26, 27).

È grazie quindi ad un incremento della capacità degli individui a prendere l'iniziativa nonché quella dei gruppi, delle organizzazioni o delle comunità che si possono così influenzare i determinanti della salute.

Tra le attività per promuovere l'empowerment si inserisce il counselling quale metodologia d'intervento volta a mobilitare appunto le risorse delle persone per facilitare azioni a favore della salute. Il counselling viene utilizzato in vari ambiti (educativo, organizzativo, sanitario, ecc) assumendo importanza anche nel trattamento di problematiche come quelle da dipendenza da alcol e in più in generale da sostanze (28, 29)

L'ultimo Piano d'Azione sull'Alcol sottolinea l'importanza del counselling sia per la diffusione di programmi informativi che per l'attuazione di programmi di trattamento riferiti all'alcol (6).

## Aspetti metodologici

### Counselling telefonico risorsa per le problematiche alcol-correlate

Il TVAl è un servizio nazionale, anonimo e gratuito, attivo dal lunedì al venerdì dalle ore 10.00 alle ore 16.00, e si inserisce nell'ambito delle attività promosse dall'OssFAD sull'alcol. Molti autori concordano nel ritenere i servizi di aiuto telefonico strumenti a supporto degli approcci di salute pubblica (30-33).

La metodologia utilizzata nell'intervento telefonico dagli operatori del TVAl fa riferimento alle teorie e alle tecniche del counselling vis à vis. In merito al counselling c'è una copiosa letteratura che ne descrive le prospettive teoriche e gli aspetti metodologici (34-39). In linea generale il counselling ha l'obiettivo di aiutare le persone a mobilitare le proprie risorse affinché possano affrontare in maniera adattiva e creativa il proprio problema e attivare processi di cambiamento.

In letteratura (39) il cambiamento è definito come un processo graduale che attraversa specifici stadi, seguendo un percorso ciclico e progressivo e non come un fenomeno del tipo "tutto o niente".

Il processo di cambiamento viene interpretato attraverso il "modello transitorio degli stadi del cambiamento" elaborato da Prochaska e Di Clemente nel 1984, applicabile non solo ai comportamenti patologici o di dipendenza, ma anche ai comportamenti umani in generale. Gli autori teorizzano che ogni cambiamento comportamentale avvenga attraverso degli stadi (la pre-contemplazione, la contemplazione, la preparazione, l'azione, il mantenimento) e che ognuno di essi corrisponde un grado motivazionale sul quale lavorare attraverso tecniche di counselling per facilitare il passaggio da uno stadio ad un altro (40-41).

Questo approccio è molto utilizzato nell'ambito delle dipendenze dove il counselling è caratterizzato da una maggiore direttività, da un maggior utilizzo di componenti psicoeducative e da interventi fondati sui presupposti teorici relativi alla dipendenza.

Negli ultimi anni le tecniche proprie del counselling *vis à vis* sono utilizzate anche nel counselling telefonico all'interno delle linee di aiuto o *help line* (42). Questi servizi, che vengono impiegati in diverse problematiche (AIDS, dipendenze, salute mentale, infanzia), in ambito internazionale sono riconosciuti come "ponte di accesso" per un counselling *vis à vis* (43). Si tratta di servizi che riescono a raggiungere un'alta percentuale di popolazione e per molti utenti la linea telefonica rappresenta il primo contatto con un servizio. Il counselling telefonico si è sempre più diffuso grazie ad un utilizzo del telefono, anche della telefonia mobile, come mezzo per accedere alle informazioni in modo più attivo.

Le linee d'aiuto si differenziano principalmente in base: al contesto in cui operano (volontariato, privato sociale, istituzione), al target a cui si rivolgono (popolazione in generale o alcune categorie), ai servizi offerti (informazione, ascolto, consulenza, orientamento), agli operatori che rispondono (volontari, professionisti), alla formazione degli operatori. Nel counselling telefonico il contatto con l'utenza avviene attraverso due principali modalità: una di tipo "reattivo" in cui l'utente contatta il servizio telefonico e una modalità di tipo "proattivo", in cui sono gli operatori a contattare gli utenti o entrambe le modalità (44).

In Italia negli ultimi anni si sono diffusi molto questi servizi che hanno diverse denominazioni in relazione alla tematica della quale si occupano, pensiamo al Telefono Verde AIDS (45), al Telefono Verde contro il Fumo (46, 47), al Telefono Verde Trapianti (48), e al Telefono Verde Anti-doping (49).

In sintesi possiamo dire che il counselling telefonico ha una sua identità e alcune caratteristiche che lo diversificano rispetto a quello tradizionale.

Innanzitutto mentre nel counselling *vis à vis* la comunicazione avviene attraverso aspetti verbali, non verbali e paraverbali, in quello telefonico sono presenti solo quelli verbali (parole e loro significato) e quelli paraverbali (volume, timbro, ritmo e velocità della voce, sospiri e silenzi), venendo meno il linguaggio non verbale (gestualità, mimica, ecc.) sia per l'operatore che per l'utente.

Un altro aspetto è il tempo che nel counselling *vis à vis* è stabilito a priori e definito dall'operatore, mentre in quello telefonico il colloquio si svolge in tempi non preordinati e dipendenti dall'utente che, in qualsiasi momento, può interrompere la telefonata. Infine lo spazio nel counselling *vis à vis* l'operatore e l'utente è condiviso (setting) mentre in quello telefonico c'è l'assenza di uno spazio fisico condiviso.

Un'altra caratteristica propria del counselling telefonico è l'anonimato che favorisce il superamento di difficoltà e disagi di carattere psicologico e sociale connessi ad argomenti come quelli relative all'uso/abuso di sostanze.

## Attività del Telefono Verde Alcol

Tutti questi aspetti caratterizzano il TVAl 800 632000 che si qualifica come strumento di interrogazione sulle molteplici informazioni riguardanti l'alcol, rappresentando un collegamento tra l'istituzione e i cittadini.

Al fine di garantire un servizio con caratteristiche di qualità, il TVAl si è organizzato tenendo conto della formazione degli operatori, del lavoro di équipe, della raccolta e gestione delle informazioni durante l'attività di ascolto telefonico attraverso una scheda di rilevazione dati. Gli operatori durante la telefonata al fine di orientare l'utente, accedono a banche dati aggiornate sui servizi socio-sanitari presenti sul territorio nazionale e orientano l'utente verso un

servizio territoriale, promuovendo un lavoro di rete e valorizzando le risorse del territorio. Tale aspetto è di grande rilevanza per offrire un intervento efficace affinché l'utente possa essere preso in carico da servizi idonei ad affrontare la propria problematica (50, 51).

Il TVAl si rivolge all'intera popolazione e in particolare ai giovani, alle donne e alle famiglie, alle persone che hanno problemi legati al consumo di alcol e ai loro familiari, alle istituzioni, alle associazioni e ai servizi che si occupano di interventi specifici di tutela e promozione della salute.

In sintesi nell'ambito della sua attività il TVAl:

- fornisce informazioni scientificamente corrette sugli effetti sulla salute del consumo di alcol e sulla legislazione in materia di alcol;
- informa sui servizi (strutture territoriali pubbliche, associazioni di volontariato e di auto e mutuo aiuto) disponibili sul territorio che si occupano di dipendenza da alcol;
- facilita la persona che formula la richiesta di aiuto ad attuare modifiche comportamentali individuando il "reale" problema e individuando, insieme all'utente, una gamma di possibili soluzioni del problema evidenziato;
- fornisce indicazioni su materiali per iniziative specifiche di prevenzione e di promozione della salute;
- sostiene e facilita un lavoro di rete tra i servizi sull'alcoldipendenza e più in generale tra i servizi socio-sanitari.

Gli utenti che contattano il TVAl hanno spesso bisogno di una risposta in tempi brevi e l'accoglienza telefonica deve essere organizzata per offrire informazioni chiare ed esaustive.

Gli operatori del TVAl raccolgono, infatti, storie particolarmente problematiche, dove l'alcol è quasi sempre la punta di un iceberg che acquista spesso un valore di causa e di effetto. Chi ascolta deve quindi avere la competenza di saper cogliere la complessità della situazione che telefonicamente viene narrata e cercare nell'intreccio del racconto una risorsa con la quale "allearsi" che può essere riferita sia alla persona che alle relazioni nelle quali l'utente è inserito.

In molti casi il chiamante sta percorrendo altre strade e la telefonata può rischiare di essere inserita all'interno di un groviglio di richieste d'aiuto spesso difficile da sciogliere. Quindi a volte la telefonata può e deve concludersi senza un altro ulteriore invio, ma rinforzando quello che l'utente già sta facendo.

Il counselling telefonico, come già sottolineato, può costituire quindi un primo passo per attivare e potenziare le risorse delle persone e nello stesso tempo guardare in modo più consapevole anche alle risorse offerte dal territorio.

## Tipologia di utenza

Le principali tipologie di utenza che contatta il TVAl sono familiari (o amici) di persone che hanno un problema con l'alcol (43%), alcolisti e persone che hanno un problema con l'abuso di alcol (36%), operatori socio-sanitari (15%). La distribuzione per sesso indica che il servizio è stato contattato dal 58% da donne e dal 42% da uomini, con un'età media di 53 anni per le donne e di 46 anni per gli uomini.

La telefonata ha una durata media di 15-20 minuti e diventa un mezzo dove poter raccontare la propria storia, la complessa situazione personale e familiare.

## **Familiari o amici**

Questa tipologia d'utenza fa sostanzialmente una domanda d'aiuto per un proprio familiare o un amico denunciando una forte preoccupazione e/o un grande disagio perché hanno vicino qualcuno che eccede nell'uso di alcol. In alcuni casi la persona che chiama è preoccupata sia per la salute della persona che abusa con l'alcol che per le persone che gli sono intorno esposte a violenze fisiche o psicologiche.

La preoccupazione e la stanchezza che emerge dalle telefonate, fa pensare a persone e famiglie che lottano da anni con il problema dell'alcol. La domanda d'aiuto non sempre è chiara ed esplicita, spesso l'utente va stimolato a ragionare su quello che può fare, sulle risorse e sui propri limiti individuando aree di cambiamento realistiche per trasformare la sua preoccupazione/rabbia in azioni di aiuto per se stesso e per l'altro.

In molti casi alla fine la telefonata si conclude con l'indicazione di un servizio che il familiare o l'amico può contattare come primo passo per attivare un cambiamento.

Nell'esperienza del TVAl del 43% di familiari o amici che hanno contattato il TVAl, il 36,7% è rappresentato da un partner, il 21,7% da un amico/collega, il 16,6% da un figlio, il 15% da un genitore e il 10% da un fratello/sorella di alcolista.

## **Alcolisti**

Un'altra tipologia di utenza è quella delle persone che fanno un uso eccessivo di alcol, che è caratterizzata sia da persone che hanno già fatto dei tentativi pregressi per smettere di bere che da persone che è la prima volta che fanno una richiesta d'aiuto. La prima tipologia in genere è già in contatto con le strutture territoriali, ma al momento in cui chiama ha delle difficoltà spesso legate ad una ricaduta.

In questi casi l'obiettivo della consulenza è quello di ridefinire quanto l'utente sta facendo, incoraggiandolo a non perdere i contatti attivati con le strutture territoriali e continuare il percorso terapeutico iniziato.

Le persone che chiamano per la prima volta dichiarano spesso di essere stati spinti a chiedere aiuto da un familiare o da un amico, in alcuni casi invece è stato un episodio grave accaduto legato al loro uso di alcol che li ha spaventati e che li ha portati a fare una domanda di aiuto.

Gli alcolisti hanno sempre una storia personale e familiare particolarmente difficile, alcuni hanno una doppia diagnosi, e spesso dichiarano di non riuscire a trovare servizi adeguati per rispondere al proprio disagio.

L'utente alcolista ha quasi sempre una visione chiara della sua situazione, non sempre però questo è sufficiente a farlo uscire dal problema. La consulenza telefonica ha l'obiettivo di individuare, insieme all'utente, quali strade si possono percorrere per provare ad attivare un cambiamento per smettere di bere da solo o con l'aiuto di un esperto.

## **Operatori socio-sanitari**

Gli operatori dei servizi socio-sanitari chiamano principalmente per avere materiale divulgativo e documentazione scientifica sull'alcol. Il TVAl è infatti coinvolto in campagne di sensibilizzazione sull'alcol e il numero del servizio è inserito spesso nel materiale realizzato in ambito di progetti sulle dipendenze e più in generale sugli stili di vita.

Il servizio in questi progetti rappresenta un vero e proprio strumento non solo per la divulgazione dei materiali ma anche per l'orientamento degli operatori a loro utilizzo.

La consulenza telefonica in questi casi ha l'obiettivo di individuare insieme all'operatore che chiama le proprie risorse e del contesto dove opera per realizzare interventi a favore della salute.

Alcuni operatori invece contattano il TVAl per segnalare situazioni difficili legate a pazienti seguiti dal proprio servizio. In questi ultimi anni in particolare vengono segnalate situazioni di grave disagio legate a persone immigrate, dove il problema dell'alcol si associa ad altre gravi problematiche socio-sanitarie.

In questi casi la consulenza telefonica ha l'obiettivo di fornire indicazioni su altre risorse che il territorio offre, facilitando un lavoro di rete dei servizi e diventa uno spazio di confronto anche per l'operatore che chiama e che spesso deve gestire situazioni piuttosto complesse.

## **Richiesta d'aiuto: differenze di genere**

Ai fini di una riflessione sull'utenza che contatta il servizio sembra importante sottolineare alcuni aspetti che caratterizzano le richieste d'aiuto che pervengono al TVAl. In particolare in questi 12 anni di attività, come già evidenziato, si è osservata una tendenza ossia che il servizio è contattato in misura maggiore da donne, alcune desiderano avere informazioni in generale sull'alcol e i suoi effetti sulla salute e altre chiedono invece un aiuto per persone a loro vicine che hanno problemi con l'abuso di alcol.

Le donne che chiamano per avere informazioni sugli effetti dell'alcol sono spesso donne in gravidanza e che hanno assunto alcol quando ancora non sapevano di essere incinte, queste donne spesso sono spaventate e desiderano sapere se hanno potuto causare danni al bambino. Nel fornire le informazioni richieste, l'obiettivo è quello di orientare la gestante e se necessario rassicurarla, ma allo stesso tempo esortarla a non far uso di alcol durante tutta la gravidanza e anche l'allattamento. La telefonata in questi casi diventa un'occasione per motivare la donna a rivolgersi ai servizi di tutela della maternità nella sua complessità.

Le donne con problemi d'alcol chiamano in misura minore rispetto agli uomini e sembrano avere una motivazione più intrinseca a fare una richiesta d'aiuto ovvero non riferita ad uno stimolo esterno (es. la "pressione" di un familiare), ma da una maggiore elaborazione personale.

Tra le donne che chiamano per aiutare persone a loro vicine che abusano con l'alcol ci sono madri, mogli, figlie, amiche e in questi ultimi anni anche donne straniere.

Le madri che chiamano chiedono aiuto per un figlio che eccede con l'uso di alcol, alcune descrivono situazioni di gruppo dove il figlio è inserito e della difficoltà di poter avere "influenza" sul proprio figlio. A queste madri si cerca di dare un supporto fornendo indicazioni sui servizi sociali per le famiglie e anche dei gruppi di mutuo-aiuto, dove poter trovare un supporto e una condivisione.

Le mogli sono un'altra tipologia di donne che chiama chiedendo aiuto per sé e per il marito, in alcuni casi sono donne che dichiarano di subire aggressioni fisiche e psicologiche, la richiesta d'aiuto arriva dopo vari tentativi di risolvere il problema da sole. La richiesta d'aiuto è spesso associata a uno stato d'animo di paura e vergogna, di grande difficoltà a parlarne con il proprio medico di base, questo aspetto è spesso legato al fatto di abitare in un piccolo centro dove si ha difficoltà a denunciare una situazione di disagio.

Le figlie sono un'altra tipologia di donne che chiama denunciando problemi di alcol riferiti ad uno dei genitori, spesso il padre, e richiedendo aiuto per sé e per il resto della famiglia.

Le amiche (colleghe di lavoro o vicine di casa) sono "spettatrici" di situazioni difficili che sebbene non le coinvolgano in modo diretto le preoccupano molto spingendole a ricercare un aiuto.

Queste richieste vengono gestite valutando insieme all'utente quali possibilità ci sono per creare un piccolo varco ed entrare in relazione con queste persone, al fine di offrire un aiuto concreto dando ad esempio un supporto per fare una richiesta personale ai servizi.

Le donne straniere sono un'altra tipologia che si sta ultimamente affacciando come utenza, sono donne che spesso hanno un compagno/marito che fa abuso di alcol e che dichiarano di aver scoperto questo problema solo dopo la convivenza. Queste donne descrivono una grande difficoltà a gestire il problema dell'alcol del proprio compagno, anche perché lontane dal proprio paese e spesso con grandi difficoltà economiche. In queste storie il problema dell'alcol si associa a problematiche sociali complesse a volte di difficile soluzione.

Una caratteristica che accomuna tutte queste storie, sia che la donna sia coinvolta direttamente che indirettamente in problemi da alcol, è il carico che ognuna di queste donne porta sulle proprie spalle, un dolore poco condiviso, dove la richiesta d'aiuto è vissuta anche con paura, sensi di colpa e d'impotenza.

In linea generale l'aiuto che si può offrire a queste donne è una possibilità di uscire dall'isolamento e rintracciare in ognuna di loro quelle risorse utili per cominciare o riprendere un percorso di cambiamento, tenendo conto che ogni storia ha una sua specificità e come tale va considerata.

## Conclusioni

Il consumo dannoso di alcol ha un enorme impatto sulla salute pubblica sebbene molti aspetti del problema alcol siano attualmente sottostimati. A livello di popolazione è necessario diffondere le informazioni sui rischi e allo stesso tempo sulle risorse disponibili di supporto ai problemi alcolcorrelati.

Gli orientamenti più recenti sulla salute sottolineano l'importanza di facilitare la partecipazione da parte degli individui per lo sviluppo delle proprie risorse con il fine di riconoscere e gestire i principali fattori di rischio e di malattia, ma anche per promuovere a pieno competenze di vita (l'empowerment). Il fulcro di ogni tipo di intervento è rappresentato dalla promozione delle capacità degli individui di riconoscere le proprie potenzialità e ad utilizzarle a favore della salute.

La letteratura internazionale attribuisce al counselling, anche al counselling telefonico, un ruolo importante per facilitare tali processi, in quanto basandosi su interventi di comunicazione interpersonale hanno il fine di potenziare le abilità individuali (comunicazione e relazione interpersonale, *problem solving*; gestione delle emozioni e dello stress, *decision making*) e migliorare la qualità della vita dell'individuo.

In particolare il counselling telefonico si presta bene ad essere utilizzato nelle problematiche relative all'uso/abuso di sostanze il cui obiettivo principale è far sì che la persona, attraverso la sua telefonata, abbia la possibilità di attivare un processo relazionale, che conduca ad una soluzione condivisa del problema.

Per alcune tipologie di problematica la consulenza telefonica può rappresentare un primo contatto per una persona che, vivendo una situazione di disagio, sente il bisogno di chiedere aiuto, rappresentando spesso un valido strumento per facilitare una maturazione della domanda di aiuto più strutturata che deve essere gestita dai servizi territoriali.

Il TVAl dell'ISS, nei suoi 12 anni di attività, ha lavorato in questa direzione con la finalità di diffondere informazioni corrette sull'uso e abuso di alcol e sui servizi territoriali (pubblici e del privato sociale) di supporto alle problematiche alcol-correlate. Inoltre il servizio costituisce una fonte di informazione preziosa per identificare diverse tipologie di utenza, osservare i cambiamenti che avvengono nel tempo e fornire in tempo reale indicazioni utili ai fini dell'elaborazione di idonee strategie di intervento ed prevenzione.

I servizi come il TVAl, grazie al fatto di essere facilmente accessibili, gratuiti e attivi per molte ore al giorno, sono un'importante risorsa messa a disposizione della popolazione al fine di

fornire supporto psicologico a tante persone che vivono realtà dolorose e contribuire a contrastare il dilagante fenomeno dell'alcoldipendenza e dei problemi alcolcorrelati.

## Bibliografia

1. World Health Organization. *WHO: 2008-2013 Action plan for the Global Strategy for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases*. Geneva: WHO; 2008
2. World Health Organization. *Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks*. Geneva: WHO; 2009.
3. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, *et al.* A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012;380:2224-60.
4. Rehm J *et al.* Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol use disorders. *Lancet*; 2009, 373:2223-33
5. Shield KD, Tara Kehoe T, Gerrit Gmel G, Maximi lien X Rehm MX, Rehm J. Societal burden of alcohol. In: Anderson P, Moller L, Galea G (Ed.). *Alcohol in the European Union. Consumption, harm and policy approaches*. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2012. p. 10-28.
6. *WHO-EUROPE: Piano Europeo d'Azione Europeo per ridurre il consumo dannoso di alcol 2012-2020. Traduzione autorizzata*. Roma: Ministero della Salute; 2011. Disponibile all'indirizzo: [http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_1738\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1738_allegato.pdf); ultima consultazione 15/7/2012)
7. World Health Organization. *Global strategy to reduce the harmful use of alcohol*. Geneva: WHO; 2010. Disponibile all'indirizzo: [http://www.who.int/substance\\_abuse/msbalcstrategie.pdf](http://www.who.int/substance_abuse/msbalcstrategie.pdf); ultima consultazione 15/7/2013.
8. Italia. Relazione del Ministro della Salute al Parlamento sugli interventi realizzati ai sensi della legge 30.3.2001 n.124 Legge quadro in materia di alcol e problemi alcol correlati. Roma: Ministero della Salute; 2012.
9. Ministero della Salute. *Piano Nazionale Alcol e Salute. 2007*. Roma: Ministero della Salute; 2007. Disponibile all'indirizzo: [http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_623\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_623_allegato.pdf); ultima consultazione 15/7/2013.
10. Italia. DPCM 4 maggio 2007: "Guadagnare salute: rendere facili le scelte salutari" *Gazzetta Ufficiale* n. 117, 22 maggio 2007.
11. Gadamer HG. *Über die Verborgenheit der Gesundheit*. Frankfurt am Main SurkampVerlagm; 1993. (trad. it. Dove si nasconde la salute. Raffaello Cortina Editore, 1994).
12. Commission on Social Determinants of Health. *A conceptual framework for action on the social determinants of health*. Discussion Paper (Final Draft), 2007.
13. Dahlgren G, Whitehead M. *Policies and strategies to promote social equity in health*. Stockholm: Institute of Futures Studies; 1991.
14. Braibanti P. *Pensare la salute*. Milano: Franco Angeli; 2002.
15. EMCCDA. *Relazione annuale 2011: evoluzione del fenomeno della droga in Europa*. 2011
16. Rappaport J. In praise of paradox: a social policy of empowerment over prevention. *American Journal of Community Psychology* 1981;9(1):1P25.
17. Francescato D, Giusti E. *Empowerment e clinica*. Roma: Edizioni Kappa; 1999.
18. Wallerstein N. *Evidence of effectiveness of empowerment interventions to reduce health disparities and social exclusion*. Copenhagen, Denmark: World Health Organization, Health Evidence Network.

2006. Disponibile all'indirizzo: [www.euro.who.int/HEN/syntheses/empowerment/20060119\\_10](http://www.euro.who.int/HEN/syntheses/empowerment/20060119_10): ultima consultazione 15/7/2013
19. Wallerstein N. Powerless, empowerment and health: implications for health promotion programs. *American Journal of Health Promotion* 1992;6(3):197-205.
  20. WHO/UNICEF. *Declaration of Alma Ata*. Geneva: WHO; 1978.
  21. *Ottawa Charter for Health Promotion, First International Conference on Health Promotion*. Ottawa, 21 November 1986. (WHO/HPR/HEP/95.1)
  22. *The Jakarta Declaration on Leading Health Promotion into the 21st Century*. Geneva, 1997 (WHO/HPR/HEP/4IChP/BR/97.4)
  23. World Health Organization. *Health Promotion Glossary*. Geneva: WHO; 1998.
  24. Zimmerman MA. Empowerment theory: psychological, organizational and community levels of analysis. In: Rappaport J, Seidman E (Ed.). *Handbook of community psychology*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2000. p. 43-63.
  25. Zimmerman MA. Empowerment e partecipazione della comunità. *Animazione Sociale* 1999;2:10-24.
  26. Ministero della Salute. *Linee guida per la comunicazione on-line in tema di tutela e promozione della salute*. Roma: Ministero della Salute; 2010.
  27. Faralli C, Ferrari M, Guderzo S, Morassi E, Roazzi P, Deodati S. *Evoluzione di un progetto comunicativo istituzionale: il sito web dell'Istituto Superiore di Sanità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Rapporti ISTISAN 09/14).
  28. Moyer A, Finney J, Swearingen C. Brief interventions for alcohol problems: a meta-analytic review of controlled investigations in treatment seeking and non treatment seeking populations. *Addiction* 2002;97:279-92.
  29. Zuccaro P, Caraffa G, Corti FM, Davoli M, Enea D, Fogliani V, Galeone D, Malvezzi E., Minozzi S, Nardini S., Pacifici R, Vannuzzo D, con il gruppo di lavoro (Di Pucchio A, Martucci L, Mattioli D, Modigliani G, Mortali C, Pizzi E, Russo R, Scafato E). *Linee guida per promuovere la cessazione dell'abitudine al fumo*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2002.
  30. Zuccaro P. Osservatorio Fumo, Alcol e Droga. *Not Ist Super Sanità* 2001;14(1):3-10.
  31. Wakefield M, Borland R. Saved by the bell: the role of telephone helpline services in the context of mass-media anti-smoking campaigns. *Tob Control* 2000; 9: 117-9 (Summer).
  32. Zhu SH, Anderson CM, Johnson CE, Tedeschi G, Roeseler A. A centralised telephone service for tobacco cessation: the California experience. *Tobacco Control* 2000;9 (suppl 2):48-55.
  33. Vera da Costa e Silva (Ed.). *Policy recommendations for smoking cessation and treatment of tobacco dependence. (Tools for Advancing Tobacco Control in the XXIst century)*. Geneva: World Health Organization; 2003.
  34. Rogers CR. *La terapia centrata sul cliente*. Firenze: Martinelli; 1989.
  35. Mucchielli R. *Apprendere il counseling*. Trento: Erickson; 1994.
  36. Carkhuff R. *L'arte di aiutare – Manuale*. Trento: Erickson; 1987.
  37. Carkhuff R. *L'arte di aiutare*. Trento: Erickson; 1998.
  38. Giusti E. *Counseling. Applicazioni e settori di intervento per l'operatore tecnico socio-assistenziale*. Roma: Quaderni Aspic; 1995.
  39. Ragazzoni P, Di Pilato M, Longo R, et al. *Gli stadi del cambiamento: storia, teoria ed applicazioni. Modello transteorico di Di Clemente e Prochaska*. Torino: Regione Piemonte - Ass. alla Tutela della Salute e della Sanità; 2007. (Quaderni del Centro Regionale di Documentazione per la Promozione della Salute).

40. Rollnick S, Bell A. Interventi brevi a uso dei non specialisti. In: Miller WR, Rollnick S (Ed.). *Il colloquio di motivazione. Tecniche di counselling per problemi di alcol, droga e altre dipendenze*. Trento: Erickson; 1994. p. 245-57.
41. Miller WR, Rollnick S. *Il colloquio di motivazione. Tecniche di counselling per problemi di alcol, droga e altre dipendenze*. Trento: Erickson; 1994.
42. Pizzi E, Di Pucchio A, Martucci L, Pacifici R, Zuccaro P. Campagne di prevenzione e counselling telefonico. In: Rossin MR, Bianchi MP (Ed.). *Help line. Lavoro e Formazione per rispondere alle richieste di aiuto telefonico*. Milano: Franco Angeli; 2009. p. 43-58.
43. Seth M. *Telephone counselling for enhancing life skills*. UNFPA – United Nations Population Fund; 2001.
44. Stead LF, Lancaster T, Perera R. Telephone counselling for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(1) CD002850.
45. Camoni L, Colucci A, D'Agostini A, Gallo P, Luzi AM, Rosa E, Valli R. La prevenzione nella lotta contro l'infezione da HIV e l'AIDS. *Il Telefono Verde AIDS. Not Ist Super Sanità* 2002;15(2):3-9.
46. Pacifici R, Di Pucchio A, Pizzi E, Martucci L, Mortali C, Zuccaro P. L'attività di counselling del Telefono Verde contro il Fumo dell'Istituto Superiore di Sanità. *Bollettino per le Farmacodipendenze e l'Alcolismo* 2001;2:103-9.
47. Pizzi E, Di Pucchio A, Mastrobattista L, Solimini R, Pacifici R, Pichini S. A Helpline telephone service for tobacco related issues: the Italian experience. *Int J Environ Res Public Health* 2009;6(3):900-14.
48. Luzi AM, De Mei B, Storani D, Gallo P, Pietrangeli R, Venettoni S, Mattucci DA, Rizzato L, Prestinaci P, Nanni Costa A. *Il Telefono Verde Trapianti: una scelta consapevole per la donazione d'organo "800.333033"*. *Not Ist Super Sanità* 2003;16(06):18-19.
49. Pizzi E, Di Pucchio A, Mastrobattista L, Solimini R, Zuccaro P. Il Telefono Verde Anti-Doping 800 896970 dell'Istituto Superiore di Sanità. *Not Ist Super Sanità* 2009;22(9):3-5.
50. Folgheraiter F. Lavoro di rete e valorizzazione delle risorse personali. In: *L'intervento di rete*. Torino: Edizioni Gruppo Abele; 2002.
51. Maguire L. *Il lavoro sociale di rete*. Trento: Erickson; 1999.

# **SERVIZI TERRITORIALI E GESTIONE DEI PROBLEMI ALCOL-CORRELATI NELLA DONNA: ESPERIENZE SUL CAMPO**

Claudio Leonardi, Roberto Fagetti, Francesco Flavio Castracane, Elisabetta Faedda,  
Domenica Rita Gioffré, Annalisa Pascucci, Elena Cortese, Dina Pero, Paola Rizzo, Valentina Scarpino  
*Unità Operativa Complessa Prevenzione e Cura Tossicodipendenze ed Alcolismo, Ser.T D11 ASL RMC,  
Roma*

## **Introduzione**

Tutte le rilevazioni ad oggi disponibili sul fenomeno delle patologie della dipendenza a livello nazionale, europeo e internazionale, sono omogenee nell'evidenziare profonde differenze tra maschi e femmine nei consumi di sostanze ad azione psicoattiva. In tutti gli Stati occidentali, infatti, le donne sono in chiara inferiorità numerica rispetto agli uomini nell'uso di tutte le sostanze illegali psicotrope, mentre si stanno progressivamente allineando ai maschi nei consumi di alcol e tabacco e presentando, al contrario, un consumo quasi doppio di psicofarmaci prescritti (1, 2).

Partendo da queste evidenze epidemiologiche, si è iniziato a interrogarsi sulle possibili ragioni di queste differenze di genere e a misurarle nei due sessi, entrando in merito alla valutazione degli stili di consumo, all'evoluzione e caratteristiche dei diversi comportamenti additivi primari e accessori, al background socio-culturale e familiare, alla caratteristica delle motivazioni subordinate alla richiesta d'aiuto ai servizi e alla aderenza ai diversi trattamenti farmacologici e psicoterapeutici sviluppabili (3).

Specificatamente per l'alcol, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) stima che in Europa si abbia un consumo pro capite più elevato al mondo che risulta, infatti, il doppio rispetto alla media mondiale. L'alcol è il terzo fattore di rischio per le morti e per le invalidità, ed è il principale fattore di rischio per la salute dei giovani. Quindi, le conseguenze che derivano dal consumo di alcol hanno anche ampie ripercussioni sull'organizzazione sociale sia rispetto al nucleo familiare, originario e/o costituito, del consumatore, sia rispetto alla società in genere, e dove i problemi correlati alla famiglia, all'ambiente di lavoro, agli incidenti stradali, alla violenza domestica soprattutto orientata verso il genere femminile, rappresentano solo alcuni degli esempi riconducibili agli effetti dannosi collegati già anche al solo consumo problematico di alcol (4).

## **“Mission & vision” dei servizi per le patologie da dipendenza**

Il Servizio per le Tossicodipendenze (Ser.T), individuato nella nostra Azienda come Unità Operativa Complessa Prevenzione e Cura delle Tossicodipendenze e dell'Alcolismo - Ser.T, è il servizio territoriale che istituzionalmente si occupa di qualsiasi problema riguardi l'uso, l'abuso e la dipendenza da sostanze psicotrope illegali e legali quali l'eroina, la cocaina, l'LSD,

l'ecstasy, l'amfetamina, l'hashish, la marijuana, l'uso non terapeutico di psicofarmaci, l'alcol e il tabacco.

In ragione della Legge 49/2006, della Legge 162/1990, del DPR 309/1990, del DM 444/1990, del DM 445/1990, della Legge 45/1999, dell'Accordo Stato-Regioni del 21 gennaio 1999 e della Legge 49/2006, i Ser.T assicurano la disponibilità dei principali trattamenti relativi alla cura e alla riabilitazione dall'uso di sostanze, nonché la prevenzione e la cura delle patologie correlate, anche in collaborazione con altri servizi specialistici. Le prestazioni sono erogabili in forma individuale o a piccoli gruppi nella sua sede operativa o, se necessario, a domicilio. Le prestazioni di prevenzione possono essere erogate anche mediante mezzi mobili. Al servizio si accede volontariamente ed è garantito l'anonimato.

Le prestazioni connesse sono tutte gratuite e, nell'ambito delle competenze menzionate, provvedono nello specifico a:

- garantire l'accoglienza, la diagnosi e la presa in carico del paziente;
- predisporre, per ogni singolo paziente, un programma terapeutico e riabilitativo con valutazione diagnostica multidisciplinare iniziale e monitoraggio periodico delle variazioni dello stato di salute in relazione ai risultati degli interventi effettuati;
- eseguire terapie farmacologiche specifiche compreso il monitoraggio clinico e laboratoristico essendo, peraltro, l'unico servizio specialistico di base delle Aziende USL, deputato all'uso di farmaci sostitutivi e non e alla elaborazione dei programmi terapeutici individuali, previa osservazione e diagnosi;
- svolgere attività di psicodiagnosi, counseling, di sostegno psicologico e di psicoterapia;
- svolgere attività di orientamento e di sostegno in ambito sociale ed educativo;
- svolgere specifiche attività di prevenzione delle principali cause di morte e d'inabilità conseguenti l'abuso di sostanze;
- attivare specifici programmi d'interventi in caso di uso di sostanza durante la gravidanza; nei casi di prostituzione e in seguito ad episodi di violenza;
- rilevare i dati statistici ed epidemiologici relativi alle attività e al territorio di competenza;
- svolgere attività di riabilitazione e di prevenzione delle ricadute;
- individuare comportamenti a rischio di malattie correlate alla tossicodipendenza;
- svolgere attività d'informazione ed educazione sanitaria;
- collaborare con i Provveditorati agli Studi per la realizzazione d'interventi di educazione alla salute e di prevenzione;
- collaborare con l'Amministrazione Penitenziaria negli interventi di prevenzione, cura e riabilitazione dall'abuso di sostanze;
- predisporre e attuare opportuni programmi terapeutici dei soggetti inviati dall'Amministrazione Penitenziaria;
- collaborare con i medici di Medicina Generale nell'attuazione di programmi d'intervento domiciliare.

I destinatari del servizio sono:

- soggetti dipendenti sia da sostanze stupefacenti, che da alcol e che da farmaci;
- famiglie con difficoltà legate all'abuso di sostanze stupefacenti;
- tutti i cittadini che richiedono consulenze e informazioni sugli eventuali disagi conseguenti all'abuso delle sostanze sopra citate (5).

## Effetti e interazioni neuropsicobiologiche dell'alcol e dei derivati alcolici

L'alcol una volta ingerito, è rapidamente assorbito a livello dello stomaco e dell'intestino. Finito nel torrente ematico, oltrepassa facilmente le membrane cellulari e, in caso di uso problematico/abuso, provoca lesioni intracellulari fino alla distruzione delle cellule stesse. È stato stimato che nel corso di un'intossicazione acuta, l'alcol è in grado di distruggere circa 100.000 neuroni, dando luogo ad un danno cerebrale irreversibile.

Il cervello promuove il suo processo evolutivo e la sua completa maturazione, acquisendo ed elaborando gli stimoli che gli provengono dal mondo esterno sin dalla nascita. Questo processo di crescita completa, si esaurisce tra i 20 e i 25 anni, con importanti varianti individuali tra i due generi. Sembra comprensibile, quindi, come soprattutto durante tutto questo specifico arco temporale evolutivo ma anche in seguito al suo completamento, le cellule cerebrali siano molto sensibili agli stimoli provenienti dall'esterno, come appunto quelli prodotti dalle sostanze psicotrope e dall'alcol in particolar modo, e come la loro fisiologia e naturale funzionalità possono venir facilmente alterati e corrotti.

Nel tempo in cui le cellule cerebrali subiscono gli effetti dell'alcol, le relazioni plastiche e funzionali tra le cellule nervose, si modificano radicalmente per un'azione di questa sostanza sul funzionamento dei meccanismi di controllo epigenetici che, nel tempo, si consolidano progressivamente, rimodulando la fisiologia, la personalità e il funzionamento mentale del soggetto *addicted*. Appare evidente, quindi, che i danni che le sostanze alcoliche sono in grado di produrre nel cervello dei consumatori problematici, sconvolgono importanti e delicati sistemi neuropsicologici all'interno di esso, creando, oltre a documentabili danni fisici sistemici, anche il persistere di percezioni alterate del proprio essere e del mondo esterno. Queste nuove e potenti percezioni sono memorizzate dall'individuo creando un deterioramento cognitivo e una serie di alterazioni neurologiche e psichiche, che possono persistere per moltissimo tempo, se non addirittura per tutta la vita, condizionando il fisiologico comportamento collegato agli stimoli primordiali e correlandolo unicamente agli stimoli provocati dall'alcol, con indici di gravità sempre presenti e variabili nei due generi (6).

## Alcol e genere femminile

La prevalenza di dipendenza alcolica nel genere femminile è un valore difficilmente misurabile perché profondamente sotteso e, nella maggior parte dei casi, celato tra le mura domestiche. Le nostre stime di addetti ai lavori, fondate sui dati di presa in carico presso i servizi territoriali, ci permettono di dichiarare che il fenomeno è contestualmente molto esteso e certamente in aumento, con valori di consumo problematico nel nostro paese, pari a circa 2 milioni di donne. Se in Italia negli ultimi dieci anni registriamo un trend in discesa nella diffusione dei consumi di bevande alcoliche, non ci sembra strano se al contrario, quindi, si riscontrano incrementi indicativi nella popolazione femminile.

Secondo l'ISTAT (Istituto Nazionale di Statistica) consumo alcolico nelle donne s'innalza in ragione del livello culturale e del titolo di studio posseduti, con un'incidenza del 42% per le donne con licenza elementare che s'incrementa al 68% nelle laureate e con una maggiore evidenza nella fascia d'età tra 25 e i 44 anni. Le donne sembrano più esposte ad ammalarsi nell'arco temporale dei 30/50 anni e, quindi, in coincidenza della completa maturazione del processo procreativo e con il probabile inizio del climaterio. Gli uomini, a differenza, sembrano correre tale rischio in misura maggiore tra i 25 e i 45 anni, nel pieno dell'attività lavorativa. I

dati del 2012 dimostrano, inoltre, altre differenze di genere: il 78,3% degli uomini di 11 anni e più, consuma in particolare vino, birra e altri alcolici come aperitivi, amari e superalcolici, mentre le donne consumatrici sono il 51,8%. Per gli uomini come per le donne il vino è la bevanda alcolica più diffusa, seguita da birra e altri alcolici. Per quanto riguarda i consumi fuori pasto, le differenze di genere sono rilevanti fra gli adulti: consuma alcol anche fuori dal pasto quasi un uomo su due (47,9%) e quasi una donna su tre (30,4%).

I danni alcol-correlati sono più severi nelle donne che negli uomini. I motivi di questa vulnerabilità sono legati alla fisiologia femminile che differisce da quella maschile per struttura fisica, dotazione enzimatica e ormonale. Infatti, a parità di condizioni e assumendo quantità medesime di alcol, la concentrazione di alcol nel sangue è più elevata nelle femmine che nei maschi. Uno dei motivi è da attribuire alla dissomigliante struttura corporea e alla minore quantità di liquidi corporei presenti nella donna rispetto all'uomo che causano un livello alcolemico maggiore a parità di unità alcoliche introdotte. A questi elementi, si aggiunga che le donne hanno una predisposizione a metabolizzare l'alcol assolutamente inferiore rispetto a quella dell'uomo, poiché povere di alcol deidrogenasi, l'enzima epatico preposto a tale compito.

Al contrario è stato accertato e misurato l'effetto avverso dell'alcol sulla salute del feto durante la gravidanza. L'alcol arriva al feto attraverso un suo diretto assorbimento da parte della placenta e, in tal maniera, è responsabile di diversi livelli di deficit della crescita, più o meno associati a danni neurologici e psicosociali, che noi diagnosticiamo con il nome di sindrome feto-alcolica (*Fetal Alcohol Syndrome*, FAS). Si stima che ogni anno in Italia nascano circa tremila bambini affetti da FAS, con un rischio di prevalenza nelle forti bevitrici pari al 35-40% (6).

## **Epidemiologia dei problemi alcol-correlati nella popolazione femminile in carico al SER.T**

Negli ultimi trent'anni si sono sviluppati una serie di studi internazionali che hanno approfondito il tema delle differenze di genere nella dipendenza da sostanze psicoattive dell'utenza in trattamento presso i servizi territoriali. Da questi studi è emerso che i comportamenti additivi al "femminile", presentano differenti specificità che si traducono in un livello di maggiore complessità e problematicità dei quadri sindromici osservati rispetto a quelli maschili. Tutto ciò ha imposto di conseguenza, la necessità di modificare l'articolazione dell'offerta terapeutica e l'organizzazione dei servizi di cura, sulla base dei bisogni particolari manifestati dall'utenza femminile.

In Italia, al contrario, gli studi e la diffusione delle conoscenze sono ancora fortemente limitati alla rilevazione dei soli dati epidemiologici, alla definizione del rapporto numerico tra maschi e femmine nelle stime dei consumi di sostanze e nella contabilizzazione dell'utenza in trattamento presso i Ser.T, mentre è scarsa, invece, la diffusione di programmi di diagnosi e d'intervento specifici e condivisibili.

Dai pochi dati clinico-epidemiologici diffusi recentemente e dall'esperienza diretta scaturita dalla popolazione di alcoliste che afferrisce al nostro servizio, risulta che:

- Le donne diagnosticate come alcolodipendenti nei servizi territoriali, sono più spesso disoccupate o sottooccupate degli uomini, con lavori spesso precari e poco qualificati, con un'esperienza di lavoro più limitata e, di conseguenza, con un reddito molto più esiguo.
- La donna alcolista, rispetto al maschio, ha una maggiore attitudine ad abbandonare precocemente il nucleo familiare di appartenenza per convivere, se presente, con un

nuovo partner che, in genere, non stigmatizza più di tanto la sua patologia in atto. L'abbandono della famiglia d'origine, comunque, non ostacola apparentemente il proseguimento del dovere di "mamma", poiché dalle attuali rilevazioni epidemiologiche, risulterebbe che, abbastanza frequentemente, i figli vivono con essa nel nuovo nucleo familiare. La nostra esperienza clinica ci impone, però, di smontare questa falsa condizione positiva che, al contrario, si traduce spesso in una nuova complicazione del percorso di fuoriuscita dallo stato di dipendenza, così come una motivazione per la richiesta di un'intensificazione del trattamento farmacologico e/o psicoterapeutico. Altre indagini hanno, inoltre, evidenziato che i figli di madri alcoliste sono maggiormente vulnerabili nel rapporto con le sostanze ad azione psicotropa rispetto agli altri adolescenti, figli di genitori privi di comportamenti additivi. Questi ragazzi, quindi, sono ragguardevolmente più a rischio di abusi e trascuratezza rispetto ai loro pari per una diminuita/assente capacità, da parte della mamma "alcolica", di comprendere i bisogni del proprio figlio e di fornirgli una protezione e cura adeguata.

- Le alcoliste afferenti ai nostri servizi sono state più frequentemente, rispetto a chi non assume droghe, vittime di violenze e abusi, sviluppando un maggior rischio di dipendenza da uso di sostanze, spesso associata ad ulteriori disturbi a genesi psicopatologica come la depressione, l'ansia, l'autolesionismo, i disturbi post-traumatici da stress, i disturbi del comportamento alimentare, i disturbi di personalità e i tentativi di suicidio.
- L'alcolismo nelle femmine sembrerebbe essere fondato prevalentemente su una motivazione di tipo "auto-terapeutico", per cui la sostanza non è utilizzata per motivi trasgressivi e/o per vivere nuove sensazioni (*sensation seeker*), ma costituisce un mezzo per reagire a situazioni di stress, per placare l'ansia e/o per risolvere il dolore fisico procurato.
- Le femmine alcoliste sono fortemente scoraggiate, spesso dal proprio nucleo familiare di appartenenza, a frequentare i Ser.T. Le motivazioni sono da ricercare nella comune inconsapevolezza di essere malati di "alcolismo"; d'identificare la struttura Ser.T come quella dedicata alla cronicizzazione dei "tossici" da sostanze illegali; d'identificare ancora la struttura Ser.T come quella che potrebbe allontanarla dal nucleo familiare e/o che addirittura le potrebbe togliere i figli.
- Le alcoliste, qualora decidessero di affidarsi al Ser.T, lo fanno con un periodo di latenza, rispetto all'inizio dello stato di dipendenza, più breve rispetto agli uomini. Normalmente questo periodo refrattario è pari a circa 8/10 anni per i maschi e invece si dimezza nelle femmine. La storia tossicomane nel sesso femminile inizia, in genere, più in ritardo rispetto al sesso maschile. Di contro, è maggiore la tendenza a utilizzare le sostanze con compulsività e con periodi di astinenza più brevi rispetto al maschio; più frequenti sono gli episodi registrati di *binge drinking*; così come, sicuramente quale diretta conseguenza di quanto in precedenza riportato, appare l'incidenza di comorbilità psichiatrica e infettiva. È spesso presente in entrambi i sessi l'assunzione contemporanea di più sostanze (Tabella 1).

**Tabella 1. Assunzione contemporanea di più sostanze: confronto di genere (anno 2012)**

Sostanze psicotrope	Maschi (%)	Femmine (%)
Alcol + cannabis	12,29	09,92
Tabacco +cannabis	07,20	07,63
Alcol +tabacco +cocaina	62,29	64,12
Più di tre sostanze	10,59	09,16
Più di quattro sostanze	07,63	09,17

- La ritenzione in trattamento non presenta delle grosse diversità di genere, sebbene i programmi che prevedono un'assistenza ai figli delle mamme alcoliste, dimostrano un tasso di ritenzione maggiore. È evidente, comunque, che l'esistenza di programmi di trattamento troppo rigidi e inconciliabili con le responsabilità domestiche e familiari delle donne, rappresenta un grosso ostacolo alla permanenza di quest'ultime in un ambiente terapeutico, anche di tipo semi-residenziale e, quindi, con ritorno giornaliero nel proprio ambiente familiare.
- Le donne alcol dipendenti e policonsumatrici di sostanze stupefacenti, con particolare riguardo all'eroina, presentano una maggiore incidenza di problemi e bisogni specifici nell'ambito sia della sfera relazionale che di quella sessuale. Presentano più frequentemente, infatti, disturbi e patologie dell'apparato riproduttivo, secondari soprattutto all'effetto dannoso sommatorio determinato dal contestuale abuso di alcol e di oppioidi che causano un'alterazione della funzionalità dei neurotrasmettitori ipotalamici, provocando una diminuzione dei livelli di LH e un aumento della prolattina. Ne consegue che circa il 45% delle donne policonsumatrici di sostanze, è sterile sia a causa di processi infiammatori a carico delle tube con conseguente stenosi, sia per amenorrea (6).

## La nostra esperienza

Nel nostro servizio è attiva da circa venti anni un'unità di alcologia autonoma, con un movimento di pazienti annuo che si aggira in medio attorno alle 150 unità. L'equipe è costituita da un medico, da una psichiatra, da un neurologo, da tre psicologhe di cui una dedicata alla diagnosi e alla psicoterapia individuale, un'altra dedicata alla psicodiagnosi e alla terapia familiare e la terza, congiuntamente all'educatore professionale, alla gestione di un gruppo psicoterapeutico. Nell'equipe è presente anche un infermiere che, congiuntamente a tutto il personale in precedenza indicato, ha portato a termine una serie di corsi di formazione specifici in ambito alcologico.

Il processo valutativo si sviluppa secondo un programma standardizzato per le varie tipologie di dipendenza che, nel caso dell'abuso alcolico, prevede:

1. Accoglienza, presa in carico e valutazione diagnostica
  - a) Fase 1 - Ingresso e primo contatto con il paziente (*intake*)
  - b) Fase 2 - Accoglienza, colloquio di presentazione, prima visita (*triage*)
  - c) Fase 3 - Trattamento diagnostico: diagnosi funzionale e profilo (*assessment*)
2. Profilo di cura e piano di trattamento
  - a) Fase 4 - Discussione in équipe multidisciplinare del piano di trattamento
3. Individuazione del gruppo di trattamento
  - a) Fase 5 - Lavoro di rete, trattamento congiunto, cogestione del paziente tra i vari nodi della rete
  - b) Fase 6 - Restituzione e condivisione dell'esito della valutazione con il paziente
  - c) Fase 7 - Passaggio ai Trattamenti Mirati
4. Monitoraggio dei trattamenti, gestione delle risorse e valutazione degli esiti
  - a) Fase 8 - Monitoraggio periodico del piano di trattamento del paziente
  - b) Fase 9 - Dimissione o fine programma
  - c) Fase 10 - Accompagnamento del paziente all'uscita dal programma
  - d) Fase 11 - Follow-up

Le misurazioni delle analisi effettuate e delle fasi di miglioramento, prevedono l'uso dei seguenti strumenti:

1. Scheda di primo contatto
2. Cartella clinica per la raccolta e monitoraggio dei dati individuali
3. Griglia profilo individuale
4. Scheda obiettivi
5. Scheda trattamenti programmati
6. Cartellino trattamenti
7. Cartellino prestazioni
8. Scheda per l'osservazione e il monitoraggio del craving
9. Scheda per l'osservazione diretta in semi-residenzialità e/o residenzialità comunitarie
10. Scheda per il trattamento realizzato e la valutazione degli esiti
11. Scheda per la gestione delle risorse.

L'intera attività di valutazione in precedenza descritta, mira a far emergere una serie di condizioni patologiche alcol-correlate, che sono condivise assolutamente con il paziente e che sono riferibili a:

1. le sue condizioni di salute e/o di malattia che presenta al momento del suo incontro con il servizio;
2. i meccanismi chiave del suo funzionamento e il suo quadro patologico, in modo da identificare gli elementi focali del suo disagio e le aree problematiche su cui intervenire per operare cambiamenti e miglioramenti;
3. la definizione dei principali obiettivi del suo programma terapeutico, da declinare in obiettivi specifici;
4. la declinazione dei risultati attesi in termini di patologia evitata e/o di salute aggiunta;
5. l'individuazione degli indicatori capaci di misurare gli effetti del programma, in rapporto a valori soglia assunti come standard di riferimento per la misurazione degli effetti.

L'opzione metodologica scelta è, quindi, di tipo "autovalutativo". In altri termini, si è concepito un modello di valutazione dei risultati e della qualità del processo di cura degli alcolisti, fondato sulla piena partecipazione e integrazione del gruppo dei pari che opera nel servizio e così come applicato anche nell'ambito della diagnosi e della cura di altre tipologie di dipendenze e, in particolar modo, quando ci si trova di fronte ad una problematica di policonsumo.

Dalla condivisione di queste regole di "trattamento diagnostico", in altre parole dei criteri, degli strumenti e dei passi da rispettare per esercitare correttamente il percorso valutativo, quest'approccio mira ad offrire al gruppo di lavoro:

1. una base comune per facilitare il compito del gruppo: cioè, le abilità necessarie per lavorare insieme efficacemente (anche tra gruppi differenti) in vista di obiettivi comuni;
2. una struttura concettuale e operativa a sostegno della missione del servizio: cioè, la capacità di capire e sviluppare il ruolo di cura del proprio servizio, analizzare punti di forza e di debolezza delle proprie azioni, in modo da identificare la migliore risposta ai problemi e alla domanda;
3. l'autocontrollo sistematico dei propri risultati: cioè, la strumentazione necessaria per sviluppare la propensione al miglioramento continuo e all'innovazione delle procedure;
4. la capacità di comunicare una visione del proprio servizio tale da convincere e attrarre gli attori interessati (interni ed esterni), suscitando in loro motivazione e nuovo impegno;
5. la valorizzazione dell'autonomia e della responsabilità del servizio nei processi e nei

risultati, condividendo le informazioni, sollecitando e valorizzando le idee di tutte le parti in causa, favorendo il miglioramento della competenza;

6. il potenziamento del lavoro di rete, in modo che la condivisione degli obiettivi e la verifica delle ipotesi di un qualsiasi piano di trattamento, siano condotti all'interno della rete integrata per le dipendenze.

Durante il trattamento diagnostico sono eseguiti gli esami ematochimici di routine e sono anche somministrati i questionari e i test psicodiagnostici utili per l'inquadramento del profilo individuale dell'alcolista. Il set minimo degli strumenti è costituito da:

- ASI (*Addiction Severity Index*)  
È un questionario per l'individuazione della gravità del quadro riguardo a sette aree problematiche (medica, lavorativa, alcol, sostanze, legale, familiare-sociale, psicologica). L'intervista ASI non è applicabile per i soggetti con dipendenza senza sostanza o in stato detentivo e può essere compiuta da qualsiasi figura professionale, debitamente formata e addestrata.
- MMPI (*Minnesota Multiphasic Personality Inventory*)  
È un test di personalità ed è somministrato e interpretato dagli psicologi.
- GAF (*Global Assessment of Functioning*)  
È una scala di valutazione globale di funzionamento; costituisce "buona pratica" l'attribuzione del punteggio GAF da parte dell'intera équipe del trattamento diagnostico;
- SADQ (*Severity of Alcohol Dependence Questionnaire*)  
È un questionario sulla gravità dell'alcoldipendenza.
- DrInC-2L (*Drinker Inventory of Consequence*)  
È uno strumento per la misurazione delle conseguenze avverse indotte dall'abuso alcolico.

Altri strumenti diagnostico-valutativi sono utilizzabili, soprattutto in caso di policonsumo. Sono, quindi, eseguiti, per un approfondimento valutativo nell'area del consumo di altre sostanze psicoattive:

- IDTS (*Inventory of Drug-Taking Situations*)  
È un questionario che genera un profilo individuale in situazioni dettagliate nelle quali il paziente ha fatto uso di cocaina, alcol e/o di altre sostanze nel corso dell'ultimo anno.
- VAS (*Visual Analogue Scale*)  
Si usa per la misurazione temporale del desiderio compulsivo verso l'alcol.
- MAC (Motivazione al Cambiamento)  
Si usa per la misurazione del livello di motivazione al cambiamento dello stato tossicomane in essere.
- Matrici di Raven  
Si usa per misurare, nell'area cognitiva, l'intelligenza fluida.
- Beck Anxiety Inventory  
è uno strumento self-report che ci permette di valutare la gravità della sintomatologia ansiosa negli adulti in modo molto rapido e puntuale.
- SCL-90 (*Symptom Checklist*)  
Valuta un ampio spettro di problemi psicologici e di sintomi psicopatologici, misurando tanto i sintomi internalizzanti (depressione, somatizzazione, ansia) che quelli esternalizzanti (aggressività, ostilità, impulsività).

– TCI (*Temperament and Character Inventory*)

Si usa per l'inquadramento dei profili di personalità e dove vengono distinte 4 dimensioni di temperamento (Evitamento del Pericolo, Ricerca della Novità, Dipendenza dalla Ricompensa e Persistenza) e 3 di carattere (Autodirezionalità, Cooperatività e Autotrascendenza), ognuna distribuita in modo approssimativamente normale.

Durante il trattamento diagnostico deve essere assicurata una valutazione della frequenza del consumo di alcol tramite la determinazione della Transferrina Carboidrato Deficiente (CDT) supportata, dove necessario, dall'analisi dei metaboliti urinari per le altre sostanze ad azione psicotropa e dei farmaci.

La valutazione infermieristica è complementare alla diagnosi medica per la strutturazione di un trattamento farmacologico ed è necessaria per la strutturazione di una pianificazione della assistenza infermieristica.

La valutazione di équipe, sviluppata nel corso del trattamento diagnostico, deve necessariamente essere completata prima di attivare specifici interventi di psicoterapia, d'inserimento in Comunità Terapeutica o di misura alternativa alla detenzione.

Il tempo di durata del processo di un Trattamento Diagnostico, varia dai due ai tre mesi, ovviamente secondo le differenti situazioni che si presentano.

I farmaci utilizzati nei programmi di disassuefazione dall'alcol, sono rappresentati dalla benzodiazepine a lunga emivita, soprattutto utilizzate nelle fasi di disintossicazione; il sodio-ossibato utilizzato per le sue capacità alcol-mimetiche e somministrato solo in caso di presenza di un tutore che gestisca la terapia domiciliare affidata; l'acamprosato in alternativa al sodio-ossibato; il naltrexone, soprattutto nelle fasi di avvicinamento all'ingresso in una comunità terapeutica; il disulfiram in assenza di gravi compromissioni del sistema epato-renale e spesso in associazione al naltrexone; il metadone e la buprenorfina/naloxone in caso di concomitante abuso di oppiacei, nonché una serie di psicofarmaci che vengono introdotti a seguito di una diagnosi di comorbilità psichiatrica.

In conformità a queste valutazioni e a seguito di un follow-up della popolazione alcolista trattata nel biennio 2011-2012 presso la nostra Unità Alcolologica, le rilevazioni ci danno un 55% di soggetti che hanno totalmente smesso di bere a distanza di 12 mesi; un 25% dove è ancora in atto un processo di sola riduzione del danno e controllo delle patologie correlate e un 20% dove alcune delle seguenti condizioni: a) carenti condizioni socio-economiche; b) assenza di un nucleo familiare di sostegno; c) provenienza da un paese estero (dato che riguarda la maggior parte dei soggetti appartenenti a questo gruppo); d) presenza di un elevato *craving*, scarsamente controllabile con i farmaci; e) basso livello di *compliance* al trattamento e di motivazione al cambiamento, rendono particolarmente frequenti gli episodi di ricaduta nell'uso/abuso di alcol.

## Conclusioni

Lo scopo di questo elaborato è stato quello di descrivere, sinteticamente, i vecchi e i nuovi modelli di consumo alcolico a rischio che si diagnosticano, in genere nei Ser.T, nella popolazione femminile, di confrontarli con quelli del sesso maschile e di collocare gli stessi all'interno di un sistema valutativo e terapeutico conforme alle evidenze scientifiche e ai più accreditati sistemi di monitoraggio e verifica della qualità degli interventi farmacologici e psicoterapeutici attuabili.

In Italia, dove i consumi alcolici erano, sino a qualche anno fa, profondamente e strettamente collegati ad antiche tradizioni culturali, si sta assistendo a una progressiva diffusione di nuove modalità di consumo, che riguardano in particolar modo le classi giovanili ma che investono,

sempre più visceralmente, le resistenze cognitive e psicologiche proprie del genere femminile. Tutto ciò determina che le conseguenze di queste nuove forme di consumo/abuso alcolico interessino sempre più il mondo sanitario ma, inesorabilmente, coinvolgano la struttura sociale ed economica, con perdita di anni di vita, scuola e di lavoro; sofferenza delle famiglie e degli individui; violenza soprattutto nelle donne e grave disadattamento sociale globale che impongono l'attuazione di una serie d'interventi multidisciplinari e di rete di alto contenuto tecnico e gestionale.

In quest'ottica s'introducono, quasi d'imperio, le organizzazioni diagnostiche e terapeutiche rappresentate dai Servizi per le Tossicodipendenze e/o dai Servizi di Alcolologia ad essi annessi. È doveroso, comunque, rilevare che a garanzia di un valido intervento multidisciplinare, sviluppabile doverosamente anche nei Ser.T e/o nelle Unità Alcolologiche, è sempre necessario comprendere esattamente la fisiopatologia e l'eziopatogenesi della dipendenza alcolica ed è, quindi, fondamentale applicare le giuste basi interpretative dei meccanismi patogenetici sia della sfera organica, sia di quella psicologica che di quella sociale, in un'ottica di valutazione universale che è alla base dei più moderni modelli di diagnosi e cura delle patologie della dipendenza.

## Bibliografia

1. Anderson P, Baumberg B. *Alcohol in Europe – A public Health perspective*. Institute for Alcohol Studies, 2006.
2. Ceccanti M, Romeo M, Fiorentino D. Alcol e donna: aspetti clinici. *Ann Ist Super Sanità* 2004;40:5-10.
3. Mancinelli R, Guiducci MS. La donna e l'alcol: vulnerabilità biologica? *Ann Ist Super Sanità* 2004;40:19-23.
4. World Health Organization. *Global status report on alcohol and health*. Geneva: WHO; 2011
5. Leonardi C. Carta dei Servizi U.O.C. *Prevenzione e Cura Tossicodipendenze e alcolismo*. Roma: Ser.T ASL RMC D11; 2009
6. Serpelloni G. Dipendenza: importante valutare le differenze di genere. *Italian Journal on Addiction* 2013;3(2):5.

# ALCOL E GRAVIDANZA

Aldo Maina  
Servizio di Medicina Interna, Ospedale Sant'Anna, Torino

## Introduzione

Chi scrive non è un esperto del settore né un ricercatore che ha prodotto studi sull'argomento; è un medico (internista) che lavora da 30 anni in ambiente ostetrico e si è posto delle domande.

Nel corso degli anni ho visto crescere i dubbi sulla tollerabilità dell'alcol in gravidanza: negli anni '70-'80 del secolo scorso si pensava che il rischio fosse legato all'esposizione ad elevate quantità e fino agli anni '90 si poteva pensare che di fatto l'esposizione a basse quantità non provocasse danni rilevanti. Negli ultimi 15 anni le prove di dannosità per l'esposizione prenatale sono diventate imponenti con la dimostrazione della presenza di danni non solo anatomici ma anche funzionali e non limitati da una soglia di esposizione.

A questa consapevolezza scientifica non è corrisposto l'atteggiamento sociale che di fatto è diventato più permissivo nell'attitudine al bere alcolici in modo particolare per le donne in età fertile, con un forte e costante aumento dei consumi medi pro capite. Di fatto qualcosa non ha funzionato nel far uscire queste informazioni dai centri di ricerca sperimentale e clinica e renderle disponibili e accessibili al pubblico.

La percezione del rischio non è andata di pari passo all'aumentare delle conoscenze; l'esposizione viene sottostimata dalla paziente e il rischio sottovalutato dai *care giver* (medici, specialisti e non, ostetriche). Di fatto esiste uno scollamento impressionante fra ciò che dicono in modo netto le ricerche sperimentali e cliniche (l'alcol è tossico per l'embrione e il feto) che orienta ad estrema prudenza e ciò che in pratica si sa, si fa o si applica.

Scorrendo la letteratura scientifica tematica degli ultimi 10 anni (500-600 articoli all'anno recensiti su Pubmed alla voce alcol e gravidanza) si può reperire una crescente serie di documenti che comprovano la gravità e la prevalenza del rischio da esposizione prenatale all'alcol. Se l'alcol fosse un farmaco e venisse venduto in farmacia probabilmente sarebbe già stato ritirato dal commercio per i possibili danni sulla salute riproduttiva.

Da medici si può non essere interessati a questo tipo di ricerche, ma non si possono ignorare le conclusioni.

A questo punto non vi sono dubbi sul da farsi: consigliare l'astensione assoluta dall'alcol durante la gravidanza. In questo caso lo sforzo preventivo non costa molto, basta informare. Ma ciò non è quel che viene fatto, per vari motivi (disinformazione, sottoinformazione, trascuratezza, occultamento?).

A dire il vero qualcosa s'è fatto: la campagna sostenuta dalla associazione dei ginecologi (Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia, SIGO) e finanziata dall'Assobirra aveva i toni giusti. Sulle bottiglie di alcolici in vendita in alcuni Stati europei, ma non in Italia, è comparso il logo che ne sconsiglia l'assunzione alla donna in stato interessante. Spero che una parte delle risorse umane ed economiche possano essere dedicate all'informazione e alla prevenzione ed è con questo intento che ho accettato l'invito di collaborare alla monografia.

## Esposizione prenatale all'alcol

L'alcol etilico (etanolo) è uno dei più importanti tossici esogeni a cui una donna in età fertile e in gravidanza può essere esposta. È molto più pericoloso dei farmaci poiché l'esposizione prenatale all'alcol può causare al bambino molti danni e può dar luogo ad alterazioni fisiche e comportamentali irreversibili, globalmente definite FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*), che possono manifestarsi anche per esposizioni alcoliche modeste. La più grave delle patologie del feto indotte dal consumo materno di alcol durante la gravidanza è la sindrome feto-alcolica (*Fetal Alcohol Syndrome*, FAS) descritta da Ken Jones all'inizio degli anni '70 (1).

Per chi lavora in un reparto ostetrico o in ospedale ostetrico non è facile rendersi conto di quanto sia reale il problema dell'esposizione alcolica in gravidanza, dal momento che di rado tale condizione è motivo di ricovero o di osservazione contestuale in corso di ricovero.

Le statistiche disponibili a livello locale sulla FAS restano piuttosto elusive per vari motivi tra cui difficoltà oggettive, anamnesi incompleta o reticente, mancanza di metodo nella raccolta dei dati. Di fatto, l'abuso di alcol, soprattutto quello femminile, resta frequentemente nascosto nell'ambito familiare, oppure viene rilevato in altri contesti quali i consultori, il medico di famiglia, i centri di assistenza socio-sanitaria.

Le domande che il medico deve porsi sono le seguenti:

- l'esposizione all'alcol in gravidanza è un problema di salute pubblica?
- quali sono i rischi connessi?
- come identificare le situazioni di uso a rischio nella donna in gravidanza?
- come intervenire in senso preventivo?

## Dati epidemiologici

Per aver una stima attendibile del problema alcol in gravidanza si possono utilizzare approcci clinici diretti o indagini sistematiche tramite questionari. In letteratura la maggior parte dei risultati è stata ottenuta tramite questionari validati da sottoporre alle donne in gravidanza in forma anonima. Tra questi il più usato è l'AUDIT (*Alcohol Use Disorders Identification Test*).

Qui di seguito sono riportati i risultati di alcuni studi effettuati in Europa tramite intervista materna:

- Italia, 1994: il consumo di alcol è globalmente basso, risultando più elevato in certe aree (Nord) che in altre (Centro-Sud);
- Regno Unito, 1995: il 10% delle donne in gravidanza ha un consumo regolare fino a 1 bicchiere al giorno; l'1% assume più di 1 bicchiere;
- Svezia, 2003: il 15% ammette consumo pericolosamente elevato di alcol prima della gravidanza. Il 60% smette di bere in gravidanza;
- Svizzera, 2004: 450 donne. Il 7,4% presentava un consumo di alcol a rischio (studio dell'Università di Berna).

Nel 2003 fu effettuato in Italia il primo studio condotto con metodologia di accertamento attivo basato sulla osservazione clinica e comportamentale di una popolazione di circa 1000 alunni della prima classe di 25 scuole elementari del Lazio. I dati clinici furono associati ad un ampio questionario somministrato alle madri. Lo 0,4% della popolazione risultò affetto da sindrome feto alcolica e, complessivamente. In circa il 3% dei bambini furono diagnosticate anomalie fisiche e comportamentali ascrivibili ad esposizione alcolica prenatale (2). Le valutazioni sono state corrette negli anni successivi essendo risultata essere sottostimata e ha portato a una stima della FAS in questa popolazione fra lo 0,4-1,2% e la prevalenza dei FASD

fra il 2,3-6,3% (3). Si tratta in ogni caso di dati di proporzioni allarmanti che non possono essere ignorati da coloro che si occupano di salute e di prevenzione, sia in contesto medico che politico: la nostra società non può più permettersi di far finta di non sapere.

Ad ulteriore conferma che non si tratta di dati isolati, uno studio simile è stato più di recente effettuato nelle regioni rurali della Croazia e porta a conclusioni sovrapponibili: la percentuale complessiva di anomalie anatomiche e funzionali ascrivibili ad esposizione alcolica prenatale risulta essere superiore al 6%.<sup>(4)</sup> Lo studio italiano sottolinea quali siano le possibili implicazioni di tali dati applicati alla nostra realtà. Anche bere alcol in eccesso regolarmente durante i pasti in una popolazione ben nutrita e di buon livello culturale materno può comportare effetti negativi sotto forma di un aumento della prevalenza di FASD. È questo un tipo di esposizione diverso da quello del *binge drinking* in popolazioni malnutrite e di basso livello socioeconomico descritto in altre realtà.

## Contesti di esposizione

I contesti sociali in cui si sviluppa il problema possono essere molto diversi per epoche storiche, regioni geografiche, cultura, tradizioni. Comunque il disagio sociale e la disoccupazione sono situazioni predisponenti riconosciute anche se non più esclusive.

Vi sono sensibili differenze fra uno stato e l'altro dell'Unione Europea: le statistiche più recenti affermano che la prevalenza di forti bevitrice fra le donne è 11 volte maggiore nel Regno Unito rispetto all'Italia o alla Germania. Al momento vi sono pochi dati sulle donne immigrate: in generale l'esposizione appare più consueta nelle donne immigrate dall'Est Europeo, mentre è molto limitata nelle migranti dall'Africa.

Anche il ceto sociale di appartenenza appare giocare qualche differenza: una statistica del 1994 evidenziava che al Nord bevono più alcolici le donne di ceto inferiore, mentre nel Sud Italia sono più esposte le donne socialmente più agiate. È peraltro molto probabile che a distanza di 15 anni queste differenze di esposizione nel sesso femminile in base alla classe sociale siano più sfumate.

Per quanto riguarda la scolarità, dati epidemiologici recenti indicano che nelle donne, il consumo di alcol aumenta con il titolo di studio: la percentuale di bevitrice è più alta tra le laureate (73,7%) che tra le meno istruite con licenza elementare (43%). Tali differenze sono più evidenti tra le donne di 25-44 anni.

Un dato molto significativo è l'abbassamento dell'età di primo uso e il fatto che la percentuale di ragazze che inizia a bere nell'adolescenza è pari a quella maschile. Nel 2009 gli studi di Bernstein *et al.* hanno dimostrato che l'uso precoce di alcol danneggia la normale maturazione cerebrale durante l'adolescenza, influenza il comportamento dell'adulto e aumenta il rischio di sviluppare alcol-dipendenza. Nelle ragazze quindi, aumenta la probabilità di acquisire abitudini a rischio, di incorrere in patologie da alcol e di usare inadeguatamente l'alcol anche in gravidanza.

## Metabolismo e tipologie di esposizione

Gli effetti negativi dell'esposizione all'alcol possono essere aggravati da fattori che possono contribuire ad amplificarne il danno: età, sesso femminile, fumo di sigaretta, uso/abuso di droghe o farmaci, carenze nutrizionali quali la malnutrizione calorico-proteica, carenza di tiamina (vitamina B1). La particolare suscettibilità della donna al danno da alcol dipende anche da

livelli ematici più elevati fisiologicamente dovuti al minore *Body Mass Index* (BMI) e da minore contenuto di acqua corporea (5).

Anche il metabolismo ha alcune specificità: la ridotta attività dell'alcol deidrogenasi gastrica nella donna, specie in età fertile, rende minore la quantità di alcol sottoposto a *First-Pass Metabolism* (FPM) gastrico, cioè metabolizzato già nello stomaco, e contribuisce all'assorbimento portale e all'innalzamento dei livelli di alcol nel sangue.

Oltre alla quantità di alcol complessivamente assunta, ai fini del danno, conta anche la modalità di esposizione. Schematizzando si possono avere tre tipi di esposizione:

- cronica, continua;
- episodica a dosi basse o moderate;
- episodica ad alte dosi (ubriacatura o *binge drinking*).

## Farmacocinetica

Per valutare le potenzialità di danno in gravidanza è necessario conoscere alcuni dati di cinetica di questa sostanza nell'unità materno-fetale. Vi è un passaggio facilitato bidirezionale fra compartimento materno e fetale per cui i livelli alcolemici fetali sono pari a quelli materni dopo 15' dall'assunzione. Questo passaggio transplacentare è maggiore verso il termine di gravidanza ed esiste un effetto serbatoio del liquido amniotico per cui i livelli alcolemici sono più lenti a modificarsi, ma più persistenti.

## Alcol e salute riproduttiva femminile

L'alcol danneggia la salute riproduttiva attraverso vari meccanismi:

- alterazioni del ciclo mestruale;
- diminuzione della fertilità (cicli anovulatori);
- aumento del rischio di aborto 1° trimestre (da alterazioni della ploidia);
- aumento del rischio di aborto 2° trimestre;
- rallentamento della crescita fetale (IUGR, *intrauterine growth retardation*);
- aumento del rischio di distacco di placenta (6);
- teratogenicità e soprattutto tossicità sul Sistema Nervoso Centrale (SNC) fetale.

Inoltre, è recente la dimostrazione di un aumento del rischio di SIDS (*Sudden Infant Death Syndrome*) e di mortalità infantile totale correlato all'esposizione alcolica in gravidanza(7)

## Effetti dell'alcol

Gli aspetti morfologici nel bambino riguardano il ritardo di crescita pre e post-natale con statura e/o peso <10° percentile; difetto di crescita o morfologia cerebrale con anomalie strutturali del cervello (es. anomalie del corpus callosum); circonferenza cranica <10° percentile; presenza di due o più anomalie facciali minori tra rime palpebrali brevi (<10° percentile), labbro superiore sottile, filtro lungo e piatto. Le anomalie cognitive e/o comportamentali riguardano la difficoltà nella soluzione di problemi complessi, astrazione, giudizio, matematica.

## Contesti diagnostici della FAS

L'ammissione dell'esposizione o dell'abuso di alcol può non essere facile per la madre anche perché implica una serie di risvolti sociali negativi (es. verso la famiglia). D'altro canto, l'esposizione all'alcol, benché comprovata, non è di per sé sufficiente a far diagnosi di FAS. Oggettivamente la diagnosi di FAS può non essere evidente alla nascita, ma solo in seguito soprattutto in età scolare. D'altra parte, ci si può trovare di fronte ai tratti tipici della FAS, ma non essere in grado di accertare l'avvenuta esposizione (es. bambini adottati).

Per poter descrivere le situazioni che non rientrano nella FAS, ma che sono comunque legate all'esposizione prenatale all'alcol (il danno è una variabile continua) sono state introdotte nuove definizioni diagnostiche:

- FAE (*Fetal Alcohol Effects*);
- FASD (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) (definizione che comprende la FAS e i FAE);
- ARND (*Alcohol Related Neurodevelopment Disorder*).

Il danno non è correlato alla dose e queste alterazioni non sono solo disfunzioni transitorie dell'infanzia, ma si tratta di danni permanenti o addirittura progressivi. L'intervento educativo può essere utile soprattutto se precoce ma potrebbe non essere sufficiente a compensare il danno (8).

## Bioindicatori di alcol in gravidanza

Gli esami di chimica clinica sono utile supporto diagnostico per il clinico ma il loro significato può essere limitato da variabili confondenti:

- Aspartato aminotransferasi (AST) e alanina aminotransferasi (ALT)  
L'alterazione di questi enzimi è legata all'uso eccessivo di alcol ma anche a patologie proprie della gravidanza quali l'ipertensione nel 1° trimestre o la colestasi nel 3° trimestre o concomitanti come la calcolosi biliare. Tutte queste patologie sono, di fatto, relativamente frequenti, quasi certamente più dell'abuso di alcol.
- Gamma-glutamyltransferasi (GGT)  
GGT spesso alterata nell'abuso alcolico, in gravidanza è di regola normale, anche nella situazione di colestasi gravidica.
- Volume corpuscolare medio degli eritrociti (*Mean Corpuscular Volume, MCV*)  
Un MCV elevato può evidenziare uno stato carenziale di vitamina B12 o folati associato all'abuso di alcol, ma non sempre è presente
- Trigliceridi  
sono elevati nell'abuso di alcol, ma anche per effetto della gravidanza, pertanto sono confondenti
- Transferrina carboidrato carente o desialilata (*Carbohydrate Deficient Transferrine, CDT*)  
buon indicatore nell'uomo, meno efficace nella donna. Uno studio del 2010 dimostra che CDT aumenta fisiologicamente durante la gravidanza soprattutto nell'ultimo trimestre per poi rientrare nei limiti dopo il parto.

Nessun *marker* da solo è sicuramente indicativo di abuso alcolico perciò bisogna valutare più marcatori. È stato dimostrato che i bambini, nati da madri positive a due o più marcatori, avevano peso alla nascita, lunghezza e circonferenza cranica significativamente inferiori ai

bambini nati da madri negative per tutti i markers (9). In particolare, dallo studio di Sarkola l'associazione MCV+GGT risulta la più significativa per il follow-up durante la gravidanza (10).

Tra gli esami strumentali, l'ecografia fetale è in grado di rilevare la microcefalia e alcuni dismorfismi dello scheletro cranio facciale, ma richiede un training specifico e non ha un valore assoluto nella diagnosi di FAS. Si tratta comunque di situazioni difficili che dovrebbero essere seguite da operatori specializzati nel campo delle tossicodipendenze, ma che richiedono grande attenzione dai medici di medicina generale che potrebbero essere coinvolti come primi osservatori.

## **Aspetti di prevenzione specifica per il contesto riproduttivo**

Esistono modalità di intervento individuale personalizzato in cui il messaggio arriva a una sola persona che, ad esempio, fa un visita dal medico generico, dallo specialista ginecologo o dall'ostetrica, oppure collettiva in cui l'intervento si dirige a più persone (donne in gravidanza e non, i suoi parenti, il pubblico in generale).

Il setting dell'intervento di prevenzione può essere pertanto collocato in ambito esclusivamente medico comunicando sempre le regole in fase preconcezionale o almeno all'inizio della gravidanza singolarmente alla paziente: se non passano altri messaggi è meglio che niente.

Oppure il messaggio informativo può uscire dal contesto sanitario e utilizzare altri mezzi comunicazione.

Un intervento di prevenzione non medicalizzato raggiunge molte più persone, anche prima che decidano di avere una gravidanza e quindi appare complessivamente uno strumento più efficace.

Ovviamente la tipologia del messaggio deve cambiare nei due ambienti, più spiegata e meno allarmistica nel caso dell'approccio individuale, più di effetto nel caso dell'approccio collettivo. È importante che i messaggi siano univoci, chiari e di effetto in modo che restino impressi. Alcuni esempi di campagne di informazione ben fatte sono quelle dell'ISS (Istituto Superiore di Sanità) ([www.iss.it/alcol](http://www.iss.it/alcol) info: [alcol@iss.it](mailto:alcol@iss.it)), dell'SFA-ISPA (*Schweizerische Fachstelle für Alkohol und andere Drogenprobleme-Institut suisse de prévention de l'alcoolisme et autres toxicomanies*, ente svizzero per la prevenzione delle tossicodipendenze) ([www.sfa-isp.ch](http://www.sfa-isp.ch)), quelle della SIGO (Società Italiana Ginecologia Ostetricia) ([www.sigo.it](http://www.sigo.it)) e quella commissionata dalla Provincia di Treviso all'agenzia pubblicitaria Fabrika del gruppo Benetton, di forte impatto visivo.

Ma negli studi medici passa l'informazione? A sentire quanto riferiscono le pazienti, spesso non viene chiesto o detto nulla sui rischi dell'esposizione prenatale all'alcol oppure passano messaggi discordanti e quindi fuorvianti.

Per ciò che concerne l'atteggiamento delle pazienti almeno il 50% dice di essere astemia, ma il dato può essere soggetto a variazioni geografiche, in quanti in alcune regioni del nord Italia l'abitudine all'assunzione di alcol è più diffusa.

Quindi l'intervento di informazione e prevenzione è direzionato sul restante 50%. In questo gruppo vi possono essere bevitrice occasionali, bevitrice regolari, dipendenti da alcol. L'ultima categoria è da affrontare con interventi strutturati nei Servizi per le Tossicodipendenze (Ser.T) e va affrontata possibilmente prima della gravidanza.

Per le altre donne, tranne un po' di sorpresa iniziale, non vi sono di regola problemi ad astenersi. Tale intervento è ancora più importante se si tiene conto del mutamento delle abitudini degli ultimi 20 anni, ben documentato dalle statistiche ISTAT (Istituto Nazionale di Statistica), e che vede i giovani iniziare prima, le donne a bere molto più spesso sia come abitudine regolare che come esposizione occasionale (fine settimana) e che porta l'alcol ad essere un problema più diffuso nella popolazione in età fertile.

Certamente utili sono la cartellonistica e i fogli informativi da esporre negli studi medici, consultori ecc., ma va tenuto presente che esistono disomogeneità culturali e di lingua, e pertanto i messaggi devono essere semplici e chiari perché arrivino al bersaglio.

## Conclusioni

In caso di dubbio, l'indicazione per il medico è di porre attenzione al problema ed evitare assolutamente approcci di tipo colpevolizzante. Infatti, nel sospetto clinico di abuso di alcol nella donna in gravidanza occorre considerare che l'ammissione dell'abuso/dipendenza da alcol è pervasa da sensi di colpa. Inoltre, il timore di riprovazione familiare o sociale è tale da scoraggiare ammissioni pubbliche o di fronte ai familiari per cui l'anamnesi accurata è utile, ma solo a certe condizioni.

La collaborazione dello specialista con il medico di famiglia è quanto mai importante per individuare l'esistenza di un problema da alcol. Occorre ricordare che l'obiettività della paziente risulta compromessa solo in casi gravi e in gravidanza vi possono essere segni confondenti, come gli angiomi (*spider nevi*) e l'eritema palmare dovuti all'aumento degli estrogeni. Le alterazioni dei dati di laboratorio possono essere di aiuto ma saranno più utili e indicative se potranno essere confrontate con la situazione preesistente alla gravidanza. In ogni caso l'esperienza clinica conferma che è meglio un colloquio riservato e franco con la paziente, prima di iniziare un qualunque programma di assistenza specifica.

L'informazione riveste un ruolo essenziale nella prevenzione. In ogni caso, conviene identificare in fase preconcezionale i casi a rischio di abuso anche perché l'intervento tardivo lascia aperta la possibilità di danno soprattutto in pazienti molto giovani. È opportuno quindi far conoscere i danni da alcol e consigliare a tutte le donne di ridurre l'assunzione alcolica possibilmente a 1 bicchiere di vino al giorno. Inoltre, poiché ad oggi non c'è evidenza di sicurezza per il nascituro per nessuna dose di alcol, è necessario far arrivare alle pazienti in età fertile il messaggio semplice e chiaro di evitare del tutto l'esposizione all'alcol in gravidanza e in allattamento per tutelare la salute propria e del bambino.

## Bibliografia

1. CDC. Guidelines for identifying and referring persons with fetal alcoholic syndrome. *MMWR* 2005;54.
2. May PA, Fiorentino D, Gossage JP, *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;13(9):1562-75.
3. May PA, Fiorentino D, Coriale G, Kalberg WO, Hoyme HE, Aragón AS, Buckley D, Stellavato C, Gossage JP, Robinson LK, *et al.* Prevalence of children with severe fetal alcohol spectrum disorders in communities near Rome, Italy: New estimated rates are higher than previous estimates. *Int J Environ Res Public Health* 2011;8:2331-51.

4. Petković G, Barišić I. Prevalence of fetal alcohol syndrome and maternal characteristics in a sample of schoolchildren from a rural province of Croatia. *Int J Environ Res Public Health* 2013;10:1547-61.
5. Mancinelli R, Guiducci MS. La donna e l'alcol: vulnerabilità biologica? *Ann Ist Super Sanità* 2004;40(1):19-23.
6. Aliyu MH, Lynch O, Nana PN, Alio AP, Wilson RE, Marty PJ, Zoorob R, Salihu HM. Alcohol consumption during pregnancy and risk of placental abruption and placenta previa. *Maternal and Child Health Journal* 2011;15(5):670-6.
7. O'Leary CM, Jacob PJ, Bartu A, D'Antoine H, Bower C. Maternal alcohol use and sudden infant death syndrome and infant mortality excluding SIDS. *Pediatrics* 2013;131(3):770-8.
8. Mancinelli R, Laviola G, Ceccanti M (Ed.). Fetal alcohol spectrum disorders (FASD): From experimental biology to the quest for treatment. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(2):165-286
9. Stoler JM, Huntington KS, Peterson CM, Peterson KP, Daniel P, Aboagye KK, Lieberman E, Ryan L, Holmes LB. The prenatal detection of significant alcohol exposure with maternal blood markers. *J Pediatr* 1998;133(3):346-52.
10. Sarkola T, Eriksson CJ, Niemelä O, Sillanaukee P, Halmesmäki E. 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 Obstet Gynecol Scand*. 2000;79(5):359-66.

# PREVENZIONE DEI PROBLEMI ALCOL-CORRELATI NELLA DONNA CON PARTICOLARE RIFERIMENTO ALLA GRAVIDANZA: ESPERIENZA IN UN SERVIZIO SPECIALISTICO TERRITORIALE

Vito Donnola

Unità Operativa Complessa di Ginecologia e ostetricia, Azienda Sanitaria Matera, Matera

## Introduzione

Sono un ginecologo formatosi in ospedale e da qualche tempo impiegato anche in servizi specialistici ambulatoriali territoriali.

Dopo un primo impatto con un diverso modo di “fare sanità” mi sono reso conto delle innumerevoli possibilità che il territorio può offrire e soprattutto ho scoperto che il mio nuovo ruolo mi dava accesso alla possibilità di fare prevenzione spesso a costo zero.

Questa possibilità proiettata nel tempo, mi dà l’opportunità, mantenendo e migliorando lo stato di salute dei cittadini, di contribuire alla riduzione della crescita esponenziale della spesa sanitaria e, quindi a permettere la sostenibilità economica del nostro servizio sanitario universalistico.

## Ma come fare prevenzione?

Data la mia precedente esperienza professionale, la mia *forma mentis* era indirizzata preminentemente più a curare che a prevenire, e comunque davo per scontato che molte informazioni circa la prevenzione fossero già conosciute dalle pazienti.

Ho potuto constatare che la popolazione femminile del mio territorio è sufficientemente informata su alcune misure preventive fondamentali in materia oncologica (partecipazione regolare e differenziata per fasce di età agli screening della neoplasia cervicale, mammaria e del colon retto) e di prevenzione delle malattie sessualmente trasmesse e delle gravidanze indesiderate.

Non c’è voluto molto tempo per accorgermi che, invece, il livello di consapevolezza e di attenzione alla ricaduta sanitaria di particolari comportamenti e stili di vita (dieta, nutrizione, peso corporeo, attività fisica) è totalmente inadeguato e che tale insufficienza è particolarmente evidente per quanto riguarda i rischi connessi al consumo di alcolici.

La partecipazione ad un congresso presso l’Istituto Superiore di Sanità dedicato a tali tematiche e l’adesione della Unità Operativa Complessa, del cui organico faccio parte, alla campagna nazionale “Mamme senza fumo” hanno stimolato il mio interesse e il bisogno di cercare documentazione e approfondimenti.

L’aspetto che più ha suscitato il mio interesse professionale è stato l’influenza del consumo di alcolici sul buon esito della gravidanza e sulla salute futura del nascituro.

Ho potuto verificare che nell’ambito del mio territorio non esisteva alcun intervento sistematico, formalizzato e strutturato sui rischi materni e fetali derivanti da un consumo di bevande alcoliche in gravidanza.

Tutto iniziava e spesso finiva nella formulazione, al momento della prima visita ostetrica, della domanda: “Lei signora beve alcolici?”. Naturalmente, la domanda formulata in questi termini ha già in sé una risposta di negazione.

## Modalità dell'intervento

La Azienda Sanitaria Matera (ASM) comprende come territorio tutta la provincia di Matera con un bacino di utenza di circa 200.000 abitanti. Nei consultori dove lavoro si effettuano oltre 3000 prestazioni anno a pazienti di età compresa tra i 14 e gli 80 anni.

In tale contesto un percorso di prevenzione dei problemi alcol-correlati ha diversi aspetti a seconda della fascia di età.

Poiché ogni anno tra gravidanze fisiologiche seguite presso l'Ambulatorio ospedaliero, il consultorio e i Corsi di preparazione al parto incontro almeno 400 donne, ho cercato, in primo luogo, di ottimizzare le modalità del primo approccio con la paziente in gravidanza.

L'obiettivo è fare in modo che la “barriera camice” diventi diafana e che il medico sia una figura familiare. Per facilitare questo, per esempio, chiedo se sono stato io lo stesso medico che aveva assistito loro o loro parenti e conoscenti in altra occasione.

Alla fine del colloquio anamnestico, quando si è aperto un canale di empatia e fiducia medico-paziente, domando sistematicamente: “Signora ma un gocchetto di vino l'assaggia ai pasti?”. Oppure: “Assaggia un po' di birra in pizzeria?”. Formulando la domanda in questi termini, alcune donne rispondono positivamente e spesso aggiungono che un modesto consumo di vino può far solo bene. Anche in caso di risposta negativa, colgo l'occasione per informare la donna in gravidanza che un consumo anche moderato di alcol in gravidanza può avere effetti negativi per il feto danneggiandone lo sviluppo e determinare, specie nel prime settimane di gestazione, effetti teratogeni.

Inoltre sottolineo che, ad oggi, le conoscenze scientifiche non sono tali da poter indicare una dose minima di alcol che non comporti rischi per il feto e che quindi è opportuno astenersi dal bere alcolici. Sistematica è la raccomandazione a diffondere queste conoscenze fra le donne in gravidanza perché, notoriamente, la comunicazione tra pari è una delle forme più efficaci della diffusione delle conoscenze.

I corsi di preparazione al parto che teniamo nei consultori della mia città sono un'altra occasione di informazione e prevenzione.

Quando illustro la fisiologia della gravidanza, accenno all'alimentazione e all'igiene da adottare e mi soffermo sui possibili problemi per il nascituro legati al consumo di bevande alcoliche in gravidanza.

In questi incontri spiego in termini scientifici e facilmente accessibili cosa sia la sindrome feto-alcolica (*Fetal Alcohol Syndrome*, FAS) e l'insieme dei molteplici danni alcol-correlati (*Fetal Alcohol Spectrum Disorders*, FASD) e ribadisco la raccomandazione di evitare il consumo di alcolici.

Una iniziativa recente molto importante è stato inserire nell'opuscolo “La tua gravidanza” che sarà pubblicato sul sito della ASM, un paragrafo che spiega perché non bisogna bere alcol in gravidanza e che non esistono bevande alcoliche consentite in stato interessante.

Ovviamente tali informazioni devono essere fornite con serietà e onestà intellettuale ma anche con serenità senza provocare ansie, anzi cercando di alleviarle fornendo la spiegazione scientifica degli eventi fisiologici.

In particolare per chi affronta la gravidanza per la prima volta è fondamentale spiegare i cambiamenti durante la gravidanza nel corpo della madre e nello sviluppo del feto e cosa è bene fare o non fare per garantire una gravidanza sana. Inoltre la preparazione al parto è occasione

per spiegare come si svolge il parto, quando inizia veramente il travaglio, perché può essere necessario indurre il travaglio o quando è opportuno ricorrere al taglio cesareo. Conoscere gli eventi fisiologici aiuta le future madri a vivere meglio il corso della gravidanza, affrontare più serenamente il parto e godere pienamente il momento più bello della loro vita, la nascita del figlio.

Da alcuni mesi presso il Servizio abbiamo iniziato a raccogliere sistematicamente i dati relativi ai nostri interventi per la prevenzione dei danni alcol-correlati in gravidanza per valutarne l'efficacia. I risultati di questa fase-pilota saranno presto elaborati e resi noti.

Tutto un altro capitolo è quello legato al consumo esagerato di alcol nelle giovani e nelle adolescenti.

In questi ultimi anni ho avuto occasione di affrontare il problema dell'uso precoce ed eccessivo di alcol nelle ragazze quando parlo di contraccezione, della contraccezione ormonale, o in occasione della prescrizione della "pillola del giorno dopo".

Indagando, senza moralismi preconcepi, sui loro stili di vita non è raro riscontrare, specie nei fine settimana, un consumo eccessivo di bevande alcoliche talora associato ad altre sostanze.

Il consumo precoce ed eccessivo di alcol costituisce, soprattutto per le donne, un fattore di alto rischio per la salute presente e futura, in quanto non solo correlato alla possibilità di sviluppare dipendenza, ma anche di alterare l'equilibrio ormonale, di generare comportamenti inadeguati con il loro tributo di incidenti stradali, gravidanze indesiderate, malattie sessualmente trasmesse.

Inoltre, forse non tutti i ginecologi tengono in giusto conto l'interferenza tra alcol e farmaci e quindi anche la necessità di valutare adeguatamente eventuali controindicazioni alla prescrizione di contraccezione estroprogestinica legate al consumo di alcol.

Anche l'abuso del ricorso alla contraccezione di emergenza può essere la spia di una sessualità non consapevole influenzata dall'abuso di alcol e dunque rappresentare una finestra di opportunità di intervento.

## Conclusioni

Tirando le somme dopo due anni di esperienza nella prevenzione dei problemi alcol-correlati credo di potere fare alcune semplici affermazioni:

- Il ginecologo in un servizio territoriale ha l'opportunità di fare informazione su una vasta utenza, e con il giusto approccio può indirizzare verso comportamenti più sicuri e salutari.
- È possibile fornire e divulgare una informazione scientificamente corretta ad un significativo numero di donne e quindi di famiglie senza costi aggiuntivi per il Servizio Sanitario Nazionale (SSN).
- La gravidanza è un momento particolare nella vita della donna e prevede frequenti contatti con l'SSN. Rappresenta dunque una opportunità non solo per mettere in atto azioni di prevenzione dei problemi alcol-correlati e dell'insorgenza di FAS e FASD ma anche per motivare e incoraggiare comportamenti salutari e migliorare globalmente lo stato di salute pubblica. Il tutto con un impegno economico contenuto.
- Riuscire a definire l'approccio giusto per ogni singola utente è il determinante più sicuro di successo e nello stesso tempo il più difficile da raggiungere.

Citando un filosofo arabo: "Le parole spesso sono più forti di un colpo di scimitarra".

## **ONDa: UN OSSERVATORIO NAZIONALE A TUTELA DELLA SALUTE DELLA DONNA**

Francesca Merzagora

*Osservatorio Nazionale sulla salute della Donna, Milano*

ONDa (Osservatorio Nazionale sulla salute della Donna, [www.ondaosservatorio.it](http://www.ondaosservatorio.it)) nasce nel 2005 con l'intento da parte dei suoi fondatori di studiare la salute femminile a 360 gradi nei vari cicli vitali della donna promuovendo in Italia una maggior attenzione nei confronti della salute di genere presso tutti i livelli della società civile e scientifica.

L'impegno e la sfera di azione di ONDa si sviluppano su più livelli.

Il primo è rappresentato da una attività di *advocacy* svolta a livello europeo e italiano (centrale e locale) che si propone di rendere note al mondo politico le principali problematiche relative alle patologie femminili influenzando i *policy maker* e le loro agende legislative attraverso l'approvazione bipartisan di Mozioni e documenti che caratterizzano problematiche e bisogni di salute delle donne italiane. Attraverso una stretta collaborazione, creata negli anni e rinnovata a ogni cambio di legislatura, con un gruppo trasversale di Parlamentari prevalentemente facenti parte delle Commissioni Igiene e Sanità del Senato e Affari Sociali della Camera, opportunamente sensibilizzate di volta in volta su una tematica specifica (salute materno infantile, osteoporosi, salute mentale, tumore alla mammella, ecc.) sono state portate negli anni all'attenzione del Governo varie istanze inerenti alla salute della donna.

Interessante è citare le azioni svolte in collaborazione anche con l'Organizzazione Mondiale della Sanità con l'obiettivo di ridurre l'incidenza dei parti cesarei nel nostro Paese e più recentemente la lotta alla violenza femminile a seguito della presentazione nel maggio 2013 dei dati mondiali sulla violenza sulle donne.

Vari tavoli tecnici anche regionali organizzati al fine di verificare in diverse regioni italiane le motivazioni sul ricorso così elevato in Italia al parto cesareo, hanno anche consentito di portare alla luce realtà virtuose come quella dell'Ospedale di Castellamare di Stabia che pur appartenendo a una Regione come la Campania, dove il tasso di parti con taglio cesareo ha superato da tempo il 60%, il ricorso a tale procedura è incredibilmente contenuto. Questo grazie alla grande volontà del direttore del dipartimento di ginecologia dell'Ospedale.

Il secondo livello di impegno di ONDa si pone l'obiettivo di contribuire al miglioramento nell'accesso e nella qualità delle prestazioni offerte dal Servizio Sanitario Nazionale (SSN). Partendo dalla considerazione che le donne italiane vivono più a lungo degli uomini, ma si ammalano di più e soprattutto usufruiscono maggiormente dell'SSN e che quando una donna entra in una struttura ospedaliera ben poca attenzione viene prestata alle sue specifiche esigenze, è stato creato il Programma Bollini rosa volto a identificare e premiare gli Ospedali italiani che offrono servizi di eccellenza nell'ambito dei percorsi diagnostico terapeutici delle patologie femminili e che pongono la donna al centro delle cure. In particolare il bando biennale identifica, seleziona e rende note quelle strutture che nel panorama sanitario italiano rispondono a tre criteri: presenza di Unità operative dedicate all'assistenza e alla cura di patologie di maggior incidenza nella popolazione femminile, appropriatezza del percorso di cura inteso come garanzia di un accurato processo clinico della patologia in conformità con le esigenze e le caratteristiche della donna e infine centralità della donna e tutela della sua dignità da parte della struttura ospedaliera, umanizzando le cure e sostenendo la paziente nella sua complessità psicofisica.

Gli Ospedali sono premiati con uno o più Bollini rosa sulla base dei servizi offerti nelle seguenti Unità operative: diabetologia, dietologia e nutrizione clinica, endocrinologia, ginecologia e ostetricia, malattie e disturbi dell'apparato cardiocircolatorio, medicina della riproduzione, neurologia, oncologia, psichiatria, reumatologia, senologia, ambulatori sulla violenza sulla donna.

Gli ospedali che presentano la propria candidatura compilano un questionario le cui domande vengono definite da un gruppo multidisciplinare di esperti in accordo con le Linee guida del Ministero della Salute e delle Società scientifiche. Ad ogni domanda corrisponde un punteggio, al totale del punteggio conseguito per ciascun servizio candidato, è applicato un algoritmo matematico che consente l'assegnazione automatica del numero dei bollini che viene poi validato da una speciale Commissione che si riserva, sulla base dell'analisi di fattori qualitativi non misurabili oggettivamente, di alzare il punteggio in caso di particolari fiori all'occhiello.

Nel bando 2012-2013 sono stati premiati 224 ospedali (63 con un bollino rosa, 113 con due bollini e 48 con tre bollini) coprendo tutte le regioni italiane con una concentrazione particolarmente elevata in Lombardia e nel Veneto. Si tratta prevalentemente di ospedali a gestione diretta, aziende ospedaliere e IRCSS (Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico).

L'esperienza dei Bollini rosa ha una duplice interessante valenza sia per le donne che fruiscono dei servizi sia per gli ospedali che li offrono. Le donne anche attraverso il sito [bolliniorosa.it](http://bolliniorosa.it), nonché una linea telefonica dedicata, hanno la possibilità di compiere una scelta consapevole del luogo di cura a cui rivolgersi, potendo anche esprimere tramite il sito il livello di gradimento sui servizi ricevuti. Possono inoltre fruire di una serie di visite gratuite e di consulenze nonché ricevere materiale informativo in occasione degli *Open day* organizzati dagli ospedali che aderiscono a queste iniziative (giornata mondiale del sollievo, giornata del bambino prematuro, giornata mondiale salute mentale, giornata mondiale sull'osteoporosi).

Gli ospedali che aderiscono a questo network, oltre a ricevere un riconoscimento istituzionale per il loro impegno nei confronti della salute femminile, fruiscono di ampia visibilità mediatica sul territorio che consente loro anche un'implementazione della domanda di servizi da parte di una fetta di popolazione residente al di fuori del proprio bacino di utenza. La concorrenza tra strutture e le segnalazioni ricevute sui servizi offerti consentono agli ospedali, se ne colgono l'opportunità, un costante miglioramento nelle prestazioni erogate.

È questo un piccolo contributo di ONDa al miglioramento dell'SSN.

Il terzo livello di impegno di ONDa è rivolto alla popolazione femminile in generale e ai media e si esplica attraverso campagne di comunicazione, attività di ricerca, pubblicazioni scientifiche e divulgative, convegni e altro sulle più comuni tematiche di salute femminile.

In particolare attraverso varie indagini conoscitive svolte su campioni nazionali di donne, sia sane che malate, si cerca di esplorare la loro consapevolezza nei confronti di varie patologie, il loro grado di conoscenza e gli strumenti messi in atto per prevenirle, il grado di soddisfazione sulle cure ricevute, nonché le modalità con cui vengono affrontati gli effetti collaterali che incidono sulla qualità di vita.

Attraverso il portale "[ondaosservatorio.it](http://ondaosservatorio.it)", visitato mensilmente da oltre 100.000 utenti, è possibile non solo seguire i principali articoli scientifici e divulgativi divisi per aree tematiche inseriti settimanalmente, ma anche seguire le dirette web con gli specialisti su varie patologie, consultare gli elenchi dei centri specializzati per la cura e avere contatti con le associazioni di pazienti attive sul territorio.

Il sito "[depressionepostpartum.it](http://depressionepostpartum.it)" è stato creato nell'ambito del progetto presentato nel 2011 alla Presidenza del Consiglio dei Ministri con l'intento di consentire l'integrazione tra donne in attesa e neo mamme con problemi psichici che sono molto diffusi (oltre il 16% delle

neomamme soffre di una qualche forma di depressione perinatale) permettendo anche l'approfondimento di temi legati all'ansia e alla depressione. Si parla poco di prevenzione della depressione *post-partum*: la mente femminile subisce un'evoluzione particolare sia in gravidanza che dopo il parto, è quindi molto importante affrontare il tema dei disturbi dell'umore in questo particolare ciclo vitale e informare le future mamme sugli strumenti oggi esistenti per prevenirla e affrontarla.

ONDa ha creato una rete territoriale di Centri di eccellenza localizzati sull'intero territorio nazionale a cui qualunque donna con questo tipo di problema possa rivolgersi. È stato inoltre attivato un collegamento tra centri di ascolto e associazioni di pazienti, un punto di incontro, di informazione e di aggiornamento su un problema spesso sottovalutato e misconosciuto. La diagnosi di questa problematica, infatti, avviene solo nel 50% dei casi anche perché la puerpera viene in genere dimessa dall'ospedale in terza giornata con il primo controllo programmato a quaranta giorni. Se trascurata, la depressione *post-partum* può evolvere verso quadri psicopatologici complessi che compromettono la funzione materna con possibili gravi conseguenze sullo sviluppo emotivo e cognitivo del bambino. Il mancato trattamento espone nel lungo termine al rischio di nuovi episodi depressivi (stimati nella misura dell'80% entro i successivi cinque anni).

Infine il sito "salutedigenere.it" è invece dedicato alla formazione e alla ricerca di genere. All'interno della piattaforma è possibile consultare articoli di divulgazione scientifica e fruire di corsi di formazione a distanza rivolti a specifici progetti di informazione e sensibilizzazione.

Ad anni alterni viene pubblicato, in collaborazione con Farindustria, un Libro bianco sulla salute della donna che costituisce un punto di riferimento importante e una fotografia dello stato di salute della popolazione femminile italiana: vengono analizzate le patologie più comuni, studiati i trend e analizzate le differenze regionali anche in termini di prevenzione e diagnosi precoce.

Una delle problematiche serie di cui si occupa l'Osservatorio è legata all'abuso di alcol, problema che, pur essendo maggiormente legato al sesso maschile, riguarda secondo i dati ISTAT (Istituto Nazionale di Statistica) 2009 il 56,9% delle donne italiane (maschi 81%). Tra i 27 e i 74 anni il consumo di alcolici nelle donne si aggira sul 65% (maschi 85%). Rilevante appare la fascia di ragazzi tra gli 11 e i 15 anni di età che ha assunto alcolici negli ultimi 12 mesi: 18% dei maschi e 15% delle femmine.

L'attrazione femminile verso l'alcol è cresciuta nel tempo avvicinando la donna al fascino di questa sostanza che ha origini antiche. L'alcol etilico è il principale componente di svariati tipi di bevande, noto sin dall'antichità, riconosciuto inoltre, a torto, come il più antico antidepressivo del mondo.

Perché la donna si è avvicinata sempre più all'alcol? La spiegazione va ricercata anche nella progressiva parità di diritti e doveri (soprattutto in quei Paesi dove sono maggiormente riconosciuti eguali diritti) che ha portato la donna a una maggiore autonomia sia economica che comportamentale avvicinandola sempre più al modello comportamentale maschile.

In Italia, come in altre città europee, la tolleranza verso il consumo di bevande alcoliche ha subito in questi ultimi anni un brusco tracollo. Sulla base dell'osservazione di dati statistici relativi all'incremento dei tassi di mortalità legati non solo all'impiego di alcol in generale, ma anche al suo impiego durante la guida di vetture, si è fortunatamente arrivati a mettere a punto alcune strategie di prevenzione della dipendenza/abuso alcolico.

Importanti fattori socio culturali differenziano uomini e donne nel consumo di alcol indicando le donne con maggiore livello di scolarità come più forti consumatrici rispetto a quelle meno acculturate, pattern queste non presente negli uomini, così come la disoccupazione influisce maggiormente sul sesso femminile rispetto a quello maschile. Gli attuali anni di crisi

economica e del lavoro che stiamo sperimentando confermeranno con ogni probabilità questo trend.

Analogamente si verifica una maggiore influenza nel sesso femminile, rispetto a quello maschile, di una storia familiare di alcolismo e di violenza.

Perché è importante riservare attenzione particolare all'abuso di alcol nelle donne? Una delle risposte è che l'organismo femminile, rispetto a quello maschile, risulta essere più vulnerabile agli effetti dell'alcol. Le linee guida nutrizionali raccomandano che una donna adulta e in buona salute non superi un consumo giornaliero di 1-2 unità alcoliche, mentre gli uomini non devono superare le 2-3 unità alcoliche. La differenza è legata alla minor massa corporea femminile, alla minor quantità di acqua e alla minore efficienza dei meccanismi di metabolizzazione dell'alcol.

Il tema dell'abuso di alcol è ampiamente trattato anche nell'ultima edizione del "Libro bianco sulla salute della donna" realizzato da ONDa (1). I dati del 2010 confermano che la prevalenza di consumatori a rischio presenta un notevole svantaggio maschile (25,4% vs 7,3%): il consumo maggiore si registra per gli uomini nelle regioni settentrionali e in alcune regioni centrali e meridionali (Molise il valore più alto), mentre per le donne nella maggior parte delle regioni del Nord (Valle d'Aosta valore più alto pari al 15,4%).

Analogia differenza di genere si verifica anche considerando le tipologie di consumo a rischio, cioè il *binge drinking* (uomini 16,6%, donne 4,4%) e il consumo giornaliero eccedentario (uomini 8,0%, donne 1,3%). Rispetto ai dati evidenziati nella terza edizione del Libro bianco del 2008 è evidente il considerevole aumento degli individui che concentrano in un'unica occasione l'assunzione di oltre 6 bicchieri di una qualsiasi bevanda alcolica (uomini +41,9%, donne +33,3%). Un aumento importante si registra anche per il consumo giornaliero eccedentario del genere maschile (+40,4%).

A livello territoriale i valori più elevati di prevalenza per *binge drinking* si osservano in Molise per gli uomini (36,5%) e nella Provincia Autonoma di Bolzano per le donne (12,4%) mentre i valori minimi si riscontrano in Sicilia (10,0%) per il genere maschile e in Puglia (2,2%) per il genere femminile.

Pur essendo l'adolescenza il periodo più importante per l'esordio e l'incremento progressivo nell'uso di alcol (con i correlati costi sociali, economici e sanitari che gravano sulla società), l'uso di alcol in gravidanza costituisce parimenti un problema serio che a seconda dello stadio in cui la donna ne fa uso, della definizione di esposizione all'uso, della classificazione diagnostica e del metodo di valutazione, varia (secondo Crome e Kumar) dallo 0,2% al 14,8% (2).

In questo particolare periodo della vita anche un consumo minimo di alcol può provocare problemi di salute e di sviluppo nel feto. Ancora oggi oltre il 50% delle donne in gravidanza consuma bevande alcoliche senza sapere che un loro uso abituale una o più volte al giorno può provocare una maggior frequenza di aborti soprattutto nel primo trimestre. Questo si verifica perché l'alcol attraversa la placenta e arriva direttamente al feto con una concentrazione praticamente equivalente a quella della madre che ha assunto la bevanda alcolica. I danni si verificano a livello cerebrale e sui tessuti in via di formazione; elevati livelli di consumo materni determinano carenze vitaminiche che hanno ripercussioni sullo sviluppo del nascituro.

Sappiamo che il primo e l'ultimo trimestre della gravidanza sono i più delicati: il neonato, spesso prematuro, presenta disturbi definiti alcolici e nei casi più gravi la sindrome conclamata feto alcolica, irreversibile e spesso progressiva. Senza poi parlare delle problematiche alcol-correlate che si presentano nei figli adulti di madri che hanno fatto uso di alcol in gravidanza che variano da deficit cognitivi a una minor capacità di memoria e all'iperattività.

Il fenomeno dell'abuso di alcol nelle donne è quindi molto serio e deve essere affrontato con tutte le armi a disposizione non solo perché il problema riguarda il genere femminile in tutte le fasi del ciclo vitale, ma soprattutto perché una forte consapevolezza della donna sui rischi legati

al consumo di alcol, svolgendo lei tradizionalmente il ruolo di care giver familiare, potrebbe avere un impatto positivo anche sulle abitudini di vita del genere maschile.

Nel tempo anche i media hanno dedicato una sempre maggiore attenzione a questo fenomeno: il numero di articoli scritti su questo tema e citati in PubMed negli ultimi 15 anni è infatti più che raddoppiato. Ma lo sforzo deve continuare e aumentare, occorre un lavoro minuzioso di comunicazione sui rischi legati all'abuso di alcol, sulle possibilità legate alla prevenzione e alla cura analogamente a quanto fatto nei confronti del fumo di sigarette nella speranza che tali campagne abbiano sul genere femminile un maggior impatto rispetto a quanto verificato sul fumo.

Il nostro Osservatorio continuerà con gli strumenti e i mezzi a sua disposizione e con il coinvolgimento degli Ospedali con i Bollini rosa, nello sforzo di sensibilizzazione della popolazione femminile su questo tema. Il 10 ottobre 2013 in occasione della giornata mondiale sulla salute mentale oltre 70 Ospedali italiani con i Bollini rosa per la prima volta apriranno le porte a un *Open day* dedicato alla salute mentale femminile, patrocinato dalla Società Italiana di Psichiatria, durante il quale verranno offerti gratuitamente alle donne che lo richiederanno, consulti e visite, verranno organizzati convegni e distribuito materiale informativo. Si parlerà di ansia e depressione, di disturbo bipolare e di psicosi, ma anche di violenza sulle donne, di problemi legati al sonno e naturalmente anche di consumo di alcol e sostanze.

Il nostro auspicio è che questa giornata consenta alle tante donne italiane che hanno questi problemi di non vergognarsi a chiedere aiuto, di prendere consapevolezza, capire di doversi curare e soprattutto di sentirsi accolte e aiutate nel loro percorso di recupero.

## Bibliografia

1. Osservatorio Nazionale sulla salute della Donna. *Libro bianco sulla salute della donna*. 4 edizione. Milano: ONDa; 2013.
2. Crome IB, Kumar MT. Epidemiology of drug and alcohol use in young women. *Semin Fetal Neonatal Med* 2007;12(2):98-105.