

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
GENOVA**

**SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E
FARMACEUTICHE
DIPARTIMENTO DI FARMACIA (DIFAR)**

Corso di laurea magistrale in Farmacia



Tesi di laurea

**Approcci terapeutici per le
tossicodipendenze e prospettive
per trattamenti innovativi**

Relatore:
Prof. Luca Raiteri

Candidato:
Andrea Giacobbe

Anno accademico 2020-2021

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	3
1.1 <i>alcune basi neurobiologiche della dipendenza</i>	4
1.2 <i>aspetti delle attuali terapie per le tossicodipendenze</i>	6
1.3 <i>scopo della tesi</i>	10
2. TERAPIE FARMACOLOGICHE PER I DISTURBI DA USO DI SOSTANZE	13
2.1 <i>possibili terapie per la dipendenza da nicotina</i>	13
2.2 <i>cura del paziente dipendente da cannabis.....</i>	15
2.3 <i>nuove possibili terapie anti-cocaina</i>	17
2.4 <i>trattamento della dipendenza da oppiacei.....</i>	22
2.5 <i>trattamento della dipendenza da alcool.....</i>	25
2.6 <i>alcuni nuovi promettenti approcci terapeutici</i>	31
2.6.1 <i>neuropeptide s</i>	32
2.6.2 <i>epigenetica e altri meccanismi</i>	34
3. TERAPIE PSICOLOGICHE E SOCIALI.....	38
4. TERAPIE TRAMITE NEUROMODULAZIONE.....	41
4.1 <i>stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (rTMS)</i>	42
4.2 <i>TMS nei disturbi da uso di sostanze</i>	48
5. CONCLUSIONI	52
6. BIBLIOGRAFIA.....	54

1. INTRODUZIONE

La “crisi degli oppiacei” negli Stati Uniti ha incrementato l’attenzione dell’opinione pubblica, di organizzazioni e di agenzie sul problema della tossicodipendenza. L’abuso di oppioidi su prescrizione e un drammatico aumento della disponibilità di oppioidi illeciti hanno creato quella che viene comunemente chiamata l’ “epidemia di oppioidi”. La portata di questa “epidemia” è sorprendente: Circa il 4% della popolazione adulta degli Stati Uniti ha abusato di oppioidi su prescrizione, e nel 2015, più di 33.000 morti sono state attribuite a overdose di oppioidi leciti e illeciti. (Skolnick, 2018). Questa “epidemia” ha stimolato iniziative nelle comunità locali, statali e federali, da una parte per trattare i pazienti con dolore con accorgimenti più mirati, e dall’altra per trattare la dipendenza da sostanze (e non solo da oppioidi) in modo più efficace. Si è passati dal trattare il problema delle dipendenze come un problema isolato dal sistema sanitario, più o meno fortemente legato a punti di vista punitivi, alla sua considerazione come un disturbo cronico mentale, influenzato anche da fattori sociali e, in quanto situazione patologica, curabile (Volkow, 2020).

Secondo una definizione data dall’OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) la tossicodipendenza è: “una condizione di intossicazione cronica o

periodica, dannosa all'individuo e alla società prodotta dall'uso ripetuto di una sostanza chimica, naturale o di sintesi. Sono sue caratteristiche:

- 1) il desiderio incontrollabile di continuare ad assumere la sostanza e di procurarsela con ogni mezzo
- 2) la tendenza ad aumentare la dose (tolleranza)
- 3) la dipendenza psichica e talvolta fisica nei confronti della sostanza”

(OMS, 1957).

Successivamente, anche in considerazione delle recenti evoluzioni sulla visione del problema, ci sono state alcune modifiche nella sua stessa definizione. Oggi in merito si usa spesso il termine “Disturbi da Uso di Sostanze” (“*Substance Use Disorders*”, SUDs), definizione in accordo con il DSM V, la quinta edizione del manuale “*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*” (American Psychiatric Association, 2013).

1.1 ALCUNE BASI NEUROBIOLOGICHE DELLA DIPENDENZA

La tossicodipendenza è riconosciuta come patologia mentale strettamente legata al piacere, il quale è di notevole importanza per il comportamento motivato dei mammiferi. Le aree cerebrali che fanno parte del circuito del piacere e gratificazione comprendono fra le altre, l'area ventrale tegmentale (VTA), la *shell* del *nucleus accumbens* e l'amigdala estesa (si veda ad esempio, per una revisione, Koob e Volkow, 2010).

È ormai noto che stimoli consumatori come un nuovo alimento piacevole causano la liberazione di dopamina nella *shell* del *nucleus accumbens* che induce un'eccitazione e la memorizzazione di caratteristiche del contesto che saranno predittive dell'evento stesso. La dopamina, perciò, instaura il piacere appetitivo ovvero uno stato di euforia che nasce dopo il contatto con l'oggetto del piacere e che rinforza il comportamento di ricerca dell'oggetto del desiderio.

Una differenza tra stimoli primari fisiologici (es. il cibo) e sostanze di abuso è che nel secondo caso la liberazione di dopamina indotta dallo stimolo gratificante non va incontro ad "abituazione", perciò, gli effetti gratificanti si consolidano sempre di più.

Questo fa sì che vari stimoli o contesti siano fortemente connessi alla sostanza di abuso e a forti stati emozionali che sono alla base del craving cioè la spinta motivazionale per la ricerca della sostanza (per revisioni, si veda Di Chiara, 2002; Hyman et al, 2006).

I ricordi della droga nell'ambiente e i sintomi dell'astinenza guidano la ricerca del farmaco e di un sollievo temporaneo dal malessere causato dall'astinenza. Si può dire perciò che la tossicodipendenza è un disturbo motivazionale che nasce da un effetto esagerato delle sostanze d'abuso sui meccanismi che regolano il piacere appetitivo.

Molte persone nella loro vita sono esposte a sostanze che possono creare dipendenza, come alcool e nicotina, ma non tutti sviluppano dipendenza. Solo

in individui vulnerabili a causa di fattori genetici, età e altre variabili, l'esposizione continuativa a sostanza d'abuso induce dipendenza (Volkow, 2020). In questi individui si riduce la capacità dei circuiti dei gangli della base di rispondere alla ricompensa naturale e di motivare i comportamenti necessari per la sopravvivenza, mentre aumenta la sensibilità allo stress e dei circuiti collegati a processi emotivi, compresi quelli che coinvolgono l'amigdala, innescando tra l'altro ansia quando non si assume il farmaco (Koob e Volkow, 2010). Queste ed altre alterazioni insieme ai meccanismi di apprendimento che legano l'aspettativa di ricompensa agli stimoli alla base della ricerca della droga si intensificano a vicenda.

Si diventa incapaci di provare una ricompensa da qualunque cosa che non sia l'assunzione del farmaco con conseguente isolamento sociale (Volkow, 2020).

1.2 ASPETTI DELLE ATTUALI TERAPIE PER LE TOSSICODIPENDENZE

Oggi l'attuale farmacoterapia per i Disturbi da Uso di Sostanze (Substance Use Disorders; SUDs) è fortemente limitata; la FDA (Food and Drug Administration) ha approvato farmaci solo per i disturbi da uso di alcool, nicotina e oppiacei.

TABLE 1. Drugs approved by the FDA for treatment of substance use disorders^a

Substance and Medication	FDA Approval	Mechanism of Action
Opioids		
Methadone	Treatment of opioid dependence	μ-Opioid receptor agonist
Buprenorphine	Treatment of opioid dependence	μ-Opioid receptor partial agonist
Extended-release naltrexone	Treatment of opioid dependence	μ-Opioid receptor antagonist
Lofexidine	Treatment of opioid withdrawal	α _{2A} -Adrenergic receptor agonist
Naloxone	Reversal of opioid overdose	μ-Opioid receptor antagonist
Alcohol		
Acamprosate	Treatment of alcohol dependence	NMDA antagonist, GABA-A allosteric modulator
Naltrexone	Treatment of alcohol dependence	μ-Opioid receptor antagonist
Disulfiram	Treatment of alcohol dependence	Acetaldehyde dehydrogenase inhibitor
Gabapentin	Used off-label to treat alcohol dependence	Unknown; increases GABA concentration
Topiramate	Used off-label to treat alcohol dependence	Voltage-gated sodium channel blocker, GABA-A allosteric modulator, AMPA/kainate receptor antagonist, carbonic anhydrase inhibitor
Nicotine		
Nicotine replacement therapy	Nicotine cessation	Nicotinic acetylcholine receptor agonist
Varenicline	Nicotine cessation	α4β2 Nicotinic acetylcholine receptor antagonist
Bupropion	Nicotine cessation	Dopamine and norepinephrine transporter blocker

Tabella tratta da: Volkow ND (2020) Personalizing the Treatment of Substance Use Disorders. *Am J Psychiatry* 177:2, 113-116

La Tabella 1 riporta schematicamente i più importanti approcci farmacologici approvati dalla FDA e attualmente disponibili per il trattamento di questi tre tipi di dipendenze.

Come dichiarato dal Prof. Michael Bardo (Direttore del Centro per la traslazione della ricerca sull' abuso di sostanze, Università del Kentucky), "Mentre abbiamo farmaci efficaci per alcune delle principali categorie di SUD¹, abbiamo solo trattamenti ad efficacia minima per il disturbo da uso di alcool e nessun trattamento approvato per il disturbo da uso di stimolanti (ad esempio, cocaina e metanfetamina)" (Dennis e Garneau- Tsodikova, 2020).

¹ Disturbo da uso di sostanze

La ricercatrice Jill Turner (Università del Kentucky) afferma che il farmaco “gold standard” per la cessazione del fumo, la vareniclina, ha solo il 30% di efficacia, che non è una percentuale sufficientemente alta per quello che è definito il “miglior trattamento disponibile” (Dennis e Garneau-Tsodikova, 2020).

Quindi i grandi limiti delle farmacoterapie attualmente a disposizione (limiti che sono minori, forse, solo per quanto riguarda il disturbo da uso di oppiacei, peraltro difficilmente risolvibile coi soli farmaci) e la mancanza di farmaci specifici per il trattamento di molti disturbi da uso di sostanze, come cannabis, cocaina e metanfetamina rendono lo sviluppo di nuove terapie una priorità assoluta (Volkow, 2020).

Oggi gli studi clinici per il trattamento dei SUDs hanno spesso come protagonisti farmaci riproposti per aiutare ad alleviare i sintomi dell’astinenza. Esempi per i disturbi da uso di cocaina includono farmaci in uso già contro il morbo di Parkinson come biperiden (fase 3, antagonista colinergico) e pergolide (fase 3, agonista della dopamina); antidepressivi come nefazodone (fase 3, antagonista della serotonina), citalopram (fase 2, inibitore selettivo della ricaptazione della serotonina), selegilina (fase 2, inibitore MAO); anticonvulsivanti come topiramato (fase 2, antagonista del recettore del glutammato), vigabatrin (fase 2/3, inibitore della GABA transaminasi), carbamazepina (fase 4, inibitore del canale del sodio), così come baclofen e

tiagabina (fase 2, agonisti GABA), e il propranololo (fase 2, beta-bloccante) (Dennis e Garneau-Tsodikova, 2020).

A causa dell'elevata co-morbilità dei disturbi da uso di sostanze con la depressione, gli psichiatri usano poi antidepressivi *off-label* per curare i loro pazienti dipendenti. Migliorare la depressione, infatti, è vantaggioso per i pazienti con disturbi da uso di sostanze (Volkow, 2020). Il bupropione è un antidepressivo che, come discusso meglio più avanti, è approvato anche per il trattamento della dipendenza da nicotina. La buprenorfina è un agonista parziale dei recettori μ -oppioidi che, pur essendo fundamentalmente un oppioide, ha presentato anche alcune proprietà antidepressive, i pazienti dipendenti da oppiacei che soffrono di depressione rispondono spesso molto bene a questo farmaco (Volkow, 2020).

Oltre alla terapia della concomitante depressione un altro obiettivo terapeutico è affrontare l'isolamento sociale sfruttando sia interventi comportamentali come il trattamento di gruppo sia terapie farmacologiche che potrebbero essere promettenti.

I farmaci, infatti, non sono l'unica soluzione terapeutica nella tossicodipendenza, le neuroscienze hanno chiarito come la dipendenza non sia un disturbo definito da un singolo comportamento (uso incontrollabile di droghe) ma un insieme di processi interconnessi. La medicina riconosce che i fattori associati al recupero sono componenti del trattamento, ad esempio l'individuo deve potersi integrare in un ambiente socialmente attivo per

facilitare il processo di guarigione. L'integrazione di tutor tra pari, coaching per il recupero e alloggi di supporto nel trattamento della dipendenza sono esempi per sostenere l'inclusione ma sono necessarie ulteriori ricerche per definire quali siano i metodi più efficaci (Volkow, 2020).

D'altra parte, oggi comprendiamo i meccanismi alla base della dipendenza sufficientemente bene da poter sperare di (ed iniziare ad) intervenire in modo più specifico in tutti i processi del disturbo, questo ci potrà auspicabilmente presto permettere di personalizzare le terapie in modo tale da adattare alle caratteristiche neurobiologiche e ai contesti dei singoli pazienti (Volkow, 2020). Un approccio personalizzato e dinamico al trattamento dei disturbi da uso di sostanze potrebbe attingere sia all'uso di farmaci innovativi, che a nuove tecniche di neuromodulazione oltre ad approcci comportamentali e sociali e loro combinazioni (come discusso in seguito).

1.3 SCOPO DELLA TESI

Come è già stato accennato, i vari Disturbi da Uso di Sostanze (SUDs) sono un grave problema di salute pubblica mondiale, per la loro estrema diffusione, per le conseguenze spesso devastanti sulla salute e sulle aspettative di vita, e per tutte le problematiche connesse (anche socio-economiche). È altresì assai noto che il trattamento efficace delle dipendenze, per la natura stessa del problema, è spesso molto difficile e gravato dal problema delle recidive. Purtroppo per

questo gruppo di patologie, pur trattabili in vari modi e a volte con successo, i trattamenti efficaci sono ancora limitati. Per quanto riguarda le terapie farmacologiche, nonostante alcuni recenti progressi (che saranno discussi) vi è una sostanziale mancanza di trattamenti che non siano affetti da serie problematiche, la prima delle quali è la spesso insufficiente o persino nulla efficacia. Le terapie di tipo psicologico, comportamentale e sociale sono una componente molto importante e spesso fondamentale del trattamento dei SUDs, tuttavia ad oggi queste terapie, da sole, possono non bastare. Esistono altri approcci terapeutici, innovativi, che includono terapie di “neuromodulazione”, agendo fisicamente, talora anche con un certo grado di invasività, su aree cerebrali coinvolte nei meccanismi delle dipendenze, come discusso nel capitolo 4.

Detto ciò, è chiaro che la ricerca, il perfezionamento, la messa a punto di nuovi trattamenti efficaci e, possibilmente, anche integrati e multidisciplinari sono, in questo campo, grosse priorità.

In questa tesi si intende prendere in esame e discutere lo stato attuale di aspetti terapeutici contro i SUDs considerando necessità che devono ancora essere soddisfatte, nonché aspetti innovativi che stanno emergendo e/o aspetti promettenti ai fini di terapie future, e prospettive su cui la ricerca è impegnata. Saranno qui presi in esame e sviluppati, principalmente, aspetti della farmacoterapia e delle nuove possibili tecniche di neuromodulazione non

invasive, tenendo però sempre presente il ruolo e l'importanza dei vari approcci psicologici, comportamentali e sociali.

2. TERAPIE FARMACOLOGICHE PER I DISTURBI DA USO DI SOSTANZE

In questo capitolo focalizziamo l'attenzione sulle terapie farmacologiche di alcuni SUDs e, in particolare, sulle classi di farmaci più promettenti nei rispettivi disturbi.

Inoltre, mettiamo in risalto certe carenze delle terapie farmacologiche disponibili, specialmente laddove mancano farmaci approvati per il trattamento di un particolare disturbo.

2.1 POSSIBILI TERAPIE PER LA DIPENDENZA DA NICOTINA

Nei paesi sviluppati l'utilizzo del tabacco è la prima causa prevenibile di malattia e morte (Skånland e Ciešlar-Pobuda, 2019). Ogni anno circa 7 milioni di persone muoiono in tutto il mondo per problemi di salute connessi al consumo di tabacco (Jordan e Xi, 2018). La nicotina, la sostanza psicoattiva del tabacco, è un agonista dei recettori nicotinici dell'acetilcolina diffusi in svariate aree cerebrali. Alcuni sottotipi di recettori nicotinici regolano il rilascio di dopamina, noradrenalina e serotonina e l'attivazione della via dopaminergica mesolimbica è ritenuta responsabile degli effetti gratificanti della nicotina (si veda Albuquerque et al., 2009). La sindrome da astinenza di

nicotina, d'altra parte, è associata a bassi livelli di dopamina nelle aree della "gratificazione" e al deficit di "ricompensa" nel cervello, inoltre è spesso associata a disturbi dell'umore (Epping-Jordan et al., 1998).

Anche per mitigare quest'ultimo aspetto del problema, sono stati testati alcuni antidepressivi come ausili nella cessazione del fumo. In questo ambito, fra le poche terapie di prima linea si usa il bupropione, che è dotato, al di là dell'effetto antidepressivo, di proprietà che possono coadiuvare nella cessazione del fumo. Si tratta di un antidepressivo "atipico", con un'efficacia nella terapia della dipendenza da nicotina simile alla vareniclina, agonista parziale dei recettori nicotinici, ma con un miglior profilo di effetti collaterali (Kulaylat et al, 2018). Il suo meccanismo d'azione dovrebbe migliorare la trasmissione noradrenergica e dopaminergica inibendo il "reuptake" dei neurotrasmettitori, inoltre è riportato essere antagonista nAChR (Damaj et al., 2004; Paterson et al., 2007). Inoltre, la nortriptilina, antidepressivo triciclico di seconda generazione, che agisce come inibitore del "reuptake" di noradrenalina, è usato come antidepressivo in alternativa (Kripke, 2005).

Oltre all'utilizzo di antidepressivi, per la cessazione del fumo, sono disponibili altre terapie, tra cui la terapia sostitutiva con la nicotina. L'utilizzo di un agonista pieno dei recettori nicotinici, come la nicotina, è utile per alleviare i sintomi dell'astinenza, poiché vengono fornite basse dosi di nicotina, senza le altre sostanze chimiche dannose del tabacco. Tuttavia, questo tipo di terapia non elimina facilmente la dipendenza da nicotina e spesso non riesce a

prevenire le ricadute (Jordan e Xi, 2018). Un'alternativa al bupropione e alla terapia sostitutiva con la nicotina è la vareniclina, questo farmaco è un agonista parziale altamente selettivo e potente per il recettore nicotinico $\alpha 4\beta 2$, che ha un ruolo chiave nella dipendenza da nicotina (Jordan e Xi, 2018). Questo farmaco provoca un'attivazione parziale del recettore in assenza di nicotina, attenuando i sintomi di astinenza invece, in sua presenza, attenua la ricompensa indotta dalla nicotina, riducendone di conseguenza l'assunzione (Jordan e Xi, 2018).

La vareniclina è più efficace del bupropione e della terapia sostitutiva con la nicotina nel sostenere l'astinenza dal fumo e non ha propensione all'abuso (Jordan e Xi, 2018).

Nonostante tutto ciò, considerando quanto discusso in precedenza (Par. 1.2) è evidente l'insufficienza delle attuali farmacoterapie ai fini della soluzione del problema della dipendenza da nicotina.

2.2 CURA DEL PAZIENTE DIPENDENTE DA CANNABIS

La cannabis (conosciuta anche come marijuana) è la droga illecita più usata nel mondo (Lafaye et al, 2017). Circa 4,5-7 milioni di persone negli Stati Uniti soddisfano i criteri per un "disturbo da uso di cannabis". La cannabis può creare una dipendenza psicologica e fisica, i cui segni distintivi sono tolleranza e

astinenza. Spesso chi ha un disturbo da uso di cannabis è inconsapevole della sua dipendenza, e può sfuggire anche all'attenzione delle altre persone compresi operatori sanitari. I soggetti che consumano molta cannabis sostengono ad esempio che essa fornisce aiuti contro ansia ed insonnia, ed effettivamente ci sono in questo senso possibili effetti a breve termine, ma a lungo termine queste condizioni peggiorano nel tempo. Il disturbo da uso di cannabis è curabile e l'approccio migliore è multidisciplinare ovvero tramite terapie psicosociali e comportamentali con l'utilizzo di alcuni farmaci (Hill e Williams, 2020). Non è stato approvato in realtà alcun farmaco dall'FDA con indicazione specifica per il trattamento del disturbo da uso di cannabis, tuttavia vengono usati farmaci (alcuni *off-label*) che hanno come obiettivo l'interferenza sul desiderio, sui sintomi di astinenza, e i disturbi psichiatrici in comorbidità (Skånland e Cieślar-Pobuda, 2019). Per esempio, il naltrexone, un antagonista del recettore μ -oppiode, è stato approvato dalla FDA per i disturbi da uso di alcool ed oppioidi e (in combinazione con il bupropione) per il disturbo da abbuffate (Skånland e Cieślar-Pobuda, 2019). Una singola dose giornaliera di 50 mg di naltrexone può anche aiutare a ridurre il desiderio di altre droghe e a frenare i comportamenti impulsivi, come il gioco d'azzardo. Ci sono studi ancora in corso per un eventuale utilizzo per il disturbo da uso di cannabis (Hill e Williams, 2020). Ci sono poi farmaci più specifici per il "sistema cannabinoide" che sono attivi sul recettore CB1 come il dronabinol, un analogo sintetico del Δ 9-THC, agonista del recettore CB1 usato in medicina

per il trattamento della nausea grave e della cachessia in corso di gravi patologie (tumori) e il nabilone che ha un'attività ancora più pronunciata sul recettore CB1 (Skånland e Ciešlar-Pobuda, 2019).

Per quanto riguarda l'astinenza i sintomi più comuni sono ansia e insonnia, perciò, si può intervenire anche con farmaci attivi contro l'ansia nel primo mese (per esempio alcuni antidepressivi della classe SSRI) e farmaci indicati per l'insonnia per un periodo di diversi mesi.

Date però le limitazioni nell'efficacia dei farmaci impiegabili contro il disturbo da uso di cannabis, gli approcci psicosociali e comportamentali assumono molta importanza. La psicoterapia cognitivo-comportamentale e la terapia di miglioramento motivazionale, specialmente in combinazione si sono rivelate molto utili (Hill e Williams, 2020). Gli approcci comportamentali possono aiutare i pazienti, tra l'altro, a trovare nuove attività stimolanti, oltre che evitare persone, luoghi e situazioni associate alla droga (Hill e Williams, 2020).

2.3 NUOVE POSSIBILI TERAPIE ANTI-COCAINA

La cocaina è la seconda droga illecita più comunemente usata dopo la cannabis nella popolazione generale, solo negli Stati Uniti ci sono oltre 2,2 milioni di consumatori regolari e 1 milione di individui con “disturbo da uso di cocaina”.

Negli ultimi anni è aumentato considerevolmente il numero dei decessi da overdose di cocaina (Kampman, 2019).

La cocaina deve i suoi principali effetti all'inibizione della ricaptazione della dopamina, è un potente agente stimolante del sistema nervoso centrale e una droga altamente tossicomane² (Pitchot et al, 2013).

Il primo intervento nella cura dei consumatori di cocaina parte già con la prevenzione primaria rivolta ai nuovi potenziali consumatori, ovvero aumentare la loro consapevolezza del problema mediante la diffusione di informazioni. Per quanto riguarda l'aiuto nell'astinenza, nessun trattamento farmacologico è registrato, in caso i sintomi siano moderati potrebbe essere già utile un adeguato riposo. Se invece i sintomi sono più gravi (ad esempio in presenza di depressione maggiore) può essere richiesta l'ospedalizzazione o comunque il trattamento sintomatico (Pitchot et al, 2013) avvalendosi, tra l'altro, di farmaci antidepressivi. Poiché nessun farmaco è stato approvato con l'indicazione specifica del trattamento del disturbo da uso di cocaina, il trattamento psicosociale è attualmente il trattamento standard. Nonostante i progressi nello sviluppo di trattamenti psicosociali, molti pazienti ancora non rispondono adeguatamente a questi trattamenti. Questa grave limitazione ha stimolato con una certa urgenza la ricerca di nuovi trattamenti farmacologici; oggi grazie ai progressi nella comprensione della neurobiologia del disturbo da

² Che causa tossicodipendenza

uso di cocaina ci sono potenziali farmaci promettenti che hanno mostrato risultati incoraggianti in studi clinici controllati (Kampman, 2019).

Le classi farmacologiche più promettenti finora includono agonisti della dopamina, altri stimolanti come il modafinil (come terapia di “sostituzione”), e agonisti del GABA/antagonisti del glutammato, come il topiramato. Inoltre, possono essere utili alcune combinazioni di agenti farmacologici (per esempio, anfetamina e topiramato) (Kampman, 2019).

Il modafinil è uno stimolante blando, usato in clinica per trattare i sintomi della narcolessia ed altri disordini del sonno caratterizzati, per esempio, da estrema sonnolenza diurna (Kampman, 2019). È stato osservato che il modafinil aumenta la neurotrasmissione dopaminergica inibendo il trasportatore della dopamina, ma con effetti molto più blandi rispetto a quelli della cocaina; inoltre può anche incrementare quella del glutammato (Kampman, 2019). Può essere efficace nel disturbo da uso di cocaina (fase di astinenza) sia aumentando la trasmissione dopaminergica sia invertendo l'impoverimento di quella glutammatergica visto in alcune aree del cervello nei consumatori cronici di cocaina (Kampman, 2019). Un effetto importante risiederebbe nella capacità di ridurre il “craving” oltre che di gestire meglio l'astinenza. Oggi però ci sono risultati contrastanti di studi sull'utilizzo del modafinil nei consumatori di cocaina, tuttavia esso ha mostrato efficacia in alcune sottopopolazioni di cocainomani, in particolare in quelli senza uso di alcool in comorbilità (Kampman, 2019). Il modafinil ha dimostrato di essere ben tollerato e di essere

associato a un basso rischio di abuso, rendendolo una scelta potenzialmente più sicura di agente dopaminergico (Kampman, 2019).

Tra gli esempi di ricerche finalizzate alla comprensione di bersagli specifici, che per adesso non hanno ancora portato ad una traslazione nella pratica, si può citare lo studio di Xu et al (2013) compiuto su modelli animali.

Questo studio suggerisce che vari effetti della cocaina siano da attribuire ad alterazioni trascrizionali nelle cellule post-sinaptiche dovute ad una “cascata” di reazioni che coinvolge il monossido di azoto (NO) che va a nitrosilare la gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi (GAPDH) (Xu et al, 2013). Si avrebbe l’innescò di una “cascata” di reazioni con un aumento di trascrizione “anormale” di alcuni geni trascritti tramite il fattore di trascrizione CREB (cAMP response element – binding protein).

A dosi particolarmente alte si attiverebbe anche il fattore di trascrizione p53 (mediatore di effetti citotossici). Questi effetti, dovuti alla cocaina, nel neurone postsinaptico, sarebbero correlate ad effetti comportamentali della droga e ad alcuni effetti neurotossici compresa l’apoptosi. È stato individuato un composto in grado di bloccare la cascata di reazioni qui descritte il quale, almeno nei topi utilizzati come modello di “comportamento di abuso di cocaina”, causa una interruzione della ricerca della droga. Un composto di questo genere, perciò, potrebbe essere utilizzato per aprire la strada ad una nuova possibile terapia anti-cocaina (Xu et al, 2013). Purtroppo poi gli “step” per arrivare da una osservazione di questo tipo (su modelli animali) ad una

nuova terapia (nell'uomo) sono sempre molto difficoltosi e, nella migliore delle ipotesi, richiedono lunghi tempi. Comunque nella ricerca attuale sulle sostanze d'abuso vi sono molti tentativi ed indicazioni di nuove potenziali strategie, più o meno promettenti, per il trattamento di questo devastante disturbo. A questo proposito, si esplorano nuovi sistemi/bersagli biologici la cui manipolazione con farmaci particolarmente mirati può aprire strade promettenti per lo sviluppo di nuovi trattamenti contro l'abuso/dipendenza da sostanze: per esempio, sono individuati nuovi bersagli connessi alla neurotrasmissione in aree specifiche, o riconosciuti comunque come *target* molecolari facenti parte di processi in grado controllare i comportamenti di dipendenza; alcuni di questi bersagli saranno ripresi e discussi più in dettaglio (vedi paragrafo 2.6). Tali bersagli potrebbero essere manipolabili tramite nuovi agenti farmacologici, anche se al momento è prematuro ritenere che ci siano applicazioni cliniche in tempi brevi. Tra i mutamenti a lungo termine indotti dalle droghe, (e connessi con altri tipi di adattamenti da esse provocati) sono oggi studiati anche vari cambiamenti epigenetici che sono molto stabili, e mediano sia la suscettibilità alla tossicodipendenza che alcune alterazioni cerebrali indotte dalle droghe (Nestler, 2014). Anche questi tipi di modificazioni sono considerabili come possibili bersagli per nuove terapie farmacologiche molto mirate, come discusso oltre (Par. 2.6).

Infine va qui ricordato che proprio in questi anni si stanno delineando nuovi progressi terapeutici che sfruttano tecniche non farmacologiche di neuromodulazione (si veda, in merito, il Capitolo 4) di interesse, tra l'altro, anche per le dipendenze da cocaina.

2.4 TRATTAMENTO DELLA DIPENDENZA DA OPIACEI

Come già accennato nell'introduzione, l'abuso di oppiacei è un problema nuovamente aggravatosi di recente, con aspetti preoccupanti, in particolare in Stati Uniti e Canada (ma anche in altri Stati). L'uso a lungo termine degli oppiacei può portare alla tolleranza e alla dipendenza, quest'ultima può anche non manifestarsi ma, qualora essa insorga, il recupero è notoriamente molto complesso.

La sospensione dell'oppioide provoca spesso una grave sindrome da astinenza e un trattamento efficace dei sintomi da astinenza è un primo passo cruciale nel percorso verso il successo del trattamento (Kosten e Baxter, 2019). Questo tipo di dipendenza è comunque, notoriamente, molto grave e caratterizzato da recidive.

Oggi sono diversi i farmaci approvati per il trattamento della dipendenza da abuso di oppiacei. La terapia di sostituzione con oppioidi è raccomandata come prima linea per i pazienti con disturbo da uso di oppioidi moderato o grave. Il

metadone, agonista dei recettori μ , si assume oralmente (primo vantaggio), rappresenta uno strumento terapeutico molto valido nell'ambito di una "terapia di sostituzione": a dosi appropriate da' effetti decisamente inferiori all'eroina e ha un'emivita più lunga, ciò fa sì che non compaiano sintomi di astinenza fino alla somministrazione successiva. La terapia cosiddetta "a scalare" prevede una lenta, progressiva diminuzione della dose fino a tendere alla cessazione dell'assunzione. Alcuni svantaggi sono che, come agonista pieno, porta quindi ancora il rischio potenziale di overdose, l'astinenza da metadone è a sua volta difficile da sopportare, c'è un alto tasso di abbandono della terapia "a scalare" e non c'è protezione dalle recidive.

La buprenorfina, è un agonista parziale dei recettori oppioidi, provoca una diminuzione dell'effetto piacevole dell'eroina. A differenza di altri farmaci di sostituzione, la buprenorfina non dà rischi di depressione respiratoria, quindi, è considerata più sicura. Altri vantaggi sono la lunga emivita che permette di assumere il farmaco una sola volta al giorno e l'alta affinità recettoriale che riduce l'effetto di altri oppioidi sui recettori μ (Si veda Shulman et al, 2019).

Buprenorfina e naloxone in combinazione, rappresentano un'altra buona opzione terapeutica, quest'ultimo è un antagonista dei recettori μ . Rispetto alle altre terapie di sostituzione ha un potenziale d'abuso inferiore grazie all'aggiunta di naloxone oltre che una minor manifestazione dei sintomi di astinenza alla sospensione (Chen et al., 2014).

Il naltrexone, è un antagonista dei recettori μ , perciò, impedisce al soggetto di provare piacere dalla droga, è una buona opzione per pazienti motivati che desiderano una terapia di mantenimento senza agonisti oppioidi, tali pazienti debbono però essere “drug-free” (Kosten e Baxter, 2019).

Gli agonisti α 2-adrenergici sono i farmaci non oppioidi principali per il trattamento dei sintomi di astinenza da oppioidi. Questa classe di farmaci ha un'azione anti-adrenergica utile contro l'iperreattività noradrenergica generata dall'astinenza, in particolare per i sintomi di astinenza da oppioidi viene utilizzata la clonidina (antiipertensivo) *off-label* oppure la lofexidina il cui utilizzo è stato approvato dall'FDA ed ha un miglior profilo di effetti collaterali (ipotensione e potenziale svenimento sono meno frequenti) (Kosten e Baxter, 2019).

In parziale contrasto con quanto avviene con altri disturbi da uso di sostanze, nel caso della tossicodipendenza da oppioidi si può considerare, sulla base delle caratteristiche delle terapie già note, che le terapie farmacologiche (incluse anche le terapie di supporto per il trattamento dei vari disturbi fisici e mentali correlati, qui non discusse) specifiche per questo disturbo sono consolidate ed efficaci. Ciò non sminuisce tuttavia la gravità del problema, anche perché uno dei limiti della terapia con soli farmaci, è in ogni caso la sua frequente insufficienza nella risoluzione del problema, soprattutto in via definitiva (va considerata infatti anche la particolare gravità spesso caratteristica della dipendenza da oppioidi). Peraltro, anche in questo contesto, oltre alle già citate

terapie comportamentali e psico-sociali (anche presso strutture residenziali), un grosso aiuto potrebbe auspicabilmente giungere da nuove ricerche in ambito bio-molecolare come sopra accennato, e dallo sviluppo delle tecniche di neuromodulazione.

2.5 TRATTAMENTO DELLA DIPENDENZA DA ALCOOL

Il consumo eccessivo di alcool provoca 3.3 milioni di morti ogni anno in tutto il mondo, ovvero il 15,9% dei decessi totali e il tasso più elevato di consumo di alcool si registra in Europa (Ceccanti et al., 2018). In Italia le politiche di tutela della Salute in materia di alcool purtroppo sono ancora insufficienti ad una ottimale prevenzione. I pazienti che vengono ricoverati negli ospedali a causa del consumo eccessivo di alcool sono circa il 25% dei ricoverati totali ma solo il 5% viene riconosciuto come persona affetta da disturbo da uso di alcool. La bassa capacità di identificazione e la scarsa attenzione che viene riservata al problema è un'occasione mancata per eseguire il corretto trattamento (Ceccanti et al., 2018).

Esistono diversi trattamenti per la dipendenza da alcool quali gruppi di supporto psicosociale, interventi psicologici, programmi di assistenza, trattamenti farmacologici e più comunemente una loro combinazione (Popova et al., 2011).

Per quanto riguarda le farmacoterapie la FDA ha approvato il disulfiram, naltrexone orale, naltrexone iniettabile a lunga durata d'azione e acamprosato. L'Agenzia Europea dei Medicinali non ha ancora approvato il naltrexone iniettabile a lunga durata d'azione. Il disulfiram è un inibitore dell'aldeide deidrogenasi, il suo meccanismo d'azione causa un accumulo di acetaldeide nel sangue che induce sintomi molto sgradevoli quali cefalea, nausea e vomito. Tuttavia, le prove della sua efficacia sono deboli, ha effetti avversi significativi e non sembra che riduca le ricadute o il desiderio di assunzione. Tra l'altro la "compliance" è bassa (si sa che spesso i pazienti ne evitano, consapevoli, l'assunzione). Il naltrexone orale è indicato nel trattamento del disturbo da uso di alcool in combinazione con un piano appropriato di gestione della dipendenza da alcool. Il naltrexone iniettabile a lunga durata d'azione è indicato in combinazione con il supporto psicosociale per i pazienti che sono astinenti all'inizio del trattamento, come per il naltrexone orale però gli effetti sono purtroppo modesti (Popova et al, 2011). L'acamprosato è indicato per i pazienti che sono in astinenza dal consumo di alcool e che in contemporanea sono impegnati nel sostegno psicosociale (Popova et al, 2011).

Altri farmaci, non ancora approvati per l'uso specifico (usati *off-label*), hanno mostrato indicazioni a favore di una loro efficacia, tra questi alcuni anticonvulsivanti, ad esempio, gabapentin e topiramato (Popova et al., 2011).

Nonostante la disponibilità di questi farmaci, considerando la loro scarsa efficacia in terapia, si ha la necessità di investire nella ricerca di nuove forme di farmacoterapia contro i disordini da uso di alcool.

Un esempio di “strada promettente”, che peraltro è ancora lungi dall’aver prodotto risultati clinicamente sfruttabili, sembra coinvolgere il sistema glicinergico nel Sistema Nervoso Centrale. Tra i numerosi neurotrasmettitori noti, la glicina è un neurotrasmettitore aminoacidico peculiare in quanto capace di mediare una duplice attività. La glicina viene liberata, come neurotrasmettitore, da neuroni glicinerfici oppure da cellule gliali. Essa esplica un’azione solitamente inibitoria mediante l’attivazione di recettori postsinaptici ionotropi stricnino-sensibili (GlyRs), che se attivati permettono ingresso di ioni cloruro nel neurone con conseguente effetto inibitorio (Betz, 1992; Legendre, 2001). Questo neurotrasmettitore inoltre ha un importante ruolo anche nella neurotrasmissione eccitatoria, essendo co-agonista obbligato del glutammato per l’attivazione dei recettori di tipo NMDA (Johnson e Ascher, 1987). Viste queste premesse, non sorprende il fatto che la neurotrasmissione mediata dalla glicina sia molto importante in svariati processi fisiologici e patologici (Maguire et al, 2014) e, quindi, rappresenti anche un sistema che può essere oggetto di nuovi approcci terapeutici per patologie del Sistema Nervoso Centrale, tra le quali schizofrenia, depressione, ansia e disturbi correlati, dipendenza da alcool (Harvey e Yee, 2013; Cioffi e Guzzo, 2016). L’azione sinaptica della glicina è regolata da due tipi di

trasportatori specifici, i trasportatori della glicina di tipo 1 e di tipo 2 (GlyT1 e GlyT2, rispettivamente). Tramite di essi avviene la ricaptazione (o *reuptake*) della glicina all'interno dei neuroni e/o nelle cellule gliali. In particolare, i trasportatori GlyT1 sono espressi per lo più negli astrociti (che sono cellule della glia) e in alcuni neuroni glutammatergici (Zafra et al, 1995; Cubelos et al, 2005) e sono trasportatori capaci di rimuovere la glicina dallo spazio sinaptico. Analogamente a quanto avviene per altri neurotrasmettitori (per esempio per le monoamine, relativamente alle quali gli inibitori dei rispettivi trasportatori sono sfruttati farmacologicamente per incrementare la concentrazione sinaptica delle monoamine stesse, come parte di un effetto terapeutico nel trattamento, per esempio, della depressione), pare che l'inibizione farmacologica dei trasportatori per la glicina possa essere potenzialmente di grande interesse terapeutico. In particolare, sostanze che inibiscono il trasportatore di tipo GlyT1 potrebbero, attraverso l'incremento della concentrazione sinaptica di glicina, permettere l'attuazione di nuovi interessanti interventi terapeutici: varie ricerche hanno suggerito ad esempio che farmaci inibitori di GlyT1 possano avere effetti positivi, oltre che in diverse patologie neuropsichiatriche, anche contro problemi legati all'eccessiva assunzione e dipendenza da alcool (Molander et al, 2007; Harvey e Yee, 2013; Vengeliene et al, 2018). E' stato suggerito che in specifiche aree cerebrali note per il loro coinvolgimento nei processi di abuso e dipendenza da sostanze (come, VTA e *nucleus accumbens*), l'inibizione farmacologica di GlyT1

provochi, attraverso un incremento del “tono” glicinergico in determinate sinapsi, una conseguente inibizione di vie a loro volta inibitorie, con conseguente disinibizione “a valle” del sistema di ricompensa mesolimbico (in particolare la via dopaminergica mesolimbica), fatto che potrebbe rendere meno incisivi gli effetti dell’alcool (Harvey e Yee, 2013). D’altra parte, purtroppo, uno studio clinico condotto sul composto Org25935, un inibitore selettivo del trasportatore della glicina di tipo GlyT1, valutato contro i disturbi correlati ad abuso e dipendenza da alcool, ha prodotto risultati negativi (de Bejczy et al, 2014). Le ragioni di questo risultato fallimentare nella fase di trasferimento in clinica non sono del tutto chiare. Tuttavia, la ricerca sul sistema glicinergico come fonte di nuovi bersagli farmacologici contro la dipendenza da alcool non si è interrotta, anche considerando la grave insufficienza nella attuale disponibilità di terapie efficaci. Si è cercato infatti, alla luce delle ricerche disponibili ed in corso, di migliorare le conoscenze sugli inibitori GlyT1, che comunque erano suggeriti come potenzialmente promettenti, ma in genere di conoscere meglio il sistema glicinergico, per individuare nuovi bersagli terapeutici percorribili (Lidö et al, 2017). Tra i bersagli individuabili nel sistema glicinergico, oltre ai trasportatori GlyT1/GlyT2 vi sono i già citati recettori della glicina inibitori GlyRs che, oltretutto, sono un probabile bersaglio farmacologico importante dell’etanolo (Li et al, 2019).

La piccola area cerebrale denominata *abenula laterale* (LHb) (che si trova a livello dell'*epitalamo*) è coinvolta in vari fenomeni legati all'umore e agli stati astinenziali. Nello studio di Li et al (2019), effettuato su roditori come modelli animali, si considera l'effetto del tono inibitorio sostenuto dalla neurotrasmissione glicinerica e dai recettori GlyRs in questa area, e la sua possibile importanza nel controllo di stati ansiosi e/o depressivi connessi all'astinenza da alcool in presenza di dipendenza, e nel controllo del consumo stesso della sostanza. Viene suggerita quindi, in aggiunta ad un potenziale ruolo degli inibitori dei trasportatori GlyT1, la considerazione dei recettori glicinerici come possibile bersaglio di farmaci anti abuso, soprattutto in aree strategiche come la LHb (Li et al, 2019). Quindi non vi sono, ancora, farmaci utilizzabili selettivamente su questo recettore che possano essere di aiuto clinico nell'immediato, ma la prosecuzione di ricerche in questo argomento potrebbe essere abbastanza importante ai fini di terapie future. La LHb è una "stazione" cruciale nella quale la neurotrasmissione mediata dalla glicina può regolare vari sistemi. Si ritiene che dalla LHb abbiano origine neuroni/vie inibitorie che tendono a "spegnere" i sistemi monoaminergici (comprendenti serotonina, noradrenalina, dopamina) (Fu et al., 2017; Fu et al., 2019; Purvis et al., 2018; Zhou et al., 2017) con conseguente potenziale induzione di stati depressivi e/o ansiosi. È stato proposto (Li et al, 2019) che l'attivazione di GlyRs inibitori nella LHb (tramite potenziamento diretto o indiretto della mediazione glicinerica questa area) possa regolare in senso inibitorio la

eccessiva attività delle suddette vie inibitorie con conseguente miglioramento delle disfunzioni monoaminergiche e quindi di comportamenti ansioso/depressivi collegabili alla dipendenza/astinenza da alcool. Ancora nello studio di Li et al, (2019) ci sarebbero indicazioni che la sarcosina, un inibitore dei trasportatori GlyT1 meno recente, sia in grado, probabilmente causando un incremento dei livelli di glicina nella LHb con conseguente attivazione di GlyRs nei neuroni di questa area, di inibire una certa attività dei neuroni della LHb, cosa che potrebbe avere effetti anti-abuso da valutare. Si conferma quindi ancora il sistema glicinergico inibitorio (neurotrasmissione mediata dalla glicina, suoi recettori inibitori GlyRs e suoi trasportatori GlyT1 e/o GlyT2) come interessante ambito di studio per l'individuazione di futuri agenti farmacologici contro la dipendenza da alcool (Li et al, 2019).

2.6 ALCUNI NUOVI PROMETTENTI APPROCCI TERAPEUTICI

Oggi è di vitale importanza individuare nuovi approcci terapeutici e obiettivi biologici per la scoperta e lo sviluppo di nuovi farmaci. Un nuovo possibile bersaglio è il recettore 1 del neuropeptide S (NPSR1), evidenze precliniche suggeriscono che antagonisti, agonisti inversi o modulatori allosterici negativi di questi recettori potrebbero essere nuovi farmaci candidati contro i SUDs (Blough e Namjoshi, 2019). In questo capitolo, oltre ad approfondire meglio le

potenzialità di questo nuovo approccio, analizzeremo anche un altro nuovo campo di indagine incoraggiante ovvero la possibilità di interferire sulle modifiche epigenetiche indotte da sostanze di abuso.

2.6.1 NEUROPEPTIDE S

Il neuropeptide S (NPS) è un ligando endogeno peptidico, liberato da alcuni tipi di neuroni, di un recettore accoppiato a proteina G chiamato recettore 1 del Neuropeptide S (NPSR1) (Reinscheid e Xu 2005; Camarda et al, 2009; Erdmann et al, 2015; Liao et al, 2016). Il sistema NPS/NPSR1 è espresso massimamente nel cervello (Xu et al, 2004), ed è stato inizialmente riconosciuto come regolatore della locomozione ma modula anche eccitazione, stato di veglia, paura e ansia (Schank et al, 2012; Cannella et al, 2013; Grund e Neumann, 2018; Botticelli et al, 2021). Nonostante la letteratura spieghi gli effetti biologici dell’NPS, i precisi meccanismi molecolari coinvolti nel sistema NPS/NPSR1 sono ancora sconosciuti. È stata evidenziata, tra le altre implicazioni biologiche, una potenziale associazione del sistema NPS/NPSR1 con disturbi legati allo stress e all’abuso di sostanze (Schank, 2012; Ghazal, 2016).

Alcuni studi hanno mostrato che gli antagonisti NPSR1 possono ridurre l'autosomministrazione e il comportamento di ricerca della cocaina (Kallupi et al., 2010; Kallupi et al., 2012; Schmoutz., 2012).

Da altri studi sono emersi altri tipi di effetti legati al sistema NPS/NPSR1 apparentemente contraddittori.

Questo sistema può infatti modulare i comportamenti emotivi prodotti dall'intossicazione da droghe; ad esempio, topi a cui è stato fornito accesso all'etanolo al 20% hanno mostrato un aumento del comportamento d'ansia che non si verifica in seguito all'infusione centrale di NPS (Enquist et al, 2012). Il sistema NPS/NPSR1 può anche migliorare comportamenti legati all'ansia durante l'astinenza, ad esempio, l'infusione centrale di NPS ha ridotto il comportamento d'ansia prodotto dall'intossicazione forzata intra-gastrica di etanolo (Ruggeri et al., 2010).

Diversi studi mostrano quindi come il sistema NPS/NPSR1 abbia un ruolo centrale nei cambiamenti comportamentali ed emotivi rilevanti per i disturbi legati allo stress e all'abuso di sostanze, ma rimane ancora tanto su cui indagare. Riguardo ai cambiamenti comportamentali rilevanti per l'abuso di sostanze, alcuni studi condotti sui roditori indicano che NPS da un lato può ridurre l'assunzione di etanolo così come certi stati emotivi negativi (ad es. ansia) prodotti dall'intossicazione e dall'astinenza, tuttavia paradossalmente potrebbe aumentare le possibilità di ricaduta a lungo termine (Tobinski e Rappeneau, 2021).

Appare quindi che il coinvolgimento di questo sistema biologico nei comportamenti di abuso e dipendenza da sostanze sia complesso, con molti aspetti da chiarire, ma la sua modulazione con farmaci è potenzialmente interessante per scopi terapeutici.

2.6.2 EPIGENETICA E ALTRI MECCANISMI

L'epigenetica è un campo molto ampio che comprende diversi meccanismi biochimici (tra cui la metilazione del DNA e modifiche degli istoni) che sostengono le modifiche nell'espressione genica durante il ciclo di vita di un organismo senza mutazioni del DNA (Jaenisch e Bird, 2003; Nestler, 2014; Hamilton e Nestler, 2019). Può essere considerata come il processo attraverso il quale l'ambiente interagisce con il genoma di un individuo per determinare tutti i tratti fenotipici. Queste modifiche stabili nell'espressione genica sono anche dette "epigenetiche", perché sono ereditabili a breve termine (attraverso la mitosi) (Jaenisch e Bird, 2003) e in alcuni casi a livello transgenerazionale, fornendo così un potenziale meccanismo di trasmissione delle influenze ambientali dai genitori alla prole (Jablonka e Lamb, 1999; Handel e Ramagopalan, 2010; Springer e Holley, 2013).

In particolare, alcuni cambiamenti epigenetici molto stabili sono in grado di mediare sia la suscettibilità alla tossicodipendenza che certe alterazioni cerebrali indotte dalle droghe che sono alla base dello sviluppo della

tossicodipendenza (Nestler, 2014). I ricercatori, sapendo che il consumo cronico di droghe induce cambiamenti strutturali, elettrofisiologici ed anche trascrizionali di lunga durata nel NAc (*nucleus accumbens*), stanno prendendo in considerazione le modifiche epigenetiche nelle cellule del NAc (Cheron e Kerchove d'Exaerde, 2021). Tuttavia, potrebbe essere rilevante studiare ulteriori cambiamenti epigenetici in altre regioni, come gli ingressi glutammatergici al NAc, e ulteriormente nella VTA, poiché sono implicati nella fisiopatologia della tossicodipendenza (Gavin et al, 2018; Sadakierska-Chudy et al, 2017) come menzionato anche nel Par. 4.1 sulla rTMS.

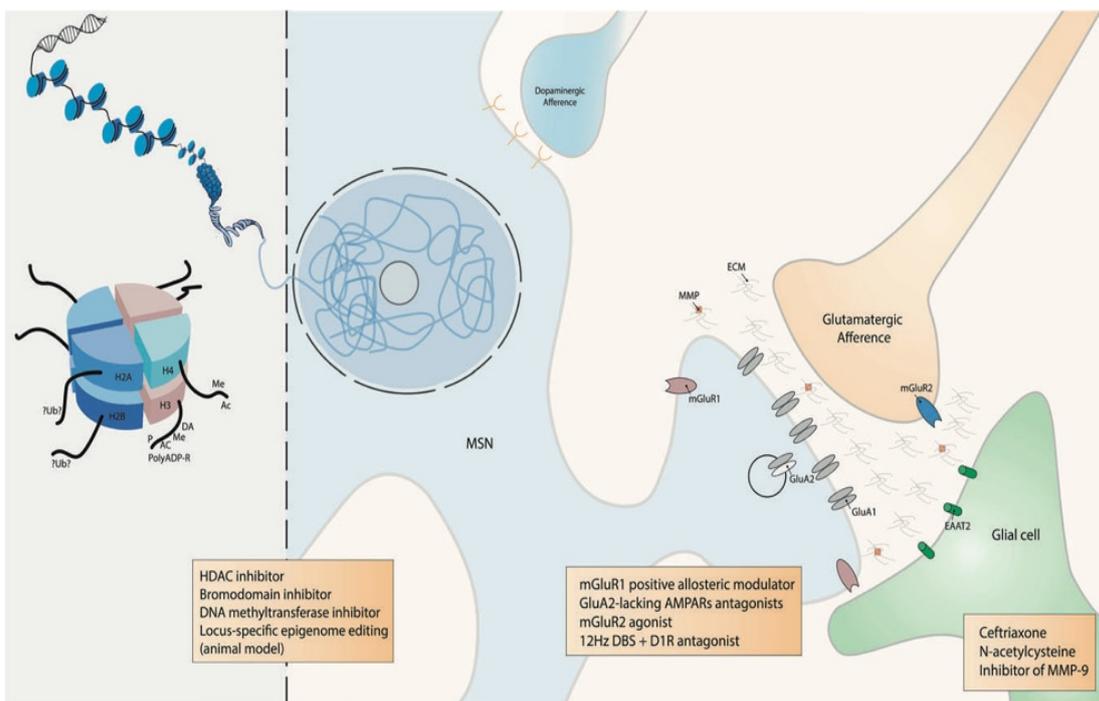


Figura tratta da: Cheron J, Kerchove d'Exaerde A. (2021) Drug addiction: from bench to bedside. *Transl Psychiatry* 11(1):424. doi: 10.1038/s41398-021-01542-0.

La figura si riferisce, in parte, ad alcune modifiche epigenetiche e in parte ad altre modifiche a livello sinaptico indotte da sostanze, viste come potenziale bersaglio di promettenti terapie.

Solo tramite l' "allentamento" della cromatina compattata, il DNA di un gene specifico può essere reso accessibile alla trascrizione. Alcune modifiche indotte dalle droghe a livello della cromatina sono estremamente stabili e sostengono comportamenti a lungo termine indotti dalla droga di abuso. Tra queste, le modifiche post-traslazionali degli istoni (PTM) sono note per essere coinvolte nei comportamenti indotti da droghe (Heller et al, 2014). Le PTM includono l'acetilazione (Ac), la metilazione (Me), la fosforilazione (P), la ADP ribosilazione (PolyADP-R) (Nestler, 2014; Allis e Jenuwein, 2016). Farmaci che agiscono a questi livelli epigenetici hanno mostrato di avere un'influenza possibile sui comportamenti indotti dalla droga, come nel caso degli inibitori dell'istone deacetilasi (HDAC), dei bromodomini e della DNA metiltransferasi. Quello delle modifiche epigenetiche è un nuovo campo di indagine incoraggiante che potrebbe contribuire alla scoperta di nuovi obiettivi per terapie farmacologiche future (Cheron e Kerchoue d'Exaerde, 2021).

Nella medesima figura viene rappresentata poi una sinapsi glutammatergica "tetrapartita" composta da un neurone spinoso medio (MSN), una proiezione glutammatergica, una cellula gliale e la matrice extracellulare (ECM). Ad esempio, è degno di nota il fatto che dopo la somministrazione di droghe d'abuso nella membrana post-sinaptica c'è un meccanismo di potenziamento sinaptico con sovra-espressione di recettori AMPA che non esprimono la subunità GluA2 (come rappresentato anche nella figura "B" nel Paragrafo 4.1). Questa alterazione potrebbe essere contrastata bloccando tali recettori con

antagonisti selettivi di recettori AMPA non dotati di GluA2 (Cheron e Kerchove d'Exaerde, 2021).

In maniera simile, agonisti dei recettori presinaptici mGluR2 possono potenzialmente abolire la ricerca di droga e ridurre lo sviluppo del craving (Cheron e Kerchove d'Exaerde, 2021).

3. TERAPIE PSICOLOGICHE E SOCIALI

Poiché le terapie farmacologiche sono spesso insufficienti per il trattamento dei SUDs, le terapie psicologiche e sociali assumono una notevole importanza. Numerose ricerche mostrano i benefici dei trattamenti cognitivo-comportamentali nel migliorare l'autoregolazione, nel rafforzare la motivazione ad impegnarsi in attività non correlate alla droga e nel prevenire eventuali ricadute (Volkow, 2020).

A questo proposito, una revisione sistematica di 30 studi clinici randomizzati analizza gli effetti della terapia cognitivo-comportamentale (CBT) in combinazione con una qualche forma di farmacoterapia per i disturbi da uso di sostanze (Ray et al, 2020). Le principali sostanze coinvolte nel campione delle sperimentazioni cliniche sono state l'alcool, la cocaina e gli oppioidi. Le farmacoterapie utilizzate sono: naltrexone cloridrato e/o acamprosato di calcio, metadone, buprenorfina e naltrexone, disulfiram, desipramina cloridrato, levodopa, metilfenidato e diacetilmorfina. I risultati hanno mostrato un beneficio associato alla CBT combinata alla farmacoterapia rispetto alle cure e alla farmacoterapia "abituale".

Questi risultati suggeriscono che le migliori pratiche nel trattamento delle dipendenze dovrebbero includere la farmacoterapia più la CBT o un'altra terapia psicologica basata sull'evidenza come la terapia di miglioramento

motivazionale, la gestione della contingenza o il “programma dei 12 passi” (Ray et al, 2020).

Come già accennato nel capitolo 2, per quando riguarda il disturbo da uso di cocaina, poiché non è ancora stato approvato nessun farmaco specifico, il trattamento psicosociale è attualmente il trattamento standard. La CBT e il “colloquio motivazionale” sono risultate efficaci ma il trattamento che ha mostrato più efficacia è la “gestione della contingenza” (CM), utilizzando il “rinforzo basato sui buoni”. In questo trattamento, i pazienti ricevono buoni riscattabili per beni e servizi nella comunità, in funzione del raggiungimento di un obiettivo terapeutico predeterminato (Kampman, 2019). Il trattamento CM si è rivelato particolarmente efficace soprattutto nel periodo dell'astinenza iniziale dalla cocaina (Kampman, 2019).

Un approccio combinato di terapie psicosociali e comportamentali con i farmaci è la migliore scelta anche per il disturbo da uso di cannabis. I farmaci spesso aiutano a mantenere i pazienti “in cura” abbastanza a lungo da permettere loro di rispondere meglio agli interventi psicosociali e comportamentali. È stato rilevato che la terapia cognitivo-comportamentale e la “terapia di miglioramento motivazionale”, specialmente in combinazione, mostrano le prove più consistenti nell'assistere le riduzioni iniziali dell'uso di cannabis e la gravità della dipendenza (Skånland e Ciešlar-Pobuda, 2019).

Anche se alcuni pazienti con disturbo da uso di cannabis possono beneficiare dei gruppi di sostegno tra pari in 12 passi, come i “Cannabis Anonymous”, la

letteratura sull'efficacia di questi gruppi per persone la cui droga primaria di scelta è la cannabis è limitata (Hill e Williams, 2020).

4. TERAPIE TRAMITE NEUROMODULAZIONE

Le tecniche di neuromodulazione costituiscono un nuovo approccio terapeutico non farmacologico, che si è mostrato utile per diversi disturbi neurologici e psichiatrici come, per esempio, la malattia di Parkinson e la depressione. Alcune delle tecniche di neuromodulazione più note sono: la stimolazione cerebrale profonda (DBS), la stimolazione del nervo vago, la stimolazione magnetica transcranica (TMS) in particolare tramite la metodica denominata “stimolazione magnetica transcranica ripetitiva” (rTMS). Queste ed altre tecniche di neuromodulazione hanno mostrato risultati preliminari positivi per il trattamento dei SUDs (Mahoney et al, 2020). Di conseguenza sono state studiate, per questo scopo terapeutico, diverse forme di neuromodulazione con risultati incoraggianti. In particolare, la TMS è la più promettente, infatti ci sono diversi studi a supporto del suo potenziale nel ridurre il “craving” nei confronti di sostanze d’abuso. Anche la DBS ha ottenuto alcuni risultati incoraggianti, tuttavia mancano ulteriori studi clinici a sostegno definitivo della sua efficacia (Mahoney et al, 2020).

4.1 STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA RIPETITIVA (rTMS)

La TMS ripetitiva (rTMS) è una tecnica non invasiva che prevede il posizionamento di un particolare tipo di bobina sopra lo scalpo la quale, producendo un campo magnetico con caratteristiche “mirate”, induce correnti elettriche nel tessuto cerebrale sottostante (Moretti et al, 2020). Ciò determina la stimolazione nell’area cerebrale in oggetto, con depolarizzazione e genesi di potenziali d’azione a livello dei neuroni coinvolti, inducendo modificazioni nella plasticità sinaptica (Pashut et al, 2014; Li et al, 2017). Nel caso specifico (trattamento delle dipendenze), oggetto di stimolazione sono determinate aree corticali; oltre a detti fenomeni si ottiene modulazione dell’eccitabilità neuronale (Sun et al, 2011; Hoppenrath et al, 2016; Tang et al, 2016) e, conseguentemente, nel rilascio di neurotrasmettitori.

La rTMS consiste in protocolli di stimolazioni ripetute che inducono, come risultato, variazioni plastiche cioè modificazioni che durano nel tempo come variazione della funzionalità di sistemi di neurotrasmettitori (ad es. quello glutammatergico) o LTP³ (Moretti et al, 2020). Esistono vari protocolli di stimolazione (nei quali varia l’area stimolata, la frequenza, la durata e altri parametri). La tecnica si è dimostrata recentemente molto utile per trattare patologie differenti, in particolare disturbi mentali. La rTMS, infatti, è

³ “Long term potentiation”, potenziamento a lungo termine

attualmente approvata dalla FDA per il disturbo depressivo maggiore e il disturbo ossessivo-compulsivo gravi e resistenti ad altre terapie, ma appare sempre più chiaro che questa tecnica non invasiva possa anche essere molto utile nel trattamento dei disturbi da uso di sostanze (Moretti et al, 2020; Antonelli et al, 2021).

Gli studi che sono stati condotti fino ad oggi mostrano che gli effetti avversi gravi dopo il trattamento con la rTMS sono poco frequenti (Antonelli, 2021).

Come la rTMS induca effetti terapeutici è ancora in corso di studio; tuttavia, grazie ad alcuni studi preclinici, sono stati identificati meccanismi che potrebbero essere alla base degli effetti a lungo termine (Moretti et al, 2020).

Questi meccanismi includono alterazioni dell'eccitabilità dei neuroni (Sun et al., 2011; Hoppenrath et al., 2016; Tang et al., 2016), rafforzamento delle sinapsi (Vlachos et al., 2012; Lenz et al., 2015), alterazioni dell'espressione genica (Ikeda et al., 2005; Grehl et al., 2015), fattori trofici necessari alla neuroplasticità (Gersner et al, 2011; Rodger et al., 2012; Makowiecki et al., 2014), attività all'interno delle regioni cerebrali al di là del campo elettrico indotto (Aydin-Abidin et al., 2008; Seewoo et al, 2018, 2019), e cambiamenti a livello delle cellule non neuronali, che possono contribuire agli eventi plastici (Clarke et al., 2017a,b; Cullen et al., 2019).

La rTMS è stata recentemente suggerita, nel trattamento dei SUDs, in particolare per ridurre il craving e la conseguente assunzione compulsiva di droga (Kluger e Triggsm, 2007; Bellamoli et al, 2014).

Questa applicazione della rTMS sarebbe possibile, generalizzando, grazie alla sua capacità di correggere o limitare certe anomalie della neurotrasmissione a carico dei sistemi neurali implicati nei meccanismi di ricompensa e nella dipendenza. Un tossicodipendente (come già riportato nel capitolo 1.2) è spesso incapace di provare ricompensa da qualunque stimolo che non sia la sostanza di abuso; in assenza della sostanza (astinenza prolungata) ciò è associato ad una diminuzione/disfunzione della dopamina a livello del *nucleus accumbens* che si associa al craving (Melis et al, 2005; per una revisione si veda Moretti et al., 2020 e referenze ivi presenti).

In accordo con lo studio di Melis et al, 2005 e con ricerche successive (Diana, 2011; per una revisione si veda Sanna et al, 2021) l' "ipotesi ipodopaminergica" nella dipendenza da sostanze indica una ipofunzione della dopamina mesolimbica ed una ridotta attività dopaminergica in aree chiave come il NAc, quale condizione caratterizzante lo stato di dipendenza cronica, della quale essa sarebbe conseguenza. Tale ipofunzione, che è evidente in fase di astinenza nei confronti della sostanza, si associa a fenomeni quali il craving. Tra gli approcci non farmacologici, la TMS è efficace nel recuperare la trasmissione dopaminergica (ipoattiva) (si veda Sanna et al, 2021). La rTMS quindi come descritto più in dettaglio, sarebbe in grado di stimolare e

“normalizzare” l’attività dopaminergica incrementandola, fattore questo che ridurrebbe il craving nella fase astinenziale e sarebbe molto utile quindi a fini terapeutici.

Più nello specifico le principali vie implicate nelle dipendenze, in particolare da cocaina e metanfetamina, fanno parte del sistema mesocorticolimbico. Esse comprendono afferenze glutamatergiche dalla corteccia prefrontale (PFC) al *nucleus accumbens* (NAc) dello striato ventrale e all'area ventrale tegmentale (VTA) del mesencefalo, e le efferenze dopaminergiche dalla VTA allo striato. (Koob e Volkow, 2010; Moretti et al, 2020). Il malfunzionamento di queste vie si traduce in un’alterazione (ipofunzione) dell’attività dopaminergica mesolimbica (Koob e Volkow, 2010). Le fibre glutamatergiche della PFC, rese ipoattive durante la dipendenza, contribuiscono al comportamento di ricerca compulsiva della droga e la stimolazione di queste fibre può invertire eventuali comportamenti disadattativi (Chen et al., 2013). Quindi la “reversione” del diminuito tono dopaminergico della fase astinenziale avviene grazie alla stimolazione degli efferenti glutamatergici eccitatori della PFC (Moretti et al., 2020). I protocolli di TMS, così, comportano l’aumento di attività dei sistemi dopaminergici mesolimbici con conseguente rilascio di dopamina e diminuzione del craving.

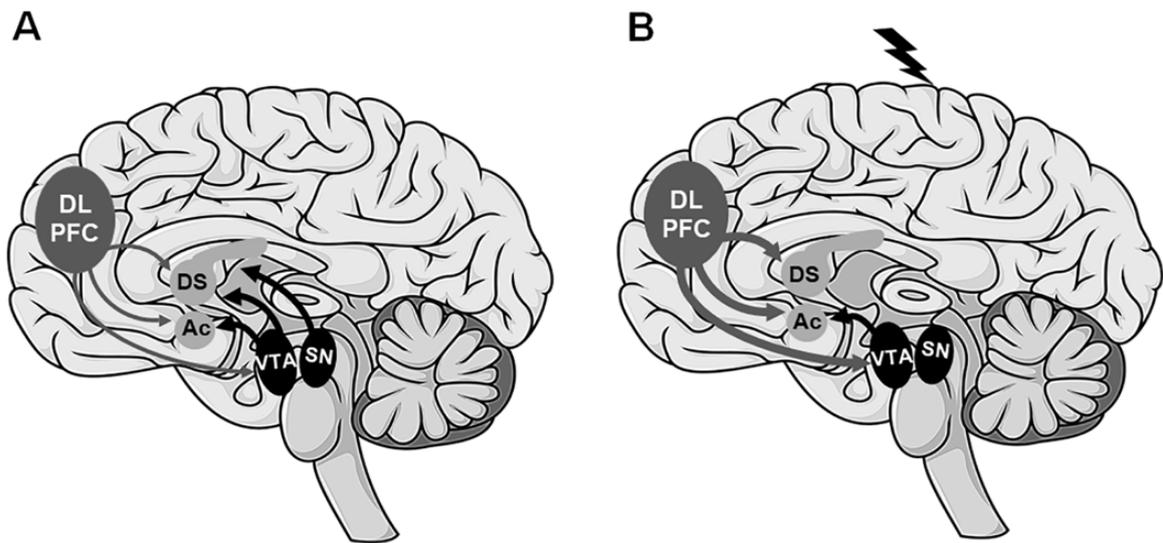


Figura tratta da: Antonelli M, Fattore L, Sestito L, Di Giuda D, Diana M, Addolorato G. (2021) Transcranial Magnetic Stimulation: A review about its efficacy in the treatment of alcohol, tobacco and cocaine addiction. *Addict Behav.* 114:106760. doi: 10.1016/j.addbeh.2020.106760. Epub 2020 Dec 2. PMID: 33316590.

La parte sinistra della Figura (A) rappresenta una sezione sagittale del cervello prima dell'applicazione della rTMS. Le frecce indicano le connessioni anatomiche sulle quali si pensa possa intervenire la rTMS. La parte destra (B) rappresenta la sezione sagittale del cervello dopo il trattamento con rTMS e si può osservare come le connessioni tra “DLPFC”⁴ e VTA siano “rafforzate”. A loro volta i neuroni contenenti dopamina dalla VTA aumentano il rilascio di dopamina incidendo sui neuroni del NAc. (Antonelli et al, 2021).

⁴ Corteccia prefrontale dorsolaterale

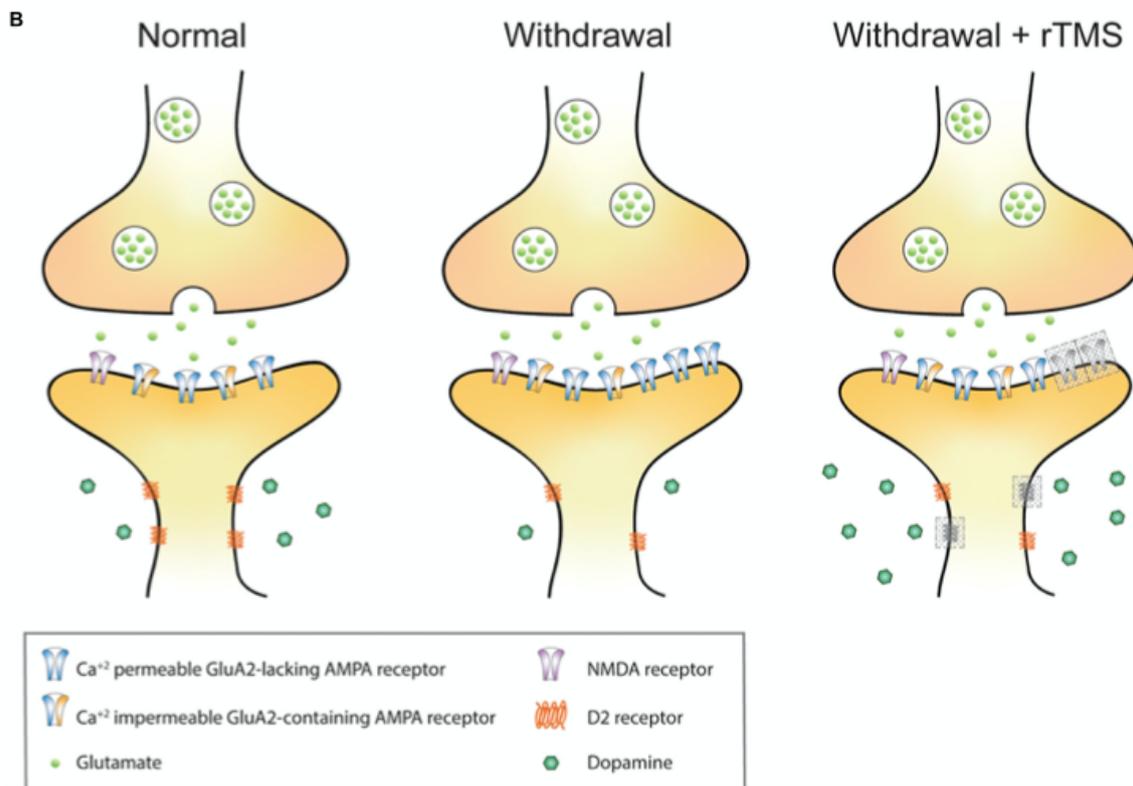


Figura tratta da: Moretti J, Poh EZ, Rodger J. (2020) rTMS-Induced Changes in Glutamatergic and Dopaminergic Systems: Relevance to Cocaine and Methamphetamine Use Disorders. *Front Neurosci.* 14, 137. doi: 10.3389/fnins.2020.00137. PMID: 32210744; PMCID: PMC7068681.

La figura B rappresenta il terminale dell'assone di un neurone glutamatergico proveniente dalla corteccia prefrontale mediale (mPFC) che genera sinapsi su un neurone che possiede anche recettori dopaminergici D2 nel NAc in condizioni normali, in condizioni di astinenza (in particolare, da cocaina o metamfetamina) e in condizioni di astinenza dopo il trattamento con la rTMS (Moretti et al, 2020). Durante l'astinenza i recettori AMPA che non esprimono la subunità GluA2, permeabili al Ca²⁺, sono sovra-espressi nel NAc, perciò aumenta la sensibilità dei neuroni del NAc agli ingressi eccitatori, questo è un requisito essenziale per il desiderio di droga indotto da stimoli (Cornish e

Kalivas, 2000; Conrad et al., 2008; McCutcheon et al., 2011). Si può anche notare una riduzione dell'espressione dei recettori D2 della dopamina e la diminuita disponibilità della dopamina stessa (Nutt et al, 2015; Volkow e Morales, 2015). Nella sinapsi che raffigura gli effetti proposti del trattamento rTMS si possono osservare i cambiamenti suggeriti dalla letteratura esistente rappresentati delle caselle oscurate in grigio. La rTMS, infatti, sembra poter normalizzare la ridotta espressione dei recettori D2 nel NAc durante l'astinenza e aumentare le concentrazioni extracellulari di glutammato e dopamina (Etiévant et al., 2015).

4.2 TMS NEI DISTURBI DA USO DI SOSTANZE

L'ipotesi che la stimolazione del sistema dopaminergico possa avere effetti terapeutici nel ridurre il consumo di alcool ha portato all'uso della TMS in pazienti con disturbo da uso di alcool (Diana, 2011). Secondo questa ipotesi, infatti, il consumo di alcool "in acuto" induce la liberazione di serotonina nell'ipotalamo e di encefaline nella VTA che stimolano i recettori oppioidi (Antonelli 2021). Perciò si verifica una diminuzione del rilascio di GABA che ha come conseguenza la stimolazione (indiretta) della trasmissione dopaminergica (Feeney et al., 2006; Koob e Volkow, 2016). Il consumo di alcool, invece, "in cronico" induce una down-regulation del sistema

dopaminergico dovuta a un meccanismo compensatorio dei ripetuti aumenti dei livelli di dopamina verificatesi nei primi momenti dell'abuso (Melis et al, 2005). Da qui il razionale di “incrementare l'attività della via dopaminergica” per trattare il craving nel disturbo da uso di alcool (e di altre sostanze).

La ricerca nel campo delle terapie di neuromodulazione è molto attiva anche includendo come bersaglio la dipendenza dal tabacco, ed è spinta dal fatto che le terapie farmacologiche e comportamentali non sono sempre efficaci. Nella dipendenza da tabacco, per esempio quasi l'80% delle persone ha una ricaduta entro sei mesi (The Clinical Practice Guideline Treating Tobacco Use and Dependence 2008 Update Panel, Liaisons, and Staff, 2008). Al momento solo un trattamento prolungato con la vareniclina ha mostrato effetti promettenti nella prevenzione delle ricadute (Livingstone-Banks et al., 2019).

Ricerche recenti hanno dimostrato una modulazione utile del craving e del consumo di nicotina attraverso la TMS nella PFC, da sola o con la stimolazione concomitante di regioni cerebrali associate. Attualmente sono in corso studi clinici che impiegano diversi protocolli di stimolazione e che hanno come obiettivo diverse aree cerebrali (Ekhtiari et al., 2019).

Negli ultimi anni sono stati pubblicati diversi studi con risultati promettenti che investigano l'effetto della rTMS sul desiderio di cocaina. Il primo studio pilota in questo campo è stato pubblicato nel 2007 da Camprodon et al., i risultati ottenuti sono stati la prima prova che una sessione di rTMS ad alta intensità sulla DLPFC destra riduce transitoriamente il craving dei cocainomani, anche

se gli effetti si sono dissolti in quattro ore. Nel 2016, Rapinesi et al. hanno fornito la prima prova degli effetti a medio termine (dal basale al mese dopo il trattamento) della rTMS bilaterale della PFC nel craving da cocaina. Uno studio più recente ha mostrato che la rTMS della DLPFC sinistra per 11 settimane consecutive riduce l'assunzione di cocaina a lungo termine (Madeo et al., 2020).

La TMS ha alimentato un crescente interesse come nuovo approccio terapeutico per le dipendenze, tuttavia, il numero di studi clinici che ne valutano l'efficacia nel trattamento di AUD⁵, dipendenza da tabacco e da cocaina è ancora limitato. Alcuni di questi studi hanno evidenti limiti nelle sperimentazioni quali piccole dimensioni del campione o assenza di un gruppo controllato con il placebo. Gli studi in corso e futuri dovranno superare le attuali limitazioni e fornire dati che possano definire i protocolli di stimolazione più efficace e tollerabile per il trattamento dei disturbi da uso di sostanze (Scarpino et al., 2019).

In conclusione, comunque, se si confermeranno in modo definitivo i risultati sperati delle tecniche di neuromodulazione nel trattamento di vari SUDs, incluse le dipendenze da alcool, cocaina ed anfetamine per le quali i trattamenti efficaci sono attualmente insufficienti, si avrà la disponibilità, nel prossimo

⁵ Disturbo da uso di alcool

futuro, di uno strumento terapeutico aggiuntivo molto importante, auspicabilmente efficace e, oltretutto, spesso non invasivo (TMS).

5. CONCLUSIONI

In questa tesi sono state prese in esame, analizzandone i punti di forza ed i limiti, le principali terapie utilizzate per affrontare i disturbi da uso di sostanze ovvero terapie psicologiche e sociali, farmacologiche e di neuromodulazione. Come si può constatare, nonostante i progressi in corso, attualmente le terapie a disposizione per i SUDs spesso non sono sufficienti a contrastare tutti i problemi di salute, economici e sociali che ne derivano. Infatti gli obiettivi delle terapie, ovvero la cessazione della dipendenza e la riabilitazione totale, compreso il completo reinserimento del paziente in società nei casi più gravi, sono spesso difficili da raggiungere. Quindi, la necessità di investire nel miglioramento dei trattamenti terapeutici già esistenti e nella ricerca di nuovi è una priorità assoluta.

In questa tesi sono stati esaminati quindi alcuni nuovi possibili trattamenti farmacologici, aspetti innovativi ed emergenti per possibili terapie future ed aspetti delle nuove tecniche di neuromodulazione, già usate anche se in fase poco più che sperimentale per i SUDs.

L'individuazione di bersagli specifici correlati all'abuso e dipendenza da sostanze è un primo passo per lo sviluppo di nuovi farmaci. Poiché molti campi di indagine promettenti (tra cui lo studio di nuovi sistemi di neurotrasmettitori o approfondimento delle conoscenze di quelli già noti, nuovi studi in campo neurochimico, neurobiologico, neurofarmacologico, epigenetico) nascondono

grandi potenzialità, questi potranno produrre risultati importanti, ma i tempi necessari per giungere a farmaci nuovi clinicamente utilizzabili saranno probabilmente molto lunghi, ed i costi associati inesorabilmente elevati. Considerando che molti progressi sono ancora necessari per poter affrontare i SUDs in modo più adeguato, come suggerito dalle conoscenze qui discusse, è molto importante un approccio integrato e personalizzato in grado di combinare tutte le migliori possibilità, in maniera interdisciplinare, per ogni singolo paziente. In questa ottica, ad esempio, i recenti progressi delle moderne tecniche di neuromodulazione sembrano meritare una particolare attenzione per i loro risultati molto incoraggianti, peraltro ancora oggetto di valutazione, per il loro carattere innovativo, sovente poco o nulla invasivo e anche, auspicabilmente, foriero di miglioramenti in tempi relativamente brevi.

6. BIBLIOGRAFIA

- Albuquerque, E.X., Pereira, E.F., Alkondon, M., Rogers, S.W. (2009) Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiol. Rev.* 89, 73–120.
- Allis CD, Jenuwein T. (2016) The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nat Rev Genet.* 17:487–500.
- American Psychiatric Association (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5th ed.* Arlington, VA: American Psychiatric Association; 2013.
- Antonelli M, Fattore L, Sestito L, Di Giuda D, Diana M, Addolorato G. (2021) Transcranial Magnetic Stimulation: A review about its efficacy in the treatment of alcohol, tobacco and cocaine addiction. *Addict Behav.* 114:106760. Doi: 10.1016/j.addbeh.2020.106760. Epub 2020 Dec 2. PMID: 33316590.
- Aydin-Abidin, S., Trippe, J., Funke, K., Eysel, U. T., and Benali, A. (2008) High- and low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation differentially activates c-Fos and zif268 protein expression in the rat brain. *Exp. Brain Res* 188, 249–261. Doi: 10.1007/s00221-008-1356-2
- Bellamoli, E., Manganotti, P., Schwartz, R. P., Rimondo, C., Gomma, M., & Serpelloni, G. (2014) rtms in the treatment of drug addiction: An update about human studies. *Behavioural Neurology*, Article 815215.
- Betz H (1992) Structure and function of inhibitory glycine receptors. *Q. Rev. Biophys.* 25, 381–394.
- Blough B., Namjoshi O. (2019) Small Molecule Neuropeptide S and Melanocortin 4 Receptor Ligands as Potential Treatments for Substance Use Disorders. In: Nader M., Hurd Y. (eds) *Substance Use Disorders. Handbook of Experimental Pharmacology*, vol 258. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/164_2019_313
- Botticelli, L.; Di Bonaventura, E.M.; Ubaldi, M.; Ciccocioppo, R.; Cifani, C.; Di Bonaventura, M.M. (2021) The Neural Network of Neuropeptide S (NPS): Implications in Food Intake and Gastrointestinal Functions. *Pharmaceuticals* 14, 293.

- Camarda, V.; Rizzi, A.; Ruzza, C.; Zucchini, S.; Marzola, G.; Marzola, E.; Guerrini, R.; Salvadori, S.; Reinscheid, R.K.; Regoli, D.; et al. (2009) In Vitro and in Vivo Pharmacological Characterization of the Neuropeptide S Receptor Antagonist [d- Cys(tbu)⁵]Neuropeptide S. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 328, 549–555.
- Camprodon, J. A., Martínez-Raga, J., Alonso-Alonso, M., Shih, M. C., & Pascual-Leone, A. (2007). One session of high frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rtms) to the right prefrontal cortex transiently reduces cocaine craving. *Drug Alcohol Dependence*, 86(1), 91–94.
- Cannella, N.; Kallupi, M.; Ruggeri, B.; Ciccocioppo, R.; Ubaldi, M. (2013) The role of the neuropeptide S system in addiction: Focus on its interaction with the CRF and hypocretin/orexin neurotransmission. *Prog. Neurobiol.* 100, 48–59.
- Ceccanti M, Iannitelli A, Fiore M. (2018) Italian Guidelines for the treatment of alcohol dependence. *Riv Psichiatr.* 53(3), 105-106. English. Doi: 10.1708/2925.29410. PMID: 29912210.
- Chen KY, Chen L, Mao J. (2014) Buprenorphine-naloxone therapy in pain management. *Anesthesiology* 120(5), 1262-74. Doi: 10.1097/ALN.000000000000170. PMID: 24509068; PMCID: PMC3999180.
- Chen, B. T., Yau, H. J., Hatch, C., Kusumoto-Yoshida, I., Cho, S. L., Hopf, F. W., et al. (2013) Rescuing cocaine-induced prefrontal cortex hypoactivity prevents compulsive cocaine seeking. *Nature* 496, 359–362. Doi: 10.1038/nature12024
- Cheron J, Kerchoue d'Exaerde A. (2021) Drug addiction: from bench to bedside. *Transl Psychiatry* 11(1):424. Doi: 10.1038/s41398-021-01542-0. PMID: 34385417; PMCID: PMC8361217.
- Cioffi CL, Guzzo PR (2016) Inhibitors of Glycine Transporter-1: Potential Therapeutics for the Treatment of CNS Disorders. *Curr Top Med Chem* 16, 3404–3437
- Clarke, D., Penrose, M. A., Harvey, A. R., Rodger, J., and Bates, K. A. (2017a) Low intensity rtms has sex-dependent effects on the local response of glia following a penetrating cortical stab injury. *Exp. Neurol.* 295, 233–242. Doi: 10.1016/j.expneurol.2017.06.019

- Clarke, D., Penrose, M. A., Penstone, T., Fuller-Carter, P. I., Hool, L. C., Harvey, A. R., et al. (2017b). Frequency-specific effects of repetitive magnetic stimulation on primary astrocyte cultures. *Restor. Neurol. Neurosci.* 35, 557– 569. doi: 10.3233/RNN-160708
- Conrad, K. L., Tseng, K. Y., Uejima, J. L., Reimers, J. M., Heng, L. J., Shaham, Y., et al. (2008). Formation of accumbens glur2-lacking AMPA receptors mediates incubation of cocaine craving. *Nature* 454, 118–121. Doi: 10.1038/nature06995
- Cornish, J. L., and Kalivas, P. W. (2000). Glutamate transmission in the nucleus accumbens mediates relapse in cocaine addiction. *J. Neurosci.* 20, 1–5.
- Cubelos B, Gimenez C, Zafra F (2005). Localization of the GLYT1 glycine transporter at glutamatergic synapses in the rat brain. *Cereb Cortex* 15, 448–459.
- Cullen, C. L., Senesi, M., Tang, A. D., Clutterbuck, M. T., Auderset, L., O'Rourke, M. E., et al. (2019) Low-intensity transcranial magnetic stimulation promotes the survival and maturation of newborn oligodendrocytes in the adult mouse brain. *Glia* 67, 1462–1477. Doi: 10.1002/glia.23620
- Damaj, M.I., Carroll, F.I., Eaton, J.B., Navarro, H.A., Blough, B.E., Mirza, S., Lukas, R.J., Martin, B.R. (2004) Enantioselective effects of hydroxy metabolites of bupropion on behavior and on function of monoamine transporters and nicotinic receptors. *Mol. Pharmacol.* 66, 675–682.
- De Bejczy A, Nations KR, Szegedi A, Schoemaker J, Ruwe F, Soderpalm B (2014) Efficacy and safety of the glycine transporter-1 inhibitor Org 25935 for the prevention of relapse in alcohol-dependent patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Alcohol Clin Exp Res* 38,2427–2435
- Dennis EK e Garneau-Tsodikova S (2020). Substance use disorders: leading the road to recovery. *RSC Medical Chemistry* 11, 741-742
- Diana, M. (2011) The dopamine hypothesis of drug addiction and its potential therapeutic value. *Frontiers in Psychiatry* 2, 64.
- Di Chiara G (2002) Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behavioural Brain Research* 137, 75-114

- Ekhtiari, H., Tavakoli, H., Addolorato, G., Baeken, C., Bonci, A., Campanella, S., et al. (2019) Transcranial electrical and magnetic stimulation (tes and TMS) for addiction medicine: A consensus paper on the present state of the science and the road ahead. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 104, 118–140.
- Enquist, J.; Ferwerda, M.; Madhavan, A.; Hok, D.; Whistler, J.L. (2012) Chronic Ethanol Potentiates the Effect of Neuropeptide S in the Basolateral Amygdala and Shows Increased Anxiolytic and Anti-Depressive Effects. *Neuropsychopharmacology* 37, 2436–2445.
- Epping-Jordan, M.P., Watkins, S.S., Koob, G.F., Markou, A. (1998) Dramatic decreases in brain reward function during nicotine withdrawal. *Nature* 393, 76–79.
- Erdmann, F.; Kügler, S.; Blaesse, P.; Lange, M.D.; Skryabin, B.V.; Pape, H.-C.; Jüngling, K. (2015) Neuronal Expression of the Human Neuropeptide S Receptor NPSR1 Identifies NPS-Induced Calcium Signaling Pathways. *Plos ONE* 10, e0117319.
- Etiévant, A., Manta, S., Latapy, C., Magno, L. A. V., Fecteau, S., and Beaulieu, J. M. (2015). Repetitive transcranial magnetic stimulation induces long-lasting changes in protein expression and histone acetylation. *Sci. Rep.* 5:16873. Doi: 10.1038/srep16873
- Feeney, G. F., Connor, J. P., Young, R. M., Tucker, J., & mcpherson, A. (2006) Combined acamprosate and naltrexone, with cognitive behavioural therapy is superior to either medication alone for alcohol abstinence: A single centres' experience with pharmacotherapy. *Alcohol and Alcoholism* 41, 321–327.
- Fu R, Mei Q, Zuo W, Li J, Gregor D, Bekker A, Ye J (2017) Low-dose ethanol excites lateral habenula neurons projecting to VTA, rmtg, and raphe. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 9, 217–230. [pubmed: 29348799]
- Fu R, Zuo W, Shiwalkar N, Mei Q, Fan Q, Chen X, Li J, Bekker A, Ye JH (2019) Alcohol withdrawal drives depressive behaviors by activating neurons in the rostromedial tegmental nucleus. *Neuropsychopharmacology* 44(8), 1464-1475
- Gavin DP, et al. (2018) Stable histone methylation changes at proteoglycan network genes following ethanol exposure. *Front Genet.* 9:346.171.

- Gersner, R., Kravetz, E., Feil, J., Pell, G., and Zangen, A. (2011) Long-term effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on markers for neuroplasticity: differential outcomes in anesthetized and awake animals. *J. Neurosci.* 31, 7521– 7526. Doi: 10.1523/jneurosci.6751-10.2011
- Ghazal, P. (2016) The Physio-Pharmacological Role of the NPS/NPSR System in Psychiatric Disorders: A Translational Overview. *Curr. Protein Pept. Sci.* 17, 380–397.
- Grehl, S., Viola, H. M., Fuller-Carter, P. I., Carter, K. W., Dunlop, S. A., Hool, L. C., et al. (2015) Cellular and molecular changes to cortical neurons following low intensity repetitive magnetic stimulation at different frequencies. *Brain Stimul.* 8, 114–123. Doi: 10.1016/j.brs.2014.09.012
- Grund, T.; Neumann, I.D. (2018) Brain neuropeptide S: Via GPCR activation to a powerful neuromodulator of socio-emotional behaviors. *Cell Tissue Res.* 375, 123–132.
- Hamilton PJ, Nestler EJ. (2019) Epigenetics and addiction. *Curr Opin Neurobiol.* 59:128–36.163.
- Handel AE, Ramagopalan SV. (2010) Is Lamarckian evolution relevant to medicine? *BMC Med Genet.* 11:73.164.
- Harvey RJ, Yee BK (2013) Glycine transporters as novel therapeutic targets in schizophrenia, alcohol dependence and pain. *Nat Rev Drug Discov* 12, 866–885.
- Heller EA, Cates HM, Peña CJ, Sun H, Shao N, Feng J, et al. (2014) Locus-specific epigenetic remodeling controls addiction- and depression-related behaviors. *Nat. Neurosci* 17:1720–7.
- Hoppenrath, K., Härtig, W., and Funke, K. (2016) Intermittent theta-burst transcranial magnetic stimulation alters electrical properties of fast-spiking neocortical interneurons in an age-dependent fashion. *Front. Neural Circuits* 10, 22. Doi: 10.3389/fncir.2016.00022
- Hyman SE, Malenka RC, Nestler EJ (2006) Neural Mechanisms of Addiction: The Role of Reward-Related Learning and Memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 29:565–98

- Ikeda, T., Kurosawa, M., Uchikawa, C., Kitayama, S., and Nukina, N. (2005) Modulation of monoamine transporter expression and function by repetitive transcranial magnetic stimulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 327, 218– 224. Doi: 10.1016/j.bbrc.2004.12.009
- Jablonka E & Lamb MJ. (1999) *Epigenetic Inheritance And Evolution: The Lamarckian Dimension*. Oxford University Press 165.
- Jaenisch R, Bird A. (2003) Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet.* 33:245–54. 161.
- Johnson J W e Ascher P (1987) Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature* 325, 529–531.
- Jordan CJ, Xi ZX. (2018) Discovery and development of varenicline for smoking cessation. *Expert Opin Drug Discov.* 13(7), 671-683. Doi: 10.1080/17460441.2018.1458090. Epub 2018 Mar 28. Erratum in: *Expert Opin Drug Discov.* 13(7):ix-xi. PMID: 29587555; PMCID: PMC6179352.
- Kallupi, M.; Cannella, N.; Economidou, D.; Ubaldi, M.; Ruggeri, B.; Weiss, F.; Massi, M.; Marugan, J.; Heilig, M.; Bonnavion, P.; et al. (2010) Neuropeptide S facilitates cue-induced relapse to cocaine seeking through activation of the hypothalamic hypocretin system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 19567–19572.
- Kallupi, M.; de Guglielmo, G.; Cannella, N.; Li, H.W.; Caló, G.; Guerrini, R.; Ubaldi, M.; Renger, J.J.; Uebele, V.N.; Ciccocioppo, R. (2012) Hypothalamic Neuropeptide S receptor blockade decreases discriminative cue-induced reinstatement of cocaine seeking in the rat. *Psychopharmacology* 226, 347–355.
- Kampman KM. (2019) The treatment of cocaine use disorder. *Sci Adv.* 5(10), eaax1532. Doi: 10.1126/sciadv.aax1532. PMID: 31663022; PMCID: PMC6795516.
- Kluger, B. M., & Triggsm, W. J. (2007) Use of transcranial magnetic stimulation to influence behavior. *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 7, 491–497.
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016) Neurobiology of addiction: A neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry* 3(8), 760–773.

- Koob, G. F. e Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* 35, 217–238. Doi: 10.1038/npp.2009.110
- Kosten TR, Baxter LE. (2019) Review article: Effective management of opioid withdrawal symptoms: A gateway to opioid dependence treatment. *Am J Addict.* 28(2), 55-62. Doi: 10.1111/ajad.12862. Epub 2019 Jan 31. PMID: 30701615; PMCID: PMC6590307.
- Kripke, C. (2005) Antidepressants and smoking cessation. *Am. Fam. Physician* 71, 67–68.
- Kulaylat, A.S., Hollenbeak, C.S., Soybel, D.I. (2018) Cost-utility analysis of smoking cessation to prevent operative complications following elective abdominal colon surgery. *Am. J. Surg.* 216, 1082–1089.
- Lafaye G, Karila L, Blecha L, Benyamina A. (2017) Cannabis, cannabinoids, and health. *Dialogues Clin Neurosci.* 19(3), 309-316. Doi: 10.31887/DCNS.2017.19.3/glafaye. PMID: 29302228; PMCID: PMC5741114.
- Legendre P (2001) The glycinergic inhibitory synapse. *Cell. Mol. Life Sci.* 58, 760–793.
- Lenz, M., Platschek, S., Priesemann, V., Becker, D., Willems, L. M., Ziemann, U., et al. (2015) Repetitive magnetic stimulation induces plasticity of excitatory postsynapses on proximal dendrites of cultured mouse CA1 pyramidal neurons. *Brain Struct. Funct.* 220, 3323–3337. Doi: 10.1007/s00429-014-0859-9
- Li, B., Virtanen, J. P., Oeltermann, A., Schwarz, C., Giese, M. A., Ziemann, U., et al. (2017) Lifting the veil on the dynamics of neuronal activities evoked by transcranial magnetic stimulation. *Elife.* 6:e30552. Doi: 10.7554/elife.e30552
- Li W, Zuo W, Wu W, Zuo QK, Fu R, Wu L, Zhang H, Ndukwe M, Ye JH (2019) Activation of glycine receptors in the lateral habenula rescues anxiety- and depression-like behaviors associated with alcohol withdrawal and reduces alcohol intake in rats. *Neuropharmacology* 157, 107688. Doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.107688.
- Liao, Y.; Lu, B.; Ma, Q.; Wu, G.; Lai, X.; Zang, J.; Shi, Y.; Liu, D.; Han, F.; Zhou, N. (2016) Human Neuropeptide S Receptor Is Activated via a Gαq Protein-biased Signaling Cascade by a Human Neuropeptide S Analog Lacking the C-terminal 10 Residues. *J. Biol. Chem.* 291, 7505–7516.

- Lidö HH, Jonsson S, Hyytiä P, Ericson M, Söderpalm B. (2017) Further characterization of the glyt-1 inhibitor Org25935: antialcohol, neurobehavioral, and gene expression effects. *J Neural Transm* 124,607–619
- Livingstone-Banks, J., Norris, E., Hartmann-Boyce, J., West, R., Jarvis, M., & Hajek, P. (2019) Relapse prevention interventions for smoking cessation. *Cochrane Database Systematic Review* 2:CD003999.
- Lopez-Corcuera B, Geerlings A, Aragon C (2001) Glycine neurotransmitter transporters: an update. *Mol. Membr. Biol.* 18, 13–20.
- Madeo, G., Terraneo, A., Cardullo, S., Gómez Pérez, L. J., Cellini, N., Sarlo, M., et al. (2020) Long-term outcome of repetitive transcranial magnetic stimulation in a large cohort of patients with cocaine-use disorder: An observational study. *Frontiers in Psychiatry* 11, 158.
- Maguire EP, Mitchell EA, Greig SJ, Corteen N, Balfour DJ, Swinny JD, Lambert JJ, Belelli D (2014) Extrasynaptic glycine receptors of rodent dorsal raphe serotonergic neurons: a sensitive target for ethanol. *Neuropsychopharmacology* 39, 1232–1244.
- Mahoney JJ 3rd, Hanlon CA, Marshalek PJ, Rezai AR, Krinke L. (2020) Transcranial magnetic stimulation, deep brain stimulation, and other forms of neuromodulation for substance use disorders: Review of modalities and implications for treatment. *J Neurol Sci.* 418, 117-149. Doi: 10.1016/j.jns.2020.117149
- Makowiecki, K., Harvey, A. R., Sherrard, R. M., and Rodger, J. (2014) Low-intensity repetitive transcranial magnetic stimulation improves abnormal visual cortical circuit topography and upregulates BDNF in mice. *J. Neurosci.* 34, 10780–10792. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.0723-14.2014
- McCutcheon, J. E., Wang, X., Tseng, K. Y., Wolf, M. E., and Marinelli, M. (2011). Calcium-permeable AMPA receptors are present in nucleus accumbens synapses after prolonged withdrawal from cocaine self-administration but not experimenter-administered cocaine. *J. Neurosci.* 31, 5737–5743. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.0350-11.2011
- Melis, M., Spiga, S., & Diana, M. (2005) The dopamine hypothesis of drug addiction: Hypodopaminergic state. *International Review of Neurobiology* 63, 101–154.

- Molander A, Lido HH, Lof E, Ericson M, Soderpalm B (2007) The glycine reuptake inhibitor Org 25935 decreases ethanol intake and preference in male wistar rats. *Alcohol Alcohol* 42, 11–18.
- Moretti J, Poh EZ, Rodger J. (2020) rtms-Induced Changes in Glutamatergic and Dopaminergic Systems: Relevance to Cocaine and Methamphetamine Use Disorders. *Front Neurosci.* 14, 137. Doi: 10.3389/fnins.2020.00137. PMID: 32210744; PMCID: PMC7068681.
- Nestler EJ. (2014) Epigenetic mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology* 76:259–68.
- Nutt, D. J., Lingford-Hughes, A., Erritzoe, D., and Stokes, P. R. A. (2015). The dopamine theory of addiction: 40 years of highs and lows. *Nat. Rev. Neurosci.* 16, 305–312. Doi: 10.1038/nrn3939
- Pashut, T., Magidov, D., Ben-Porat, H., Wolfus, S., Friedman, A., Perel, E., et al. (2014) Patch-clamp recordings of rat neurons from acute brain slices of the somatosensory cortex during magnetic stimulation. *Front. Cell Neurosci.* 8, 145. Doi: 10.3389/fncel.2014.00145
- Paterson, N.E., Balfour, D.J., Markou, A. (2007) Chronic bupropion attenuated the anhedonic component of nicotine withdrawal in rats via inhibition of dopamine reuptake in the nucleus accumbens shell. *Eur. J. Neurosci.* 25, 3099–3108.
- Pitchot W, Scantamburlo G, Pinto E, Karila L. (2013) Addiction à la cocaïne [Cocaine addiction]. *Rev Med Liege* 68(5-6), 294-7. French. PMID: 23888579.
- Popova S, Mohapatra S, Patra J, Duhig A, Rehm J. (2011) A literature review of cost-benefit analyses for the treatment of alcohol dependence. *Int J Environ Res Public Health* 8(8), 3351-64. Doi: 10.3390/ijerph8083351. Epub 2011 Aug 16. PMID: 21909311; PMCID: PMC3166747.
- Purvis EM, Klein AK, Ettenberg A (2018) Lateral habenular norepinephrine contributes to states of arousal and anxiety in male rats. *Behav Brain Res* 347, 108–115. [pubmed: 29526789]
- Rapinesi, C., Del Casale, A., Di Pietro, S., Ferri, V. R., Piacentino, D., Sani, G., et al. (2016). Add-on high frequency deep transcranial magnetic stimulation (dtms) to bilateral prefrontal cortex reduces cocaine craving in patients with cocaine use disorder. *Neuroscience Letters*, 629, 43–47.

- Ray LA, Meredith LR, Kiluk BD, Walthers J, Carroll KM, Magill M. (2020) Combined Pharmacotherapy and Cognitive Behavioral Therapy for Adults With Alcohol or Substance Use Disorders: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open* 3(6):e208279. Doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.8279. PMID: 32558914; PMCID: PMC7305524.
- Reinscheid, R.K.; Xu, Y.-L. (2005) Neuropeptide S as a novel arousal promoting peptide transmitter. *FEBS J.* 272, 5689–5693.
- Rodger, J., Mo, C., Wilks, T., Dunlop, S. A., and Sherrard, R. M. (2012) Transcranial pulsed magnetic field stimulation facilitates reorganization of abnormal neural circuits and corrects behavioral deficits without disrupting normal connectivity. *FASEB J.* 26, 1593–1606. Doi: 10.1096/fj.11-194878
- Ruggeri, B.; Braconi, S.; Cannella, N.; Kallupi, M.; Soverchia, L.; Ciccocioppo, R.; Ubaldi, M. (2010) Neuropeptide S Receptor Gene Expression in Alcohol Withdrawal and Protracted Abstinence in Postdependent Rats. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 34, 90–97.
- Sadakierska-Chudy A, Frankowska M, Jastrzębska J, Wydra K, Miszkiel J, Sanak M, et al. (2017) Cocaine administration and its withdrawal enhance the expression of genes encoding histone-modifying enzymes and histone acetylation in the rat prefrontal cortex. *Neurotox Res.* 32:1–10.
- Sanna A, Fattore L, Badas P, Corona G e Diana M (2021) The hypodopaminergic state ten years after: transcranial magnetic stimulation as a tool to test the dopamine hypothesis of drug addiction. *Current Opinion in Pharmacology* 56:61–67
- Scarpino, M., Lanzo, G., Salimova, M., Lolli, F., Del Vecchio, A., Cossu, C., et al. (2019) Efficacy of high-frequency (15Hz) repetitive transcranial magnetic stimulation (rtms) of the left premotor cortex/dorsolateral prefrontal cortex in decreasing cocaine intake (the magnetox study): A study protocol for a randomized placebo- controlled pilot trial. *Clinical Neurophysiology* 49, 1–9.
- Schank, J.R.; Ryabinin, A.E.; Giardino, W.; Ciccocioppo, R.; Heilig, M. (2012) Stress-Related Neuropeptides and Addictive Behaviors: Beyond the Usual Suspects. *Neuron* 76, 192–208.
- Schmoutz, C.D.; Zhang, Y.; Runyon, S.P.; Goeders, N.E. (2012) Antagonism of the neuropeptide S receptor with RTI-118 decreases cocaine self-

administration and cocaine-seeking behavior in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 103, 332–337.

- Seewoo, B. J., Feindel, K. W., Etherington, S. J., and Rodger, J. (2018) Resting- state fmri study of brain activation using low-intensity repetitive transcranial magnetic stimulation in rats. *Sci. Rep.* 8:6706. Doi: 10.1038/s41598-018-24951-6
- Seewoo, B. J., Feindel, K. W., Etherington, S. J., and Rodger, J. (2019). Frequency- specific effects of low-intensity rTMS can persist for up to 2 weeks post- stimulation: a longitudinal rs-fMRI/MRS study in rats. *Brain Stimul.* 2, 1526– 1536. doi: 10.1016/j.brs.2019.06.028
- Shulman M, Wai JM, Nunes EV. (2019) Buprenorphine Treatment for Opioid Use Disorder: An Overview. *CNS Drugs.* 33(6), 567-580. Doi: 10.1007/s40263-019-00637-z. PMID: 31062259; PMCID: PMC6585403.
- Skånland SS, Cieślak-Pobuda A. (2019) Off-label uses of drugs for depression. *Eur J Pharmacol.* 865:172732. Doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172732. Epub 2019 Oct 14. PMID: 31622593.
- Skolnick P. (2018) The Opioid Epidemic: Crisis and Solutions. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 58, 143-159. Doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010617-052534. Epub 2017 Oct 2. PMID: 28968188.
- Sofuoglu, M., Kosten, T.R. (2005) Novel Approaches to the Treatment of Cocaine Addiction. *CNS Drugs* 19, 13–25. <https://doi.org/10.2165/00023210-200519010-00002>
- Springer JT & Holley D. (2013) *An Introduction To Zoology: Investigating The Animal World.* Jones & Bartlett Learning 170.
- Sun, P., Wang, F., Wang, L., Zhang, Y., Yamamoto, R., Sugai, T., et al. (2011) Increase in cortical pyramidal cell excitability accompanies depression-like behavior in mice: a transcranial magnetic stimulation study. *J. Neurosci.* 31, 16464–16472. Doi: 10.1523/jneurosci.1542-11.2011
- Tang, A. D., Hong, I., Boddington, L. J., Garrett, A. R., Etherington, S., Reynolds, J. N. J., et al. (2016) Low-intensity repetitive magnetic stimulation lowers action potential threshold and increases spike firing in layer 5 pyramidal neurons in vitro. *Neuroscience* 335, 64–71. Doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.08.030

- The Clinical Practice Guideline Treating Tobacco Use and Dependence 2008 Update Panel, Liaisons, and Staff (2008). Clinical practice guideline for treating tobacco use and dependence: 2008 update: A US public health service report. *American Journal of Preventive Medicine*. 35 (2), 158–176.
- Tobinski AM, Rappeneau V. (2021) Role of the Neuropeptide S System in Emotionality, Stress Responsiveness and Addiction-Like Behaviours in Rodents: Relevance to Stress-Related Disorders. *Pharmaceuticals (Basel)* 14(8):780. Doi: 10.3390/ph14080780. PMID: 34451877; PMCID: PMC8400992.
- Vengeliene V, Rossmanith M, Takahashi TT, Alberati D, Behl B, Bernal A, Spanagel R (2018) Targeting Glycine Reuptake in Alcohol Seeking and Relapse. *J Pharmacol Exp Ther* 365, 202–211.
- Vlachos, A., Muller-Dahlhaus, F., Roskopp, J., Lenz, M., Ziemann, U., and Deller, T. (2012) Repetitive magnetic stimulation induces functional and structural plasticity of excitatory postsynapses in mouse organotypic hippocampal slice cultures. *J. Neurosci.* 32, 17514–17523. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.0409-12.2012
- Volkow ND (2020) Personalizing the Treatment of Substance Use Disorders. *Am J Psychiatry* 177:2, 113-116
- Volkow, N. D., and Morales, M. (2015). The brain on drugs: from reward to addiction. *Cell* 162, 712–725. Doi: 10.1016/j.cell.2015.07.046
- Williams AR, Hill KP. (2020) Care of the Patient Using Cannabis. *Ann Intern Med.* 173(9), ITC65-ITC80. Doi: 10.7326/AITC202011030. PMID: 33137270; PMCID: PMC8148298.
- Xu R, Serritella AV, Sen T, Farook JM, Sedlak TW, Baraban J, Snyder SH, Sen N. (2013) Behavioral effects of cocaine mediated by nitric oxide-GAPDH transcriptional signaling. *Neuron.* 78(4), 623-30. Doi: 10.1016/j.neuron.2013.03.021. PMID: 23719162; PMCID: PMC4047707.
- Xu, Y.-L.; Reinscheid, R.K.; Huitron-Resendiz, S.; Clark, S.D.; Wang, Z.; Lin, S.H.; A Brucher, F.; Zeng, J.; Ly, N.K.; Henriksen, S.J.; et al. (2004) Neuropeptide S: A neuropeptide promoting arousal and anxiolytic-like effects. *Neuron* 43, 487–497.
- Zafra F, Gomeza J, Olivares L, Aragon C, Gimenez C (1995). Regional distribution and developmental variation of the glycine transporters GLYT1 and GLYT2 in the rat CNS. *Eur J Neurosci* 7, 1342–1352.

- Zhou L, Liu MZ, Li Q, Deng J, Mu D, Sun YG (2017) Organization of Functional Long-Range Circuits Controlling the Activity of Serotonergic Neurons in the Dorsal Raphe Nucleus. *Cell Rep* 18, 3018–3032. [pubmed: 28329692]