



UNIVERSITÀ
DI PAVIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Direttore Chiar.ma Prof.ssa Simona Collina

**LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN
FARMACIA**

L'ABITUDINE AL FUMO

Relatore:

Prof. Stefano Govoni

Tesi di Laurea Magistrale a Ciclo Unico di
Oliviero Stilo, Mat.506645

Anno Accademico 2025/2026

Indice

1. **Dipendenza da...che cosa? Differenze e somiglianze tra le varie forme di dipendenza e ragioni della scelta della focalizzazione sulla dipendenza da fumo di sigaretta.**
pag. 3
2. **Perché scegliere la dipendenza da tabacco**
pag. 6
3. **Descrizione dettagliata della dipendenza da fumo di sigaretta**
pag. 8
4. **Perché smettere di fumare è così difficile?**
pag. 11
5. **Meccanismi generali comuni di dipendenza**
 - 5.1 **Ruolo della gratificazione cerebrale nella dipendenza**
pag. 12
 - 5.2 **Nuovi attori**
 - 5.2.1 **Glia**
pag. 18
 - 5.2.2 **Astroцити**
pag. 21
6. **Ruolo dei recettori colinergici neuronali nei meccanismi di rinforzo e gratificazione cerebrale della nicotina.**
pag. 25
7. **Terapie di contrasto all'abitudine del fumo**
 - 7.1 **Terapie farmacologiche**
pag. 29
 - 7.2 **Ruolo per gli integratori**
pag. 38
8. **Conclusioni**
pag. 50

1. Dipendenza da...che cosa? Differenze e somiglianze tra le varie forme di dipendenza e ragioni della scelta della focalizzazione sulla dipendenza da fumo di sigaretta.

Lo scopo dell'attuale ricerca neurobiologica sull'abuso di droghe è comprendere i meccanismi genetici/epigenetici, cellulari e molecolari che mediano la transizione dall'uso occasionale e controllato di sostanze alla perdita del controllo comportamentale sulla ricerca e sull'assunzione della droga, fino alla ricaduta cronica, anche dopo una prolungata astinenza, che rappresenta una caratteristica distintiva della dipendenza.

Un quadro teorico psichiatrico-motivazionale che fornisce fonti sia di rinforzo positivo sia di rinforzo negativo per l'assunzione di droghe è la concezione secondo cui la dipendenza presenta aspetti sia dei disturbi del controllo degli impulsi sia dei disturbi compulsivi. I disturbi del controllo degli impulsi sono caratterizzati da un crescente senso di tensione o attivazione prima di compiere un atto impulsivo e da piacere, gratificazione o sollievo nel momento in cui l'atto viene compiuto. I disturbi del controllo degli impulsi sono ampiamente associati a meccanismi di rinforzo positivo (*American Psychiatric Association*, 1994). Al contrario, i disturbi compulsivi sono caratterizzati da ansia e stress prima dell'esecuzione di un comportamento compulsivo ripetitivo e da sollievo dallo stress mediante l'esecuzione del comportamento compulsivo stesso. I disturbi compulsivi sono largamente associati a meccanismi di rinforzo negativo e automatismo comportamentale. (Gardner et al.2011)

L'unione dei cicli di impulsività e compulsività produce un ciclo composito della dipendenza costituito da tre fasi: *binge/intossicazione*, *astinenza/affettività negativa* e *preoccupazione/anticipazione*, nelle quali l'impulsività tende a predominare nelle fasi iniziali, mentre l'impulsività combinata con la compulsività domina nelle fasi più avanzate. Quando un individuo passa dall'impulsività alla compulsività, si verifica uno spostamento da un comportamento motivato guidato principalmente dal rinforzo positivo verso un comportamento motivato sostenuto dal rinforzo negativo e dall'automatismo (Koob et al. 2004). Queste tre fasi sono concepite come interagenti tra loro, diventando progressivamente più intense e conducendo infine allo stato patologico noto come dipendenza.

Nella concezione classica, la dopamina è il neurotrasmettitore del piacere, quel sentimento che desta in noi il cibo, lo sport, i rapporti sessuali, ed è sempre stata intesa come il raggiungimento di quella sensazione di benessere. Le nuove teorie invece, si oppongono a questa lettura, in quanto la

dopamina non viene rilasciata al compimento di queste azioni, ma nella fase temporanea in cui ci si aspetta una ricompensa. Il sistema dopaminergico, infatti, si basa sul desiderio, sull'ambizione di arrivare a un traguardo; il suo raggiungimento, invece, piuttosto che un'istanza dal quale può derivare giovamento, è quasi più paragonabile a una sconfitta: o si rinnova lo stimolo di ricerca e di imprevedibilità di risultati certi, o una volta conseguito lo stimolo ricercato, i livelli di dopamina si ridurranno.

Per capire la scelta del mio argomento di tesi, bisogna chiedersi, se sia più probabile raggiungere questo sentimento di piacere, per mezzo di operazioni che richiedono concentrazione come magari cucinare, svolgere mansioni pratiche, o in generale avere interazioni sociali complesse, che garantiscono la possibilità di sviluppare amicizie o rapporti intimi, oppure attraverso il consumo di sostanze esterne, alcune più costose, altre più dannose, ma comunque generalmente facili da reperire e veloci da consumare. Da un punto di vista evolucionistico infatti, la dopamina serviva proprio a questo, a motivare l'individuo a proteggere la sua famiglia e espandere il suo pool genico, quando in tempi più remoti i desideri più ambiti potevano limitarsi a essere quelli legati al cibo e al sesso, ai nostri tempi invece essendo cresciuti i mezzi di sostentamento, diminuendo i pericoli e i rischi o banalmente il fatto che nessuno almeno nei paesi sviluppati muoia più di denutrizione a causa di predatori esterni, con la creazione di società civili e welfare che si occupano del benessere sociale ed economico, ciò che davvero compete con i bisogni primari per l'ottenimento di una maggior quantità di dopamina è rappresentato da droghe, gioco, e pornografia. Sono questi, infatti, che nutrono i desideri dei moderni Homo sapiens, l'illusione di un futuro migliore, mediato da scariche di dopamina sostenute dalla ricerca e soddisfacimento di questo tipo di stimoli.

Pertanto, non ci si deve meravigliare quando si vede un tossicomane preferire un'altra dose a un pasto sicuro, infatti lui, pur non mangiando da diverso tempo, sarà obbligato dal suo cervello a scegliere la strada più breve in termini di velocità nel raggiungimento della "gratificazione dopaminergica", in quanto a livello neurobiologico è la scelta più razionale, scegliere il consumo della sostanza, poiché questa garantisce una scarica di dopamina superiore a tutto il resto. Un aspetto importante da non trascurare è il fatto che la dopamina non va vista solo come un segnale dal valore positivo, ma bensì come un valore assoluto, infatti anche se un tossico è già sotto l'effetto, la sola possibilità, di poter consumare di nuovo, seppur, di per sé, lui non ne senta il bisogno, a livello dopaminergico scatena una reazione che è impossibile ignorare : non è il bisogno che lo motiva ad aumentare il consumo, quanto più la paura che non ci sia una dose successiva, come un organismo primordiale che si procacciava il cibo incessantemente, sotto gli ordini della dopamina, egli è obbligato a cercare di provare di nuovo quella sensazione iniziale inebriante.

L'assenza di quella scarica di dopamina altrimenti conduce a uno stato di depressione i consumatori cronici, fino al punto che la ricerca di quello stimolo diventa la risposta a tutti gli enigmi quotidiani: se si ha fame ci si droga, se non si sa cosa fare la domenica ci si droga, se si è stanchi dopo il lavoro ci si droga, se si hanno problemi con la famiglia ci si droga, e così via...

Anche se quella sensazione, non la troverà più, perché la dose di carico va sempre aumentata, la ricerca del piacere istantaneo va sempre proseguita. Così un alcolista passa dal bere solo quando esce la sera con gli amici all'università al saltare il lavoro, gli eventi sociali, il compleanno della fidanzata, pur di bere e garantire il flusso di dopamina conseguente. Ogni sostanza ha la sua via di somministrazione, il crack e la cocaina sono la stessa molecola eppure, una fa molta più presa dell'altra, il cloridrato infatti viene percepito come meno elegante, ma la percentuale di persone dipendenti dal crack risulta essere molto più alta di quella della cocaina sniffata, questo perché la via di somministrazione inalatoria permette un assorbimento molto maggiore del principio stupefacente, mentre lo sniffing prevede l'assorbimento da parte della mucosa nasale e poi dopo numerosi passaggi l'entrata in circolo, l'inalazione si serve della superficie, pari a metà campo da tennis, degli alveoli polmonari, che garantisce un aumento della dopamina decisamente maggiore rispetto al primo metodo; per questo le dipendenze, seppur utilizzino gli stessi circuiti presentano comunque differenze sostanziali nel potenziale di induzione di cambiamenti plastici. Anche l'alcol è preferibile consumato velocemente, in modo che dia una sensazione di euforia, e in dose alti, infatti tenderà a divertirsi molto di più una ragazza che beve tre cocktail in una serata, piuttosto che un uomo di grande stazza, che beve 12 birre mentre cerca di raggiungere la medesima sensazione di euforia e divertimento. La sensazione di euforia può essere rapidamente raggiunta da alte quantità di dopamina secrete in poco tempo, quello dell'ubriachezza invece comincia appena scompaiono gli effetti positivi dati dalla dopamina.

Ritornando a un quadro d'insieme, dal *World Drug Report 2025*, stilato annualmente dalla *WHO* emergono dati decisamente allarmanti, le ultime statistiche disponibili sono del 2023 e ci forniscono un quadro completo sull'abuso di sostanze nel mondo: le persone che utilizzano droghe nel mondo sono 316 milioni, un aumento del 28% rispetto a 10 anni fa. La maggior parte consuma cannabis, seguita rispettivamente da oppioidi, anfetamine, di cocaina, droghe sintetiche, il 25% in media sono donne. Tra chi abusa, le persone che sviluppano dipendenza sono pari a 64 milioni, in aumento del 13% rispetto a 10 anni fa. Solo l'otto percento affronta percorsi di riabilitazione, un uomo su 7 e una donna su 18, queste statistiche sono ancora troppo basse, per consentire di dire che si stiano facendo passi avanti nel trattamento delle dipendenze croniche.

2. Perché scegliere la dipendenza da tabacco

Ciò che mi ha condotto ad approfondire il trattamento della dipendenza da nicotina, è come questa abbia un meccanismo totalmente atipico rispetto alle altre sostanze d'abuso, infatti mentre le altre risultano piacevoli sin dal primo utilizzo, fumare una sigaretta, per chiunque lo provi la prima volta, risulta disgustoso e può persino portare a conati di vomito in soggetti più sensibili, infatti è un meccanismo che rappresenta una "*petitio principii*" unica nel suo genere: è il sistema dopaminergico che decreta un'autarchia totalitaria, infatti uno fuma solo per mantenere la sequenza positiva, l'unico senso di fumare è il diventarne dipendenti, in modo da poter provare il piacere di alleviare la sgradevole sensazione di desiderio non ancora realizzato. La dipendenza non è indice di carattere debole o scarso autocontrollo, bensì ha luogo quando l'iperstimolazione catapultava i circuiti del desiderio in una condizione patologica.

La storia del tabacco, e quindi della nicotina ha origine 6000 anni fa circa, almeno così è stimato dai ricercatori, con la comparsa di *nicotiana rustica* e *nicotiana tabacum*, sulle catene andine nel Sud America, per poi espandersi in America centrale e nei Caraibi, queste erano piante caratterizzate da foglie di tabacco più grandi di quelle moderne e quantità di nicotina maggiore (14% vs 3%). La prima traccia ufficiale di consumo umano emerge in Africa occidentale circa nel 1900 a.C., grazie al ritrovamento di residui di pipa, analizzati con spettrometria di massa. Tracce di tabacco sono state ritrovate anche nelle tombe delle mummie egizie, così come ne è stato ufficializzato l'utilizzo nelle cerimonie sacrificali delle popolazioni centro americane, come Maya e Inca. Da queste popolazioni, che attorno al sedicesimo secolo ebbero i primi contatti con i colonizzatori europei, il tabacco presto arrivò in Europa. Già nella prima metà del sedicesimo secolo, un monaco, Ramon Pane, che accompagnava Colombo notò come le popolazioni locali masticavano delle foglie verdi mischiate con una polvere bianca, oppure le inalavano direttamente dopo averle tritate. L'ambasciatore francese a Lisbona, decise di portarli in dono alla regina di Francia, Caterina de Medici, che cominciò a utilizzare quella che lei chiamava "*Herba medicea*" come rimedio per le sue emicranie, da lì cominciò la rapida diffusione del tabacco, tanto che il principio attivo contenuto in quelle foglie venne chiamato proprio in onore dell'ambasciatore Jean Nicot, quindi nicotina, da lì si diffuse presto in Inghilterra attraverso le pipe dei corsari, l'idea che l'uso potesse avere proprietà curative, fece sì che durante lo scoppio della peste intorno al 1660, in alcune località, come nei pressi del prestigioso college di Eton, veniva addirittura richiesto di fumare con il fine di scongiurare il pericolo bubbonico. Solo un secolo dopo i primi medici in Europa si accorsero degli effetti collaterali del fumo, come il cancro al naso, ma il suo uso era ormai consolidato, Tanto che

veniva utilizzato addirittura come bene di scambio o come pegno nelle richieste di denaro alle banche. (Russo et al.2011)

Nei secoli successivi nacquero la *Philip Morris* e l'*American Tobacco Company*: le *Marlboro* e le *Lucky strike* si contendevano il mercato tabagista, il quale venne ulteriormente espanso dall'avvento di due delle più grandi tragedie umane dello scorso secolo: le due guerre mondiali, in corrispondenza delle quali il fenomeno del tabagismo ebbe il suo picco e venne definitivamente consacrato l'uso del tabacco trinciato, che era stato portato in auge una cinquantina di anni prima, durante la guerra di Crimea (1850), dove i soldati europei emulavano la creazione delle sigarette rollate a mano dai turchi nelle trincee, dunque ciò che prima era pubblicizzato per casalinghe e soldati, ora veniva consumato da tutti, indipendentemente dall'età: l'utilizzo tra gli adolescenti era infatti triplicato rispetto ai primi anni 10 del 900, le sigarette popolarizzate appunto dal conflitto venivano chiamate: "*soldiers' smoke*", e i tabagisti americani ne consumavano, in media pro-capite, più di 2500 all'anno. (Sansone et al.2023)

Per capire l'importanza del fenomeno, il tabacco annualmente è responsabile della morte di 8 milioni di individui, la maggior parte di queste morti, ovvero l'80%, avviene in paesi in via di sviluppo. Si stima che nel mondo circa 1.3 miliardi di persone consumino tabacco, la maggior parte sono uomini: 37% contro il 7% delle donne;(<https://www.who.int/News-Room/Fact-Sheets/Detail/Tobacco>)

Per quanto riguarda il panorama italiano, il 20% della popolazione che supera i 15 anni fuma abitualmente: il 20% degli uomini e il 16% delle donne, in totale 12 milioni di italiani, l'età media del fumatore è di 47 anni, e il consumo medio di sigarette si stabilizza attorno alle 12 al giorno. I dati allarmanti riguardano il crescente utilizzo nelle fasce più giovani della popolazione: tra i 14 e i 17 anni il 37% dei ragazzi fumano, non vengono risparmiate nemmeno le fasce tra gli 11 e i 13, con il 10% di questa fascia demografica che fuma. In generale, tra tutti i giovani, il 40% si dichiara poli consumatore, ovvero fa uso in concomitanza di: sigarette tradizionali, tabacco riscaldato ("*heat not burn devices*") e "*vape*", inoltre, importante da sottolineare, come si inverte il rapporto di maggioranza in termini di gender in questo campione: tra gli adolescenti le ragazze rappresentano la fetta più ampia di consumatrici. (Rapporto nazionale sul tabagismo 2023).

La nicotina, altro non è che un alcaloide, un metabolita secondario prodotto dalla pianta *nicotiana tabacum*, appartenente alla famiglia delle solanacee, attraverso la secrezione di un liquido viscoso giallastro, contenente questo metabolita che, in natura, agisce da meccanismo di difesa nei confronti degli insetti predatori e gli animali erbivori, tanto che fino agli anni 60' veniva utilizzato come

pesticida in tutto il mondo. Dal punto di vista chimico è classificata come un ammina terziaria, composta da un anello piridinico congiunto ad un anello di metilpirrolidina, la sua concentrazione nella *nicotiana tabacum* è pari al 3%, mentre nella nicotiana rustica anche conosciuta come tabacco azteco, può raggiungere addirittura il 14%, dal punto di vista organolettico appare come un liquido giallastro, combustibile, con un odore simile al pesce quando caldo, dal punto di vista stereochimico essa appare nella sua forma S, infatti la R nicotina è un agonista debole, che si genera durante la pirolisi, ma non viene assorbita. Da un punto di vista prettamente chimico invece è una base debole, con PKA di 8; a livello di metabolismo nel corpo umano invece, questa viene metabolizzata nel fegato, principalmente trasformata dall'enzima Cyp2A6 in cotinina, dove poi subisce processi di idrossilazione o glucoronazione per poi essere eliminata nelle urine.

3. Descrizione dettagliata della dipendenza da fumo di sigaretta

Il fumo esplica una moltitudine di effetti negativi sul nostro organismo, agendo su molti fattori, la maggior parte dei decessi correlati al fumo deriva da patologie oncologiche (in particolare il carcinoma polmonare e della laringe), malattie dell'apparato respiratorio (come la BPCO) e disturbi cardiovascolari (principalmente la cardiopatia ischemica coronarica). Le più di 7000 sostanze tossiche presenti all'interno della sigaretta infatti, vanno a danneggiare i tessuti endoteliali dei vasi mediante la compromissione del sistema di produzione di sostanze vasodilatatrici come NO e prostaciline, andando a distruggere l'equilibrio tra queste sostanze e quelle vasocostrittrici, come citochine, senza dimenticare l'effetto nocivo dei ROS generati, i quali vanno a ridurre la biodisponibilità monossido di azoto grazie alla formazione di periossinitriti, fenomeno che porta a un deterioramento delle cellule progenitrici endoteliali (EPCs), a cui può seguire anche l'ossidazione delle LDL, con un'accelerazione dei processi aterosclerotici a danno dei vasi. (Kondo et al. 2004). Il tabagismo costituisce un rilevante fattore di rischio per ictus, cecità, sordità, lombalgia, osteoporosi e malattia vascolare periferica. Dopo i 40 anni, i fumatori presentano mediamente livelli più elevati di dolore e disabilità rispetto ai non fumatori, evidenziando anche il calo della qualità di vita degli anni vissuti (US Department of Health and Human Services, 2004). Il consumo di tabacco, sia nelle donne sia negli uomini, determina una riduzione della fertilità (Action on Smoking and Health, 2013). Durante la gravidanza, il fumo provoca un inadeguato sviluppo fetale e incrementa il rischio di aborto spontaneo, mortalità neonatale, patologie respiratorie nella prole ed è verosimilmente associato all'insorgenza di disturbi psichici nella stessa.

In passato si riteneva che il fumo esercitasse un effetto protettivo nei confronti della malattia di Alzheimer; attualmente è invece noto che esso costituisce un fattore di rischio sia per l'Alzheimer sia per la demenza vascolare (Ferri et al., 2011). È stata osservata una correlazione positiva tra il numero medio giornaliero di sigarette consumate e il rischio di patologie fumo-correlate; tuttavia, nel caso delle malattie cardiovascolari, tale relazione non è lineare, per cui anche bassi livelli di consumo comportano un rischio superiore a quello prevedibile secondo un modello lineare semplice (US Department of Health and Human Services, 2004). Inoltre, seppur in un primo momento, il fumo maschera l'appetito, quindi si ha una diminuzione temporale del peso corporeo, successivamente il tabagismo causa un aumento dell'insulina resistenza, quindi un accumulo del grasso, che può portare in un secondo momento all'emergere di sindrome metabolica e in alcuni casi al diabete mellito (Nakanishi et al 2014). Per quanto concerne l'effetto del fumo sulla pressione sanguigna, possiamo affermare che fumare anche solo 1 sigaretta può fare aumentare i valori pressori (in acuto di 20 mmHg), e calcolando un'emivita di circa 2 ore della nicotina nel sangue, i parametri medi dei fumatori appaiono sempre superiori durante la giornata. (Groppelli et al.1991) Il fumo di tabacco contiene concentrazioni biologicamente rilevanti di cancerogeni noti, oltre a numerose altre sostanze tossiche. Alcune di esse, tra cui diverse nitrosammine specifiche del tabacco, sono componenti intrinseche del prodotto, in gran parte a causa dei processi di lavorazione; altre, come il benzopirene, si formano durante la combustione (Action on Smoking and Health, 2014b). Tali composti costituiscono una parte del particolato presente nel fumo. Inoltre, il fumo di tabacco contiene monossido di carbonio (CO), un gas tossico che compete con l'ossigeno legandosi all'emoglobina. Tuttavia, in condizioni acute, la quantità di CO inalata non è generalmente sufficiente a determinare ipossia, poiché l'organismo compensa aumentando la produzione di eritrociti. (West et al.2017)

La nicotina presente nel fumo di tabacco può contribuire in misura limitata all'aumento del rischio cardiovascolare, ma ha un ruolo nullo o trascurabile nell'incremento del rischio di malattie respiratorie o neoplastiche. Sono piuttosto le altre componenti del fumo di sigaretta a determinare la maggior parte dei danni. Studi condotti su altre specie hanno ipotizzato un possibile effetto neurotossico della nicotina sul cervello adolescenziale; tuttavia, non vi sono evidenze di deficit clinicamente rilevanti nelle funzioni cognitive o emotive negli adulti che hanno fumato durante l'adolescenza e successivamente hanno cessato (US Department of Health and Human Services, 2004). L'esposizione al fumo passivo comporta un rischio significativo sia per i bambini sia per gli adulti. I non fumatori esposti a un ambiente contaminato dal fumo, soprattutto se al chiuso, presentano infatti un aumento dell'incidenza di tumori, malattie cardiovascolari e patologie respiratorie, relativamente minore rispetto a quello cui sono soggetti i fumatori, ma comunque

significativo, inoltre è incorretto pensare che alla creazione di questo spazio nocivo non contribuiscano anche i fumatori di dispositivi *HnB*, poiché anche il fumo delle sigarette elettroniche può causare danni a coloro che inalano il fumo passivo (Gotts et al.2019).

Tabella n.1

La tabella riassume la relazione tra l'abitudine del fumo al momento dello studio ed esito su 36 parametri legati alla salute.

Table 2 Strength of the evidence for the relationship between current smoking and the 36 health outcomes analyzed													
Risk-outcome pair	Risk unit	Mean risk at different exposure levels				85th percentile risk level	Mean risk at 85th percentile risk level	ROs	Average BPRF	Average increased risk (%)	Star rating	Pub. bias	No. of studies
		5	10	20	40								
Laryngeal cancer	Pack-years	2.30 (1.88, 2.84)	3.77 (2.73, 5.30)	7.25 (4.48, 12.05)	14.62 (7.62, 29.11)	50.50	17.73 (8.82, 37.07)	1.56	4.75	374.95	5	0	5
Aortic aneurism (ref. age: 55-59 years)	Cigarettes per day	2.52 (1.79, 3.60)	3.78 (2.31, 6.33)	5.39 (2.89, 10.36)	6.22 (3.17, 12.64)	30.00	6.08 (3.13, 12.27)	0.92	2.50	149.73	5	0	14
Peripheral artery disease (ref. age: 60-64 years)	Cigarettes per day	2.52 (1.67, 3.90)	3.80 (2.10, 7.14)	5.69 (2.62, 12.94)	7.82 (3.13, 20.68)	31.25	7.16 (2.98, 18.16)	0.86	2.37	136.53	5	0	6
Lung cancer	Pack-years	1.58 (1.19, 2.15)	2.48 (1.40, 4.53)	5.11 (1.84, 14.99)	11.62 (2.49, 58.73)	50.88	13.42 (2.63, 74.59)	0.73	2.07	106.66	5	1	78
Other pharynx cancer	Pack-years	1.65 (1.30, 2.13)	2.20 (1.51, 3.30)	3.02 (1.77, 5.30)	3.89 (2.02, 7.78)	63.75	4.72 (2.24, 10.45)	0.65	1.92	92.26	5	0	8
COPD	Pack-years	1.61 (1.21, 2.17)	2.16 (1.37, 3.51)	3.17 (1.60, 6.55)	5.05 (1.94, 13.97)	49.75	6.01 (2.08, 18.58)	0.54	1.72	72.11	4	1	13
Lower respiratory infection	Cigarettes per day	1.46 (1.23, 1.76)	1.83 (1.38, 2.46)	2.63 (1.68, 4.23)	2.97 (1.79, 5.06)	31.25	2.97 (1.79, 5.06)	0.43	1.54	54.45	4	0	7
Pancreatic cancer	Pack-years	1.26 (1.22, 1.31)	1.47 (1.38, 1.57)	1.72 (1.57, 1.88)	1.80 (1.63, 1.98)	51.25	1.87 (1.69, 2.08)	0.42	1.52	51.66	4	0	19
Bladder cancer	Pack-years	1.21 (1.08, 1.36)	1.43 (1.16, 1.77)	1.90 (1.31, 2.81)	2.92 (1.57, 5.63)	50.65	3.29 (1.65, 6.83)	0.34	1.40	40.18	3	1	30
Tuberculosis	Cigarettes per day	1.46 (1.13, 1.92)	1.88 (1.22, 2.97)	2.71 (1.38, 5.56)	3.47 (1.49, 8.50)	26.56	3.24 (1.46, 7.56)	0.27	1.31	31.04	3	0	19
Esophageal cancer	Pack-years	1.24 (1.06, 1.46)	1.48 (1.11, 2.00)	1.96 (1.20, 3.32)	3.12 (1.36, 7.57)	50.00	4.79 (1.53, 16.26)	0.26	1.29	29.36	3	1	14
Cervical cancer	Pack-years	1.60 (1.12, 2.35)	1.99 (1.18, 3.48)	2.37 (1.23, 4.79)	2.62 (1.26, 5.72)	25.50	2.53 (1.25, 5.36)	0.21	1.24	23.53	3	0	4
Multiple sclerosis	Cigarettes per day	1.14 (1.10, 1.17)	1.31 (1.23, 1.40)	1.78 (1.55, 2.06)	2.77 (2.17, 3.60)	20.00	1.78 (1.55, 2.06)	0.21	1.23	23.36	3	0	6
Rheumatoid arthritis	Cigarettes per day	1.20 (1.10, 1.31)	1.40 (1.20, 1.66)	1.67 (1.31, 2.14)	1.73 (1.34, 2.26)	26.25	1.72 (1.34, 2.25)	0.21	1.23	23.32	3	1	6
Lower back pain	Cigarettes per day	1.58 (1.11, 2.28)	1.96 (1.16, 3.39)	2.26 (1.20, 4.40)	2.29 (1.21, 4.50)	26.25	2.29 (1.21, 4.49)	0.20	1.22	21.84	3	0	6
Ischemic heart disease (ref. age: 55-59 years)	Cigarettes per day	1.66 (1.09, 2.57)	2.12 (1.14, 4.1)	2.43 (1.17, 5.27)	4.20 (1.28, 14.77)	31.25	3.13 (1.22, 8.50)	0.19	1.20	20.39	3	1	60

Tabella tratta da: Dai, X., Gil, G.F., Reitsma, M.B. *et al.* Health effects associated with smoking: a Burden of Proof study. *Nat Med* **28**, 2045–2055 (2022).

4. Perché smettere di fumare è così difficile?

È risaputo che i fumatori vivono in media 10 anni in meno rispetto ai non fumatori, senza contare il fatto che perdono circa 20 anni sani di vita prima di morire a causa di malattie legate al consumo cronico di sigarette (Barua et al.2018), tra cui primeggiano gli eventi cardiovascolari come infarto miocardico e malattie alle arterie periferiche, anche in pazienti ipertesi con ottima gestione dei valori pressori, si sono registrati i più alti tassi di arteriosclerosi nelle popolazioni studiate, oltre che neoplasie maligne ai polmoni e BPCO. Studi epidemiologici hanno rilevato una proporzionalità non diretta ma esponenziale tra il fumo e la probabilità di incorrere in eventi cardiovascolari; quindi, anche basse dosi di consumo di sigarette sono associate a un rischio molto ampio di sviluppare queste conseguenze negative. Smettere di fumare quindi, anche per chi ha già sofferto eventi cardiovascolari acuti, rappresenta il migliore metodo di prevenzione secondaria. Anche per coloro che soffrono spesso di infezioni batteriche o virali a livello respiratorio, smettere di fumare rappresenta un ottimo modo di fronteggiare la maggior suscettibilità ai patogeni, causata dal fumo, come evidenziato nel caso del covid 19, dove si è osservato che i fumatori assidui sviluppano una upregolazione nell'espressione del gene che produce ACE2, ovvero *l'angiotensin converting enzyme 2*, portando a una maggior probabilità di legame tra la proteina *spike* del *Sars Cov* ai recettori delle cellule polmonari. Pertanto, presto o tardi, molti fumatori, decidono di smettere, chi di colpo, chi in maniera più graduale, ma tra loro, più del 75% di coloro che cercano di smettere indipendentemente ricadono nella dipendenza nella prima settimana, meno del 10% riesce a superare periodi di astinenza superiori ai 6 mesi, e pure tra questi, eventualmente emergono dubbi riguardo alla volontà di cessare definitivamente di fumare, tanto che, di norma, sono necessari in media più di 6 tentativi, per raggiungere uno stato di astinenza definitiva (Chaiton et al.2016): da un lato si misurano i sintomi di tipo psicologico legati all'astinenza, quali ansia, preoccupazione, irritazione, e percepito declino delle *performance* cognitive (Mc Laughling et al.2015); dall'altro si pensa alle conseguenze prettamente fisiche, quali crescita dell' appetito e quindi il possibile aumento di peso, o piuttosto la ricorrente insonnia, che interferisce molto con lo stile di vita. Questi sintomi sono temporari, e spesso diminuiscono la loro intensità nell'arco di 2-4 settimane, seppur rimane da notare il fatto che il 40% dei fumatori riporta che per loro non si verifichi questa diminuzione, ma che anzi gli effetti negativi si protraggano per mesi (Hughes et al.2007). Oltremodo, per molti, smettendo fumare, si perde il meccanismo di gestione dello stress, dato dall'atto fisico di fumare, quindi togliendo una parte importante della quotidianità, dove il fumo viene visto come un coadiuvante nella gestione degli eventi stressanti della routine giornaliera. (US Department of Health and Human Services .2020)

5. Meccanismi generali comuni di dipendenza

5.1 Ruolo della gratificazione cerebrale nella dipendenza

Il sistema nervoso riceve in continuazione stimoli sensoriali, sia esterni che interni, fisici o chimici che siano; ciò lo qualifica ad assumere il compito di ordinarli, codificarli ed elaborarli in un ordine sinfonico, che permetterà la risposta più adatta in termini di dispendio energetico, memorizzazione di dati e stimoli ricorrenti, oltre che ai fini della necessità biologica pura.

Il cervello attraverso meccanismi neurobiologici esercita processi affinati durante l'evoluzione, come l'omeostasi, la percezione sensoriale, l'apprendimento associativo e non associativo, le emozioni e il processo decisionale, per modellare la risposta di un organismo agli stimoli ambientali e massimizzare la sua capacità di sfruttarne gli aspetti prevedibili e di adattarsi a quelli imprevedibili. (Volkow et al.2019)

Per capire a fondo il ruolo della gratificazione cerebrale nella dipendenza, bisogna prima capire come funzionano i circuiti neurali del sistema nervoso centrale (SNC) e i neurotrasmettitori coinvolti nel processo di ricompensa e gli stimoli utili che portano a esperienze soggettive gratificanti oppure punitive.

Ritornando sul tema centrale, ovvero la comprensione dei circuiti neurali del SNC, osserviamo come si riserva sempre più spazio allo studio dinamico della neuroplasticità sinaptica e alla continua trasformazione delle reti neurali, nello specifico si notano alterazioni, causate da fattori terzi come sostanze d'abuso, nei sistemi di segnalazione molecolare e di rifornimento di fattori neurotrofici, che poi vanno a ricadere sull'organizzazione e la comunicazione dei microcircuiti neurali, impattando in maniera significativa sullo sviluppo di reti nervose coinvolte nel fenomeno di gratificazione cerebrale, che porta poi a fenomeni di dipendenza, e complementari quali *craving* e astinenza. La codifica della ricompensa o della punizione viene valutata tramite una somma degli impulsi neurali ricevuti ed elaborati in determinati centri neurali, per capire la complessità dei circuiti neurali alla base della dipendenza da sostanze, si deve partire dall'area tegmentale ventrale (VTA), una regione cerebrale eterogenea costituita prevalentemente da neuroni dopaminergici (DA; 60–65%), neuroni GABAergici (~30–35%), e una minore componente di neuroni glutamatergici (2–3%). (Nair et al.2008)

La VTA rappresenta uno dei principali nodi del sistema della ricompensa e svolge un ruolo fondamentale nella mediazione degli effetti motivazionali e rinforzanti delle droghe d'abuso. I neuroni dopaminergici della VTA non costituiscono una popolazione omogenea, ma possono essere distinti in base ai loro bersagli di proiezione. I due sottotipi maggiormente studiati sono quelli che

proiettano al *nucleus accumbens* (NAc), formando la via mesolimbica, e quelli che proiettano alla corteccia prefrontale (PFC), costituendo la via mesocorticale. Ulteriori proiezioni raggiungono strutture come amigdala e ippocampo. Le evidenze sperimentali suggeriscono che questi sottotipi neuronali possiedano proprietà elettrofisiologiche e funzionali differenti. Ad esempio, stimoli gratificanti come la cocaina modulano selettivamente l'input eccitatorio sui neuroni dopaminergici della VTA che proiettano al NAc, mentre stimoli avversivi influenzano prevalentemente i neuroni diretti verso la corteccia prefrontale mediale (mPFC) (Lammel et al.2011). Questo dimostra come la VTA sia organizzata in microcircuiti funzionalmente distinti coinvolti nella codifica di esperienze gratificanti o avversive.

I circuiti dopaminergici sopra citati della VTA registrano modificazioni nei valori di dopamina in concomitanza con l'assunzione di sostanze esogene, questi, nonostante spesso vedano un aumento dei livelli del neurotrasmettitore (come ad esempio le anfetamine), in casi di specifiche dipendenze possono anche rilevare delle diminuzioni, come nel caso dell'utilizzo cronico di THC, dove si nota un calo drastico della DA a livello dello striato, sia a livello di sintesi che di rilascio, rilevato tramite PET, calo che funge da segnale dell'aggravarsi della dipendenza e concomitante allo sviluppo di depersonalizzazione e negatività a livello sociale. (Mitchell et al.2014)

La dopamina non è l'unico neurotrasmettitore responsabile nello sviluppo delle dipendenze, bisogna considerare come i fenomeni additivi vedono la loro genesi a partire dai numerosi segnali che il VTA riceve e codifica a sua volta, e non tutti sono di origine dopaminergica, ma bensì questi possono provenire anche da neurotrasmettitori GABAergici e glutamatergici, anch'essi implicati nel delicato processo di alterazione del sistema di ricompensa, alla base della creazione di fenomeni di *addiction*. i quali coesistono con quelli tipicamente dopaminergici, così come si può vedere nel fitto dedalo di circuiti eccitatori e inibitori che governano sinergicamente i circuiti della ricompensa.

Uno dei principali bersagli della VTA è il NAc, considerato una struttura centrale nella regolazione della motivazione e dei comportamenti di ricerca della gratificazione. Nel NAc, la dopamina esercita i propri effetti principalmente attraverso l'attivazione dei recettori dopaminergici espressi dai *medium spiny neurons* (MSN), neuroni GABAergici di proiezione che rappresentano la popolazione cellulare predominante di questa regione. I suoi neuroni principali, gli MSN, si dividono in due popolazioni, D1 e D2, in base alla prevalenza di una delle 2 classi di recettori dopaminergici, che contribuiscono in modo differenziale ai comportamenti motivati. L'attivazione degli MSN D1 può facilitare la formazione della preferenza di luogo associata alla cocaina, mentre l'attivazione degli MSN D2 tende a ridurla. (Scofield et al.2016)

Pertanto, queste due popolazioni mostrano plasticità sinaptiche distinte in risposta alla cocaina, anche nei loro output verso il pallido ventrale (VP). In particolare, la cocaina potenzia le sinapsi D1 NAc–VP e deprime quelle D2 NAc–VP, contribuendo a diversi aspetti del comportamento additivo, quindi, il ripristino della funzione D1 riduce la sensibilizzazione locomotoria, mentre il recupero della funzione D2 attenua l’anedonia da astinenza. Ciò evidenzia un ruolo complementare ma distinto dei due circuiti nel modulare stati comportamentali differenti. (Creed et al.2016)

Oltre all’eterogeneità cellulare, il NAc presenta anche una rilevante eterogeneità anatomica e funzionale, essendo suddiviso nelle sottoregioni *core* e *shell*. Il *core* del NAc sembra essere particolarmente coinvolto nell’attribuzione di valore motivazionale agli stimoli associati a ricompensa o avversione e nell’aggiornamento di tali associazioni in base ai cambiamenti ambientali. La *shell*, invece, appare maggiormente implicata nelle risposte comportamentali conseguenti all’esposizione ripetuta a stimoli gratificanti, come l’assunzione cronica di sostanze d’abuso (Quintero. 2013). Sebbene il NAc riceva una forte modulazione dopaminergica dalla VTA, esso integra anche numerosi input glutamatergici provenienti da regioni corticali e limbiche, tra cui la corteccia prefrontale (PFC), l’ippocampo ventrale (vHIPP), l’amigdala baso laterale (BLA) e alcune sottoregioni del talamo. Questa convergenza di segnali rende il NAc un importante centro di integrazione delle informazioni cognitive, emotive e contestuali che guidano il comportamento motivato.

Altro ruolo fondamentale nella dipendenza è giocato dalle regioni della corteccia: la corteccia prefrontale svolge un ruolo cruciale nel controllo esecutivo e nei comportamenti orientati a uno scopo, come la pianificazione e la ricerca di sostanze associate alla ricompensa. Le diverse sottoregioni della PFC proiettano in modo selettivo al NAc: la corteccia prefrontale mediale infralimbica (IL) invia prevalentemente proiezioni alla shell del NAc, mentre la corteccia prelimbica (PrL) proietta principalmente al core. Attraverso queste connessioni, la PFC contribuisce alla regolazione del controllo cognitivo e della ricerca compulsiva della droga (Ma et al.2014). Pertanto, l’uso prolungato di droghe porta a adattamenti delle cellule nella via glutamatergica prefrontale–NAc che risultano in comportamenti di dipendenza persistenti, come la relativa svalutazione dei naturali segnali di gratificazione, la riduzione del controllo cognitivo e l’iperreattività agli stimoli associati alla droga. Allo stesso tempo la corteccia insulare agisce modulando i ricordi associati alla gratificazione e al piacere che segue il rilascio di dopamina, ciò rafforza le memorie contestuali associate alla ricaduta. (Volkow et al,2004)

Inoltre, studi su modelli animali hanno evidenziato come una parte degli animali continua a cercare la stimolazione anche in presenza di una punizione, indicando che l’attività dopaminergica della

VTA è sufficiente a sostenere comportamenti compulsivi nonostante conseguenze negative. Questo fenomeno è associato all'attivazione dei neuroni piramidali della corteccia orbito frontale (OFC), che risulta più eccitabile nei soggetti resistenti alla punizione, mentre il silenziamento dei neuroni dell'OFC era sufficiente a trasformare i topi resistenti alla punizione in soggetti suscettibili (Chen et al.2013). Anche il vHIPP invia proiezioni glutamatergiche al NAc ed è considerato un importante centro di integrazione tra informazioni spaziali e contestuali provenienti dall'ippocampo dorsale e informazioni emotive provenienti dall'amigdala e dal locus *coeruleus*. Il circuito vHIPP–NAc fornisce quindi informazioni emotivamente rilevanti in relazione al contesto ambientale, influenzando il comportamento orientato alla ricompensa. Tale circuito è implicato sia nei comportamenti gratificanti sia in quelli avversivi e la sua modulazione altera sia le risposte locomotorie alle droghe sia il *drug-seeking* indotto da stimoli associati alla sostanza. (Oleskevich et al.1989)

Anche l'amigdala, in particolare la sua componente baso laterale (BLA), invia proiezioni glutamatergiche al NAc. Gli effetti di questo circuito sembrano essere mediati principalmente dai recettori dopaminergici D1. L'attivazione delle proiezioni BLA–NAc facilita infatti la ricerca della ricompensa e sostiene i processi di rinforzo positivo, andando appunto a favorire l'autostimolazione, come anche evidenziato da studi optogenetici (Stuber et al.2011). Sebbene l'amigdala sia tradizionalmente associata all'elaborazione della paura e dell'ansia, le proiezioni verso il NAc sembrano svolgere una funzione distinta, più direttamente collegata ai meccanismi di ricompensa e rinforzo. Un ulteriore contributo glutamatergico al NAc proviene dai nuclei talamici della linea mediana, in particolare dal nucleo paraventricolare del talamo (PVT). A differenza degli input provenienti da PFC, vHIPP e amigdala, la stimolazione della via PVT–NAc produce effetti avversivi piuttosto che gratificanti, inducendo comportamenti di evitamento. Alterazioni dell'attività del PVT influenzano inoltre diversi comportamenti correlati alla dipendenza, tra cui la ricompensa indotta dalla cocaina e la ricerca della sostanza. Tali effetti sembrano dipendere da modificazioni della plasticità sinaptica all'interno del circuito talamo–NAc. In particolare, l'esposizione alla cocaina altera la funzione dei recettori NMDA e aumenta la formazione di "sinapsi silenti", con effetti differenti a seconda del tipo di MSN coinvolto (D1 o non-D1) e della sottoregione del NAc interessata (*core* o *shell*). (Huang et al.2009)

Nel loro insieme, VTA, NAc, PFC, vHIPP, amigdala e talamo costituiscono una rete altamente integrata organizzata nel circuito corteccia-gangli della base che sostiene la gratificazione. All'interno di questo sistema, l'esposizione cronica alle droghe induce profonde modificazioni della plasticità sinaptica e strutturale che contribuiscono allo sviluppo e al mantenimento della

dipendenza. Tali cambiamenti coinvolgono numerosi meccanismi molecolari, tra cui alterazioni della segnalazione dei fattori di crescita, delle GTPasi e della regolazione dei recettori AMPA, fondamentali per la trasmissione glutamatergica e il rimodellamento sinaptico. La complessità di questo circuito deriva dal fatto che le diverse regioni cerebrali e le specifiche connessioni tra esse subiscono adattamenti molecolari e funzionali differenti, talvolta opposti, in risposta all'esposizione alle sostanze d'abuso. Comprendere tali modificazioni rappresenta uno degli obiettivi centrali della moderna ricerca neuroscientifica sulle dipendenze, con importanti implicazioni per lo sviluppo di interventi terapeutici mirati ai circuiti neurali patologicamente alterati. Molto di ciò che noi conosciamo riguardo le strutture dei circuiti della gratificazione, deriva dalle informazioni ricavate a partire dallo studio contestuale degli effetti delle droghe d'abuso sul nostro cervello. Grazie agli sviluppi della tecnologia negli ultimi anni, si è aperto un nuovo filone di studi basato sull'utilizzo di tecniche innovative optogenetiche e chemogenetiche che ci permette di capire più a fondo le varie sfaccettature delle dipendenze, come le ricadute e i fenomeni di *craving*. Gli strumenti optogenetici hanno quindi permesso di disaggregare questi circuiti, evidenziando come la dipendenza non derivi da un singolo sistema alterato, ma da una riorganizzazione complessa e multilivello della rete cortico-striatale e cortico- limbica.

Per capire a fondo il complesso mosaico che governa i circuiti del piacere e comprendere gli equilibri tra i neurotrasmettitori che mediano la sensazione di ricompensa ci si affida nell'uomo a studi basati su tecniche come la stimolazione magnetica transcranica ripetitiva e la stimolazione profonda del cervello. Sono attualmente in corso studi clinici che valutano la capacità della rTMS di ridurre *craving* e consumo di diverse sostanze d'abuso, tra cui alcol, cocaina, metanfetamina e tabacco (Gorelick et al.2014).

La maggior parte degli studi utilizza rTMS ad alta frequenza (10–20 Hz) applicata alla dlPFC con l'obiettivo di aumentare l'eccitabilità neuronale e l'attività corticale. Questa strategia deriva da dati sperimentali che mostrano come l'attività della corteccia prefrontale (PrL), omologa della PFC nei roditori, venga ridotta dall'uso cronico di cocaina e come la sua stimolazione optogenetica nella cavia, inibisca la ricerca compulsiva della sostanza (Fitzgerald et al.2006). Pertanto, si ipotizza che la rTMS della dlPFC possa aumentare l'attività corticale e migliorare il controllo cognitivo ed esecutivo nei soggetti dipendenti.

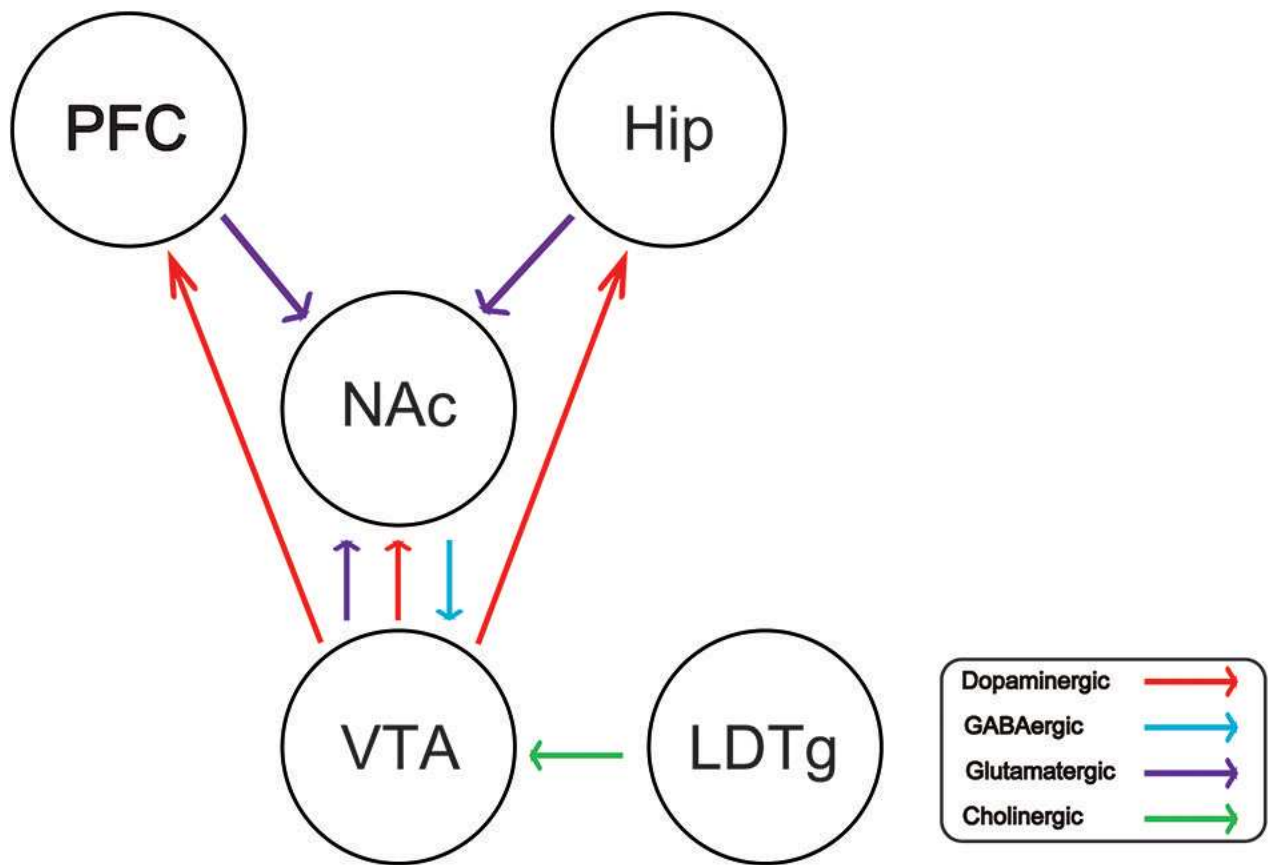


Immagine tratta da Wang et al.2019

Questa tecnica, definita “DBS ispirata otticamente” (“*optically inspired DBS*”), utilizza protocolli di stimolazione in grado di indurre depressione a lungo termine (*LTD*) delle sinapsi eccitatorie nel NAc, con l’obiettivo di invertire le modificazioni neuroplastiche indotte dalla cocaina. Tale stimolazione viene associata alla somministrazione di un antagonista del recettore D1 per bloccare gli effetti concorrenti mediati dal rilascio di dopamina, rendendo così evidenti gli effetti desiderati sulla plasticità glutamatergica. In modo significativo, questo approccio è risultato sufficiente sia a invertire le alterazioni della plasticità sinaptica indotte dalla cocaina sia a ridurre la sensibilizzazione locomotoria alla sostanza. (Cooper et al.2017)

5.2. Nuovi attori

5.2.1. Glia

Anzitutto occorre introdurre l'unità funzionale del sistema nervoso, i neuroni (più di 10^{11}), diversi per funzione e localizzazione, ma accomunati dalla medesima struttura morfologica: il soma che rappresenta il corpo principale, dove sono presenti gli organi deputati alla sintesi proteica. In una delle sue estremità troviamo l'assone, l'appendice primaria, il collegamento principale che permette il trasporto degli impulsi elettrici, la cui guaina mielinica, fondamentale per la corretta trasmissione dei segnali, è formata nel sistema nervoso centrale dagli oligodendrociti. La guaina mielinica se danneggiata, può condurre a gravi conseguenze a livello di propagazione degli input nervosi e quindi a patologie invalidanti, come la sclerosi multipla. Complementarmente in periferia, troviamo le cellule di *Schwann*, elementi che supportano e proteggono gli assoni, così come fanno gli oligodendrociti nel SNC. D'altra parte, invece, ci sono i dendriti, ovvero dei prolungamenti secondari che permettono un aumento generale della superficie dei contatti e la creazione di un network elaborativo con gli altri neuroni vicini;

Facenti parte della grande famiglia della glia, ovvero degli elementi non eccitabili del sistema nervoso, quindi non in grado di generare un potenziale d'azione utile per trasmettere informazioni, ma contraddistinti da una capacità rigenerativa e proliferativa unica, troviamo oltre agli oligodendrociti e alle cellule di *Schwann*, le cellule ependimali, le cellule satellite e gli astrociti, componenti importanti della barriera ematoencefalica. Oltre a loro risulta fondamentale la famiglia della microglia, costituita da cellule che richiamano i macrofagi specializzati nel mantenimento della corretta omeostasi chimica e fisiologica neurale. Le cellule microgliali, grazie alla loro attività fagocitaria, rappresenta un importante elemento per il corretto sviluppo delle attività neurali, tanto che sono considerate proprie del sistema nervoso, nonostante siano di derivazione mesodermica (ovvero originate dal midollo osseo) e non ectodermica.

Il ruolo della microglia, all'interno del processo di creazione delle dipendenze è stato a lungo relegato in secondo piano, i primi a occuparsene furono degli scienziati americani (Peterson et al. 1998) alla fine degli anni 90, con studi sugli effetti degli oppioidi sulle cellule gliali e quindi sulle conseguenze nei fenomeni di plasticità neuronale, successivamente vennero effettuati studi sulle cellule della microglia nelle zone cerebrali tipicamente associate ai fenomeni di dipendenza, ma non è ancora chiaro del tutto, se anche le cellule della microglia, più distanti dai siti d'interesse originali siano impattate dai cambiamenti operati nei circuiti principali.

Le mansioni fondamentali della microglia sono quelle di costituire la prima e principale difesa immunitaria nel SNC, e di essere correlate al controllo omeostatico dei neuroni circostanti, infatti, attraverso la captazione tramite recettori purinici dell'ATP, rilasciato durante le fasi di stress, la microglia secerne citochine proinfiammatorie, queste sostanze, oltre che a mediare la neuroinfiammazione potrebbero essere correlate all'origine di fenomeni di dipendenza, e partecipare all'attività neuronale che si osserva in concomitanza a periodi di astinenza conclamata. Le tecniche utilizzate per studiare più a fondo la microglia si rifanno tutte al mondo dell'omica, un ampio spettro di discipline biomolecolari, come la genomica, la proteomica, la trascrittomica e l'epigenomica, utilizzate per studiare il modo in cui vengono codificate le molecole essenziali per la costruzione delle cellule. Molte di queste tecniche sono state utilizzate per capire i meccanismi di impatto delle droghe che danno dipendenza. Partendo infatti dal sequenziamento dell'RNA cellulare, si possono analizzare i cambiamenti avvenuti in regioni specifiche del cervello a seguito del consumo massiccio di sostanze, con la finalità di scoprire l'impatto reale delle droghe nel rimodellamento dei circuiti neurali

Per citarne alcuni, possiamo osservare come gli approcci epigenomici, i quali si focalizzano sulla variabilità dell'accessibilità alla cromatina durante le fasi di trascrizione cellulare mostrano come la memoria delle esperienze pregresse con le sostanze, funga da promotore della alterata plasticità nervosa. Per quanto riguarda invece lo studio del trascrittoma e del traslatoma è stato possibile evidenziare quali siano gli mRNA attivamente in fase di traduzione.

Tuttavia, ci sono dei limiti anche per queste ricerche innovative, spesso infatti, i risultati ottenuti tramite queste tecniche, a causa di *bias* intrinseci alle modalità di conduzione degli studi, inerenti alla selezione del materiale cellulare, che viene estratto da pool di animali, quando invece sarebbe preferibile che provenisse da individui singoli, impedisce di stabilire una correlazione precisa tra i risultati omici e i comportamenti dei singoli animali. In secondo luogo, aumenta la probabilità che i contenuti cellulari possano reagire alle procedure di processamento del tessuto in modo tale da influenzare i risultati (Marsh et al 2022).

Per quanto riguarda gli effetti delle sostanze d'abuso, vale la pena citare l'alcol, che sappiamo essere tossico per l'organismo pressoché in qualsiasi dose e per qualsiasi cellula, tra cui in modo particolare ai neuroni. A livello delle cellule di sostegno nervose, diversi studi hanno rilevato serie conseguenze in seguito a uso continuativo di etanolo, alternato da periodi di astinenza: aumento nello stress del reticolo endoplasmatico (ER), non corretto ripiegamento delle proteine (UPR), aumento dei livelli di protooncogeni come Bcl2, infine, riduzione delle proteine coinvolte nella

risposta allo stress come le *heat shock proteins*. Inoltre, l'alcol modifica un grande numero di geni associati alle risposte neuro immuni, come i *Toll like receptor 2 (Tlr2)*, *l'Interferon Regulator Factor 3 (IF3)*, tali azioni possono esitare in effetti neurotossici legati alla neuroinfiammazione (Erickson et al.2019).

Spostandoci sugli oppioidi nella sperimentazione su animali da laboratorio, si delinea un arricchimento di geni correlati alla neuroinfiammazione e al dolore nelle fasi di astinenza più marcata: in studi fatti attraverso il sequenziamento di *bulk RNA*, sulle cellule microgliali isolate dopo 14 giorni di somministrazione di morfina, si nota infatti una maggiore espressione del recettore purinergico *P2RX4*, del *Trem2*, e della proteina fibrillare acida gliale *Gfap*, indicatore dell'attivazione delle cellule microgliali, notando anche alcune differenze sesso specifiche nei marcatori studiati. (Alstrohm et al 2023). In studi trascrittomici *post mortem* di soggetti umani dipendenti da oppioidi, sono stati analizzati i cambiamenti nella corteccia prefrontale e nel NAc: entrambe le regioni mostravano geni la cui espressione era modulata dalle alterazioni della matrice extracellulare, da variazioni di *signalling* TNF Alfa dal FNKB, oltre che dalle risposte da stress endoplasmatico. Tutto ciò riconduce a un'interpretazione in chiave meccanicistica, di tipo causa effetto tra la *down regulation* di alcuni geni del NAc (ad esempio *TNFRSF10B*, *BAALC.AS1*) opera degli oppioidi e la comparsa di comportamenti borderline o direttamente riconducibili a diversi disturbi psichiatrici. Un'ulteriore corroborazione di questa tesi è stata data dall'analisi di tessuti *post mortem* nella VTA e nella *substantia nigra* provenienti da 95 soggetti umani, grazie ai quali è stato possibile dedurre una correlazione tra l'utilizzo di oppioidi cronico e la sovra regolazione di geni gliali infiammatori. (Wei et al.2023)

Attraverso la combinazione di studi epigenetici e di trascrittomici, è stato osservato che la tolleranza agli oppioidi determinava una "*downregulation*" di alcuni geni intrinseci alla MPC. Questi studi di trascrittomici offrono una nuova chiave di interpretazione dei dati. Mentre, secondo una concezione classica, i cambiamenti operati nella microglia erano conseguenza diretta dell'attivazione dei recettori oppioidi, ora invece queste si possono considerare come indicatori della alterata attività di più circuiti neurali governati da diversi trasmettitori e neuromodulatori e da alterazioni dei processi di infiammazione e di angiogenesi nei tessuti coinvolti (Wang et al.2022). Si è passati cioè da una visione ristretta alle sole alterazioni neurotrasmettitoriali ad una concezione più ampia, che vede la "ristutturazione" e modulazione dell'intera struttura tessutale; osservazione che rende i fenomeni della dipendenza molto più incisivi sulla struttura e organizzazione complessiva dei nuclei encefalici.

5.2.2. Astrociti

Introduzione e Ruolo Fisiologico degli Astrociti

Tradizionalmente, gli astrociti sono stati considerati semplici cellule di supporto del sistema nervoso centrale (SNC), deputate principalmente al mantenimento dell'omeostasi ionica, al supporto trofico dei neuroni e alla conservazione della barriera emato-encefalica. Tuttavia, la neurobiologia moderna sta delineando con sempre maggiore chiarezza il loro ruolo attivo nella fisiologia cerebrale e nella trasmissione dei segnali nervosi.

Gli astrociti, infatti, reagiscono alla captazione dei neurotrasmettitori attraverso un aumento del flusso intracellulare di calcio. Questo meccanismo ne stimola l'attività esocitotica, portando alla produzione e al rilascio di gliotrasmettitori (quali glutammato, ATP e D-serina), veri e propri messaggeri chimici di origine gliale capaci di regolare direttamente la trasmissione e la plasticità sinaptica. La D-serina, in particolare, agisce in sinergia con il glutammato come cofattore essenziale per l'attivazione dei recettori NMDA; la sua assenza, infatti, è in grado di bloccare la transizione verso il potenziamento a lungo termine (LTP). Oltre al rilascio, queste cellule mediano la rimozione e l'inattivazione dei neurotrasmettitori (tra cui glutammato, norepinefrina, GABA e adenosina) una volta esaurito il loro input sinaptico.

Ruolo nello Sviluppo, nella Neurogenesi e nella Sinaptogenesi

Per comprendere appieno la rilevanza degli astrociti, è necessario analizzare la loro azione come catalizzatori durante le fasi di sviluppo del SNC. Essi secernono una vasta gamma di fattori neurotrofici che sostengono la crescita e la sopravvivenza neuronale, tra cui:

- Il BDNF (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*);
- L'EGF (*Epidermal Growth Factor*);
- L'FGF-2;
- La somatostatina.

Gli astrociti sono inoltre implicati nei processi di neurogenesi adulta: all'interno dell'ippocampo sono in grado di accelerare la proliferazione delle cellule staminali, guidandone il differenziamento verso il lineage neuronale (Song et al., 2008). Durante lo sviluppo assonale, esercitano un ruolo decisivo nella configurazione spaziale degli assoni stessi.

La sinaptogenesi si avvia immediatamente dopo la produzione e la completa maturazione degli astrociti: questi ultimi appicciano i neuroni immaturi permettendo loro di ricevere segnali codificati di tipo pro-sinaptico (come le trombospondine [TSP] e la proteina Hevin) o anti-sinaptico (come la proteina SPARC). Tali dinamiche sono fondamentali per la costituzione dei meccanismi di trasporto vescicolare. Nelle prime fasi, infatti, le sinapsi risultano attive solo a livello presinaptico, rimanendo silenziose dal punto di vista post-sinaptico a causa della mancanza di recettori AMPA. L'espressione e il corretto posizionamento di questi recettori – necessari a rendere la sinapsi pienamente attiva – avvengono solo in seguito all'intervento di ulteriori segnali pro-sinaptici, come i glipicani 4 e 6.

Un altro step cruciale nella plasticità strutturale è l'eliminazione (*pruning*) delle sinapsi indebolite o ridondanti. Gli astrociti fagocitano attivamente questi contatti in eccesso al fine di preservare l'omeostasi dei circuiti e garantire la massima efficienza del sistema. In questo scenario, il segnale presinaptico guidato da Hevin svolge un ruolo di primo piano, stabilizzando gli input provenienti dal talamo e impedendo la sovrastimolazione dei dendriti neuronali da parte della corteccia (Min et al., 2012). Nei modelli murini knock-out per il gene di Hevin, infatti, gli input corticali sovrannumerano quelli talamici, generando una coesistenza di molteplici segnali eccitatori che il sistema non riesce a codificare correttamente.

Omeostasi Metabolica e Accoppiamento Neurovascolare

Sul piano trofico e metabolico, gli astrociti orchestrano un complesso sistema intercellulare noto come accoppiamento neuro-glio-vascolare (*neuroglial vascular coupling*). L'astrocita si interpone strategicamente, mediante i suoi prolungamenti terminali (*end-feet*), tra i neuroni e le cellule endoteliali dei vasi sanguigni.

Quando l'attività neuronale determina un rilascio consistente di glutammato, gli astrociti attivano la captazione del glucosio ematico attraverso i trasportatori GLUT1. Mediante la glicolisi aerobica, il glucosio viene convertito in lattato, il quale viene poi secreto nello spazio extracellulare e trasportato all'interno dei neuroni grazie ai trasportatori dei monocarbossilati (MCT). A livello neuronale, il lattato viene successivamente ossidato a piruvato, substrato energetico primario impiegato per la sintesi di elevate quantità di adenosina trifosfato (ATP), indispensabili per soddisfare l'alto dispendio energetico del SNC.

Infine, il mantenimento dell'omeostasi idrosalina e ionica del microambiente cerebrale è garantito dall'espressione astrocitaria di specifici canali transmembrana e pompe fisiologiche, quali l'acquaporina 4 (AQP4), la pompa Na⁺/K⁺-ATPasi e i simporti Na⁺/K⁺/Cl⁻.

Gli Astrociti nei Meccanismi Neurobiologici delle Dipendenze

Mentre la letteratura scientifica si è storicamente concentrata sulla segnalazione dopaminergica neuronale all'interno del nucleo accumbens (NAc), gli effetti della dopamina sull'attività della glia e le relative ripercussioni sulla neurotrasmissione sono rimasti a lungo poco documentati. Oggi, tuttavia, la ricerca sta svelando il ruolo cruciale degli astrociti nello sviluppo e nel mantenimento delle dipendenze.

Un indicatore biologico cruciale dello stato astrocitario è la proteina fibrillare acida della glia (GFAP), la cui espressione viene significativamente sovraregolata in risposta a insulti biologici, eventi traumatici o stimoli tossici, tra cui il consumo di sostanze d'abuso (Bowers et al., 2003). In seguito all'esposizione (sia acuta che cronica) alla cocaina, si registra un forte incremento della GFAP nell'ippocampo. Tale aumento persiste persino dopo un periodo di *washout* (astinenza) di tre settimane, localizzandosi stabilmente nella corteccia prefrontale (PFC) e sia nel *core* che nello *shell* del NAc.

Parallelamente, l'esposizione cronica alle sostanze induce profonde modificazioni nella morfologia astrocitaria, alterandone le caratteristiche strutturali. Si osserva una marcata riduzione del volume cellulare e della lunghezza dei prolungamenti in aree cerebrali chiave, in particolare nella porzione dorsale dell'ippocampo e nel *core* del NAc. Questi rimodellamenti morfologici appaiono regione-specifici, poiché non si evidenziano variazioni significative nella corteccia prefrontale mediale (mPFC) o nell'amigdala. È interessante notare come gli effetti della nicotina inducano una risposta morfologica differente rispetto alla cocaina (Fattore et al., 2002; Aryal et al., 2021): l'esposizione a lungo termine alla nicotina determina infatti un'estensione dei prolungamenti e un aumento complessivo del volume cellulare astrocitario.

Disregolazione dell'Omeostasi Glutamatergica e Dopaminergica

Una delle principali risposte maladattive legate all'abuso di sostanze consiste nel grave danneggiamento dell'omeostasi glutamatergica, fenomeno che funge da fattore causale per i comportamenti di *drug-seeking* (la ricerca compulsiva della sostanza guidata da stress o stimoli contestuali).

Il corretto bilancio del glutammato nel NAc è governato principalmente da tre trasportatori astrocitari coordinati:

1. **GLT-1:** deputato alla clearance del glutammato e alla rimozione del Na⁺ in eccedenza nello spazio intersinaptico;
2. **xCT (Scambiatore Cisteina-Glutammato):** il trasportatore più influente, responsabile del rifornimento di circa il 60% del glutammato basale extracellulare nel NAc;
3. **mGluR2:** recettore autoregolatorio la cui attivazione dipende strettamente dal pool di glutammato modulato dallo scambiatore xCT.

L'iperstimolazione della trasmissione glutamatergica nel NAc accelera la transizione patologica verso la dipendenza e favorisce le ricadute comportamentali. L'esposizione cronica alle droghe riduce drasticamente l'espressione di GLT-1 e induce il ritiro dei PAP (*processi astrocitici perisinaptici*) dalle giunzioni sinaptiche. La conseguente perdita di confinamento provoca una massiva fuoriuscita (*spillover*) di glutammato nello spazio intersinaptico, cronicizzando lo stimolo eccitatorio.

Al contempo, le sostanze d'abuso esercitano una pressione costante sul sistema dopaminergico, mantenendolo persistentemente attivo. Gli astrociti del NAc rispondono a questa iperattivazione mediando una depressione sinaptica indotta dalla dopamina attraverso i recettori D1. L'attivazione di questi recettori aumenta il flusso di calcio intracellulare nella glia, spingendo gli astrociti a rilasciare ATP. L'ATP si lega ai recettori presinaptici deprimendo la trasmissione sinaptica; a livello fenotipico e comportamentale, questo blocco omeostatico si traduce in un progressivo aumento della ricerca dell'euforia indotta dalla sostanza, trasformando un consumo inizialmente passeggero in un'abitudine compulsiva e incontrollabile.

Recenti filoni di ricerca hanno gettato luce sul ruolo dell'astrocita come mediatore cruciale dei processi di apprendimento e memoria. Questa plasticità non si esprime solo in contesti fisiologici positivi, ma interviene direttamente nella formazione delle tracce mnestiche a lungo termine associate agli effetti gratificanti della droga e agli stimoli ambientali ad essa correlati. Evidenze sperimentali dimostrano che bloccando selettivamente il trasporto metabolico e informativo coordinato dagli astrociti verso i neuroni, viene destrutturato il substrato neurobiologico della memoria di ricompensa (Kang et al., 2020). L'interruzione di questo cross-talk cellulare attenua la forza del condizionamento della droga, riducendo significativamente la suscettibilità dell'individuo alle ricadute.

6. Ruolo dei recettori colinergici neuronali nei meccanismi di rinforzo e gratificazione cerebrale della nicotina

Il sistema mesolimbico di rilascio dopaminergico è il mediatore centrale dei comportamenti di rinforzo e ricompensa esercitati dalla nicotina, questa infatti stimola il *firing* dei neuroni della VTA, lesioni in quest'ultima e delle sue proiezioni nel NAc attenuano notevolmente sia l'autosomministrazione che le proprietà psicostimolanti della nicotina. Quest'ultima induce il rilascio di dopamina da terminali nervosi isolati (sinaptosomi) e aumenta la pressione eccitatoria glutamatergica nelle cellule della VTA (Mansvelder et al.2000). L'abilità della nicotina di potenziare la trasmissione glutamatergica verso i neuroni dopaminergici della VTA è stata ipotizzata essere la causa concomitante di una prolungata durata di rilascio di dopamina, che dura di più rispetto al rilascio usuale dai neuroni dopaminergici. (Mansvelder et al.2000)

I recettori nicotinici neuronali dell'acetilcolina (nAChRs) sono canali ionici regolati allostericamente e attivati da ligandi, costituiti da cinque subunità transmembrana. Appartengono alla superfamiglia dei recettori ionici pentamerici, detti anche recettori "*Cys-loop*", per la presenza di un residuo di cisteina nel dominio N-terminale. Nei mammiferi sono state clonate nove subunità α (da $\alpha 2$ a $\alpha 10$) e tre subunità β (da $\beta 2$ a $\beta 4$). (Wessler et al.2008)

I nAChRs neuronali sono formati da combinazioni di cinque subunità derivate da $\alpha 2$ – $\alpha 10$ e $\beta 2$ – $\beta 4$; di conseguenza, esistono numerosi sottotipi con diversa composizione e funzione. Il complesso recettore–canale è composto da cinque subunità polipeptidiche assemblate a rosetta attorno a un poro centrale. Diverse combinazioni di subunità producono molti sottotipi differenti di nAChR. La maggior parte dei recettori neuronali è costituita da eteropentameri formati da subunità α ($\alpha 2$ – $\alpha 6$) e β ($\beta 2$ – $\beta 4$), che condividono proprietà funzionali e farmacologiche simili. Un'altra classe è rappresentata dai recettori omopentamerici, costituiti da cinque subunità identiche, solo le subunità $\alpha 7$, $\alpha 8$ o $\alpha 9$ sono note per formare recettori omoooligomerici, e solo la $\alpha 7$ è ampiamente distribuita nel sistema nervoso centrale (SNC) dei mammiferi. (Zoli et al.2018)

Un sottotipo particolarmente rilevante è quello contenente la subunità $\alpha 7$, che presenta cinetiche rapide di attivazione e desensibilizzazione ed è specificamente inibito dalla α -bungarotossina (α -BTX) e da basse concentrazioni di metacolina (MLA) (Pidoplichko et al.2004). Sebbene questi recettori si desensibilizzino rapidamente per mezzo di alte concentrazioni di agonista (come 500 μ M di ACh o nicotina), mostrano una minore affinità per la nicotina e quindi non risultano significativamente desensibilizzati dalle basse concentrazioni derivanti dal tabacco. (Quick et

al.2002) Nonostante il contributo alla plasticità dipendente dalla nicotina nella VTA, il knockout della subunità $\alpha 7$ nei topi non influisce sulla preferenza di luogo né sull'acquisizione dell'auto-somministrazione (Pons et al. 2008). Tuttavia, l'antagonismo dei nAChR $\alpha 7$ nel NAc o nella corteccia cingolata anteriore nel ratto aumenta la motivazione all'auto-somministrazione di nicotina, mentre l'infusione di un agonista selettivo $\alpha 7$ la riduce (Brunzell e McIntosh 2012). I nAChR $\alpha 7$ potrebbero quindi modulare, piuttosto che mediare direttamente, il rinforzo della nicotina, e perciò gli effetti del loro knockout risultano più sottili rispetto a quelli osservati quando si opera sulla subunità $\beta 2$ (Castro et al.1995).

I sottotipi recettoriali predominanti nel cervello dei mammiferi sono quelli contenenti le subunità $\alpha 4$ e $\beta 2$ ($\alpha 4\beta 2$), che mediano molti dei comportamenti associati alla dipendenza da nicotina e rappresentano i principali bersagli dei farmaci per la cessazione del fumo. Le correnti nicotiniche predominanti nei neuroni dell'area tegmentale ventrale (VTA) e della *substantia nigra pars compacta* (SNc) presentano cinetiche lente e sono sensibili all'inibitore selettivo per $\beta 2$, la diidro- β -eritroidina (DHE) (Picciotto et al.1998). Ciò indica che la maggior parte delle correnti nicotiniche nel mesencefalo è mediata da recettori contenenti $\beta 2$, spesso in combinazione con $\alpha 4$, $\alpha 6$ e $\beta 3$ (Klinko et al.2001). Studi elettrofisiologici hanno dimostrato che i nAChR contenenti la subunità $\beta 2$ sono essenziali per la capacità della nicotina di depolarizzare i neuroni DA nella VTA e aumentarne la frequenza di scarica (Picciotto et al. 1998). Sebbene le correnti entranti predominanti indotte dalla nicotina in questi neuroni coinvolgano i nAChR $\beta 2$, la nicotina può anche modulare l'input presinaptico ai neuroni DA proveniente da terminali GABAergici e glutamatergici. A conferma del loro ruolo, studi su roditori hanno mostrato che il *knockout* della subunità $\beta 2$ abolisce il rilascio di dopamina mediato dalla nicotina, l'attivazione locomotoria indotta dalla nicotina l'auto-somministrazione di nicotina e la preferenza di luogo (Brunzell et al. 2009). Analogamente, la perdita della subunità $\alpha 4$ compromette l'auto-somministrazione, mentre versioni ipersensibili delle subunità $\alpha 4$ o $\alpha 6$ aumentano la risposta alla nicotina anche a basse dosi. Nel *nucleus accumbens*, i recettori $\alpha 4$ e $\alpha 6$ cooperano nel modulare la trasmissione dopaminergica, contribuendo alla motivazione e al rinforzo, dove anche la subunità $\alpha 6$ gioca un ruolo rilevante: la sua assenza impedisce l'acquisizione dell'auto-somministrazione, e il blocco farmacologico dei recettori $\alpha 6/\beta 2$ riduce la motivazione per la nicotina. Tuttavia, i risultati indicano che $\alpha 4$ e $\alpha 6$ possono avere ruoli parzialmente distinti a seconda del circuito e del contesto sperimentale. Nel *nucleus accumbens*, i recettori $\alpha 4$ e $\alpha 6$ cooperano nel modulare la trasmissione dopaminergica, contribuendo alla motivazione e al rinforzo, i recettori $\alpha 7$, invece, svolgono un ruolo più modulatore: non sono essenziali per il rinforzo primario, ma influenzano la motivazione e la plasticità. (Maskos et al. 2005).

Oltre al rinforzo primario, i recettori $\alpha 4\beta 2$ contribuiscono anche al “potenziamento del rinforzo”, cioè alla capacità della nicotina di aumentare il valore di altri stimoli gratificanti. Questo fenomeno è rilevante anche clinicamente: la vareniclina, un agonista parziale $\alpha 4\beta 2$, sfrutta proprio questo meccanismo per aiutare nella cessazione del fumo. Inoltre, la nicotina può aumentare la piacevolezza di stimoli come i sapori dolci, contribuendo alla diffusione dei prodotti aromatizzati. (Albuquerque et al.1997).

Il principale agonista endogeno dei nAChRs è l’acetilcolina (ACh), mentre la nicotina agisce come agonista esogeno. Il legame dell’agonista induce l’apertura transitoria del canale ionico, permettendo un flusso intracellulare di cationi Ca^{2+} e Na^{+} , che alterano il potenziale di membrana, a cui segue un’apertura ulteriore dei gate del Ca a dipendenza di voltaggio (CAV), causando una depolarizzazione. Il canale successivamente può andare incontro a 2 destini diversi: o entrare in una fase di riposo (chiuso ma responsivo) oppure entrare in uno stato desensibilizzato, non responsivo agli agonisti, soprattutto in caso di esposizione prolungata (Dani et al.2015).

La velocità di attivazione, la corrente ionica, i processi di desensibilizzazione e recupero, e la risposta farmacologica dipendono dalla composizione delle subunità e da fattori locali, come ad esempio i recettori $\alpha 7$, che hanno maggiore permeabilità al calcio e cinetiche più rapide rispetto ai recettori formati da altre subunità (Bertrand et al.2018). Nell’analizzare la funzione dei nAChR e gli effetti del fumo, è importante considerare che la probabilità che un recettore si trovi in un determinato stato conformazionale dipende dalla concentrazione dell’agonista e dalla velocità di esposizione. A livello sinaptico nel SNC (circa 1 μm di diametro), l’acetilcolina viene rilasciata dal terminale presinaptico a una concentrazione di circa 1 mM per pochi millisecondi prima di essere idrolizzata dall’acetilcolinesterasi. Questo impulso rapido provoca un’attivazione sincronizzata dei recettori vicini con poca o nessuna desensibilizzazione. La nicotina invece proveniente dal tabacco arriva molto più lentamente, a una concentrazione pari o inferiore a circa 0,1 mM, e permane più a lungo, anche perché non viene degradata dall’acetilcolinesterasi, questa esposizione prolungata a basse concentrazioni favorisce la desensibilizzazione. Difatti, un’applicazione lenta di una bassa concentrazione di agonista può causare desensibilizzazione anche senza attivazione, poiché lo stato desensibilizzato del recettore ha una maggiore affinità per l’agonista rispetto agli stati di riposo o aperto. L’elevata affinità del recettore desensibilizzato e la distribuzione variabile dei nAChR tra i diversi stati funzionali sono fattori cruciali per comprendere ciò che accade durante l’uso prolungato di nicotina. I recettori nicotinici possono trovarsi sulla superficie cellulare in forma non funzionale oppure entrare in stati desensibilizzati di lunga durata. La comprensione di queste forme di desensibilizzazione a lungo termine è particolarmente importante per spiegare le fasi dei sintomi

di astinenza e lo sviluppo della tolleranza alla nicotina. Alcuni aspetti della tolleranza e dell'astinenza possono essere spiegati dal lento recupero dei nAChR verso stati funzionali a partire da vari stati desensibilizzati non funzionali. (Nataran et al.2020) Questi recettori sono espressi sia nei tessuti neuronali, dove modulano il rilascio di neurotrasmettitori come dopamina, serotonina, adrenalina e noradrenalina, sia in tessuti non neuronali (epiteliali, endoteliali e immunitari), dove regolano processi come proliferazione cellulare, immunità e infiammazione. Possono inoltre contribuire allo sviluppo tumorale attraverso l'attivazione di vie di segnalazione intracellulari (PKC, AKT, ERK) o il rilascio di fattori pro-angiogenici come EGF e VEGF. (Zoli et al.2015)

La desensibilizzazione prolungata e la presenza di recettori non funzionali sono aspetti cruciali per comprendere i fenomeni di tolleranza e astinenza da nicotina. Il recupero lento dei recettori da stati desensibilizzati contribuisce infatti alle diverse fasi della dipendenza. Sebbene la maggior parte delle ricerche sulla VTA si sia concentrata sui neuroni dopaminergici, è ormai chiaro che questa struttura è eterogenea e comprende anche neuroni GABAergici e glutamatergici (Yamaguchi et al.2015). I nAChR $\beta 2$ sono espressi, in misura variabile, su tutti questi sottotipi neuronali. Il ruolo del glutammato e del GABA nel rinforzo della nicotina è noto da tempo, ma studi più recenti hanno analizzato come gli effetti della nicotina sulle diverse popolazioni neuronali della VTA cooperino nel produrre il rinforzo. Ad esempio, la riespressione dei nAChR $\beta 2$ nei soli neuroni dopaminergici o GABAergici non è sufficiente a ripristinare l'auto-somministrazione; tuttavia, la loro riespressione in entrambi i tipi neuronali ripristina il *firing* a raffica dei neuroni dopaminergici e consente una rapida acquisizione del comportamento di auto-somministrazione intra-VTA. Un altro studio ha invece mostrato che l'espressione dei nAChR $\beta 2$ solo nei neuroni GABAergici della VTA può essere sufficiente per la ricompensa da nicotina (Grieder et al.2019). Le differenze tra questi risultati potrebbero dipendere dai diversi paradigmi sperimentali utilizzati. I neuroni GABAergici della VTA, tradizionalmente considerati interneuroni inibitori locali, regolano l'attività dei neuroni dopaminergici. A basse dosi, la nicotina può inibire specifici neuroni GABAergici, causando una disinibizione dei neuroni dopaminergici e contribuendo così alla ricompensa. (Yan et al.2019) Tuttavia, alcuni neuroni GABAergici proiettano anche verso regioni come il pallido ventrale (VP), coinvolto nei circuiti della ricompensa (Taylor et al.2014), e possono influenzare apprendimento, motivazione e risposta alla ricompensa. Anche i neuroni glutamatergici della VTA svolgono un ruolo importante. Essi formano connessioni sia all'interno della VTA sia con altre regioni come il NAc. Alcuni di questi neuroni possono rilasciare sia glutammato sia dopamina. Studi genetici mostrano che il segnale glutamatergico dalla VTA al NAc, anche indipendentemente dalla dopamina, è sufficiente per il rinforzo positivo. (Zell et al.2020)

Tuttavia, la segnalazione glutamatergica mediata dalla nicotina nella VTA è complessa: la nicotina può sia potenziare sia ridurre le correnti eccitatorie, suggerendo un effetto bidirezionale su questi circuiti. Inoltre, alcuni neuroni della VTA sono in grado di rilasciare sia GABA sia glutammato, contribuendo sia a segnali di ricompensa sia a segnali avversivi. (Root et al.2018) Infine, circuiti che coinvolgono strutture come l'abenula laterale (LHb) e il nucleo tegmentale rostromediale (RMTg) indicano che la nicotina può modulare non solo gli effetti gratificanti ma anche quelli avversivi, attraverso meccanismi che coinvolgono il rilascio di glutammato mediato da nAChR $\alpha 7$ presinaptici (Castillo et al.2021).Nel complesso, questi studi suggeriscono che i neuroni glutamatergici e GABAergici della VTA, insieme ai neuroni dopaminergici, contribuiscono in modo integrato sia agli effetti gratificanti sia a quelli avversivi della nicotina. (Kim et al.2023)

7. Terapie di contrasto all'abitudine del fumo

7.1. Terapie farmacologiche

Le principali terapie farmacologiche riconosciute per il trattamento della dipendenza da nicotina sfruttano il meccanismo farmacodinamico della competizione per i recettori acetilcolinergici della nicotina, andando a rimpiazzare completamente o parzialmente la nicotina che normalmente si lega ad essi, oppure utilizzando la nicotina stessa, ma in quantità minori e con una via di somministrazione diversa, che porta meno effetti collaterali a livello cardiovascolare e polmonare rispetto all'inalazione dei fumi tossici e dei numerosissimi carcinogeni contenuti nelle sigarette tradizionali. A livello dei circuiti di ricompensa si alleggerisce il carico di dopamina, diminuendo i fattori di rinforzo e favorendo l'inibizione dei fattori di *craving*.

Ai precedenti metodi farmacologici di disassuefazione dal fumo in molti casi è ritenuto utile associare un percorso clinico di terapia, che può essere di 2 tipi, cioè individuale o di gruppo (la terapia combinata si dimostra progressivamente sempre più efficace) e va sempre gestita, a livello specialistico, da uno dei circa 400 CTT (centri per il trattamento del tabagismo) presenti sul suolo italiano. In questa terapia coadiuvante si affronta il tabagismo come una dipendenza vera e propria, e le sessioni si articolano in un programma di cura, distribuito mediamente in 10 incontri, che può prevedere follow up individuali per una maggiore attenzione al percorso di ognuno, unito a terapie di gruppo, dove l'interazione e il sostegno reciproco con membri della stessa comunità aumentano la probabilità di successo (senza contare il rapporto molto favorevole costo/beneficio), accompagnando il paziente fino alla cessazione stabilizzata.

Tra gli strumenti farmacologici di seguito descritti, il primo metodo consiste nella *Nicotine Replacement Therapy* (NRT), cioè la terapia di sostituzione della nicotina, questa viene eseguita tramite la somministrazione (e la possibile associazione) di nicotina esogena, mediante patches (cerotti transdermici a lento rilascio), inalatori (che presentano il vantaggio di conservare la gestualità mano bocca tanto cara ai tabagisti), spray orali, e gomme masticabili medicate con diversi possibili dosaggi di nicotina. Solitamente la durata della terapia è di 12 settimane, ma si può proseguire fino a quando il paziente ritiene che siano minime le possibilità di ricadute, d'altronde se l'alternativa è rappresentata dal ricominciare a fumare, i rischi e i possibili effetti collaterali della NRT saranno sempre minori della condizione originale.

L'obiettivo della terapia sostitutiva dal punto di vista farmacodinamico è quello di continuare a stimolare i recettori colinergici, così da rimuovere con effetto immediato il *craving* e ridurre al minimo i sintomi dell'astinenza, quali ansia, irritazione, disforia, difficoltà nella concentrazione ed aumento di appetito; e contemporaneamente garantire una diminuzione del numero dei recettori nicotinici colinergici (precedentemente aumentati di numero dalle alte dosi di nicotina assunte tramite l'inalazione del fumo di sigaretta), questo effetto invece viene raggiunto progressivamente, nell'arco di più settimane. Dal punto di vista farmacocinetico, invece la terapia garantisce effetti positivi sui sintomi da astinenza grazie a un assorbimento più lento, con picchi più bassi ma di lunghezza maggiore, quindi una concentrazione plasmatica più uniforme. Ogni strumento di sostituzione a livello clinico ha dimostrato la stessa efficienza nel raggiungere la cessazione dal fumo, inoltre la politerapia con l'associazione di due dei metodi risulta essere superiore rispetto al trattamento con una singola terapia. Ad esempio, nel caso del cerotto, si garantisce un apporto basale di nicotina, con uno spray piuttosto che una gomma, i quali danno una maggiore rapidità di assorbimento, garantendo una riduzione dei sintomi da astinenza più rapida. Bisogna però adottare cautela nel modo di assunzione degli spray, i quali, garantendo un assorbimento più rapido, se abusati, potrebbero causare dei picchi di concentrazione nicotinicica più alti di quelli delle sigarette stesse, determinando così, un rallentamento del processo di guarigione, se non direttamente una regressione del percorso. In aggiunta bisogna ricordare sempre ai pazienti, che per essere assorbita dalle mucose orali, la nicotina ha bisogno di un pH neutro; pertanto, ci si deve astenere dal consumo di cibi acidi e di bibite gasate, nei 15 minuti precedenti all'assunzione della NRT. Osserviamo nel dettaglio le diverse modalità di assunzione proposte con i loro pro e contro.

Gomme con la nicotina: i pazienti che fumano regolarmente più di 25 sigarette al giorno devono procedere con il dosaggio da 4 mg per giorno, mentre i fumatori meno incalliti possono iniziare con 2 mg, il prodotto va masticato fino a che non compare una sensazione di formicolio, a quel punto la

gomma va spostata sulla parete della cavità orale finché il pizzicore non sparisce, dopodiché ricominciare a masticarla, ripetendo il ciclo per circa 30 minuti, con questo metodo si riesce inoltre a bloccare fisicamente l'atto di porsi la sigaretta alla bocca, dato che si sta già masticando qualcosa che impegna molto la praticabilità della via orale, l'unico limite è rappresentato dai pazienti più che utilizzano protesi dentarie come nel caso di anziani, o coloro che hanno messo impianti.

Patch transdermica NRT: si applica un cerotto ogni mattina (anche per mesi) sulla pelle pulita e asciutta, facile da usare, veloce e con pochi effetti collaterali, l'unico tecnicismo che potrebbe causare dubbi riguarda il dosaggio: per i fumatori da 10 o più sigarette al giorno, cominciare con 21 mg al giorno per 4 settimane, per poi diminuire di 7 mg ogni 4 settimane, per gli altri fumatori invece è raccomandato cominciare con 14 mg per le prime settimane e poi diminuire in maniera analoga ai primi.

Spray nasale NRT: rappresenta la via di somministrazione con il miglior assorbimento tra gli NRT, quindi permette una rapida scomparsa dei sintomi d'astinenza, occorre ricordare però delle conseguenze negative precedentemente menzionate, date dall'aumentata biodisponibilità della nicotina, pertanto va monitorato l'utilizzo e non vanno eccedute i dosaggi raccomandati: uno spruzzo per narice (equivalente a 0,5 mg) ogni 2 ore, fino a un massimo di 40 spruzzi totali al giorno, tuttavia, dato il percorso che segue per venire assorbito, possono sorgere delle problematiche orofaringee legate al suo utilizzo: tra le reazioni avverse segnalate troviamo riniti, starnuti, tosse e lacrimazione eccessiva.

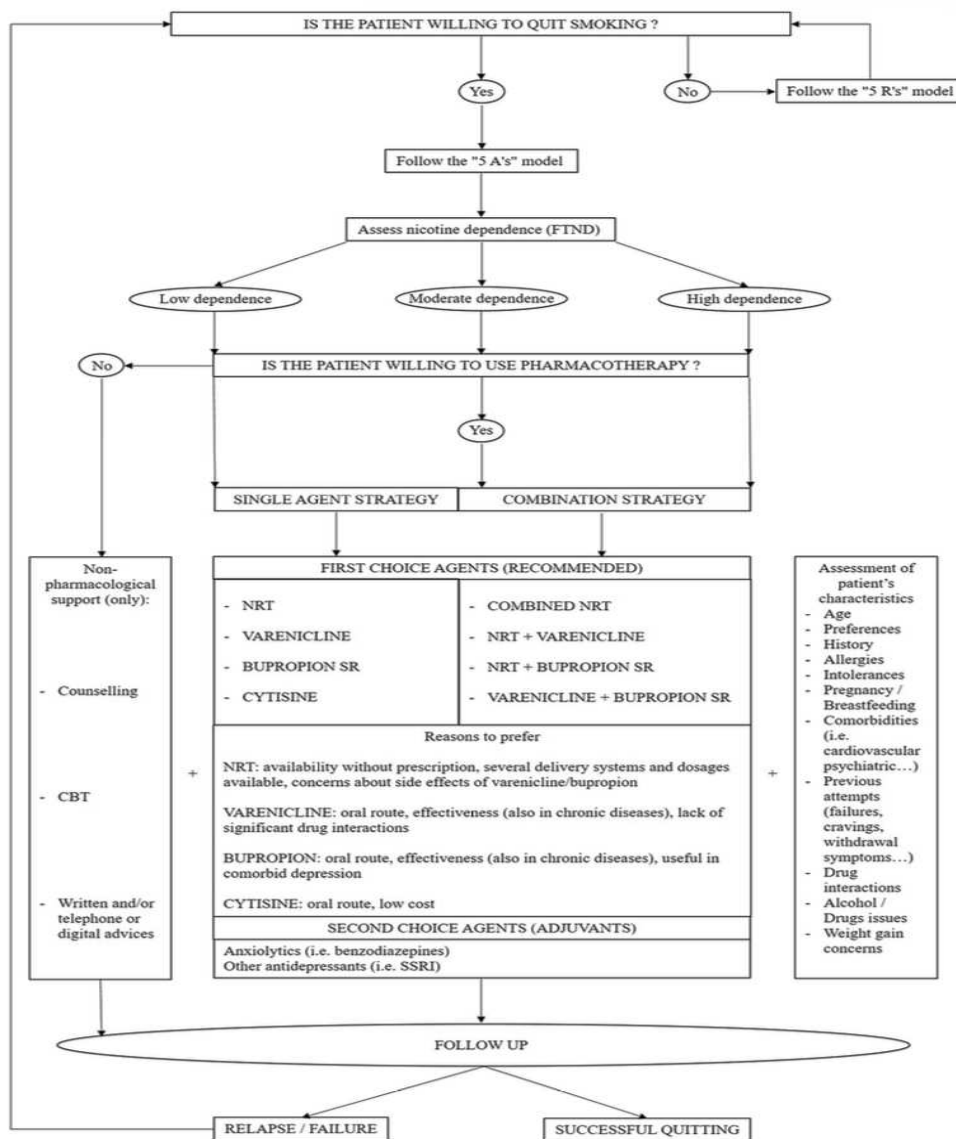
Inalatore orale NRT: anche in questo caso si possono registrare irritazioni delle mucose orali, con conseguenti broncospasmi, soprattutto se si inala a lungo e profondamente (come si suole fare con i dispositivi HnB elettronici); la dose consigliata è di 1 cartuccia ogni 2h, con il limite massimo segnalato a 16 cartucce per giorno; infatti, ognuna di queste contiene al suo interno 4 mg di nicotina, consumabili mediante 80 inalazioni.

In generale, come abbiamo precedentemente notato, gli effetti collaterali e le possibili reazioni avverse della NRT, non saranno mai paragonabili a quelli che dà il prolungamento della dipendenza da tabacco, seppur minori, però, rimangono da tenere in considerazione, infatti tra quelli più comuni troviamo: sintomi gastrointestinali come nausea, dolori addominali, vomito e diarrea, oltre che i classici giramenti di testa e confusione; questi ultimi, più che essere dovuti agli NRT in sé, spesso sono i primi sintomi derivanti dall'efficacia della terapia: si ha cessato di fumare e sta iniziando il periodo di astinenza, che irrimediabilmente porterà con sé anche delle conseguenze psicofisiche. Oltre ai precedenti sintomi fisici descritti, potrebbe esserci anche una manifestazione di sintomi

tipicamente associata alla depressione, i quali non sono da considerare come effetti collaterali della terapia in sé, quanto sintomi preesistenti di una condizione latente, che fino ad allora erano stati mascherati dal meccanismo dopaminergico innescato dalla nicotina. Abbiamo già menzionato come l'associazione tra patch e altri metodi NRT possa garantire risultati maggiori rispetto alla terapia singola, lo stesso principio si può utilizzare per adottare la polifarmacoterapia degli NRT con le altre due classi principali di farmaci utilizzate nel contrastare il tabagismo: la combinazione con vareniclina e bupropione diminuisce infatti la possibilità di ricadute e ottiene a livello clinico una percentuale maggiore di successi.

Tabella n.2

La tabella offre uno schema riassuntivo della terapia combinata (tratta da Giulietti et al. 2020).



CBT: cognitive behavioral therapy; FTND: Fagerström test for nicotine dependence; NRT: nicotine replacement therapy; SR: sustained release; SSRI: selective serotonin reuptake inhibitors

Vareniclina

È un agonista parziale selettivo per i recettori nicotinici colinergici Alfa4Beta2, il quale produce un'attivazione dei neuroni dopaminergici in seguito al legame del ligando, a cui si lega però con una potenza dimezzata rispetto a quella della nicotina, della quale non riproduce l'effetto rinforzante primario caratteristico (Schassburger et al.2015). In questo modo il farmaco riesce ad alleviare i sintomi dell'astinenza tramite la sua attività di agonista, e simultaneamente agisce da antagonista, impedendo il legame del recettore con la nicotina, andando quindi a indebolire il fenomeno di rinforzo della dipendenza a livello dei circuiti mesolimbici.

Per quanto concerne l'assunzione del principio attivo, il farmaco in genere si presenta in compresse da 0,5 mg, si raccomanda di accompagnarle con un pasto e un bicchiere d'acqua per minimizzare gli effetti collaterali di nausea, con una posologia crescente: 1 compressa al giorno la mattina per i primi 3 giorni, poi 2 compresse a distanza di 12h dal quarto al settimo giorno, e dal giorno successivo, assicurandosi di aver cessato definitivamente di fumare, raddoppio della dose sia al mattino che alla sera, fino alla fine dei 6 mesi di trattamento. Il tempo entro cui smettere di fumare e passare al regime di "solo farmaco" è prefissato, ma flessibile e può essere esteso fino a tre mesi.

Analizzando le possibili reazioni avverse date dall'uso regolare del farmaco, si evidenzia subito come non debba venir somministrato a minori o donne in fase di gravidanza o allattamento, inoltre, vengono applicate limitazioni, ovvero il dimezzamento della dose, anche a soggetti che presentano gravi malattie renali (come una VFG minore di 30) o a coloro che manifestano disturbi nell'architettura del sonno, come sogni lucidi, a cui viene consigliato di prendere solo la dose della mattina.

I sintomi legati agli effetti collaterali a livello centrale generalmente si protraggono per il primo mese, successivamente diminuiscono, nonostante ciò, negli anni che seguirono l'autorizzazione al commercio di questo farmaco, diversi studi si concentrarono sul legame tra l'assunzione di questo e la comparsa di possibili reazioni avverse di tipo psichiatrico, quali depressione e istigazione di pensieri suicidi, queste però vennero presto smentite. (McClure et al.2010)

Invece per coloro che desiderano smettere di fumare per ottenere benefici a livello cardiovascolare, questa medicina risulta più che adeguata nei soggetti con patologie croniche a carico dell'apparato cardiovascolare, in quanto diversi studi hanno verificato la sicurezza del farmaco quando i parametri del paziente sono stabili.

Bupropione

Come molti antidepressivi, il meccanismo con cui il bupropione esercita la sua azione farmacologica non è ancora del tutto chiaro, è possibile che il suo effetto si espliciti mediante l'inibizione del reuptake della dopamina, quindi prolungando il tempo di residenza del neurotrasmettitore nella fessura sinaptica, lasciandolo agire per più tempo sui recettori. Il suo meccanismo di antagonismo spiega i suoi effetti anti *craving*, e l'attenuamento dei sintomi negativi tipici dell'astinenza, tra cui l'aumento di peso e la possibilità di incorrere in fenomeni depressivi nel caso dei fumatori assidui.

La posologia indicata è di 150 milligrammi per compressa due volte al giorno, per un periodo al massimo di 6 mesi, che può essere esteso di ulteriori 9 settimane, al dosaggio massimo appunto di 300 milligrammi. Quest'ultimo può essere dimezzato nel caso di possibili reazioni avverse, la più frequente è l'insonnia, la quale potrebbe essere controllata prendendo la prima dose la mattina presto e la seconda nel tardo pomeriggio, non la sera, ma almeno quattro ore prima di andare a dormire. Gli altri effetti collaterali possibili riguardano il presentarsi di xerostomia, mal di testa, cefalee e la possibilità, seppur rara ovvero una su 1000, di provocare convulsioni, la cui comparsa viene esacerbata dalla presenza di fattori di rischio preesistenti quali malformazioni arteriose, malattie cerebrali o l'uso concomitante di antipsicotici.

Pertanto, non è indicato l'uso del farmaco in soggetti con storia pregressa di convulsioni, epilessia, neoplasie cerebrali, bulimia o anoressia, donne in gravidanza o in allattamento, e da coloro che simultaneamente si stanno disintossicando dall'abuso di alcol o benzodiazepine. Il bupropione dovrebbe essere iniziato prima dell'ultimo giorno selezionato dal paziente e dal *counselor* come giorno finale per la cessazione del fumo. Infatti, la scelta di tale data è flessibile, grazie alle caratteristiche farmacocinetiche/ farmacodinamiche del bupropione e alla dinamica dei suoi effetti.

Ansiolitici e antidepressivi

Essendo che, a detta di molti fumatori, il fumo è utilizzato come strumento per gestione dello stress, non sorprende il fatto che molti ansiolitici, come per esempio le benzodiazepine, a basso dosaggio, come l'alprazolam possono essere viste come un alleato utile per gestire i sintomi dell'astinenza, come l'agitazione psicomotoria, l'insonnia, l'ansietà, l'irritabilità. Tra queste sostanze i più sicuri ed efficaci sono gli inibitori del reuptake serotoninergico SSRI, come sertralina ed escitalopram, oltre che antidepressivi atipici come la mirtazapina; seppur ci siano molte altre sostanze di questo tipo, classificate come di 2^a linea utilizzabili come possibili coadiuvanti alla terapia principale, qui di seguito non saranno trattate. Vale la pena ricordare che il bupropione stesso ha effetto

antidepressivo e quindi l'aggiunta di una seconda molecola con tali proprietà va considerata con cautela e monitorata con attenzione.

Citisina:

Dal punto di vista chimico rientra nella classe chimica delle chinolizidine, facenti parte della famiglia degli alcaloidi naturali, così come la nicotina. Seppur la sua struttura venne identificata e descritta per la prima volta all'inizio dello scorso secolo (H.H.Dale et al.1912), già allora si capirono gli effetti sui gangli e il meccanismo di competizione con la nicotina, sebbene le attività curative, tossiche e ricreative di questa sostanza fossero già note migliaia di anni fa da antichi popoli indoeuropei, (Tzankova et al.2007) che utilizzavano i semi delle piante, da cui si può estrarre il principio attivo (*Cytisus laburnum*= maggiociondolo e *Sophora flavescens*) durante riti di iniziazione (ad alti dosi allucinogeno). La citisina è stata poi utilizzata anche secoli più tardi, nel medioevo ellenistico, tanto che il nome deriva dal greco “*Kytsios*”, trifoglio diffuso nell'isola eponima delle Cicladi. I greci coltivavano queste piante anche per via della loro bellezza, seppur gran parte del principio non si concentrasse nei fiori gialli oro, ma bensì nei semi (3%).

Una volta estratta la citisina si presenta come una polvere biancastra, amara, inodore e poco solubile sia in acqua che in solventi organici agisce come agonista parziale gangliare a livello farmacodinamico, competendo con gli agonisti nicotinici, e legandosi al recettore colinergico nicotinico grazie alla maggiore affinità, specialmente per il sottotipo alfa4beta2 dei nAChR (7 volte superiore), inibendo parzialmente il legame della nicotina con i recettori, cruciali nel mediare l'effetto gratificante della dopamina. L'effetto netto della citisina si estende dall'aumento limitato dei livelli di dopamina nel sistema mesolimbico, così da attenuare i sintomi da sindrome di astinenza, fino alla riduzione al minimo degli effetti della dipendenza da nicotina, bloccando gli effetti di rinforzo dalla nicotina. Infatti, la doppia azione di agonista parziale produce un effetto sul recettore inferiore rispetto agli agonisti completi come la nicotina, prevenendo la piena attivazione che porta a un rinforzo consistente, e contemporaneamente preclude la nicotina dall'espletare la sua funzione. Per quanto riguarda la farmacocinetica invece, studi sulla sua somministrazione nell'uomo hanno osservato come la biodisponibilità risulti elevata (90% nelle urine dopo 24h, indice di ottimo assorbimento) e passa rapidamente in circolo, il picco della concentrazione plasmatica viene raggiunto in meno di un ora, la clearance renale indica di osservare un metabolismo minimo, quasi nullo, l'emivita plasmatica è di circa 5 ore, e l'assorbimento non è influenzato dalla concomitante assunzione di cibo.

Meta analisi e diversi *randomized clinical trials* (RCT), hanno dimostrato la superiorità della citisina rispetto agli standard di terapia attualmente disponibili nella cessazione attiva del fumare e nel controllo della comparsa di fenomeni di astinenza: sicuramente è più efficace del placebo (Rungruanghiranya et al.2024), per l'astinenza prolungata (+90 giorni) è risultata più determinante della NRT (Leaviss et al.2014), nel garantire l'effetto di disassuefazione; mentre restano ancora dubbi sul confronto con la vareniclina, seppur dal lato clinico sembrano manifestare la stessa efficacia. Dal lato di sicurezza e rapporto prezzo/beneficio, sembrerebbe emergere vincitrice nuovamente la citisina, da qui l'utilità nelle economie dei paesi a basso/medio reddito, ma il verdetto finale ancora non si può raggiungere. La quantità di segnalazioni avverse dichiarate in merito agli effetti collaterali della citisina è esigua rispetto a quelle numerose della vareniclina (Tutka et al.2019).

Dal punto di vista clinico, i primi studi vennero svolti nell'URSS, per studiare il suo effetto come stimolante respiratorio. Poco dopo venne commercializzata come farmaco da banco, per il suo uso attuale, in gran parte degli stati dell'odierna Europa orientale. Grazie al basso costo della materia prima e alla facile accessibilità, venne utilizzata nelle terapie di cessazione dell'abitudine del fumo, abbinata all'assistenza di centri anti-dipendenza e gruppi di supporto psicologico. Il farmaco ha ottenuto discreti successi soprattutto in Bulgaria e Polonia.

Recentemente, l'interesse collettivo della popolazione italiana nei confronti di questo farmaco è nettamente aumentato, sia perché le prime terapie sono risultate efficaci già dal 2015, sia perché, se prescritto da un medico che segue la dipendenza, di un centro anti fumo riconosciuto dallo stato, seguendo l'attuale regime terapeutico dei 25 giorni, può essere rimborsato dal sistema sanitario nazionale, quindi non più a carico del paziente come accadeva prima, quando si soleva ricorrere all'allestimento di preparazioni galeniche.

La terapia dei 25 giorni ufficialmente riconosciuta dallo stato è quella internazionale secondo cui si deve seguire un rigido sistema di dispensazione: secondo il protocollo standard, la dose raccomandata iniziale è di 1 cp (1.5 mg) di citisina ogni 2 ore, assumendo un totale di 6 cp /die nei primi 3 giorni di trattamento. Al paziente viene richiesto di ridurre progressivamente il numero delle sigarette fumate. Se viene raggiunto un buon effetto sul *craving* e sulla riduzione dei sintomi astinenziali, il paziente prosegue la terapia assumendo a seguire 5 cp/die (giorni 4-12). Lo stop al fumo idealmente dovrebbe avvenire entro il quinto giorno. La terapia prosegue poi con 4 cp/die (1 cp ogni 3 ore) nei giorni 13-16, poi 3 cp/die (1 cp ogni 5 ore) nei giorni 17-20, terminando con 2 cp/die (1 cp ogni 6-8 ore) nei giorni 21-25 (ENSP Guide Lines, 2016). In pazienti affetti da

insufficienza renale di stadio IV o V, la dose di citisina consiste in 3 cp/die per 12 giorni (dal giorno 1 al 12), 2cp/die per 8 giorni (dal giorno 13 al 20) e infine 1 cp/die per gli ultimi 5 giorni (dal giorno 21 al 25).

In alternativa alla posologia ufficiale si può considerare l'adozione della terapia proposta dalla SITAB (Società italiana di tabaccologia), con un periodo esteso fino a 40 giorni di terapia, che inizia con un dosaggio di farmaco incrementale. La dose massima di 6 cp/die viene raggiunta gradualmente nei primi 7 giorni di terapia. La data target di sospensione viene settata tra l'ottavo e il quattordicesimo giorno. A seguire la dose assunta quotidiana viene scalata lentamente fino al quarantesimo giorno. (SITAB 2018)

La citisina presenta un profilo di sicurezza generalmente considerato accettabile, seppur ci siano delle reazioni avverse comuni tra cui disturbi gastrointestinali, come nausea, vomito, dispepsia, dolore addominale superiore e secchezza delle fauci. Vengono comunemente osservati anche effetti neurologici come mal di testa e insonnia. Altri eventi meno frequenti e non gravi riportati in uno studio includevano mal di gola, stipsi, rinorrea e intorpidimento della lingua. L'overdose da citisina è simile all'intossicazione da nicotina e determina nausea, vomito, convulsioni, tachicardia, midriasi, cefalea, debolezza fino all'insufficienza respiratoria.

In conclusione, la citisina e la vareniclina aiutano entrambe un numero maggiore di persone a smettere di fumare rispetto al placebo o all'assenza di trattamento. La vareniclina risulta più efficace del bupropione o di una singola forma di terapia sostitutiva della nicotina (NRT), e potrebbe essere persino più efficace rispetto alla NRT combinata. Chi assume vareniclina ha probabilmente una maggiore probabilità di manifestare eventi avversi gravi (SAE); inoltre, potrebbe esserci un aumento del rischio di eventi cardiaci gravi e una riduzione di quelli neuropsichiatrici, anche se le prove disponibili sono compatibili sia con effetti positivi sia con possibili rischi. La citisina potrebbe essere associata a un numero inferiore di segnalazioni di eventi avversi gravi rispetto alla vareniclina. Gli studi che confrontano direttamente le due sostanze suggeriscono un possibile vantaggio della vareniclina nella cessazione del fumo, ma servono ulteriori ricerche per dare una risposta meglio documentata.

Le future sperimentazioni dovrebbero valutare in modo più approfondito efficacia e sicurezza della citisina rispetto alla vareniclina e ad altri trattamenti farmacologici, includendo anche diverse dosi e durate della terapia. (Banks et al.2023)

7.2. Ruolo degli integratori

Avena sativa Neuravena

Conosciuta come un rimedio per ridurre il rischio di malattie cardiovascolari, utilizzata nella terapia dello stress, e per le sue proprietà lievemente antidepressive, è stata studiata come possibile rimedio per smettere di fumare, misurandone l'efficacia tramite questionari sulla qualità di vita, sulla percezione dello stress, sui parametri del sonno. Dosi di avena di circa 800 mg hanno dimostrato la capacità di inibire l'enzima monoamminossidasi B, associato a un aumento della dopamina, facendo così ipotizzare che l'*Avena sativa* potrebbe avere un ruolo nella gestione dei sintomi negativi dell'astinenza, alleviandoli, imitando il ruolo naturale della nicotina. Lo studio è stato svolto su 140 fumatori regolari, dove con fumatore si intende una persona che fuma ogni giorno, e che nella sua vita ha consumato più di 100 sigarette. Ci si è assicurati che nessuno di loro avesse utilizzato integratori nel mese precedente. I fumatori furono istruiti a consumare un pranzo leggero almeno due ore prima della visita in clinica. Lo studio prevedeva una durata totale di due mesi di somministrazione di *Avena sativa*, seguita da un periodo di un mese di follow up con questionari.

Tra i tanti parametri misurati, ne emerge uno importante al fine di questo lavoro: dopo due mesi entrambi i gruppi, sia quello placebo, sia quello dell'*Avena*, aveva dimostrato una significativa riduzione del consumo giornaliero di sigarette, ma quella del gruppo di trattamento attivo risultava maggiore del 20% rispetto a quella del gruppo placebo. L'osservazione è basata sulla misura dei livelli di CO esalati. I livelli di cotinina nelle urine e nel sangue rimanevano invece stabili. Oltre alla diminuzione nei livelli di tabagismo, il questionario SF 36 evidenzia un significativo miglioramento anche in misure di vitalità e di benessere mentale, oltre che minori livelli di stress percepiti. Fu osservato anche un miglioramento della qualità del sonno. L'unico limite reale di questo studio è che i fumatori presi come campione, non presentavano una dipendenza alta, come dimostrato dai test di *Fagerstrom* eseguiti, ma bensì si parlava di fumatori medi; pertanto, non è possibile estendere la validità dei risultati a persone altamente dipendenti dal tabacco. (Friling et al.2024)

Questo studio dimostra come questo integratore alimentare, normalmente utilizzato per le sue proprietà simil sedative possa risultare d'aiuto come coadiuvante nelle terapie di cessazione del fumo, nonostante servano ulteriori approfondimenti.

Magnesio

Seppur con un campione esiguo (53 partecipanti), uno studio in doppio cieco svolto all'interno di un'unità psichiatrica di un ospedale balcanico, ha evidenziato una singolare correlazione tra l'assunzione di magnesio in dosi raccomandate (250 mg/die) e la diminuzione del numero di sigarette fumate dai pazienti con il calo del livello di dipendenza valutato mediante il test di *Fagerstrom*, eseguito all'arruolamento e dopo 28 giorni di osservazione.

I risultati mostrano una diminuzione media dei valori del punteggio di *Fagerstrom* da 7.93 a 6.78 nel bacino di soggetti trattati, mentre nessun cambiamento significativo in quelli che ricevevano il placebo, documentando la possibile utilità del catione già ampiamente utilizzato nella società odierna. (Nechifor et al.2015)

Melatonina

La ghiandola pineale, o epifisi, di notte, sotto il controllo dei nuclei sopra chiasmatici (SCN), influenzati a loro volta dai cicli giorno notte esterni, secerne un ormone fondamentale per la regolazione del ritmo circadiano, e con un ruolo sempre più centrale nella gestione dei comportamenti di abuso, per via della vasta distribuzione dei suoi recettori nelle aree condivise con i circuiti della gratificazione. La melatonina, grazie alle sue proprietà fortemente antiossidanti, attenua i danni ossidativi a carico delle cellule, conseguenti all'esposizione costante alla nicotina. Inoltre, stimola la produzione di *natural killers* e di linfociti T, agendo quindi sulla componente immunitaria (Calvo et al.2013). La melatonina viene prodotta a partire dalla conversione del triptofano in serotonina, catalizzata da un'idrolasi, successivamente un acetiltransferasi e una metiltransferasi trasformano la serotonina in melatonina. Questo processo biosintetico è regolato dal nucleo soprachiasmatico che risponde a stimoli provenienti dall'esterno: con la luce solare viene inibita la sua produzione, mentre con il calare della notte, l'SCN segnala all'epifisi di ricominciare la produzione, così da favorire il sonno.

Studi preclinici si sono espressi a favore dei potenziali benefici associati alla regolazione del tono dell'umore, e della modulazione dei processi di gratificazione e neuroprotezione apportati dall'integrazione di questa sostanza. La sua somministrazione deve seguire uno schema curativo conosciuto come cronoterapia, dove, grazie all'assunzione di melatonina in periodi di marcata astinenza da nicotina, si riescono ad alleviare e gestire meglio i sintomi dell'astinenza nervosa.

I recettori della melatonina dal punto di vista fisiologico, si dividono in 2 gruppi, entrambi di tipo metabotropico, quelli MT1, associati a proteine G inibitrici, e MT2, legati invece a G proteine sia di tipo inibitorio, che stimolatorio, entrambi modulano il rilascio dei neurotrasmettitori in risposte implicate nei processi di dipendenza, come ad esempio nel caso della trasmissione dopaminergica. La melatonina attenua il rilascio di dopamina indotta dall'assunzione di psicostimolanti come cocaina e anfetamine, mentre a livello del sistema gabaergico studi preclinici hanno evidenziato come la concomitante amministrazione di melatonina, riduca i fenomeni di iperattività causati dall'assunzione di droghe. Nel sistema di oppioidi endogeno, i recettori della melatonina interagiscono con i recettori per gli oppioidi *mu*, *delta* e *kappa*, per regolare gli effetti analgesici indotti dagli oppioidi, andando così ad alleviare i sintomi di astinenza.

Focalizzandoci sul tema principale, ovvero la gestione della dipendenza da nicotina a carico dell'ormone melatonina, possiamo osservare come i principali fenomeni di *craving* nei fumatori, vengano esacerbati nei frangenti in cui il ritmo circadiano risulti disregolato, come nel caso di jet lag, turni di lavoro prolungati o disturbi nella routine del sonno, tipicamente associati a un aumento dei fattori di stress. Strategie mirate alla restaurazione di un ritmo circadiano regolare, come la terapia della luce o la cronoterapia melatoninica, possono mitigare i sintomi associati all'astinenza da nicotina, proprio perché i geni implicati nel metabolismo della nicotina spesso sono anche quelli che modulano il ritmo circadiano.

La melatonina, quindi esplica i suoi effetti sulla possibile cessazione del fumo, attraverso i miglioramenti dei sintomi da *craving* grazie alla diminuzione dei sintomi di stress, irritabilità e disturbi del sonno (Zhdanova et al.2000) Grazie al miglioramento della qualità di sonno notturno, si può presupporre un miglioramento della qualità di vita e una diminuzione nella probabilità di ricadute. La combinazione di questa strategia con le attuali terapie farmacologiche rappresentate da NRT o con bupropione, può rappresentare una valida soluzione per la coadiuvazione nel trattamento della cessazione, così come l'associazione a terapie comportamentali e counselling di gruppo, oltre che tramite l'adozione di comportamenti che migliorino la qualità del sonno.

NaC

Studi preliminari, hanno evidenziato come l'N-acetilcisteina, precursore del glutathione, dalle proprietà antiossidanti, con un ruolo attivo nella protezione dal danno ossidativo causato dai radicali liberi, possa essere un possibile alleato nella lotta contro la dipendenza da nicotina. Studi sugli animali hanno osservato come la NaC possa regolare la trasmissione glutamatergica e ridurre l'instaurarsi di comportamenti abusivi nei confronti di sostanze come eroina, cocaina e nicotina.

Il meccanismo su cui agisce, è sempre quello del rilascio di dopamina nel sistema nervoso centrale, sostenendone l'attività affinché si riducano i sintomi da astinenza. Uno studio condotto nel 2024 (Harlivasari et al.2019), il primo in Asia di questo genere, ha analizzato la somministrazione *bid* di 1200 milligrammi di N-acetilcisteina a un gruppo di 45 persone, mentre altri 45 assumevano il placebo. I blister erano identici ed entrambi i gruppi ricevevano terapie di gruppo e *counselling* individuale per individuare strategie comuni utili a cessare di fumare, lo studio dalla durata totale di quattro settimane, prevedeva durante ogni visita la valutazione di parametri biologici, come il CO esalato e parametri comportamentali, attraverso questionari, per capire la gravità dei sintomi d'astinenza. Tutti i partecipanti erano uomini in media di 38 anni, con una approssimativa età di inizio della dipendenza a 16 anni, e una media di sigarette fumate pari a 18 al giorno, i risultati sembrano molto promettenti, rimarcando un tasso di astinenza pari al 38% nel gruppo NaC rispetto al 6% del placebo, con un miglioramento significativo anche nel valore di CO esalato (minore di 6 ppm), che si riflette anche nella quantità di sigarette fumate: 10 versus 46. Gli effetti collaterali non destano particolari preoccupazioni, solo 13 partecipanti nel gruppo NaC hanno accusato nausea, gonfiore addominale e dolore epigastrico. Seppur i dati a disposizione si basino su un campione ridotto e ci siano ovviamente delle variabilità nelle condizioni economico sociali da cui provengono i diversi candidati, si possono trarre delle considerazioni, come il fatto che i fumatori che consumano nicotina da più tempo sono coloro che hanno più difficoltà nel raggiungere l'astinenza dal fumo, non tanto perché ritengono difficile la gestione dei sintomi negativi dati dall'astinenza, quanto per la necessità dei rituali legati al fumo, e più in generale il condizionamento dell'ambiente sociale.

Un'altra esperienza interessante è quella che riguarda il ruolo dello scambiatore cisteina-glutammato, xCT e il trasportatore gliale del glutammato GLT1, espressi nella VTA, nella PFC o nell'amigdala, relativamente al processo di codificazione di dipendenze da cocaina o nicotina. Tale processo sembra essere correlato proprio alla down regolazione di questi 2 trasportatori, con una riduzione della loro espressione in aree cerebrali, come il *nucleus accumbens*, oltre che agli adattamenti glutamatergici in aree del cervello direttamente implicate nell'instaurazione di comportamenti di rinforzo, come l'upregolazione delle subunità dei recettori NMDA nella VTA, che portano a uno stato di continuo *drug-seeking*. (Kenny et al.2008) Pertanto, si è pensato, che grazie alle capacità della N-acetilcisteina, in quanto profarmaco della cisteina, di ripristinare l'attività del xCT, e ridurre quindi gli aspetti collegati ai comportamenti *drug seeking*, essa possa effettivamente avere un ruolo utile nel trattamento delle dipendenze da fumo. (Baker et al.2003)

Vi sono prove sperimentali basate su esperimenti effettuati su animali da laboratorio. In particolare, una prima parte dell'esperimento venne svolta su 4 gruppi di 10 ratti, a cui veniva somministrata rispettivamente nicotina per via parenterale, una soluzione salina come placebo, 2 dosi diverse di nicotina tramite l'ausilio di mini-pompe osmotiche, equivalenti a circa 1,3 mg/Kg giornalieri e 3,16 mg/Kg; il tutto per una durata di 21 giorni, in seguito ai quali, si svolse una analisi dei sintomi fisici da astinenza, calibrata sui modelli di astinenza da oppioidi (Epping et al.1998) , eseguiti da un osservatore ignaro del trattamento precedente. Vennero valutati parametri come tremori generali, fenomeni di masticazione incontrollata e bruxismo, comportamenti di grooming, dopodiché i ratti venivano scarificati, i cervelli immediatamente rimossi, sezionando amigdala, VTA e PFC, per poi essere congelati tramite azoto liquido. Emerse, attraverso l'utilizzo di metodi di "immunoblotting", che i ratti che si auto-somministravano nicotina per via endovenosa, tramite un apparato comandabile dall'animale stesso, mostravano una marcata diminuzione di xCT nel nucleus accumbens e nella VTA, nonché una riduzione dell'espressione di GLT-1 nel nucleus accumbens rispetto ai controlli trattati con soluzione salina. Inoltre, i livelli di xCT dopo auto-somministrazione di nicotina erano inferiori rispetto agli animali che ricevevano nicotina passivamente tramite mini-pompa osmotica sottocutanea a rilascio continuo. Questi risultati indicano che una somministrazione fasica e "volontaria" della nicotina, piuttosto che un rilascio continuo, è necessaria per indurre la *down*-regolazione di xCT.

Una seconda parte dell'esperimento ha studiato la somministrazione di NaC a un gruppo di 30 partecipanti, classificati come fumatori assidui dal test di *Fagerstrom*, con gli stessi regimi di somministrazione dell'articolo precedentemente citato, a cui veniva chiesto di dichiarare i livelli di consumo di sigarette mediante un monitoraggio settimanale costante fatto attraverso la compilazione di questionari standard come il *Minnesota Nicotine Withdrawal Scale* (MNWS) e il *Questionnaire for Smoking Urges Brief* (QSUB), oltre che la classica misurazione dei valori di CO esalati. Anche qui i risultati evidenziano come l'integrazione con NaC, effettivamente diminuisca il numero di sigarette fumate dai pazienti rispetto ai valori placebo, grazie al ripristino dell'espressione dei trasportatori xCT, correlata appunto alla diminuzione dei tratti associati al *drug-seeking*, ma la quantità di CO espirata rimane costante, che ci porta a dedurre che si diminuiscono le sigarette fumate, ma d'altra parte, aumenta la profondità e la durata delle inalazioni, pertanto possiamo affermare che la N-acetilcisteina possa sì aiutare i fumatori a desistere dalla ricerca della nicotina, ma che non riesce a ridurre il consumo della nicotina una volta che si è iniziata a fumare la sigaretta (Knackstedt et al.2009).

Di seguito si trova una tabella riassuntiva del Test di *Fagerstrom*

#	Test di Fagerström per la dipendenza da Nicotina Fagerström Test for Nicotine Dependence - FTND		Punteggio
1	Al risveglio fumi una sigaretta dopo	5 minuti	3
		6-30 minuti	2
		31-60 minuti	1
		oltre un'ora	0
2	Troi difficile non fumare dove è proibito	si	1
		no	0
3	Quale sigaretta troveresti difficile da lasciare?	la prima del mattino	1
		qualsiasi altra	0
4	Quante sigarette fumi al giorno?	da 10 in giù	0
		da 11 a 20	1
		da 21 a 30	2
		oltre 30	3
5	Fumi più nella prima ora dopo il risveglio che nel resto della giornata?	si	1
		no	0
6	Fumi anche se stai male e sei costretto a letto?	si	1
		no	0

Rivista semestrale Istituto Spallanzani,2009

Omega 3

Il fumo di sigaretta provoca stress ossidativo attraverso reazioni non enzimatiche che si basano sulla creazione di specie reattive dell'ossigeno, che portano a conseguente perossidazione, e quindi degradazione degli acidi grassi polinsaturi (PUFA) (Assies et al.2014). Basse concentrazioni di omega-3 possono influire sulla neurotrasmissione, determinando un'ipofunzionalità dei sistemi mesocorticali associati ai meccanismi di ricompensa e quindi accrescono la probabilità di fumare, ostacolando i tentativi di cessazione. La carenza di PUFA, tipica dei fumatori, peggiora con la fortificazione del vizio. Nel caso dei fumatori pesanti (40 sigarette al giorno minimo), si osserva una riduzione dei PUFA del 30% rispetto ai non fumatori, dimostrata da Simon et al. (1996), che hanno osservato in particolare una riduzione di EPA, acido eicosapentenoico e DHA, acido diidro-eicosanoico, acidi grassi essenziali non sintetizzabili dal nostro corpo. In tale gruppo di fumatori è stata inoltre osservata una diminuzione della salute psicologica e una maggiore vulnerabilità nei confronti dello stress, catalizzatore dei sintomi somatici tipici dell'astinenza, attraverso l'attivazione eccessiva dei circuiti stressori come l'asse HPA (ipotalamo- pituitario-surrenale). Nel complesso questi eventi rafforzano il circolo vizioso instaurato dal *craving* in primo

luogo. Nel tessuto nervoso gli omega 3 partecipano alla costituzione delle membrane neuronali, e come dimostrato da alcuni studi animali (Chalon et al.2001), la deficienza di questi ultimi, può portare a cambiamenti strutturali significativi nelle reti neurali dopaminergiche e serotoninergiche, più precisamente a livello fisiologico, nella costruzione fosfolipidica delle vescicole presinaptiche. L'incremento nella dieta degli omega 3 potrebbe favorire la neoplasticità, il corretto funzionamento dell'attività centrale serotoninergica e dopaminergica nella corteccia prefrontale, andando quindi a diminuire le manifestazioni di aggressività e comportamenti impulsivi (Yehuda et al.2003). In uno studio condotto da Rabinovitz et al.2014, che partiva dall'ipotesi in precedenza ricordata, ovvero che i fumatori presentano livelli alterati di PUFA, carenza che conduce all'ipofunzione di strutture cerebrali strettamente collegate ai circuiti di ricompensa della dipendenza, sono stati somministrati giornalmente, per un mese, 542 mg di EPA e 408 mg di DHA a un gruppo di 48 fumatori regolari. I fumatori che avevano assunto i PUFA, presentavano rispetto al gruppo di controllo una significativa riduzione dei tassi di *craving*, e del numero di sigarette fumate.

Un ulteriore studio condotto da Sardenaghi et al. (2018), partendo dalle osservazioni degli studi precedentemente citati, ha confermato la funzione coadiuvante degli omega 3 nella risoluzione dei sintomi da astinenza da fumo, in fumatori abituali, con valori dei punteggi nel test di *Fagerstrom* pari a 7,6 su 10. Il trattamento consisteva nella somministrazione di omega 3 fino a 5 volte al giorno, in dosi leggermente superiori da quelle usate negli studi di Zaparoli e Rabinovitz. Gli esiti analizzati sia misurando biomarcatori (test ELISA delle urine) che i risultati in test attitudinali- psicologici e tramite un continuo monitoraggio attraverso *check up* telefonici settimanali, evidenziano come, nel gruppo omega 3 i livelli di CPD (*cigarettes per day*) effettivamente siano inferiori rispetto al gruppo placebo, mentre per quanto concerne l'analisi dei metaboliti della nicotina nelle urine, i livelli di cotinina presenti in entrambi gruppi non differiscono significativamente. I dati suggeriscono che, nelle dipendenze pesanti, anche se cala il numero di sigarette consumate, i livelli sierici di cotinina rimangono costanti, per via dell'effetto del fumo compensatorio, ovvero intensificando l'aspirazione e prolungandone il tempo (*Fagerstrom et al.2008*).

Passiflora Incarnata, BZF

Prendendo spunto dalla ricca e varia tradizione erboristica indiana, un gruppo di ricercatori locali, ha scelto di studiare i potenziali effetti anti tabagismo di un estratto idroalcolico di P. Incarnata, la quale sugli animali presenta effetti ansiolitici e afrodisiaci, e sembra anche favorire un'inversione della dipendenza e tolleranza dagli oppioidi e dai cannabinoidi (Dhawan et al.2002).Durante questo

studio, le parti aeree della pianta vennero essiccate all'ombra, e successivamente estratte tramite una miscela idroalcolica composta da acqua, metanolo e cloroformio. Venne così isolato il composto flavonoide che si pensa sia il diretto responsabile degli effetti ansiolitici, il benzoflavone BZF. L'estratto venne poi somministrato ad animali da laboratorio (topi) a dosaggi diversi (1,5,10,20 mg/kg) 4 volte al giorno, per due settimane, in concomitanza con la somministrazione intracutanea di sali di nicotina (2mg/kg), in modo da far sviluppare loro rapidamente una dipendenza. Dopo 14 giorni di trattamento venne cessata l'erogazione di sali di nicotina e si assiste alla comparsa dei primi sintomi del *craving* già nelle prime 3 ore successive all'ultima dispensazione: irritabilità, minore capacità di gestione dello stress, diminuzione dell'attività locomotoria controllata, e successivamente aumento di peso. Questi sintomi furono esacerbati dalla concomitante somministrazione di naloxone, il quale funge da catalizzatore dei sintomi negativi. I topi a cui vennero somministrati i dosaggi più alti di BZF, manifestarono sensibilmente meno comportamenti compulsivi, ridotto aumento dell'appetito, e in generale uno stato di benessere nettamente superiore a quello degli animali che hanno ricevuto dosaggi minori di estratto, e ovviamente anche rispetto al gruppo di controllo che non aveva ricevuto nulla. Venne quindi dimostrato che gli effetti benefici di questo composto erano dose-dipendenti, con un rapporto di proporzionalità diretta tra quantità assunta e riduzione dei sintomi negativi associati all'astinenza. Il meccanismo di azione del BZF sui circuiti della dipendenza in questo caso non è del tutto chiaro (Kellis et al.1984). L'uso suggerito dell'estratto di questa pianta è quello di mischiarlo con il tabacco in dispositivi preconfezionati pronti per l'uso inalatorio, in modo da ottenere una combinazione favorevole all'avvicinamento al trattamento per smettere di fumare, sfruttandone le proprietà ansiolitiche.

Probiotici

Crescente interesse è stato rivolto negli ultimi anni, da una moltitudine di studiosi, al ruolo sempre crescente del microbiota intestinale: l'asse intestino – cervello, un sistema di comunicazione bidirezionale dove si osserva un'interazione meccanicistica tra i metaboliti generati dai microbi intestinali, come alcuni acidi grassi a catena corta (SCFA) o i derivati del triptofano, e la segnalazione neuro-immune dell'individuo, modulerebbero i meccanismi di rinforzo della dipendenza e comparsa dei fenomeni di *craving*, legati a qualsiasi sostanza dal potenziale di abuso. Questo percorso torna a coinvolgere gli attori già menzionati lungo il corso dei primi capitoli, ovvero i neuroni dopaminergici della VTA e le loro proiezioni nel NAc per quanto riguarda l'origine dei fattori delle dipendenze, ma allo stesso tempo evidenzia gli effetti che le sostanze d'abuso possono esercitare sull'integrità fisica, chimica e meccanica dell'intestino stesso e quindi

della sua flora, dove originano alterazioni dell'omeostasi microbica, che portano a disbiosi e a compromissione della barriera intestinale, di conseguenza si verificano una serie di effetti negativi, tra cui: fenomeni di *leaky gut*, ovvero un aumento della permeabilità della parete intestinale, che porta al passaggio di endotossine batteriche nel torrente circolatorio e quindi a possibili processi (neuro)infiammatori; oppure alla trasformazione dei patobionti, che in condizioni di eubiosi, ovvero di equilibrio intestinale, sono batteri commensali e collaborano con il sistema immunitario, in patogeni, causando infiammazioni croniche come l'IBD.

Se questi sono gli effetti delle sostanze sul microbiota, per il rovescio della medaglia, possiamo osservare come quest'ultimo e i suoi derivati metabolici, influenzino di conseguenza la sintesi, la regolazione e la trasmissione dei neurotrasmettitori coinvolti sia nei circuiti dopaminergici, sia in quelli serotoninergici e gabaergici, impattando quindi sia i circuiti della ricompensa e gratificazione, che quelli del benessere emotivo delle endorfine. In particolare, gli SCFA, si distinguono per la loro azione diretta nei fenomeni di dipendenza: questi, infatti, esercitano anche effetti epigenetici, come l'inibizione dell'istone deacetilasi (HDAC) o la modulazione della metilazione del DNA, alterando l'espressione di geni correlati alla dipendenza (ad esempio i recettori della dopamina e i recettori μ -oppioidi) e rimodellando in modo persistente la plasticità dei circuiti della ricompensa (Lin et al.2015). Inoltre, i batteri intestinali possono produrre neurotrasmettitori e interagire con il nervo vago e con i percorsi di segnalazione immunitaria, modulando complessivamente l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e la funzione dei circuiti della ricompensa, favorendo il *craving* e le ricadute. (Dicks et al.2022)

Focalizzandoci ora sull'effetto della nicotina sul microbiota, possiamo notare come tutte le forme di fumo incidano in maniera diversa sul deterioramento dell'ambiente intestinale, modificando il pH (abbassandolo) (Huang et al.2019) e diminuendo la disponibilità di ossigeno, con il risultato di instaurazione di condizioni pro infiammatorie e creazione di un ambiente anaerobico ideale per la proliferazione di microorganismi patogeni: *Prevotella*, *leptotrichia* e *veillonella*, mentre quelli protettivi diminuiscono: *Haemophilus* e *Neisseria*. Inoltre, si nota anche una modifica del ciclo degli acidi tricarbossilici, il cui aumento, specialmente dell'acido citrico, porta a una diminuzione della disponibilità del magnesio, cofattore che gioca un ruolo fondamentale nel meccanismo della dipendenza da nicotina, in quanto modula la secrezione di dopamina e l'attività dei recettori NMDA. Per quanto riguarda le sigarette elettroniche, gli aerosol prodotti dalle *e-cigs* contengono composti reattivi, tra cui aldeidi e carbonili, che inducono stress ossidativo, danneggiano le cellule dell'ospite e compromettono l'equilibrio microbico, parallelamente, si osserva una riduzione delle proteine antimicrobiche salivari, come lisozima e lattoferrina, con conseguente indebolimento delle

difese immunitarie locali e una maggiore possibilità di sviluppare infezioni da parte di patogeni opportunisti come *Candida albicans*.

Le strategie terapeutiche basate sul microbiota sono ancora in fase di sviluppo, ma appaiono promettenti. Probiotici come *Bifidobacterium* possono contribuire a modulare metaboliti e neurotrasmettitori, mentre specie come *Bacteroides xylanisolvens* sono in grado di degradare la nicotina a livello intestinale nei topi, attraverso l'interazione con fosfodiesterasi della sfingomielina e bloccando la formazione di ceramidi intestinali. Nel complesso, il microbiota intestinale costituisce un potenziale bersaglio terapeutico complementare per contrastare la dipendenza da nicotina e le sue conseguenze metaboliche e infiammatorie che si riflettono anche a livello di neuroimmunità. (Chen et al.2022)

Rhodiola Rosea

Un altro integratore interessante per il trattamento del tabagismo è la rodiola, anche nota come “radice dorata”, che presenta proprietà farmacologiche ansiolitiche, antidepressive e adattogene, grazie ai suoi meccanismi di modulazione della monoammine endogene nelle aree dell'amigdala, ippocampo e ipotalamo e al fatto che aumenta gli effetti dei neurotrasmettitori serotoninergici e dopaminergici, garantendo loro una maggiore permeazione della barriera ematoencefalica da parte dei loro precursori. Pertanto, grazie alle capacità di interazione dell'estratto di radici di rodiola con il sistema neurochimico centrale, possiamo provare a valutare se apporta vantaggi nel trattamento della dipendenza da nicotina.

Lo studio consultato si basa in primo luogo sull'instaurazione della dipendenza in un gruppo di topi, attraverso la somministrazione subcutanea di sali di nicotina in concentrazione pari a 2mg/kg, 4 volte al giorno per 8 giorni, seguiti da analisi comportamentali e locomotori e *test light/dark*, dopo questo periodo di assunzione di nicotina esogena, tutti i topi presentavano una forma marcata di dipendenza, esibendo nelle ore di intermezzo tra le somministrazioni, i tipici sintomi da astinenza, quali tremori generali, masticazione non controllata, balzi improvvisi e piloerezione.

Successivamente, veniva interrotta l'assunzione della nicotina, venendo indotto quindi uno stato di astinenza, e i topi venivano divisi in 3 gruppi, i primi 2 gruppi ricevevano, tramite *gastric gavage*, rispettivamente due estratti idroalcolici di radici di rodiola (RHO) in concentrazione decrescenti, che analisi cromatografiche HPLC confermavano contenere il 3% di composti rosavinici, mentre il terzo, riceveva un placebo; andando ad analizzare i risultati ottenuti dopo il primo giorno di disassuefazione, si potevano notare netti miglioramenti nella gestione dei sintomi dell'astinenza nei primi 2 gruppi. Più specificamente, erano ridotti sintomi somatici, come i tremori, la masticazione

eccessiva, lo scuotimento della testa e la piloerezione. I gruppi trattati con la maggior dose di RHO esibivano minore agitazione, così come mostravano una riduzione nei comportamenti ansiosi associati al *craving*. Anche dal punto di vista della capacità di movimento, fu evidenziato come la somministrazione di RHO diminuisse significativamente la condizione di ipolocomozione mediata dall'astinenza.

Questo studio dimostra l'utilità, almeno nell'animale della *Rhodiola Rosea* nella lotta alla dipendenza da nicotina, grazie alla sua attività sui sintomi tipici dell'astinenza, e anche sull'instaurarsi della dipendenza stessa, tramite la sua capacità di potenziamento della neurotrasmissione dei neurotrasmettitori, agendo sugli stessi circuiti di rinforzo usati dalla nicotina, e riducendo la neuro adattazione dei circuiti neurali nei confronti di quest'ultima. Infine, un altro aspetto interessante della sua azione a livello centrale, è la sua capacità di agire anche da antagonista del CRF (Mattioli et al.2007), ovvero del *corticotropin releasing factor*, quest'ultimo infatti è associato all'emergere dei comportamenti ansiosi tipici dell'astinenza, e viene sintetizzato nella regione centrale dell'amigdala. Bloccando questo ormone, attraverso il RHO, si è quindi in grado di inibire l'instaurazione dei sintomi di matrice ansiosa nelle fasi di astinenza.

Triptofano e dieta ricca di carboidrati

Partendo dal presupposto che in molti casi di fumatori incalliti, successivamente alla fine della dipendenza, si osserva un aumento nel consumo di cibi dolci e dall'alto contenuto di carboidrati, un gruppo di ricerca ha ipotizzato che una dieta composta principalmente da carboidrati e in minima parte le proteine possa aumentare la capacità di produzione serotoninergica da parte del cervello, grazie all'incremento della quantità del precursore della serotonina, il triptofano (Spring et al.1981). Uno studio che per quanto datato, si rivela interessante per i suoi risvolti pratici, è quello condotto da Bowen et al. (1991). Svolto in una piccola comunità del Midwest americano, prendendo in esame campioni un gruppo di fumatori, prevalentemente donne operaie, di età compresa tra 18 e 60 anni, normopeso, con un tasso di tabagismo elevato, evidenziato dal consumo giornaliero di una media di 32 sigarette. Al campione in studio venne somministrata una soluzione di L-triptofano, associata a una modifica della dieta, aumentando il consumo di carboidrati, per supportare la terapia farmacologica principale di cessazione del fumo. Questo studio venne condotto in singolo cieco. Mentre un gruppo di controllo non modificava la dieta, la quale rimaneva prettamente bilanciata in favore delle proteine, e assumeva un placebo al posto del triptofano, il gruppo principale, dopo settimane di astinenza notava una significativa superiorità rispetto al gruppo di controllo nella tolleranza dei sintomi da astinenza, convalidata da test e questionari come il *multiple effect*

adjective checklist (MAACL), che misura su scale multi-valoriali i livelli di ansia, depressione e ostilità. Furono usati registri dietetici per monitorare i regimi alimentari e venne osservato che il peso, nonostante la dieta più ricca di zuccheri, non registra differenze significative tra i 2 gruppi, in quanto i 2 regimi alimentari erano isocalorici. Anche altri parametri quali la pressione arteriosa erano simili. In conclusione, i soggetti che ricevettero triptofano e un apporto maggiore di carboidrati nella dieta, riportarono un periodo di astinenza più facile rispetto che ai soggetti di controllo, facendo minore esperienza di sintomi gravi legati all'ansia e alla difficoltà di concentrazione, anche la preoccupazione dell'aumento di peso che di solito consegue lo smettere di fumare fu minore.

Vernonia Cinerea

Un'altra pianta che potrebbe apportare degli effetti positivi è la *Vernonia Cinerea*, facente parte della famiglia delle *Asteracee*, conosciuta in Thailandia come *Yad ok khao*, anche chiamata piccola erba del ferro, e inserita nella lista nazionale delle erbe medicinali, stilata dal Ministero della salute thailandese, per via delle sue proprietà curative, come diuretico, antitussivo, antiemorroidale, antiitterico e contro il reflusso. (Dogra et al.2015)

Il suo meccanismo d'azione non è del tutto chiaro, ma le sue proprietà farmacologiche si possono far risalire agli 8 componenti attivi presenti nella pianta, tra cui 4 flavonoidi: apigenina, crisoeroli, luteolina e quercetina, e 4 sesquiterpeni lattonici. Si ritiene che questi composti siano responsabili della modulazione di enzimi chiave nel metabolismo della dopamina e della nicotina, nello specifico inibendo gli enzimi del citocromo P450, il CYP2A6 e le MAO A e B. Il CYP2A6 è implicato nel metabolismo della nicotina, e le monomminossidasi in quello della dopamina. In questo modo, ovvero rallentando gli enzimi che dovrebbero metabolizzare i neurotrasmettitori, si va ad aumentare la biodisponibilità degli ultimi, andando a prolungarne gli effetti sul SNC (Smith et al.2020). Tale azione sul metabolismo della nicotina e dei trasmettitori colinergici, produce una mitigazione degli effetti negativi derivanti dall'astinenza, oltre ad avere un ruolo nell'apprendimento associativo, che può portare a un rinforzo della routine di disintossicazione. (Puttarak et al.2018). Inoltre, la presenza di sodio nitrato, all'interno dell'estratto di *V. Cinerea*, induce uno stato di torpore nella lingua, azione che potrebbe disincentivare la persona a fumare, agendo proprio come strumento di diversione. (Barboza et al.2016)

Quest'estratto presenta un profilo tossicologico sicuro, anche in pazienti affetti da ipertensione e diabete, in tutti gli RCT condotti non sono emersi serie AE; gli unici effetti avversi degni di nota, sono sintomi orali o gastrointestinali come nausea o vomito e neurologici, seppur di entità minore e veloci a scomparire, come sopore e giramenti di testa. (Thuksin et al.2021)

Molti studi RCT sono stati condotti sull'utilità della *V. Cinerea* nella lotta al tabagismo, che oltre ad avere una tradizione storica molto documentata, è sempre risultata efficace nel diminuire il tasso di CPD nei pazienti, specie quelli che fumano meno di 15 sigarette al giorno. Tuttavia il vero limite di questi lavori scientifici è rappresentato da 2 fattori principali: in primis il c'è da considerare che nessuno di questi studi sembra essere abbastanza prolungato nel tempo, in secondo luogo, il fatto che il campione di soggetti analizzati proveniva sempre dallo stessa regione geografica, ovvero il sud est asiatico, principalmente la Thailandia, quindi è impossibile sapere se, analizzando una fascia etnica differente, i risultati possano essere equivalenti, o se differenze nell'espressione di geni che codificano per enzimi metabolizzanti come quelli del citocromo P450, possano portare a esiti completamenti differenti (De Santi et al.2026).

8. Conclusioni

Il tabagismo è una piaga per noi e per il pianeta, oltre a gravare sulla salute pubblica e sui bilanci di ogni sistema sanitario del pianeta, la produzione, la distribuzione e lo smaltimento di tutti i mezzi attraverso cui si può inalare tabacco, contribuisce a una grossa fetta di inquinamento globale. I mozziconi di sigaretta intrappolano nei loro filtri di cellulosa acetato: fumo, catrame (la frazione particolata del fumo di tabacco) e numerosi altri composti tossici, tra cui nicotina, idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e metalli. Questi contaminanti possono disperdersi nell'ambiente dai mozziconi con il tempo e a causa dell'esposizione ai fattori ambientali, contribuendo così all'inquinamento del suolo e delle acque superficiali e sotterranee. Si stima che, annualmente, il 33% delle sigarette prodotte negli USA non venga smaltito correttamente, e che in generale, vengano rilasciati nell'ambiente 1.2 milioni di tonnellate di mozziconi di sigarette, (Kadir et al.2015). Oltre a determinare un grande danno per gli ecosistemi terrestri, il tabagismo reca effetti nocivi non solo a chi consuma attivamente tabacco, ma anche a chi circonda questi ultimi. Il tema della prevenzione dal fumo passivo, si sta ritagliando sempre più spazio negli ultimi anni, grazie anche all'interessamento crescente dell'opinione pubblica a riguardo, emergono infatti progressivamente nuove prove riguardo alla nocività del fumo passivo, e anche se non paragonabili direttamente al *first hand smoking*, la dimensione del fenomeno e delle conseguenze sulla salute sembrano essere decisamente più gravi rispetto a quelle precedentemente ipotizzate. Ciò si manifesta concretamente: il 25% degli italiani risulta esposto costantemente al fumo passivo e il 71% degli oltre tremila cittadini intervistati ha dichiarato di fumare sovente in luoghi chiusi (sito Fondazione Veronesi). Il fenomeno del fumo passivo sembra essere destinato a diffondersi ulteriormente, a causa dell'espansione del mercato dei dispositivi elettronici, sia quelli che funzionano mediante riscaldamento del tabacco, sia i vaporizzatori dei liquidi contenenti nicotina

(oltre che acetato, glicerina e oli vegetali). Il consumo dei *devices* è intrinsecamente legato al problema dell'aumento dei tassi del fumo passivo, poiché questi non vengono percepiti inquinanti tanto quanto le sigarette tradizionali: non appestano le pareti e non lasciano odori sgradevoli sulle mani e sugli indumenti, al contrario, i *vape* rilasciano aromi piacevoli, mentre l'odore sgradevole rilasciato dal riscaldamento del tabacco risulta lieve, e basta aprire le finestre per farlo sparire, ciò porta a una desensibilizzazione e normalizzazione dell'utilizzo di tali dispositivi all'interno di luoghi chiusi, come scuole, cinema e mezzi di trasporto. I rischi legati a questi *devices* vengono spesso sottovalutati, soprattutto dai giovani, che sono la fascia d'età che più li consuma, anche a causa della malinformazione a riguardo, spesso diffusa dalle stesse case produttrici mediante articoli di ricerca contraddistinti da evidenti conflitti d'interesse. In questi "studi" si arriva addirittura a considerare utile l'apporto di questi strumenti nella diminuzione della dipendenza da sigarette, ignorando completamente i possibili effetti dannosi non ancora noti, a causa della mancanza di studi a lungo termine, ignorando come sia ormai dimostrato che il *dual smoking* di sigarette e dispositivi risulti più dannoso del mono consumo (Gotts et al.2019).

Le generazioni future porteranno il fardello di questa cattiva abitudine, che grava sia sulla spesa pubblica sanitaria, in costante aumento, a causa dell'aumento dei tassi di ospedalizzazione per malattie correlate al fumo, sia sulla società, indirettamente, togliendo giorni di lavoro utili e causando una diminuzione della qualità degli anni di vita generale. I mezzi per ovviare questa problematica ci sono e sono in costante aumento, grazie sia alla scoperta di nuove terapie, sia grazie all'estensione dei criteri di rimborsabilità delle terapie farmacologiche già note, come recentemente si è visto fare in Italia con la citisina, precedentemente disponibile in forma galenica e a pagamento, ora invece rimborsabile dal SSN (aprile 2026), previa presentazione di percorso clinico di disassuefazione, certificato da uno specialista (sito ufficiale AIRC).

Per disincentivare a fumare, i governi mondiali applicano misure sempre più restrittive nei confronti della distribuzione e della vendita di articoli legati al tabacco, aumentando progressivamente i prezzi del tabacco (in Italia prezzi di sigarette e tabacco sono in aumento progressivo a causa dell'incremento delle accise previsto dalla Legge di Bilancio, mediamente il prezzo per il pubblico sale di 20 centesimi ogni 2 anni) e stabilendo limiti di età sempre più bassi, come nel caso dello UK, che ha da poco introdotto una legge che proibisce alle persone nate dopo il 2008 di acquistare sigarette. È ancora presto per stabilire se gli approcci statali proibizionisti possano funzionare davvero, o se al contrario, spingeranno i più resilienti a ricercare soluzioni alternative come i dispositivi elettronici o illegali, ma economiche, come le sigarette di contrabbando, specialmente nei paesi dell'Europa meridionale, dove il tabagismo innesta radici profonde nell'uso comune e

diventa parte integrante del contesto sociale. Pertanto, le campagne generali di informazione e sensibilizzazione sui danni del tabacco rappresentano un passo in avanti nella prevenzione e nella limitazione del fenomeno tabagista, ma si necessita anche di un intervento diretto, basato sulla cura individuale dei soggetti che costituiscono le fasce più fragili in termini di stato di salute ed età. Alla base della terapia di cessazione ci deve essere una personalizzazione del percorso individuale, attuata tramite la scelta di un'adeguata cura farmacologica coadiuvata dalla terapia comportamentale individuale e se possibile, sessioni di gruppo, in modo da massimizzare gli esiti di successo terapeutico. È in questo frangente che risulta promettente l'affiancamento degli integratori alla terapia principale farmacologica e comportamentale, appunto non come strategia alternativa da usare in monoterapia, bensì come strumento di supporto della terapia primaria per il raggiungimento di uno stato completo di disassuefazione. Infatti, l'apporto di questi deve essere prima valutato clinicamente, assicurandosi che non interferiscano con la terapia principale, per poi successivamente essere impiegati prevalentemente come agenti secondari, grazie alla loro azione benefica nel trattamento dei sintomi psico-somatici dovuti all'interruzione dell'abitudine al fumo.

Riferimenti bibliografici:

- Albuquerque EX, Alkondon M, Pereira EF, Castro NG, Schrattenholz A, Barbosa CT, Bonfante-Cabarcas R, Aracava Y, Eisenberg HM, Maelicke A. Properties of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: pharmacological characterization and modulation of synaptic function. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;280:1117 – 36.
- Aryal SP, Fu X, Sandin JN, Neupane KR, Lakes JE, Grady ME, et al. Nicotine induces morphological and functional changes in astrocytes via nicotinic receptor activity. *Glia* 2021;69:2037–53.
- Assies J, Mocking RJ, Lok A, Ruhé HG, Pouwer F, Schene AH: Effects of oxidative stress on fatty acid- and one-carbon-metabolism in psychiatric and cardiovascular disease co-morbidity. *Acta Psychiatr Scand* 2014; 130:163–180.
- Baker DA, McFarland K, Lake RW, Shen H, Tang XC, Toda S, et al. Neuroadaptations in cystine-glutamate exchange underlie cocaine relapse. *Nat Neurosci* 2003;6:743–749.
- Barboza, J.L., Patel, R., Patel, P., Hudmon, K.S., 2016. An update on the pharmacotherapeutic interventions for smoking cessation. *Exp Opin Pharmacother*. 17 (11), 1483–1496. <https://doi.org/10.1080/14656566.2016.1197203>. Other: Epub 2016 Jun 20.
- Barua RS, Rigotti NA, Waz NL, Cummings KM, Jazayeri MA, Morris PB, et al. 2018 ACC expert consensus decision pathway on tobacco cessation treatment: a report of the American
- Bergkamp DJ, Neumaier JF. How omics is revealing new roles for glia in addiction. *Glia*. 2025 Mar;73(3):608-618. doi: 10.1002/glia.24584. Epub 2024 Jun 18.
- Bertrand, D.; Terry, A.V. The Wonderland of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Biochem. Pharmacol*. 2018, 151, 214–225.
- Bowers MS, Kalivas PW. Forebrain astroglial plasticity is induced following withdrawal from repeated cocaine administration. *Eur J Neurosci* 2003;17:1273–8.
- Brunzell DH, Grady SR, Lindstrom JM, McIntosh JM, Marks MJ, King SL, Picciotto MR. Localized low-level re-expression of high-affinity mesolimbic nicotinic acetylcholine receptors restores nicotine-induced locomotion but not place conditioning. *Genes Brain Behav*. 2009 Apr;8(3):257-66. doi: 10.1111/j.1601-183X.2008.00468.x. Epub 2008 Dec 11.
- College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(25):3332–65.
- Calvo JR, González-Yanes C and Maldonado MD: The role of melatonin in the cells of the innate immunity: A review. *J Pineal Res* 55: 103-120, 2013.
- Cahill K, Stevens S, Perera R, Lancaster T. Pharmacological interventions for smoking cessation: an overview and network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 May 31;2013(5):CD009329. doi: 10.1002/14651858.CD009329.pub2.

Castillo-Rolón D, Ramírez-Sánchez E, Arenas-López G, Garduño J, Hernández-González O, Mihailescu S, Hernández-López S: Nicotine increases spontaneous glutamate release in the rostromedial tegmental nucleus. *Front Neurosci* 2021, 14, 604583.

Castro, N.G. and Albuquerque, E.X. 1995.-Bungarotoxin-sensitive hippocampal nicotinic receptor channel has a high calcium permeability. *Biophys. J.* 68: 516–524.

Chaiton M, Diemert L, Cohen JE et al (2016) Estimating the number of quit attempts it takes to quit smoking successfully in a longitudinal cohort of smokers. *BMJ Open* 6:e011045. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-011045>

Chalon S, Vancassel S, Zimmer L, Guilloteau D, Durand G: Polyunsaturated fatty acids and cerebral function: focus on monoaminergic neurotransmission. *Lipids* 2001; 36: 937–944.

Chen BT, Yau HJ, Hatch C, et al. Rescuing cocaine-induced pre-frontal cortex hypoactivity prevents compulsive cocaine seeking. *Nature* 2013; 496:359-362.

Chen W, Meng S, Han Y, Shi J. Astrocytes: the neglected stars in the central nervous system and drug addiction. *Med Rev* (2021). 2022 Jun 29;2(4):417-426. doi: 10.1515/mr-2022-0006.

Cooper S, Robison AJ, Mazei-Robison MS. Reward Circuitry in Addiction. *Neurotherapeutics*. 2017 Jul;14(3):687-697. doi: 10.1007/s13311-017-0525-z

Corkrum M, Covelo A, Lines J, Bellocchio L, Pisansky M, Loke K, Quintana R, Rothwell PE, Lujan R, Marsicano G, Martin ED, Thomas MJ, Kofuji P, Araque A. Dopamine-Evoked Synaptic Regulation in the Nucleus Accumbens Requires Astrocyte Activity. *Neuron*. 2020 Mar 18;105(6):1036-1047.e5. doi: 10.1016/j.neuron.2019.12.026. Epub 2020 Jan 15.

Creed M, Ntamati NR, Chandra R, Lobo MK, Luscher C. Convergence of reinforcing and anhedonic cocaine effects in the ventral pallidum. *Neuron* 2016; 92:214-226.

Dai, X., Gil, G.F., Reitsma, M.B. *et al.* Health effects associated with smoking: a Burden of Proof study. *Nat Med* 28, 2045–2055 (2022).

Dani, J.A. Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Structure and Function and Response to Nicotine. In *International Review of Neurobiology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2015; Volume 124, pp. 3–19. ISBN 978-0-12-801583-4.

De Santi O, Di Niro CA, Rungruanghiranya S, Greco V. Evaluation of the effectiveness of *Vernonia cinerea* for the treatment of smoking cessation: a systematic review and meta-analysis. *J Ethnopharmacol.* 2026 Jan 30;355(Pt B):120690. doi: 10.1016/j.jep.2025.120690. Epub 2025 Oct 10. PMID: 41076145.

Dhawan K, Kumar S, Sharma A. Reversal of tolerance and dependence of morphine by *Passiflora incarnata* Linn.—a traditional medicine to combat morphine addiction. *Pharm Biol (Int J Pharmacognosy)* 2001, in press.

Dicks LMT. Gut bacteria and neurotransmitters. *Microorganisms*. 2022;10(9):1838. doi: 10.3390/microorganisms10091838.

Dogra NK, Kumar S. A review on ethno-medicinal uses and pharmacology of Vernoniacinerea Less. Nat Prod Res. 2015;29(12):1102–1117.

Ebrahimi MN, Banazadeh M, Alitaneh Z, Jaafari Suha A, Esmaeili A, Hasannejad-Asl B, Siahposht-Khachaki A, Hassanshahi A, Bagheri-Mohammadi S. The distribution of neurotransmitters in the brain circuitry: Mesolimbic pathway and addiction. Physiol Behav. 2024 Oct 1;284:114639. doi: 10.1016/j.physbeh.2024.114639. Epub 2024 Jul 14.

Epping-Jordan MP, Watkins SS, Koob GF, Markou A. Dramatic decreases in brain reward function during nicotine withdrawal. Nature 1998;393:76–79

Erickson, E. K., Blednov, Y. A., Harris, R. A., & Mayfield, R. D. (2019). Glial gene networks associated with alcohol dependence. Scientific Reports,9(1), 10949.

Fagan P, Moolchan ET, Hart A Jr, Rose A, Lawrence D, Shavers VL, Gibson JT. Nicotine dependence and quitting behaviors among menthol and non-menthol smokers with similar consumptive patterns. Addiction. 2010 Dec;105 Suppl 1:55-74. doi: 10.1111/j.1360-0443.2010.03190.x.

Fagerström K and Furberg H (2008) A comparison of the Fagerström Test for Nicotine Dependence and smoking prevalence across countries. *Addiction* 103: 841–845.

Fattore L, Puddu MC, Picciau S, Cappai A, Fratta W, Serra GP, et al. Astroglial in vivo response to cocaine in mouse dentate gyrus: a quantitative and qualitative analysis by confocal microscopy. Neuroscience 2002;110:1–6.

Febo M, Blum K, Badgaiyan RD, Baron D, Thanos PK, Colon-Perez LM, Demortrovičs Z, Gold MS. Dopamine homeostasis: brain functional connectivity in reward deficiency syndrome. Front Biosci (Landmark Ed). 2017 Jan 1;22(4):669-691. doi: 10.2741/4509.

Ferri CP, West R, Moriyama TS, Acosta D, Guerra M, Huang Y, Jacob KS, Ribeiro W, Llibre de Rodriguez JJ, Salas A, Sosa AL, Williams J, Acosta I, Liu Z, Hernandez MA, Prince MJ. Tobacco use and dementia: evidence from the 1066 dementia population-based surveys in Latin America, China and India. Int J Geriatr Psychiatry. 2011 Nov;26(11):1177-85. doi: 10.1002/gps.2661. Epub 2011 Feb 9.

Fitzgerald PB, Fountain S, Daskalakis ZJ. A comprehensive review of the effects of rTMS on motor cortical excitability and inhibition. Clin Neurophysiol 2006; 117:2584-2596.

Friling M, García-Muñoz AM, Lavie A, Pérez-Piñero S, Victoria-Montesinos D, López-Román FJ, García-Guillén AI, Muñoz-Carrillo JC, Cánovas F, Ivanir E, Jalanka J. Dietary supplementation with a wild green oat extract (*Avena sativa* L.) to improve wellness and wellbeing during smoking reduction or cessation: a randomized double-blind controlled study. Front Nutr. 2024 Jun 19;11:1405156. doi: 10.3389/fnut.2024.1405156.

Gardner EL. Addiction and brain reward and anti-reward pathways. Adv Psychosom Med. 2011;30:22-60. doi: 10.1159/000324065. Epub 2011 Apr 19.

Georgakopoulou VE, Sklapani P, Trakas N, Reiter RJ, Spandidos DA. Exploring the association between melatonin and nicotine dependence (Review). Int J Mol Med. 2024 Oct;54(4):82. doi: 10.3892/ijmm.2024.5406. Epub 2024 Aug 2

- Giulietti F, Filipponi A, Rosettani G, Giordano P, Iacoacci C, Spannella F, Sarzani R. Pharmacological Approach to Smoking Cessation: An Updated Review for Daily Clinical Practice. *High Blood Press Cardiovasc Prev.* 2020 Oct;27(5):349-362. doi: 10.1007/s40292-020-00396-9. Epub 2020 Jun 23.
- Gorelick DA, Zangen A, George MS. Transcranial magnetic stimulation in the treatment of substance addiction. *Ann N Y Acad Sci*2014; 1327:79-93
- Gotti C, Clementi F. Cytisine and cytosine derivatives. More than smoking cessation aids. *Pharmacol Res.* 2021 Aug;170:105700. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105700. Epub 2021 Jun 2.
- Gotts JE, Jordt SE, McConnell R, Tarran R. What are the respiratory effects of e-cigarettes? *BMJ.* 2019 Sep 30;366:15275. doi: 10.1136/bmj.15275. Erratum in: *BMJ.* 2019 Oct 15;367:15980. doi: 10.1136/bmj.15980.
- Groppelli A, Giorgi DM, Omboni S, Parati G, Mancia G. Persistent blood pressure increase induced by heavy smoking. *J Hypertens* 1992; 10: 495-499.
- Grieder TE, Besson M, Maal-Bared G, Pons S, Maskos U, van derKooy D: b2* nAChRs on VTA dopamine and GABA neurons separately mediate nicotine aversion and reward. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019, 116:25968–25973.
- Harlivasari AD, Susanto AD, Taufik FF, Ginting TT. The Role of Twice-Daily N-acetylcysteine (NAC) 2400 mg in Smoking Cessation: A Randomized, Placebo-Controlled Trial in Indonesia. *Cureus.* 2024 Feb 16;16(2):e54322. doi: 10.7759/cureus.54322.
- H.H. Dale, P.P. Laidlaw, The physiological action of cytosine, the active alkaloid of laburnum (cytius-laburnum), *J. Physiol. Exp. Ther.* III 3 (1912) 205–221.
- Huang C, Shi G. Smoking and microbiome in oral, airway, gut and some systemic diseases. *J Transl Med.*2019;17(1):225. doi: 10.1186/s12967-019-1971-7.
- Huang YH, Lin Y, Mu P, et al. In vivo cocaine experience generates silent synapses. *Neuron* 2009; 63:40-47
- Hughes JR. Effects of abstinence from tobacco: valid symptoms and time course. *Nicotine Tob Res.* (2007) 9:315–27. doi: 10.1080/14622200701188919
- Kang S, Hong SI, Lee J, Peyton L, Baker M, Choi S, et al. Activation of astrocytes in the dorsomedial striatum facilitates transition from habitual to goal-directed reward-seeking behavior. *Biol Psychiatry* 2020;88:797–808.
- Kadir, Aeslina Abdul, and Noor Amira Sarani. "Cigarette butts pollution and environmental impact—A review." *Applied Mechanics and Materials* 773 (2015): 1106-1110.
- Kellis JT, Vickery LE. Inhibition of estrogen synthetase (aromatase) by flavones. *Science* 1984;225:1032–33
- Kenny PJ, Chartoff E, Roberto M, Carlezon WA Jr, Markou A. NMDA Receptors Regulate Nicotine-Enhanced Brain Reward Function and Intravenous Nicotine Self-Administration: Role of

the Ventral Tegmental Area and Central Nucleus of the Amygdala. *Neuropsychopharmacology*. 2008

Kim K, Picciotto MR. Nicotine addiction: More than just dopamine. *Curr Opin Neurobiol*. 2023 Dec;83:102797. doi: 10.1016/j.conb.2023.102797. Epub 2023 Oct 11. PMID: 37832393; PMCID: PMC10842238.

Klinko, R., de Kerchove d'Exaerde, A., Zoli, M., and Changeux, J.P. 2001. Molecular and physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors in the midbrain dopaminergic nuclei. *J. Neurosci*. 21: 1452–1463.

Knackstedt LA, LaRowe S, Mardikian P, Malcolm R, Upadhyaya H, Hedden S, Markou A, Kalivas PW. The role of cystine-glutamate exchange in nicotine dependence in rats and humans. *Biol Psychiatry*. 2009 May 15;65(10):841-5. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.10.040. Epub 2008 Dec 21.

Koob GF, Volkow ND. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry*. 2016 Aug;3(8):760-773. doi: 10.1016/S2215-0366(16)00104-8.

Kugler EC, Greenwood J, MacDonald RB. The “neuro-glia-vascular” unit: the role of glia in neurovascular unit formation and dysfunction. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:732820.

Lammel S, Ion DI, Roeper J, Malenka RC. Projection-specific modulation of dopamine neuron synapses by aversive and rewarding stimuli. *Neuron* 2011; 70:855-862.

Leaviss J., Sullivan W., Ren S., Everson-Hock E., Stevenson M., Stevens J.W., Strong M., Cantrell A. (2014). What is the clinical effectiveness and cost-effectiveness of varenicline compared with varenicline for smoking cessation? A systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.*, May, 18(33): 1-120. Doi: 10.3310/hta18330

Lin MY, de Zoete MR, van Putten JP, Strijbis K. Redirection of epithelial immune responses by short-chain fatty acids through inhibition of histone deacetylases. *Front Immunol*. 2015;6:554. doi: 10.3389/fimmu.2015.00554.

Banks J, Fanshawe TR, Thomas KH, Theodoulou A, Hajizadeh A, Hartman L, Lindson N. Nicotine receptor partial agonists for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2023 May 5;5(5):CD006103. doi: 10.1002/14651858.CD006103.pub8.

Ma YY, Lee BR, Wang X, et al. Bidirectional modulation of incubation of cocaine *craving* by silent synapse-based remodeling of prefrontal cortex to accumbens projections. *Neuron* 2014; 83:1453-1467.

Mansvelder HD, McGehee DS. Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron*. 2000 Aug;27(2):349-57. doi: 10.1016/s0896-6273(00)00042-8.

Mamsharifi P, Farokhi B, Hajipoor-Taziani R, Alemi F, Hazegh P, Masoumzadeh S, Jafari L, Ghaderi A, Ghadami Dehkohneh S. Nano-curcumin effects on nicotine dependence, depression, anxiety and metabolic parameters in smokers: A randomized double-blind clinical study. *Heliyon*. 2023 Oct 27;9(11):e21249. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e21249

Maskos K. Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors. *Biochimie*. 2005 Mar-Apr;87(3-4):249-63. doi: 10.1016/j.biochi.2004.11.019.

- Mattioli L, Perfumi M (2007) *Rhodiola rosea* L. extract reduces stress-and CRF-induced anorexia in rats. *J Psychopharmacol* 21:742–750.
- Marsh, S. E., Walker, A. J., Kamath, T., Dissing-Olesen, L., Hammond, T. R., de Soysa, T. Y., Young, A. M. H., Murphy, S., Abdulraouf, A., Nadaf, N., Dufort, C., Walker, A. C., Lucca, L. E., Kozareva, V., Vanderburg, C., Hong, S., Bulstrode, H., Hutchinson, P. J., Gaffney, D. J.,... Stevens, B. (2022). Dissection of artifactual and confounding glial signatures by single-cell sequencing of mouse and human brain. *Nature Neuroscience*, 25(3), 306–316.
- McClure JB, Swan GE, Catz SL, Jack L, Javitz H, McAfee T, et al. Smoking outcome by psychiatric history after behavioral and varenicline treatment. *J Subst Abuse Treat.* 2010;38(4):394–402.
- Mclaughlin I, Dani JA, De Biasi M. Nicotine withdrawal. *Curr Top Behav Neurosci.*(2015) 24:99–123. doi: 10.1007/978-3-319-13482-6.
- Min R, and Nevian T (2012). Astrocyte signaling controls spike timing-dependent depression at neocortical synapses. *Nat. Neurosci* 15, 746–753.
- Mitchell MR, Potenza MN. Recent Insights into the Neurobiology of Impulsivity. *Curr Addict Rep.* 2014 Dec 1;1(4):309-319. doi: 10.1007/s40429-014-0037-4.
- Mueller M, Fadai T, Rauh J, Haaker J. Nicotine reduces discrimination between threat and safety in the hippocampus, nucleus accumbens and amygdala. *Transl Psychiatry.* 2024 Aug 3;14(1):319. doi: 10.1038/s41398-024-03040-5.
- Najafzadeh A, Mahdizadeh M, Kakhki S, Rahimi A, Ahmadi-Soleimani SM, Beheshti F. Ascorbic acid supplementation in adolescent rats ameliorates anxiety-like and depressive-like manifestations of nicotine-ethanol abstinence: Role of oxidative stress, inflammatory, and serotonergic mechanisms. *Int J Dev Neurosci.* 2025 Feb;85(1):e10392. doi: 10.1002/jdn.10392. Epub 2024 Dec
- Nair-Roberts RG, Chatelain-Badie SD, Benson E, White-Cooper H, Bolam JP, Ungless MA. Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience* 2008
- Nakanishi K, Nishida M, Ohama T, Moriyama T, Yamauchi-Takahara K. Smoking associates with visceral fat accumulation especially in women. *Circ J* 2014; 78: 1259-1263.
- Natarajan, K.; Mukhtasimova, N.; Corradi, J.; Lasala, M.; Bouzat, C.; Sine, S.M. Mechanism of Calcium Potentiation of the A7 Nicotinic Acetylcholine Receptor. *J. Gen. Physiol.* 2020, 152, e202012606
- Nechifor M, Chelarescu D, Mândreici I, Cartas N. Magnesium influence on nicotine pharmacodependence and smoking. *Magnes Res.* 2004 Sep;17(3):176-81.
- Nguyen C, Mondoloni S, Le Borgne T, Centeno I, Come M, Jehl J, Solié C, Reynolds LM, Durand-de Cuttoli R, Tolu S, Valverde S, Didiene S, Hanneke B, Fiancette JF, Pons S, Maskos U, Deroche-Gamonet V, Dalkara D, Hardelin JP, Mourot A, Marti F, Faure P. Nicotine inhibits the VTA-to-amygdala dopamine pathway to promote anxiety. *Neuron.* 2021 Aug 18;109(16):2604-2615.e9. doi: 10.1016/j.neuron.2021.06.013. Epub 2021 Jul 8.

- Oleskevich S, Descarries L, Lacaille JC. Quantified distribution of the noradrenaline innervation in the hippocampus of adult rat. *J Neurosci* 1989; 9:3803-3815.
- Pancar Z. Effect of Inspiratory Muscle Training with Royal Jelly Supplement on Iron Metabolism in Cigarette Addicts. *Eurasian J Med*. 2021 Feb;53(1):15-18. doi: 10.5152/eurasianjmed.2020.20271. Epub 2021 Jan 19.
- Patidar N, Navale AM, Parsaila N, Sharma D, Nahar P, Shinde S, Solanki N, Shelke A. Nicotine replacement therapy: insights into the mechanisms and potential of nicotine receptor pathway. *Am J Transl Res*. 2025 Apr 15;17(4):2396-2410. doi: 10.62347/MOBZ7773.
- Peterson, P. K., Molitor, T. W., & Chao, C. C. (1998). The opioid-cytokine connection. *Journal of Neuroimmunology*, 83(1–2), 63–69
- Picciotto, M.R., Zoli, M., Rimondini, R., Lena, C., Marubio, L.M., Pich, E.M., Fuxe, K., and Changeux, J.P. 1998. Acetylcholine receptors containing the 2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature* 391: 173–177.
- Picciotto MR, Kenny PJ. Mechanisms of Nicotine Addiction. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2021 May 3;11(5):a039610. doi: 10.1101/cshperspect.a039610.
- Pidoplichko VI, Noguchi J, Areola OO, Liang Y, Peterson J, Zhang T, Dani JA. Nicotinic cholinergic synaptic mechanisms in the ventral tegmental area contribute to nicotine addiction. *Learn Mem*. 2004 Jan-Feb;11(1):60-9. doi: 10.1101/lm.70004.
- Pons S, Robledo P, Deltheil T, David DJ, Gardier AM, Maldonado R, Granon S, Changeux JP, Maskos U. Interplay of beta2* nicotinic receptors and dopamine pathways in the control of spontaneous locomotion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Oct 14;105(41):15991-6. doi: 10.1073/pnas.0807635105. Epub 2008 Oct 2.
- Puttarak P, Pornpanyanukul P, Meetam T, Bunditanukul K, Chaiyakunapruk N. Efficacy and safety of *Vernonia cinerea* (L.) Less. for smoking cessation: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Complement Ther Med*. 2018 Apr;37:37-42. doi: 10.1016/j.ctim.2018.01.009. Epub 2018 Jan 31..
- Quick, M.W. and Lester, R.A. 2002. Desensitization of neuronal nicotinic receptors. *J. Neurobiol*. 53: 457–478.
- Quintero GC. Role of nucleus accumbens glutamatergic plasticity in drug addiction. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2013;9:1499-512. doi: 10.2147/NDT.S45963. Epub 2013 Sep 30.
- Rabinovitz S: Effects of omega-3 fatty acids on tobacco *craving* in cigarette smokers: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study. *J Psychopharmacol* 2014; 28: 804–809.
- Rezaei Moghadam M, Khoshrou A, Kakhki S, Hosseini SH, Shirinzadeh Feizabadi A, Beheshti F. Folic Acid Ameliorates Anxiety- and Depressive-Like Behavior Induced by Nicotine Withdrawal Through Restoration of Behavioral and Biochemical Alterations in Adolescent Male Rats. *Nicotine Tob Res*. 2024 May 22;26(6):733-741. doi: 10.1093/ntr/ntad227
- Rezavanimehr MM, Kakhki S, Pahlavani H, Khosropour M, Khatibi SR, Beheshti F. VitaminB₁₂ supplementation improved memory impairment following nicotine withdrawal in

adolescent male rats: The role of oxidative stress, inflammatory, BDNF, GFAP, and AChE activity. *Behav Brain Res.* 2024 Oct 2;474:115180. doi: 10.1016/j.bbr.2024.115180. Epub 2024 Aug 5.

Root DH, Barker DJ, Estrin DJ, Miranda-Barrientos JA, Liu B, Zhang S, Wang H-L, Vautier F, Ramakrishnan C, Kim YS, et al.: Distinct signaling by ventral tegmental area glutamate, GABA, and combinatorial glutamate-GABA neurons in motivated behavior. *Cell Rep* 2020, 32, 108094.

Ru Y, Jia J, Yang X, Ba X, Yan J, Zhang H, Zhang Y. From bugs to behavior: targeting the gut-brain interface for addiction therapeutics. *Gut Microbes.* 2025 Dec 31;17(1):2569740. doi: 10.1080/19490976.2025.2569740. Epub 2025 Oct 28.

Rungruanghiranya S., Tulatamakit S., Chittawatanarat K., Preedapornpakorn K., Wongphan T., Sutanthavibul N., Preechawong S., Petborom P. (2024). Efficacy and safety of cytosine versus nortriptyline for smoking cessation: A multicentre, randomized, double-blinded and placebo-controlled trial. *Respirology*, Oct, 29(10): 880-887. Doi: 10.1111/resp.14787. Epub 2024 Jul

Russo, P.; Nastrucci, C.; Alzetta, G.; Szalai, C. Tobacco Habit: Historical, Cultural, Neurobiological, and Genetic Features of People's Relationship with an Addictive Drug. *Perspect. Biol. Med.* 2011, 54, 557–577.

Sadeghi-Ardekani K, Haghghi M, Zarrin R. Effects of omega-3 fatty acid supplementation on cigarette *craving* and oxidative stress index in heavy-smoker males: A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Psychopharmacol.* 2018 Sep;32(9):995-1002. doi: 10.1177/0269881118788806. Epub 2018 Aug 23.

Sansone L, Milani F, Fabrizi R, Belli M, Cristina M, Zagà V, de Iure A, Cicconi L, Bonassi S, Russo P. Nicotine: From Discovery to Biological Effects. *Int J Mol Sci.* 2023 Sep 26;24(19):14570. doi: 10.3390/ijms241914570.

Saravia R, Ten-Blanco M, Pereda-Pérez I, Berrendero F. New Insights in the Involvement of the Endocannabinoid System and Natural Cannabinoids in Nicotine Dependence. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 10;22(24):13316. doi: 10.3390/ijms222413316.

Schassburger RL, Levin ME, Weaver MT, Palmatier MI, Caggiula AR, Donny EC, Sved AF: Differentiating the primary reinforcing and reinforcement-enhancing effects of varenicline. *Psychopharmacology (Berl)* 2015, 232:975–983.

Scofield MD, Heinsbroek JA, Gipson CD, et al. The nucleus accumbens: mechanisms of addiction across drug classes reflect the importance of glutamate homeostasis. *Pharmacol Rev* 2016; 68:816–871.

Simon JA, Fong J, Bernert JT Jr, Browner WS: Relation of smoking and alcohol consumption to serum fatty acids. *Am J Epidemiol* 1996; 144: 325–334.

Smith, L.C., George, O., 2020. Advances in smoking cessation pharmacotherapy: non-nicotinic approaches in animal models. *Neuropharmacology* 178, 108225. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108225>. Other: Epub 2020 Aug 3

Società Italiana di Tabaccologia (SITAB) (2018). *Linee guida per il trattamento della dipendenza da tabacco*. [https://www.tabaccologia.it/filedirectory/PDF/guide lines 2018_online.pdf](https://www.tabaccologia.it/filedirectory/PDF/guide%20lines%202018_online.pdf).

Stoddart K, Davies M, Oughton J, Malcolm E, AlSharari SD, Shoaib M. Selective Effects of Acutely Administered N-Acetyl-Cysteine in Rodent Models of Nicotine-Conditioned Behaviours. *Addict Biol.* 2025 Sep;30(9):e70051. doi: 10.1111/adb.70051.

Stuber GD, Sparta DR, Stamatakis AM, et al. Excitatory transmission from the amygdala to nucleus accumbens facilitates reward seeking. *Nature* 2011; 475:377-380.

Taylor SR, Badurek S, DiLeone RJ, Nashmi R, Minichiello L, Picciotto MR: GABAergic and glutamatergic efferents of the mouse ventral tegmental area. *J Comp Neurol* 2014, 522:3308–3334.

Thuksin, T., Lauprasert, P., Jiranukool, J., 2021. Effects of smoking cessation program by medications use reduction tobacco dependence type nicotine gum and Vernonia Cinerea Lozenge with an intensive counseling and behavioral therapies at home: a case study of Roi-Et province. *Indian J. Forensic Med. Toxicol.* 15 (3), 4469–4480. <https://doi.org/10.37506/ijfmt.v15i3.10487>.

Tutka P, Vinnikov D, Courtney RJ, Benowitz NL. Cytisine for nicotine addiction treatment: a review of pharmacology, therapeutics and an update of clinical trial evidence for smoking cessation. *Addiction.* 2019 Nov;114(11):1951-1969. doi: 10.1111/add.14721. Epub 2019 Jul 19.

Tzankova & N. Danchev (2007) Cytisine—from Ethnomedical use to the Development as a Natural Alternative for Smoking Cessation, *Biotechnol & Biotechnol Eq.* 2007; 21; 151-160.

U.S. Department of Health and Human Services. Smoking Cessation. A report of the surgeon general. In: Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2020. <https://www.hhs.gov/sites/default/files/2020-cessation-sgr-full-report.pdf>. Accessed 19 June 2020

Volkow ND, Michaelides M, Baler R. The Neuroscience of Drug Reward and Addiction. *Physiol Rev.* 2019 Oct 1;99(4):2115-2140. doi: 10.1152/physrev.00014.2018.

Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Swanson JM. Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. *Mol Psychiatry.* 2004 Jun;9(6):557-69. doi: 10.1038/sj.mp.4001507.

Yamaguchi T, Qi J, Wang H-L, Zhang S, Morales M: Glutamatergic and dopaminergic neurons in the mouse ventral tegmental area. *Eur J Neurosci* 2015, 41:760–772

Yan Y, Peng C, Arvin MC, Jin X-T, Kim VJ, Ramsey MD, Wang Y, Banala S, Wokosin DL, McIntosh JM, et al.: Nicotinic cholinergic receptors in VTA glutamate neurons modulate excitatory transmission. *Cell Rep* 2018,

Yehuda S: Omega-6/omega-3 ratio and brain related functions. *World Rev Nutr Diet* 2003;92: 37–56.

Wang W, Zeng F, Hu Y and Li X (2019) A Mini-Review of the Role of Glutamate Transporter in Drug Addiction. *Front. Neurol.* 10:1123. doi: 10.3389/fneur.2019.01123

Wang L, Shen M, Yu Y, et al. Optogenetic activation of GABAergic neurons in the nucleus accumbens decreases the activity of the ventral pallidum and the expression of cocaine context-associated memory. *Int J Neuropsychopharmacol* 2014; 17:753-763.

Wang, X. X., Cui, L. L., Gan, S. F., Zhang, Z. R., Xiao, J., Li, C. H., & Luo, F.(2022). Inhibition of oligodendrocyte apoptosis in the prelimbic medialprefrontal cortex prevents fentanyl-induced hyperalgesia in rats. *Journal of Pain*, 23(6), 1035–1050.

Wei, J., Lambert, T. Y., Valada, A., Patel, N., Walker, K., Lenders, J., Schmidt, C. J., Iskhakova, M., Alazizi, A., Mair-Meijers, H., Mash, D. C., Luca, F., Pique-Regi, R., Bannon, M. J., & Akbarian, S. (2023). Single nucleustranscriptomics of ventral midbrain identifies glial activation associatedwith chronic opioid use disorder. *Nature Communications*, 14(1), 5610.

Wessler, I.; Kirkpatrick, C.J. Acetylcholine beyond Neurons: The Non-Neuronal Cholinergic System in Humans: Non-NeuronalCholinergic System in Humans. *Br. J. Pharmacol.* 2008, 154, 1558–1571.

West R. Tobacco smoking: Health impact, prevalence, correlates and interventions. *Psychol Health*. 2017 Aug;32(8):1018-1036. doi: 10.1080/08870446.2017.1325890. Epub 2017 May 28.

Zaparoli JX, Sugawara EK, de Souza AA, Tufik S, Galduróz JC. Omega-3 Levels and Nicotine Dependence: A Cross-Sectional Study and Clinical Trial. *Eur Addict Res*. 2016;22(3):153-62. doi: 10.1159/000439525. Epub 2015 Nov 17

Zaparoli JX, Galduróz JC. Treatment for tobacco smoking: a new alternative? *Med Hypotheses*. 2012 Dec;79(6):867-8. doi: 10.1016/j.mehy.2012.09.009. Epub 2012 Oct 6.

Zell V, Steinkellner T, Hollon NG, Warlow SM, Souter E, Faget L, Hunker AC, Jin X, Zweifel LS, Hnasko TS: VTAglutamate neuron activity drives positive reinforcement absent dopamine co-release. *Neuron* 2020, 107:864– 873.e4.

Zhdanova IV and Piotrovskaya VR: Melatonin treatment attenuates symptoms of acute nicotine withdrawal in humans. *pharmacol Biochem Behav* 67: 131-135, 2000.

Zoli, M.; Pucci, S.; Vilella, A.; Gotti, C. Neuronal and Extraneuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Curr. Neuropharmacol.*2018, 16, 338–349

Zoli, M.; Pistillo, F.; Gotti, C. Diversity of Native Nicotinic Receptor Subtypes in Mammalian Brain. *Neuropharmacology* 2015,96, 302–311.