

Una review della letteratura sull'uso della N-Acetil Cisteina nella prevenzione delle ricadute nel tabagismo

Quando la cura è a portata di mano

Daniel L. Amram, Vincenzo Zagà, Massimo Baraldo

Riassunto

L'N-Acetil Cisteina (NAC) è un precursore dell'aminoacido cisteina che gioca un duplice ruolo metabolico. Tramite la produzione di glutazione ridotto, la cisteina partecipa alle attività antiossidanti dell'organismo mentre, attraverso il suo ruolo di modulazione del sistema glutammatergico, influenza il circuito cerebrale della gratificazione. In questa review vengono analizzati i principali lavori riguardanti l'effetto terapeutico "tradizionale" della NAC (flogosi acute e croniche delle vie respiratorie, terapia salvavita contro l'intossicazione acuta da paracetamolo o amanita phalloides), e il meccanismo d'azione della NAC sulla regolazione del segnale glutammatergico nel sistema mesocorticolimbico dopaminergico, sia al livello dell'Area Tegmentale Ventrale (VTA) che del Nucleo Accumbens (NACc), ritenuti fondamentali nel meccanismo delle dipendenze. La review prende in considerazione in maniera particolare gli studi sugli effetti terapeutici della NAC nella dipendenza da tabacco e sulle

A review of literature on the use of N-Acetyl Cysteine in relapse prevention of tobacco smoking

When treatment can be found just within reach

Daniel L. Amram, Vincenzo Zagà, Massimo Baraldo

Abstract

N-Acetyl Cysteine, (NAC) is a precursor of the amino acid cysteine, which acts in two important metabolic roles. Through its metabolic contribution to glutathione production, cysteine participates to the anti-oxidant activities of the body. Through its role as a modulator of the glutamatergic system, cysteine influences the brain reward-reinforcement pathway. In this review, we analyse some important studies which deal about traditional therapeutical proprieties (i.e. acute and chronic phlogosis of the respiratory tract, life-saving treatment for acute paracetamol intoxication or intoxication due to amanita phalloides mushroom ingestion), the mechanism of NAC regulation of the glutamatergic signalling in the mesolimbic system, both in the Ventral Tegmental Area (VTA) and in the Nucleus Accumbens (NACc), which are considered as important brain areas involved in the mechanisms of addiction. The review takes in consideration studies on therapeutical effects of NAC

ricadute dopo la cessazione. La NAC sembra essere sicura, tollerabile e poco costosa e perciò potrebbe essere indicata per i pazienti tabagisti che hanno concluso il programma della cessazione del fumo di tabacco, al fine di aiutarli, specie per quelli ad alto rischio, a ridurre i rischi di ricaduta.

Parole chiave: N-Acetil Cisteina, NAC, smettere di fumare, dipendenza da nicotina, ricaduta.

Introduzione

L'Acetilcisteina o N-Acetil Cisteina (NAC) è un derivato N-acetilato dell'amminoacido "solforato" cisteina. La NAC è una delle molecole farmaceutiche più conosciute fra le "specialità da banco" e più utilizzate dai medici, soprattutto dagli specialisti pneumologi e otorinolaringoiatri, come mucolitico e coadiuvante nella cura dei pazienti affetti da flogosi acute e croniche delle alte e basse vie respiratorie [1-3]. La NAC è un mucolitico sulle secrezioni mucose o mucopurulente delle vie respiratorie. L'attività pronta ed intensa della NAC sulla componente mucosa delle secrezioni è conseguente alla presenza nella molecola di un gruppo tiolico

libero (-S-H), in grado di ridurre e scindere i ponti disolfuro (-S-S-) responsabili dell'aggregazione delle proteine e quindi dell'alta viscosità del muco. L'attività della NAC sull'eventuale componente purulenta delle secrezioni è invece, dovuta alla sua capacità di depolimerizzare gli acidi nucleici. La NAC, modificando positivamente le caratteristiche reologiche qualitative e quantitative delle secrezioni delle vie aeree e favorendo il trasporto mucociliare, influisce in misura sostanziale sullo stato e sulla evoluzione della broncopneumopatia [1-3]. Questo effetto terapeutico clinico è stato supportato da vari studi di laboratorio come quello di Sheffner nel 1963 [1] e successivamente di Rogers e Jeffery che, nel 1986, evi-

denziarono come la NAC somministrata oralmente a ratti di laboratorio era in grado di "inibire" l'insorgenza di una bronchite indotta da fumo di tabacco [4]. Di recente, vari studi hanno dimostrato l'efficacia della NAC nella BPCO anche nel ridurre significativamente l'air trapping provocato dall'iperinsufflazione post-esercizio [5], nel diminuire l'infiammazione delle vie aeree indotta da fumo di tabacco attraverso l'induzione del fattore di protezione 16-kDa protein (CC16) prodotto dalle cellule di Clara [6] e nel ridurre i tassi di riacutizzazione nei pazienti con BPCO stabilizzata [7], in terapia e non, con corticosteroidi inalatori [8]. Nelle infezioni delle alte e basse vie respiratorie è stata dimostrata la capacità del-

in nicotine addiction and relapse after abstinence. NAC appears to be safe, well supported and inexpensive and thus may be prescribed to patients with tobacco related addiction who had achieved quit programmes, in order to reduce, especially for high risk patients, probabilities of relapse.

Keywords: N-Acetyl Cysteine, NAC, smoking cessation, nicotine addiction, relapse.

Introduction

Acetyl-cysteine or N-Acetyl cysteine (NAC) is a N-acetylated derivative of cysteine which is a sulphide amino acid. NAC is one of the most known chemicals among drugs sold "over the counter" and used by physicians, mostly by pneumologists and otolaryngologists, as a mucolytic drug and an adjunct in the treatment of patients with acute and chronic inflammation of the higher and lower respiratory tracts [1-3]. Acetyl-cysteine is a mucolytic drug that acts on the mucous or mucopurulent secretions of the airways. The quick and intense action of acetyl-cysteine on the mucous component of the secretions is due to the presence in the mole-

cule of a free thiol group, able to reduce and break disulphide bridges (S-S) responsible of the protein aggregation and thus the high viscosity of the mucus. The action of NAC on the purulent component of the secretions is due to its capacity to de-polymerise the nucleic acids. Acetyl-cysteine, by positively modifying the qualitative and quantitative characteristics of the airway secretions and fostering the mucociliary transport, deeply influences on the state and evolution of the pulmonary disease [1-3]. This clinical therapeutic effect has been supported by many laboratory studies such as those by Sheffner and colleagues in 1963 [1], and later on by Rogers and Jeffery who in 1986 pointed out how NAC

orally administered to rats was able to "inhibit" the insurgence of a tobacco smoke induced acute bronchitis [4]. Recently various studies showed the efficacy of NAC in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), also for its capacity to significantly reduce air trapping due to post-exercise hyperinsufflation [5], reduce airway phlogosis induced by tobacco smoke by means of the induction of the protection factor 16-kDa protein (CC16) produced by the Clara cells [6] and by reducing the levels of flare in stabilised COPD patients [7] with or without inhaled steroid treatment [8]. In higher and lower airway infections, the capability of NAC, also with a synergic and enforcement action with antibiotics,

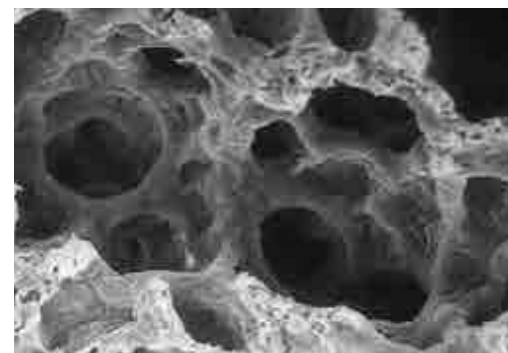
la NAC, anche in sinergia con gli antibiotici, di inibire la produzione di biofilm da parte di vari ceppi batterici e rinforzare l'azione battericida degli antibiotici [9,10].

Nel corso degli ultimi decenni la NAC è stata sempre più studiata in vari contesti patologici con il risultato che sono state individuate altre possibili sfaccettature terapeutiche della molecola. I tossicologi la conoscono come antidoto all'avvelenamento del paracetamolo e *Amanita phalloides* [11-13], da metalli pesanti, paraquat, acetaldeide, cumarina, interferone e quindi come salvavita, utilizzata a dosi massive i.v [14].

Negli ultimi anni, con lo studio Ifigenia, è stata dimostrata l'azione determinante della NAC ad alte dosi associata a prednisone, azatioprina nel miglioramento dei parametri funzionali respiratori e della curve di sopravvivenza nei pazienti affetti da fibrosi polmonare idiopatica, a bassa progressione [15,16].

Sempre in ambito respiratorio, la NAC sembra aver trovato un buon utilizzo anche nella sindrome di Sjogren [12].

Grazie al suo effetto antiossidante con l'aumento del glutathione ridotto endocellulare, la NAC presenta effetti protettivi contro la nefrotossicità indotta da mezzi di contrasto come agente chelante del metilmercurio [17,18] e in ambito tabaccologico, contro lo stress ossidativo da fumo di tabacco con riduzione degli addotti del DNA nel polmone, cuore, reni e aorta sia in vivo che nei ratti, esposti al fumo di sigaretta [2]. La NAC infatti ha un'impressionante gamma di meccanismi ed effetti protettivi verso il danno del DNA e cancerogenesi, modulazione di riparazione del DNA, inibizione di genotossicità e trasformazione cellulare, modulazione dell'espressione genica, alla sopravvivenza cellulare con la regolazione dell'apoptosi, attività anti infiammatoria, anti angiogenica, effetti im-



Enfisema polmonare.

munologici, inibizione della progressione verso la malignità, influenza sulla progressione ciclica cellulare, inibizione di lesioni pre-neoplastiche e neoplastiche, inibizione della invasione e della metastasi, e protezione verso effetti avversi di altri agenti chemio-preventivi o chemio-terapici. Vi è quindi significativa evidenza che NAC ha la capacità di modulare una varietà di danni DNA e cancro correlati [19].

to inhibit the bacterial strains' biofilm production and bactericidal action was demonstrated [9,10]. During these last decades, NAC has been more and more studied in different pathological fields with results that showed different therapeutic applications to the molecule. Toxicologists well know NAC properties as an antidote of paracetamol and *Amanita Phalloides* poisoning [11-13] but also for heavy metals, paraquat, acetaldehyde, coumarin and interferon poisonings and thus as a life saving treatment when used in massive intravenous dosages [14]. In the last few years, with the Ifigenia study, an important action of NAC at high dosages associated with prednisone, azathioprine of better respiratory function parameters and survival curves in patients affected by low progressive idiopathic pulmonary fibrosis, was demonstrated [15,16]. Always in the respiratory field, NAC seems to have a good utilisation also for

the Sjogren Syndrome [12]. Due to its antioxidant effect, with the increase of intracellular reduced glutathione, NAC shows protective effects against nephrotoxicity induced by contrast media as a chelating agent of methyl mercury [17,18], and in the tobacco field, against smoking-induced oxidative stress with the reduction of the DNA adducts in the lungs, heart, kidneys and aorta, both in vivo and in animal models [2]. In fact, NAC has an impressive range of mechanisms and protective effects towards DNA damage and carcinogenesis, modulation of DNA repairing, inhibition of genotoxicity and cellular transformation, modulation of gene expression, cellular survival with regulation of apoptosis, anti-inflammatory activity, anti angiogenicity, immunological effects, inhibition of progression towards malignancy, influence on the cellular cycle progression, inhibition of pre-neoplastic and neoplastic

lesions, inhibition of metastatic invasion, and protection towards adverse effects of other chemo-preventive or chemotherapies. There is thus significant evidence that NAC has the capacity to modulate a variety of DNA and cancer correlated damage [19].

Use of NAC in Psychiatry

A still not well known use of NAC is in the psychiatric field. In this area, NAC has its usefulness because it has been shown that cysteine, which participates to the general anti-oxidation activities of the body, and by means of its glutamate system modulation role in the brain, influences particularly the mesolimbic reward circuit. Thanks to these functions, NAC may offer a therapeutic effect for some psychiatric disorders, probably due to oxidative stress. One of the first studies on the use of NAC has been a case report upon the benefits on self-

Utilizzo della NAC in ambito psichiatrico

Un utilizzo ancora poco conosciuto della NAC è l'ambito psichiatrico. In questo campo la NAC ha trovato un suo utilizzo poiché si è visto che la cisteina, partecipando alle attività antiossidanti generali dell'organismo, attraverso il suo ruolo di modulatore del sistema glutammatergico a livello cerebrale, influenza in modo particolare il circuito mesocorticolimbico della ricompensa. Grazie a queste funzioni, la NAC può esercitare un effetto terapeutico per alcuni disturbi psichiatrici, probabilmente legati allo stress ossidativi. Uno dei primi studi sull'utilizzo è stato un case-report sul miglioramento di comportamenti auto-lesivi e *craving* in una paziente sofferente di sindrome da disordine post-traumatico e disturbo della personalità border-line [20], ma è anche stata impiegata per miglio-

rare l'omeostasi glutammatergica pre-frontale implicata nella schizofrenia [21,22] nei disturbi bipolari [23], nella tricotillomania [24] nel gioco d'azzardo [25], nell'onicofagia [26], nella dermatillomania [27] e in altri comportamenti con forti componenti impulsive e compulsivi [28]. Anche se i dosaggi, le strategie farmacologiche e i rischi a lungo termine non sono pienamente evidenti, NAC appare come un intervento promettente a basso rischio.

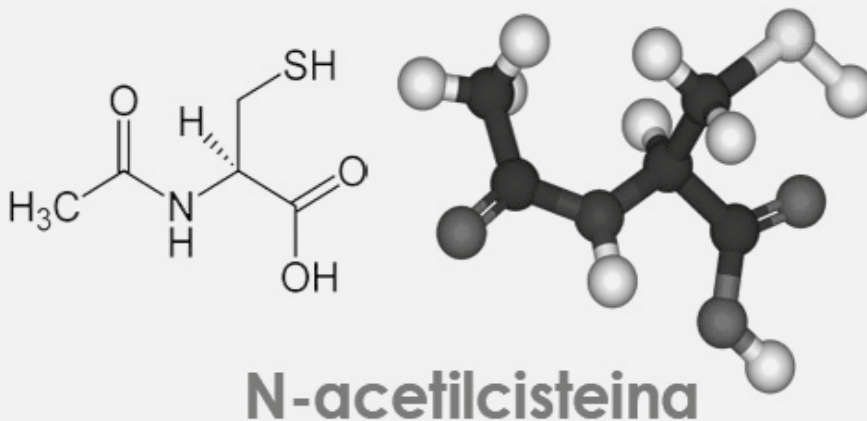
Questo meccanismo d'azione interviene anche nelle dipendenze da droghe, nicotina compresa. In questo contesto, la finalità ultima di ogni terapia delle dipendenze è, non solo, di raggiungere ma anche di mantenere l'astinenza dalla droga. Nell'ambito del tabagismo, la ricaduta è una regola piuttosto che un'eccezione per i fumatori che mirano a smettere di fumare. Questo obiettivo terapeutico è particolar-

mente difficile a causa delle potenti associazioni e interazioni tra l'esperienza interocettiva legata alla droga e agli stimoli circostanti. Sperimentare nuovamente una droga o uno stimolo correlato alla droga in seguito a un tentativo di cessazione riuscito può evocare e provocare un *craving* per la droga, quindi incrementare la probabilità di un ripristino del consumo di droga, spesso esitando in una ricaduta [29]. Perciò trovare tecniche e presidi farmacologici efficaci che abbiano come target l'impatto motivazionale contro una ricaduta nel consumo di droga (reintroduzione indotta dalla droga) o della paraphernalia legata alla droga (reintroduzione indotta da stimoli associati), sarebbe di alto valore terapeutico per mantenere l'astinenza da droghe. Quando un "dipendente" ricade e usa una volta la sostanza, in seguito ad astinenza, diventa ad alto rischio per riprendere il

injurious behaviour and cravings in a female patient suffering from post traumatic distress syndrome and border-line personality disorder [20], but it was also used to improve the pre-frontal glutamatergic homeostasis implicated in schizophrenia [21,22] in bipolar disorders [23] in trichotillomania [24], in gambling [25], in onychophagy [26], in dermatillomania [27] and in other behaviours with excess of impulsive and compulsive components [28]. Even if dosages, pharmacological strategies and long term risk assessments are not fully known, NAC appears to be a promising and a low risk therapeutical intervention. This mechanism of action may take place also in the field of substance abuse addiction, including nicotine. In this frame, the main goal of any treatment is not only to reach, but also to maintain an abstemious state towards that drug. In the tobacco cessation field, relapse is a rule rather than an exception for

smokers who aim to quit smoking. This therapeutical goal is particularly difficult because of the strong associations and interactions between the interoceptive experience linked to the drug and the environmental stimuli. Trying a drug again or a drug-linked cue after an at-

tempt of cessation may evoke and elicit a slip of drug use, often resulting in a relapse [29]. This is the reason why, finding effective techniques and pharmacological treatments which target the motivational impact against a relapse of drug use (relapse induced by the drug)



Formula strutturale della NAC

consumo regolare, virando verso una piena ripresa della propria dipendenza [30].

La NAC può quindi essere un valido aiuto anche contro la ricaduta e la ripresa del consumo di droghe, ivi compresa la nicotina.

Meccanismo d'azione

La NAC è un precursore dell'aminoacido cisteina ed è dotata di un gruppo sulfidrilico libero (S-H) che la rende capace di una duplice azione: mucolitica e antiossidante. La NAC viene deacetilata in cisteina ed aumenta i gruppi sulfidrilici tessutali con diminuzione della viscosità delle secrezioni delle alte e basse vie respiratorie [1-3]. La deacetilazione della NAC in cisteina rende un importante precursore del sistema del glutatione [31].

Le difese antiossidanti sono incentrate sul sistema del glutatione. Il pool cellulare del glutatione è il ri-

sultato di un equilibrio dinamico fra la sua sintesi ed il turnover correlato; quest'ultimo consiste principalmente nella liberazione di glutatione ridotto (GSH) della cellula [32]. Il GSH svolge un ruolo importante nei meccanismi di detossificazione e nella protezione delle cellule contro gli ossidanti e radicali liberi [33]. A livello cerebrale, la NAC ha la capacità di passare la barriera emato-encefalica e permette la restaurazione dei livelli di glutatione neuronale e gliale, giocando un ruolo nella omeostasi ossidativa del cervello e proteggendo i neuroni contro lo stress ossidativo.

Ad oggi comunque, sono pochi gli studi rigorosi che valutano l'efficacia della NAC nel trattamento della dipendenza e dei disturbi dello spettro impulsivo-compulsivo (compreso dipendenze comportamentali, disturbi del controllo degli impulsi, e disturbi ossessivo-compul-

sivi e correlati). Pur con dei limiti statistici, tuttavia, gli studi disponibili hanno fornito risultati consistenti secondo i quali la NAC sembra abbia sempre ridotto il consumo, il *craving* o i sintomi da astinenza durante il periodo di trattamento e, a volte, risultando efficace, con un effetto persistente, anche sulla ricaduta alla fine dei periodi dello studio [34].

Da un punto di vista psicobiologico, la dipendenza riflette lo sviluppo di una perdita di controllo esecutivo su abitudini incentivanti aberranti [35,36], come esito di processi di neuroplasticità indotti dalle droghe in soggetti vulnerabili. Questi processi di plasticità derivano dall'impatto dell'azione della droga sul sistema dopaminergico mesocorticolimbico, inducendo una serie di cambiamenti nel cervello a causa di una significativa riorganizzazione neuronale [37]. Una par-

or by means of paraphernalia linked to the drug (relapse induced by associated cues), would be of important therapeutical valour to maintain a state of drug abstinence. When an addict slips, and takes albeit only once the drug, after abstinence, he or she is at high risk for relapsing towards a regular drug abuse, shifting towards a complete restarting of his or her addiction [30]. NAC may thus be an important aid, also in case of relapse and renewal of steady drug, included nicotine, consumption.

Mechanism of Action

NAC is a precursor of the amino acid cysteine and is equipped with a free sulphide group (S-H) which entitles it to have a dual action: mucolytic and antioxidant. NAC is de-acetylated in cysteine and enhances the sulphide groups in the tissues with a reduction of the viscosity of the secretions of the high

and low respiratory airways [1-3]. The de-acetylation of NAC in cysteine makes it an important precursor of the glutathione system [31]. The anti-oxidant defences are centred on the glutathione system. Le cellular pool of glutathione is the result of a dynamic equilibrium between its synthesis and the correlated turnover; this latter consists mainly in the cellular liberation of reduced glutathione (GSH) [32]. GSH plays an important role in mechanisms of detoxification and cell protection against oxidants and free radicals [33]. At the brain level, NAC has the capacity to pass the blood-brain barrier and guarantees the restoration of neural and glial cell levels of glutathione, playing a role in the brain oxidative homeostasis and protecting the neurons against oxidative stress. Up to date, however, few rigorous studies, that evaluate the efficacy of NAC in addiction treatments and in disorders of the im-

pulsive-compulsive spectrum (including addictive behaviours, disorder of impulse control, obsessive and compulsive disorders (OCD) and correlated disorders), are available. Even though with statistical limitations, however, these studies have provided consistent results by which NAC seems to have reduced use, craving or withdrawal symptoms during the treatment period, and, sometimes, showing to be efficient, with a persisting effect, also on relapse at the end of the study period [34]. From a psychological point of view, addiction reflects the development of a loss of executive control on aberrant incentive habits [35,36], as a result of neuroplasticity processes induced by drugs on vulnerable people. These plasticity processes result from the impact of the actions of drugs on the dopaminergic mesocortico-limbic system, inducing a series of changes in the brain due to a significant neuronal reorgani-

te importante di questa riorganizzazione è dovuta al "long term potentiation" (LTP) e cioè un rafforzamento delle sinapsi eccitatorie glutamatergiche come risultato del consumo di droga. I segnali di dopamina dai neuroni che originano dell'area Tegmentale Ventrale (VTA) e bersagliano il Nucleo Accumbens (NACc) nello Striato Ventrale, modulano la plasticità sinaptica del glutammato, e risultano essere fortemente coinvolti nella fisiopatologia della dipendenza [38]. In modelli animali, usando la somministrazione passiva alla droga, questi neuroni mostrano un rafforzamento delle sinapsi eccitatorie (LTP), N-metil-aspartato (NMDA) recettore – dipendente, 24 ore dopo una somministrazione non contingente (da parte di un operatore) acuta di cocaina, amfetamina, nicotina, etanolo e morfina [39,40]. Da notare che questo rafforzamen-

to non era evidenziato con farmaci non psicoattivi d'abuso come fluoxetina o carbamazepina, suggerendo il ruolo che questa plasticità possa giocare nel determinare la capacità di una sostanza di instaurare una dipendenza dopo un uso ripetuto nel tempo.

Nei ratti, una successiva esposizione a cocaina, in seguito all'estinzione dell'autosomministrazione, è associata a un rilascio di glutammato dalle proiezioni prefrontali (PFC) al nucleo accumbens (NACc) [41] e questo rilascio può fornire il meccanismo che scatena la reintroduzione della ricerca della droga. Il trattamento acuto con NAC ha dimostrato di attenuare la reintroduzione indotta da droga. I ratti che avevano ricevuto trattamento con NAC mostravano ridotta ricerca della cocaina in modo significativo rispetto a quelli che erano trattati con soluzione salina per 7 gg. [42].

In modelli pre-clinici di dipendenza, la NAC appare poter regolare i sistemi coinvolti nella omeostasi del glutammato nel cervello. L'omeostasi del glutammato è riferita all'equilibrio tra livelli di glutammato sinaptici e i livelli extra-sinaptici che regolano la neurotrasmissione stabile. La disponibilità extra-sinaptica del glutammato è primariamente fornita dal sistema di scambio cistina/glutammato (detto "sistema xCT") scoperto sulle membrane delle cellule gliali del cervello [43,44]. Quindi, la NAC può indurre un ripristino delle funzioni *down-regulation* del xCT e dei recettori glutamatergici GLT-1 [45,46].

Questi effetti sono indicativi della protezione a lungo termine della omeostasi del glutammato come risultato del trattamento con NAC [47]. Questi risultati suggeriscono che la somministrazione della NAC

sation [37]. An important part of this reorganisation is due to "long term potentiation" (LTP), that is a reinforcement of the excitatory glutamatergic synapses caused by drug consumption. The dopamine signals from neurons which originate from the Ventral Tegmental Area (VTA) and target the Nucleus Accumbens (NACc) of the Ventral Striatum, modulate the glutamate synaptic plasticity, resulting strongly involved in the physiology of addiction [38]. In animal models, using passive administration of drugs, these neurons show a reinforcement of the excitatory synapses (LTP), N-methyl-aspartate receptor (NMDA) dependent, 24 hours after an acute non contingent administration (i.e. by an operator) of cocaine, amphetamine, nicotine, ethanol and morphine [39,40]. It should be noticed that this reinforcement is not evidenced by administration of non psychoactive drugs such as fluoxetine or carbamazepine, sug-

gesting a role that this plasticity may play in the determination of the capacity of a substance to establish an addiction after over time repeated use. In rat models, a later exposition to cocaine, after extinction of self-administration, is associated with a release of glutamate in the prefrontal cortex (PFC) projections to the nucleus accumbens (NACc) [41] and this release may provide the mechanism that triggers the re-introduction of drug seeking behaviour. An acute treatment with NAC has shown to minimise the re-introduction induced by drugs. The rats who had received treatment with NAC showed a significant reduction of cocaine seeking, with respect to those treated with a saline solution for 7 days [42].

In pre-clinical models of addiction, NAC appears to regulate systems involved in the brain's glutamate homeostasis. The homeostasis of glutamate is referred to the balance

between synaptic and extra-synaptic glutamate levels which stabilises neurotransmission. The extra-synaptic availability is primarily equipped by the exchange system cysteine/glutamate (so-called xCT system) found on the brain glial cell membranes [43,44]. Thus, NAC may induce the resetting of the down-regulation functions of xCT and of the GLT-1 glutamatergic receptors [45,46]. These effects are indicated to have long termed protective capacities on the glutamate homeostasis as a result of treatment with NAC [47]. This data suggests that the administration of NAC during self-administration may yield to a protection against reduction of extracellular glutamate induced by withdrawal in the NACc and the sequential reintroduction induced by cocaine. NAC is known as a precursor of the endogenous antioxidant glutathione (GSH), the synthesis of which depends on the activity of the xCT system. In addi-

durante l'autosomministrazione provvedeva a una protezione contro la riduzione del glutammato extracellulare indotta dall'astinenza nel NACc e la conseguente reintroduzione indotta da cocaina.

La NAC è nota come precursore dell'antiossidante endogeno glutathione (GSH), la cui sintesi dipende dall'attività del sistema xCT. Oltre a proteggere le cellule cerebrali dallo stress ossidativo, il GSH è dimostrato promuovere la responsività dei recettori NMDA alla stimolazione glutammatergica [48,49].

Gli esiti di studi preclinici indicano che il sistema glutammatergico è coinvolto in maniera importante nella dipendenza da nicotina. Negli animali, composti che riducono la neurotrasmissione glutammatergica, riducevano l'autosomministrazione o il ripristino di comportamenti di ricerca della nicotina. Questi risultati suggeriscono che trattamenti

che riducono la trasmissione glutammatergica globalmente possono ridurre l'effetto di rinforzo del fumo di tabacco e prevenire la ricaduta del fumo di tabacco in umani. Inoltre, i composti che aumentano il rilascio di glutammato, miglioravano i deficit di ricompensa associati con l'astinenza da nicotina in animali, e quindi possono mitigare i sintomi simil-depressivi associati alla mancanza di nicotina in umani.

Nel loro insieme, i dati preclinici indicano che diversi recettori glutammatergici sono coinvolti nella mediazione di diversi aspetti della dipendenza da nicotina. Questi dati hanno implicazioni per la scoperta e lo sviluppo di nuove terapie farmacologiche che bersagliano il sistema glutammatergico per coadiuvare la cessazione del fumo di tabacco [50].

NAC nella dipendenza da nicotina

Knackstedt e coll. hanno studiato il ruolo dello scambio cisteina-glutammato nella dipendenza da nicotina sia in modelli sui ratti che negli umani.

Per lo studio della riduzione del fumo di sigarette nell'uomo, fumatori con dipendenza alla nicotina furono trattati, dagli stessi autori, per 4 settimane con NAC (2400mg/di) per promuovere lo scambio cisteina-glutammato vs placebo. I fumatori umani trattati con NAC risultavano aver fumato meno sigarette, e non vi fu alcun effetto di NAC sul calcolo di livelli di CO, *craving* o astinenza. Gli autori concludono che lo scambiatore cisteina-glutammato e il trasportatore del glutammato sono down-regolati dopo aumentata attività di scambio con NAC e riduceva il numero delle sigarette fumate negli individui con dipendenza da nicotina [45].

tion to protecting brain cells from oxidative stress, GSH was proved to promote responsiveness of NMDA receptors in the glutamatergic stimulation [48,49]. The results of pre-clinical studies evidence that the glutamatergic system is importantly involved in nicotine addiction. In animals, compounds that reduced the glutamatergic neurotransmission reduced self-administration or reprise of nicotine seeking behaviours. These findings suggest that treatment that reduce the glutamatergic transmission may globally reduce tobacco smoking reinforcement effects and prevent smoking relapse in humans. Moreover, compounds that enhance glutamate release, improved the reward deficits associated with nicotine withdrawal in animals, and therefore may reduce the depressive-like symptoms associated with nicotine withdrawal in humans. Taken together, preclinical data indicate that different glutamatergic receptors

are involved in mediating different aspects of nicotine addiction. These findings have implications for the discovery and development of new pharmacological treatments which target the glutamatergic system to assist the cessation of tobacco smoking [50].

NAC and nicotine addiction

Knackstedt et al. studied the role of the cysteine-glutamate exchange in nicotine dependence both in rat and in human models. Concerning the study of human reduction of cigarette smoking, smokers addicted to nicotine were treated by the authors for 4 weeks with NAC (2400mg/day) to enhance the cysteine – glutamate exchange, vs. placebo. Smokers treated with NAC were seen to smoke less cigarettes and there was no effect whatsoever of NAC on the calculated CO levels, craving of withdrawal. The authors conclude that the exchange

cysteine – glutamate and glutamate transporter are down-regulated by enhanced exchange activity with NAC and reduced the number of smoked cigarettes by individuals with nicotine addiction [45]. In another double blind, controlled with placebo, pilot study, Schaall and colleagues assessed 22 students aged 20 or more, with an average smoking period of 6 years, treated with NAC (1800mg twice daily) or placebo, for 4 days. At the end of the treatment, the subjects were invited to smoke a cigarette and to attribute a score of the rewarding effect of this cigarette. There were no significant effects of NAC on craving ($p = 0,23$) but only a statistical trend towards less withdrawal symptoms in those who were treated with NAC ($p = 0,07$).

Interestingly, the individuals who had received treatment with NAC considered the first cigarette after a period of abstinence of 3-5 days significantly less rewarding with

In un altro studio pilota, in doppio cieco, controllato con placebo, Schmaall e coll., valutarono 22 studenti di età pari o superiore a 20 anni, con un tempo medio di fumo di sigarette di 6 anni, trattati con NAC (1800mg due volte al giorno) o placebo, per 4 giorni.

Alla fine del trattamento, i soggetti erano invitati a fumare una sigaretta e di dare un punteggio all'effetto di ricompensa di questa sigaretta. Non ci fu alcun effetto significativo della NAC sul craving ($p = 0,23$) ma solo un *trend* statistico verso minori sintomi da astinenza nella condizione di trattamento con la NAC ($p = 0,07$). La cosa interessante fu che i soggetti che avevano ricevuto trattamento con NAC considerarono la prima sigaretta dopo un periodo di astinenza di 3-5 giorni come significativamente meno gratificante rispetto ai soggetti trattati con placebo ($p = 0,04$).

I risultati di questo studio pilota, se-

condo l'autore, sono incoraggianti e suggeriscono che NAC possa essere una opzione per un nuovo trattamento per la prevenzione della ricaduta nella dipendenza da nicotina [51].

Le ipotesi delle indicazioni terapeutiche della NAC sulla prevenzione della ricaduta nella dipendenza da nicotina sono avvalorate dal *trial* iniziato nel gennaio del 2013 e da poco terminato e pubblicato, da parte dell'organo preposto alla vigilanza della validità dei trial clinici della NIH Statunitense (www.clinicaltrials.gov).

Questo studio, randomizzato, in doppio cieco con controllo, della durata di 12 settimane, ha valutato l'efficacia clinica di NAC a dosi di 3g/giorno versus placebo su 34 pazienti ambulatoriali con un disturbo da uso di tabacco (TUD) resistenti alla terapia, sottoposti in contemporanea a una terapia di gruppo comportamentale focaliz-

zata sul fumo di tabacco. I partecipanti avevano una valutazione quotidiana dell'uso di sigarette (outcome primario), del monossido di carbonio (CO_{EXH}) (outcome secondario) e livelli di cessazione definiti come $\text{CO}_{\text{EXH}} < 6$ ppm. La depressione era misurata con il Hamilton Depression Rating Scale (HDRS). I dati erano analizzati usando analisi convenzionali e punti di arrivo intenzioni al trattamento.

I risultati hanno evidenziato che il trattamento con NAC riduceva significativamente il numero di sigarette fumate quotidianamente (Δ mean \pm SD $-10,9 \pm 7,9$ vs. $-3,2 \pm 6,1$ nel gruppo placebo) e di CO_{EXH} (Δ mean \pm SD = $-10,4 \pm 8,6$ ppm nei trattati con NAC versus $-1,5 \pm 4,5$ ppm nel gruppo placebo). Alla fine dello studio, dopo 12 settimane, il 47,1% dei trattati con NAC versus il 21,4% di pazienti trattati con placebo sono stati in grado di cessare il fumo di tabacco secon-

respect to those treated with placebo ($p = 0,04$). The results of this pilot study, according to the author, are encouraging and suggest that NAC may be an option for a new treatment to prevent relapse in nicotine addiction [51]. The hypotheses of therapeutic indications of NAC for prevention of relapse of nicotine addiction are corroborated by a trial started in January 2013 and recently completed and published by the US NIH clinical trials validity supervising board (www.clinicaltrials.gov). This randomised double blind controlled study, lasting 12 weeks, assessed the clinical validity of NAC with a dosage of 3g per day vs. placebo on 34 patients with tobacco use disorder (TUD) resistant to other therapies, who underwent in the same time group cognitive behavioural therapy dedicated to tobacco smoking.

The participants were daily assessed for their cigarette consumption (primary outcome), exhaled carbon

monoxide (CO_{EXH}) (secondary outcome), with ceasing rates considered as $\text{CO}_{\text{EXH}} < 6$ ppm. Depressive symptoms were measured with the Hamilton Depression Rating Scale (HDRS). Data were elaborated using conventional analysis and the end point of the treatment. The results evidenced that NAC treatment significantly reduced the daily number of cigarettes smoked (Δ mean \pm SD $-10,9 \pm 7,9$ vs. $-3,2 \pm 6,1$ in the placebo group) and CO_{EXH} (Δ mean \pm SD = $-10,4 \pm 8,6$ ppm in the NAC-treated versus $-1,5 \pm 4,5$ ppm in the placebo group). At the end of the study, 47,1% of those treated with NAC versus 21,4% of placebo-treated patients were able to quit smoking as defined by $\text{CO}_{\text{EXH}} < 6$ ppm. NAC treatment significantly reduced the HDRS score in patients with tobacco use disorder. The authors concluded that treatment with NAC may have a clinical efficacy in TUD. NAC combined with

appropriate psychotherapy appears to be an efficient treatment option for TUD [52].

Mc Clure and coll. recently published a 4 week pilot study on few patients ($n = 10$) of a combined use of NAC (up to 2400mg twice daily) and varenicline (VAR) (2mg twice daily). The rationale of this combination was that both acted on the glutamate system in different ways: NAC restores the normal glutamate signalling system, while varenicline has partial agonist properties for the nAChRs (nicotinic acetylcholine) receptors. Participants referred, during the weekly evaluations, some mild adverse effects. 21 adverse effects were mentioned by 8 participants [53]. According to the authors, the preliminary data provides for an early demonstration of security and feasibility concerning the simultaneous administration of NAC and VAR in smokers, also considering the low prevalence of side effects

do il criterio di controllo del $CO_{EXH} < 6$ ppm. I pazienti trattati con NAC avevano una riduzione significativa del punteggio al HDRS. Gli autori conclusero che il trattamento con NAC può avere un'efficacia clinica nel TUD, specie quando combinato con adeguata psicoterapia [52].

McClure e collaboratori hanno pubblicato di recente uno studio pilota di 4 settimane su pochi pazienti ($n = 10$) di uso combinato, per la prima volta, fra NAC (2400mg due volte al giorno) e vareniclina (VAR) (2mg due volte al giorno). La logica dietro questa combinazione era che ambedue i farmaci agivano sul sistema glutammatergico in modo diverso: NAC ripristinava il normale sistema di segnale, mentre la vareniclina era un parziale agonista per il recettore nAChR. I partecipanti riferivano, nelle valutazioni settimanali, alcuni effetti avversi. 21 effetti collaterali erano riferiti da 8 partecipanti [53]. Secondo gli autori, i

dati preliminari forniscono una prima dimostrazione della sicurezza e fattibilità della contemporanea somministrazione di NAC e VAR nei fumatori di sigarette vista anche la bassa prevalenza degli effetti collaterali l'ottima compliance. Sebbene la riduzione del fumo sia stata interpretata con cautela per la mancanza del gruppo di controllo, tuttavia questi dati incoraggiano ulteriori studi sull'uso combinato di NAC e VAR per la cessazione del fumo di tabacco [53].

Conclusioni

Globalmente considerato, questo inaspettato mezzo di trattamento, la NAC, sta implicando nuove vie percorribili per obiettivi terapeutici in patologie per le quali mancano trattamenti univoci consolidati, aprendo la via allo sviluppo di altre terapie basate su ipotesi razionali. A livello neurobiologico, è ipotizzabile che il riassetto dei li-

velli extra-sinaptici di glutammato nel cervello indotti da NAC possa interessare la componente comportamentale della "ricerca", che sia una droga d'abuso, una partita a poker alla *slot machine* o il sollievo dall'ansia ottenuto con il manipolare i capelli in modo compulsivo. Studi pre-clinici, possono aiutare a chiarire il substrato principale psicologico e neurobiologico associato attraverso cui la NAC esplica la sua azione nelle diverse dipendenze, siano esse da comportamento o da droghe [54,55].

Gli studi clinici sulla NAC nella terapia del tabagismo, ancorché in numero ancora limitato, mettono in evidenza l'azione della molecola in questione come un "intensificatore" cognitivo (56), con il miglioramento del controllo inibitorio, dei processi di attenzione e di capacità decisionale che possono aiutare i fumatori a fronteggiare con maggiore efficacia situazioni ambientali stressanti e complicati.

and the excellent compliance. Even if the smoking reduction has been interpreted with caution, because of the lack of controls, however this data encourages other studies on the combined use of NAC and VAR for smoking cessation [53].

Conclusions

Taken as a whole, NAC, unexpected means of treatment, is entailing new viable therapeutic targets for addictive diseases, actually without univocally established treatments, paving the way of development of other therapies based on rational assumptions. On a neurobiological level, it is probable that the reassessment of extra-synaptic levels of glutamate induced by NAC in the brain may influence the behavioural aspect of "seeking", may it be for drugs of abuse, a poker game on a slot machine or the apparent relief from anxiety achieved by compulsive manipulating hair.

Preclinical studies may help to enlighten the main psychological and neurobiological mechanisms by which NAC exerts its action in various addictive states whether behavioural or substance abuse addiction [54,55].

Clinical studies on NAC as a treatment for cigarette smoking, even if still very few, evidence the action of the molecule as a cognitive intensifier [56], with a better inhibitory control on attention processes and decision skills that may help smokers to cope more effectively with stressful and complicated environmental smoking related situations. NAC appears to be safe, tolerable, inexpensive and readily available, which adds further interest for its use [57]. It may be useful to prescribe NAC to ready to quit smoking patients not only in the smoking cessation phase but also to those who had already concluded their therapeutic programme of smoking cessation, with the aim

to help them reduce the risk of relapse; namely in high risk patients and/or with comorbidities such as cardiovascular diseases, substance use disorder, pathological gambling. Finally it should not be underestimated the use of NAC as an excellent drug in preventing pathologies from mutations induced by tobacco smoke, that should be proposed to each patient at high risk for these kinds of diseases, such as current and former smokers. NAC may also be used as an effective protection against oxidative stress situations and/or inflammation of the pulmonary epithelium induced by e-liquids in e-cigarette users, reducing for them a potential risk factor [58].

La NAC appare sicura, tollerabile e poco costosa e la sua pronta disponibilità aggiunge ulteriore interesse al suo utilizzo [57]. Potrebbe essere utile prescrivere la NAC ai pazienti tabagisti sia in fase di smoking cessation che in quelli che hanno già concluso il programma terapeutico della cessazione del fumo di tabacco, al fine di aiutarli a ridurre i rischi di una ricaduta, in particolare nei pazienti ad alto rischio e/o con comorbidità come patologie cardiovascolari, disturbo da uso di sostanze psicotrope, disturbo da gioco d'azzardo patologico. Infine da non sottovalutare la NAC

come eccellente farmaco nella prevenzione delle patologie da mutazioni indotte dal fumo di tabacco, da proporre, a nostro avviso, a tutti i pazienti ad alto rischio per queste malattie, come fumatori attuali o ex-fumatori. La NAC potrebbe anche essere un efficace mezzo protettivo contro situazioni di stress ossidativi e/o infiammatori a carico degli epitelii polmonari indotte da liquidi negli utilizzatori di sigarette elettroniche, riducendo per essi un potenziale fattore di rischio [58].

[*Tabaccologia* 2016; 3:29-39]

Vincenzo Zagà

✉ caporedattore@tabaccologia.it
Pneumologo, Bologna
Vicepresidente Società Italiana di Tabaccologia (SITAB)

Daniel L. Amram

Medico della Prevenzione,
Ambulatorio Tabaccologico
Consultoriale, Az. USL 5 Pisa

Massimo Baraldo

Farmacologo clinico,
Centro Antifumo Università degli
Studi di Udine, Udine

► *Disclosure: gli autori dichiarano l'assenza di conflitto d'interessi.*

Bibliografia

- Sheffner AL. The reduction in vitro viscosity of mucoprotein solutions by a new mucolytic agent, N-acetyl-L-cysteine. *Ann N Y Acad Sci.* Mar 30 1963;106:298-310.
- Van Schooten JV, Besarati Nia A, De Flora S et al. Effects of oral administration of N-acetyl-L-cysteine: a multi-biomarker study in smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11(2):167-175.
- Mura M. Mucolitici e mucoregolatori nel trattamento della broncopneumopatia cronica ostruttiva. *Tabaccologia* 2005; 2:27-30.
- Rogers DF, Jeffery PK. Inhibition by Oral N-Acetylcysteine of Cigarette Smoke-Induced "Bronchitis" in the Rat Experimental Lung Research, Vol. 10, No. 3, Pages 267-283, 1986.
- Stav D, Raz M. Effect of N-acetylcysteine on air trapping in COPD. A randomised placebo-controlled study. *Chest* 2009;136:381-386.
- Liao JP, Chi CH, Li HC, Tan G. Effects of N-acetylcysteine on Clara cells in rats with cigarette smoke exposure. *Chin Med J* 2010;123(4):412-417.
- Tse HN et al. High-dose N-acetylcysteine in stable COPD. The 1-year, double-blind, randomized, placebo-controlled HIACE Study. *Chest* 2013;144:106-118.
- Zheng JP et al. High-dose N-acetylcysteine in the prevention of COPD exacerbations: rationale and design of the PANTHEON Study. *J Chronic Obstruct Pulm Di* 2012;94:1-8.
- Quah SY1, Wu S, Lui JN, Sum CP, Tan KS. N-acetylcysteine inhibits growth and eradicates biofilm of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2012 Jan;38(1):81-85.
- Bozzolascio M, Debbia EA, Schito AM. Rilevanza dei biofilm batterici nelle infezioni respiratorie: problematiche terapeutiche e possibili soluzioni. *GIMMOC* 2002; Vol. VI, n° 3: 203-215.
- Hung OL, Nelson LS. Chapter 184. Acetaminophen. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS, eds. *Tintinalli's Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide*. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2011.
- American College of Emergency Physicians. Clinical Policy: Critical Issues in the Management of Patients Presenting to the Emergency Department With Acetaminophen Overdose. *Ann Emerg Med* 2007;50:292-313.
- Heard KJ. Acetylcysteine for Acetaminophen Poisoning. *N Engl J Med* 2008;359:285-292.
- AA.VV. Monograph N-acetyl cysteine, alternative medicine review vol. 5, n.5, 2000.
- Behr J, Demedts M, Buhl R et al. Lung function in idiopathic pulmonary fibrosis – extended analyses of the IFIGENIA trial. *Respiratory Research* 2009;10:101.
- Demedts M, Behr J, Buhl R. IFIGENIA Study Group et al. High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2005;353(21):2229-2242.
- Briguori C, Quintavalle C et al. Nephrotoxicity of contrast media and protective effects of acetylcysteine. *Arch Toxicol* 2011;85:165-173.
- Khanna AK, Xu J, Mehra MR. Antioxidant N-acetyl cysteine reverses cigarette smoke-induced myocardial infarction by inhibiting inflammation and oxidative stress in a rat model. *Laboratory Investigation* 2012;92:224-235; doi:10.1038/labinvest.2011.146.
- De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F. Balansky Mechanisms of N-Acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking related endpoints. *RM. Carcinogenesis* 2001 vol. 22 n.7 pp. 999-1013.
- Pittenger C, Krystal JH, Coric V. Initial evidence of the beneficial effects of glutamatemodulating agents in the treatment of self-injurious behavior associated with borderline personality disorder. *J Clin Psychiatry* 2005;66:1492-1493.
- Lavoie S, Murray MM, Deppen P et al. Glutathione precursor, N-acetyl-cysteine, improves mismatch negativity in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacol* 2008; 33: 2187-2199.
- Berk M, Copolov D, Dean O et al. N-acetyl cysteine as a glutathione precursor for schizophrenia – a double-blind, randomized, placebocontrolled trial. *Biol Psychiatry* 2008;64: 361-368.

23. Berk M, Copolov DL, Dean O et al. N-acetyl cysteine for depressive symptoms in bipolar disorder – a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Biol Psychiatry* 2008; 64:468-475.
24. Grant JE, Odlaug BL, Kim SW. N-acetylcysteine, a glutamate modulator, in the treatment of trichotillomania: a double-blind, placebo-controlled study. *Arch Gen Psychiatry* 2009;66:756-763.
25. Grant JE, Kim SW, Odlaug BL. N-acetyl cysteine, a glutamate modulating agent, in the treatment of pathological gambling: a pilot study. *Biol Psychiatry* 2007;62:652-657.
26. Berk M, Jeavons S, Dean OM et al. Nail-biting stuff? The effect of N-acetyl cysteine on nail biting. *CNS Spectrums* 2009;14:357-360.
27. Odlaug BL, Grant JE. N-Acetyl Cysteine in the treatment of grooming disorders. *J Clin Psychopharmacol* 2007;27: 227-229.
28. Dean O, Giorlando F et al. N-Acetylcysteine in psychiatry: current therapeutic evidence and potential mechanisms of action. *J Psychiatry Neurosci* 2011;36:78-86.
29. Niaura RS, Rohsenow DJ et al. Relevance of cue reactivity to understanding alcohol and smoking relapse. *J Abnorm Psychol* 1988;97:133-152.
30. Shadel WG, Martino et al. Lapse-induced surges in craving influence relapse in adult smokers: an experimental investigation. *Health Psychol*. doi: 10.1037/a0023445.
31. Mura M, Zagà V, Fabbri M. Strategie di oncoprevenzione con antiossidanti nei confronti dei radicali liberi del fumo di tabacco. *Tabaccologia* 2003;3:23-28.
32. Grassi C. Specie reattive dell'ossigeno e malattie polmonari. In: Allegra L, Crystal RG, Grassi C. GSH System – Glutathione in antioxidant defense. *Excerpta Medica* 1992, ed. italiana; pp. 59-62.
33. Leanderson P. Cigarette smoke-induced DNA damage in cultured human lung cells. *Annals New York Academy of Sciences*. *Ann N Y Acad Sci* 1993;686:249-259.
34. Olive MF, Cleva RM et al. Glutamatergic medications for the treatment of drug and behavioural addictions. *Pharmacol Biochem Behav* 2012;100:801-810.
35. Belin D, Jonkman S et al. Parallel and interactive learning processes within the basal ganglia: Relevance for the understanding of addiction. *Behavioural Brain Research* 2009;199(1):89-102.
36. Belin D, Everitt BJ. The Neural and Psychological Basis of a Compulsive Incentive Habit. In: *Handbook of basal ganglia structure and function*, Steiner. H, Tseng, K, eds Elsevier, Academic Press (2010).
37. Lüscher C, Malenka RC. Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: from molecular changes to circuit remodelling. *Neuron* 2011;69:650-663.
38. Chen BT, Hopf FW, Bonci A. Synaptic plasticity in the mesolimbic system. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1187:129-139.
39. Saal D, Dong Y, Bonci A, Malenka RC. Drugs of abuse and stress trigger a common synaptic adaptation in dopamine neurons. *Neuron* 2003;37:577-582.
40. Ungless MA, Whistler JL, Malenka RC, Bonci A. Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons. *Nature* 2001;411:583-587.
41. McFarland K, Lapish CC, Kalivas PW Prefrontal glutamate release into the core of the nucleus accumbens mediates cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J Neurosci* 2003;23:3531-3537.
42. Amen SL, Piacentine LB et al. Repeated N-acetyl cysteine reduces cocaine seeking in rodents and craving in cocaine-dependent humans. *Neuropsychopharmacology* 2011;36: 871-878.
43. Baker DA, Xi Z-X et al. The origin and neuronal function of in vivo non-synaptic glutamate. *J Neurosci* 2002;22: 9134-9141.
44. Baker DA, McFarland K, Lake RW, Shen H, Toda S, Kalivas PW. N-acetyl cysteine induced blockade of cocaine-induced reinstatement. *Ann N Y Acad Sci* 2003;1003:349-351.
45. Knackstedt LA, LaRowe S et al. The role of cystine-glutamate exchange in nicotine dependence in rats and humans. *Biol Psychiatry* 2009;65:841-845.
46. Knackstedt LA, Melendez RI, Kalivas PW. Ceftriaxone restores glutamate homeostasis and prevents relapse to cocaine seeking. *Biol Psychiatry* 2010;67:81-84.
47. Madayag A, Lobner D, et al. Repeated N-acetylcysteine administration alters plasticity-dependent effects of cocaine. *J Neurosci* 2007;27:13968-13976.
48. Janáky R, Ogita K, et al. Glutathione and signal transduction in the mammalian CNS. *J Neurochem* 1999;73:889-902.
49. Dringen R, Hirrlinger J. Glutathione pathways in the brain. *Biol Chem* 2003;384:505-516.
50. Liechti ME, Markou A. Role of the Glutamatergic System in Nicotine Dependence *CNS Drugs*, September 2008; Volume 22, Issue 9, pp. 705-724.
51. Schmaal L, Berk L, Hulstijn KP, Cousijn J, Wiers RW, van den Brink W. Efficacy of N-acetylcysteine in the treatment of nicotine dependence: a double-blind placebo controlled pilot study. *Eur Addict Res* 2011;17:211-216.
52. Prado E, Maes M, Piccoli LG, Baracat M, Barbosa DS, Franco O, Dodd S, Berk M. N-acetylcysteine for therapy-resistant tobacco use disorder: a pilot study. *Redox Report* 2015;. doi:10.1179/1351000215Y.0000000004.
53. McClure EA, Gipson CD et al. Potential Role of N-Acetylcysteine in the Management of Substance Use Disorders. *CNS Drugs* February. 2014;28(2):95-106. doi:10.1007/s40263-014-0142-x.
54. Belin D, Economidou D, Pelloux Y, Everitt BJ Habit formation and compulsion. In: *Animal Models of drug addiction*. Olmstead, MC, ed. pp 337-378. *Neuromethods* 2011, vol. 53. Springer.
55. Badiani A, Belin D, Epstein D, Calu D, Shaham Y. Opiate versus psychostimulant addiction: the differences do matter. *Nat Rev Neurosci*, 2011;12:685-700.
56. Brady KT, Gray KM, Tolliver BK. Cognitive enhancers in the treatment of substance use disorders: clinical evidence. *Pharmacol Biochem Behav*, 2011;99:285-294.
57. Dean O, Giorlando F, Michael Berk M. N-acetylcysteine in psychiatry: current therapeutic evidence and potential mechanisms of action *J Psychiatry Neurosci*. Mar 2011; 36(2):78-86.
58. Lerner CA, Sundar IK, Yao H, Gerloff J, Ossip DJ, McIntosh S et al. Vapors Produced by Electronic Cigarettes and E-Juices with Flavorings Induce Toxicity, Oxidative Stress, and Inflammatory Response in Lung Epithelial Cells and in Mouse Lung *PLoS ONE* 2015;10(2):e0116732. doi:10.1371/journal.pone.0116732.