

KOMÓRKOWE SZLAKI SYGNALIZACYJNE AKTYWOWANE PRZEZ NIKOTYNĘ*

CELL SIGNALING PATHWAYS ACTIVATED BY NICOTINE

Robert SOBKOWIAK, Andrzej LESICKI

Zakład Biologii Komórki, Instytut Biologii Eksperymentalnej,
Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań

Streszczenie: Nikotyna wykazuje silne działanie biologiczne. Alkaloid ten współzawodniczy z acetylocholiną w wiązaniu się ze specyficznymi receptorami błonowymi tzw. nikotynowymi receptorami cholinergicznymi. Obok ich klasycznych miejsc lokalizacji, tj. w układzie nerwowym i mięśniach szkieletowych, stwierdzono, że receptor nikotynowy obecny jest w wielu typach komórek, np. nabłonkowych, krwi oraz nowotworowych. Związaniu nikotyny z receptorem towarzyszy otwarcie kanału jonowego. Umożliwia to napływ jonów sodu i wapnia do wnętrza komórki, co prowadzi do depolaryzacji błony komórkowej. Jej konsekwencją jest aktywacja kanałów wapniowych wrażliwych na zmiany potencjałów błonowych i dodatkowy napływ jonów wapnia. Procesy te uruchamiają kaskady sygnalizacyjne zależne od jonów wapnia. Wyniki uzyskane ostatnio w badaniach z wykorzystaniem nikotyny wskazują na bardzo znaczącą rolę receptorów nikotynowych w regulacji podziałów komórkowych, apoptozy, angiogenezy i migracji komórek. Nikotyna indukuje czynniki wzrostu, takie jak: BDNF, VEGF, HGF, VEGF-C, TGF- α , TGF- β , PDGF oraz wykazuje mitogenne działanie na komórki nowotworowe. Kluczową rolę w tych procesach odgrywają kinazy serynowo-treoninowe Raf oraz kinazy zależne od sygnału zewnątrzkomórkowego ERK1-ERK2. Nikotyna przyczynia się także do zwiększenia przeżywalności komórek nowotworowych. Istotny udział w tym procesie ma uruchomienie szlaku prowadzącego do aktywacji kinazy serynowo-treoninowej Akt, która stymulując kilka białek hamujących, blokuje apoptozę. Wykryto ostatnio, że nikotyna zaburza również sygnalizację hormonalną. Pod jej wpływem szczególnie istotnym zmianom ulega poziom serotoniny, dopaminy, GABA oraz adrenaliny.

Słowa kluczowe: nikotyna, receptor nikotynowy, sygnalizacja komórkowa, jony wapnia.

Summary: Nicotine is biologically active. It competes with acetylcholine for binding to specific membrane receptors, so-called nicotinic cholinergic receptors (nAChRs). They are widely expressed in the nervous system and skeletal muscle. Nicotinic receptors are also present in many cell types, e.g. epithelial, blood, and cancer cells. When nicotine binds to the nAChRs, the conformation of the receptor subunits changes, opening the receptor channel gate. This allows the influx of sodium and calcium ions into the cell, leading to membrane depolarization. It results in the activation of influx of calcium ions. These processes trigger a cascade of signal-dependent calcium ions. A very significant role of nicotinic receptor in the regulation of apoptosis, angiogenesis as well as in cell division and migration has been recently shown. Nicotine induces

*Praca finansowana z działalności statutowej Zakładu Biologii Komórki.

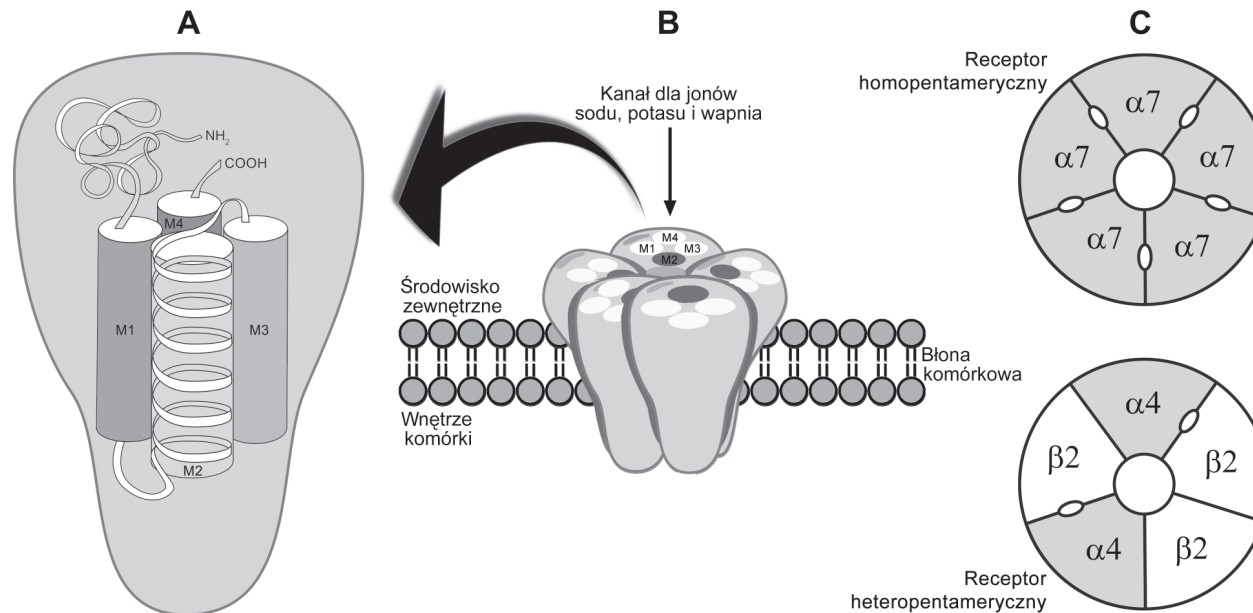
growth factors, such as BDNF, VEGF, TGF- α , HGF, VEGF-C, TGF- β , PDGF and has a mitogenic effect on cancer cells. A key role in these processes is played by a serine-threonine kinase Raf and extracellular signal-regulated kinases ERK1-ERK2. Nicotine causes an increase in survival of cancer cells through phosphorylation of serine/threonine protein kinase Akt, which interacts with other proteins, and leads to blockage of apoptosis. Recently it has been shown that nicotine interferes with hormonal signaling. Under the influence of nicotine, the levels of serotonin, dopamine, gamma-aminobutyric acid (GABA), and epinephrine are significantly changed.

Key words: nicotine, nicotinic receptor, cell signaling, calcium.

Wykaz skrótów: **AA** (*arachidonic acid*) – kwas arachidonowy; **Akt** – jedna z serynowo-treoninowych kinaz białkowych B; **BCL2** (*B-cell lymphoma 2*) – białka antyapoptotyczne; **BDNF** (*brain-derived neurotrophic factor*) – neurotropowy czynnik pochodzenia mózgowego; **cAMP** (*cyclic adenosine monophosphate*) – cykliczny adenozylomonofosforan; **CDK4/6** (*cyclin-dependent kinase*) – kinaza zależna od cyklin; **CREB** (*cAMP response element-binding protein*) – czynnik transkrypcyjny; **E2F** – czynnik transkrypcyjny; **EGF** (*epidermal growth factor*) – naskórkowy czynnik wzrostu; **EGFR** (*epidermal growth factor receptor*) – receptor naskórkowego czynnika wzrostu; **ERK1-ERK2** (*extracellular signal-regulated kinases*) – kinazy aktywowane przez sygnały zewnątrzkomórkowe; **FGF2** (*fibroblast growth factor 2*) – czynnik 2 wzrostu fibroblastów; **FOS, JUN, MYC** – czynniki transkrypcyjne; **GABA** (γ -aminobutyric acid) – kwas γ -aminomasłowy; **GPCR** (*G-protein-coupled receptors*) – receptory sprzężone z białkami G; **HGF** (*hepatocyte growth factor*) – czynnik wzrostu hepatocytów; **HUVECs** (*human umbilical vein endothelial cells*) – komórki śródbłonna żyły pępowinowej; **MAPK** (*mitogen activated protein kinase*) – kinaza aktywowana mitogenami; **mTOR** (*mammalian target of rapamycin*) – kinaza, tzw. ssaczy cel rapamycyny; **nAChR** (*nicotinic acetylcholine receptor*) – cholinergiczny receptor nikotynowy; **NF- κ B** (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) – czynnik jądrowy B; **NHBE** (*normal human bronchial epithelial*) – prawidłowe komórki nabłonka oskrzeli; **NSCLC** (*non-small cell lung carcinoma*) – niedrobnokomórkowy rak płuc; **P70 S6K** – kinaza serynowo-treoninowa fosforylująca rybosomowe białko S6; **PDE-4** (*phosphodiesterase 4*) – fosfodiesteraza 4; **PDGF** (*platelet-derived growth factor*) – czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego; **PI3K** (*phosphatidylinositol 3-kinase*) – kinaza 3-fosfatydiloizotylo; **PKA** (*protein kinase A*) – kinaza białkowa A; **PKC** (*protein kinase C*) – kinaza białkowa C; **PNEC** (*pulmonary neuroendocrine cells*) – komórki neuroendokrynne płuc; **Raf** (*rapidly accelerated fibrosarcoma*) – kinaza serynowo-treoninowa Raf; **Ras** (*rat sarcoma*) – rodzina małych, onkogennych, monomerycznych białek G (GTPaz); **Rb** (*retinoblastoma protein*) – białko retinoblastomy; **SCLC** (*small cell lung carcinoma*) – rak drobnokomórkowy płuc; **Src** (*sarcoma*) – protoonkogenna kinaza tyrozynowa Src; **TGF** (*transforming growth factor*) – transformujący czynnik wzrostu; **VEGF** (*vascular endothelial growth factor*) – czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego; **VTP** (*ventral tegmental area*) – brzuszne pole nakrywki; **XIAP** (*X-linked inhibitor of apoptosis protein*) – białko hamujące apoptozę wiążące czynnik X; **β -AR** (*β -adrenergic receptor*) – receptor β -adrenergiczny.

1. NIKOTYNA I RECEPTOR NIKOTYNOWY

Nikotyna jest jedną z około 4000 substancji znajdujących się w dymie tytoniowym. Należy do grupy alkaloidów pirydynowych wykazujących silne działanie biologiczne [32, 43, 56]. Nikotyne zidentyfikowano jako źródło uzależnienia od nałogowego palenia tytoniu, a jej stała obecność w organizmie na skutek uzależnienia – jako przyczynę chorób sercowo-naczyniowych [56]. Obecnie nikotyne przypisuje się również podtrzymywanie procesów nowotworzenia, w tym stymulację podziałów komórkowych, wspomaganie inwazji guza oraz intensywne działanie w procesie tworzenia nowych naczyń krwionośnych [36]. Nikotyne wskazuje się także jako istotny czynnik hamujący apoptozę [58].



RYCINA 1. Budowa receptora nikotynowego. A) Topologia podjednostki receptora nikotynowego z zaznaczonymi czterema domenami transbłonowymi M1-M4, długim końcem N oraz długą pętlą cytoplazmatyczną między segmentami M3 i M4. Zarówno koniec aminowy, jak i koniec karboksylowy łańcucha polipeptydowego znajdują się po zewnętrznej stronie błony komórkowej. B) Natywny pentameryczny układ podjednostek budujących kanał receptorowy. Domeny M2 wyścielają wnętrze kanału. C) Układ podjednostek w neuronalnych receptorach typu homopentamerycznego $\alpha 7$ i heteropentamerycznego $\alpha 4\beta 2$ z zaznaczonymi białymi owalami miejscami wiązania acetylocholiny bądź nikotyny. Receptory homopentameryczne $\alpha 7$ nie ulegają odczuleniu w warunkach stałej obecności nikotyny oraz charakteryzują się wyższą przepuszczalnością jonów wapnia niż inne typy nAChR. Receptory nAChR typu $\alpha 4\beta 2$ wykazują wyższe powinowactwo do nikotyny i dłuższy czas inaktywacji niż pozostałe typy receptorów nikotynowych (na podstawie [8, 21, 53])

FIGURE 1. Structure of the nicotinic receptor. (A) Nicotinic receptor subunit topology. The model shows the four transmembrane domains M1-M4, a long N-terminus and a long cytoplasmic loop between segments M3 and M4. Both N- and C-terminus of the polypeptide chain are located on the outer side of the cell membrane. (B) Native pentameric arrangement of nAChR subunits in an assembled receptor. M2 domains line the channel pore. (C) Subunit arrangement in the homomeric $\alpha 7$ and heteromeric $\alpha 4\beta 2$ subtypes. White ovals denote the ACh or nicotine binding sites. The homomeric $\alpha 7$ nAChR is not desensitized by chronic nicotine, and has a higher calcium permeability than other subtypes of nAChR. The heteromeric $\alpha 4\beta 2$ nAChR binds nicotine with the highest affinity, and is characterized by longer inactivation than other receptor subtypes (based on data from [8, 21, 53])

Nikotyna współzawodniczy z acetylocholiną, neuroprzekaźnikiem układu nerwowego w wiązaniu się ze specyficznymi receptorami błonowymi na powierzchni komórek docelowych. Jednak w odróżnieniu od acetylocholiny, która działa poprzez receptory błonowe bezpośrednio związane z kanałem jonowym (receptory klasy 1) oraz receptory sprzężone z białkiem G (klasy 2), nikotyna jest jej agonistą jedynie w stosunku do receptorów związanych z kanałem jonowym, stąd ich nazwa cholinergiczne receptory nikotynowe (nAChR).

Cholinergiczny receptor nikotynowy (nAChR) był pierwszym receptorem klasy 1 (jonotropowym), którego strukturę oraz funkcjonowanie intensywnie badano [8, 41]. W 1970 r. Changeux i wsp. oczyścili receptor nikotynowy z błon komórkowych izolowanych z drzewy kalifornijskiej (*Torpedo californica*). Zlokalizowany w błonie komórkowej receptor zbudowany jest z pięciu jednakowych lub różnych podjednostek, z których każda zawiera cztery domeny transbłonowe (ryc. 1). Około 10 lat później poznano sekwencje jednej z podjednostek tworzących kanał receptora nikotynowego [8].

Pośród receptorów nikotynowych najczęściej wyróżnia się dwa główne rodzaje: mięśniowe i neuronalne [21], które różnią się składem podjednostek, a także wrażliwością na farmakologiczne związki antagonistyczne (m.in. tubokurarynę, α -bungarotoksynę, heksametonium):

- 1) Mięśniowy receptor nikotynowy występujący w synapsach nerwowo-mięśniowych jest oligomerem zbudowanym z kombinacji podjednostek $\alpha 1$ z $\beta 1, \gamma, \delta$ lub ε [21]. Podjednostki te tworzą ściany kanału dla kationów, przede wszystkim Na^+ i K^+ .
- 2) Neuronalne receptory nikotynowe to bramkowane ligandem kanały jonowe w synapsach układu nerwowego, są charakterystyczne dla zwojów układu autonomicznego. Neuronalny typ receptora nikotynowego składa się z pięciu identycznych podjednostek $\alpha 7, \alpha 8$ lub $\alpha 9$ (homopentameryczny nAChR) (ryc. 1) lub stanowi kombinację podjednostek typu $\alpha 2, \alpha 3, \alpha 4, \alpha 5, \alpha 6$ lub $\alpha 10$ z podjednostkami $\beta 2, \beta 3, \beta 4$ (heteropentameryczny nAChR) (prace przeglądowe [16, 17]). Receptor nikotynowy $\alpha 7$ oraz $\alpha 4, \beta 2$ nAChR są najstarszymi ewolucyjnie receptorami. Dominują one w mózгах ssaków (praca przeglądowa [17].) Większość informacji na temat działania nikotyny pochodzi z badań właśnie tych receptorów.

Oprócz tej typowej lokalizacji podstawowych rodzajów receptora nikotynowego, opublikowano szereg prac wskazujących na nieneuronalną lokalizację receptorów nikotynowych, różniących się składem podjednostkowym (tab. 1). Wykryto receptory zlokalizowane w błonie cytoplazmatycznej komórek wielu typów m.in. w komórkach nabłonkowych [1, 6, 24] i komórkach nowotworowych z nich się wywodzących [13] oraz komórkach krwi [1, 42]. Konsekwencją tych odkryć są nowe ujęcia klasyfikacji receptorów nikotynowych, dzielące je ze względu na lokalizację komórkową na receptory nikotynowe neuronalne i nieneuronalne (w tym mięśniowe) [16].

2. nAChR OBECNY JEST W WIELU TYPACH KOMÓREK

TABELA 1. Skład podjednostek w receptorach nikotynowych w różnych komórkach ludzkich
TABLE 1. Nicotinic receptor in human cells

Typ komórki	Podjednostki zestawiane w pentamerycznych receptorach nikotynowych	Literatura
Neurony	$\alpha 2$ - α , $\alpha 10$, $\beta 2$ - $\beta 4$ heteropentameryczny $\alpha 7$ - $\alpha 9$ (homopentameryczny)	[17, 21]
Komórki mięśniowe	$\alpha 1$, $\beta 1$, γ , δ (zarodkowy) $\alpha 1$, $\beta 1$, ϵ , δ (dorosły)	[21]
Komórki śródbłonka naczyniowego	$\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$ - $\beta 4$	[1] i prace tam cytowane
Komórki śródbłonka żyły pępowinowej (HUVECs)	$\alpha 3$ - $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\alpha 10$, $\beta 2$ - $\beta 4$	[25]
Komórki nabłonka oskrzeli	$\alpha 1$, $\alpha 3$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 4$, ϵ , δ	[12, 15, 24]
Komórki nabłonka dróg oddechowych	$\alpha 2$, $\alpha 4$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$, $\beta 4$	[12, 24]
Fibroblasty dróg oddechowych	$\alpha 1$, $\alpha 5$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\beta 1$ - $\beta 3$, δ , γ	[1] i prace tam cytowane
Keratynocyty	$\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 4$	[2]
Komórki nabłonka jamy ustnej	$\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\beta 2$, $\beta 4$	[1] i prace tam cytowane
Komórki nabłonka przełyku	$\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$	[1] i prace tam cytowane
Komórki śródbłonka mózgu	$\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$, $\beta 3$	[1] i prace tam cytowane
Astrocyty	$\alpha 2$ - $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$, $\beta 3$	[1] i prace tam cytowane
Komórki dróg moczowych	$\alpha 2$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$	[6]
Limfocyty	$\alpha 2$ - $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$, $\beta 4$	[42]
Monocyty	$\alpha 2$, $\alpha 5$ - $\alpha 7$, $\beta 2$	[1] i prace tam cytowane
Makrofagi	$\alpha 1$, $\alpha 7$, $\alpha 10$	[1] i prace tam cytowane
Eozynofile	$\alpha 2$, $\alpha 4$, $\alpha 7$	[5]
Komórki szpiku kostnego	$\alpha 4$, $\alpha 7$, $\beta 2$	[23]
Tymocyty	$\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 4$	[1] i prace tam cytowane
Synowioocyty	$\alpha 7$	[47]
Komórki łożyska	$\alpha 2$ - $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$	[1] i prace tam cytowane

Od dziesiątków lat uważano, że nikotyna – jako agonista acetylocholino – może oddziaływać jedynie na komórki nerwowe i mięśniowe. Sądzono, że nAChR zlokalizowane są jedynie w błonach komórkowych neuronów (neuronalny typ receptora nikotynowego) oraz w obrębie synaps nerwowo-mięśniowych (mięśniowy typ receptora nikotynowego) [48]. Późniejsze badania wykazały, że receptory nikotynowe są dość powszechne w innych typach komórek i działanie acetylocholino na te komórki odbywa się za pośrednictwem właśnie receptorów nikotynowych (prace przeglądowe [1, 16]). Kolejne doświadczenia ujawniły, że receptor nikotynowy odgrywa kluczową rolę w skomplikowanym systemie powiązań obejmujących regulację (stymulację bądź hamo-

wanie) wydzielania neuroprzekazników kontrolujących syntezę i uwalnianie czynników wzrostu, czynników neurogennych, jak i stymulujących powstawanie naczyń krwionośnych. Hildegard Schuller [34] jako pierwsza wykazała obecność receptorów nikotynowych oraz ich rolę w proliferacji komórek nowotworowych płuc. Odkrycie to, jak również wykazanie, że uczestniczą one nie tylko w regulacji podziałów komórkowych, ale także w inicjowaniu apoptozy, wyznaczyło początek nowego rozdziału w badaniach nad rolą nAChR w szlakach sygnalizacyjnych pomiędzy komórkami niepobudliwymi, w tym nowotworowymi. Potwierdzono także występowanie receptora nikotynowego w komórkach raka niedrobnokomórkowego (NSCLC) i raka drobnokomórkowego (SCLC) (praca przeglądowa [13]). Technikami RT-PCR, metodami immunologicznymi oraz badaniami z wykorzystaniem cytometrii przepływowej wykazano obecność receptorów nikotynowych w wielu innych typach prawidłowych komórek niepobudliwych (tab. 1).

3. NIKOTYNA WYWOŁUJE ZMIANY WEWNĄTRZKOMÓRKOWEGO STĘŻENIA JONÓW WAPNIA

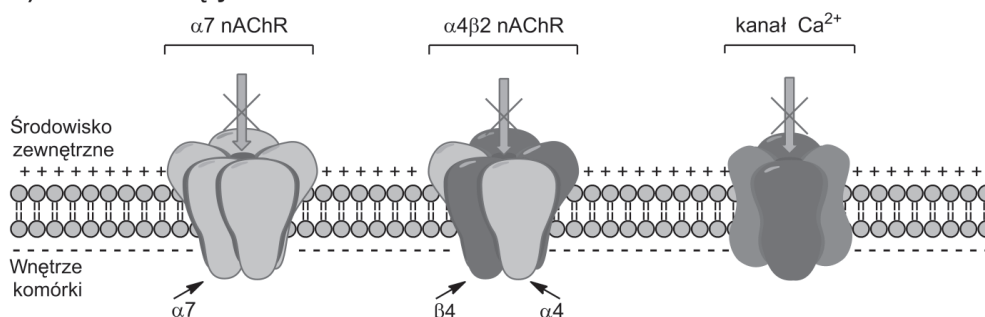
Nikotyna działając jako agonista receptora nikotynowego przyłącza się do podjednostek α w nAChR. W wyniku tego procesu dochodzi do zmian konformacyjnych, prowadzących do otwarcia kanału receptora znajdującego się w błonie komórkowej (ryc. 2). Umożliwia to przepływ jonów ze środowiska zewnętrznego do wnętrza komórki. Obdarzone ładunkiem aminokwasy wyściełające światło kanału wymuszają selektywne przechodzenie przez kanał tylko określonych jonów. Poprzez kanał receptora nikotynowego wnikać mogą do wnętrza komórki jony sodu (Na^+) i wapnia (Ca^{2+}) oraz wyciekać na zewnątrz komórki jony potasu (K^+). Największą przepuszczalność dla jonów wapnia wykazują kanały typu $\alpha 7$ nAChR. Związanie nikotyny z receptorem typu $\alpha 7$ nAChR wywołuje otwarcie poru kanału i napływ jonów wapnia do komórki (ryc. 2) [16, 17, 41].

Napływ kationów sodowych lub wapniowych do wnętrza komórki przez kanał receptora nikotynowego powoduje obniżenie potencjału błony komórkowej i prowadzi do depolaryzacji błony komórkowej. Na skutek depolaryzacji błony następuje otwarcie kanałów wapniowych wrażliwych na zmiany potencjałów błonowych, co z kolei prowadzi do jeszcze większego, dodatkowego napływu Ca^{2+} do komórki (ryc. 2) [36]. Uruchamia to w komórce szereg procesów zależnych od stężenia jonów wapnia. Współdziałanie kanału receptora nikotynowego $\alpha 7$ nAChR z kanałem wapniowym może wyzwać wiele różnych odpowiedzi, na przykład uwolnienie neuroprzekazników, hormonów, czynników wzrostu lub aktywację białek zależnych od jonów Ca^{2+} (ryc. 3) [13, 33]. Poza tym wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia tych kationów w następstwie otwarcia kanałów $\alpha 7$ nAChR, a następnie napięciowo-zależnych kanałów Ca^{2+} jest bezpośrednim sygnałem uruchamiającym kaskady sygnalizacyjne regulujące podziały komórkowe, apoptozę, migrację i różnicowanie komórek [33].

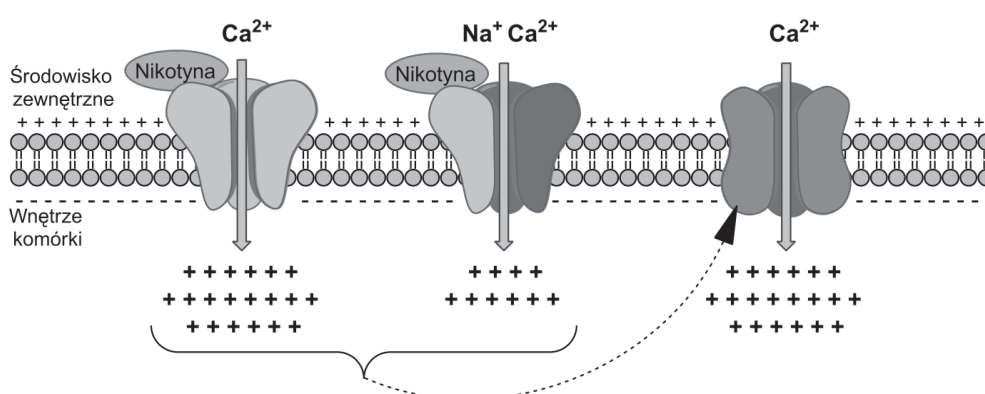
Liczebność większości receptorów w błonach ulega zwykle obniżeniu pod wpływem chronicznego działania agonisty. Inaczej jest z receptorem nikotynowym.

Permanentna, utrzymująca się ekspozycja komórek na nikotynę prowadzi do zwiększenia liczby receptorów nikotynowych w błonach komórkowych [18]. Receptory nikotynowe zbudowane z różnych podjednostek np. $\alpha 4\beta 2$ nAChR [53] wykazują większe powinowactwo zarówno do nikotyny, jak i do acetylocholino niż homopentameryczne nAChR, np. $\alpha 7$ nAChR [3, 48]. Większe powinowactwo receptora $\alpha 4\beta 2$ do nikotyny uważane jest za przyczynę długotrwałej inaktywacji (odczulenia, desensytyzacji) $\alpha 4\beta 2$ nAChR (ryc. 3). Efekt desensytyzacji wzmagany jest przez estrogeny [36]. W ich obecności wrażliwość $\alpha 7$ nAChR na nikotynę pozostaje niezmieniona, a receptor tego typu w dużo mniejszym stopniu ulega desensytyzacji. W

A) Kanał zamknięty



B) Kanał otwarty



RYCINA 2. Synergistyczne działanie receptorów nikotynowych na kanały wapniowe wrażliwe na zmiany potencjałów błonowych. A) W stanie spoczynku w komórkach występuje różnica potencjałów pomiędzy wnętrzem a środowiskiem zewnętrznym komórki, przy czym wewnątrz jest ujemnie naładowane. Kanały jonowe są zamknięte. B) W momencie związania się nikotyny z nAChR dochodzi do otwarcia kanałów i napływu kationów do wnętrza komórki, co wywołuje otwarcie kanałów wapniowych wrażliwych na zmiany potencjałów błonowych (opracowano na podstawie [36])

FIGURE 2. Synergistic influence of nicotinic receptors on voltage-activated calcium channels. (A) In its resting state, the plasma membrane carries a positive electric charge on the outside and a negative charge on the inside. The gates of channels are closed. (B) When nicotine binds to the nAChRs, the conformation of the receptor subunits changes, opening the receptor channel gates, and cations flow into the cell, which causes opening of voltage-activated calcium channels (based on data from [36])

związku z tym biologiczne funkcje $\alpha 7$ nAChR – jako receptora, który nie ulega odczuleniu u osób palących – zostają silnie wyeksponowane.

Chociaż wszystkie nAChR działają w ten sam sposób jako kanały umożliwiające przenikanie kationów poprzez błonę komórkową, regulują one różnorodne funkcje w sposób specyficzny dla danego typu komórek. Uważa się, że $\alpha 7$ nAChR jest najistotniejszym regulatorem odpowiedzi, prowadzącym do stymulacji proliferacji komórek nowotworowych, natomiast $\alpha 4\beta 2$ nAChR wykazuje głównie hamujące działanie na podziały komórkowe (ryc. 3).

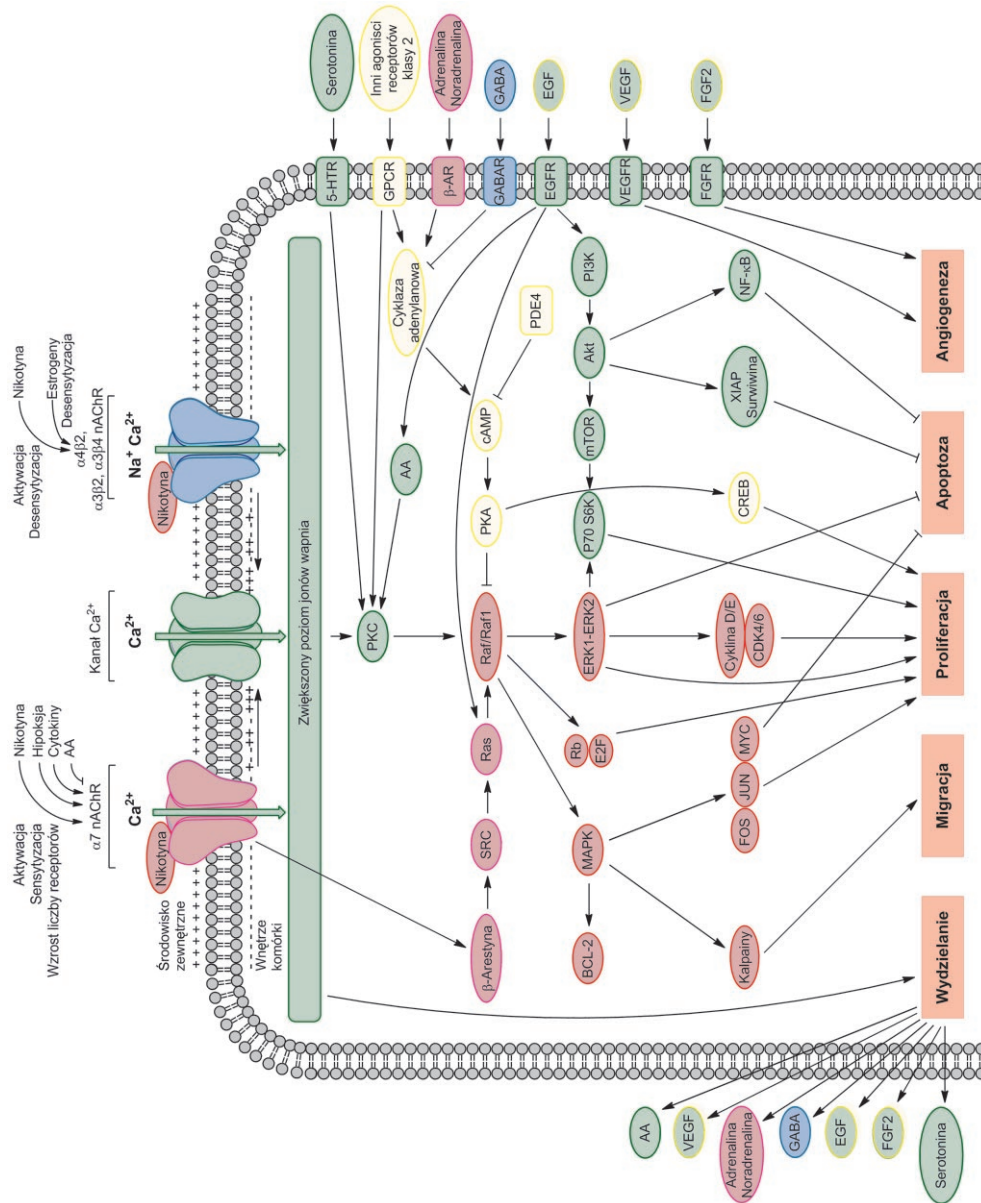
4. NIKOTYNA INDUKUJE CZYNNIKI WZROSTU

Wykazano, że nikotyna stymuluje wydzielanie wielu czynników wzrostu. Przypisuje się jej wspomagającą rolę w zwiększeniu poziomu aktywnych czynników wzrostu, takich jak: BDNF, VEGF, HGF, VEGF-C, TGF- α , TGF- β , PDGF, a także stymulację występowania w błonach komórkowych ich receptorów (VEGFR-2, PDGFR, HGFR, EGFR) [58]. Dość dobrze prześledzono ten proces w przypadku nabłonkowego czynnika wzrostu (EGF). Nikotyna poprzez wzrost wewnątrz-komórkowego stężenia jonów wapnia indukuje przejściową aktywację receptora czynnika wzrostu (EGFR) (ryc. 3). Szlaki sygnalizacyjne wiodące od receptora nikotynowego do dalszych efektorów EGFR wydają się być bardzo podobne w przypadku pozostałych czynników wzrostu.

Nikotyna oddziałuje również na komórkowe fosfatazy białkowe. Hamuje ona fosforylację fosfatazy 1 (PP1) w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuc (NSCLC) [14]. Fosforylacja PP1 prowadzi do inaktywacji jej aktywności, w wyniku czego zahamowaniu ulega synteza inhibitora kinazy cyklino-zależnej p27Kip1, co z kolei ułatwia przejście do kolejnych etapów cyklu komórkowego.

Wzrost stężenia wapnia w komórce aktywuje również cytoplazmatyczne kinazy, które fosforylują EGFR. Za przejściową aktywację EGFR odpowiedzialna jest kinaza II zależna od wapnia i kalmoduliny [35]. Badania z wykorzystaniem unieśmiertelnionych dużych komórek nabłonka dróg oddechowych, wykazały, że nikotyna stymuluje uwalnianie EGF z tych komórek. Z kolei wiązanie wydzielonego EGF z EGFR prowadzi do aktywacji kaskady Ras-Raf-ERK, która może być blokowana przez selektywnych antagonistów dla $\alpha 7$ nAChR (ryc. 3) [27].

Prawdopodobny mechanizm aktywacji przez nikotynę receptora czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGFR) polega na stymulacji ekspresji cyklooksygenazy 2 [40]. W komórkach raka żołądka i gardła zachodzi wzmożona ekspresja tego enzymu, co wyzwała inwazję komórek nowotworowych i inicjuje proces powstawania nowych naczyń krwionośnych (angiogenezę) przez aktywację VEGFR-2 [50]. Nikotyna poprzez $\alpha 7$ nAChR stymuluje proces angiogenezy w komórkach śródbłonka w obecności egzogennie podanego VEGF oraz podstawowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF, nazywanego również FGF2). Obserwacja ta jest zgodna



RYCINA 3. Kaskady sygnalizacyjne uruchamiane przez nikotynę. Rycina przedstawia dane uzyskane z badań przeprowadzonych na różnych typach komórek (SCLC, NSCLC, komórki gruczolakoraka przewodu pokarmowego oraz gruczolakoraka małych komórek nabłonka dróg oddechowych). Nikotyna poprzez receptor typu $\alpha 7$ oddziałuje na sygnalizację β -adrenergiczną, a poprzez receptory typu $\alpha 4\beta 2$ na sygnalizację związaną z GABA. Nikotyna poprzez różne szlaki prowadzi do zahamowania procesów apoptozy i promowania procesów proliferacji i migracji komórek (opracowano na podstawie [1, 7, 9, 13, 36])

FIGURE 3. Signaling cascade activated by nicotine (data obtained from test results obtained on different cell types: small-cell and non-small-cell lung cancer, adenocarcinoma cells of the gastrointestinal tract, and adenocarcinoma of the small airway epithelial cells). Nicotine receptor $\alpha 7$ -type affects β -adrenergic signaling, and $\alpha 4\beta 2$ -type receptor modulates signaling associated with GABA. Nicotine, through various pathways, leads to inhibition of apoptosis and to promotion of proliferation and cell migration (based on data from [1, 7, 9, 13, 36])

z możliwością $\alpha 7$ nAChR do pobudzania uwalniania tych czynników angiogennych przez komórki nowotworowe [19].

5. MITOGENNY EFEKT DZIAŁANIA NIKOTYNY

Powszechne występowanie nAChR w komórkach ssaków oraz ich różnorodne funkcje regulacyjne sugerują, że modulacja tych receptorów w wyniku przewlekłej ekspozycji na nikotynę może przyczynić się do uwolnienia komórek z fazy G_0 i przejścia do fazy podziałowej. Selektywni antagoniści (np. heksametonium i mekamylamina) $\alpha 7$ n AChR znoszą proliferacyjne efekty działania nikotyny, co wskazuje, że $\alpha 7$ n AChR jest kluczowym, inicjującym elementem odpowiedzi komórkowej na ten alkaloid.

Nikotyna może nasilać proliferację komórek prawidłowych, jak i nowotworowych. W obecności tego alkaloidu obserwuje się wzmożoną proliferację komórek neuroendokrynych płuc (PNEC) [36]. Traktowanie nikotyną linii komórkowych raka jelita grubego i raka trzustki oraz linii komórek nowotworowych SCLC i NSCLC również wywołuje indukcję proliferacji w sposób receptorowo-zależny [36]. W warunkach *in vitro* komórki SCLC są pobudzane do podziałów poprzez aktywację kolejno kinazy białkowej C (PKC), kinazy serynowo-treoninowej Raf1 i kinaz aktywowanych mitogenem ERK1 i ERK2 lub kinaz MAPK ostatecznie oddziałujących na czynniki transkrypcyjnych Fos, Jun i Myc (ryc. 3). Dodatkowo kinazy MAPK aktywują kalpajny, tj. proteinazy, które umożliwiają migrację komórek [19, 55]. Co więcej kolejne badania wykazały, że wspólne działanie nikotyny i hipoksji prowadzi do powstania nowotworu płuc u chomika [36]. W komórkach śródbłonna w warunkach obniżonej zawartości tlenu (np. z powodu niedokrwienia) zwiększa się liczebność $\alpha 7$ nAChR, które dodatkowo ulegają sensytyzacji [10, 36]. W warunkach hipoksji dochodzi do zwiększenia aktywności fosfodiesterazy 4 (PDE4), która obniża poziom wewnątrzkomórkowego cAMP, co powoduje inaktywację kinazy PKA. Inaczej niż PDE4 działają receptory związane z białkiem G (GPCR), które wywołują podwyższenie komórkowego stężenia cAMP, w konsekwencji – aktywację PKA, prowadzącą do inhibicji kinaz Raf [36] (ryc. 3).

Poza wymienionymi już czynnikami (wzrost stężenia jonów wapnia, wzrost poziomu czynników wzrostu, zmiany w poziomie fosforylacji PPI) nikotyna działa także w inny sposób. Szlaki aktywowane przez nikotynę za pośrednictwem nAChR, prowadzące do inicjacji podziałów komórkowych, wiodą przez aktywację NF- κ B, Src, szlak 5-lipooksygenazy, Akt, HIF-1a [59]. W komórkach SCLS poprzez szlak sygnalizacyjny Raf1-ERK działają czynniki wzrostu o charakterze autokrynowym takie jak: bradykinina, wazopresyna, neurotensyna i galanina (ryc. 3). Współpracują one w zainicjowaniu szlaku sygnalizacyjnego z Raf1-ERK z $\alpha 7$ nAChR [36].

Badania na komórkach NSCLC (linia A549) wykazały, że nikotyna indukuje podziały komórkowe poprzez receptor nikotynowy w analogiczny sposób jak czynniki wzrostu (ryc. 3). Średnie stężenie nikotyny we krwi podczas palenia papierosa

jest równe 0,3 μM . Około trzykrotnie wyższe stężenie nikotyny (1 μM), którym traktowano komórki A549 indukuje interakcje białka retinoblastomy (Rb) z kinazą Raf-1 [12, 13] (ryc. 3). To uruchamia kaskadę sygnalizacyjną prowadzącą do aktywacji cyklin oraz kinaz cyklino-zależnych, w wyniku czego następuje oddysocjowanie czynnika E2F1 od białka retinoblastomy, ułatwiając wejście komórki w fazę podziałową. W tego samego typu komórkach (NSCLC) nikotyna, poprzez $\alpha 7$ nAChR, promuje ich namnażanie przez wzrost syntezy fibronektyny i $\alpha 5\beta 1$ integryny. Odbywa się to na drodze aktywacji szlaku sygnalizacyjnego ERK i PI3K/mTOR (ryc. 3) [60].

W komórkach międzybłoniaka przyłączenie nikotyny do $\alpha 7$ nAChR wywołuje zwiększenie wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca^{2+} , które aktywują MEKK-1, ERK1/2 oraz p90RSK. MEKK1 indukuje następnie fosforylację czynnika transkrypcyjnego NF- κB , która inicjuje wejście w fazę S cyklu komórkowego [13]. Nikotyna może także aktywować, poprzez $\alpha 7$ nAChR, szlak sygnalizacyjny kinaz MAP, prowadząc do wzrostu poziomu białek Raf-1, ERK1/2 oraz MEK1 [12].

W połączeniach nerwowo-mięśniowych nikotyna poprzez $\alpha 7$ nAChR uruchamia szlak sygnalizacyjny wiodący przez kinazę Src (ryc. 3). Wykazano, że w obecności nikotyny strukturalne białko β -arestyna-1 wiąże Src, aktywując szlaki prowadzące do inicjacji podziałów komórek A549 [12].

6. NIKOTYNA I APOPTOZA

Nikotyna przyczynia się do wzrostu oporności na apoptozę indukowaną zewnętrznymi czynnikami stresowymi, takimi jak: opioidy, promieniowanie UV, antybiotyki jonoforowe transportujące jony wapnia, neurotoksyny, stres oksydacyjny oraz leki przeciwnowotworowe. Ochronne działanie nikotyny zaobserwowano w normalnych komórkach, na przykład w komórkach nabłonka oskrzeli (NHBE) i nabłonka dróg oddechowych, komórkach śródbłonna, ludzkich fibroblastach dżiąsła i komórkach nabłonka nerek [58]. Blokowanie procesu apoptozy przez nikotynę obserwowano także w komórkach nowotworowych, na które działano lekami przeciwnowotworowymi, takich jak komórki SCLC i NSCLC, komórki raków piersi i jamy ustnej oraz nowotworów głowy i szyi [11, 54, 58]. Oddziaływanie nikotyny na proces apoptozy nie jest do końca jednoznacznie wyjaśnione, istnieją również mniej liczne doniesienia wskazujące na możliwość wywoływania apoptozy przez ten alkaloid [58].

Molekularny mechanizm leżący u podstaw antyapoptotycznego działania nikotyny jest złożony. Nikotyna reguluje działanie białek należących do rodziny polipeptydów apoptotycznych [11, 58]. Do tej rodziny należy białko BCL-2, które prawdopodobnie odpowiedzialne jest za blokowanie procesu apoptozy w komórkach H82 SCLC indukowanej cisplatyną. Nikotyna, poprzez aktywację fosfolipazy C, uruchamia szlak wywołujący fosforylację seryny w pozycji 70 białka BCL-2, powodując jego aktywację [58].

Nikotyna działa antyapoptotycznie poprzez receptory nAChR składające się z podjednostek $\alpha 3$ i $\alpha 4$. W komórkach normalnego nabłonka oskrzeli (NHBE) niko-

tyna hamuje apoptozę przez aktywację szlaku Akt. Wyniki doświadczeń wykazują, że hamujące apoptozę działanie nikotyny wynika z indukcji specyficznych fosforylacji Akt w pozycji Thr308 i Ser473 [13]. Nikotyna indukuje także fosforylację kolejnych białek w szlaku Akt, takich jak: mTOR, FKHR, elf-4, GSK3 β , tuberyna i S6K [58].

Inne ogniwa szlaków sygnalizacji komórkowej zaangażowane w antyapoptotyczne działanie nikotyny to PKA, NF- κ B oraz hamowanie supresora nowotworowego p53 [51, 58]. Nikotyna indukuje wielomejscową fosforylację apoptotycznego białka Bad, wywołując jego inaktywację, co zapobiega śmierci komórek. Indukowana nikotyną fosforylacja białka Bad aktywowana jest poprzez kilka szlaków sygnalizacyjnych. Wymienić tu można szlaki sygnalizacyjne obejmujące działanie PKC, PKA, MEK i PI3K. Jin i wsp. [20] wykazali, że w fosforylacji indukowanej nikotyną pośredniczy receptor β -adrenergiczny (ryc. 3). Wykazano także, że nikotyna może indukować fosforylację proapoptotycznego białka Bax w pozycji Ser184 przez kinazę C (PKC ξ), w wyniku czego następuje jego inaktywacja i zapobieżenie śmierci komórki [51].

Stwierdzono, że receptor α 7 nAChR oraz receptor β -adrenergiczny pośredniczą w przeciwapoptotycznym działaniu nikotyny w niektórych liniach komórkowych [36]. Białka blokujące apoptozę intensywnie badano na liniach komórkowych NSCLC. Nikotyna poprzez receptor nikotynowy chroni komórki A549 przed apoptotycznym działaniem leków przeciwnowotworowych poprzez stymulację XIAP oraz surwiwiny [11].

7. ZABURZENIA SYGNALIZACJI HORMONALNEJ WYWOŁANE PRZEZ NIKOTYNĘ

Przyłączenie się nikotyny do α 7 nAChR, wywołuje uwolnienie przez komórki serotoniny [36]. Serotonina oprócz funkcji neuroprzekaźnika działa również jako autokryny czynnik wzrostu komórek raka płuca (SCLC) i komórek raka okrężnicy [29, 36]. Podanie inhibitora zwrotnego wychwytu serotoniny znosi stymulujące proliferację efekty działania nikotyny. Na podstawie tych danych α 7 nAChR można uznać za kluczowy element w regulacji podziałów komórkowych, apoptozy oraz migracji komórek SCLC. Odbywa się to poprzez uwalnianie serotoniny, bombezyny oraz innych neuropeptydów (ryc. 3) [30, 36].

Nikotyna, działając jednocześnie poprzez α 7 nAChR i α 4 β 2 nAChR stymuluje uwalnianie dopaminy, neuroprzekaźnika pobudzającego, regulując w ten sposób procesy poznawcze i proces zapamiętywania. Taki efekt działania nikotyny obserwowano w przypadku wydzielania dopaminy przez komórki nerwowe położone w polu brzusznej nakrywki (VTA) mezolimbicznego układu dopaminergicznego, części mózgu stanowiącego tzw. układ nagrody, który odpowiedzialny jest za odczuwanie przyjemności i rozwój uzależnienia [4, 18, 26, 31, 57]. Jednak na poziomie komórkowym mechanizm, w wyniku którego receptory nikotynowe inicjują i podtrzymują proces uzależnienia, wciąż jest bardzo słabo poznany, a prezentowane dane dotyczą

jedynie składu podjednostek receptorów nikotynowych oraz zwiększenia ich liczby na powierzchni neuronów [18, 31]. Oprócz działania na ośrodkowy układ nerwowy, dopamina jako hormon lokalny o działaniu parakrynnym i autokrynnym stymuluje proliferację komórek raka gruczołu krokowego i komórek nowotworowych w gruczole piersiowym [36].

Stymulacja nikotyną receptora typu $\alpha 4\beta 2$ prowadzi również do uwalniania innego neurotransmitera – kwasu γ -aminomasłowego (GABA) (ryc. 3) [37, 38]. GABA jest najważniejszym hamującym neuroprzekaźnikiem w mózgu. Poza tym znacząco obniża tempo podziałów mitotycznych komórek raka płuc, trzustki, jelita grubego oraz piersi [36, 37].

$\alpha 7$ nAChR pośredniczy w przeciwzapalnym działaniu układu cholinergicznego, w tym hamowaniu wydzielania cytokin prozapalnych, czynników martwicy nowotworów α i blokowaniu reakcji komórek odpornościowych, takich jak limfocyty typu T i B [22, 44].

Jednoczesne przyłączenie się nikotyny do receptorów $\alpha 7$ nAChR oraz heteropentamerycznych nAChR zawierających podjednostki $\alpha 4$ lub $\alpha 3$ stymuluje uwalnianie neuroprzekaźników stresowych – noradrenaliny i adrenaliny [36]. Poprzez $\alpha 7$ nAChR nikotyna reguluje uwolnienie noradrenaliny w mózgu [3] i z zakończeń nerwowych układu współczulnego [28], jak również w niektórych komórkach nowotworowych [49]. W warunkach zwiększonego poziomu noradrenaliny wykazano zwiększoną ekspresję kinaz ERK1-ERK2, cyklooksygenazy 2, prostaglandyny PGE2 [39, 50]. Poprzez sygnalizację β -adrenergiczną regulowany jest, zależny od aktywności cyklicznej adenylanowej, poziom cAMP (ryc. 3). Zwiększenie poziomu cAMP indukuje aktywność kinazy białkowej A (PKA) oraz aktywację czynnika transkrypcyjnego CREB, co prowadzi do przejściowej aktywacji receptora EGF (ryc. 3). Noradrenalina i adrenalina aktywując receptory β -adrenergiczne, wywołują uwalnianie czynnika wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF), naskórkowego czynnika wzrostu (EGF) i kwasu arachidonowego [45, 46, 49], które przyczyniają się do utraty kontroli nad podziałami komórek. Wywołane nikotyną zmiany w sygnalizacji β -adrenergicznej zaobserwowano w dzielących się komórkach nowotworowych gruczolakoraków płuc, trzustki i żołądka oraz raków jelita grubego, prostaty, gruczołu sutkowego i jajnika [36].

8. PODSUMOWANIE

Nikotyna działa poprzez receptor nikotynowy, który stanowi początkowy element złożonej i jeszcze nie do końca poznanej sieci powiązań szlaków sygnalizacji komórkowej. Wykazuje ona bardzo silne działanie na komórki, prowadzące do zmian w ich programie podziałowym. Wspomaga proces migracji komórek, tworzenia naczyń krwionośnych oraz znacząco zwiększa przeżywalność komórek, również nowotworowych. Ze względu na dostępność i częstość kontaktu z nikotyną, dogłębne poznanie komórkowych mechanizmów jej działania wydaje się bardzo istotne. Znaczący postęp po-

czyniono w badaniach nad wpływem tego alkaloidu na komórki pobudliwe oraz nowotworowe, stosunkowo niewiele natomiast wiadomo na temat jej oddziaływania na inne rodzaje komórek, które także wyposażone są w receptory nikotynowe.

9. LITERATURA

- [1] ARIAS HR, RICHARDS VE, NG D, GHAFLOORI ME, LE V, MOUSA SA. Role of non-neuronal nicotinic acetylcholine receptors in angiogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; **41**: 1441–1451.
- [2] ARREDONDO J, CHERNYAVSKY AI, JOLKOVSKY DL, PINKERTON KE, GRANDO SA. Receptor-mediated tobacco toxicity: alterations of the NF-kappaB expression and activity downstream of alpha7 nicotinic receptor in oral keratinocytes. *Life Sci* 2007; **80**: 2191–2194.
- [3] BARIK J, WONNACOTT S. Indirect modulation by alpha7 nicotinic acetylcholine receptors of norepinephrine release in rat hippocampal slices: interaction with glutamate and GABA systems and effect of nicotine withdrawal. *Mol Pharmacol* 2006; **69**: 618–628.
- [4] BENOWITZ NL. Nicotine addiction. *N Engl J Med* 2010; **362**: 2295–2303.
- [5] BLANCHET MR, LANGLOIS A, ISRAEL-ASSAYAG E, BEAULIEU MJ, FERLAND C, LAVIOLETTE M, CORMIER Y. Modulation of eosinophil activation *in vitro* by a nicotinic receptor agonist. *J Leukoc Biol* 2007; **81**: 1245–1251.
- [6] BSCHLEIPFER T, SCHUKOWSKI K, WEIDNER W, GRANDO SA, SCHWANTES U, KUMMER W, LIPS KS. Expression and distribution of cholinergic receptors in the human urothelium. *Life Sci* 2007; **80**: 2303–2307.
- [7] CATASSI A, SERVENT D, PALEARI L, CESARIO A, RUSSO P. Multiple roles of nicotine on cell proliferation and inhibition of apoptosis: implications on lung carcinogenesis. *Mutat Res* 2008; **659**: 221–231.
- [8] CHANGEUX JP, EDELSTEIN SJ. Allosteric receptors after 30 years. *Neuron* 1998; **21**: 959–980.
- [9] CHOWDHURY P, UDUPA KB. Nicotine as a mitogenic stimulus for pancreatic acinar cell proliferation. *World J Gastroenterol* 2006; **12**: 7428–7432.
- [10] COOKE JP. Angiogenesis and the role of the endothelial nicotinic acetylcholine receptor. *Life Sci* 2007; **80**: 2347–2351.
- [11] DASGUPTA P, KINKADE R, JOSHI B, DECOOK C, HAURA E, CHELLAPPAN S. Nicotine inhibits apoptosis induced by chemotherapeutic drugs by up-regulating XIAP and survivin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103**: 6332–6337.
- [12] DASGUPTA P, RASTOGI S, PILLAI S, ORDONEZ-ERCAN D, MORRIS M, HAURA E, CHELLAPPAN S. Nicotine induces cell proliferation by beta-arrestin-mediated activation of Src and Rb-Raf-1 pathways. *J Clin Invest* 2006; **116**: 2208–2217.
- [13] EGGLETON RD, BROWN KC, DASGUPTA P. Nicotinic acetylcholine receptors in cancer: multiple roles in proliferation and inhibition of apoptosis. *Trends Pharmacol Sci* 2008; **29**: 151–158.
- [14] FLORES-DELGADO G, LIU CW, SPOSTO R, BERNDT N. A limited screen for protein interactions reveals new roles for protein phosphatase 1 in cell cycle control and apoptosis. *J Proteome Res* 2007; **6**: 1165–1175.
- [15] FU XW, LINDSTROM J, SPINDEL ER. Nicotine activates and upregulates nicotinic acetylcholine receptors in bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2009; **41**: 93–99.
- [16] GOTTI C, CLEMENTI F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. *Prog Neurobiol* 2004; **74**: 363–396.
- [17] GOTTI C, CLEMENTI F, FORNARI A, GAIMARRI A, GUIDUCCI S, MANFREDI I, MORETTI M, PEDRAZZI P, PUCCI L, ZOLI M. Structural and functional diversity of native brain neuronal nicotinic receptors. *Biochem Pharmacol* 2009; **78**: 703–711.
- [18] GOVINDAP, VEZINAP, GREEN WN. Nicotine-induced upregulation of nicotinic receptors: underlying mechanisms and relevance to nicotine addiction. *Biochem Pharmacol* 2009; **78**: 756–765.
- [19] GROZIO A, CATASSIA, CAVALIERI Z, PALEARI L, CESARIO A, RUSSO P. Nicotine, lung and cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2007; **7**: 461–466.
- [20] JIN Z, GAO F, FLAGG T, DENG X. Nicotine induces multi-site phosphorylation of Bad in association with suppression of apoptosis. *J Biol Chem* 2004; **279**: 23837–23844.

- [21] KALAMIDA D, POULAS K, AVRAMOPOULOU V, FOSTIERI E, LAGOUMINTZIS G, LAZARIDIS K, SIDERI A, ZOURIDAKIS M, TZARTOS SJ. Muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors. Structure, function and pathogenicity. *FEBS J* 2007; **274**: 3799–3845.
- [22] KAWASHIMA K, YOSHIKAWA K, FUJII YX, MORIWAKI Y, MISAWA H. Expression and function of genes encoding cholinergic components in murine immune cells. *Life Sci* 2007; **80**: 2314–2319.
- [23] KOVAL LM, ZVERKOVA AS, GRAILHE R, UTKIN YN, TSETLIN VI, KOMISARENKO SV, SKOK MV. Nicotinic acetylcholine receptors alpha4beta2 and alpha7 regulate myelo- and erythropoiesis within the bone marrow. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; **40**: 980–990.
- [24] LAM DC, GIRARD L, RAMIREZ R, CHAU WS, SUEN WS, SHERIDAN S, TIN VP, CHUNG LP, WONG MP, SHAY JW, GAZDAR AF et al. Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunit genes in non-small-cell lung cancer reveals differences between smokers and nonsmokers. *Cancer Res* 2007; **67**: 4638–4647.
- [25] LI XW, WANG H. Non-neuronal nicotinic alpha 7 receptor, a new endothelial target for revascularization. *Life Sci* 2006; **78**: 1863–1870.
- [26] MARKOU A. Review. Neurobiology of nicotine dependence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2008; **363**: 3159–3168.
- [27] MARTINEZ-GARCIA E, IRIGOYEN M, ANSO E, MARTINEZ-IRUJO JJ, ROUZAUT A. Recurrent exposure to nicotine differentiates human bronchial epithelial cells via epidermal growth factor receptor activation. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; **228**: 334–342.
- [28] MOZAYAN M, LEE TJ. Statins prevent cholinesterase inhibitor blockade of sympathetic alpha7-nAChR-mediated currents in rat superior cervical ganglion neurons. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; **293**: H1737–1744.
- [29] NOCITO A, DAHM F, JOCHUM W, JANG JH, GEORGIEV P, BADER M, GRAF R, CLAVIEN PA. Serotonin regulates macrophage-mediated angiogenesis in a mouse model of colon cancer allografts. *Cancer Res* 2008; **68**: 5152–5158.
- [30] OLINCYA A, LEONARD S, YOUNG DA, SULLIVAN B, FREEDMAN R. Decreased bombesin peptide response to cigarette smoking in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1999; **20**: 52–59.
- [31] PENTON RE, LESTER RA. Cellular events in nicotine addiction. *Semin Cell Dev Biol* 2009; **20**: 418–431.
- [32] POGOCKI D, RUMAN T, DANILCZUK M, DANILCZUK M, CELUCH M, WALAJTYS-RODE E. Application of nicotine enantiomers, derivatives and analogues in therapy of neurodegenerative disorders. *Eur J Pharmacol* 2007; **563**: 18–39.
- [33] PREVARSKAYA N, SKRYMAR, SHUBA Y. Ion channels and the hallmarks of cancer. *Trends Mol Med* 2010; **16**: 107–121.
- [34] SCHULLER HM. Cell type specific, receptor-mediated modulation of growth kinetics in human lung cancer cell lines by nicotine and tobacco-related nitrosamines. *Biochem Pharmacol* 1989; **38**: 3439–3442.
- [35] SCHULLER HM. Neurotransmitter receptor-mediated signaling pathways as modulators of carcinogenesis. *Prog Exp Tumor Res* 2007; **39**: 45–63.
- [36] SCHULLER HM. Is cancer triggered by altered signaling of nicotinic acetylcholine receptors? *Nat Rev Cancer* 2009; **9**: 195–205.
- [37] SCHULLER HM, AL-WADEI HA, MAJIDI M. GABA B receptor is a novel drug target for pancreatic cancer. *Cancer* 2008; **112**: 767–778.
- [38] SCHULLER HM, AL-WADEI HA, MAJIDI M. Gamma-aminobutyric acid, a potential tumor suppressor for small airway-derived lung adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 2008; **29**: 1979–1985.
- [39] SHIN VY, WU WK, CHU KM, KOO MW, WONG HP, LAM EK, TAI EK, CHO CH. Functional role of beta-adrenergic receptors in the mitogenic action of nicotine on gastric cancer cells. *Toxicol Sci* 2007; **96**: 21–29.
- [40] SHIN VY, WU WK, CHU KM, WONG HP, LAM EK, TAI EK, KOO MW, CHO CH. Nicotine induces cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor receptor-2 in association with tumor-associated invasion and angiogenesis in gastric cancer. *Mol Cancer Res* 2005; **3**: 607–615.
- [41] SKANGIEL-KRAMSKA J. Receptory cholinergiczne. W: Nowak JZ, Zawilska JB [red.] Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN 2004: 351–365.
- [42] SKOK MV, GRAILHE R, AGENES F, CHANGEUX JP. The role of nicotinic receptors in B-lymphocyte development and activation. *Life Sci* 2007; **80**: 2334–2336.
- [43] SOBKOWIAK R, LESICKIA. Genotoxicity of nicotine in cell culture of *Caenorhabditis elegans* evaluated by the comet assay. *Drug Chem Toxicol* 2009; **32**: 252–257.

- [44] TAKAHASHI HK, IWAGAKI H, HAMANO R, KANKE T, LIU K, SADAMORI H, YAGI T, YOSHINO T, TANAKA N, NISHIBORI M. The immunosuppressive effects of nicotine during human mixed lymphocyte reaction. *Eur J Pharmacol* 2007; **559**: 69–74.
- [45] VERHOECKX KC, DOORNBOS RP, WITKAMP RF, VAN DER GREEF J, RODENBURG RJ. Beta-adrenergic receptor agonists induce the release of granulocyte chemotactic protein-2, oncostatin M, and vascular endothelial growth factor from macrophages. *Int Immunopharmacol* 2006; **6**: 1–7.
- [46] VIJAYARAGHAVAN S, HUANG B, BLUMENTHAL EM, BERG DK. Arachidonic acid as a possible negative feedback inhibitor of nicotinic acetylcholine receptors on neurons. *J Neurosci* 1995; **15**: 3679–3687.
- [47] WALDBURGER JM, BOYLE DL, PAVLOV VA, TRACEY KJ, FIRESTEIN GS. Acetylcholine regulation of synovioocyte cytokine expression by the alpha7 nicotinic receptor. *Arthritis Rheum* 2008; **58**: 3439–3449.
- [48] WESSLER I, KIRKPATRICK CJ. Acetylcholine beyond neurons: the non-neuronal cholinergic system in humans. *Br J Pharmacol* 2008; **154**: 1558–1571.
- [49] WONG HP, YU L, LAM EK, TAI EK, WU WK, CHO CH. Nicotine promotes cell proliferation via alpha7-nicotinic acetylcholine receptor and catecholamine-synthesizing enzymes-mediated pathway in human colon adenocarcinoma HT-29 cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; **221**: 261–267.
- [50] WONG HP, YU L, LAM EK, TAI EK, WU WK, CHO CH. Nicotine promotes colon tumor growth and angiogenesis through beta-adrenergic activation. *Toxicol Sci* 2007; **97**: 279–287.
- [51] XIN M, DENG X. Nicotine inactivation of the proapoptotic function of Bax through phosphorylation. *J Biol Chem* 2005; **280**: 10781–10789.
- [52] XIN M, GAO F, MAY WS, FLAGG T, DENG X. Protein kinase C zeta abrogates the proapoptotic function of Bax through phosphorylation. *J Biol Chem* 2007; **282**: 21268–21277.
- [53] XIU X, PUSKAR NL, SHANATA JAP, LESTER HA, DOUGHERTY DA. Nicotine binding to brain receptors requires a strong cation-p interaction. *Nature* 2009; **458**: 534–537.
- [54] XU J, HUANG H, PAN C, ZHANG B, LIU X, ZHANG L. Nicotine inhibits apoptosis induced by cisplatin in human oral cancer cells. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007; **36**: 739–744.
- [55] XU L, DENG X. Protein kinase C iota promotes nicotine-induced migration and invasion of cancer cells via phosphorylation of micro- and m-calpains. *J Biol Chem* 2006; **281**: 4457–4466.
- [56] YILDIZ D. Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects. *Toxicol* 2004; **43**: 619–632.
- [57] ZANIEWSKA M, PRZEGALINSKI E, FILIP M. Nicotine dependence- human and animal studies, current pharmacotherapies and future perspectives. *Pharmacol Rep* 2009; **61**: 957–965.
- [58] ZEIDLER R, ALBERMANN K, LANG S. Nicotine and apoptosis. *Apoptosis* 2007; **12**: 1927–1943.
- [59] ZHANG Q, TANG X, ZHANG ZF, VELIKINA R, SHI S, LE AD. Nicotine induces hypoxia-inducible factor-1alpha expression in human lung cancer cells via nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling pathways. *Clin Cancer Res* 2007; **13**: 4686–4694.
- [60] ZHENG Y, RITZENTHALER JD, ROMAN J, HAN S. Nicotine stimulates human lung cancer cell growth by inducing fibronectin expression. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; **37**: 681–690.

Redaktor prowadzący – prof. L. Hryniewiecka

Otrzymano: 3.07.2011 r.

Przyjęto: 02.08.2011 r.

dr Robert Sobkowiak

prof. UAM dr hab. Andrzej Lesicki

e-mail: robsob@amu.edu.pl

Zakład Biologii Komórki, Instytut Biologii Eksperymentalnej

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza

ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

e-mail: robsob@amu.edu.pl

e-mail: alesicki@amu.edu.pl