

## 4

## Effets cellulaires de la nicotine

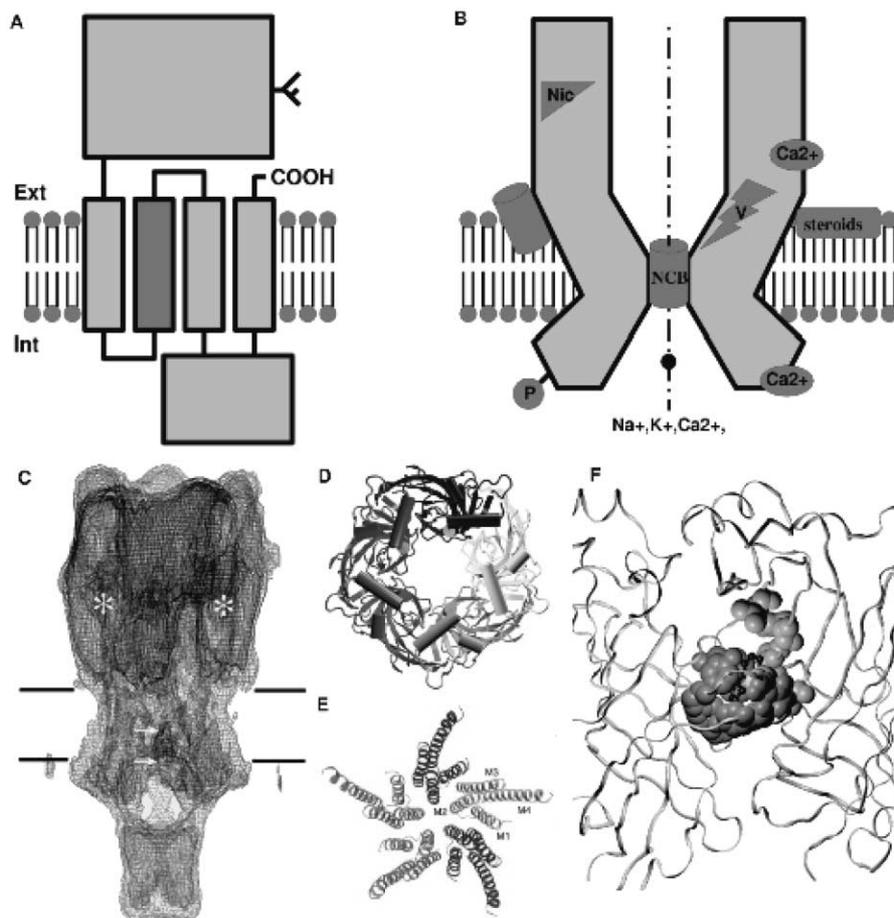
La nicotine interfère avec des processus physiologiques en mimant l'action d'un neurotransmetteur, l'acétylcholine. Elle active l'un des deux types de récepteurs pour l'acétylcholine, récepteurs nommés pour cette raison « récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine » (nAChRs).

Les nAChRs appartiennent à la superfamille des canaux ioniques activés par des ligands (*ligand-gated ion channels* ou LGIC) qui sont des protéines transmembranaires engagées dans les réponses rapides aux neurotransmetteurs. Ils peuvent exister sous différents états structuraux interconvertibles. La liaison de la nicotine stabilise, au moins de manière transitoire, un état ouvert du canal qui va laisser pénétrer les ions chargés positivement (cations). En particulier, sodium et calcium vont entrer dans la cellule. Cette activation des récepteurs par la nicotine modifie ensuite l'état des neurones via des mécanismes divers. Les nAChRs sont formés de cinq sous-unités organisées de manière symétrique autour du canal ionique. Ces sous-unités appartiennent à une famille multigénique et l'assemblage combinatoire des sous-unités rend possible l'existence d'un grand nombre de récepteurs différents. Les récepteurs nicotiniques sont présents dans tout le système nerveux, l'expression de chaque isoforme suivant des motifs spatio-temporels complexes. Du fait de cette variété de distributions, mais aussi de la diversité fonctionnelle des récepteurs, la nicotine va présenter des effets pléiotropes. Ces effets, aux conséquences parfois opposées au plan comportemental, rendent difficile l'étude des processus de dépendance chez l'animal.

### Diversité des sous-unités nicotiniques

Les études biochimiques, réalisées dans les années 1970 sur les organes électriques de torpille et de gymnote, ont permis de purifier le premier nAChR (Changeux et coll., 1970) et de découvrir que c'était une protéine pentamérique formée de quatre types différents de sous-unités (Weill et coll., 1974). Elles ont été nommées  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  en suivant leur poids moléculaire. Plus tard, une autre sous-unité  $\epsilon$ , a été découverte, remplaçant  $\gamma$  dans le muscle mature des tétrapodes (revue Changeux, 1990). Les sous-unités des nAChRs appartiennent à la superfamille des canaux ioniques activés par des ligands

qui contient également des récepteurs du GABA, de la glycine, et de la sérotonine (Galzi et Changeux 1994, Le Novère et Changeux, 1999). Chaque sous-unité des nAChRs suit le même schéma d'organisation transmembranaire (figure 4.1A). Une large partie amino-terminale, portant les



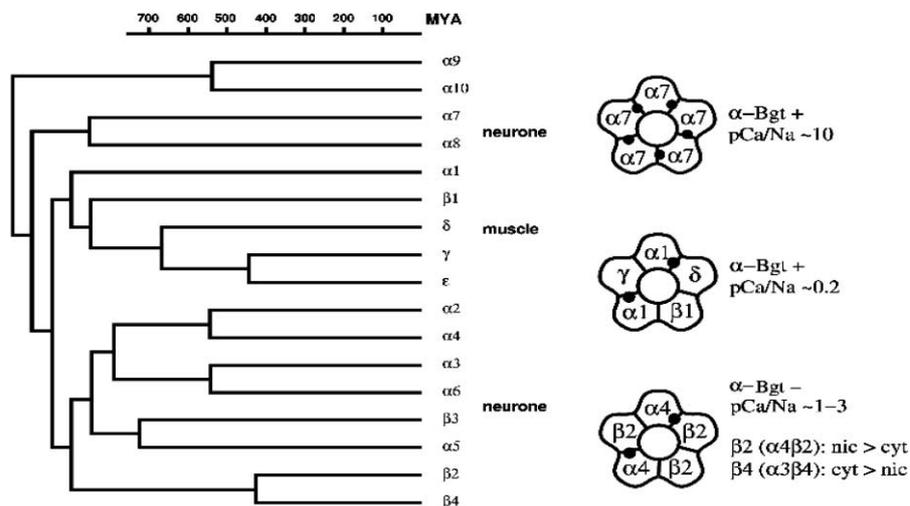
**Figure 4.1 : Structure des récepteurs nicotiques**

A : schéma d'organisation d'une sous-unité de récepteur nicotinique. B : interaction d'un récepteur nicotinique avec différents effecteurs allostériques. Nic = nicotine ; P = phosphate ; NCB = non-compétitif bloquer. C : image d'un nAChR d'organe électrique de torpille, reconstruite à partir d'analyses par microscopie électronique de cristaux bidimensionnels (Unwin, 2000). D : structure atomique de l'AChBP, une protéine de mollusque homologue de la partie extracellulaire des nAChRs (Brecj et coll., 2001). E : structure du domaine transmembranaire reconstruite à partir d'analyses par microscopie électronique de cristaux bi-dimensionnels (Miyazawa et coll. 2003). F : site de liaison de la nicotine à l'interface de deux sous-unités  $\alpha 7$  adjacentes. Les résidus de la partie dite principale sont représentés en gris foncé, et les résidus de la partie dite complémentaire en plus clair. La molécule de nicotine est représentée arrimée dans le site de liaison.

composants du site de liaison de l'acétylcholine (et de la nicotine), fait face à l'environnement extracellulaire. Elle est suivie par trois segments transmembranaires, le second formant la paroi du pore ionique, puis un large domaine intracellulaire et un quatrième segment transmembranaire (Corringer et coll., 2000 ; Karlin, 2002).

Les méthodes de clonage moléculaire ont révélé l'existence de gènes homologues, c'est-à-dire apparus par duplication génique à partir d'un ancêtre commun, codant les sous-unités des nAChRs du système nerveux (Conti-Tronconi et coll., 1985). Neuf sous-unités « neuronales » ont été clonées à ce jour chez les mammifères. Les six sous-unités possédant deux cystéines adjacentes, importantes pour la liaison de l'acétylcholine (Kao et coll., 1984) et de la nicotine ont été nommées  $\alpha 2-7$ . Les autres ont été nommées  $\alpha 1-3$  puis  $\beta 2-4$ . Chez l'homme, la taille des sous-unités varie de 457 acides aminés ( $\alpha 1$ ) à 627 acides aminés ( $\alpha 4$ ). L'identité globale de séquence entre les sous-unités humaines varie de 36,3 % ( $\alpha 7/\beta 3$ ) à 72,4 % ( $\alpha 2/\alpha 4$ ), ce qui est assez élevé et reflète l'unité de fonction au sein de la famille des nAChRs. L'identité de séquence entre les sous-unités humaines et celles de rat varie de 82,2 % ( $\beta 4$ ) à 93,2 % ( $\beta 2$ ). La conservation de séquence n'est pas uniforme le long de la sous-unité. La partie cytoplasmique est hautement variable alors que la partie amino-terminale extracellulaire, les portions de la partie cytoplasmique flanquant le pore et les segments transmembranaires sont très conservés.

L'étude phylogénétique des sous-unités du nAChR (figure 4.2) révèle quelques sous-familles claires (Le Novère et Changeux, 1995 ; Ortells et Lunt,



**Figure 4.2 : Relations entre l'histoire évolutive des sous-unités de nAChRs et les propriétés des récepteurs**

α-Bgt = α-Bungarotoxin ; pCa/Na = perméabilité relative calcium/sodium ;  
nic = nicotine ; cyt = cytosine, MYA = million years ago

1995 ; Le Novère et coll., 2002b). Ces sous-familles, définies sur la base des séquences protéiques et de la structure des gènes (positions des introns dans la séquence codante) sont en accord avec les groupes de récepteurs définis fonctionnellement (par des caractères biochimiques, pharmacologiques ou cinétiques), ce qui signifie que la combinatoire des sous-unités au sein des récepteurs n'est pas totale, avec un nombre restreint de combinaisons possibles, et que l'assemblage répond à des règles précises. Dans les neurones, deux sous-groupes de sous-unités ont été identifiés. Les sous-unités  $\alpha 7$  (et  $\alpha 8$  chez le poulet) forment des récepteurs homopentamériques, hautement perméables au calcium et se désensibilisant extrêmement rapidement. Au contraire, les récepteurs contenant les sous-unités  $\alpha 2-6$  et  $\alpha 2-4$  forment toujours des hétéropentamères, montrent une perméabilité au calcium moindre et se désensibilisent plus lentement (revue dans Role et Berg, 1996).

## Structure moléculaire des nAChRs

Les nAChRs étant des molécules transmembranaires, la détermination de leur structure à l'échelle atomique reste pour l'instant hors de portée (la rhodopsine est à l'heure actuelle la seule protéine transmembranaire eucaryote dont la structure a été déterminée à haute résolution, ceci du fait de conditions très particulières qui ne sont pas applicables aux autres récepteurs). L'information disponible repose donc largement sur des témoignages indirects. Cependant, des développements récents sont en train de changer ce point de vue (revue dans Karlin, 2002).

### Structure globale du pentamère

La structure à faible résolution des nAChRs fut initialement déterminée par microscopie électronique de molécules uniques (Cartaud et coll., 1973), ou de cristaux bidimensionnels (Kistler et Stroud, 1981) de récepteur d'organe électrique de torpille. Ces méthodes ont maintenant une résolution permettant d'avoir une idée de l'organisation détaillée des récepteurs (Miyazawa et coll., 1999 ; Unwin, 2000). Les nAChRs sont composés de cinq sous-unités arrangées autour d'un axe de pseudo-symétrie perpendiculaire à la membrane (figure 2.1C). Cette structure en rosette a été récemment confirmée par la cristallisation d'une protéine synaptique de mollusque, l'*acetylcholine binding protein* (AChBP), homologue de la partie amino-terminale des sous-unités des nAChRs (Brejc et coll., 2001) (figure 2.1D). Comme cela avait été prédit sur la base d'analyse de séquences, la structure du domaine amino-terminal des sous-unités nicotiques est dite en « sandwich »  $\beta$ , semblable aux immunoglobulines (Le Novère et coll., 1999a ; Corringer et coll., 2000).

### Structure du site de liaison de la nicotine

Les techniques de marquage par affinité et la mutagénèse dirigée ont permis de montrer que les sites de liaison des agonistes sont localisés à l'interface entre deux sous-unités adjacentes, et sont formés de deux composants (Galzi et Changeux, 1994 ; Sine, 2002). Le composant principal est porté par les sous-unités dites  $\alpha$  (exceptée  $\alpha 5$ , qui ne doit son nom qu'au doublet de cystéines adjacentes). Lui faisant face sur la sous-unité adjacente, le composant complémentaire est porté par les sous-unités  $\beta 2$  et  $\beta 4$  mais aussi les sous-unités  $\alpha 7$  qui peuvent former des homopentamères. Cet agencement a été confirmé par les modèles de nAChRs construits à partir de la structure de l'AChBP (Le Novère et coll., 2002a ; Schapira et coll., 2002 ; Sine et coll., 2002) (figure 2.1E).

La première conséquence de cet arrangement est qu'une sous-unité (par exemple  $\alpha 7$  dans les homopentamères) peut participer à plusieurs sites de liaison par ses composants principaux et complémentaires. Il est à noter que c'est également le cas pour les récepteurs du GABA de type A, homologues des nAChRs, où la sous-unité  $\alpha$  participe en même temps au site de liaison du GABA par sa composante complémentaire, faisant face à la sous-unité  $\beta$ , et au site de liaison des benzodiazépines par sa composante principale, faisant face à la sous-unité  $\gamma$  (Galzi et Changeux, 1994 ; Hevers et Lüddens, 1998). Ce mécanisme de liaison différentielle pourrait expliquer la potentiation des nAChRs par la toxine endogène *Lynx1* (Miwa et coll., 1999 ; Ibañez-Tallon et coll., 2002).

La seconde conséquence, d'une importance majeure, est qu'une large variété de sites peut être engendrée par la combinaison des différentes sous-unités. Effectivement, les études d'expression hétérologue en ovocytes de xénope et dans différents types de cellules, mais également les études de *patch-clamp* dans des préparations de cerveau et de ganglion suggèrent que les multiples combinaisons de sous-unités s'assemblent pour former des nAChRs fonctionnels présentant des caractéristiques pharmacologiques et des propriétés ioniques distinctes (Luetje et Patrick, 1991 ; Chavez et coll., 1997 ; Colquhoun et Patrick, 1997 ; Gerzanich et coll., 1997 ; Fucile et coll., 1998 ; Léna et coll., 1999). Les sous-unités ne participant pas au site de liaison des agonistes, comme  $\alpha 5$ , affectent également les propriétés des récepteurs hétéromériques (Ramirez-Lattore et coll., 1996 ; Wang et coll., 1996 ; Gerzanich et coll., 1998)  $\gamma$  compris leur spectre pharmacologique, en agissant sur les équilibres entre conformations (*vide infra*). Au final, on obtient un grand nombre de récepteurs, possédant une sensibilité variable à la nicotine, et produisant des réponses drastiquement différentes à cette substance. Une quinzaine de récepteurs différents a été identifiée à ce jour, mais il est très probable qu'ils ne représentent que les isoformes principales.

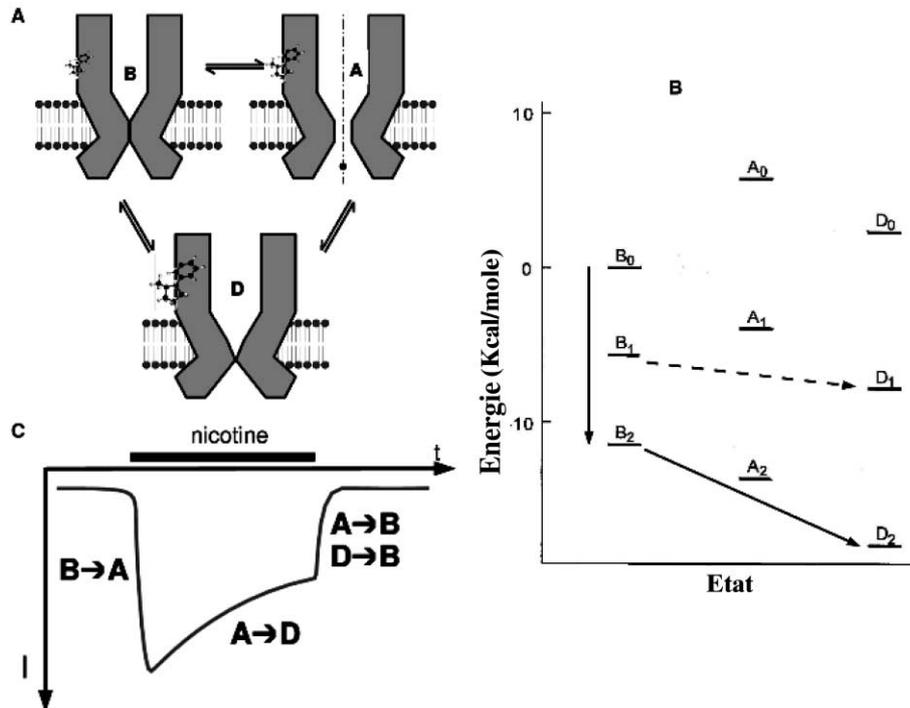
### Structure du domaine transmembranaire

La liaison des bloquants du canal ainsi que la mutagenèse dirigée ont permis de montrer que la paroi du pore ionique était formée principalement par les seconds segments transmembranaires de chaque sous-unité (Giraudat et coll., 1986 ; Hucho et coll., 1986 ; Imoto et coll., 1986). L'analyse précise de ces segments a permis de mettre en évidence une structure stratifiée, et d'identifier les déterminants de la sélectivité ionique ainsi que la localisation des « portes » d'activation et de désensibilisation (Galzi et coll., 1992 ; Corringer et coll., 1999 ; Wilson et Karlin, 1998 et 2001). Si la structure du canal au niveau atomique n'est toujours pas résolue, la microscopie électronique a cependant permis d'en obtenir une image assez détaillée, à la fois dans l'état ouvert et dans des états fermés (Unwin, 1995 ; Miyazawa et coll., 2003).

### Modulation des transitions allostériques des nAChRs

Les récepteurs nicotiques peuvent exister sous différents états structuraux interconvertibles, cette propriété étant la base même de leur fonction (Edelstein et Changeux, 1998). Il y a trois types d'états structuraux : basal (ou de repos), actif (ou ouvert), et désensibilisé (Sugiyama et Changeux, 1975) (figure 4.3A). Un ligand va stabiliser l'état pour lequel il a la plus forte affinité. Ainsi la liaison des agonistes, par exemple la nicotine, stabilise normalement l'état ouvert (au moins de manière transitoire) et provoque l'entrée de courant (figure 4.3C). Cependant, les stabilités relatives des différents états sont variables selon que les récepteurs sont non ligandés, mono-ligandés ou bi-ligandés (et même tri-, quadri- ou penta-ligandés dans le cas des homopentamères  $\alpha 7$ ) (Edelstein et coll., 1996). Des effets paradoxaux peuvent dès lors apparaître, comme par exemple la désensibilisation des récepteurs par des concentrations non activantes de nicotine (figure 4.3B). Au vu des concentrations circulantes de nicotine chez le fumeur, il n'est pas exclu que dans certains cas la nicotine n'agisse pas en mimant l'acétylcholine endogène, mais au contraire en désensibilisant les récepteurs qui dès lors ne peuvent plus répondre à la liaison d'acétylcholine, l'affinité des récepteurs pour la nicotine étant en général plus forte que celle pour l'acétylcholine (Dani et Heinemann, 1996 ; Mansvelder et coll., 2002). Les constantes de transition conformationnelle, comme les affinités des différents états pour la nicotine, dépendent de l'identité des sous-unités formant le récepteur. De ce fait, non seulement les effets de la nicotine sur les différents récepteurs seront variables, mais ils dépendront beaucoup de la cinétique d'administration de la nicotine.

L'équilibre entre les différents états conformationnels est affecté par les ligands compétitifs, agonistes et antagonistes, qui se fixent sur le site de liaison de l'acétylcholine mais également par de nombreux effecteurs dits « allostériques » qui se fixent hors du site (figure 4.1B, Léna et Changeux, 1993a). Ainsi l'activité des nAChRs est modifiée par des phosphorylations (Teichberg et coll., 1977 ; revue dans Haganir et Greengard, 1990), des



**Figure 4.3 : Propriétés allostériques des récepteurs nicotiques**

A : Interconversions entre les trois états des récepteurs nicotiques (B : basal, A : actif, D : désensibilisé). La taille de la nicotine est proportionnelle à son affinité pour les différentes conformations.

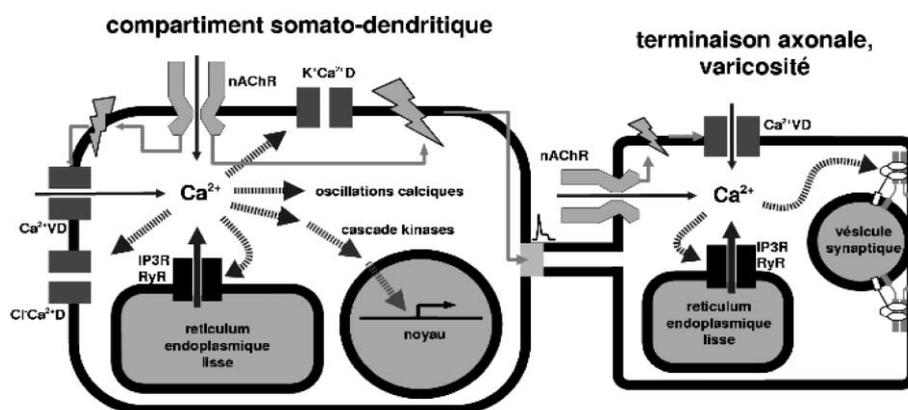
B : Énergie libre des différents états, non ligandé, mono-ligandé et bi-ligandé. En présence de concentrations non-saturantes d'agonistes, les récepteurs mono-ligandés peuvent être stabilisés dans l'état désensibilisé sans qu'il y ait ouverture du canal.

C : Réaction d'une population de récepteurs en présence d'une concentration activante de nicotine. Il y a tout d'abord une stabilisation rapide des récepteurs dans l'état actif, puis une stabilisation progressive dans l'état désensibilisé. Quand l'agoniste disparaît du milieu, les récepteurs sont de nouveau stabilisés dans l'état basal.

stéroïdes (Valera et coll., 1992), les ions calcium (Vernino et coll., 1992 ; Galzi et coll., 1996), certains insecticides (Krause et coll., 1998) ou encore le peptide  $\beta$ -amyloïde (Pettit et coll., 2001 ; Dineley et coll., 2002). Ces régulateurs peuvent stabiliser l'état actif (ils potentialisent l'effet des agonistes compétitifs) ou les états fermés (ils agissent alors comme des antagonistes non compétitifs). De plus, les nAChRs neuronaux sont sensibles à la différence de potentiel transmembranaire, leur conductance diminuant aux voltages positifs (Sands et Barish, 1992). Ces mécanismes pourraient permettre une régulation fine de la fonction des nAChRs, dépendante du contexte spatio-temporel du récepteur relativement aux autres systèmes de transmetteurs, mais aussi aux régulations endocriniennes et à l'état de la cellule.

## Effets cellulaires de la liaison de la nicotine

L'activation des nAChRs par la nicotine affecte la cellule neuronale par deux mécanismes distincts (figure 4.4). D'une part, l'entrée de courant provoque une dépolarisation de la membrane plasmique qui va se propager (l'*excitatory post-synaptic potential* ou EPSP). D'autre part, le calcium entrant par les nAChRs va agir à la fois en modulant l'activité d'autres canaux, mais aussi en affectant diverses cascades de seconds messagers.



**Figure 4.4 : Conséquences de l'activation des récepteurs nicotiques sur la physiologie cellulaire**

Les flèches fines en gris clair représentent la propagation de la dépolarisation membranaire, des nAChRs vers des canaux dépendants du voltage. Les flèches en gris foncé représentent les entrées de calcium dans la cellule. Les flèches épaisses en pointillés représentent les effets du calcium.

### Problème des synapses nicotiques

Jusqu'à présent, la seule synapse nicotinique neurone-neurone identifiée – c'est-à-dire dont on a identifié précisément le récepteur – est la synapse se trouvant sur le soma des neurones post-ganglionnaires autonomes. Cette synapse provoque les EPSPs responsables de la transmission motrice autonome principale (Halvorsen et Berg, 1986 ; Loring et Zigmond, 1987 ; De Biasi, 2002). Dans le système nerveux central, plusieurs synapses avec des profils correspondant aux nAChRs hétéromériques ont été suggérées sur la base d'arguments électrophysiologiques. La cellule de Renshaw, un interneurone GABAergique localisé dans la moelle épinière, présente des réponses nicotiques synaptiques, provoquées par une stimulation cholinergique en provenance du motoneurone (Dourado et Sargent, 2002). Plusieurs réponses nicotiques de type synaptique ont été enregistrées dans l'habénula médiale (McCormick et Prince, 1987a), dans le noyau genouillé dorso-latéral du thalamus (McCormick et Prince, 1987b), dans l'amygdale (Nose et coll.,

1991), dans le cortex visuel (Roerig et coll., 1997) et dans la substance noire pars compacta (Futami et coll., 1995 ; Sorenson et coll., 1998). Plusieurs indices semblent indiquer une autre possibilité dans le noyau ambigu (Wang et coll., 1991 ; Zhang et coll., 1993). Plus récemment, des synapses qui correspondraient plutôt à des récepteurs de type  $\alpha 7$  ont également été observées dans l'hippocampe (Alkondon et coll., 1998 ; Frazier et coll., 1998 ; Heft et coll., 1999), dans le noyau supra-optique de l'hypothalamus (Hatton et Yang, 2002) et dans la couche X de la moelle épinière (Bordet et coll., 1996 ; Bradaia et Trouslard, 2002).

Les synapses nicotiques neurone-neurone peuvent être complexes et comporter différents types de récepteurs. Par exemple, la partie post-synaptique de la synapse autonome motrice comporte des récepteurs agrégés de type  $\alpha 3\beta 4(\beta 2)\alpha 5$  (Halvorsen et Berg, 1990 ; Vernallis et coll., 1993 ; Wilson Horch et Sargent, 1995) mais également des récepteurs  $\alpha 7$  dispersés sur les épines dendritiques faisant face au bouton présynaptique (Jacob et Berg, 1983 ; Loring et coll., 1985 ; Shoop et coll., 1999). Les vésicules présynaptiques sont concentrées au niveau des densités post-synaptiques, supposées être des agrégats de récepteurs hétéromériques (Shoop et coll., 2002). Cependant, les récepteurs  $\alpha 7$  dispersés sur les épines dendritiques sont non seulement fonctionnels, mais importants pour une transmission correcte (Zhang et coll., 1997 ; Chang et Berg, 1999), et l'hypothèse a été émise d'une activation à partir d'une diffusion latérale de transmetteurs. La nicotine circulante pourrait évidemment agir sur les deux types de récepteurs.

Les effets physiologiques prépondérants de l'acétylcholine dans le système nerveux central semblent principalement dus à l'activation non synaptique des nAChRs (Descarries et coll., 1997). Ces récepteurs participeraient à la transmission paracrine ou *volume transmission* (par opposition à la transmission câblée classique, appelée *wiring transmission*) (Fuxe et Agnati, 1991 ; Zoli et Agnati, 1996). Dans ce mode de transmission, de faibles concentrations circulantes d'effecteurs agissent sur des récepteurs pouvant présenter une faible densité. Les effets de la nicotine seraient alors de moduler d'autres systèmes de neurotransmission plutôt que d'affecter directement la décharge des neurones cibles.

### **Modulation de la libération d'autres neurotransmetteurs par la nicotine**

Les récepteurs nicotiques sont en fait observés sur de nombreux compartiments des neurones. En plus de leur présence sur les dendrites et le soma de nombreux neurones, on les trouve au niveau des sites de libération des neurotransmetteurs, sur les varicosités et les terminaisons axonales. De nombreux effets documentés de la nicotine impliquent l'activation de populations de récepteurs présentant une localisation présynaptique (Wonnacott, 1997 ; MacDermott et coll., 1999) ou préterminale (Léna et coll., 1993).

On sait que la nicotine accroît la libération de dopamine dans le striatum, le cortex et l'hypothalamus (Westfall, 1974 ; Giorgiueff et coll., 1976 ; Imperato et coll., 1986 ; Summers et Giacobini, 1995 ; Pontieri et coll., 1996 ; Picciotto et coll., 1998 ; Ferrari et coll., 2003), de noradrénaline dans l'hippocampe et l'hypothalamus (Hall et Turner, 1972 ; Arqueros et coll., 1978 ; Sershen et coll., 1997 ; Léna et coll., 1999), de GABA dans le noyau interpedonculaire, le thalamus, l'hippocampe et le système mésostrié (Léna et coll., 1993 ; Kayadjanian et coll., 1994 ; Léna et Changeux, 1997 ; Maggi et coll., 2001), de glutamate dans le bulbe olfactif, le cortex, l'hippocampe, l'habénula médiale et l'aire tegmentale ventrale (Vidal et Changeux, 1993 ; McGehee et coll., 1995 ; Alkondon et coll., 1996 ; Gray et coll., 1996 ; Aramakis et Metherate, 1998 ; Mansvelder et McGehee, 2000 ; Marchi et coll., 2002 ; Lambe et coll., 2003), et d'acétylcholine dans le noyau interpedonculaire, le striatum et le cortex (Rowell et Winkler, 1984 ; Grady et coll., 2001 ; Machova et coll., 2003).

L'accroissement de la libération des neurotransmetteurs par la nicotine est dû en partie à la dépolarisation de la membrane plasmique provoquée par l'entrée de courant. Par exemple, dans les terminaisons dopaminergiques du striatum, la nicotine accroît la libération de dopamine en activant des canaux calcium dépendants du voltage (Kulak et coll., 2001). Mais l'accroissement de la libération d'autres transmetteurs peut aussi être due à l'entrée de calcium dans les terminaison axonales directement par les nAChRs (Léna et Changeux, 1997).

### **Effets de la nicotine dus à l'entrée de calcium**

Les récepteurs nicotiques neuronaux sont tous très perméables au calcium. La perméabilité relative calcium/sodium atteint plusieurs unités pour la plupart des récepteurs hétéromériques (Sands et Barish, 1991 ; Mulle et coll., 1992 ; Vernino et coll., 1993), et peut atteindre plusieurs dizaines pour les homomères  $\alpha 7$  (Séguéla et coll., 1992).

L'effet le mieux documenté de l'entrée de calcium par les nAChRs est l'activation d'autres canaux membranaires, sur la membrane plasmique comme sur des compartiments intracellulaires. La nicotine produit notamment un effet inhibiteur sur certains neurones en activant, via l'entrée d'ions calcium, des canaux chlore et potassique, comme dans le septum dorso-latéral et la cochlée (Wong et Gallagher, 1989 ; Blanchet et coll., 1996), localisés sur la membrane plasmique. Le calcium entrant dans la cellule par les nAChRs agit également sur les récepteurs de la ryanodine, présents sur la membrane du réticulum endoplasmique lisse, en entraînant des phénomènes de *calcium-induced calcium release* (Berridge, 1998). Des vagues de calcium peuvent parfois apparaître dans les varicosités (Brain et coll., 2001). Selon les terminaisons, les nAChRs peuvent agir plutôt sur les canaux dépendants du voltage ou sur les stocks intracellulaires de calcium (Dajas-Bailador et coll., 2002).

Le calcium cytoplasmique, entrant directement par les nAChRs, ou bien provenant des réservoirs intracellulaires, va agir sur plusieurs cascades de phosphorylation, principalement via la protéine kinase C, la calmoduline kinase et les *Mitogen Activated Proteins* (MAP) kinases. Ces cascades modulent ultimement la fonction de facteurs de transcription, notamment des gènes de réponse rapide de type AP-1 (fos et jun B) ainsi que CREB. Par exemple, les nAChRs activent CREB via les réservoirs intracellulaires de calcium activant les voies MAP kinases et calmoduline kinase (Chang et Berg, 2001).

### **Modulation de l'expression de plusieurs facteurs de transcription par la nicotine**

L'action des traitements par la nicotine sur l'expression des gènes de réponse précoce AP-1, et de *c-fos* en particulier, est la mieux documentée. L'injection locale de nicotine dans l'aire tegmentale ventrale (ATV) accroît l'expression de la protéine *c-fos* dans le noyau accumbens de rat (Panagis et coll., 1996), cible des neurones dopaminergiques présents dans l'ATV. L'effet de l'injection systémique de nicotine sur l'expression de *c-fos* dans l'ATV elle-même est discutée. Certains auteurs n'ont pas observé de modification (Ren et coll., 1992), alors que d'autres ont mis en évidence un accroissement (Pang et Sagar, 1993). L'auto-administration intraveineuse de nicotine entraîne également un accroissement de l'expression de *c-fos* dans les zones de projection de l'ATV, c'est-à-dire le noyau accumbens et le cortex préfrontal (Pagliusi et coll., 1996). Les conséquences des traitements nicotinniques varient selon les facteurs de transcription. Un traitement chronique à la nicotine accroît la réponse de *c-fos* à une injection de nicotine mais au contraire supprime la réponse de jun B (Nisell et coll., 1997). Les traitements nicotinniques affectent également l'expression et la phosphorylation de CREB (Pandey et coll., 2001). En particulier, l'activité de CREB est accrue dans le cortex préfrontal et diminuée dans le noyau accumbens (Brunzell et coll., 2003)

La nicotine agit sur l'expression de plusieurs autres gènes. Par exemple, des injections aiguës de nicotine provoquent une augmentation des ARN messagers codant pour la tyrosine hydroxylase, enzyme initiale de la biosynthèse des catécholamines dans le locus coeruleus, origine de l'innervation noradrénergique ascendante (Mitchell et coll., 1993). Un traitement chronique avec de la nicotine provoque un accroissement de la tyrosine hydroxylase dans le cortex préfrontal, champ récepteur de toutes les projections catécholaminergiques (Brunzell et coll., 2003).

### **Distribution des récepteurs nicotinniques**

À partir des 16 sous-unités humaines, et en prenant en compte les règles d'assemblage les plus communément admises, on peut former plus de

3 000 récepteurs différents. Parmi toutes ces possibilités, seules quelques-unes sont plausibles lorsque l'on considère la distribution des sous-unités, leur niveau d'expression, et la pharmacologie observés *in vivo*.

### **Localisation des récepteurs nicotiques hors du système neuromusculaire**

Avant de présenter plus en détail la distribution des récepteurs nicotiques dans le système nerveux, il n'est pas inutile de rappeler que ces récepteurs sont présents dans de nombreux autres tissus (Sharma et Vijayaraghavan, 2002). Bien que leur lieu d'expression principal soit les cellules excitables des systèmes nerveux et musculaire, on les trouve également dans des types cellulaires variés. En particulier, leur présence est bien documentée dans les épithélia et les leucocytes. Via la modulation du calcium intracellulaire, les nAChRs interviennent dans la différenciation des kératinocytes (Grando et coll., 1996) – en particulier, le rôle d' $\alpha 7$  a été avancé (Arredondo et coll., 2002) – ainsi que dans leur adhésion et motilité (Grando et coll., 1995 ; Zia et coll., 2000). Dans l'épithélium bronchique (Klapproth et coll., 1998 ; Maus et coll., 1998), l'effet sur l'adhésion et la motilité semble plutôt passer par des récepteurs hétéromériques (Zia et coll., 1997). Dans le sang, les récepteurs sont présents dans les lymphocytes (Toyabe et coll., 1997 ; Battaglioli et coll., 1998 ; Benhammou et coll., 2000), les granulocytes (Lebargy et coll., 1996) et les macrophages (Wang et coll., 2003), mais aussi dans l'endothélium vasculaire (Macklin et coll., 1998). Enfin, la présence de récepteurs nicotiques a également été rapportée dans l'épithélium thymique (Wakkach et coll., 1996 ; Navaneetham et coll., 1997) et les cellules gliales (Rogers et coll., 2001).

### **Localisation des récepteurs nicotiques au sein du système neuromusculaire**

Au niveau du système neuromusculaire, la séparation en sous-unités musculaires et sous-unités neuronales est globalement vérifiée. Cependant, la ségrégation n'est pas totale puisqu'on trouve des sous-unités « neuronales » dans des tissus musculaires (Corriveau et coll., 1995 ; Romano et coll., 1997a et b) et des sous-unités « musculaires » dans certains neurones (Talib et coll., 1993).

La distribution des récepteurs nicotiques dans le système nerveux des mammifères est cependant à la fois étendue et complexe. Cette complexité est à la base de l'extrême variété d'effets documentés de la nicotine, qui rend problématique l'étude de la dépendance nicotinique. Les travaux sérieux concernant l'histologie des récepteurs nicotiques et de leurs sous-unités ont été principalement menés chez les rongeurs. Peu de tentatives ont été faites afin d'étendre ces observations aux primates et en particulier à l'homme.

56 Cependant, les quelques études disponibles montrent que si les distributions

sont globalement similaires, il existe quelques différences marquantes entre les primates et les rongeurs. Des différences existent également entre le rat et la souris, différences pouvant expliquer bien des divergences entre les auteurs étudiant la physiologie des récepteurs nicotiniques dans ces espèces.

### Système nerveux périphérique et système nerveux central

Dans le système nerveux périphérique, on peut distinguer les ganglions autonomes moteurs dont les cellules portent des récepteurs  $\alpha 3\beta 4\alpha 5$  ainsi que des récepteurs homomériques ( $\alpha 7$ , et les ganglions somato-sensoriels (crâniens et ganglions des racines dorsales) qui expriment principalement les sous-unités  $\alpha 6$ ,  $\beta 2$  et  $\beta 3$  (Zoli et coll., 1995 ; Le Novère et coll., 1996). De plus, il faut noter l'importance des récepteurs nicotiniques dans les ganglions de la sensibilité spéciale, les ganglions cochléaires et vestibulaires (Zoli et coll., 1995 ; Hiel et coll., 1996). En particulier ces derniers, impliqués dans le contrôle de l'équilibre, pourraient intervenir dans les aspects aversifs de la prise de nicotine.

Dans le système nerveux central, et en particulier dans le cerveau, on peut distinguer deux types de distribution. Les neurones de la plupart des structures expriment un petit nombre de sous-unités, à des densités modestes. En parallèle, un nombre restreint de structures expriment un grand nombre de sous-unités nicotiniques à des niveaux très importants.

#### Récepteurs majoritaires

Deux classes principales de sites de liaison ont été mises en évidence, les sites de liaison à haute affinité pour les agonistes (par exemple l'acétylcholine, la nicotine ou l'épipatidine) et les sites de liaison pour la bungarotoxine- $\alpha$ .

Les sites de liaison à haute affinité pour la nicotine traduisent chez les rongeurs la présence de récepteurs contenant les sous-unités  $\alpha 4$  et  $\beta 2$ , parfois co-assemblées avec  $\alpha 5$  (Whiting et coll., 1987 ; Flores et coll., 1992). Chez les rongeurs, la distribution des ARN messagers codant pour ces sous-unités, étudiée par hybridation *in situ* (Wada et coll., 1989 et 1990), et celle des sous-unités protéiques, étudiée par immunocytochimie (Hill et coll., 1993 ; Rogers et coll., 1998), correspondent parfaitement à la répartition des sites de liaison de la nicotine, révélée par autoradiographie (Clarke et coll., 1985). De plus, des souris dont les gènes codant pour les sous-unités  $\alpha 4$  et  $\alpha 2$  ont été invalidés ne présentent plus ces sites de liaison à haute affinité (Picciotto et coll., 1995 ; Marubio et coll., 1999 ; Ross et coll., 2000). Ce type d'expression s'observe dans la plus grande partie du cerveau, et en particulier dans le cortex et le thalamus. Si la sous-unité  $\alpha 2$  est présente dans tous les neurones,  $\alpha 4$  est absente (ou exprimée à de très faibles niveaux) dans le striatum, l'hippocampe et le cervelet (Wada et coll., 1989). Il a été suggéré récemment que chez les primates, les sites de liaison à haute affinité de la nicotine pourraient correspondre à la présence de la sous-unité  $\alpha 2$  et non  $\alpha 4$ . Alors

que la sous-unité  $\alpha 2$  est exprimée de manière marginale dans le noyau interpédonculaire et le bulbe olfactif des rongeurs (Wada et coll., 1989), elle est exprimée à travers tout le cerveau du singe macaque (Han et coll., 2000), et cette distribution correspond parfaitement avec les sites de liaison de la nicotine, contrairement à celle de la sous-unité  $\alpha 4$  (Han et coll., 2003).

Les récepteurs marqués par la bungarotoxine- $\alpha$  radioactive (Clarke et coll., 1985) reflètent la présence de récepteurs homomériques  $\alpha 7$ . La distribution du marquage ressemble globalement à celle de l'ARN messager de la sous-unité  $\alpha 7$  (Séguéla et coll., 1993). Ce marquage disparaît totalement du cerveau de souris portant un gène  $\alpha 7$  invalidé (Orr-Urtreger et coll., 1997). Ces récepteurs sont exprimés en particulier dans les structures télencéphaliques (cortex, hippocampe, amygdale...) ainsi que dans l'hypothalamus. La distribution des sites de liaison de la bungarotoxine- $\alpha$  montre de grandes différences interspécifiques. Elle est globalement plus étendue chez les primates que chez les rongeurs (Han et coll., 2003), en particulier dans le thalamus, ce qui reflète l'expression de la sous-unité  $\alpha 7$  (Rubboli et coll., 1994, Han et coll., 2003). Ce n'est cependant pas le cas dans le striatum, où l'on trouve des sites de liaison de la bungarotoxine- $\alpha$  chez la souris (Pauly et coll., 1989), mais pas chez le rat (Clarke et coll., 1995 ; Harfstrand et coll., 1988) ou chez les primates (Cimino et coll., 1992 ; Han et coll., 2003).

### ***Structures particulièrement riches en récepteurs nicotiques***

Un nombre restreint de structures cérébrales présente une densité particulièrement élevée de récepteurs nicotiques. Les neurones de ces structures expriment, de plus, un grand nombre de sous-unités différentes. La plupart des sous-unités sont exprimées dans la rétine, et en particulier dans les cellules ganglionnaires (Hoover et Goldman, 1992). Les récepteurs formés restent dans la rétine ou migrent dans le colliculus supérieur ou tectum (Henley et coll., 1986) ou bien dans le noyau genouillé latéral (Han et coll., 2003). L'épithalamus, glande pinéale et complexe de l'habénula, présente également une grande richesse en sous-unités (Wada et coll., 1989 ; Le Novère et coll., 1996 ; Han et coll., 2000) qui donnent naissance à des récepteurs locaux ou migrant dans le noyau interpédonculaire via le fasciculus rétroflexus (Mulle et coll., 1991 ; Zoli et coll., 1998 ; Han et coll., 2003).

Une zone particulièrement importante dans le contexte des effets de l'administration de nicotine est l'area postrema. Cette structure est impliquée dans les mécanismes émétiques et sa densité importante de sites de liaison nicotique pourrait participer au déclenchement de nausées entraînées par la nicotine (Zoli et coll., 1998).

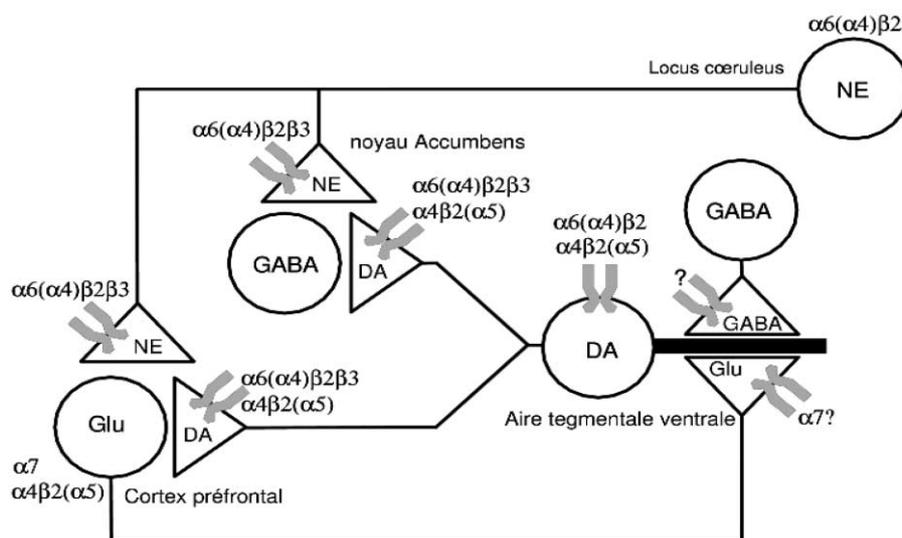
Enfin les noyaux catécholaminergiques du mésencéphale, qui jouent un rôle central dans les effets renforçants des drogues à accoutumance, et de la nicotine en particulier, sont des structures particulièrement riches en récepteurs nicotiques.

### Récepteurs nicotiques dans les noyaux catécholaminergiques

La dépendance à la nicotine passe en grande partie par un circuit cérébral particulier, la voie dopaminergique mésostriée (Corrigall et coll., 1992 et 1994). Ce circuit est composé des cellules dopaminergiques du mésencéphale appartenant à la substance noire et à l'ATV qui projettent aux structures télencéphaliques, notamment au striatum et au cortex préfrontal (Groenewegen et coll., 1991 ; Gerfen, 1992). La partie ventrale, formée des neurones de l'ATV projetant au noyau accumbens et aux structures limbiques, semble particulièrement importante (Self et Nestler, 1995 ; Picciotto et Corrigall, 2002). Les neurones de l'ATV, neurones de projection dopaminergiques et interneurons GABA, expriment une grande quantité de sous-unités des récepteurs nicotiques (Le Novère et coll., 1996 ; Klink et coll., 2001). Les ARN messagers codant pour les sous-unités  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$ ,  $\alpha 6$ ,  $\beta 2$  et  $\beta 3$  sont abondamment présents dans les neurones dopaminergiques.

L'identification de la composition exacte *in vivo* des différents récepteurs impliqués dans les aspects renforçants de la nicotine a bénéficié de la disponibilité des souris mutantes porteuses de sous-unités invalidées, mais également d'améliorations récentes dans les techniques d'immunopurification. Le domaine est en pleine évolution et le panorama présenté ici (figure 4.5) n'est certainement pas définitif.

Les neurones dopaminergiques portent de grandes quantités de récepteurs nicotiques à la fois sur leurs terminaisons axonales (50 %  $\alpha 4\beta 2$ , 50 %



**Figure 4.5 : Localisation des récepteurs nicotiques identifiés dans les structures catécholaminergiques du mésencéphale**

NE : noradrénaline ; DA : dopamine ; GABA : acide gamma-amino-butérique ; GLU : glutamate

$\alpha 4\alpha 6\beta 2(\beta 3)$  chez la souris) et sur leur compartiment somato-dendritique (80 %  $\alpha 4\beta 2$ , 20 %  $\alpha 4\alpha 6\beta 2$  chez la souris) (Zoli et coll., 2002 ; Champtiaux et coll., 2003). Les deux populations ont été impliquées dans la modulation par la nicotine de la libération de dopamine (Champtiaux et coll., 2003). De nombreuses données convergent pour dire que l'effet d'une injection aiguë de nicotine sur la libération de dopamine passe par les récepteurs localisés sur les compartiments somato-dendritiques des neurones dopaminergiques, principalement du type  $\alpha 4(\alpha 5)\beta 2$ . Toutefois, les effets d'injections répétées de nicotine n'ont pas été étudiés. La seule donnée relativement solide concerne l'auto-administration de nicotine, totalement supprimée chez des souris portant une sous-unité  $\alpha 2$  invalidée (Picciotto et coll., 1998). De plus, l'invalidation *in vivo* de la sous-unité  $\alpha 6$  par des oligonucléotides antisens affecte les propriétés stimulantes de la nicotine sur l'activité locomotrice (Le Novère et coll., 1999).

En supplément des récepteurs localisés sur les neurones dopaminergiques, certains auteurs ont proposé l'intervention de récepteurs nicotiques  $\alpha 7$  (Schilstrom et coll., 1998) situés sur les terminaisons glutamatergiques en provenance du cortex contactant les neurones dopaminergiques, ainsi que sur des interneurons GABAergiques (Mansvelder et coll., 2002). En revanche, certaines études excluent totalement l'implication d' $\alpha 7$  (Grottick et coll., 2000). Il convient toutefois de noter que, contrairement aux études portant sur les neurones dopaminergiques, les récepteurs  $\alpha 7$  n'ont pas été identifiés par purification mais sur la base d'arguments indirects. En particulier, l'antagoniste méthylycaconitine (MLA) est généralement utilisé (Markou et Paterson, 2001 ; Woollorton et coll., 2003). Cependant, il a été montré que le MLA n'était pas totalement spécifique des récepteurs portant  $\alpha 7$ , mais pouvait aussi affecter les récepteurs possédant  $\alpha 6$  (Klink et coll., 2001).

Enfin, les neurones du locus cœruleus expriment de nombreuses sous-unités, comme  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\beta 2$  (Wada et coll., 1989),  $\beta 3$  (Deneris et coll., 1989),  $\beta 4$  (Dineley-Miller et Patrick, 1992),  $\alpha 6$  (Le Novère et coll., 1996). Les récepteurs nicotiques  $\alpha 6\beta 2\alpha 3$  et/ou  $\alpha 6\beta 2\alpha 3\alpha 4$  localisés sur les terminaisons en provenance du locus cœruleus et contrôlant la libération de noradrénaline au niveau du cortex préfrontal (Léna et coll., 1999) pourraient être impliqués dans le contrôle de la libération de dopamine par la nicotine.

**En conclusion**, la diversité des effets observés de la prise de nicotine ne fait que refléter la complexité du substrat neurobiologique sous-jacent. Il existe un très grand nombre de récepteurs nicotiques, possédant des caractéristiques cinétiques, électrophysiologiques et pharmacologiques variées. La distribution des récepteurs est ciblée dans différents sous-compartiments membranaires des neurones. Par ailleurs, les motifs spatio-temporels d'expression spécifiques des sous-unités nicotiques introduisent un niveau de richesse supplémentaire. Ce constat reflète les progrès énormes qu'a connus le domaine durant la dernière décennie. De plus, ces progrès vont aller en

s'accélération avec l'ouverture d'une nouvelle ère grâce à la possibilité d'identifier des récepteurs nicotiques particuliers, et d'approcher leur structure au niveau atomique. On peut désormais envisager sérieusement d'établir des pharmacopées ciblant simultanément et différenciellement plusieurs récepteurs nicotiques, plus efficaces comme thérapie substitutive que la nicotine elle-même.

## BIBLIOGRAPHIE

- ALKONDON M, ROCHA ES, MAELICKE A, ALBUQUERQUE EX. Diversity of nicotinic acetylcholine receptors in rat brain. V.  $\alpha$ -bungarotoxin-sensitive nicotinic receptors in olfactory bulb neurons and presynaptic modulation of glutamate release. *J Pharmacol Exp Ther* 1996, **278** : 1460-1471
- ALKONDON M, PEREIRA EF, ALBUQUERQUE EX. Alpha-bungarotoxin- and methyllycaconitine-sensitive nicotinic receptors mediate fast synaptic transmission in interneurons of rat hippocampal slices. *Brain Res* 1998, **810** : 257-263
- ARAMAKIS VB, METHERATE R. Nicotine selectively enhances NMDA mediated synaptic transmission during postnatal development in sensory neocortex. *J Neurosci* 1998, **18** : 8485-8495
- ARQUEROS L, NAQUIRA D, ZUNINO E. Nicotine-induced release of catecholamines from rat hippocampus and striatum. *Biochem Pharmacol* 1978, **27** : 2667-2674
- ARREDONDO J, NGUYEN VT, CHERNYAVSKY AI, BERCOVICH D, ORR-URTREGER A, et coll. Central role of alpha7 nicotinic receptor in differentiation of the stratified squamous epithelium. *J Cell Biol* 2002, **159** : 325-336
- BATTAGLIOLI E, GOTTI C, TERZANO S, FLORA A, CLEMENTI F, FORNASARI D. Expression and transcriptional regulation of the human alpha3 neuronal nicotinic receptor subunit in T lymphocyte. *J Neurochem* 1998, **71** : 1261-1270
- BENHAMMOU K, LEE M, STROOK M, SULLIVAN B, LOGEL J et coll. [(3)H]Nicotine binding in peripheral blood cells of smokers is correlated with the number of cigarettes smoked per day. *Neuropharmacology* 2000, **39** : 2818-2829
- BERRIDGE MJ. Neuronal calcium signaling. *Neuron* 1998, **21** : 13-26
- BLANCHET C, EROSTEGUI C, SUGASAWA M, DULON D. Acetylcholine-induced potassium current of guinea pig outer hair cells : its dependence on a calcium influx through nicotinic-like receptors. *J Neurosci* 1996, **16** : 2574-2584
- BORDEY A, FELZ P, TROUSLARD J. Patch-clamp characterization of nicotinic receptors in a subpopulation of lamina X neurons in rat spinal cord slices. *J Physiol* 1996, **490** : 673-678
- BRADAIA A, TROUSLARD J. Fast synaptic transmission mediated by alpha-bungarotoxin-sensitive nicotinic acetylcholine receptors in lamina X neurones of neonatal rat spinal cord. *J Physiol* 2002, **544** : 727-739
- BRAIN KL, TROUT SJ, JACKSON VM, DASS N, CUNNANE TC. Nicotine induces calcium spikes in single nerve terminal varicosities : a role for intracellular calcium stores. *Neuroscience* 2001, **106** : 395-403

BREJC K, VAN DIJK WJ, KLAASSEN RV, SCHUURMANS M, VAN DER OOST J et coll. Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors. *Nature* 2001, **411** : 269-276

BRUNZELL DH, RUSSELL DS, PICCIOTTO MR. In vivo nicotine treatment regulates meso-corticolimbic CREB and ERK signaling in C57Bl/6J mice. *J Neurochem* 2003, **84** : 1431-1441

CARTEAUD J, BENEDITTI L, COHEN JB, MEUNIER JC, CHANGEUX JP. Presence of a lattice structure in membrane fragments rich in nicotinic receptor protein from the electric organ of *Torpedo marmorata*. *FEBS Lett* 1973, **33** : 109-113

CHAMPTIAUX N, GOTTI C, CORDERO-ERAUSQUIN M, DAVID DJ, PRZYBYLSKI C, et coll. Subunit composition of functional nicotinic receptors in dopaminergic neurons investigated with knockout mice. *J Neurosci* 2003, **23** : 7820-7829

CHANG K, BERG DK. Nicotinic acetylcholine receptors containing subunits are required for reliable synaptic transmission in situ. *J Neurosci* 1999, **19** : 3701-3710

CHANG K, BERG DK. Voltage-gated channels block nicotinic regulation of CREB phosphorylation and gene expression in neurons. *Neuron* 2001, **32** : 855-865

CHANG K, BERG DK. Nicotinic acetylcholine receptors containing subunits are required for reliable synaptic transmission in situ. *J Neurosci* 1999, **19** : 3701-3710

CHANGEUX JP, KASAI M, HUCHET M, MEUNIER JC. Extraction à partir du tissu électrique de gymnote d'une protéine présentant plusieurs propriétés caractéristiques du récepteur physiologique de l'acétylcholine. *Cte Ren Acad Sci Paris* 1970, **270D** : 2864-2867

CHANGEUX JP. Functional architecture and dynamics of the nicotinic acetylcholine receptor : an allosteric ligand-gated ion channel. *Fidia Res Found Neurosci Award Lect* 1990, **4** : 21-168

CHANGEUX JP, EDELSTEIN S. Allosteric receptors after 30 years. *Neuron* 1981, **21** : 959-980

CHAVEZ-NORIEGA LE, CRONA JH, WASHBURN MS, URRUTIA A, ELLIOTT KJ, JOHNSON EC. Pharmacological characterization of recombinant human neuronal nicotinic acetylcholine receptors  $\alpha 2\beta 2$ ,  $\alpha 2\beta 4$ ,  $\alpha 3\beta 2$ ,  $\alpha 3\beta 4$ ,  $\alpha 4\beta 2$ ,  $\alpha 4\beta 4$ ,  $\alpha 7$  expressed in *Xenopus* oocytes. *J Pharm Exp Ther* 1997, **280** : 346-356

CIMINO M, MARINI P, FORNASARI D, CATTABENI F, CLEMENTI F. Distribution of nicotinic receptors in cynomolgus monkey brain and ganglia : localization of  $\alpha 3$  subunit messenger RNA,  $\alpha$ -bungarotoxin and nicotine binding sites. *Neuroscience* 1992, **51** : 77-86.

CLARKE P, SCHWARTZ RD, PAUL S, PERT C, PERT A. Nicotinic binding in rat brain : autoradiographic comparison of [ $^3$ H]-ACh, [ $^3$ H]-nicotine and [ $^{125}$ I]- $\alpha$ -bungarotoxin. *J Neurosci* 1985, **5** : 1307-1313

COLQUHOUN LM, PATRICK JW.  $\alpha 3$ ,  $\beta 2$ , and  $\beta 4$  form heteromeric neuronal nicotinic acetylcholine receptors in *Xenopus* oocytes. *J Neurochem* 1997, **69** : 2355-2362

CONTI-TRONCONI BM, DUNN SM, BARNARD EA, DOLLY JO, LAI FA et coll. Brain and muscle nicotinic acetylcholine receptors are different but homologous proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985, **82** : 5208-5212

- CORRIGALL WA, FRANKLIN KB, COEN KM, CLARKE PB. The mesolimbic dopaminergic system is implicated in the reinforcing effects of nicotine. *Psychopharmacology* 1992, **107** : 285-289
- CORRIGALL WA, COEN KM, ADAMSON KL. Self-administered nicotine activates the mesolimbic dopamine system through the ventral tegmental area. *Brain Res* 1994, **653** : 278-284
- CORRINGER PJ, BERTRAND S, GALZI JL, DEVILLERS-THIÉRY A, CHANGEUX JP, BERTRAND D. Mutational analysis of the charge selectivity filter of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. *Neuron* 1999, **22** : 831-843
- CORRINGER PJ, LE NOVÈRE N, CHANGEUX JP. Nicotinic receptors at the amino acid level. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2000, **40** : 431-458
- CORRIVEAU R, ROMANO SJ, CONROY W, OLIVA L, BERG DK. Expression of neuronal acetylcholine receptor genes in vertebrate skeletal muscle during development. *J Neurosci* 1995, **15** : 1372-1383
- DAJAS-BAILADOR FA, MOGG AJ, WONNACOTT S. Intracellular Ca<sup>2+</sup> signals evoked by stimulation of nicotinic acetylcholine receptors in SH-SY5Y cells : contribution of voltage-operated Ca<sup>2+</sup> channels and Ca<sup>2+</sup> stores. *J Neurochem* 2002, **81** : 606-614
- DANI JA, HEINEMANN S. Molecular and cellular aspects of nicotine abuse. *Neuron* 1996, **16** : 905-908
- DE BIASI M. Nicotinic mechanisms in the autonomic control of organ systems. *J Neurobiol* 2002, **53** : 568-579
- DENERIS ES, BOULTER J, SWANSON LW, PATRICK J, HEINEMANN S. Beta3 : a new member of nicotinic acetylcholine receptor gene family is expressed in brain. *J Biol Chem* 1989, **264** : 6268-6272
- DESCARRIES L, GISIGER V, STERIADE M. Diffuse transmission by acetylcholine in the CNS. *Prog Neurobiol* 1997, **53** : 603-625
- DINELEY-MILLER K, PATRICK J. Gene transcripts for the nicotinic acetylcholine receptor subunit, beta4, are distributed in multiple areas of the rat central nervous system. *Mol Brain Res* 1992, **16** : 339-344
- DINELEY KT, BELL KA, BUI D, SWEATT JD. Beta-amyloid peptide activates alpha7 nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem* 2002, **277** : 25056-25061
- DOURADO M, SARGENT PB. Properties of nicotinic receptors underlying Renshaw cell excitation by alpha-motor neurons in neonatal rat spinal cord. *J Neurophysiol* 2002, **87** : 3117-3125
- EDELSTEIN SJ, SCHAAD O, HENRY E, BERTRAND D, CHANGEUX JP. A kinetic mechanism for nicotinic acetylcholine receptors based on multiple allosteric transitions. *Biol Cybern* 1996, **75** : 361-379
- EDELSTEIN SJ, CHANGEUX JP. Allosteric transitions of the acetylcholine receptor. *Adv Protein Chem* 1998, **51** : 121-184
- FERRARI R, LE NOVÈRE N, PICCIOTTO MR, CHANGEUX JP, ZOLI M. Acute and long-term changes in the mesolimbic dopamine pathway after systemic or local single nicotine injections. *Eur J Neurosci* 2002, **15** : 1810-1818

FLORES C, ROGERS S, PABREZA L, WOLFE B, KELLAR K. A subtype of nicotinic cholinergic receptor in rat brain is composed of alpha4-subunit and beta2-subunit and is up-regulated by chronic nicotine treatment. *Mol Pharmacol* 1992, **41** : 31-37

FRAZIER CJ, BUHLER AV, WEINER JL, DUNWIDDIE TV. Synaptic potentials mediated via alpha-bungarotoxin-sensitive nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal interneurons. *J Neurosci* 1998, **18** : 8228-8235

FUCILE S, MATTER JM, ERKMAN L, RAGOZZINO D, BARABINO B et coll. The neuronal alpha6 subunit forms functional heteromeric acetylcholine receptors in human transfected cells. *Eur J Neurosci* 1998, **10** : 172-178

FUTAMI T, TAKAKUSAKI K, KITAI S. Glutamatergic and cholinergic inputs from the pedunculopontine tegmental nucleus to dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta. *Neurosci Res* 1995, **21** : 331-342

FUXE K, AGNATI FL. Two principal modes of electrochemical communication in the brain : volume versus wiring transmission. In : Volume transmission in the brain : novel mechanisms for neural transmission. FUXE K, AGNATI LF eds Raven Press, New York, 1991

GALZI JL, DEVILLERS-THIÉRY A, HUSSY N, BERTRAND S, CHANGEUX JP, BERTRAND D. Mutations in the channel domain of a neuronal nicotinic receptor convert ion selectivity from cationic to anionic. *Nature* 1992, **359** : 500-505

GALZI JL, CHANGEUX JP. Neurotransmitter-gated ion channels as unconventional allosteric proteins. *Curr Opin Struct Biol* 1994, **4** : 554-565

GALZI JL, BERTRAND S, CORRINGER PJ, CHANGEUX JP, BERTRAND D. Identification of calcium binding sites that regulate potentiation of a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *EMBO J* 1996, **15** : 5824-5832

GERFEN C. The neostriatal mosaic : multiple levels of compartmental organization in the basal ganglia. *Annu Rev Neurosci* 1992, **15** : 285-320

GERZANICH V, KURYATOV A, ANAND R, LINDSTROM J. « Orphan »  $\alpha 6$  nicotinic AChR subunit can form a functional heteromeric acetylcholine receptor. *Mol Pharmacol* 1997, **51** : 320-327

GERZANICH V, WANG F, KURYATOV A, LINDSTROM J.  $\alpha 5$  Subunit alters desensitization, pharmacology,  $Ca^{++}$  permeability and  $Ca^{++}$  modulation of human neuronal  $\alpha 3$  nicotinic receptors. *J Pharm Exp Ther* 1998, **286** : 311-320

GIRAUDAT J, DENNIS M, HEIDMANN T, CHANG J, CHANGEUX JP. Structure of the high-affinity binding site for noncompetitive blockers of the acetylcholine receptor : serine-262 of the delta subunit is labeled by [3H]chlorpromazine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986, **83** : 2719-2723

GIORGUIEFF MF, LE FLOC'H ML, WESTFALL TC, GLOWINSKI J, BESSON MJ. Nicotinic effect of acetylcholine on the release of newly synthesized (3H)dopamine in rat striatal slices and cat caudate nucleus. *Brain Res* 1976, **106** : 117-131

GRADY SR, MEINERZ NM, CAO J, REYNOLDS AM, PICCIOTTO MR, et coll. Nicotinic agonists stimulates acetylcholine release from mouse interpeduncular nucleus : a function mediated by a different nAChR than dopamine release from striatum. *J Neurochem* 2001, **76** : 258-268

GRANDO SA, HORTON RM, PEREIRA EF, DIETHELM-OKITA BM, GEORGE PM, et coll. A nicotinic acetylcholine receptor regulating cell adhesion and motility is expressed in human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1995, **105** : 774-781

GRANDO S, HORTON RM, MAURO T, KIST D, LEE T, DAHL M. Activation of keratinocyte nicotinic cholinergic receptors stimulates calcium influx and enhances cell differentiation. *J Invest Dermatol* 1996, **107** : 412-418

GRAY R, RAJAN AS, RADCLIFFE KA, YAKEHIRO M, DANI JA. Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. *Nature* 1996, **383** : 713-716

GROENEWEGEN H, BERENDSE H, MEREDITH S, HABER S, VOORN P, et coll. Functional anatomy of the ventral, limbic system-innervated striatum. In : The mesolimbic dopamine system : from motivation to action. WILLNER P, SCHEEL-KRÜGER J. eds. Progress in Brain Research, vol. 79 Wiley & sons, Chichester 1991

GROTTICK AJ, TRUBE G, CORRIGALL WA, HUWYLER J, MALHERBE P, et coll. Evidence that nicotinic  $\alpha 7$  receptors are not involved in the hyperlocomotor and rewarding effects of nicotine. *J Pharmacol Exp Ther* 2000, **294** : 1112-1119

HALL G, TURNER D. Effects of nicotine on the release of 3H-noradrenaline from the hypothalamus. *Biochem Pharmacol* 1972, **21** : 1829-1838

HALVORSEN SW, BERG DK. Identification of a nicotinic acetylcholine receptor on neurons using an alpha-neurotoxin that blocks receptor function. *J Neurosci* 1986, **6** : 3405-3412

HALVORSEN SW, BERG DK. Subunit composition of nicotinic acetylcholine receptors from chick ciliary ganglia. *J Neurosci* 1990, **10** : 1711-1718

HAN ZY, LE NOVÈRE N, ZOLI M, CHAMPTIAUX N, HILL JA, CHANGEUX JP. Localization of nAChR subunit mRNAs in the brain of *Macaca mulatta*. *Eur J Neurosci* 2000, **12** : 3664-3674

HAN ZY, ZOLI M, CARDONA A, BOURGEOIS JP, CHANGEUX JP, LE NOVÈRE N. Localization of [<sup>3</sup>H]-nicotine, [<sup>3</sup>H]-cytisine, [<sup>3</sup>H]-epibatidine and [<sup>125</sup>I]- $\alpha$ -bungarotoxin binding sites in the brain of *Macaca mulatta*. *J Comp Neurol* 2003, **461** : 49-60

HARFSTRAND A, ADEM A, FUXE K, AGNATI L, ANDERSSON K, NORDBERG A. Distribution of nicotinic cholinergic receptors in the rat tel- and diencephalon : a quantitative receptor autoradiographical study using [<sup>3</sup>H]-acetylcholine, [<sup>125</sup>I]-bungarotoxin and [<sup>3</sup>H]-nicotine. *Acta Physiol Scand* 1988, **132** : 1-14

HATTON GI, YANG QZ. Synaptic potentials mediated by  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptors in supraoptic nucleus. *J Neurosci* 2002, **22** : 29-37

HEFFT S, HULO S, BERTRAND D, MULLER D. Synaptic transmission at nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal organotypic cultures and slices. *J Physiol* 1999, **515** : 769-776

HENLEY JM, LINDSTROM JM, OSWALD RE. Acetylcholine receptor synthesis in retina and transport to optic tectum in goldfish. *Science* 1986, **232** : 1627-1629

HEVERS W, LÜDDENS H. The diversity of GABA<sub>A</sub> receptors. *Mol Neurobiol* 1998, **18** : 35-86

- HIEL H, ELGOYHEN AB, DRESCHER DG, MORLEY BJ. Expression of nicotinic acetylcholine receptor mRNA in the adult rat peripheral vestibular system. *Brain Res* 1996, **738** : 347-352
- HILL J, ZOLI M, BOURGEOIS JP, CHANGEUX JP. Immunocytochemical localization of a neuronal nicotinic receptor : the beta-2-subunit. *J Neurosci* 1993, **13** : 1551-1568
- HOOVER F, GOLDMAN D. Temporally correlated expression of nAChR genes during development of the mammalian retina. *Exp Eye Res* 1992, **54** : 561-571
- HUCHO F, OBERTHUR W, LOTTSPEICH F. The ion channel of the nicotinic acetylcholine receptor is formed by the homologous helices MII of the receptor subunits. *FEBS Lett* 1986, **205** : 137-142
- HUGANIR RL, GREENGARD P. Regulation of neurotransmitter receptor desensitization by protein phosphorylation. *Neuron* 1990, **5** : 555-567
- IBAÑEZ-TALLON I, MIWA JM, WANG HL, ADAMS NC, CRABTREE GW, et coll. Novel modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by association with the endogenous prototoxin lynx1. *Neuron* 2002, **33** : 893-903
- IMOTO K, METHFESSEL C, SAKMANN B, MISHINA M, MORI Y, et coll. Location of a delta-subunit region determining ion transport through the acetylcholine receptor channel. *Nature* 1986, **324** : 670-674
- IMPERATO A, MULAS A, DI CHIARA G. Nicotine preferentially stimulates dopamine release in the limbic system of freely moving rats. *Eur J Pharmacol* 1986, **132** : 337-338
- JACOB MH, BERG DK. The ultrastructural localization of alpha-bungarotoxin binding sites in relation to synapses on chick ciliary ganglion neurons. *J Neurosci* 1983, **3** : 260-271
- KAYADJANIAN N, RÉTAUX S, MENÉTREY A, BESSON MJ. Stimulation by nicotine of the spontaneous release of [3H]gamma aminobutyric acid in the substantia nigra and in the globus pallidus of the rat. *Brain Res* 1994, **649** : 129-135
- KAO P, DWORK A, KALDANY R, SILVER M, WIDEMAN J, et coll. Identification of the  $\alpha$ -subunit half-cystine specifically labeled by an affinity reagent for the acetylcholine receptor binding site. *J Biol Chem* 1984, **259** : 11662-11665
- KARLIN A. Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors. *Nat Rev Neurosci* 2002, **3** : 102-114
- KISTLER J, STROUD RM. Crystalline arrays of membrane-bound acetylcholine receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981, **78** : 3678-3682
- KLAPPROTH H, RACKE K, WESSLER I. Acetylcholine and nicotine stimulate the release of granulocyte-macrophage colony stimulating factor from cultured human bronchial epithelial cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1998, **357** : 472-475
- KLINK R, DE KERCHOVE D'EXAERDE A, ZOLI M, CHANGEUX JP. Molecular and physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors in the midbrain dopaminergic nuclei. *J Neurosci* 2001, **21** : 1452-1463
- KRAUSE R, BUISSON B, BERTRAND S, CORRINGER P, GALZI JL, et coll. Ivermectin : a positive allosteric effector of the  $\alpha 7$  neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Mol Pharmacol* 1998, **53** : 283-294

- KULAK JM, MCINTOSH JM, YOSHIKAMI D, OLIVERA BM. Nicotine-evoked transmitter release from synaptosomes : functional association of specific presynaptic acetylcholine receptors and voltage-gated calcium channels. *J Neurochem* 2001, **77** : 1581-1589
- LAMBE EK, PICCIOTTO MR, AGHAJANIAN GK. Nicotine induces glutamate release from thalamocortical terminals in prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology* 2003, **28** : 216-225
- LEBARGY F, BENHAMMOU K, MORIN D, ZINI R, URIEN S, et coll. Tobacco smoking induces expression of very-high-affinity nicotine binding sites on blood polymorphonuclear cells. *Am J Resp Crit Care Med* 1996, **153** : 1056-1063
- LÉNA C, CHANGEUX JP. Allosteric modulations of the nicotinic acetylcholine receptor. *Trends Neurosci* 1993, **16** : 181-186
- LÉNA C, CHANGEUX JP, MULLE C. Evidence for « preterminal » nicotinic receptors on GABAergic axons in the rat interpeduncular nucleus. *J Neurosci* 1993, **13** : 2680-2688
- LÉNA C, CHANGEUX JP. Role of  $Ca^{2+}$  ions in nicotinic facilitation of GABA release in mouse thalamus. *J Neurosci* 1997, **15** : 576-585
- LÉNA C, DE KERCHOVE D'EXAERDE A, CORDERO-ERAUSQUIN M, LE NOVÈRE N, ARROYO-JIMENEZ MM, CHANGEUX JP. Diversity and distribution of nicotinic acetylcholine receptors in the locus ceruleus neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, **96** : 12127-12131
- LE NOVÈRE N, CHANGEUX JP. Molecular evolution of the nicotinic acetylcholine receptor subunit family : an example of multigene family in excitable cells. *J Mol Evol* 1995, **40** : 155-172
- LE NOVÈRE N, ZOLI M, CHANGEUX JP. Neuronal nicotinic receptor  $\alpha 6$  subunit mRNA is selectively concentrated in catecholaminergic nuclei of the rat brain. *Eur J Neurosci* 1996, **8** : 2428-2439
- LE NOVÈRE N, CORRINGER PJ, CHANGEUX JP. Improved secondary structure predictions for a nicotinic receptor subunit. Incorporation of solvent accessibility and experimental data into a 2D representation. *Biophys J* 1999, **76** : 2329-2345
- LE NOVÈRE N, ZOLI M, LÉNA C, FERRARI R, PICCIOTTO MR, et coll. Involvement of  $\alpha 6$  nicotinic receptor subunit in nicotine-elicited locomotion, demonstrated by *in vivo* antisense oligonucleotide infusion. *NeuroReport* 1999c, **10** : 2497-2401
- LE NOVÈRE N, CHANGEUX JP. The Ligand Gated Ion Channel database. *Nucleic Acids Res* 1999, **27** : 340-342
- LE NOVÈRE N, GRUTTER T, CHANGEUX J-P. Models of the extracellular domain of the nicotinic receptors and of agonist and  $Ca^{++}$  binding sites. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002a, **99** : 3210-3215
- LE NOVÈRE N, CORRINGER PJ, CHANGEUX J-P. The diversity of subunit composition in nAChRs : evolutionary origins, physiological and pharmacological consequences. *J Neurobiol* 2002b, **53** : 447-456
- LORING RH, DAHM L, ZIGMOND R. Localization of a-bungarotoxin binding sites in the ciliary ganglion of the embryonic chick : an autoradiographic study at the light and electron microscopic level. *Neuroscience* 1985 **14** : 645-660

LORING RH, ZIGMOND RE. Ultrastructural distribution of <sup>125</sup>I-toxin F binding sites on chick ciliary neurons : synaptic localization of a toxin that blocks ganglionic nicotinic receptors. *J Neurosci* 1987, **7** : 2153-2162

LUETJE C, PATRICK J. Both  $\alpha$  and  $\beta$  subunits contribute to the agonist sensitivity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurosci* 1991, **11** : 837-845

MACDERMOTT AB, ROLE LW, SIEGELBAUM SA. Presynaptic ionotropic receptors and the control of neurotransmitter release. *Annu Rev Neurosci* 1999, **22** : 443-485

MACHOVA E, EMLIKOVA V, DOLEAL V. Nicotine indirectly increases acetylcholine release in rat striatum. *J Neurochem* 2003, **85** : 16

MACKLIN KD, MAUS AD, PEREIRA EF, ALBUQUERQUE EX, CONTI-FINE BM. Human vascular endothelial cells express functional nicotinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, **287** : 435-439

MAGGI L, SHER E, CHERUBINI E. Regulation of GABA release by nicotinic acetylcholine receptors in the neonatal rat hippocampus. *J Physiol (Lond)* 2001, **536** : 89-100

MANSVELDER HD, MCGEHEE DS. Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron* 2000, **27** : 349-357

MANSVELDER HD, KEATH JR, MCGEHEE DS. Synaptic mechanisms underlie nicotine-induced excitability of brain reward areas. *Neuron* 2002, **33** : 905-919

MARCHI M, RISSO F, VIOLA C, CAVAZZANI P, RAITERI M. Direct evidence that release-stimulating  $\alpha 7^*$  nicotinic cholinergic receptors are localized on human and rat brain glutamatergic axon terminals. *J Neurochem* 2002, **80** : 1071-1078

MARKOU A, PATERSON NE. The nicotinic antagonist methyllycaconitine has differential effects on nicotine self-administration and nicotine withdrawal in the rat. *Nicotine Tob Res* 2001, **3** : 361-373

MARUBIO LM, ARROYO-JIMENEZ MM, CORDERO-ERAUSQUIN M, LÉNA C, LE NOVÈRE N, et coll. Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits. *Nature* 1999, **398** : 805-810

MAUS AD, PEREIRA EF, KARACHUNSKI PI, HORTON RM, NAVANEETHAM D, et coll. Human and rodent bronchial epithelial cells express functional nicotinic acetylcholine receptors. *Mol Pharmacol* 1998, **54** : 779-788

MCCORMICK DA, PRINCE DA. Acetylcholine causes rapid nicotinic excitation in the medial habenular nucleus of guinea pig, in vitro. *J Neurosci* 1987a, **7** : 742-752

MCCORMICK DA, PRINCE DA. Actions of acetylcholine in the guinea-pig and cat medial and lateral geniculate nuclei, in vitro. *J Physiol* 1987b, **392** : 147-165

MCGEHEE DS, HEATH MJS, GELBER S, DEVAY P, ROLE LW. Nicotine enhancement of fast excitatory synaptic transmission in CNS by presynaptic receptors. *Science* 1995, **269** : 1692-1696

MITCHELL SN, SMITH KM, JOSEPH MH, GRAY JA. Increases in tyrosine hydroxylase messenger RNA in the locus coeruleus after a single dose of nicotine are followed by time-dependant increases in enzyme activity and noradrenaline release. *Neuroscience* 1993, **56** : 989-997

- MIWA JM, IBAÑEZ-TALLON I, CRABTREE GW, SÁNCHEZ R, ŠALI A, et coll. Lynx1, an endogenous toxin-like modulator of nicotinic acetylcholine receptors in the mammalian CNS. *Neuron* 1999, **23** : 105-114
- MIYAZAWA A, FUJIYOSHI Y, STOWELL M, UNWIN N. Nicotinic acetylcholine receptor at 4.6 Å resolution : transverse tunnels in the channel wall. *J Mol Biol* 1999, **288** : 765-786
- MIYAZAWA A, FUJIYOSHI Y, UNWIN N. Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore. *Nature* 2003, **423** : 949-955
- MULLE C, VIDAL C, BENOIT P, CHANGEUX JP. Existence of different subtypes of nicotinic acetylcholine receptors in rat habenulo-interpeduncular system. *J Neurosci* 1991, **11** : 2588-2597
- MULLE C, CHOQUET D, KORN H, CHANGEUX JP. Calcium influx through nicotinic receptor in rat central neurons : its relevance to cellular regulation. *Neuron* 1992, **8** : 135-143
- NAVANEETHAM D, PENN A, HOWARD J, CONTIFINE BM. Expression of the alpha7 subunit of the nicotinic acetylcholine receptor in normal and myasthenic human thymuses. *Cell Mol Biol* 1997, **43** : 433-442
- NISELL M, NOMIKOS GG, CHERGUI K, GRILLNER P, SVENSSON TH. Chronic nicotine enhances basal and nicotine-induced Fos immunoreactivity preferentially in the medial prefrontal cortex of the rat. *Neuropsychopharmacology* 1997, **17** : 151-161
- NOSE I, HIGASHI H, INOKUCHI H, NISHI S. Synaptic responses of guinea pig and rat central amygdala neurons in vitro. *J Neurophysiol* 1991, **65** : 1227-1241
- ORR-URTREGER A, GÖLDNER FM, SAEKI M, LORENZO I, GOLDBERG L, et coll. Mice deficient in the  $\alpha 7$  neuronal nicotinic acetylcholine receptor lack  $\alpha$ -bungarotoxin binding sites and hippocampal fast nicotinic currents. *J Neurosci* 1997, **17** : 9165-9171
- ORTELLS MO, LUNT GG. Evolutionary history of the ligand-gated ion-channel superfamily of receptors. *Trends Neurosci* 1995, **18** : 121-126
- PAGLIUSI SR, TESSARI M, DEVEVEY S, CHIAMULERA C, PICH EM. The reinforcing properties of nicotine are associated with a specific patterning of c-fos expression in the rat brain. *Eur J Neurosci* 1996, **8** : 2247-2256
- PANAGIS G, NISELL M, NOMIKOS GG, CHERGUI K, SVENSSON TH. Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rat. *Brain Res* 1996, **19** : 133-142
- PANG Y, KIBA H, JAYARAMAN A. Acute nicotine injections induce c-fos mostly in non-dopaminergic neurons of the midbrain of the rat. *Brain Res Mol Brain Res* 1993, **20** : 162-170
- PANDEY SC, ROY A, XU T, MITTAL N. Effects of protracted nicotine exposure and withdrawal on the expression and phosphorylation of the CREB gene transcription factor in rat brain. *J Neurochem* 2001, **77** : 943-952
- PAULY JR, STITZEL JA, MARKS MJ, COLLINS AC. An autoradiographic analysis of cholinergic receptors in mouse brain. *Brain Res Bull* 1989, **22** : 453-459

PETTIT DL, SHAO Z, YAKEL JL.  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> peptide directly modulates nicotinic receptors in the rat hippocampal slice. *J Neurosci* 2001, **21**(RC120) : 1-5

PICCIOTTO MR, ZOLI M, LÉNA C, BESSIS A, LALLEMAND Y, et coll. Abnormal avoidance learning in mice lacking functional high-affinity nicotine receptor in the brain. *Nature* 1995, **374** : 65-67

PICCIOTTO MR, ZOLI M, RIMONDINI R, LÉNA C, MARUBIO LM, et coll. Acetylcholine receptors containing the  $\beta$ 2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature* 1998, **391** : 173-177

PICCIOTTO MR, CORRIGALL WA. Neuronal systems underlying behaviors related to nicotine addiction : neural circuits and molecular genetics. *J Neurosci* 2002, **22** : 3338-3341

PONTIERI FE, TANDA G, ORZI F, DI CHIARA G. Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature* 1996, **382** : 255-257

RAMIREZ-LATORRE J, YU C, QU X, PERIN F, KARLIN A, ROLE L. Functional contributions of  $\alpha$ 5 subunit to neuronal acetylcholine receptor channels. *Nature* 1996, **380** : 347-351

REN T, SAGAR SM. Induction of c-fos immunostaining in the rat brain after the systemic administration of nicotine. *Brain Res Bull* 1992, **29** : 589-597

ROERIG B, NELSON DA, KATZ LC. Fast synaptic signaling by nicotinic acetylcholine and serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptors in developing visual cortex. *J Neurosci* 1997, **17** : 8353-8862

ROGERS SW, GAHRING LC, COLLINS AC, MARKS M. Age-related changes in neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit  $\alpha$ 4 expression are modified by long-term nicotine administration. *J Neurosci* 1998, **18** : 4825-4832

ROGERS SW, GREGORI NZ, CARLSON N, GAHRING LC, NOBLE M. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor expression by O2A/oligodendrocyte progenitor cells. *Glia* 2001, **33** : 306-313

ROLE LW, BERG DK. Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. *Neuron* 1996, **16** : 1077-1095

ROMANO DJ, CORRIVEAU RA, SCHWARTZ RL, BERG DK. Expression of the nicotinic receptor alpha7 gene in tendon and periosteum during early development. *J Neurochem* 1997a, **68** : 640-648

ROMANO SJ, PUGH PC, MCINTOSH JM, BERG DK. Neuronal-type acetylcholine receptors and regulation of  $\alpha$ 7 gene expression in vertebrate skeletal muscle. *J Neurobiol* 1997b, **32** : 69-80

ROSS SA, WONG JY, CLIFFORD JJ, KINSELLA A, MASSALAS JS, et coll. Phenotypic characterization of an alpha 4 neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit knock-out mouse. *J Neurosci* 2000, **20** : 6431-6441

ROWELL PP, WINKLER DL. Nicotinic stimulation of [3H]acetylcholine release from mouse cerebral cortical synatosomes. *J Neurochem* 1984, **43** : 1593-1598

RUBBOLI F, COURT J, SALA C, MORRIS C, CHINI B, PERRY E, CLEMENTI F. Distribution of nicotinic receptors in the human hippocampus and thalamus. *Eur J Neurosci* 1994, **6** : 1596-1604

SANDS SB, BARISH ME. Calcium permeability of neuronal nicotinic acetylcholine-receptor channels in PC12 cells. *Brain Research* 1991, **560** : 38-42

SANDS SB, BARISH ME. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor currents in pheochromocytoma (PC12) cells : dual mechanisms of rectification. *J Physiol Lond* 1992, **447** : 467-487

SCHILSTROM B, SVENSSON HM, SVENSSON TH, NOMIKOS GG. Nicotine and food induced dopamine release in the nucleus accumbens of the rat : putative role of alpha7 nicotinic receptors in the ventral tegmental area. *Neuroscience* 1998, **85** : 1005-1009

SÉGUÉLA P, WADICHE J, DINELEY-MILLER K, DANI JA, PATRICK JW. Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain- $\alpha 7$  : a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. *J Neurosci* 1993, **13** : 596-604

SCHAPIRA M, ABAGYAN R, TOTROV M. Structural model of nicotinic acetylcholine receptor isotypes bound to acetylcholine and nicotine. *BMC Struct Biol* 2002, **2** : 1 (<http://www.biomedcentral.com/1472-6807/2/1>)

SELF DW, NESTLER EJ. Molecular mechanisms of drug reinforcement and addiction. *Ann Rev Neurosci* 1995, **18** : 463-495

SERSHEN H, BALLA A, LAJTHA A, VIZI ES. Characterization of nicotinic receptors involved in the release of noradrenaline from the hippocampus. *Neuroscience* 1997, **77** : 121-130

SHARMA G, VIJAYARAGHAVAN S. Nicotinic receptor signaling in nonexcitable cells. *J Neurobiol* 2002, **53** : 524-534

SHOOP R, MARTONE ME, YAMADA N, ELLISMAN MH, BERG DK. Neuronal acetylcholine receptors with  $\alpha 7$  subunits are concentrated on somatic spines for synaptic signaling in embryonic chick ciliary ganglia. *J Neurosci* 1999, **19** : 692-704

SHOOP RD, ESQUENAZI E, YAMADA N, ELLISMAN MH, BERG DK. Ultrastructure of a somatic spine mat for nicotinic signaling in neurons. *J Neurosci* 2002, **22** : 748-756

SINE SM. The nicotinic receptor ligand binding domain. *J Neurobiol* 2002, **53** : 431-446

SINE SM, WANG HL, BREN N. Lysine scanning mutagenesis delineates structural model of the nicotinic receptor ligand binding domain. *J Biol Chem* 2002, **277** : 29210-29223

SORENSEN E, SHIROYAMA T, KITAI S. Postsynaptic nicotinic receptors on dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta of the rat. *Neuroscience* 1998, **87** : 659-673

SUGIYAMA H, CHANGEUX JP. Interconversion between different states of affinity for acetylcholine of the cholinergic receptor protein from *Torpedo marmorata*. *Eur J Biochem* 1975, **55** : 505-515

SUMMERS KL, GIACOBINI E. Effects of local and repeated systemic administration of (-)-nicotine on extracellular levels of acetylcholine, norepinephrine, dopamine, and serotonin in rat cortex. *Neurochem Res* 1995, **20** : 753-759

- TALIB S, OKARMA TB, LEBKOWSKI JS. Differential expression of human nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha$  subunit variants in muscle and non-muscle tissues. *Nucleic Acids Res* 1993, **21** : 233-237
- TEICHBERG VI, SOBEL A, CHANGEUX JP. In vitro phosphorylation of acetylcholine receptor. *Nature* 1977, **267** : 540-542
- TOYABE S, IIAI T, FUKUDA M, KAWAMURA T, SUSUKI S, et coll. Identification of nicotinic acetylcholine receptors on lymphocytes in the periphery as well as thymus in mice. *Immunology* 1997, **92** : 201-205
- UNWIN N. Acetylcholine receptor channel imaged in the open state. *Nature* 1995, **373** : 37-43
- UNWIN N. The Croonian Lecture 2000. Nicotinic acetylcholine receptor and the structural basis of fast synaptic transmission. *Phil Trans R Soc Lond Biol Sci* 2000, **355** : 1813-1829
- VALERA S, BALLIVET M, BERTRAND D. Progesterone modulates a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, **89** : 9949-9953
- VERNALLIS A, CONROY W, BERG DK. Neurons assemble acetylcholine receptors with as many as three kinds of subunits while maintaining subunit segregation among receptor subtypes. *Neuron* 1993, **8** : 127-134
- VERNINO S, AMADOR M, LUETJE CW, PATRICK J, DANI JA. Calcium modulation and high calcium permeability of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuron* 1992, **8** : 127-134
- VIDAL C, CHANGEUX JP. Nicotinic and muscarinic modulations of excitatory synaptic transmission in the rat prefrontal cortex in vitro. *Neuroscience* 1993, **56** : 23-32
- WADA E, WADA K, BOULTER J, DENERIS E, HEINEMANN S, PATRICK J, SWANSON LW. Distribution of Alpha2, Alpha3, Alpha4, and Beta2 neuronal nicotinic subunit mRNAs in the central nervous system : a hybridization histochemical study in rat. *J Comp Neurol* 1989, **284** : 314-335
- WADA E, MCKINNON D, HEINEMANN S, PATRICK J, SWANSON LW. The distribution of mRNA encoded by a new member of the neuronal nicotinic acetylcholine receptor gene family ( $\alpha 5$ ) in the rat central nervous system. *Brain Res* 1990, **526** : 45-53
- WAKKACH A, GUYON T, BRUAND C, TZARTOS S, COHENKAMINSKY S, BERRIHAKNIN S. Expression of acetylcholine receptor genes in human thymic epithelial cells - Implications for myasthenia gravis. *J Immunol* 1996, **157** : 3752-3760
- WANG F, GERZANICH V, WELLS GB, ANAND R, PENG X. Assembly of human neuronal nicotinic receptor  $\alpha 5$  subunits with  $\alpha 3$ ,  $\beta 2$  and  $\beta 4$ . *J Biol Chem* 1996, **271** : 17656-17665
- WANG H, YU M, OCHANI M, AMELLA CA, TANOVIC M, et coll. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 2003, **421** : 384-388
- WANG Y, NEUMAN R, BIEGER D. Nicotinic cholinergic-mediated excitation in ambigular motoneurons of the rat. *Neuroscience* 1991, **40** : 759-767
- WEILL CL, MCNAMEE MG, KARLIN A. Affinity-labeling of purified acetylcholine receptor from *Torpedo Californica*. *Biochem Biophys Res Comm* 1974, **61** : 997-1003

- WESTFALL T. Effect of nicotine and other drugs on the release of [<sup>3</sup>H]norepinephrine and [<sup>14</sup>C]dopamine in rat brain striatum and hypothalamus slices. *Neuropharmacology* 1974, **13** : 1025-1032
- WHITING P, ESCH F, SHIMASAKI S, LINDSTROM J. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor  $\beta$ -subunit is coded for by the cDNA clone  $\alpha 4$ . *FEBS Lett* 1987, **219** : 459-463
- WILSON GG, KARLIN A. The location of the gate in the acetylcholine receptor channel. *Neuron* 1998, **20** : 1269-1281
- WILSON GG, KARLIN A. Acetylcholine receptor channel structure in the resting, open, and desensitized states probed with the substituted-cysteine-accessibility method. *Neuron* 2001, **98** : 1241-1248
- WILSON HORCH HL, SARGENT PB. Perisynaptic surface distribution of multiple classes of nicotinic acetylcholine receptors on neurons in the chicken ciliary ganglion. *J Neurosci* 1995, **15** : 7778-7795
- WONG LA, GALLAGHER JP. A direct nicotinic receptor-mediated inhibition recorded intracellularly in vitro. *Nature* 1989, **341** : 439-442
- WONNACOTT S. Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends Neurosci* 1997, **20** : 92-98
- WOOLTORTON JRA, PIPPOPLICHKO I, BROIDE RS, DANI JA. Differential desensibilization and distribution of nicotinic acetylcholine receptor subtypes in midbrain dopamine areas. *J Neurosci* 2003, **23** : 3176-3185
- ZHANG M, WANG Y, VYAS D, NEUMAN R, BIEGER D. Nicotinic cholinergic-mediated excitatory postsynaptic potentials in rat nucleus ambiguus. *Exp Brain Res* 1993, **96** : 83-88
- ZHANG ZW, COGGAN JS, BERG DK. Synaptic currents generated by neuronal acetylcholine receptors sensitive to alpha-bungarotoxin. *Neuron* 1996, **17** : 1231-1240
- ZIA S, NDOYE A, NGUYEN VT, GRANDO SA. Nicotine enhances expression of the  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$ , and  $\alpha 7$  nicotinic receptors modulating calcium metabolism and regulating adhesion and motility of respiratory epithelial cells. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997, **97** : 243-262
- ZIA S, NDOYE A, LEE TX, WEBBER RJ, GRANDO SA. Receptor-mediated inhibition of keratinocyte migration by nicotine involves modulations of calcium influx and intracellular concentration. *J Pharmacol Exp Ther* 2000 **293** : 973-981
- ZOLI M, LE NOVÈRE N, HILL JA, CHANGEUX JP. Developmental regulation of nicotinic ACh receptor subunit mRNAs in the rat central and peripheral nervous systems. *J Neurosci* 1995, **15** : 1912-1939
- ZOLI M, AGNATI LF. Wiring and volume transmission in the central nervous system : The concept of closed and open synapses. *Prog Neurobiol* 1996, **49** : 363-380
- ZOLI M, LÉNA C, PICCIOTTO MR, CHANGEUX JP. Identification of four classes of brain nicotinic receptors using  $\beta 2$  mutant mice. *J Neurosci* 1998, **18** : 4461-4472
- ZOLI M, MORETTI M, ZANARDI A, MCINTOSH JM, CLEMENTI F, GOTTI C. Identification of the nicotinic receptor subtypes expressed on dopaminergic terminals in the rat striatum. *J Neurosci* 2002, **22** : 8785-8789