

EFECTELE ANTIINFLAMATORII ALE NICOTINEI

Anti-inflammatory effects of nicotine

**Dr. Corina-Daniela Ene¹, Prof. Dr. Mircea Penescu^{1,2}, Dr. Ilinca Nicolae²,
Prof. Dr. Emanoil Ceaușu²**

¹Spitalul Clinic de Nefrologie „Carol Davila“, București

²Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Victor Babeș“,
Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila“, București

REZUMAT

O serie de date epidemiologice și experimentale au dovedit că nicotina stimulează un răspuns antiinflamator în țesuturi extraneuronale, mediat de receptorii nicotiniци homopentamerici alfa7nAChR, localizați cu precădere pe celulele imune și inflamatorii. Acest mecanism farmacologic prin care procesul inflamator poate fi reglat prin folosirea unor agonști sau antagonști nicotiniци selectivi a fost numit calea nicotiniци antiinflamatorie. Tratatamentul cu nicotină inițiază o serie de evenimente intracelulare asociate cu stimularea mai multor căi de semnalizare: NFκB, JAK/STAT, MyD88/TLRs, MAPKs/ERKs. Cunoașterea mecanismelor antiinflamatorii mediate de alfa7nAChR este utilă pentru valorificarea potențialului terapeutic al nicotinei în reglarea răspunsului inflamator în anumite procese patologice.

Cuvinte cheie: nicotină, potențial antiinflamator, receptori alfa7nAChR, afecțiuni inflamatorii

ABSTRACT

A number of epidemiological and experimental data have shown that nicotine stimulates anti-inflammatory response in extraneuronal tissues, response mediated by homopentameric nicotinic receptors, 7nAChR- alpha. The receptors are located mainly on immune and inflammatory cells. These pharmacological mechanisms, through which inflammatory process could be adjusted is the use of selective nicotinic agonists and antagonists, called anti-inflammatory. Treatment with nicotine initiates a series of intracellular events associated with stimulation of several signaling pathways: NFκB, JAK/STAT, MyD88/TLRs, MAPKs/ERKs. Knowledge of anti-inflammatory mechanisms mediated by alpha7nAChR is useful for valuing the therapeutic potential of nicotine in regulating the inflammatory response in certain pathological processes.

Keywords: nicotine, the anti-inflammatory capacity, alpha7nAChR receptors, inflammatory disorders

INTRODUCERE

Inflamația este un răspuns biologic complex prin care organismul reacționează la agresiune (microorganisme patogene, agenți fizici, agenți chimici, agenți imunologici, distrucții tisulare). În condiții normale, răspunsul inflamator este bine controlat de organism, însă un răspuns inflamator exagerat poate duce la distrugerea țesuturilor, boli autoimune sau sepsis. Un mecanism natural prin care organismul uman poate regla procesul infla-

mator este reprezentat de activarea sistemului nervos parasimpatic. Sistemul nervos colinergic, care acționează prin intermediul nervului vag, previne eliberarea excesivă a citokinelor proinflamatorii și atenuează inflamația locală și sistemică. Cunoașterea mecanismelor antiinflamatorii mediate de acetilcolină și agonști colinergici este utilă pentru valorificarea potențialului terapeutic al căii colinergice în combaterea inflamației locale sau sistemice din anumite procese patologice.

Autor corespondent:

Dr. Corina-Daniela Ene, Spitalul Clinic de Nefrologie „Carol Davila“, Calea Griviței nr. 4, București

E-mail: koranik85@yahoo.com

CALEA NICOTINICĂ ANTIINFLAMATORIE

Acetilcolina (Fig. 1), neurotransmițătorul principal al nervului vag, stimulează un răspuns antiinflamator mediat de receptorii muscarinici (mAChR) și nicotinici (nAChR) ai acetilcolinei (calea colinergică antiinflamatorie (1)). Din punct de vedere farmacologic, s-a dovedit că agoniști nicotinici selectivi ai nAChR (nicotina – Fig. 2, GTS-21 – Fig. 3, PNU 282987 – Fig. 4) sunt mai eficienți decât acetilcolina în reglarea producerii de citokine și semnalizarea răspunsului antiinflamator. Acest mecanism farmacologic prin care procesul inflamator poate fi reglat prin utilizarea agoniștilor selectivi ai $\alpha 7$ nAChR a fost numit calea nicotinică antiinflamatorie (2-6).

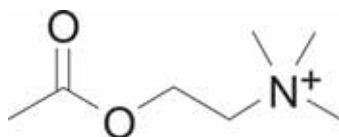


FIGURA 1. Acetilcolină - (2-Acetoxi etil) - trimetilamoniu - $C_7H_{16}NO_2$

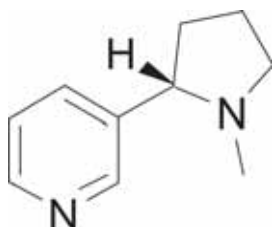


FIGURA 2. Nicotina - 3-(2-(N-metilpirolidinil))piridina - $C_{10}H_{14}N_2$

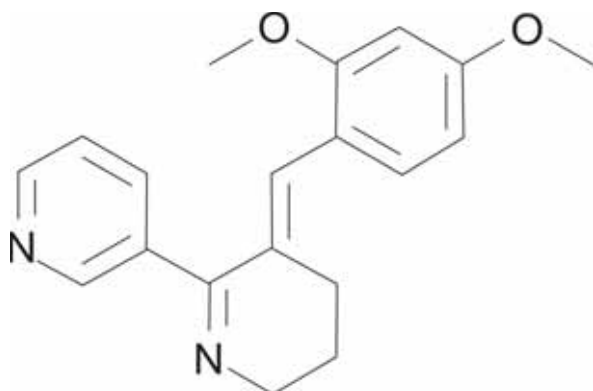


FIGURA 3. GTS21-[(3E)-3-[(2,4-dimetoximetiliden]-5,6-dihidro-4H-piridin-2-il]piridină- $C_{19}H_{20}N_2O_2$

Nicotina este principalul constituent imunosupresor din fumul de țigară care inhibă răspunsurile imune înnăscute și adaptative. Efectele acute și cronice ale nicotinei asupra sistemului imun sunt, de obicei, opuse. O serie de constatări recente sugerează că tratamentul acut cu nicotină stimulează,

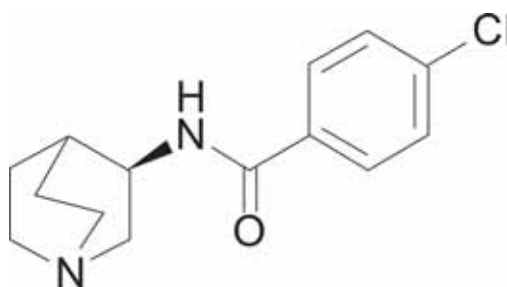


FIGURA 4. PNU 282987- N-[(3'R)-1'-azabicyclo[2.2.2]oct-3'-yl]-4-clorobenzamida- $C_{14}H_{17}ClN_2O$

în timp ce tratamentul cronic suprimă răspunsurile imune și inflamatorii. S-a raportat că fumatul este asociat cu o incidență crescută a infecțiilor respiratorii acute, parodontită, meningită bacteriană, artrită reumatoidă, boală Crohn, lupus eritematos sistemic, psoriazis, ateroscleroză, boli pulmonare obstructive cronice, cancer pulmonar, boli coronariene. Nicotina protejează rinichii de prejudiciul cauzat de ischemie și reperfuție. În plus, nicotina ar putea diminua incidența și severitatea mai multor boli inflamatorii (colită ulcerativă, diverticulită, boala celiacă, diabet) și neurodegenerative (boala Parkinson, unele forme ale bolii Alzheimer) (2,3,7,8).

Activarea farmacologică a căii nicotinică a fost dovedită în: leziuni inflamatorii renale (3-5,9-12), boli inflamatorii intestinale (13), boli autoimune (14,15), boli infecțioase (7,16), afecțiuni pulmonare (17-27) (Tabelul 1).

RECEPTORII NICOTINICI Alfa7nAChR

Activitatea anti-inflamatorie a nicotinei se realizează prin intermediul receptorilor homopentamerici alfa7nAChR. Subunitatea alfa7 a receptorilor nicotinici ai acetilcolinei este codificată de gena Chrn7, situată în regiunea cromozomială 15q14. Proteina alfa7 are 56KDa și 502 aminoacizi și conține în structura sa:

- un peptid semnal de 22 de aminoacizi localizat la extremitatea N-terminală;
- un domeniu de legare a ligandului extracelular de 200 de aminoacizi;
- domenii transmembranare T1-T4 care traversează bistratul lipidic și formează un canal ionic permeabil pentru sodiu și calciu;
- un domeniu intracelular situat între T3 și T4. Aminoacizii Tyr-386 și Tyr-442 situați în domeniul citoplasmatic al subunității alfa7, joacă rol în activarea receptorului. Fosforilarea tirozinei din pozițiile 386 și 442 de către kinazele Src inhibă activarea alfa7nAChR (1,28).

TABELUL 1. Efectele modulatorie ale căii nicotinic antiinflamatorii în boli inflamatorii

Model	Prejudiciu	Efecte
Ischemie/reperfuzie renală (șoarece)	Leziuni tubulare	Protecția funcției renale și limitarea leziunilor tubulare după ischemie/reperfuzie: <ul style="list-style-type: none"> • Nicotina a împiedicat infiltrarea neutrofilelor, a scăzut producerea TNF, KC, HMGB1, a redus expresia moleculelor de adeziune (VCAM, ICAM, Eselectina și CD44); • Nicotina a scăzut proliferarea și apoptoza celulelor epiteliale tubulare după ischemia/reperfuzia renală
Leziuni renale acute LPS induse (om, șoarece)	Sepsis	Efecte renoprotectoare: <ul style="list-style-type: none"> • Nicotina și GTS21 au suprasat inflamația locală și sistemică prin NFkB, via Ikb și activitatea proteozomală.
Glomerulonefrite (șobolan)	Proteinurie indusă spontan	Efecte renoprotectoare: <ul style="list-style-type: none"> • Nicotina a redus glomeruloscleroza, inflamația și fibroza interstițială; • Nicotina a îmbunătățit clearance-ul creatinină și proteinuria.
Boli renale cronice (șobolan)	Nefropatie diabetică	Fumatul promovează progresia nefropatiei diabetice prin creșterea citokinelor profibrotice (fibronectina, TGF, collagen), proliferarea și hipertrofia celulelor mezangiale
Colita acută DSS indusă, colita cronică	Culturi celulare, modele tumorale	Nicotina ameliorează colita și reduce tumorigeneza prin supresia IL6/STAT3/TNF
Artrita reumatoidă	Culturi celulare	Efect protector: <ul style="list-style-type: none"> • Nicotina și GTS21 limitează inflamația asociată artritei reumatoide; • GTS21 reduce diferențierea Th1 și nivelul factorului de transcripție TBX21 în celule TCD4+
Lupus eritematos sistemic (șoarece)	Model experimental	Efect protector: <ul style="list-style-type: none"> • Nicotina a suprimat inflamația sistemică și a redus tensiunea arterială la șoarecii cu lupus eritematos sistemic prin stimularea alfa7nAChR.
Boli infecțioase	Modele umane și experimentale	Nicotina reduce inflamația prin activarea GSK3
Leziuni pulmonare acute induse de HCl (șoarece, șobolan)	Efect direct asupra celulelor epiteliale pulmonare	Acțiune protectoare prezentă: <ul style="list-style-type: none"> • Nicotină, colină, PNU-282987 (agonist farmacologic specific al alpha7nAChR) au indus activarea alpha7nAChR
Leziuni pulmonare acute induse de LPS (șoarece)	Acțiune directă asupra celulelor epiteliale pulmonare	Acțiune protectoare prezentă: <ul style="list-style-type: none"> • Nicotina a redus recrutarea leucocitelor, a scăzut activitatea mieloperoxidază; • Nicotina a suprasat IL1, IL6, TNF, MIP1/CCL3, MIP2/CXCL2, eotaxina/CCL11; • Nicotina a atenuat RNAm IL6, IL1, TNF în macrofage de șoarece stimulate; • GTS21 a provocat scăderea TNFalpha
Pneumonie asociată cu <i>E. Coli</i> (șoarece)	Acțiune directă asupra celulelor epiteliale pulmonare	Efect protector prezent: <ul style="list-style-type: none"> • Agoniștii alfa7nAChR au redus producerea MIP2 și migrația neutrofilelor, au indus leziuni pulmonare grave la șoarecii cu deficit de alfa7nAChR, au scăzut mortalitatea și prejudiciul pulmonar la șoarecii de tip sălbatic.
Pneumonie asociată cu <i>P. aeruginosa</i> (șoarece)	Acțiune directă asupra celulelor epiteliale pulmonare	Efect protector absent. <ul style="list-style-type: none"> • PNU-282987 a amplificat leziunile pulmonare, a scăzut eliberarea chemoattractantului keratinocitar, a crescut viabilitatea bacteriilor intracelulare
Pneumonie asociată cu <i>Streptococcus pneumoniae</i> (șoarece)	Acțiune directă asupra celulelor epiteliale pulmonare	Efect protector absent: <ul style="list-style-type: none"> • Tratatamentul cu nicotină a crescut numărul de bacterii Gram pozitive în plămâni și sânge; • La șoarecii tratați cu nicotină s-a observat amplificarea inflamației pulmonare la 24 ore după inocularea bacteriei; • Nicotina a indus creșterea citokinelor proinflamatorii (TNF alfa, IFN gamma)
Peritonită pulmonară acută (șobolan)	Acțiune indirectă asupra celulelor endoteliale pulmonare	Efect protector absent: <ul style="list-style-type: none"> • Administrarea nicotinei a crescut infiltrarea PMN și mortalitatea șoarecilor; • Nicotina a redus clearance-ul bacteriilor intracelulare.
Leziuni pulmonare induse prin ventilație mecanică (șoarece, șobolan)	Efect direct asupra celulelor epiteliale pulmonare	Efect protector absent: <ul style="list-style-type: none"> • PNU-282987 a scăzut numărul leziunilor pulmonare, concentrația substanței P și conținutul pulmonar și plasmatic al IL6 • GTS21 a atenuat eliberarea TNF alfa.
Leziuni pulmonare acute asociate cu virusul gripal (șoarece).	Efect direct asupra celulelor epiteliale pulmonare.	Efect protector absent; <ul style="list-style-type: none"> • Nicotina a suprimat migrarea leucocitelor în focarul infecțios/inflamator și a crescut titrul virusului la nivel pulmonar.

Alfa7nAChR: Homopentamer alpha7 subunit nicotinic acetylcholine receptors; TNF: Tumor necrosis factor; KC: Keratinocyte chemoattractant; HMGB1: High-mobility group box 1 protein; VCAM: Vascular cell adhesion protein; ICAM: Intercellular adhesion molecule; LPS: Lipopolysaccharide; GTS: 3-(2,4-dimethoxybenzylidene)-anabaseine dihydrochloride; NFkB: Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; Ikb: Inhibitor of nuclear factor kB; IL: Interleukin; TGF: Transforming growth factor; IFN: Interferon; STAT: Signal transducer and activator of transcription; DSS: Dextran sulfate sodium; TBX: T-box proteins; GSK: Glycogen synthase kinase; PNU: N-azobicyclo-clorobenzamide; MIP: Monocyte inflammatory protein; CCL: Chemokine(C-C motif) ligand; CXCL: Chemokine (C-X-C motif) ligand; PMN: Polymorphonuclear cells.

S-au identificat receptori alfa7nAChR funcționali, sensibili la nicotină, în numeroase celule imune și inflamatorii, dintre care amintim: macrofage (17,29,30-32), monocite (17,33,34,64), neutrofile (19,30,35), mononucleare (17,36), celule dendritice (17,37), limfocite B și T (17,30,38-41), celule epiteliale (17,30,42), celule endoteliale (17,43,44), celule stem hematopoietice (17,63), celule stem mezenchimale (17,45,46), celule progenitoare endoteliale (17,47,48), fibroblaste (17,49,50).

Nicotina și/sau fumul de țigară modifică funcțiile macrofagelor (pinocitoza, endocitoza, degradarea intracelulară a proteinelor fagocitate, capacitatea de a ucide agenții patogeni). Se apreciază că aceste efecte ar putea fi atribuite acumulării nicotinei în lizozomi, efect asociat cu alterarea capacității acestor organite de a produce digestia enzimatică (1). În monocite și macrofage, nicotina afectează eliberarea TNF, IL6, IL1beta, IL8, PGE2, CD14, IL12, TLR4 (58). În macrofage și neutrofile, nicotina modifică producția de anioni superoxizi, chemotaxia, producția de chemokine, expresia integrinelor, suprimă apoptoză. O serie de studii sugerează ca tratamentul acut cu nicotină sau cu agoniști nicotinici determină reducerea inflamației, iar expunerea cronică la nicotină ar putea favoriza dezvoltarea anumitor infecții pulmonare la fumători. Agoniștii nicotinici au inhibat producerea citokinelor proinflamatorii și au prevenit endotoxemia letală. Absența receptorilor nicotinici de pe suprafața celulară a fost asociată cu creșterea sintezei și secreției mediatorilor proinflamatori (29-32). GTS21 a atenuat expresia TNF, HMGB1, RAGEs în culturi de monocite și în sângele total stimulat cu endotoxină. Antagoniștii receptorilor nicotinici (alfa bungarotoxina, mecamilamina) au inversat efectele inhibitoare induse de nicotină în numeroase modele experimentale (51-52). Nicotina a suprareglat *in vitro* expresia și activitatea homopentă alfa7nAChR și a modulat răspunsul inflamator în neutrofile, celule dendritice, limfocite, celule epiteliale, celule endoteliale, fibroblaste (30,42,44,45,49,50,53-56). În schimb, agoniștii nicotinici s-au dovedit ineficienți în culturi de monocite de șobolan stimulate cu LPS (56). Nicotina a crescut migrația și chemotaxia celulelor stem mezenchimale și celulelor progenitoare endoteliale *in vitro* și a avut efect contrar *in vivo* (45-49).

Efectul supresiv al nicotinei asupra răspunsului imun a fost dovedit în limfocite T (57,59,60). Celulele T exprimă majoritatea componentelor sistemului colinergic; acetilcolina, colin acetiltransferaza, transportor specific pentru colină, colinesteraze, receptori muscarinici și nicotinici pentru acetilcolină.

Stimularea alfa7nAChR cu acetilcolină sau nicotină induce semnalizarea în limfocitele T prin externalizarea citoplasmatică a calciului intracelular și stimularea c-fos (57-59). Activarea alfa7nAChR amplifică apoptoza celulelor T indusă de cortizol (57). Tratamentul cu nicotină a crescut numărul limfocitelor B în măduva osoasă, a amplificat dezvoltarea și maturizarea limfocitelor. Activarea receptorilor alfa7nAChR de către nicotină pe limfocitele B a fost influențată de exprimarea costimulatorului CD40 pe aceste celule (60).

Nicotina reglează eliberarea serotoninei într-o serie de celule extraneuronale. Nicotina și serotonina cooperează reciproc în elaborarea răspunsului antiinflamator. Această interacțiune este posibilă deoarece receptorii nicotinici colinergici și serotoninergici sunt exprimați simultan pe celule B și T, monocite, macrofage, celule dendritice, celule endoteliale. Nicotina și serotonina exercită efecte contrare asupra eliberării de citokine de către celulele din sângele periferic. Astfel, nicotina și serotonina au potențial inhibitor asupra eliberării TNF (în macrofage și monocite) și efecte opuse asupra producerii IL1beta și IFNgamma (în celule T și NK). În plus, nicotina inhibă producerea IL6, a IL18 (în monocite și macrofage) și a IL12 (în monocite, macrofage și celule dendritice). În modele experimentale de boli inflamatorii intestinale, s-a apreciat că nicotina reglează diferențierea Th1/Th2 și apoptoza (61-64).

SEMNALIZAREA ASOCIATĂ CU Alfa7nAChR

Administrarea de agoniști alfa7nAChR ar putea preveni producerea mediatorilor proinflamatori în celule producătoare de citokine. Activarea alfa7nAChR în celulele imune și inflamatorii ameliorează răspunsul inflamator prin mai multe mecanisme posibile: reducerea translocării nucleare a NFkB, activarea STAT3 printr-un proces de fosforilare mediat de JAK2, stimularea TLRs/ MyD88, p38MAPKs, PI3K/AKT, ERK1/2 (Fig. 5). Aceste căi de semnalizare necesită o serie de cofactori, în aval, care asigură funcționarea căii nicotinice antiinflamatorii.

Nicotina poate suprima producția de citokine în anumite celule (monocite, macrofage, celule endoteliale, celule epiteliale, celule microgliale) prin intermediul unui mecanism posttranscripțional soldat cu inactivarea căii de semnalizare NFkB. Nicotina ameliorează răspunsul inflamator prin recrutarea IKB, AP-1 sau SOC3 care interacționează cu sistemul NFkB. Un alt mecanism de subreglare a căii

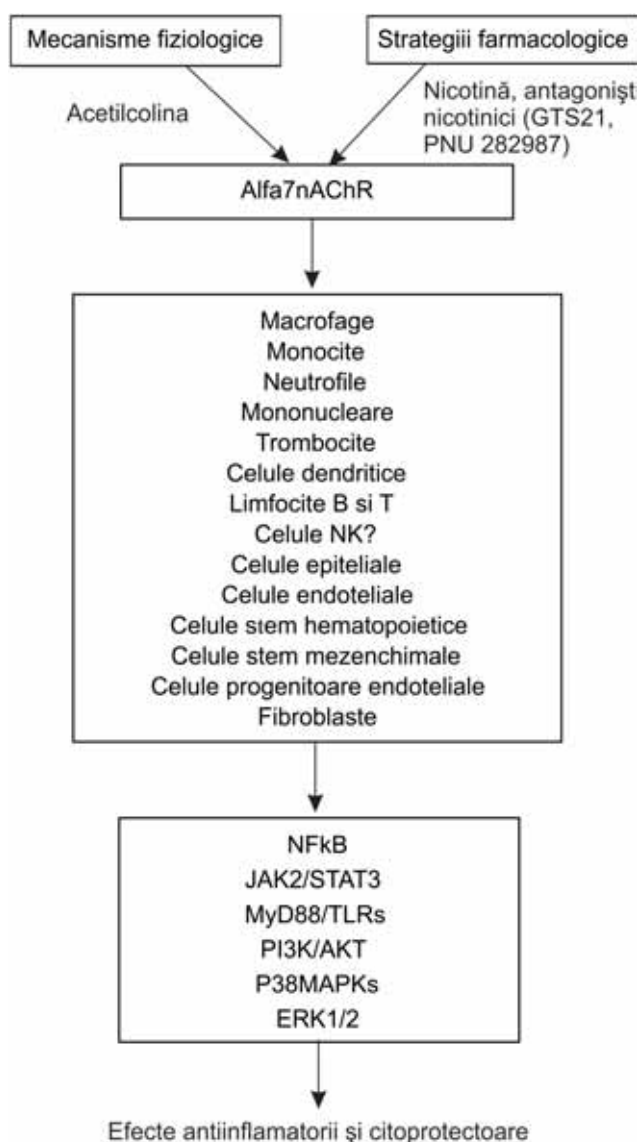


FIGURA 5. Semnalizarea alfa7nAChR în boli inflamatorii

Alfa7nAChR: Homopentaalpa7 subunit nicotinic acetylcholine receptor; MyD88: Myeloid differentiation factors 88; TLRs: Toll-like receptors; NFkB: Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; JAKs: Janus kinases; STAT: Signal transducer and activator of transcription; PI3K: Phosphatidylinositol 3-kinase; AKT: Serine/threonine kinase; MAPKs: Mitogen activated protein kinases.

NFkB este reprezentat de creșterea AMPc intracelular în urma interacțiunii dintre alfa7nAChR și adenilat ciclaza 6. Această cale de transducție promovează fosforilarea CREB, PCREB inițiază transcripția cfos și inactivarea NFkB. (61,65-68). În limfocite T de șoarece, nicotina inactivează calea de transducție a NFkB prin supresia sintezei Th1 (TNF alfa, IFN gamma), a Th17 (IL17, IL17F, IL22, IL23) și a factorilor de transcripție (RORs, Ikb) (41).

În macrofage, nicotina reduce eliberarea citokinelor proinflamatorii prin stimularea tirozinkinazei

JAK2, fosforilarea ulterioară a factorului de transcriere STAT3 și activarea căii de semnalizare SOC3 în monocite, sau micro RNA124 și GSK3 în macrofage (69-71).

Prin stimularea alfa7nAChR în monocite, macrofage și celule epiteliale cu agoniști TLRs și agoniști nicotinici s-a obținut un răspuns antiinflamator printr-un mecanism mediat de TLRs/MyD88. Interacțiunea ligand-receptor a fost urmată de reducerea exprimării TLR2, TLR3, TLR4, TLR9, CD14 și subreglarea a numeroase proteine MyD88, TRIF, IRAK, TARF (72-75). În alte sisteme celulare (macrofage, monocite, feocromocitom, neuroblastom, PC12), nicotina a stimulat calea de semnalizare MAPK/ERK (mitogen – activated protein kinases/extracellular signal regulated kinases, denumită și Ras-Raf-MEK-ERK) (76-78).

CONCLUZII

Există o serie de date epidemiologice și experimentale pe baza cărora se poate aprecia că nicotina este un alcaloid natural cu proprietăți antiinflamatorii. Potențialul antiinflamator al nicotinei asupra diferitelor organe și sisteme se realizează prin intermediul unor receptori specifici tip alpha7nAChR. Cercetarea efectelor diferitelor substanțe agoniste sau antagoniste ale receptorilor nicotinici în celule non-neuronale a arătat că receptorii nicotinici homopentamerici alfa7 sunt situați cu precădere în celule imune și inflamatorii (macrofage, monocite, neutrofile, mononucleare, trombocite, celule dendritice, limfocite B și T, celule NK, celule epiteliale, celule endoteliale, fibroblaste, celule stem hematopoietice, celule stem mezenchimale, celule progenitoare endoteliale). Fixarea nicotinei de receptorii alfa7nAChR inițiază o serie de evenimente intracelulare, mediate de NFkB, JAK/STAT, MyD88/TLRs, MAPKs/ERKs. Stimularea receptorilor alfa7nAChR de la nivelul țesuturilor extraneuronale reglementează eliberarea de citokine proinflamatorii în circulația sanguină.

Efectele antiinflamatorii ale nicotinei asupra diferitelor țesuturi sunt greu de interpretat. Se cunoaște că stimularea căii nicotinic antiinflamatorii previne eliberarea excesivă a citokinelor și atenuează inflamația locală și sistemică. În plus, efectele acute și cronice ale nicotinei asupra sistemului imunitar sunt, de obicei, opuse. Tratamentul acut cu nicotină stimulează, în timp ce tratamentul cronic suprimă răspunsurile imune și inflamatorii. În anumite modele experimentale, nicotina prezintă efecte stimulante ale receptorilor alfa7nAChR la o anumită doză și efecte blocante la alte doze. Există, de

asemenea, interferențe farmacologice asupra receptorilor nicotiniici între nicotina administrată exogen și acetilcolina endogenă.

Interesul terapeutic pentru utilizarea nicotinei ca medicament este astăzi limitat din cauza faptului că administrarea nicotinei poate promova angiogeneza și o serie de reacții adverse. Valorificarea potențialului terapeutic al nicotinei în combaterea inflamației locale și sistemice din anumite afecțiuni umane

necesită studii suplimentare și este interesantă din punct de vedere al farmacologiei experimentale.

Notă: Această lucrare a beneficiat de suport financiar prin proiectul „CERO – profil de carieră: cercetător român“, contract nr. POSDRU/159/1.5/S/135760, proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013.

BIBLIOGRAFIE

- Jonge W.J., & Ulloa L. (2007). The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor as a pharmacological target for inflammation. *British journal of pharmacology*, 151(7), 915-929.
- Ulloa L. (2005). The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(8), 673-684.
- Han Y. (2014). Nicotine, an anti-inflammation molecule. *Inflammation and Cell Signaling*, 1(4), 10-14800.
- Mabley J., Gordon S., Pacher P. Nicotine exerts an anti-inflammatory effect in a murine model of acute lung injury. *Inflammation* 2011; 34:231-237.
- Cui W.Y., Zhao S., Polanowska-Grabowska R., Wang J., Wei J., Dash B., et al. Identification and characterization of poly(I:C)-induced molecular responses attenuated by nicotine in mouse macrophages. *Mol Pharmacol* 2013; 83:61-72.
- Razani-Boroujerdi S., Boyd R.T., Davila-Garcia M.I., Nandi J.S., Mishra N.C., Singh S.P., et al. T cells express alpha7-nicotinic acetylcholine receptor subunits that require a functional TCR and leukocyte-specific protein tyrosine kinase for nicotine-induced Ca2+ response. *J Immunol* 2007; 179:2889-2898.
- Scott D.A., & Martin M. (2006). Exploitation of the nicotinic anti-inflammatory pathway for the treatment of epithelial inflammatory diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 12(46), 7451.
- Piao W.H., Campagnolo D., Dayao C., Lukas R.J., Wu J., & Shi F.D. (2009). Nicotine and inflammatory neurological disorders. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(6), 715-722.
- Sadis C., Teske G., Stokman G., Kubjak C., Claessen N., Moore F., et al. Nicotine protects kidney from renal ischemia/reperfusion injury through the cholinergic anti-inflammatory pathway. *PLoS One* 2007;
- Chatterjee P.K., Yeboah M.M., Dowling O., Xue X., Powell S.R., Al-Abed Y., & Metz C.N. (2012). Nicotinic acetylcholine receptor agonists attenuate septic acute kidney injury in mice by suppressing inflammation and proteasome activity. *PLoS one*, 7(5), e35361.
- Agarwal P.K., Van den Born J., Van Goor H., Navis G., Gans R.O., & Bakker S.J. (2012). Renoprotective effects of long-term oral nicotine in a rat model of spontaneous proteinuria. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 302(7), F895-F904.
- Obert D.M., Hua P., Pilkerton M.E., Feng W., & Jaimes E.A. (2011). Environmental tobacco smoke furthers progression of diabetic nephropathy. *The American journal of the medical sciences*, 341(2), 126.
- Hayashi S., Hamada T., Zaidi S.F., Oshiro M., Lee J., Yamamoto T., & Kadowaki, M. (2014). Nicotine suppresses acute colitis and colonic tumorigenesis associated with chronic colitis in mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 307(10), G968-G978.
- Wu S., Zhao H., Luo H., Xiao Xx., Zhang H., Zuo X. GTS-21, an alpha7-nicotinic acetylcholine receptor agonist, modulates Th1 differentiation in CD4+ T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2014, 8(2), 557-562.
- Mathis, Keisa W. Nicotine reduces blood pressure in mouse model of systemic lupus erythematosus. *The FASEB Journal*, 2013, 27: 1116.2.
- Scott D.A., Lamont R.J., Kumar A., Wang H. (2014). Nicotinic augmentation of anti-inflammatory GSK3b signaling. *Tobacco Induced Diseases*, 12(Suppl 1), A15.
- Wu, Haiya, Ling Li, Xiao Su. "Vagus Nerve through A7 nAChR Modulates Lung Infection and Inflammation: Models, Cells, and Signals." *BioMed Research International* 2014 (2014): 283525. *PMC*. Web. 17 Dec. 2014.
- Su X., Jae W.L., Matthay Z.A., et al. Activation of the alpha7 nAChR reduces acid-induced acute lung injury in mice and rats. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2007; 37(2):186-192.
- Su X., Matthay M.A., Malik A.B. Requisite role of the cholinergic alpha7 nicotinic acetylcholine receptor pathway in suppressing gram-negative sepsis-induced acute lung inflammatory injury. *Journal of Immunology*. 2010;184(1):401-410.
- Ni Y.F., Tian F., Lu Z.F., et al. Protective effect of nicotine on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Respiration*. 2010; 81(1):39-46.
- Giebelen I.A.J., van Westerloo D.J., LaRosa G.J., de vos A.F., van der Poll T. Local stimulation of alpha7 cholinergic receptors inhibits LPS-induced TNF-alpha release in the mouse lung. *Shock*. 2007; 28(6):700-703.
- Lafargue M., Xu L., Carlès M., et al. Stroke-induced activation of the alpha7 nicotinic receptor increases *Pseudomonas aeruginosa* lung injury. *FASEB Journal*. 2012; 26(7):2919-2929.
- Giebelen I.A.J., Leendertse M., Florquin S., van der Poll T. Stimulation of acetylcholine receptors impairs host defence during pneumococcal pneumonia. *European Respiratory Journal*. 2009; 33(2):375-381.
- Boland C., Collet V., Laterre E., Lecuivre C., Wittebole X., Laterre P. Electrical vagus nerve stimulation and nicotine effects in peritonitis-induced acute lung injury in rats. *Inflammation*. 2011; 34(1):29-35.
- Brégeon F., Xeridat F., Andreotti N., et al. Activation of nicotinic cholinergic receptors prevents ventilator-induced lung injury in rats. *PLoS ONE*. 2011; 6(8)e22386
- Kox M., Pompe J.C., Peters E., et al. alpha7 Nicotinic acetylcholine receptor agonist GTS-21 attenuates ventilator-induced tumour necrosis factor-alpha production and lung injury. *British Journal of Anaesthesia*. 2011; 107(4):559-566.
- Razani-Boroujerdi S., Singh S.P., Knall C., et al. Chronic nicotine inhibits inflammation and promotes influenza infection. *Cellular Immunology*. 2004; 230(1):1-9.
- Grando S. Connection of nicotine to cancer, *Nature Reviews Cancer*, 14, 419-429, 2014.
- Wang H., Yu M., Ochani M. et al. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation, *Nature*, vol. 421, no. 6921, pp. 384-388, 2003.
- Su X., Jae W. L., Matthay Z. A. et al. Activation of the alpha7 nAChR reduces acid-induced acute lung injury in mice and rats, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, vol. 37, no. 2, pp. 186-192, 2007.
- Wang H., Liao H., Ochani M. et al. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis, *Nature Medicine*, vol. 10, no. 11, pp. 1216-1221, 2004.

32. **Su X., Matthay M.A., and Malik A.B.** Requisite role of the cholinergic $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor pathway in suppressing gram-negative sepsis-induced acute lung inflammatory injury, *Journal of Immunology*, vol. 184, no. 1, pp. 401–410, 2010.
33. **Rosas-Ballina M., Goldstein R.S., Gallowitsch-Puerta M. et al.** The selective $\alpha 7$ agonist GTS-21 attenuates cytokine production in human whole blood and human monocytes activated by ligands for TLR2, TLR3, TLR4, TLR9, and RAGE, *Molecular Medicine*, vol. 15, no. 7-8, pp. 195–202, 2009.
34. **Takahashi H.K., Liu K., Wake H. et al.** Effect of nicotine on advanced glycation end product-induced immune response in human monocytes, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 332, no. 3, pp. 1013–1021, 2010.
35. **Huston J.M., Rosas-Ballina M., Xue X. et al.** Cholinergic neural signals to the spleen down-regulate leukocyte trafficking via CD11b, *Journal of Immunology*, vol. 183, no. 1, pp. 552–559, 2009.
36. **Su X., Feng X., Terrando N. et al.** Dysfunction of inflammation-resolving pathways is associated with exaggerated postoperative cognitive decline in a rat model of the metabolic syndrome, *Molecular Medicine*, vol. 18, no. 12, pp. 1481–1490, 2013.
37. **H.J. Jin, H.T. Li, H.X. Sui et al.** Nicotine stimulated bone marrow-derived dendritic cells could augment HBV specific CTL priming by activating PI3K-Akt pathway, *Immunology Letters*, vol. 146, no. 1-2, pp. 40–49, 2012.
38. **Reardon C., Duncan G.S., Brüstle A. et al.** Lymphocyte-derived ACh regulates local innate but not adaptive immunity, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 110, no. 4, pp. 1410–1415, 2013.
39. **Olofsson P.S., Katz D.A., Rosas-Ballina M. et al.** $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor ($\alpha 7nAChR$) expression in bone marrow-derived non-T cells is required for the inflammatory reflex, *Molecular Medicine*, vol. 18, no. 1, pp. 539–543, 2012.
40. **Razani-Boroujerdi S., Boyd R.T., Davila-Garcia M.I., Nandi J.S., Mishra N.C., Singh S.P., et al.** T cells express alpha7-nicotinic acetylcholine receptor subunits that require a functional TCR and leukocyte-specific protein tyrosine kinase for nicotine-induced Ca²⁺ response. *J Immunol* 2007; 179:2889-2898.
41. **Nizri E., Irony-Tur-Sinai M., Faranesh N., Lavon I., Lavi E., Weinstock M., & Brenner T.** (2008). Suppression of neuroinflammation and immunomodulation by the acetylcholinesterase inhibitor rivastigmine. *Journal of neuroimmunology*, 203(1), 12-22.
42. **Yamaguchi H., Friedman H., and Yamamoto Y.** Involvement of nicotinic acetylcholine receptors in controlling Chlamydia pneumoniae growth in epithelial HEp-2 cells, *Infection and Immunity*, vol. 71, no. 6, pp. 3645–3647, 2003.
43. **R.W. Saeed, S. Varma, T. Peng-Nemeroff et al.** Cholinergic stimulation blocks endothelial cell activation and leukocyte recruitment during inflammation, *Journal of Experimental Medicine*, vol. 201, no. 7, pp. 1113–1123, 2005.
44. **Peña V.B.A., Bonini I.C., Antollini S.S., Kobayashi T., Barrantes F.J.,** $\alpha 7$ -type acetylcholine receptor localization and its modulation by nicotine and cholesterol in vascular endothelial cells, *Journal of Cellular Biochemistry*, vol. 112, no. 11, pp. 3276–3288, 2011.
45. **Hoogduijn M.J., Cheng A., Genever P.G.** Functional nicotinic and muscarinic receptors on mesenchymal stem cells, *Stem Cells and Development*, vol. 18, no. 1, pp. 103–112, 2009.
46. **Schraufstatter I.U., DiScipio R.G., Khaldoyanidi S.K.** Alpha 7 subunit of nAChR regulates migration of human mesenchymal stem cells, *Journal of Stem Cells*, vol. 4, no. 4, pp. 203–215, 2009.
47. **Yu M., Liu Q., Sun J., Yi, K, Wu L., and Tan X.** Nicotine improves the functional activity of late endothelial progenitor cells via nicotinic acetylcholine receptors, *Biochemistry and Cell Biology*, vol. 89, no. 4, pp. 405–410, 2011.
48. **Heeschen C., Chang E., Aicher A., and Cooke J.P.** Endothelial progenitor cells participate in nicotine-mediated angiogenesis, *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 48, no. 12, pp. 2553–2560, 2006.
49. **Westman M., Engström M., Catrina A.I., and Lampa J.** Cell specific synovial expression of nicotinic alpha 7 acetylcholine receptor in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis, *Scandinavian Journal of Immunology*, vol. 70, no. 2, pp. 136–140, 2009.
50. **van Maanenn M.A., Stooft S.P., LaRosa G.J., Vervoordeldonk M.J., and Tak P.P.** Role of the cholinergic nervous system in rheumatoid arthritis: aggravation of arthritis in nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit gene knockout mice, *Annals of the Rheumatic Diseases*, vol. 69, no. 9, pp. 1717–1723, 2010.
51. **Rosas-Ballina M., Goldstein R.S., Gallowitsch-Puerta M. et al.** The selective $\alpha 7$ agonist GTS-21 attenuates cytokine production in human whole blood and human monocytes activated by ligands for TLR2, TLR3, TLR4, TLR9, and RAGE, *Molecular Medicine*, vol. 15, no. 7-8, pp. 195–202, 2009.
52. **Takahashi H.K., Liu K., Wake H. et al.** Effect of nicotine on advanced glycation end product-induced immune response in human monocytes, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 332, no. 3, pp. 1013–1021, 2010.
53. **Jin H.J., Li H.T., Sui H.X. et al.** Nicotine stimulated bone marrow-derived dendritic cells could augment HBV specific CTL priming by activating PI3K-Akt pathway, *Immunology Letters*, vol. 146, no. 1-2, pp. 40–49, 2012.
54. **Reardon C., Duncan G.S., Brüstle A. et al.** Lymphocyte-derived ACh regulates local innate but not adaptive immunity, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 110, no. 4, pp. 1410–1415, 2013.
55. **Olofsson P.S., Katz D.A., Rosas-Ballina M. et al.** $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor ($\alpha 7nAChR$) expression in bone marrow-derived non-T cells is required for the inflammatory reflex, *Molecular Medicine*, vol. 18, no. 1, pp. 539–543, 2012.
56. **Su X., Feng X., Terrando N. et al.** Dysfunction of inflammation-resolving pathways is associated with exaggerated postoperative cognitive decline in a rat model of the metabolic syndrome, *Molecular Medicine*, vol. 18, no. 12, pp. 1481–1490, 2013.
57. **De Rosa R., Garcia A.A., Braschi C., Capsoni S., Maffei L., Berardi N., Cattaneo A.** (2005). Intranasal administration of nerve growth factor (NGF) rescues recognition memory deficits in AD11 anti-NGF transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(10), 3811-3816.
58. **Hamano R., Takahashi H.K., Iwagaki H., Yoshino T., Nishibori M., Tanaka N.** Stimulation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor inhibits CD14 and the toll-like receptor 4 expression in human monocytes. *Shock*. 2006; 26:358–364.
59. **Kawashima K., Fujii T.** The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity. *Life Sci*. 2003; 74:675–696.
60. **Skok M., Grailhe R., Agenes F., Changeux J.P.** The role of nicotinic acetylcholine receptors in lymphocyte development. *J Neuroimmunol*. 2006; 171:86–98.
61. **DeRosa M.J., Esandi M.C., Garelli A., Rayes D., Bouzat C.** Relationship between alpha 7nAChR and apoptosis in human lymphocytes. *J Neuroimmunol*. 2005; 160:154–161.
62. **D. Martelli, M.J. McKinley, and R.M. McAllen** "The cholinergic anti-inflammatory pathway: a critical review," *Autonomic, Neuroscience*, vol. 182, pp. 65–69, 2014.
63. **Gahring L.C., Enioutina E.Y., Myers E.J. et al.** Nicotinic receptor $\alpha 7$ expression identifies a novel hematopoietic progenitor lineage, *PLoS ONE*, vol. 8, no. 3, Article ID e57481, 2013.
64. **Cloëz-Tayarani I., & Changeux J.P.** (2007). Nicotine and serotonin in immune regulation and inflammatory processes: a perspective. *Journal of leukocyte biology*, 81(3), 599-606.
65. **Andersson U., Tracey K.J.** Neural reflexes in inflammation and immunity, *Journal of Experimental Medicine*, vol. 209, no. 6, pp. 1057–1068, 2012.
66. **Hall S., Kumaria A., Belli A.** The role of vagus nerve overactivity in the increased incidence of pneumonia following traumatic brain injury, *British Journal of Neurosurgery*, vol. 28, no. 2, pp. 181–186, 2014.
67. **Oshikawa J., Toya Y., Fujita T. et al.** Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ regulates cAMP signal within lipid rafts, *American Journal of Physiology: Cell Physiology*, vol. 285, no. 3, pp. C567–C574, 2003.
68. **Ray N., Kuwahara M., Takada Y. et al.** c-Fos suppresses systemic inflammatory response to endotoxin, *International Immunology*, vol. 18, no. 5, pp. 671–677, 2006.
69. **Chatterjee P.K., Al-Abed Y., Sherry B., Metz C.N.** Cholinergic agonists regulate JAK2/STAT3 signaling to suppress endothelial cell activation, *The American Journal of Physiology – Cell Physiology*, vol. 297, no. 5, pp. C1294–C1306, 2009.
70. **Peña G., Cai B., Liu J. et al.** Unphosphorylated STAT3 modulates alpha7 nicotinic receptor signaling and cytokine production in sepsis,

- European Journal of Immunology*, vol. 40, no. 9, pp. 2580–2589, 2010.
71. Sun Y., H. Gui Q. Li, et al. MicroRNA-124 mediates the cholinergic anti-inflammatory action through inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines, *Cell Research*, vol. 23, no. 11, pp. 1270–1283, 2013.
72. Borovikova L.V., Ivanova S., Zhang M. et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin, *Nature*, vol. 405, no. 6785, pp. 458–462, 2000.
73. Wang H., Yu M., Ochani M. et al. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation, *Nature*, vol. 421, no. 6921, pp. 384–388, 2003.
74. Yoshikawa H., Kurokawa M., Ozaki N. et al. Nicotine inhibits the production of proinflammatory mediators in human monocytes by suppression of I- κ B phosphorylation and nuclear factor- κ B transcriptional activity through nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$, *Clinical and Experimental Immunology*, vol. 146, no. 1, pp. 116–123, 2006.
75. Hamano R., Takahashi H. K., Iwagaki H., Yoshino T., Nishibori M., and Tanaka N. Stimulation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor inhibits CD14 and the toll-like receptor 4 expression in human monocytes, *Shock*, vol. 26, no. 4, pp. 358–364, 2006.
76. Kihara T., Shimohama S., Sawada H. et al. $\alpha 7$ nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block A beta-amyloid-induced neurotoxicity, *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 276, no. 17, pp. 13541–13546, 2001.
77. Gubbins E.J., Gopalakrishnan M., and Li J. $\alpha 7$ nAChR-mediated activation of MAP kinase pathways in PC12 cells, *Brain Research*, vol. 1328, pp. 1–11, 2010.
78. Kouhen R.E.L., Hu M., Anderson D.J., Li J., Gopalakrishnan M. Pharmacology of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor mediated extracellular signal-regulated kinase signalling in PC12 cells, *British Journal of Pharmacology*, vol. 156, no. 4, pp. 638–648, 2009.