

Meccanismi biologici della dipendenza da nicotina

The biology of nicotine addiction

Mariella De Biasi

Riassunto

La nicotina contenuta nel tabacco è una delle sostanze di abuso più comuni. Oggi si sa che la nicotina favorisce il rilascio di dopamina nel sistema mesolimbico e che questo meccanismo è importante per l'instaurarsi dell'abitudine al fumo. La nicotina esercita la sua azione legandosi ai recettori nicotinici. Tali recettori possono esistere in vari stati conformazionali e lo stato desensitizzato del recettore può spiegare sia lo sviluppo della tolleranza alla nicotina che l'insorgenza dei sintomi di astinenza. Nessuno dei trattamenti disponibili contro la dipendenza da nicotina si è dimostrato finora efficace a lungo termine, e su vaste porzioni della popolazione. La definizione dei meccanismi biologici della dipendenza da nicotina, mediante l'integrazione dei dati ottenuti a livello cellulare con quelli ottenuti in vivo su uomo e animali da laboratorio, promette nuove strategie terapeutiche contro l'abitudine al fumo.

Parole chiave: *acetilcolina, recettori nicotinici, tabacco, fumo, sigarette, recettori presinaptici, recettori postsinaptici, dopamina, tolleranza, dipendenza.*

Summary

The nicotine obtained from tobacco is a common substance of abuse. We now know that the nicotine-induced release of dopamine in the mesolimbic system is important for the development of nicotine addiction, and that the transition of nicotinic receptors to a desensitized state can help to explain both tolerance and withdrawal symptoms.

Current strategies aimed at smoking cessation work only on relatively small portions of patients, and relapses are frequent.

The understanding of the biological mechanisms underlying nicotine addiction, obtained by combining the knowledge of cellular mechanisms with in vivo data on humans and animals, may provide new tools for the fight against nicotine addiction.

Keywords: *acetylcoline, nicotine receptors, tobacco, smoke, cigarettes, pre-synaptic receptors, post-synaptic receptors, dopamin, tolerance, dependence.*

INTRODUZIONE

È stimato che nel mondo vi siano attualmente 1.2 bilioni di fumatori. Il fumo è uno dei fattori di rischio implicati nella morte prematura da malattie cardiovascolari, cancro, ictus e malattia polmonare cronica ostruttiva (47). Nonostante la chiara relazione tra fumo e insorgenza di queste patologie, solo il 3 % dei fumatori smette di fumare, anche se quasi il 40% ammette di aver tentato di smettere (9). La ragione per cui smettere di fumare è così difficile è che il fumo provoca dipendenza, un fenomeno che ha importanti implicazioni sia fisiologiche, che psicologiche e socioeconomiche.

È soprattutto la nicotina contenuta nel tabacco a provocare il fenomeno

della dipendenza (5, 20, 21, 24, 62, 64). Quando viene studiata in laboratorio, in assenza di fumo o di altri fattori estranei, la nicotina è in grado di indurre una serie di comportamenti, quali ad esempio l'autosomministrazione, che sono tipici dei farmaci che provocano tossicodipendenza (13, 18, 48, 54, 59, 64). Similmente a quanto avviene per altre droghe d'abuso, la cessazione dell'assunzione di nicotina produce crisi di astinenza caratterizzate da irrequietezza, irritabilità, ansietà, difficoltà a concentrarsi, insonnia, aumento dell'appetito, e ovviamente, desiderio di riprendere a fumare (30). Questa breve rassegna discute alcune delle recenti scoperte riguardanti i meccanismi biologici che stanno alla base della dipendenza da nicotina.

I RECETTORI NEURONALI PER LA NICOTINA

La nicotina esercita la sua azione legandosi ad un sottotipo di recettori colinergici, i recettori nicotinici. I recettori nicotinici sono espressi in numerose regioni del sistema nervoso centrale e periferico, e la loro attivazione è in grado di influenzare le funzioni cognitive, lo sviluppo neuronale, la degenerazione neuronale, nonché la trasmissione di impulsi dal sistema nervoso centrale agli organi periferici (8, 19, 21).

I recettori nicotinici sono canali ionici che si aprono a seguito del legame con il neurotrasmettitore endogeno acetilcolina, o con la nicotina (2, 8, 9, 11, 19, 21, 33, 35, 39, 40, 41, 45, 49, 61, 69). Il complesso canale-recettore

Mariella De Biasi

Division of Neuroscience, Baylor College of Medicine - Houston, Texas, USA

e' formato da cinque subunità polipeptidiche che delimitano il canale attraverso cui gli ioni transitano da un lato all'altro della membrana cellulare (16). Diverse subunità possono combinarsi per dare origine a recettori con proprietà biofisiche e farmacologiche diverse. Finora sono state clonate 9 subunità α e 3 subunità β per i recettori nicotinici neuronali (14, 25, 72). In base alle subunità che li compongono i recettori nicotinici sono raggruppati in recettori omomerici, composti da sole subunità α , e recettori eteromerici, composti da subunità α e β in combinazione.

Una volta legato l'agonista il recettore nicotinico entra per breve tempo nella conformazione di canale ionico aperto, che consente l'entrata di ioni carichi positivamente all'interno della cellula.

Dopo pochi millisecondi il recettore cambia conformazione e, o ritorna allo stato originale, chiuso ma capace di legare un agonista, o entra nella conformazione di recettore desensitizzato, insensibile agli agonisti.

Le subunità di cui è composto il recettore influenzano la velocità di attivazione, l'ampiezza delle correnti ioniche, il grado di desensitizzazione, la velocità con cui il recettore recupera dallo stato desensitizzato, nonché il suo profilo farmacologico. Gli effetti che la nicotina esercita in varie aree del cervello varierà quindi in funzione non solo dell'area cerebrale considerata, ma anche in funzione del sottotipo/i di recettore nicotinico presente in quella determinata area.

A complicare le cose c'è il fatto che i tre principali stati conformazionali del recettore nicotinico (chiuso, aperto, e desensitizzato) non sono sufficienti a giustificare completamente il loro comportamento. Esistono infatti molteplici stati di desensitizzazione, sia di lunga che breve durata (22, 27). Pertanto ad ogni istante la popolazione di recettori nicotinici si distribuisce tra i vari possibili stati conformazionali. Il legame di agonisti o la presenza di modulatori allosterici altera ulteriormente la distribuzione fra i vari stati conformazionali (11, 15).

LA NICOTINA ATTIVA E POI DESENSITIZZA I RECETTORI NICOTINICI

Per comprendere i meccanismi che governano gli effetti del fumo sul sistema nervoso centrale bisogna considerare che la probabilità che un dato recettore nicotinico sia in un certo stato conformazionale dipende dalla concentrazione dell'agonista a cui il recettore è esposto, la natura dell'agonista e la velocità con cui tale esposizione avviene. Ad una tipica sinapsi centrale, che è grande circa un micron, l'acetilcolina viene rilasciata dai terminali presinaptici ad una concentrazione intorno ad 1 mM, per circa due millisecondi, prima che l'acetilcolina sia degradata dall'enzima acetilcolinesterasi. Questo rapido pulso di agonista provoca l'attivazione dei recettori nicotinici nelle immediate vicinanze, con poca o nulla desensitizzazione. La nicotina contenuta nel tabacco raggiunge le sinapsi più lentamente, ed a concentrazioni intorno a 0.1 mM. La nicotina però è presente nelle sinapsi più a lungo, in parte perché non può essere idrolizzata dalla acetilcolinesterasi. Questa esposizione prolungata a basse concentrazioni di agonista favorisce la desensitizzazione, e teoricamente una porzione di recettori potrebbe passare dallo stato chiuso a quello desensitizzato senza aprirsi, poiché la conformazione desensitizzata ha una maggiore affinità per gli agonisti che non la conformazione di canale chiuso o aperto.

Il fatto che le concentrazioni di nicotina contenute in una sigaretta siano in grado prima di attivare e poi desensitizzare i recettori nicotinici ha implicazioni dirette per i meccanismi che portano all'abitudine al fumo (55). Tale fenomeno fa sì che gli effetti di una seconda dose di nicotina siano inferiori a quelli della prima. Inizialmente il cervello non contiene nicotina, e i recettori nicotinici rispondono normalmente agli stimoli legati alla normale attività colinergica. Quando esposti alla nicotina i recettori nicotinici sono in un primo momento attivati e producono depolarizzazione della membrana neuronale e la scarica di potenziali d'azio-

ne. Tale processo avviene in tutte le aree del cervello con conseguenze diverse. La desensitizzazione produrrà tolleranza acuta alla nicotina contenuta nelle sigarette fumate successivamente. Tuttavia, la desensitizzazione dei recettori nicotinici non è mai completa, e dipende dalla natura delle subunità che li formano. Ad esempio i recettori che hanno una elevata affinità per la nicotina e contengono le subunità $\alpha 4$ e $\beta 2$, hanno una maggiore probabilità di diventare desensitizzati (27). Poiché i neuroni centrali esprimono vari sottotipi di recettori nicotinici, anche nella stessa area del cervello il livello di desensitizzazione dei recettori nicotinici può essere alquanto diverso, con conseguenze diverse sui vari processi neuronali (22). Questo perché la desensitizzazione riduce la capacità dei recettori nicotinici di rispondere non solo alla nicotina, ma anche all'acetilcolina endogena rilasciata durante la normale attività sinaptica.

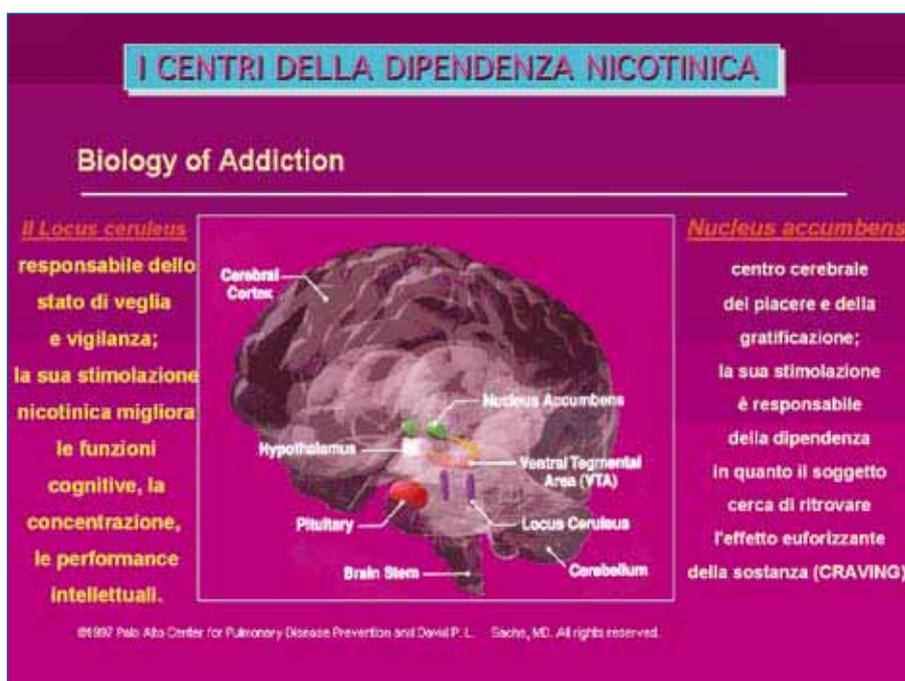
Un altro aspetto importante dell'esposizione prolungata al fumo di sigaretta è che la nicotina aumenta il numero di recettori nicotinici nel cervello di diverse specie animali, incluso l'uomo (43; 53, 70). I recettori ad alta affinità che contengono $\alpha 4$ e $\beta 2$ sono quelli che aumentano maggiormente durante l'esposizione prolungata alla nicotina (12, 26, 66, 71). Non è ancora chiaro come tale fenomeno possa avvenire, ma la desensitizzazione è uno dei possibili meccanismi (27, 37, 55). Nella conformazione desensitizzata i recettori nicotinici sono riciclati nella membrana cellulare molto più lentamente, e questo porterebbe ad un aumento della loro densità alla superficie della cellula (51, 52). Quando le concentrazioni di nicotina nel cervello diminuiscono, l'eccesso di recettori espressi a livello di membrana esce dallo stato desensitizzato, con conseguente ipereccitabilità dei processi colinergici controllati dai recettori nicotinici. Questa ipereccitabilità alle sinapsi colinergiche potrebbe spiegare il nervosismo e la tensione che spingono il fumatore a consumare la successiva sigaretta. Una delle cose che la seconda sigaretta fa è "medicare" il fumatore attraverso la

desensitizzazione dei recettori nicotinici in eccesso, riportando così l'attività dei processi nicotinergici a livelli più normali.

In base a queste informazioni è possibile speculare sulle abitudini dei fumatori. La maggior parte dei fumatori riporta che la prima sigaretta del giorno è la più piacevole (60). Dopo una notte di astinenza dal fumo le concentrazioni di nicotina si trovano al livello più basso della giornata. Pertanto la prima sigaretta è quella in grado di attivare maggiormente i recettori nicotinici e produrre la sensazione più piacevole legata al fumo. Dopo una o due sigarette il numero di recettori nicotinici desensitizzati aumenta, causando tolleranza acuta alla nicotina e diminuzione dell'aspetto gratificante del fumo. Questo processo continuo di attivazione e desensitizzazione dei recettori nicotinici influenza la plasticità sinaptica del cervello. Verosimilmente partecipa anche nelle modificazioni a lungo termine dell'attività sinaptica che sono associate alla dipendenza (23, 32, 42). Un altro fattore determinante sono l'agitazione e il nervosismo che deriverebbero dall'eccesso di recettori nicotinici e dall'iperattivazione dei circuiti neuronali nicotinergici. Infatti tra una sigaretta e l'altra spesso passano da due a cinque ore, periodo durante il quale i livelli plasmatici di nicotina hanno il tempo di diminuire, favorendo il recupero di una porzione di recettori dallo stato di desensitizzazione (5, 20, 31, 63). Questo spiegherebbe il perché i fumatori spesso riportano che fumare durante il giorno li aiuta a concentrarsi e a mantenersi rilassati (7, 60). L'esposizione prolungata alla nicotina fa sì che una porzione della popolazione di recettori nicotinici sia sempre nello stato desensitizzato, e questo promuove l'aumento del numero di recettori nicotinici a livello della membrana neuronale. Se però la nicotina viene evitata per alcune settimane, il numero dei recettori nicotinici ritorna ai livelli normali, pre-nicotina (12, 50, 65). In base a queste osservazioni smettere di fumare non dovrebbe pertanto essere difficile. Tuttavia, la maggior parte dei tentativi di smettere di fumare fallisce.

La ragione di questo fenomeno non è ancora chiara ed è oggetto di intensa ricerca (4, 21, 23, 62). Le alterazioni a livello cellulare si tradurrebbero in una serie di comportamenti in parte associati al fumo, ma in parte anche associati al contesto in cui il fumare avviene (luoghi, persone etc). Poiché questi comportamenti sono rinforzati dal fumo e sono legati a particolari stimoli sensoriali, il desiderio di fumare sparisce molto lentamente e spesso non del tutto. Il desiderio di fumare una sigaretta può persistere anche dopo anni che si è smesso di fumare.

Il sistema dopaminergico mesolimbico è costituito dai neuroni dopaminergici localizzati nell'area ventro-tegmentale (VTA) e le loro proiezioni allo striato, l'amigdala e la corteccia prefrontale. Anni di sperimentazione hanno indicato che sostanze d'abuso come la cocaina, le anfetamine e la nicotina esercitano le loro proprietà rafforzanti attraverso il sistema dopaminergico mesolimbico (36). Tali sostanze provocano auto-somministrazione ripetuta in studi su animali, e tale impulso alla somministrazione è legato ad un aumento dei livelli di dopamina nel nucleo accu-



GLI EFFETTI DELLA NICOTINA SUL SISTEMA DOPAMINERGICO MESOLIMBICO

Nel sistema nervoso centrale la maggioranza di recettori nicotinici è localizzata a livello presinaptico, dove la loro attivazione favorisce il rilascio di numerosi neurotrasmettitori tra cui glutammato, GABA, dopamina, e norepinefrina (1, 3, 28, 29, 32, 33, 38, 42, 45, 46, 56, 57, 58, 69, 90). Sebbene i meccanismi cellulari di tale fenomeno non siano ancora stati completamente chiariti, il consenso è che la dipendenza da nicotina è originata – anche se non esclusivamente – dalla sua azione sui neuroni dopaminergici del sistema mesolimbico. Il

bersaglio (Nac) della porzione ventrale dello striato. Questi risultati hanno contribuito alla formulazione dell'ipotesi che il rinforzo positivo provocato dalle sostanze psicostimolanti è associato ad un aumento dei livelli di dopamina in aree specifiche del cervello quali in Nac (67). L'attivazione dei neuroni dopaminergici nel VTA è ritenuta far parte dei processi biochimici necessari per rafforzare i comportamenti che sono necessari per la sopravvivenza della specie. Stimoli essenziali alla sopravvivenza, quali ad esempio quelli per l'assunzione di cibo, la procreazione, o il riconoscimento di situazioni pericolose hanno la capacità di innescare una sequenza di risposte comportamentali

che risultano o nella prolungata esposizione allo stimolo, se questo è gratificante, o ad un allontanamento da esso, se questo è spiacevole o doloroso. Una visione semplificata dei meccanismi di dipendenza da nicotina è che la nicotina, come gli stimoli legati alla sopravvivenza della specie, aumenta i livelli di dopamina nel NAc. Tale effetto promuoverebbe il consumo di tabacco, specie nella fase di acquisizione. Tale teoria è suffragata da esperimenti in cui il blocco del rilascio di dopamina nel NAc con antagonisti o microlesioni attenua le proprietà gratificatorie della nicotina, provocando una diminuzione della autosomministrazione in animali da esperimento (17, 64). Una ipotesi alternativa sul ruolo del sistema mesolimbico nei fenomeni di dipendenza vede la dopamina come un segnale della novità ed un indice dell'anticipazione della gratificazione. Una terza prospettiva è che la funzione della dopamina nel sistema mesolimbico corticale coinvolgerebbe per prima cosa l'integrazione di informazioni salienti provenienti dall'ambiente. Successivamente la stessa area parteciperebbe nella preparazione, inizio ed esecuzione degli

atti necessari ad ottenere il goal desiderato (34, 44). In questa nuova interpretazione il segnale dopaminergico partecipa nel continuo apprendimento indotto da comportamenti che sono mirati all'adattamento all'ambiente come esplorato dall'animale che di continuo aggiorna la sua esperienza dell'ambiente.

CONCLUSIONI

Gli ultimi venti anni hanno visto un notevole progresso nella comprensione dei meccanismi cellulari che stanno alla base della dipendenza da nicotina. L'impulso è stato fornito dal clonaggio dei geni che codificano per le subunità dei recettori nicotinici neuronali, dall'utilizzo di tecniche biofisiche che permettono lo studio delle correnti ioniche in singole cellule neuronali, e dall'apparire di agonisti e antagonisti selettivi per certi sottotipi di recettori nicotinici. L'applicazione di queste tecniche ha rivelato che sia l'attivazione che la desensitizzazione dei recettori nicotinici sono importanti, e che la complessa dinamica tra i vari stati conformazionali dei recettori nicotinici potrebbe spiegare certi aspetti della sindrome di astinenza e lo

sviluppo di tolleranza alla nicotina. La combinazione di studi comportamentali in animali da laboratorio con svariate tecniche cellulari ha rivelato che il sistema mesolimbico dopaminergico è fondamentale per l'insorgere della dipendenza da nicotina.

Non c'è dubbio tuttavia che gli effetti sistemici della nicotina sono più complessi di quelli descritti in questa rassegna, e che i meccanismi cellulari che portano alla dipendenza dall'alcaloide sono ancora da chiarificare sotto molti aspetti. La nicotina assunta durante il fumo raggiunge tutte le aree del cervello dove è in grado, attraverso svariati meccanismi cellulari, di influenzare e modificare un vasto numero di processi cerebrali. Infine non bisogna dimenticare che la nicotina raggiunge tutti gli organi periferici e influenza la trasmissione degli impulsi nervosi anche nel sistema nervoso autonomo e a livello della giunzione neuromuscolare. Il ruolo dei meccanismi periferici nel fenomeno della tolleranza e nei sintomi legati all'astinenza non è affatto chiaro ma merita di rientrare nell'equazione dei fattori che fanno della nicotina una sostanza d'abuso. ■

Bibliografia

- Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, Schrattenholz A, Maelicke A. Nicotinic acetylcholine receptors on hippocampal neurons: distribution on the neuronal surface and modulation of receptor activity. *J Recept Signal Transduct Res* 1997; 17:243-266.
- Albuquerque EX, Alkondon M, Pereira EF, Castro NG, Schrattenholz A, Barbosa CT, Bonfante-Cabarcas R, Aracava Y, Eisenberg HM, Maelicke A. Properties of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: pharmacological characterization and modulation of synaptic function. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 280:1117-1136.
- Alkondon M, Pereira EF, Barbosa CT, Albuquerque EX. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor activation modulates gamma-aminobutyric acid release from CA1 neurons of rat hippocampal slices. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1997; 283:1396-1411.
- Balfour DJ, Fagerstrom KO. Pharmacology of nicotine and its therapeutic use in smoking cessation and neurodegenerative disorders. *Pharmacol Ther* 1996; 72:51-81.
- Balfour DJ, Wright AE, Benwell ME, Birrell CE. The putative role of extra-synaptic mesolimbic dopamine in the neurobiology of nicotine dependence. *Behav Brain Res* 2000; 113:73-83.
- Benowitz NL. Nicotine addiction. *Prim Care* 1999; 26:611-631.
- Benowitz NL, Porchet H, Jacob P, 3rd. Nicotine dependence and tolerance in man: pharmacokinetic and pharmacodynamic investigations. *Prog Brain Res* 1989; 79:279-287.
- Broide RS, Leslie FM. The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor in neuronal plasticity. *Mol Neurobiol* 1999; 20:1-16.
- Broide RS, Robertson RT, Leslie FM. Regulation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in the developing rat somatosensory cortex by thalamocortical afferents. *J Neurosci* 1996; 16:2956-2971.
- Broide RS, O'Connor LT, Smith MA, Smith JA, Leslie FM. Developmental expression of alpha 7 neuronal nicotinic receptor messenger RNA in rat sensory cortex and thalamus. *Neuroscience* 1995; 67:83-94.
- Buisson B, Bertrand D. Open-channel blockers at the human alpha4beta2 neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Mol Pharmacol* 1998; 53:555-563.
- Buisson B, Bertrand D. Chronic exposure to nicotine upregulates the human (alpha)4(beta)2 nicotinic acetylcholine receptor function. *J Neurosci* 2001; 21:1819-1829.
- Cadoni C, Di Chiara G. Differential changes in accumbens shell and core dopamine in behavioral sensitization to nicotine. *Eur J Pharmacol* 2000; 387:R23-25.
- Champtiaux N, Han ZY, Bessis A, Rossi FM, Zoli M, Marubio L, McIntosh JM, Changeux JP. Distribution and pharmacology of alpha 6-containing nicotinic acetylcholine receptors analyzed with mutant mice. *J Neurosci* 2002; 22:1208-1217.
- Changeux JP, Bertrand D, Corringer PJ, Dehaene S, Edelstein S, Lena C, Le Novère N, Marubio L, Picciotto M, Zoli M1. Brain nicotinic receptors: structure and regulation, role in learning and reinforcement. *Brain Res Brain Res Rev* 1998; 26:198-216.
- Cooper E, Couturier S, Ballivet M. Pentameric structure and subunit stoichiometry of a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Nature* 1991; 350:235-238.
- Corrigan WA. Nicotine self-administration in animals as a dependence model. *Nicotine Tob Res* 1999; 1:11-20.
- Corrigan WA, Coen KM. Nicotine maintains robust self-administration in rats on a limited-access schedule. *Psychopharmacology* 1989; 99:473-478.

19. Dani JA. Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system. *Biol Psychiatry* 2001; 49:166-174.
20. Dani JA, Heinemann S. Molecular and cellular aspects of nicotine abuse. *Neuron* 1996; 16:905-908.
21. Dani JA, De Biasi M. Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacol Biochem Behav* 2001; 70:439-446.
22. Dani JA, Radcliffe KA, Pidoplichko VI. Variations in desensitization of nicotinic acetylcholine receptors from hippocampus and midbrain dopamine areas. *Eur J Pharmacol* 2000; 393:31-38.
23. Dani JA, Ji D, Zhou FM. Synaptic plasticity and nicotine addiction. *Neuron* 2001; 31:349-352.
24. Di Chiara G. Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol* 2000; 393:295-314.
25. Elgoyen AB, Johnson DS, Boulter J, Vetter DE, Heinemann S. $\alpha 9$: an acetylcholine receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair cells. *Cell* 1994; 79:705-715.
26. Fenster CP, Whitworth TL, Sheffield EB, Quick MW, Lester RA. Upregulation of surface $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptors is initiated by receptor desensitization after chronic exposure to nicotine. *J Neurosci* 1999; 19:4804-4814.
27. Fenster CP, Hicks JH, Beckman ML, Covernton PJ, Quick MW, Lester RA. Desensitization of nicotinic receptors in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 868:620-623.
28. Gray R, Rajan AS, Radcliffe KA, Yakehiro M, Dani JA. Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentration of nicotine. *Nature* 1996; 383:713-716.
29. Guo JZ, Tredway TL, Chiappinelli VA. Glutamate and GABA release are enhanced by different subtypes of presynaptic nicotinic receptors in the lateral geniculate nucleus. *J Neurosci* 1998; 18:1963-1969.
30. Hughes JR, Hatsukami D. Signs and symptoms of tobacco withdrawal. *Arch Gen Psychiatry* 1986; 43:289-294.
31. Jarvik ME, Madsen DC, Olmstead RE, Iwamoto-Schaap PN, Elins JL, Benowitz NL. Nicotine blood levels and subjective craving for cigarettes. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 66:553-558.
32. Ji D, Lape R, Dani JA. Timing and location of nicotinic activity enhances or depresses hippocampal synaptic plasticity. *Neuron* 2001; 31:131-141.
33. Jones S, Sudweeks S, Yakel JL. Nicotinic receptors in the brain: correlating physiology with function. *Trends Neurosci* 1999; 22:555-561.
34. Kelley AE, Berridge KC. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci* 2002; 22:3306-3311.
35. Lena C, Changeux JP. Allosteric nicotinic receptors, human pathologies. *J Physiol Paris* 1998; 92:63-74.
36. Leshner AI, Koob GF. Drugs of abuse and the brain. *Proc Assoc Am Physicians* 1999; 111:99-108.
37. Lester RA, Dani JA. Time-dependent changes in central nicotinic acetylcholine channel kinetics in excised patches. *Neuropharmacology* 1994; 33:27-34.
38. Li X, Rainnie DG, McCarley RW, Greene RE. Presynaptic nicotinic receptors facilitate monoaminergic transmission. *Journal of Neuroscience* 1998; 18:1904-1912.
39. Lindstrom J. Nicotinic acetylcholine receptors in health and disease. *Mol Neurobiol* 1997; 15:193-222.
40. Lindstrom J, Anand R, Gerzanich V, Peng X, Wang F, Wells G. Structure and function of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Prog Brain Res* 1996; 109:125-137.
41. Luetjje CW, Patrick J, Seguela P. Nicotinic receptors in the mammalian brain. *Faseb J* 1990; 4:2753-2760.
42. Mansvelter HD, McGehee DS. Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron* 2000; 27:349-357.
43. Marks MJ, Pauly JR, Gross SD, Deneris ES, Hermans-Borgmeyer I, Heinemann SF, Collins AC. Nicotine binding and nicotinic receptor subunit RNA after chronic nicotine treatment. *J Neurosci* 1992; 12:2765-2784.
44. Martin-Soelch C, Leenders KL, Chevalley AF, Missimer J, Kunig G, Magyar S, Mino A, Schultz W. Reward mechanisms in the brain and their role in dependence: evidence from neurophysiological and neuroimaging studies. *Brain Res Brain Res Rev* 2001; 36:139-149.
45. McGehee DS, Role LW. Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. *Annual Review of Physiology* 1995; 57:521-546.
46. 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.
47. McGinnis J, Foege W (1999) Mortality and morbidity attributable to use of addictive substances in the United States. *Proc Assoc Am Physicians* 111:109-118.
48. Merlo Pich E, Chiamulera C, Carboni L (1999) Molecular mechanisms of the positive reinforcing effect of nicotine. *Behav Pharmacol* 10:587-596.
49. Paterson D, Nordberg A. Neuronal nicotinic receptors in the human brain. *Prog Neurobiol* 2000; 61:75-111.
50. Pauly JR, Marks MJ, Robinson SF, van de Kamp JL, Collins AC. Chronic nicotine and mecamylamine treatment increase brain nicotinic receptor binding without changing $\alpha 4$ or $\beta 2$ mRNA levels. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278:361-369.
51. Peng X, Gerzanich V, Anand R, Whiting PJ, Lindstrom J (1994) Nicotine-induced increase in neuronal nicotinic receptors results from a decrease in the rate of receptor turnover. *Mol Pharmacol* 46:523-530.
52. Peng X, Gerzanich V, Anand R, Wang F, Lindstrom J. Chronic nicotine treatment up-regulates $\alpha 3$ and $\alpha 7$ acetylcholine receptor subtypes expressed by the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *Mol Pharmacol* 1997; 51:776-784.
53. Perry DC, Davila-Garcia MI, Stockmeier CA, Kellar KJ. Increased nicotinic receptors in brains from smokers: membrane binding and autoradiography studies. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289:1545-1552.
54. Pich EM, Pagliusi SR, Tessari M, Talbot-Ayer D, Hooft van Huijsduijnen R, Chiamulera C. Common neural substrates for the addictive properties of nicotine and cocaine. *Science* 1997; 275:83-86.
55. Pidoplichko VI, DeBiasi M, Williams JT, Dani JA. Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons. *Nature* 1997; 390:401-404.
56. Radcliffe KA, Dani JA. Nicotinic stimulation produces multiple forms of increased glutamatergic synaptic transmission. *J Neurosci* 1988; 18:7075-7083.
57. Radcliffe KA, Fisher JL, Gray R, Dani JA. Nicotinic modulation of glutamate and GABA synaptic transmission of hippocampal neurons. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 868:591-610.
58. Role LW, Berg DK. Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. *Neuron* 1996; 16:1077-1085.
59. Rose JE, Corrigan WA. Nicotine self-administration in animals and humans: similarities and differences. *Psychopharmacology (Berl)* 1997; 130:28-40.
60. Russell MA. Subjective and behavioural effects of nicotine in humans: some sources of individual variation. *Prog Brain Res* 1989; 79:289-302.
61. Sargent PB. The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Annual Review of Neuroscience* 1993; 16:403-443.
62. Schelling TC. Addictive drugs: the cigarette experience. *Science* 1992; 255:430-433.
63. Schuh KJ, Stitzer ML. Desire to smoke during spaced smoking intervals. *Psychopharmacology (Berl)* 1995; 120:289-295.
64. Stolerman IP, Shoab M. The neurobiology of tobacco addiction. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12:467-473.
65. Trauth JA, Seidler FJ, McCook EC, Slotkin TA. Adolescent nicotine exposure causes persistent upregulation of nicotinic cholinergic receptors in rat brain regions. *Brain Res* 1999; 851:9-19.
66. Wang F, Nelson ME, Kuryatov A, Olale F, Cooper J, Keyser K, Lindstrom J. Chronic nicotine treatment up-regulates human $\alpha 3\beta 2$ but not $\alpha 3\beta 4$ acetylcholine receptors stably transfected in human embryonic kidney cells. *J Biol Chem* 1998; 273:28721-28732.
67. Wise RA, Bozarth MA. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev* 1987; 94:469-492.
68. Wonnacott S. The paradox of nicotinic acetylcholine receptor upregulation by nicotine. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11:216-219.
69. Wonnacott S. Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends Neurosci* 1997; 20:92-98.
70. Wonnacott S, Drasdo A, Sanderson E, Rowell P. Presynaptic nicotinic receptors and the modulation of transmitter release. *Ciba Found Symp* 1990; 152:87-101.
71. Yates SL, Bencherif M, Fluhler EN, Lippello PM. Up-regulation of nicotinic acetylcholine receptors following chronic exposure of rats to mainstream cigarette smoke or $\alpha 4\beta 2$ receptors to nicotine. *Biochem Pharmacol* 1995; 50:2001-2008.
72. De Biasi M. Nicotinic mechanisms in the autonomic control of organ systems. *J Neurobiol* 2002; In press.