

БІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ВЗАЄМОДІЇ НІКОТИНУ З КЛІТИНАМИ

Т. В. Богданова^{1,2}, Я. М. Шуба², А. А. Катасонов¹

¹ Навчально-науковий Фізико-технічний інститут

² Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Анотація

У статті розглянуто молекулярні механізми дії нікотину на клітинному рівні. Проаналізовано хімічну природу нікотину, його здатність взаємодіяти з нікотиновими ацетилхоліновими рецепторами (nAChR) та впливати на сигнальні шляхи клітин. Особливу увагу приділено впливу нікотину на кальцієвий гомеостаз, ангіогенез, імунну відповідь та прогресування ракових захворювань. Матеріал базується на міждисциплінарному аналізі літературних джерел із біохімії, нейрофізіології та молекулярної біології.

Ключові слова: нікотин, клітина, рецептори, кальцій, сигнальні шляхи, ЕМТ, ангіогенез, рак, nAChR.

Вступ

Нікотин є однією з найпоширеніших психоактивних речовин. Його вплив на організм людини вивчається в контексті формування залежності, розвитку серцево-судинних, онкологічних та імунних порушень [1]. Висока проникність через біомембрани, взаємодія з рецепторами та активація внутрішньоклітинних каскадів робить його дію надзвичайно складною і багаторівневою. Метою роботи є висвітлення основних механізмів дії нікотину на клітинному рівні [2].

1. Фізико-хімічні властивості нікотину

1.1. Хімічна структура та ліпофільність

Нікотин $C_{10}H_{14}N_2$ — це алкалоїд, що містить два атоми азоту і трапляється у високих концентраціях (до 3%) у висушеному листі тютюну (*Nicotiana tabacum*). У різновидах тютюну, таких як *Nicotiana rustica* («ацтекський тютюн»), вміст нікотину може сягати навіть 14% [3].

На молекулярному рівні нікотин є унікальним завдяки наявності двох гетероциклічних фрагментів — піридинового (ароматична шестичленна структура з одним атомом азоту) та піролідинового кільця (насичене п'ятичленне кільце з азотом). Саме він є основним компонентом тютюну, і відіграє головну роль у формуванні тютюнової залежності, яка є важливим фактором розвитку онкологічних та інших хронічних захворювань [2].

Наявність двох азотистих центрів обумовлює здатність нікотину до протонування залежно від рН середовища. Зокрема, піролідиновий азот має $pK_a \approx 8.0$, при рН ≈ 7.4 , тому в умовах фізіологічного рН (7,4) значна частина нікотину перебуває в протоні-

ваній формі. Це суттєво впливає на ліпофільність молекули та її здатність проникати крізь біомембрани, включаючи гематоенцефалічний бар'єр.

Таке поєднання структурних і електронних властивостей забезпечує високу біологічну активність нікотину. Завдяки наявності ароматичної системи (піридин) і ліпофільного каркаса, він легко зв'язується з нікотиновими ацетилхоліновими рецепторами (nAChR), імітуючи дію ендогенного медіатора ацетилхоліну.

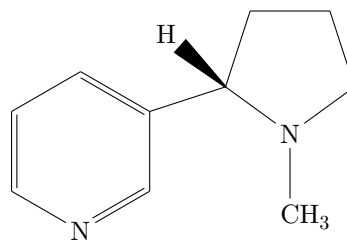


Рис. 1. Хімічна структура молекули нікотину

1.2. Мембранна проникність: іонізація, дифузія та рН-залежність

Нікотин утворюється при горінні тютюну та транспортується у вигляді дрібних крапель дьогтю (так званих твердих частинок), які потрапляють в організм під час дихання. Його абсорбція крізь біологічні мембрани значною мірою залежить від рН середовища. Нікотин є слабкою основою з $pK_a \approx 8.0$. Іонізація нікотину визначається співвідношенням між рН середовища та його pK_a : при рН нижчому за 8.0 переважає протонувана (заряджена) форма, тоді як при більш лужному рН — нейтральна (неіонізована). Саме неіонізована форма легко дифундує крізь ліпідні мембрани, тоді як заряджена — затримується.

Тому в кислому середовищі проникність нікотину значно зменшується [3].

Дим від тютюну, обробленого гарячим повітрям (flue-cured tobacco), що міститься в більшості сигарет, має кислий рН (5.5–6.0). При такому рН основна частина нікотину перебуває у зарядженій формі, тому всмоктування через слизову рота майже не відбувається, навіть якщо дим затримується в порожнині рота.

Натомість тютюн, висушений на повітрі (air-cured tobacco), який переважає в сигарах, трубках та деяких європейських сигаретах, має лужний рН (6.5 і вище). У таких умовах більшість нікотину перебуває в неіонізованій формі, що забезпечує ефективне всмоктування через слизову оболонку ротової порожнини.

1.3. Взаємодія з nAChR: енергетика та молекулярна динаміка

Нейротрансмітери — це хімічні речовини, які передають, посилюють і модулюють сигнали між нейронами, а також між нейронами й м'язами або залозами. Вони є ключовими елементами функціонування нервової системи, забезпечуючи передачу інформації в синапсах — спеціалізованих структурах, що з'єднують нервові клітини між собою.

Процес міжклітинної сигналізації починається в пресинаптичній мембрані: електричний сигнал (потенціал дії) стимулює вивільнення нейротрансмітера в синаптичну щілину. Потім молекули нейротрансмітера зв'язуються з рецепторами на постсинаптичній мембрані, ініціюючи або пригнічуючи активацію наступного нейрона.

Однією з найважливіших мішеней для нейротрансмітерів є *нікотинові ацетилхолінові рецептори* (nAChR) — ліганд-залежні іонні канали, які беруть участь у передачі сигналів як у центральній, так і в периферичній нервовій системах. Вони складаються з п'яти субодиниць, що формують іонопровідну пору. Найпоширеніші варіанти — це $\alpha 4\beta 2$ і $\alpha 7$, які відіграють провідну роль у формуванні нікотинової залежності та модуляції кальцієвого потоку.

Взаємодія нікотину з nAChR має характер специфічного нековалентного зв'язування, яке базується на комбінації електростатичних, гідрофобних та π - π стекінг-взаємодій. Молекула нікотину, що включає піридинове та піролідинове кільця, утворює водневі зв'язки з амінокислотами ліганд-зв'язувального домену рецептора, а також взаємодіє з ароматичними залишками (триптофан, тирозин) [4, 5]. Для рецепторів типу $\alpha 4\beta 2$ характерна висока спорідненість до нікотину ($K_D \approx 1$ нМ), у той час як $\alpha 7$ -рецептори мають нижчу спорідненість, але вищу проникність до кальцію [6, 7].

Енергія зв'язування нікотину з nAChR варіюється від –6 до –9 ккал/моль, що є типовим для біологічно активних ліганд-рецепторних комплексів. Така спорідненість зумовлена геометрією та електронною комплементарністю активного центру рецептора до молекули нікотину і забезпечує зворотне, але ста-

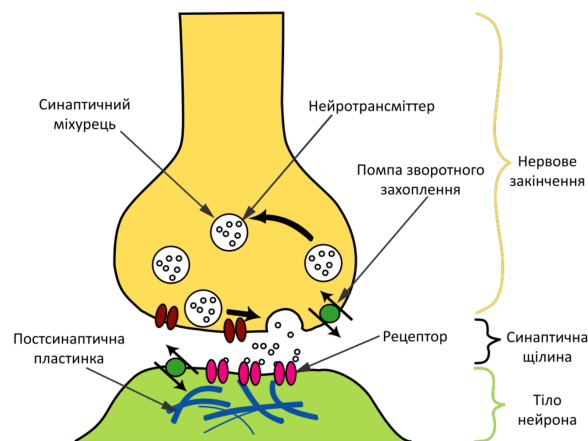


Рис. 2. Будова та функція хімічного синапсу: вивільнення нейромедіатора, зв'язування з рецептором та зворотне захоплення.

більне формування комплексу, достатнє для ініціації клітинної відповіді.

Нікотин — це ліпофільна молекула з невеликою молекулярною масою та $pK_a \approx 8.0$. Його проникнення крізь біологічні мембрани здійснюється шляхом пасивної дифузії й залежить від іонізаційного стану. При $pH > 8.0$ переважає неіонізована форма нікотину, яка вільно проходить через ліпідні бішари; у кислому середовищі ($pH < 6.0$) — іонізована форма, що обмежує проникність.

Це має значення як для інгаляційної, так і для трансдермальної абсорбції. Наприклад, дим сигарет на основі flue-cured тютюну має кислий рН (5.5–6.0), що зменшує проникнення нікотину через слизову рота. Натомість сигари й трубковий тютюн (air-cured) мають більш лужний рН, що сприяє всмоктуванню. Аналогічно, при трансдермальному введенні (через шкіру) нікотин також виявляє рН-залежну проникність: при рН вище pK_a його дифузія значно ефективніша. Саме тому нікотинові пластирі використовують як контрольовані системи доставки, що забезпечують поступове вивільнення й абсорбцію.

2. Біофізичні механізми клітинної дії

2.1. Електрофізіологія іонного струму через nAChR

Нікотинові ацетилхолінові рецептори (nAChR) належать до родини ліганд-регульованих іонних каналів. Після зв'язування нікотину з активним центром рецептора відбувається конформаційна перебудова білка, що відкриває центральний поровий канал. Цей канал є неспецифічним до катіонів і пропускає переважно Na^+ , K^+ та Ca^{2+} , залежно від підтипу рецептора.

Підтипи рецепторів відрізняються за іонною провідністю. Наприклад, $\alpha 4\beta 2$ має високу спорідненість до нікотину та переважно проводить Na^+ , тоді як $\alpha 7$ характеризується високою проникністю до Ca^{2+} (до 10–12% від загального струму). Завдяки цьому $\alpha 7$ -nAChR відіграє ключову роль у запуску кальціє-

вих сигналів, активації транскрипційних факторів і регуляції клітинної проліферації [6].

З електрофізіологічної точки зору, струм через *nAChR* описується як швидкий, ліганд-активованій катіонний потік. При фіксованому мембранному потенціалі (метод voltage clamp) спостерігається типовий характер струму: швидке відкриття каналу з подальшою десенситизацією протягом 10–100 мс. Така динаміка вивчається за допомогою методу patch-clamp, який дозволяє оцінювати амплітуду, час відкриття каналу та ймовірність його активного стану [7].

Для кількісного опису струму використовуються класичні фізичні моделі. Рівноважний потенціал іона визначається згідно з рівнянням Нернста:

$$E_{\text{ion}} = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[\text{ion}]_{\text{out}}}{[\text{ion}]_{\text{in}}} \right)$$

де R – газова стала, T – абсолютна температура, z – заряд іона, F – стала Фарадея.

Для складніших випадків із кількома іонами застосовується рівняння Гольдмана-Годжкіна-Катца (GHK), що дозволяє моделювати струм у залежності від мембранного потенціалу [8].

Таким чином, *nAChR* функціонують як електрично активні трансмембранні модулі, що поєднують в собі властивості рецепторів, іонних каналів та тригерів клітинної сигналізації.

2.2 Кальцієвий гомеостаз і хвильові сигнали (CICR, IP₃, VDCC)

Кальцій (Ca^{2+}) є універсальним вторинним месенджером, що регулює широкий спектр клітинних процесів: скорочення м'язів, секрецію, метаболізм, проліферацію, апоптоз. Підтримка низької концентрації Ca^{2+} у цитозолі (приблизно 100 нМ) є критичною для клітинної стабільності та досягається завдяки буферним білкам, кальцієвим насосам, а також активному транспорту до ендоплазматичного ретикулу (ER) та мітохондрій [9].

Одним із ключових механізмів регуляції є вивільнення кальцію, індуковане кальцієм (CICR). Невелике підвищення рівня Ca^{2+} у цитоплазмі активує ріанодинові рецептори (RyR) на ER, що призводить до лавиноподібного вивільнення кальцію з депо. Це створює кальцієві "іскри" або хвилі, які поширюються по клітині, забезпечуючи сигнал на великій відстані.

Інший важливий механізм – IP₃-залежне вивільнення кальцію. Активація рецепторів, зв'язаних із фосфоліпазою C, призводить до синтезу інозитол-1,4,5-трифосфату (IP₃), який взаємодіє з відповідними рецепторами на ER і спричиняє вихід Ca^{2+} у цитозоль [10].

Крім цього, напружено-залежні кальцієві канали (VDCC) на плазматичній мембрані забезпечують вхід Ca^{2+} у відповідь на деполяризацію. У збудливих клітинах це часто запускає CICR, посилюючи сигнал.

Таким чином, CICR, IP₃-залежне вивільнення та VDCC формують взаємопов'язану систему, що створює просторово-часову динаміку кальцієвих хвиль. Такі хвилі можуть мати стохастичний або періодичний характер і забезпечують точну регуляцію клітинної поведінки. Порушення кальцієвого гомеостазу пов'язуються з численними патологічними станами, включаючи нейродегенерацію, аритмії та рак [11].

3. Прикладна біофізика патологічних змін

3.1. Роль кальцію та ROS у трансформації клітин

Кальцій (Ca^{2+}) та активні форми кисню (ROS) утворюють взаємозалежну сигнальну мережу, яка відіграє ключову роль у регуляції клітинної поведінки, зокрема у процесах проліферації, апоптозу та метастазування. У нормальних клітинах короточасні коливання рівнів Ca^{2+} та ROS координують фізіологічні сигнали. Проте в пухлинних клітинах цей баланс часто порушується, що призводить до стійкості до апоптозу та сприяє злоякісній трансформації.

ROS можуть модифікувати активність кальцієвих каналів, таких як IP₃R, SERCA, TRP та ORAI, шляхом окислення сульфгідрильних груп, що впливає на транспортування Ca^{2+} між ендоплазматичним ретикулом, мітохондріями та цитозолем. Зі свого боку, підвищення рівня Ca^{2+} активує ферменти, такі як NADPH-оксидази (NOX), що посилює продукцію ROS, створюючи позитивний зворотний зв'язок.

У ракових клітинах спостерігається пригнічення великих коливань Ca^{2+} /ROS, які зазвичай ініціюють апоптоз, та активація сублетальних локальних сигналів, що підтримують проліферацію, міграцію та епітеліально-мезенхімальний перехід (EMT). Наприклад, ROS можуть активувати кальцієві канали TRPM7 та TRPV1, сприяючи інвазивності клітин, тоді як Ca^{2+} може стимулювати мітохондріальну продукцію ROS, що підтримує метастатичний потенціал.

Цей взаємозв'язок також впливає на пухлинне мікросередовище, сприяючи ангіогенезу, імунній толерантності та стійкості до терапії. Розуміння механізмів взаємодії Ca^{2+} та ROS відкриває нові можливості для таргетної терапії, спрямованої на відновлення апоптотичних шляхів у пухлинних клітинах.

4. Висновок

Нікотин є біологічно активною сполукою, здатною глибоко модифікувати клітинну функцію шляхом активації нікотинових ацетилхолінових рецепторів (nAChR). Його дія охоплює широкий спектр внутрішньоклітинних процесів, включаючи активацію сигнальних шляхів PI3K/Akt та MAPK/ERK, порушення кальцієвого гомеостазу, індукцію ангіогенезу та стимуляцію епітеліально-мезенхімального переходу (EMT). Такі механізми сприяють виживанню клітин, проліферації, інвазивності та формуванню

мікросередовища, сприятливого для пухлинного росту [12].

Клітинна дія нікотину виходить далеко за межі формування залежності, відіграючи ключову роль у патогенезі хронічних захворювань, онкологічних процесів та імунної дисрегуляції. Розуміння цих молекулярних механізмів є важливою передумовою для розробки нових терапевтичних стратегій, профілактичних програм та підходів до лікування ніотинової залежності [1].

Перелік використаних джерел

1. Benowitz N. L., Burbank A. D. Pharmacology of nicotine: addiction, smoking-induced disease, and therapeutics // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. — 2011. — Т. 51. — С. 57—71. — URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2953858/>.
2. Yildiz D. Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects // *Toxicology*. — 2004. — Т. 193, № 3. — С. 259—282. — DOI: [10.1016/j.tox.2004.06.011](https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.06.011). — URL: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.06.011>.
3. Benowitz N. L., Hukkanen J., Jacob P. I. Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers // *Handbook of Experimental Pharmacology*. Т. 192 / за ред. J. E. Henningfield, E. D. London, S. Pogun. — Springer, 2010. — С. 29—60. — DOI: [10.1007/978-3-540-69248-5_2](https://doi.org/10.1007/978-3-540-69248-5_2). — URL: https://doi.org/10.1007/978-3-540-69248-5_2.
4. Molecular recognition of nicotine and its analogs by neuronal nicotinic acetylcholine receptors / G. R. Abdrakhmanova, C. M. Kosinski, C. Lachmann, M. M. Nothen, J. F. Neumaier, B. Ullrich // *Neuropharmacology*. — 2006. — Т. 50, № 6. — С. 757—768. — DOI: [10.1016/j.neuropharm.2005.11.018](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.11.018). — URL: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.11.018>.
5. Nicotine binding to brain receptors requires a strong cation- π interaction / X. Xiu, N. L. Puskar, J. A. P. Shanata, H. A. Lester, D. A. Dougherty // *Nature*. — 2009. — Т. 458, № 7237. — С. 534—537. — DOI: [10.1038/nature07768](https://doi.org/10.1038/nature07768). — URL: <https://doi.org/10.1038/nature07768>.
6. Shen J.-X., Yakel J. L. Nicotinic acetylcholine receptor-mediated calcium signaling in the nervous system // *Frontiers in Human Neuroscience*. — 2009. — Т. 3. — С. 34. — DOI: [10.3389/neuro.09.034.2009](https://doi.org/10.3389/neuro.09.034.2009). — URL: <https://doi.org/10.3389/neuro.09.034.2009>.
7. Electrophysiology of Nicotinic Receptors / E. X. Albuquerque, E. F. R. Pereira, M. Alkondon, S. W. Rogers // *The Nicotinic Acetylcholine Receptor: Current Views and Future Trends*. — Academic Press, 1993. — С. 327—384. — DOI: [10.1016/B978-0-12-185287-0.50013-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-185287-0.50013-2). — URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-185287-0.50013-2>.
8. Activation and regulation of store-operated calcium entry / J. T. Smyth, S. Y. Hwang, T. Tomita, W. I. DeHaven, J. C. Mercer, J. W. J. Putney // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. — 2010. — Т. 14, № 10. — С. 2337—2349. — DOI: [10.1111/j.1582-4934.2010.01166.x](https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01166.x). — URL: <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01166.x>.
9. Berridge M. J., Bootman M. D., Roderick H. L. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. — 2003. — Т. 4, № 7. — С. 517—529. — DOI: [10.1038/nrm1155](https://doi.org/10.1038/nrm1155). — URL: <https://doi.org/10.1038/nrm1155>.
10. Putney J. W. J. A model for receptor-regulated calcium entry // *Cell Calcium*. — 1986. — Т. 7, № 1. — С. 1—12. — DOI: [10.1016/0143-4160\(86\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0143-4160(86)90026-6). — URL: [https://doi.org/10.1016/0143-4160\(86\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0143-4160(86)90026-6).
11. Calcium and ROS: A mutual interplay / A. Görlach, K. Bertram, S. Hudecova, O. Krizanovna // *Redox Biology*. — 2015. — Т. 6. — С. 260—271. — DOI: [10.1016/j.redox.2015.08.006](https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.006). — URL: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.006>.
12. Benowitz N. L. Pharmacology of Nicotine: Addiction, Smoking-Induced Disease, and Therapeutics // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. — 2010. — Т. 49. — С. 57—71. — DOI: [10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094742](https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094742). — URL: <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094742>.