

К 40-ЛЕТИЮ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА КАЗАНСКОГО ГМУ¹

УДК 615.015.44: 615.275: 615.036.8: 615.017: 612.014.1

P2-РЕЦЕПТОРЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ БУДУЩИХ ЛЕКАРСТВ

*Айрат Усманович Зиганшин**

Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия

Поступила 02.12.2015; принята к печати 10.12.2015.

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2016-135

В настоящее время общепризнано, что внеклеточная аденозинтрифосфорная кислота (АТФ) наряду с некоторыми другими пуриновыми и пиримидиновыми соединениями способна регулировать многие внутриклеточные процессы посредством влияния на специфические рецепторы для них – P2-рецепторы. Эти рецепторы широко распространены в органах и тканях человека и животных. Показано, что P2-рецепторы участвуют в поддержании сосудистого тонуса, модуляции нервной передачи, регуляции гемостаза и функций многих внутренних органов. Большое разнообразие и широкая представленность P2-рецепторов делает их очень привлекательными в качестве потенциальных мишеней новых лекарственных препаратов с оригинальным механизмом действия. В Казанском государственном медицинском университете около 20 лет назад была создана лаборатория, и образовалась научная группа по изучению фундаментальных и прикладных аспектов функционирования P2-рецепторов. Руководит этой группой профессор А.У. Зиганшин, ученик и соратник профессора Дж. Бернстока. В данной работе дан обзор исследований, выполненных автором или под его руководством за последние два десятилетия, по изучению физиологической и патофизиологической роли P2-рецепторов в организме человека и животных, а также оценке этих рецепторов в качестве потенциальных мишеней действия новых лекарственных средств. В частности, описаны работы по поиску новых эффективных антагонистов P2-рецепторов, описана роль и дана характеристика экто-АТФаза в различных тканях, дан обзор исследований по оценке уникальной сверхчувствительности P2-рецепторов при низкой температуре. Кроме того, представлены в краткой форме исследования по оценке наличия и функциональной роли P2-рецепторов в беременной матке человека, воспалённых маточных трубах, различных кровеносных сосудах. Очевидно, что в связи с ростом заинтересованности к этой области многих фармацевтических компаний уже в ближайшем будущем можно ожидать появления новых лекарственных препаратов, являющихся агонистами или антагонистами P2-рецепторов, которые будут эффективны при лечении различных заболеваний человека.

Ключевые слова: P2-рецепторы, P2X-рецепторы, P2Y-рецепторы, АТФ, PPADS.

P2-RECEPTORS AS PROMISING TARGET FOR FUTURE DRUGS

A.U. Ziganshin

Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Now it is recognized that extracellular adenosine triphosphate (ATP), along with certain other purine and pyrimidine compounds is capable to regulate many intracellular processes by affecting specific receptors – P2-receptors. These receptors are widely distributed in the organs and tissues of humans and animals. It has been shown that P2-receptors are involved in the vascular tone maintenance, nerve transmission modulation, hemostasis regulation and functions of many internal organs. P2-receptors wide variety and broad representation makes them very attractive as potential targets for new drugs with the original mechanism of action. About 20 years ago in the Kazan State Medical University laboratory was created and research group on studying the fundamental and applied aspects of the P2-receptors was formed. Professor A.U. Ziganshin, a disciple and colleague of professor G. Burnstock, leads this group. In this article, an overview of research carried out by the author or under his supervision over the past two decades to study the physiological and pathophysiological role of P2-receptors in humans and animals, as well as the evaluation of these receptors as potential targets for action of new drugs, is given. In particular, it describes the work to identify new and effective P2-receptors antagonists, the role and characteristics of ecto-ATPase activity in different tissues are described, an overview of studies to assess the unique hypersensitivity of P2-receptors at low temperatures is given. Also studies on assessing the presence and functional role of P2-receptors in the pregnant human uterus, inflamed fallopian tubes, various blood vessels are presented in summary form. Obviously, due to the growing interest of many pharmaceutical companies to this area, in the near future we can expect new drugs, which are P2-receptors agonists or antagonists and are effective in treatment of various human diseases.

Keywords: P2-receptors, P2X-receptors, P2Y-receptors, ATP, PPADS.

В настоящее время не вызывает сомнений, что аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), помимо общеизвестной роли в качестве внутриклеточного аккумулятора энергии, служит важным нейромедиатором в периферической и центральной нервной системах. Впервые гипотезу о медиаторной роли АТФ высказал в начале 70-х годов

прошлого века профессор Geoffrey Burnstock [30]. Им было показано, что АТФ, наряду с некоторыми другими пуриновыми соединениями, способна регулировать многие внутриклеточные процессы посредством влияния на специфические рецепторы. Эти рецепторы сначала были названы P2-пуринорецепторами, а в настоящее время

Адрес для переписки: auziganshin@gmail.com

¹ Все статьи данного раздела – доклады, сделанные на конференции, посвящённой 40-летию фармацевтического факультета Казанского государственного медицинского университета (г. Казань, 18 ноября 2015 г.).

их обозначают как P2-рецепторы, поскольку лигандами для них могут быть не только пуриновые, но и пиримидиновые производные.

По современной классификации P2-рецепторы делят на два больших класса. P2X-рецепторы являются лиганд-оперирующими ионными каналами, регулируют вход в клетку ионов натрия, калия и кальция [29]. P2Y-рецепторы – типичные метаболитные G-протеин-опосредованные рецепторы [28].

P2-рецепторы широко распространены в органах и тканях животных [31]. Показано, что P2-рецепторы участвуют в поддержании сосудистого тонуса, модуляции нервной передачи, регуляции гемостаза и функций многих внутренних органов [9, 19]. Большое разнообразие и широкая представленность P2-рецепторов делают их очень привлекательными в качестве потенциальных мишеней новых лекарственных препаратов с оригинальным механизмом действия.

До 90-х годов прошлого столетия многие исследователи весьма скептически относились к идее существования P2-рецепторов, поскольку длительное время не удавалось их клонировать, а кроме того, отсутствовали эффективные и селективные антагонисты этих рецепторов.

Многие лаборатории были заняты поиском новых антагонистов P2-рецепторов, и истинным прорывом в этой области стало появление вещества пиридоксальфосфат-азофенил-дисульфоновой кислоты (PPADS), в создании которого участвовала и наша лаборатория, и которое является одним из эталонных анализаторов в настоящее время. Синтезировано и первично изучено было соединение в университете Франкфурта-на-Майне под руководством профессора Г. Ламбрехта [34], а затем стало предметом наших исследований. Проведя анализ действия соединения на нескольких тканях животных, мы выявили хороший антагонизм PPADS по отношению к P2X-рецептор-опосредуемым процессам.

Мы установили, что на изолированных тканях мочевого пузыря кролика PPADS (1–30 мкМ) угнетал сократительные ответы, вызванные агонистом P2X-рецепторов α,β -метилена-АТФ и стимуляцией электрическим полем в присутствии блокаторов холино- и адренорецепторов. PPADS вызывал концентрационно-зависимое угнетение P2X-рецептор-опосредованных сокращений, сдвигая кривые концентрация-ответ и частота-ответ вправо [37].

Аналогичные результаты были получены нами на центральной артерии уха и бедренной артерии кролика, где PPADS также концентрационно-зависимо угнетал P2X-рецептор-опосредованные сокращения как на экзогенный агонист, так и на пуринергическую нервную стимуляцию. Важно подчеркнуть, что PPADS существенно не влиял на сократительные ответы изолированных артерий кролика, вызванные норадреналином или гистамином [39].

В концентрациях 1–10 мкМ PPADS существенно не влиял на P2Y-рецептор-опосредованное рас-

слабление аорты кролика, однако в наивысшей из исследованных нами концентраций (30 мкМ) PPADS ненамного, но достоверно угнетал эти ответы [39].

В последующем нами было показано, что высокие концентрации PPADS угнетают расслабления продольного тяжа слепой кишки морской свинки, вызванные АТФ и опосредуемые P2Y-рецепторами [35].

Таким образом, мы установили, что PPADS является эффективным антагонистом P2-рецепторов, проявляющим хорошую селективность по отношению к P2X-рецепторам в концентрациях до 10 мкМ. Было очевидно, однако, что он – не селективный антагонист, что стимулировало поиск лучшего соединения среди его производных.

Нам был проведён анализ эффективности и селективности антагонистического действия 26 новых производных PPADS. Эти соединения были синтезированы в химической лаборатории Национального института диабета, заболеваний кишечника и почек (Бетезда, США) под руководством профессора К. Джакобсона.

Каждое из соединений было оценено, по крайней мере, на двух различных тканях, имеющих P2X-рецепторы, и на одной ткани, имеющей P2Y-рецепторы. Кроме того, наиболее эффективные соединения были оценены на способность угнетать ответы, опосредуемые холино-, адрено- и гистаминорецепторами.

На основании полученных результатов исследований был проведён анализ зависимости P2-рецепторной активности от химической структуры соединений, который позволил сделать следующие заключения [13, 23]:

1) наличие и положение хлорного радикала, а также наличие карбоксильного радикала у фенильного кольца существенно не отражаются на активности изученных соединений по отношению к P2-рецепторам;

2) наличие более чем одного сульфониевого радикала в фенильном или нафтильном кольце молекулы является наиболее важным для проявления соединением антагонистических свойств по отношению к P2X-рецепторам.

Недавними исследованиями мы продолжили это направление. Нам для изучения были предоставлены структурные аналоги PPADS, имеющие модификации не в фенильном кольце, а в перидоксальевом фрагменте. Эти соединения были синтезированы в Казанском (Приволжском) федеральном университете под руководством Ю.Г. Штырлина.

Мы установили, что на тканях мочевого пузыря и семявыносящего протока крыс все исследованные соединения в большей или меньшей мере влияли на P2-рецептор-опосредованные процессы, но только соединение 2С оказалось сопоставимым по своему антагонизму с PPADS. Важно подчеркнуть, что в отличие от PPADS, соединение 2С не угнетало расслабления двенадцатиперстной кишки крысы, опосредованные P2Y-рецепторами [42].

Таким образом, соединение 2С проявило большую селективность по отношению к P2X-рецепторам по сравнению с PPADS. Мы намерены продолжить исследования по этому соединению, дать более подробную его характеристику.

В заключение этого фрагмента нужно сказать, что PPADS в настоящее время широко используется как эффективный антагонист P2-рецепторов и синтезируется в коммерческих масштабах такими крупными химическими компаниями, как Sigma-Aldridg, RBI, Tocris Cookson, в каталогах которых есть ссылки на наши работы.

Одним из важнейших вопросов функционирования P2-рецепторов долгое время оставался вопрос о том, как удаляется медиатор (АТФ) из синапса. Предполагали, что в этом может участвовать экто-АТФаза, мембранный фермент, активный участок которого обращён кнаружи клетки, но исследований в этом направлении было явно недостаточно [20, 38].

Проведёнными нами исследованиями установлена такая роль в нескольких тканях, содержащих P2-рецепторы, дана характеристика этого фермента [18, 40]. Было показано, что многие соединения, в том числе антагонисты P2-рецепторов, угнетают активность фермента и тем самым маскируют истинную активность агонистов, подвергающихся ферментативному распаду [36, 41]. Кроме того, была разработана экспериментальная модель на основе овоцитов лягушек *Xenopus* для быстрой оценки влияния новых соединений на активность экто-АТФаз [52–54].

Одна из интересных особенностей функционирования P2-рецепторов — обнаруженная нами уникальная температурная чувствительность.

Было установлено, что P2-рецепторопосредованные ответы проявляются в большей степени при низкой, чем при нормальной или повышенной температуре. Сначала этот эффект был обнаружен нами совершенно случайно на тканях теплокровных животных [21, 22, 46], а в последующем уже прицельно — и в тканях лягушек [43].

Недавно мы продолжили эти исследования на скелетных мышцах крысы. Установлено, что так же, как и в скелетных мышцах холоднокровных, при физиологической температуре АТФ оказывает ингибирующее действие на высвобождение ацетилхолина из нервных клеток. Однако при снижении температуры этот эффект АТФ постепенно уменьшается, полностью исчезая при температуре 14 °С.

В другой серии экспериментов, когда вызывали сокращения мышцы добавлением карбахола, АТФ не влияла на это при физиологической температуре, но существенно увеличивала эффект при низких температурах. В обоих случаях действие АТФ снималось неселективным антагонистом P2-рецепторов сураминол, что свидетельствует о вовлечённости P2-рецепторов в данный процесс [44].

Исследования по температурной зависимости согласуются с одной из гипотез профессора

Бернстока о том, что на ранних этапах эволюционного развития организмов (у холоднокровных) АТФ, возможно, играла двоякую роль — и как источник энергии, и как сигнальная молекула для передачи информации посредством P2-рецепторов. На последующих этапах эволюции стали появляться другие, более специфические сигнальные молекулы, и роль АТФ и P2-рецепторов стала уменьшаться.

В следующей серии экспериментов мы исследовали роль P2-рецепторов в скелетных мышцах холоднокровных и теплокровных животных [3]. Мы установили, что АТФ по-разному влияет на некантовую секрецию медиатора и сократительную активность фазных и тонических скелетных мышц крысы [6, 33]. В недавних исследованиях мы показали, что АТФ в мионевральных синапсах теплокровных обладает выраженным постсинаптическим эффектом, часто противоположным тому, который она оказывает в нервном окончании [4, 5].

Далее речь пойдёт об исследованиях, общая тематика которых может быть обозначена следующим образом: комплексные исследования P2-рецепторопосредуемых ответов в различных тканях человека с целью выявления значимости этих ответов в физиологических условиях, в развитии различных патологических процессов, а также как возможных мишеней действия новых лекарственных веществ.

Представление этого фрагмента удобно начать с напоминания о том, что АТФ как лекарство была внедрена в клиническую практику более 50 лет назад. Её применяли при ишемической болезни сердца, для облегчения родоразрешения, при заболеваниях периферических сосудов, хотя эффект препарата был очень нестабилен. При этом большинство врачей считали, что терапевтические эффекты препарата возникают в результате повышения энергетического потенциала клетки за счёт привносимой энергии АТФ. Однако совершенно очевидно, что АТФ, являясь высокозаряженной молекулой, не может пройти мембрану клетки в неизменном виде и не может принести туда энергию. Так как же она действует? Ответ, который становился всё более очевидным, — через P2-рецепторы.

К началу наших исследований в этой области уже были выявлены P2-рецепторы в матке нескольких экспериментальных животных, однако о наличии P2-рецепторов в матке человека ничего не было известно.

Материалом исследования служили образцы миометрия, полученные во время плановых операций кесарева сечения или при удалении матки по различным показаниям.

Нами впервые показано, что изолированные полоски беременной матки человека отвечают фазными сокращениями в ответ на внесение в среду агониста P2-рецепторов АТФ, хотя на мышечных препаратах небеременной матки никаких сократительных ответов мы не выявили [14]. Далее мы установили, что, аналогично АТФ, и

другие агонисты P2-рецепторов на препаратах миометрия беременных также вызывают концентрационно-зависимые сокращения [15].

Стимуляция изолированных препаратов беременной миометрия человека электрическими импульсами в присутствии атропина и фентоламина вызывает зависимые от частоты стимуляций сокращения, тогда как в небеременной миометрии такого не происходило [49]. Добавление в среду антагониста P2-рецепторов PPADS достоверно угнетало сократительные ответы беременной матки, вызванные α, β -меАТФ.

Таким образом, в фармакологических исследованиях мы выявили сократительные ответы изолированной беременной матки в ответ на действие агонистов P2-рецепторов и пуринергической нервной стимуляции и снижение этих сокращений под действием P2-антагониста. На этом основании нами было сделано предположение, что на поздних сроках беременности в матке человека появляются P2-рецепторы, которые отсутствуют в небеременной матке.

Далее мы попытались выяснить зависимость экспрессии P2-рецепторов в матке человека со сроком беременности. С учётом этических ограничений, накладывающихся на наш интерес, было установлено, что, начиная с 26-й недели беременности, в миометрии выявляются сократительные ответы на агонисты P2-рецепторов, и сила этих ответов нарастает со сроком беременности, становясь максимальной в близкий к родам период [48]. Вероятно, что в этом есть физиологический смысл — для усиления сократительной активности матки в родах.

В следующей серии экспериментов мы проанализировали взаимоотношение АТФ с некоторыми средствами, стимулирующими сократительную активность матки [11]. Наиболее показательными оказались результаты с простагландином $F_{2\alpha}$.

Мы установили, что низкие концентрации АТФ (0,1–1 мкМ), которые сами не вызывают сокращений изолированного беременной миометрия, значительно усиливают сокращения, вызываемые простагландином $F_{2\alpha}$ [50].

С разрешения локального этического комитета мы провели пилотное исследование подобного взаимоотношения в клинических условиях на роженицах. В результате установлено, что внутривенное капельное введение АТФ достоверно усиливает родостимулирующую простагландином и ускоряет подготовку родовых путей — время от начала родоусиления простагландином $F_{2\alpha}$ до появления схваток или полного открытия маточного зева короче в группе женщин, которым наряду с простагландином вводили АТФ [50].

Таким образом, в этих исследованиях мы впервые установили следующее [16].

1. В беременной матке человека регистрируются P2-рецептор-опосредованные сократительные ответы, которые нарастают со сроком беременности.

2. Малые концентрации АТФ потенцируют

сократительную активность беременной матки, вызванную простагландином $F_{2\alpha}$ как *in vitro*, так и *in vivo*.

Следующим объектом исследований стали маточные трубы человека, которые получали во время плановых гинекологических операций. Было установлено, что изолированные маточные трубы человека повышают свою спонтанную механическую активность в присутствии АТФ и других агонистов P2-рецепторов [1, 2]. Далее оказалось, что маточные трубы женщин более старшего возраста имеют достоверно большую чувствительность к действию АТФ, чем маточные трубы женщин более молодого возраста [1]. Повышенная сократительная активность в ответ на АТФ была установлена также в маточных трубах, имеющих острый воспалительный процесс в них (сальпингиты), по сравнению с таковыми без воспаления [47].

Известно, что именно в маточных трубах происходят встреча сперматозоида с яйцеклеткой и её оплодотворение, поэтому повышенная механическая активность маточных труб при воспалении может лежать в основе бесплодия таких женщин. С этих позиций блокада P2-рецепторов маточных труб специфическими антагонистами может быть важным компонентом комплексного лечения женского бесплодия [12].

Следующее направление наших исследований — сердечно-сосудистая система человека. В экспериментальном плане эта наиболее изученная область в отношении P2-рецепторов, которые найдены в тканях сердца, многих кровеносных сосудов и клеток крови. Однако роль P2-рецепторов в сердечно-сосудистой системе человека исследована явно недостаточно.

Здесь следует снова вспомнить лекарственный препарат АТФ и его мифическую энергетическую роль для сердца. Однако биохимики подсчитали, что в одной ампуле лекарственного препарата АТФ (10 мг) присутствует запас энергии, достаточной лишь на одно сердечное сокращение! При этом установлено, что препарат обладает антиаритмическим эффектом, снижает артериальное давление, улучшает периферическое кровообращение, но роль P2-рецепторов в этих эффектах никто не изучал. Мы решили по возможности восполнить пробел.

Материалом для этих исследований стали кровеносные сосуды человека, которые либо удалялись, либо использовались как аутошунты при операциях аортокоронарного шунтирования. Нами проведено сравнение сократительных ответов изолированной большой подкожной вены бедра, вызванных агонистами P2-рецепторов, у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей и без неё. Мы установили, что по сравнению с группой больных без этого заболевания в группе пациентов с варикозной болезнью P2-рецептор-опосредуемые ответы достоверно менее выражены [10, 24, 45]. Далее сравнение проксимальных и дистальных участков вены пациентов с варикозной болезнью показало, что снижение веногонизирующего действия

α , β -meATФ в большей степени проявляется в проксимальных участках, нежели в дистальных [25].

Таким образом, проведёнными исследованиями было установлено наличие P2-рецепторопосредованных ответов в исследованных кровеносных сосудах. Мы считаем, что снижение веноотонизирующего действия агонистов P2-рецепторов может отражать нарушения рецепторного аппарата этой ткани при варикозной болезни. Возможно, это имеет определённое значение в развитии варикозного заболевания вен, а значит, P2-рецепторы вен можно рассматривать как потенциальные мишени лекарственного воздействия.

Последний сюжет вновь касается гипотезы профессора Бернстока о вероятном большом значении P2-рецепторов в раннем эволюционном развитии организма. Если это так, то P2-рецепторы, должны присутствовать на самых ранних этапах становления клетки.

В кроветворной системе клеткой-предшественницей (стволовой) всех клеток крови считают CD34-положительные клетки. Материалом для этих исследований служила пуповинная кровь, которую забирали при плановых нормальных родах. С помощью метода иммуномагнитной сепарации выделяли CD34-клетки, которые в последующем обрабатывали антителами против различных подтипов P2X-рецепторов.

Мы обнаружили, что CD34-клетки экспрессируют все исследованные подтипы P2X-рецепторов. Интересной находкой стало то обстоятельство, что количество лимфоцитов периферической крови доноров, имеющих P2X-рецепторы на своей поверхности, было на порядок ниже, чем количество лимфоцитов, несущих P2-рецепторы, в пуповинной крови [26, 27]. Таким образом, в незрелых CD34-клетках пуповинной крови в значительной степени имеются P2X-рецепторы, воздействуя на которые АТФ может влиять на направление дифференцировки этих клеток. Это открывает перспективы для разработки фармакологических способов направленной дифференцировки созревающих клеток.

В заключение, исследование P2-рецепторов сейчас перестало иметь чисто фундаментальный интерес и приобрело ярко выраженный клинический прикладной характер. Проводимые в настоящее время многочисленные исследования функционирования и локализации P2-рецепторов в различных тканях позволяют не только оценить физиологическую и патофизиологическую роль этих рецепторов в организме человека, но и создают основу для создания и внедрения новых лекарственных препаратов, воздействующих посредством P2-рецепторов. Наиболее успешное направление по созданию принципиально новых лекарственных препаратов — внедрение в клиническую практику антагонистов P2Y₁₂-рецепторов тромбоцитов человека, которые используют как эффективные антиагреганты [8, 32]. В связи с ростом заинтересованности к этой области многих фармацевтических компаний уже в бли-

жайшем будущем можно ожидать появления новых лекарственных препаратов, являющихся агонистами или антагонистами P2-рецепторов, которые будут эффективны при лечении различных заболеваний человека [7, 17, 51]. Совершенно очевидно, что это направление создания новых лекарственных препаратов весьма перспективно.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов по представленным в этом обзоре исследованиям.

Выражаю благодарность своим коллегам-соавторам: Аблаева Д.Н., Бердникова Е.А., Вафина З.Р., Гиниятова Л.Р., Гришин С.Н., Джорджукья Р.К., Зайцев А.П., Зефирова Ю.Т., Зиганшин Б.А., Зиганшина А.П., Зиганшина Л.Е., Казакова Р.Р., Калинин О.С., Камалиев Р.Р., Киясов А.П., Мамедов В.А., Мустафин И.Г., Рычков А.В., Славин Д.А., Стрельник А.Д., Танташева Ф.Р., Теплов А.Ю., Фалу Ж.Ю., Фаткуллин И.Ф., Хайруллин А.Е., Хазиахметов Д.Ф., Штырлин Ю.Г., Во X., Burnstock G., Hoyle C.H.V., Jacobson K.A., King B.F., Knight G.E., Lambrecht G., Mutschler E., Pintor J., Ralevic V., Windscheif U., Ziyal R.

Исследования были проведены при финансовой поддержке РФФИ (13-04-00188, 16-04-00101), The Wellcome Trust (Великобритания) и Академии наук Республики Татарстан.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вафина З.Р., Зиганшин А.У., Фаткуллин И.Ф., Рызванов А.А. Влияние АТФ и аденозина на сократительную активность маточных труб человека. *Акуш. и гинекол.* 2004; (1): 44–47. [Vafina Z.R., Ziganshin A.U., Fatkullin I.F., Ryzvanov A.A. Effect of ATP and adenosine on the contractile activity of human fallopian tubes. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2004; (1): 44–47. (In Russ.)]
2. Вафина З.Р., Зиганшин А.У., Фаткуллин И.Ф. Сократительная активность маточных труб и некоторые аспекты её регуляции. *Казанский мед. ж.* 2004; 85 (2): 138–141. [Vafina Z.R., Ziganshin A.U., Fatkullin I.F. Uterine tubes contractile activity and certain aspects of its regulation. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2004; 85 (2): 138–141. (In Russ.)]
3. Гришин С.Н., Зиганшин А.У. *Котрансммиттерная модуляция мионевральной передачи в различных типах двигательных единиц.* Монография. Казань: Изд-во Казан. ун-та. 2015; 240 с. [Grishin S.N., Ziganshin A.U. *Kotransmittirnyaya modulyatsiya mionevral'noy peredachi v razlichnykh tipakh dvigatel'nykh edinit.* Monografiya. Kazan: Kazan university Publ. 2015; 240 p. (In Russ.)]
4. Гришин С.Н., Зиганшин А.У. Особенности синаптической организации тонических скелетных мышечных волокон. *Биол. мемб.* 2014; 31 (6): 1–9. [Grishin S.N., Ziganshin A.U. Tonic skeletal muscle fibers synaptic organization features. *Biologicheskoe membrany: zhurnal membrannoy i kletochnoy biologii.* 2014; 31 (6): 1–9. (In Russ.)]
5. Гришин С.Н., Зиганшин А.У. Роль пуринов в нервно-мышечной передаче. *Биол. мемб.* 2013; 30 (4): 243–252. [Grishin S.N., Ziganshin A.U. The role of purines

in neuromuscular transmission. *Biologicheskie membrany: zhurnal membrannoy i kletchnoy biologii*. 2013; 30 (4): 243-252. (In Russ.)

6. Гришин С.Н., Камалиев Р.Р., Теплов А.Ю., Зиганшин А.У. Разнонаправленное действие АТФ на силу сокращения тонической и фазной скелетных мышц лягушки. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2011; 151 (3): 251-254. [Grishin S.N., Kamaliev R.R., Teplov A.Yu., Ziganshin A.U. Opposite effect of ATP on contraction force of tonic and phasic skeletal muscles in frogs. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2011; 151 (3): 251-254. (In Russ.)]

7. Зиганшин А.У. Пуриновые P2-рецепторы как потенциальные мишени действия новых лекарственных средств. *Вестн. РАМН*. 2011; (11): 32-38. [Ziganshin A.U. Purinergic P2-receptors as potential targets of new pharmaceutical products. *Vestnik Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk*. 2011; (11): 32-38. (In Russ.)]

8. Зиганшин А.У. Новые антиагреганты – блокаторы тромбоцитарных P2-рецепторов. *Казанский мед. ж.* 2010; 91 (1): 73-79. [Ziganshin A.U. New antiaggregants – blockers of platelet P2 receptors. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2010; 91 (1): 73-79. (In Russ.)]

9. Зиганшин А.У. Роль рецепторов АТФ (P2-рецепторов) в нервной системе. *Неврол. вестн.* 2005; 37 (1-2): 45-53. [Ziganshin A.U. Role of ATP (P2-receptors) in a nervous system. *Nevrologicheskiy vestnik*. 2005; 37 (1-2): 45-53. (In Russ.)]

10. Зиганшин А.У., Зиганшин Б.А., Гиниятова Л.Р., Джорджикия Р.К. Влияние PPADS на P2X-рецептор-опосредованные ответы кровеносных сосудов человека. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2004; 137 (3): 321-324. [Ziganshin A.U., Ziganshin B.A., Giniyatova L.R., Dzhordzhikiya R.K. Effect of PPADS on the P2X receptor-mediated responses of human blood vessel. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2004; 137 (3): 321-324. (In Russ.)]

11. Зиганшин А.У., Аблаева Д.Н., Хасанов А.А. и др. Гексестрол угнетает сократительные ответы изолированной беременной матки человека, вызванные АТФ. *Эксп. и клин. фармакол.* 2008; 71 (6): 20-22. [Ziganshin A.U., Ablaeva D.N., Hasanov A.A. et al. Hexestrol inhibits ATP-induced contractile response of isolated preparations of pregnant human uterus. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2008; 71 (6): 20-22. (In Russ.)]

12. Зиганшин А.У., Вафина З.Р., Фаткуллин И.Ф. Фармакологическая характеристика P2-рецепторов в маточных трубах человека. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2004; 137 (3): 273-276. [Ziganshin A.U., Vafina Z.R., Fatkulin I.F. The pharmacological characteristics of P2 receptors in the human fallopian tubes. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2004; 137 (3): 273-276. (In Russ.)]

13. Зиганшин А.У., Зайцев А.П., Зайцева И.П. и др. Влияние новых арилазосоединений пиридоксальфосфата на активность экто-АТФазы тканей морской свинки. *Хим.-фарм. ж.* 2000; 34 (5): 6-8. [Ziganshin A.U., Zaytsev A.P., Zaytseva I.P. et al. Impact of new pyridoxal phosphate aryl azo compounds on the activity of ecto-ATPase guinea pig tissue. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 2000; 34 (5): 6-8. (In Russ.)]

14. Зиганшин А.У., Зайцев А.П., Зефирова Ю.Т. Нейрогенная регуляция сократительных ответов миомерии посредством P2-рецепторов. *Неврол. вестн.* 2007; 39 (4): 38-42. [Ziganshin A.U., Zaytsev A.P., Zefirova Yu.T. Neurogenic regulation of myometrium contractive response by p2-receptors. *Nevrologicheskiy vestnik. Zhurnal imeni V.M. Bekhtereva*. 2007; 39 (4): 38-42. (In Russ.)]

15. Зиганшин А.У., Зайцев А.П., Шамсутдинов А.Ф. Фармакологическая характеристика P2-рецепторов в матке человека. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 140

2002; 133 (3): 298-300. [Ziganshin A.U., Zaytsev A.P., Shamsutdinov A.F. Pharmacological characteristics of P2 receptors in the human uterus. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2002; 133 (3): 298-300. (In Russ.)]

16. Зиганшин А.У., Зефирова Ю.Т., Зайцев А.П. Участие простагландинов и оксида азота в АТФ-индуцируемых сокращениях матки у беременной. *Казанский мед. ж.* 2003; 84 (4): 295-298. [Ziganshin A.U., Zefirova Yu.T., Zaytsev A.P. Involvement of prostaglandins and nitric oxide in the ATP-induced contractions in a pregnant woman. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2003; 84 (4): 295-298. (In Russ.)]

17. Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е., Бернсток Дж. P2-рецепторы: теоретические предпосылки клинического воздействия. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2002; 134 (10): 365-370. [Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., Burnstok G. P2-receptors: theoretical background of clinical effect. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2002; 134 (10): 365-370. (In Russ.)]

18. Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е., Бернсток Дж. Исследование скорости расщепления диаденозинполифосфатов различными тканями морской свинки. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 1999; (2): 207-210. [Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., Burnstok G. Investigation of diadenozin polyphosphates cleavage rate in various tissues of the guinea pig. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 1999; (2): 207-210. (In Russ.)]

19. Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е., Бернсток Дж. Фармакологическая характеристика рецепторов АТФ. *Хим.-фарм. ж.* 1997; (1): 3-8. [Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., Burnstok G. Pharmacological characteristics of ATP-receptors. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 1997; (1): 3-8. (In Russ.)]

20. Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е., Бернсток Дж. Экто-АТФаза и рецепторы АТФ. *Эксп. и клин. фармакол.* 1997; (3): 78-82. [Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., Burnstok G. Ecto-ATPase and ATP receptors. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 1997; (3): 78-82. (In Russ.)]

21. Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е., Рычков А.В. и др. Температурная зависимость сокращений семьяносающего протока морской свинки, опосредуемых P2X-рецепторами. *Эксп. и клин. фармакол.* 2001; (4): 27-30. [Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., Rychkov A.V. et al. Temperature dependence of the guinea pig vas deferens contractions mediated by P2X-receptors. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2001; (4): 27-30. (In Russ.)]

22. Зиганшин А.У., Рычков А.В., Зиганшина Л.Е. Влияние температуры на сокращения мочевого пузыря морской свинки, опосредуемые P2X-рецепторами. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2000; 130 (10): 407-410. [Ziganshin A.U., Rychkov A.V., Ziganshina L.E. Temperature effect on bladder contraction of guinea pig mediated by the P2X receptors. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2000; 130 (10): 407-410. (In Russ.)]

23. Зиганшин А.У., Рычков А.В., Зиганшина Л.Е., Бернсток Дж. Влияние ряда производных пиридоксальфосфат-6-азофенила на эффекты, опосредуемые P2-пуринорецепторами. *Хим.-фарм. ж.* 1998; (8): 3-4. [Ziganshin A.U., Rychkov A.V., Ziganshina L.E., Burnstok G. Effect of some pyridoxal phosphate-6-azafena derivatives to effects mediated by P2-purinoreceptors. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 1998; (8): 3-4. (In Russ.)]

24. Зиганшин А.У., Хазиахметов Д.Ф., Зиганшина Л.Е. и др. Сократительная активность большой подкожной вены бедра человека, опосредованная P2-рецепторами. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2003; 135 (1): 29-32. [Ziganshin A.U., Khaziakhmetov D.F., Ziganshina L.E. et al. Contractile activity of the great saphenous vein thigh man, mediated by P2 receptors. *Byulleten' eksperimental'noy*

biologii i meditsiny. 2003; 135 (1): 29–32. (In Russ.)]

25. Зиганшин Б.А., Славин Д.А., Зиганшина А.П. и др. Функциональная активность варикозно-изменённой большой подкожной вены человека на разных её участках. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2013; 155 (4): 419–423. [Ziganshin B.A., Slavin D.A., Ziganshina A.P. et al. Functional activity of varicose human great saphenous vein at different sites. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2013; 155 (4): 419–423. (In Russ.)]

26. Казакова Р.Р., Камалиев Р.Р., Мустафин И.Г., Зиганшин А.У. Роль P2-рецепторов, расположенных на клетках крови человека. *Казанский мед. ж.* 2011; 92 (1): 120–123. [Kazakova R.R., Kamaliev R.R., Mustafin I.G., Ziganshin A.U. The role of p2-receptors on human blood cells. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2011; 92 (1): 120–123. (In Russ.)]

27. Казакова Р.Р., Мустафин И.Г., Мавлюдов Т.И. и др. Определение экспрессии подтипов P2X-рецепторов на CD34⁺-клетках и c-kit⁺-клетках пуповинной крови человека. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2011; 151 (1): 39–43. [Kazakova R.R., Mustafin I.G., Mavlyudov T.I. et al. Expression of P2X receptor subtypes on CD34⁺ cells and c-kit⁺ cells of human umbilical blood. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2011; 151 (1): 39–43. (In Russ.)]

28. Alexander S.P., Benson H.E., Faccenda E. et al. The concise guide to pharmacology 2013/14: G protein-coupled receptors. *Br. J. Pharmacol.* 2013; 170 (8): 1459–1581.

29. Alexander S.P., Benson H.E., Faccenda E. et al. The concise guide to pharmacology 2013/14: ligand-gated ion channels. *Br. J. Pharmacol.* 2013; 170 (8): 1582–1606.

30. Burnstock G. Purinergic signalling: It's unpopular beginning, it's acceptance and it's exciting future. *Bioessays*. 2012; 34: 218–225.

31. Burnstock G., Knight G.E. Cellular distribution and functions of P2 receptor subtypes in different systems. *Int. Rev. Cytol.* 2004; 240: 31–304.

32. Gachet C. P2 receptors, platelet function and pharmacological implications. *Thromb. Haemost.* 2008; 99 (3): 466–472.

33. Grishin S.N., Teplov A.Yu., Farhutdinov A.M. et al. Different effects of ATP on the contractility and nonquantal acetylcholine release of rat tonic and phasic muscles. *Pharmacologia*. 2013; 4 (9): 519–524.

34. Lambrecht G., Friebe T., Grimm U. et al. PPADS, a novel functionally selective antagonist of P2 purinoceptor-mediated responses. *Eur. J. Pharmacol.* 1992; 217: 217–219.

35. Windscheif U., Pfaff O., Ziganshin A.U. et al. The inhibitory action of PPADS on the relaxant responses to adenine nucleotides or electrical field stimulation in guinea-pig taenia coli and rat duodenum. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 115: 1509–1517.

36. Ziganshin A.U., Berdnikov E.A., Ziganshina L.E. et al. Effects of a,bunsaturated sulphones and phosphonium salts on ecto-ATPase activity and contractile responses mediated via P2X-purinoceptors. *Gen. Pharmac.* 1995; 26: 527–532.

37. Ziganshin A.U., Hoyle C.H.V., Bo X. et al. PPADS selectively antagonizes P2X-purinoceptor-mediated responses in the rabbit urinary bladder. *Br. J. Pharmacol.* 1993; 110: 1491–1495.

38. Ziganshin A.U., Hoyle C.H.V., Burnstock G. Ecto-enzymes and metabolism of extracellular ATP. *Drug Dev.*

Res. 1994; 32: 134–146.

39. Ziganshin A.U., Hoyle C.H.V., Lambrecht G. et al. Selective antagonism by PPADS at P2X-purinoceptors in rabbit isolated blood vessels. *Br. J. Pharmacol.* 1994; 111: 923–929.

40. Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., Bodin P. et al. Ecto-ATPase of guinea-pig vas deferens isolated smooth muscle cells: characteristics and effects of P2-purinoceptor antagonists. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 1995; 36: 864–869.

41. Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., Hoyle C.H.V., Burnstock G. Effects of divalent cations and La³⁺ on contractility and ecto-ATPase activity in the guinea-pig urinary bladder. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 114: 632–639.

42. Ziganshin A.U., Kalinina O.S., Strel'nik A.D. et al. Antagonistic properties of new non-phosphorylated derivatives of nitrogen-containing heterocycles towards P2 receptors. *Int. J. Pharmacol.* 2015; 11 (4): 400–404.

43. Ziganshin A.U., Kamaliev R.R., Grishin S.N. et al. The influence of hypothermia on P2 receptor-mediated responses of frog skeletal muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 2005; 509: 187–193.

44. Ziganshin A.U., Khairullin A.E., Zobov V.V. et al. The effects of ATP and adenosine on neuromuscular transmission in rat soleus muscle at different temperatures. *Eur. J. Pharmacol.* 2015. Submitted.

45. Ziganshin A.U., Khaziakhmetov D.F., Ziganshina L.E. et al. Varicose disease affects the P2 receptor-mediated responses of human greater saphenous vein. *Vasc. Pharmacol.* 2005; 46 (1): 17–21.

46. Ziganshin A.U., Rychkov A.V., Ziganshina L.E., Burnstock G. Temperature-dependency of P2 receptor-mediated responses. *Eur. J. Pharmacol.* 2002; 456 (1–3): 107–114.

47. Ziganshin A.U., Vafina Z.R., Fatkullin I.F. Contrasting effects of P2 receptor agonists on spontaneous contractility of human fallopian tubes with and without acute inflammation. *Pharmacol. Res.* 2008; 57 (1): 56–59.

48. Ziganshin A.U., Zaitcev A.P., Khasanov A.A. et al. Term-dependency of P2 receptor-mediated contractile responses of isolated human pregnant uterus. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2006; 129 (2): 128–134.

49. Ziganshin A.U., Zaitcev A.P., Zefirova J.T., Ziganshina L.E. P2 receptor-mediated responses in pregnant human uterus. *Biomed. Res.* 2003; 14 (1): 171–173.

50. Ziganshin A.U., Zefirova J.T., Zefirova T.P. et al. Potentiation of uterine effects of prostaglandin F2a by adenosine 5'-triphosphate. *Obstet. Gynecol.* 2005; 105 (6): 1429–1436.

51. Ziganshin A.U., Ziganshin B.A. P2 receptors – promising targets for future drugs. *Curr. Top. Pharmacol.* 2012; 16: 45–51.

52. Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., King B.F., Burnstock G. Characteristics of ecto-ATPase of *Xenopus* oocytes and the inhibitory actions of suramin on ATP breakdown. *Pflugers Archiv.* 1995; 429: 412–418.

53. Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., King B.F., Burnstock G. Differential degradation of extracellular adenine nucleotides by folliculated oocytes of *Xenopus laevis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1996; 114A: 335–340.

54. Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., King B.F. et al. Effects of P2-purinoceptor antagonists on degradation of adenine nucleotides by ecto-nucleotidases in folliculated oocytes of *Xenopus laevis*. *Biochem. Pharmacol.* 1996; 51: 897–901.