

## **P2-рецепторы мочевого пузыря как потенциальные мишени действия новых лекарств**

*Айрат Усманович Зиганшин\*, Дарья Викторовна Бедова,  
Эдуард Алексеевич Зубков, Марина Эдуардовна Ситдыкова  
Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия*

### **Реферат**

DOI: 10.17816/KMJ2018-462

Пуринергические P2-рецепторы, основным эндогенным агонистом которых служит аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), широко распространены в органах и тканях человека и животных, в том числе и в мочеполовой системе. В периферической нервной системе в физиологических условиях роль P2-рецепторов в большинстве случаев не бывает ведущей, они лишь дополняют или модулируют действие основных нейромедиаторов (ацетилхолина, норэпинефрина). Однако при патологических процессах роль P2-рецепторов резко возрастает и часто выходит на ведущие позиции в патогенезе того или иного заболевания. В частности, установлено, что пуринергический компонент сократительного ответа мочевого пузыря человека возрастает с 2–5% в нормальных условиях до 40% при некоторых патологических процессах (таких, как интерстициальный цистит, нейрогенный мочевой пузырь, обструкция мочевыводящих путей). В мочевом пузыре экспериментальных животных выявлены различные подтипы P2-рецепторов, установлено их функциональное значение в норме и при моделировании патологических процессов. Определённые подтипы P2-рецепторов выявлены и в мочевом пузыре человека, в том числе при некоторых заболеваниях мочевыводящих путей. Установлено, что содержание АТФ в моче пациентов резко увеличивается при обструктивных процессах нижних мочевыводящих путей, что имеет определённые перспективы в плане диагностики этих заболеваний. Разнообразие и широкая представленность P2-рецепторов в тканях нижних мочевых путей делают их очень привлекательными в качестве потенциальных мишеней действия новых лекарственных препаратов. В свете этого оценка действия агонистов и антагонистов P2-рецепторов, а также средств, влияющих на метаболизм эндогенных нуклеотидов и нуклеозидов, — одно из перспективных направлений поиска новых препаратов урологического предназначения.

**Ключевые слова:** P2-рецепторы, АТФ, эктонуклеотидазы, мочевого пузырь

### **P2-receptors of the urinary bladder as potential targets for novel drugs**

*A.U. Ziganshin, D.V. Bedova, E.A. Zubkov, M.E. Sitydykova  
Kazan State Medical University, Kazan, Russia*

Purinergic P2 receptors, the basic endogenous agonist of which is adenosine triphosphoric acid (ATP), are widely spread in the organs and tissues of human and animals including urogenitary system. Physiologically, in the peripheral nervous system the role of P2 receptors in most cases is not leading, they only complement or modulate the action of main neuromediators (acetylcholine, norepinephrine). But in pathology the role of P2 receptors significantly increases and often takes the lead in the pathogenesis of one or another disease. In particular, it was determined that purinergic component of contractile bladder response increases from 2–5% in normal state to 40% in some pathological processes (such as interstitial cystitis, neurogenic bladder, urinary obstruction). In the bladder of experimental animals different subtypes of P2 receptors were revealed, their functional role was established in normal conditions and models of pathological processes. Certain subtypes of P2 receptors were also detected in the human bladder, including in some urinary tract diseases. The level of ATP in patients' urine was established to significantly increase in lower urinary tract obstruction that holds certain promise for the diagnosis of these diseases. Variety and large representation of P2 receptors in lower urinary tract make them attractive as potential targets for novel drugs. On this evidence, evaluation of effect of P2 receptor agonists and antagonists as well as medications affecting the metabolism of endogenous nucleotides and nucleosides, is one of promising direction for the search for new urological drugs.

**Keywords:** P2 receptors, ATP, ectonucleotidases, urinary bladder.

P2-рецепторы широко распространены во многих органах и тканях человека и животных [1], в том числе, мочеполовой системы [2, 3]. P2-рецепторы — особый класс рецепторов, основным эндогенным лигандом которых служит аденозинтрифосфорная кислота (АТФ) [4, 5]. P2-рецепторы делятся на два больших семейства — P2X

и P2Y, различающихся своей структурой и механизмом функционирования. P2X-рецепторы — типичные лиганд-активируемые ионные каналы, в то время как P2Y — метаболитные, эффекты которых опосредуются G-белком [6, 7]. В настоящее время установлена структура и проведено клонирование 7 подтипов P2X-рецепторов

и 8 подтипов P2Y-рецепторов. P2X-рецепторы, локализованные на гладкомышечных клетках внутренних органов и сосудов, в основном инициируют сократительные ответы, тогда как P2Y-рецепторы, как правило, обеспечивают их расслабление (за некоторыми исключениями) [8]. Кроме того, показано, что P2-рецепторы участвуют в процессах нейротрансмиссии, нейромодуляции, хемоаттракции, агрегации тромбоцитов, они задействованы в процессах пролиферации, дифференциации, регенерации и гибели клеток [9]. Также известно, что АТФ высвобождается из различных типов клеток, в том числе астроцитов, макрофагов, эндотелиальных клеток в ответ на их механическое повреждение, воспаление или гипоксию [10].

**P2-рецепторы в мочевом пузыре животных.** Сокращение мочевого пузыря лабораторных животных в ответ на действие агонистов P2X-рецепторов было показано еще в 80-х годах прошлого века, а гладкомышечные препараты изолированного мочевого пузыря крыс и кроликов стали классическими объектами для исследования новых агонистов и антагонистов P2-рецепторов [11]. В частности, нами именно на ткани мочевого пузыря кроликов была впервые показана определённая селективность PPADS (от англ. Pyridoxal Phosphate-6-Azophenyl-2',4'-DiSulfonic acid — пиридоксальфосат 6-азофенил-2',4'-дисульфоновая кислота) по отношению к P2X-рецепторам [12]. В настоящее время PPADS является референтным антагонистом P2X-рецепторов и выпускается в коммерческих целях такими компаниями, как Sigma-Aldridge, RBI, в каталогах которых имеются ссылки на наши работы.

В других наших экспериментах было показано, что введение капсаицина 3-месячным крысам нарушает холинергический, но не пуринергический компонент сократительного ответа мочевого пузыря [13]. В последующем современными методами было обнаружено наличие различных подтипов P2X- и P2Y-рецепторов в мочеполовой системе многих экспериментальных животных [14, 15]. Установлено, что у большинства видов млекопитающих парасимпатическая нейротрансмиссия к гладкой мышце детрузора состоит из пуринергического компонента, опосредованного P2X1-рецепторами, и холинергического компонента, запускаемого мускариновыми холинорецепторами [16, 17].

Мыши, у которых отсутствуют P2X3-рецепторы, демонстрируют уменьшенную болевую реакцию, связанную с воспалением, и выраженную гипорефлексию мочевого пузыря с уменьшенной частотой и увеличенным объёмом мочеиспускания. Это указывает на то обстоятельство, что P2X3-рецепторы участвуют как в механосенсорной трансдукции, лежащей в основе воспалительной боли, так и в физиологических рефлексах [18]. На модели геморрагического цистита установлено, что P2X7-рецепторы играют существенную роль в возникновении и поддержании этого патологического процесса [19].

Наличие в мочевом пузыре крысы P2Y1-рецепторов, которые, как считают, опосредуют расслабление, было установлено различными методами [20]. Между тем, показано, что уридинтрифосфат (УТФ) вызывает сокращение мочевого пузыря [21]. Это предполагает задействование P2Y2- или P2Y4-рецепторов, на которые преимущественно влияет УТФ. Недавно показано, что генетический дефицит P2Y6-рецепторов у мышей приводит к увеличению частоты мочеиспускания и повышает тонус мочевого пузыря [22].

Несмотря на разнообразие сигнальных молекул (таких, как нейротрофины, нейропептиды, ацетилхолин, простагландины, простаглицлин, оксид азота и цитокины), способных выделяться из уротелия и взаимодействовать с другими клетками, именно АТФ, по-видимому, служит главным мессенджером, высвобождаемым из уротелиальных клеток при механосенсорной трансдукции. Она действует на P2X3-рецепторы на афферентных нервах для генерации импульсов, сигнализирующих о наполнении мочевого пузыря и запускающих процесс мочевыведения [23].

**Эктонуклеотидазы.** Хорошо известно, что эктоферменты, активный участок которых расположен на внешней стороне мембраны клеток, могут гидролизовать АТФ, которая высвобождается из нервных и иных клеток [24]. Бернсток ещё в 1978 г. предположил, что АТФ после воздействия на P2-рецепторы разлагается последовательно до аденозиндифосфата, аденозинмонофосфата и аденозина, а последний способен влиять на свой класс рецепторов [25].

Было обнаружено, что синтетические аналоги АТФ, устойчивые к ферментативному распаду (например,  $\alpha$ - $\beta$ -метилен-АТФ), вызывают гораздо более сильное сокращение

мочевого пузыря, чем быстро деградируемые нуклеотиды [26], а ингибиторы экто-АТФазы могут значительно усилить эффекты энзиматически неустойчивых соединений [27].

В последующем нами было показано, что все существовавшие на тот период антагонисты P2-рецепторов являются ингибиторами экто-АТФазы, что существенно маскирует истинное действие этих антагонистов на P2-рецепторы [28]. Было показано, что ингибитор саркоплазматической АТФазы циклопиозоновая кислота потенцировала сокращения мочевого пузыря морской свинки в ответ на стимуляцию пуринаргической нервной системы [29]. Ингибирующее действие на активность экто-АТФазы нами было выявлено в отношении некоторых двухвалентных катионов [30] и новых  $\alpha$ - $\beta$ -ненасыщенных сульфонов и фосфониевых солей [31].

В настоящее время установлено, что в мочевом пузыре существует восемь представителей семейства эктонуклеозид-трифосфо-дифосфогидролаз, а также 5'-нуклеотидаза [32]. При этом 5'-нуклеотидаза присутствовала исключительно в гладкой мускулатуре детрузора, что предполагает наличие механизма, обеспечивающего действие аденозина на P1-рецепторы миоцитов.

**P2-рецепторы в мочевом пузыре человека.** Интересно отметить, что у лабораторных животных пуринаргический компонент составляет от 40 до 75% всей парасимпатической иннервации мочевого пузыря. В то же время в мочевом пузыре здорового человека атропин блокирует более 95% сокращений пузыря, вызванных нервной стимуляцией, что оставляет не более 5% на пуринаргическую составляющую [11]. Однако пуринаргический компонент сократительного ответа мочевого пузыря человека увеличивается до 40% при ряде патологических состояний, таких как интерстициальный цистит [33], нарушение мочевыведения [34], идиопатическая нестабильность детрузора [35], некоторые типы нейрогенного мочевого пузыря [36].

Существуют очевидные фармакологические доказательства наличия P2X-рецепторов в мочевом пузыре человека, где АТФ,  $\alpha$ - $\beta$ -метилен-АТФ, ADP-бета-S и динуклеотидные фосфаты вызывают сокращения [37–40]. Сокращения, вызванные АТФ, угнетались на 30% индометацином (что указывает на участие простагландинов), на 48% — нифедипином (антагонистом медленных кальциевых каналов), полностью

исчезали в среде, свободной от кальция [38]. В недавних исследованиях иммуногистохимическими методами было установлено наличие P2X2-, P2X3- и P2X7-рецепторов в уротелии и P2X7-рецепторов в гладкомышечных клетках детрузора мочевого пузыря человека [41].

**АТФ в моче.** В нескольких исследованиях показано, что как у пациентов с нарушениями мочевыделительной функции [42, 43] и воспалительными процессами нижних мочевых путей [44], так и на экспериментальной модели обструкции мочевыводящих путей [45] отмечается повышенный уровень АТФ в моче. Источником этой АТФ, вероятнее всего, является уротелий, поврежденный при воспалении или перерастянутый при обструкции мочевыводящих путей, однако нельзя исключить и вовлечение сократительных элементов гладкомышечного слоя детрузора. Авторы этих работ [42, 44] высказывали разное мнение по поводу диагностической ценности исследования уровня АТФ в моче, что свидетельствует о необходимости дальнейших исследований этого вопроса.

Таким образом, обзор современных исследований свидетельствует о возможности использования агонистов и антагонистов P2-рецепторов в клинической практике [46]. Одним из значительных достижений фармакологии в последние десятилетия стало внедрение в клиническую практику антагонистов тромбоцитарных P2Y<sub>12</sub>-рецепторов (тиклопидин, клопидогрел) в качестве эффективных антиагрегантов [47]. Агонист P2Y<sub>2</sub>-рецепторов диквафосол, способствующий выработке внутриглазной жидкости и муцина, в настоящее время одобрен для применения в Японии при лечении «синдрома сухого глаза» [48, 49].

В настоящее время несколько фармацевтических компаний занято разработкой новых лекарственных препаратов, мишенью которых являются P2-рецепторы, поэтому в ближайшее десятилетие можно ожидать появления новых средств такого механизма действия. Перспективную клиническую область для внедрения таких препаратов представляет собой и урология, где очевиден недостаток препаратов, эффективных при различных обструктивных заболеваниях нижних мочевыводящих путей.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по этой статье.*

*Работа частично поддержана грантами РФФИ 16-04-00101 и 18-44-160009.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Burnstock G. Purinergic signalling: Its unpopular beginning, its acceptance and its exciting future. *Bioessays*. 2012; 34 (3): 218–225. DOI: 10.1002/bies.201100130.
2. Burnstock G. Purinergic signalling in the urinary tract in health and disease. *Purinergic Signal*. 2014; 10 (1): 103–155. DOI: 10.1007/s11302-013-9395-y.
3. Andersson K.-E. Purinergic signaling in the urinary bladder. *Auton. Neurosci. Bas. Clin.* 2015; 191: 78–81. DOI: 10.1016/j.autneu.2015.04.012.
4. Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е. *P2-рецепторы: перспективная мишень для будущих лекарств*. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2009; 136 с. [Ziganshin A.U., Ziganshina L.E. *P2-retseptory: perspektivnaya mishaen' dlya budushchikh lekarstv*. (P2 receptors: promising target for future drugs.) Moscow: GEOTAR-Media. 2009; 136 p. (In Russ.)]
5. Ziganshin A.U., Ziganshin B.A. P2 receptors — promising targets for future drugs. *Cur. Top. Pharmacol.* 2012; 16: 45–51.
6. Alexander S.P., Devenport A.P., Kelly E. et al. The Concise Guide to Pharmacology 2015/16: G protein-coupled receptors. *Br. J. Pharmacol.* 2015; 172 (24): 5744–5869. DOI: 10.1111/bph.13348.
7. Alexander S.P., Peters J.A., Kelly E. et al. The Concise Guide to Pharmacology 2015/16: Ligand-gated ion channels. *Br. J. Pharmacol.* 2015; 172 (24): 5870–5903. DOI: 10.1111/bph.13350.
8. Burnstock G. Purine and pyrimidine receptors. *Cell. Mol. Life Sci.* 2007; 64 (12): 1471–1483. DOI: 10.1007/s00018-007-6497-0.
9. Burnstock G., Verkhratsky A. Evolutionary origins of the purinergic signalling system. *Acta. Physiol. (Oxf.)*. 2009; 195 (4): 415–447. DOI: 10.1111/j.1748-1716.2009.01957.x.
10. Burnstock G. Purinergic signalling: from discovery to current developments. *Exp. Physiol.* 2014; 99 (1): 16–34. DOI: 10.1113/expphysiol.2013.071951.
11. Burnstock G. Purinergic signalling in lower urinary tract. In: *Handbook of experimental pharmacology*. Vol. 151/I. *Purinergic and pyrimidinergic signalling I — molecular, nervous and urogenital system function*. M.P. Abbracchio, M. Williams eds. Springer-Verlag, Berlin. 2001; 423–515. DOI: 10.1007/978-3-662-09604-8\_15.
12. Ziganshin A.U., Hoyle C.H.V., Bo X. et al. PPADS selectively antagonizes P2X-purinoreceptor-mediated responses in the rabbit urinary bladder. *Br. J. Pharmacol.* 1993; 110: 1491–1495. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1993.tb13990.x.
13. Ziganshin A.U., Ralevic V., Burnstock G. Contractility of urinary bladder and vas deferens after sensory denervation by capsaicin treatment of newborn rats. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 114: 166–170. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1995.tb14921.x.
14. Lee H.Y., Bardini M., Burnstock G. Distribution of P2X receptors in the urinary bladder and the ureter of the rat. *J. Urol.* 2000; 163: 2002–2007. DOI: 10.1016/S0022-5347(05)67618-5.
15. Chopra B., Gever J., Barrick S.R. et al. Expression and function of rat urothelial P2Y receptors. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2008; 294: F821–F829. DOI: 10.1152/ajprenal.00321.2006.
16. Kennedy C. The role of purines in the peripheral nervous system. In: *Purinergic and pyrimidinergic signalling*. M. Abbracchio, M. Williams editors. Springer, New York. 2001; 296–297.
17. Vial C., Evans R.J. P2X receptor expression in mouse urinary bladder and the requirement of P2X1 receptors for functional P2X receptor responses in the mouse urinary bladder smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 2000. 131: 1489–1495. DOI: 10.1038/sj.bjpp.0703720.
18. Cockayne D.A., Hamilton S.G., Zhu Q.M. et al. Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behavior in P2X3-deficient mice. *Nature*. 2000. 407: 1011–1015. DOI: 10.1038/35039519.
19. Martins J.P., Silva R.B., Coutinho-Silva R. et al. The role of P2X7 purinergic receptors in inflammatory and nociceptive changes accompanying cyclophosphamide-induced haemorrhagic cystitis in mice. *Br. J. Pharmacol.* 2012; 165 (1): 183–196. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01535.x.
20. Obara K., Lepor H., Walden P.D. Localization of P2Y1 purinoceptor transcripts in the rat penis and urinary bladder. *J. Urol.* 1998. 160: 587–591. DOI: 10.1016/S0022-5347(01)62963-X.
21. Bolego C., Pinna C., Abbracchio M.P. et al. Effects of ADPβS and UTP on the rat urinary bladder smooth muscle. *Res. Comm. Mol. Pathol. Pharmacol.* 1995; 87: 75–76.
22. Kira S., Yoshiyama M., Tsuchiya S. et al. P2Y6-deficiency increases micturition frequency and attenuates sustained contractility of the urinary bladder in mice. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 771. DOI: 10.1038/s41598-017-00824-2.
23. Merrill L., Gonzalez E.J., Girard B.M., Vizzard M.A. Receptors, channels, and signalling in the urothelial sensory system in the bladder. *Nat. Rev. Urol.* 2016; 13 (4): 193–204. DOI: 10.1038/nrurol.2016.13.
24. Zimmermann H. *Ectonucleotidases in the nervous system*. Novartis Foundation Symposium 276. *Purinergic signalling in neuron-glia interactions*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester. 2006; 113–128. DOI: 10.1002/9780470032244.ch10.
25. Burnstock G. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In: R.W. Straub, L. Bolis (eds) *Cell membrane receptors for drugs and hormones: a multidisciplinary approach*. Raven Press, New York. 1978; 107–118.
26. Welford L.A., Cusack N.J., Hourani S.M.O. The structure-activity relationships of ectonucleotidases and of excitatory P2-purinoreceptors: evidence that dephosphorylation of ATP analogues reduces pharmacological potency. *Eur. J. Pharmacol.* 1987; 141: 123–130. DOI: 10.1016/0014-2999(87)90418-3.
27. Hourani S.M.O., Chown J.A. The effects of some possible inhibitors of ectonucleotidases on the breakdown and pharmacological effects of ATP in the guinea-pig urinary bladder. *Gen. Pharmacol.* 1989; 20: 413–416. DOI: 10.1016/0306-3623(89)90188-2.
28. Ziganshin A.U., Hoyle C.H.V., Burnstock G. Ectoenzymes and metabolism of extracellular ATP. *Drug Dev. Res.* 1994; 32: 134–146. DOI: 10.1002/ddr.430320303.
29. Ziganshin A.U., Ralevic V., Burnstock G. Contractility of urinary bladder and vas deferens after sensory denervation by capsaicin treatment of newborn rats. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 114: 166–170. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1995.tb14921.x.
30. Ziganshin A.U., Ziganshina L.E., Hoyle C.H.V., Burnstock G. Effects of divalent cations and La<sup>3+</sup> on contractility and ecto-ATPase activity in the guinea-pig urinary bladder. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 114: 632–639. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1995.tb17186.x.
31. Ziganshin A.U., Berdnikov E.A., Ziganshina L.E. et al. Effects of α,β-unsaturated sulphones and phosphonium salts on ecto-ATPase activity and

- contractile responses mediated via P2X-purinoceptors. *Gen. Pharmacol.* 1995; 26: 527–532. DOI: 10.1016/0306-3623(94)00236-G.
32. Yu W., Robson S.C., Hill W.G. Expression and distribution of ectonucleotidases in mouse urinary bladder. *PLoS One.* 2011; 6: e18704. DOI: 10.1371/journal.pone.0018704.
33. Palea S., Artibani W., Ostardo E. et al. Evidence for purinergic neurotransmission in human urinary bladder affected by interstitial cystitis. *J. Urol.* 1993; 150: 2007–2012. DOI: 10.1016/S0022-5347(17)35955-4.
34. Smith D.J., Chapple C.R. *In vitro* response of human bladder smooth muscle in unstable obstructed male bladders: a study of pathophysiological causes. *NeuroUrol. Urodyn.* 1994; 13: 414–415.
35. O'Reilly B.A., Kosaka A.H., Knight G.F. et al. P2X receptors and their role in female idiopathic detrusor instability. *J. Urol.* 2002; 167: 157–164. DOI: 10.1016/S0022-5347(05)65403-1.
36. Andersson K.E., Hedlund P. Pharmacologic perspective on the physiology of the lower urinary tract. *Urology.* 2002; 60: 13–20. DOI: 10.1016/S0090-4295(02)01786-7.
37. Hoyle C.H.V., Chapple C., Burnstock G. Isolated human bladder: evidence for an adenine dinucleotide acting on P2X-purinoceptors and for purinergic transmission. *Eur. J. Pharmacol.* 1989; 174: 115–118. DOI: 10.1016/0014-2999(89)90881-9.
38. Husted S., Sjögren C., Andersson K.-E. Direct effects of adenosine and adenine nucleotides on isolated human urinary bladder and their influence on electrically induced contractions. *J. Urol.* 1983; 130: 392–398. DOI: 10.1016/S0022-5347(17)51175-1.
39. Palea S., Corsi M., Pietra C. et al. ADP $\beta$ S induces contraction of the human isolated urinary bladder through a purinoceptor subtype different from P2X and P2Y. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994; 269: 193–197. PMID: 8169824.
40. Palea S., Pietra C., Trist D.G. et al. Evidence for the presence of both pre- and postjunctional P2-purinoceptor subtypes in human isolated urinary bladder. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 114: 35–40. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1995.tb14902.x.
41. Svennersten K., Hallén-Grufman K., De Verdier P.J. et al. Localization of P2X receptor subtypes 2, 3 and 7 in human urinary bladder. *BMC Urol.* 2015; 15: 81. DOI: 10.1186/s12894-015-0075-9.
42. Silva-Ramos M., Silva I., Oliveira O. et al. Urinary ATP may be a dynamic biomarker of detrusor overactivity in women with overactive bladder syndrome. *PLoS One.* 2013; 8: e64696. DOI: 10.1371/journal.pone.0064696.
43. Cheng Y., Mansfield K.J., Allen W. et al. Correlation between cystometric volumes, ATP release, and pH in women with overactive bladder versus controls. *NeuroUrol. Urodyn.* 2013; 32: 969–973. DOI: 10.1002/nau.22344.
44. Gill K., Horsley H., Kupelian A.S. et al. Urinary ATP as an indicator of infection and inflammation of the urinary tract in patients with lower urinary tract symptoms. *BMC Urol.* 2015; 15: 7. DOI: 10.1186/s12894-015-0001-1.
45. Shiina K., Hayashida K.I., Ishikawa K., Kawatani M. ATP release from bladder urothelium and serosa in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *Biomed. Res.* 2016; 37 (5): 299–304. DOI: 10.2220/biomedres.37.299.
46. Burnstock G. Purinergic signalling: Therapeutic developments. *Front. Pharmacol.* 2017; 8: 661. DOI: 10.3389/fphar.2017.00661.
47. Angiolillo D.J., Ferreiro J.L. Platelet adenosine diphosphate P2Y<sub>12</sub> receptor antagonism: benefits and limitations of current treatment strategies and future directions. *Rev. Esp. Cardiol.* 2010; 63 (1): 60–76. DOI: 10.1016/S0300-8932(10)70010-5.
48. Park D.H., Chung J.K., Seo D.R., Lee S.J. Clinical effects and safety of 3% diquafosol ophthalmic solution for patients with dry eye after cataract surgery: a randomized controlled trial. *Am. J. Ophthalmol.* 2016; 163: 122–131. e2. DOI: 10.1016/j.ajo.2015.12.002.
49. Amano S., Inoue K. Effect of topical 3% diquafosol sodium on eyes with dry eye disease and meibomian gland dysfunction. *Clin. Ophthalmol.* 2017; 11: 1677–1682. DOI: 10.2147/OPHT.S148167.