

P2Y₁-рецепторы и их влияние на процессы агрегации тромбоцитов

Кафедра фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета
e-mail: aspasov@mail.ru

Реферат

Большое внимание уделяется исследованию активности P2Y₁-рецепторов тромбоцитов и P2Y₁-опосредованного механизма агрегации как возможной перспективной мишени для создания новой группы антитромбоцитарных препаратов. Это объясняется тем, что активация данного рецептора на мембране тромбоцитов приводит к инициации стадии контактной активации клеток — обратимого этапа агрегации. Доказанная ключевая роль P2Y₁-рецептора в регуляции процесса агрегации, повышении резистентности к тромбообразованию, в снижении времени кровотечения свидетельствует о целесообразности и научном интересе поиска и изучения антагонистов данных рецепторов как потенциальных антитромбоцитарных препаратов с принципиально новым механизмом действия — угнетение P2Y₁-опосредованной обратимой стадии агрегации тромбоцитов.

В данном обзоре описаны молекулярная структура P2Y₁-рецептора, механизмы взаимодействия со вторичными сигнальными системами, механизм P2Y₁-опосредованной активации и агрегации тромбоцитов. Изложена физиологическая роль данного рецептора. Представлена характеристика наиболее изученных к настоящему времени антагонистов P2Y₁-рецепторов как новых потенциальных антиагрегантов.

Ключевые слова: тромбоцит, активация тромбоцитов, агрегация, P2-рецепторы тромбоцитов, P2Y₁-рецептор, P2Y₁-антагонисты.

Spasov A. A., Yakovlev D. S., Bucatina T. M.

P2Y₁-receptors and it influence on platelet aggregation

Department of Pharmacology, Volgograd State Medical University
e-mail: aspasov@mail.ru

Abstract

Much attention to date is giving to the activity of P2Y₁-receptors of platelets and P2Y₁-mediated mechanism of aggregation as a potential promising target for the creation of new antiplatelet drugs. This is explained by the fact that activation of this receptor on the platelet membrane, resulting in the initiation stage of the contact activation of cells - reversible phase of aggregation. Proved the key role of P2Y₁-receptors in the regulation of the aggregation process, in increasing resistance to thrombosis, in reducing bleeding time indicates the expediency and scientific interest in the search and study of antagonists of these receptors as potential antiplatelet drugs with a novel mechanism of action - inhibition of P2Y₁-mediated reversible phase of platelet aggregation.

This review describes the molecular structure of the P2Y₁-receptor, mechanism of P2Y₁-mediated platelet activation and aggregation, the mechanisms of interaction with secondary signaling systems. We describe the physiological role of this receptor. Submitted the characteristics of the most studied to date antagonists of P2Y₁-receptor as potential new antiplatelet agents.

Keywords: platelet, platelet activation, aggregation, P2-receptors of platelets, P2Y₁-receptor, P2Y₁-antagonists.

Введение

Назначение антитромботических препаратов является одним из обязательных компонентов комплексной терапии при заболеваниях сердечно-сосудистой системы с риском атеротромбоза. В основном в клинической практике в качестве антитромботических препаратов используются ацетилсалициловая кислота, тиклопидин, клопидогрель, дипиридамол как самостоятельно, так и в комплексной терапии друг с другом или с непрямыми антикоагулянтами. Развитие гематологических осложнений, кровотечений различного генеза, медленное наступление анти-тромботического эффекта, аллергические реакции и

другие недостатки ограничивают их назначение. Это, в свою очередь, диктует необходимость изыскания новых мишеней для воздействия на сосудисто-тромбоцитарную систему, при котором, с одной стороны, повышалась бы эффективность препаратов, а с другой — снижался риск развития осложнений [1, 2, 4]. Одно из важных физиологических свойств P2Y₁ пуриновых рецепторов — регуляция функционирования сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза — позволяет рассматривать их в качестве такой новой точки приложения действия средств с антиагрегантными и антитромботическими свойствами.

Классификация пуриновых рецепторов

Классификация пуриновых рецепторов претерпела многочисленные изменения и дополнения. Изначально идентифицированные пуриновые рецепторы [4] были разделены на две группы [21]: P1 (чувствительные к аденозину) и P2, активируемые как внутриклеточным, так и внеклеточным АТФ или АДФ [13].

По современной классификации пуриновые рецепторы делятся на два больших класса — аденозиновые рецепторы — A1, A2a, A2b и A3 [5], которые прежде обозначались как P1-рецепторы, и P2-рецепторы — P2X и P2Y [3] (рис. 1).

При этом для P1-рецепторов рекомендуется использовать термин «аденозиновые рецепторы», в то время как для второй группы — P2-рецепторы. Это связано с тем, что для первых типичным агонистом является аденозин и его производные, а для различных подтипов P2-рецепторов агонистами являются не только пуриновые, но и пиримидиновые соединения, например, уридин-5'-дифосфат [3, 19].

К настоящему времени клонировано семь подтипов P2X-рецепторов гомомультимеров и ряд гетеромультимеров [26, 41] (P2X_{1/2}, P2X_{1/5}, P2X_{2/3}, P2X_{4/6}, P2X_{2/6} и др. [3, 4]) и восемь подтипов P2Y-рецепторов — P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆, P2Y₁₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃ и P2Y₁₄ [22]. Последовательная нумерация подтипов P2Y-рецепторов нарушена. Это связано с тем, что множество описанных ранее рецепторов из этого подтипа семейства оказались либо аналогами существующих, либо у них не выявили функциональной активности. Поэтому несколько из них были исключены из современной классификации [3].

Помимо вошедших в современную классификацию подтипов аденозиновых и P2-рецепторов, имеются сведения о родственных рецепторах, специфически возбуждающихся аденином, гуаниновыми нуклеотидами и нуклеозидполифосфатами. Однако требуются дальнейшие исследования, подтверждающие их морфо-функциональные различия от описанных на сегодняшнее время подтипов аденозиновых и P2-рецепторов [3].

Строение P2Y₁-рецептора, основные внутриклеточные сигнальные системы

P2Y₁-рецептор — один из первых, всесторонне изученный из класса данной группы пуриновых рецепторов [43]. Картирование гена данного рецептора позволило установить его локализацию в хромосоме 3q25 [67] и генетическую особенность — отсутствие интронов [12].

P2Y₁-рецептор, активируемый внеклеточными АТФ и АДФ [52], по молекулярному строению относится к классу метаботропных рецепторов, сопряженных с G_{q/11}-белком [44]. Данный рецептор состоит из 373 аминокислотных остатков, 3 вне- и внутриклеточных петель (EL I-III), 7 трансмембранных доменов (TM I-VII), внеклеточной N-концевой терминали, расположенной параллельно третьей внеклеточной петли, и внутриклеточного C-конца, гидроксильная группа которого является участком для фосфорилиции [43, 52].

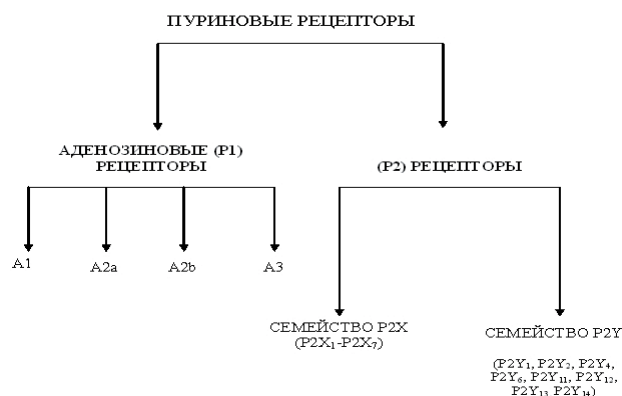


Рис. 1. Классификация пуриновых рецепторов [13]

Аминокислотные остатки, формирующие структуру P2Y₁-рецептора, выполняют многочисленные функции: стабилизация ионных взаимодействий в рецепторе, участие в промежуточных термодинамически устойчивых стадиях закрепления лигандов с P2Y₁-рецептором и др. [22].

Два дисульфидных моста, между первой и второй внеклеточными петлями (Цис124, расположенный у основания третьего трансмембранного домена, и Цис202), а также между N-терминалью и третьей петлей (Цис42 и Цис296), играют важную роль в стабилизации и укреплении структуры P2Y₁-рецептора. Отграничивая и упрощая конформационную структуру внеклеточных петель в пределах рецептора, они облегчают продвижение лиганда к участку связывания [43].

Внеклеточные петли и трансмембранные домены — основные структуры рецептора, участвующие в его активации. При этом аминокислотные остатки внеклеточных петель (Асп204 EL-II и Арг128 EL-III) способствуют распознаванию селективных лигандов для данного рецептора, формируя так называемый “участок-распознавания”, а трансмембранные домены — “участок-связывания”. Так, например, TMIII, TMVI и TMVII формируют центр связывания с АТФ, а TMII, TMVI и TMVII — для АДФ [12] (рис. 2).

При связывании селективных лигандов с P2Y₁-рецепторами запускается каскад вторичных сигнальных систем [3].

При активации фосфолипазы-С через G_{q/11}-белок, сопряженный с P2Y₁-рецептором, происходит гидролиз инозитолдифосфата до инозитолтрифосфата и образование диацилглицерола, которые участвуют в активации протеинкиназы-С и фосфолипаз, продукции оксида азота (NO) в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов [3]. Кроме того, одним из главных эффектов при активации фосфолипазы-С и активации инозитолтрифосфатного пути является увеличение концентрации ионов Ca²⁺, отвечающих за развитие агрегации тромбоцитов, за резорбцию костей, секрецию инсулина [19].

В ряде исследований отмечается, что активация протеинкиназы-С через P2Y₁-рецепторы возможна и без участия инозитолтрифосфата и цитозольного

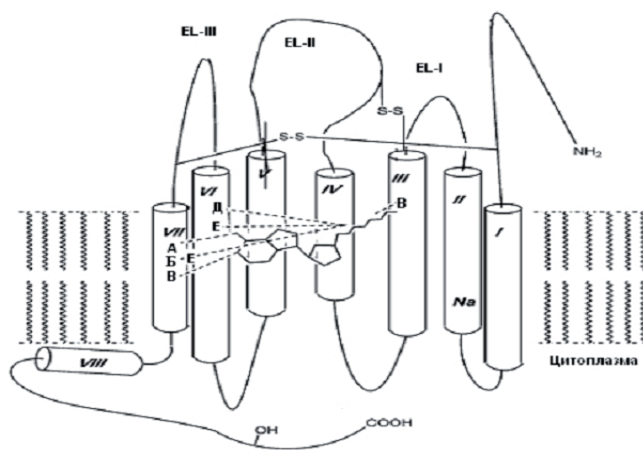


Рис. 2. Модель P2Y₁-рецептора с указанием центров связывания с АТФ [43]: В — аргинин (TMIII, TMVII); Д — лизин (TMVI); А, Б, Е — аминокислотные остатки, участвующие в активации рецептора

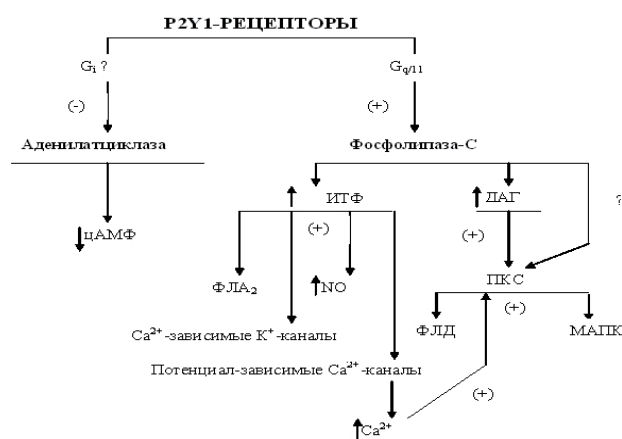


Рис. 3. Схема взаимодействия P2Y₁-рецепторов со вторичными сигнальными системами: ИТФ — инозитолтрифосфат; ДАГ — диацилглицерол; ФЛ_A — фосфолипаза-А₂; ПКС — протеинкиназа-С; МАПК — митогенактивированная протеинкиназа; ФЛ_D — фосфолипаза-Д; цАМФ — циклический аденозинмонофосфат

кальция. При этом, например, в эндотелиальных клетках происходит фосфорилирование тирозина через митогенактивированный протеинкиназный цикл, приводящий к продукции простаглицлинов. Данный сигнальный путь вовлечен в метаболизм, рост и секреторную активность клеток, экспрессию генов [16] (рис. 3).

Также известно, что активация P2Y₁-рецепторов может привести к закрытию Ca²⁺-каналов N-типа и K⁺-каналов М-типа. Интересен и тот факт, что возбуждение P2Y₁-рецептора в некоторых случаях вызывает кратковременный выход ионов K⁺ [12].

Второй сигнальный путь, описанный для P2Y₁-рецепторов, связан с аденилатциклазной системой, предположительно, через G_i-белок. P2Y₁-опосредованное торможение аденилатциклазы первоначально было описано для P2Y₁-рецепторов крысиных клеток глиомы, а затем для клеточной линии С6-2В и клеток Шванна [47].

*P2Y₁-рецепторы в сердечно-сосудистой системе
и системе гемостаза*

Наиболее подробно к настоящему времени изучена роль P2Y₁-рецепторов в сердечно-сосудистой системе и в системе гемостаза [34, 39, 60]. Иммуногистохимические методы исследования показали, что основная локализация данного рецептора этой системы — эндотелиальные, гладкомышечные клетки сосудистой стенки и тромбоциты.

Физиологическая роль $P2Y_1$ -рецепторов сосудов связана с участием в регуляции сосудистого тонуса. В зависимости от характера клеточного ответа на активацию данных рецепторов возможно развитие, как вазоконстрикции, так и вазодилатации. Так, установлено, что активация $P2Y_1$ -рецепторов пупочного и хориального сосудов плаценты способствует повышению их тонуса за счет активации каскада с участием арахидоновой кислоты с преимущественным повышением тромбоксана- A_2 . С другой стороны, вазодилатация сосудов плаценты, предположительно, связана с активацией NO-синтазы [55, 64]. Ряд исследований по изучению влияния $P2Y_1$ -рецепторов в регуляции коронарного кровотока показывают, что их возбуждение в эндотелиальных и гладкомышечных клетках коронарных артериол приводит к расширению сосудов [40]. Кроме того, $P2Y_1$ -рецепторы эндотелиальных клеток сосудов участвуют в процессах регенерации сосудистой стенки посредством активации митогенактивированного протеинкиназного пути, усиливающего фосфорилиацию некоторых групп киназ (ERK1/2, JNK и p38) [50].

Установлено влияние активации P2Y₁-рецепторов на микроциркуляцию головного мозга в сторону его улучшения. При этом в данном процессе, помимо NO-синтазы, принимают участие активированные калиевые каналы [66].

Другая немаловажная роль в регуляции гемостаза принадлежит $P2Y_1$ -рецепторам, локализованным на мембране тромбоцитов. Они участвуют в процессе агрегации, регулируя не только непосредственно стадии обратимой и необратимой агрегации тромбоцитов, но и стадию инициации их активации. Молекулярный механизм как $P2Y_1$ -опосредованной активации, так и агрегации, связывают с увеличением концентрации внеклеточного кальция за счет его мобилизации из внутриклеточного депо клеток [38].

Возбуждение же других P2Y-рецепторов тромбоцитов приводит к необратимой агрегации и образованию тромбоксана- A_2 [36]. Многие исследователи полагают, что именно мобилизация кальция из внутриклеточных депо в результате стимуляции P2Y₁-рецепторов играет решающую роль в АДФ-индуцируемой активации тромбоцитов, а также в тромбоцитарной агрегации и генерации тромбоксана- A_2 [45]. Подтверждением этому является способность ряда антагонистов, например, Basilen blue, MRS 2179 и Sbt-119, в безкальциевой буферной среде подавлять активацию тромбоцитов *in vitro* [6]. Взаимодействие АДФ с P2Y₁-рецепторами лежит в основе адгезии тромбоцитов на иммобилизованный фибриноген при снижении скорости кровотока [53].

Роль $P2Y_1$ -рецепторов в агрегации была продемонстрирована в экспериментах по исследованию вклада пуриновых рецепторов тромбоцитов (первого и двенадцатого подтипа) в процессы активации и агрегации на животных с генетическим дефицитом данного подтипа рецептора.

Установлено, что у мышей-самцов, накаутных по $P2Y_1$ -рецепторам, не происходит ни активация, ни агрегация тромбоцитов в ответ на действие АДФ в малых концентрациях. Высокие концентрации АДФ вызывают только обратимую агрегацию, что связано с активацией $P2Y_{12}$ -рецептора.

Кроме того, животные оказались резистентны к развитию острого тромбоза, индуцируемому коллагеном и адреналином при внутривенном введении [30, 35].

Локализация и физиологическая роль $P2Y_1$ -рецепторов в других органах и системах организма

Помимо влияния на регуляцию функционирования сердечно-сосудистой системы и системы гемостаза, $P2Y_1$ -рецепторы представлены во многих функционально различных клетках, тканях и системах организма [20].

Так, в центральной нервной системе высокая степень экспрессии $P2Y_1$ -рецепторов обнаружена в боковых рогах спинного и [74, 75] в различных отделах головного мозга [51] — корковом веществе, гиппокампе, среднем мозге, ядрах гипоталамуса [28], мозжечке, в секреторных гранулах аксонов и волокнах Пуркинье, мозговых пузырях зародышей крыс [15]. Их возбуждение на астроцитах, олигодендроцитах и клетках микроглии, через повышение уровня кальция приводит к изменению функциональной активности этих клеток [28, 29].

Кроме того, считается, что $P2Y_1$ -рецепторы участвуют в глиянонейронной коммуникации клеток [68], в межклеточной передаче сигналов [32], в регуляции активности генов, кодирующих исполнительные элементы синаптической передачи импульсов [62], связанной с этим в регуляции поведенческих реакций, в модуляции активности синапсов в спинном мозге [74].

Было показано, что $P2Y_1$ -рецепторы в добавочных ядрах головного мозга крыс активируют процессы регенерации астроцитов, участвуют в регуляции процесса пролиферации клеток после цитотоксического повреждения внутренних слоев сетчатки [58]. При этом считается, что наибольшее влияние $P2Y_1$ -рецепторы оказывают во время дегенеративной и пролиферативной фаз регенерации [59].

Возможно, это связано с $P2Y_1$ -опосредованной активацией регуляторных протеинкиназ через митогенактивированный протеинкиназный путь и киназ фосфоинозитолтрифосфаткиназного сигнального пути, а также каспазы-3 [33, 69].

Известно, что активация $P2Y_1$ -рецепторов центральной нервной системе может приводить к запуску некоторых вторичных медиаторных каскадов. Так, при возбуждении данных рецепторов в астроцитах боковых рогов спинного мозга повышается

СПАСОВ А. А., ЯКОВЛЕВ Д. С., БУКАТИНА Т. М.

секреция глутамата [73], что приводит к активации соседних нейронов. В мозжечке крыс обнаружена взаимосвязь $P2Y_1$ -рецепторов с бетта-гидроксилазой допамина, тирозингидроксилазой [15].

Роль данных рецепторов в центральной нервной системе связана не только с их влиянием на межклеточные коммуникации, но и со воздействием на нейрогуморальные процессы, что подтверждается их обнаружением на мембране нейронов и секреторных клетках гипоталамуса, гипофиза [65]. Установлен факт $P2Y_1$ -влияния на секрецию гормонов задней доли гипофиза (окситоцина и вазопрессина). Механизмы данных процессов полностью не изучены [63].

Кроме гипофиза и гипоталамуса, $P2Y_1$ -рецепторы обнаружены на бетта-клетках поджелудочной железы [57]. Их активация АДФ или альфа-АТФ (обнаруженная изоформа АТФ в панкреотических бетта-клетках линии INS-1 [51]) вызывает двухфазную стимуляцию секреции инсулина в экспериментах на изолированной поджелудочной железе крысы, панкреатических клетках человека [56]. Механизм усиления секреции инсулина также связывают с увеличением уровня внутриклеточного кальция [31]. Стоит отметить, что АТФ вызывает положительный сигнал обратной связи, усиливая активируемый глюкозой выброс инсулина [57].

К другим периферическим $P2Y_1$ -эффектам относят их участие в регенерации костной ткани, в противовоспалительных и противоопухолевых процессах, в регуляции перистальтики кишечника.

Известно, что при переломах и других повреждениях, сопровождающихся нарушением целостности костной ткани, через активацию $P2Y_1$ -рецепторов увеличивается концентрация внутриклеточного кальция и усиливается пролиферация остеобластов [14, 71], что способствует восстановлению целостности кости.

Противовоспалительное действие $P2Y_1$ -рецепторов связано с их экспрессией на моноцитах. При возбуждении данного рецептора увеличивается сродство моноцитов к факторам некроза опухолей и усиливается их миграция к очагу воспаления.

Механизм активации моноцитов через $P2Y_1$ -рецепторы связывают с их влиянием на никотинамид-аденин-нуклеотид-(NAD⁺)-опосредованное повышение уровня кальция в моноцитах [46]. При блокировании данного рецептора активируется белок p38, МАП-киназа [61].

С другой стороны, известно, что $P2Y_1$ -рецепторы участвуют в процессах противоопухолевого ответа [26, 47, 70]. Считается, что через их возбуждение запускается механизм запрограммированной гибели атипичных клеток (апоптоз) [23, 61].

Периферические $P2Y_1$ -эффекты в гладкомышечных клетках различных отделов кишечника как животных [72], так и человека, связаны с возникновением гиперполяризации мембраны клеток [41] при возбуждении данных рецепторов, что приводит к расслаблению гладкомышечного слоя кишечника [37]. $P2Y_1$ -рецепторы регулируют секрецию электролитов и воды в тонком кишечнике.

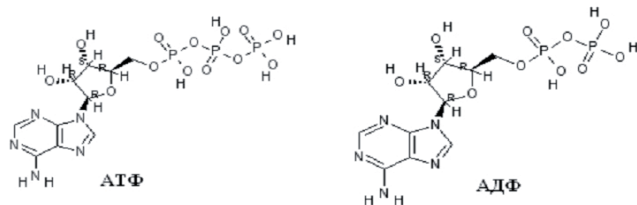


Рис. 4. Химическая структура физиологических лигандов P2Y₁-рецепторов

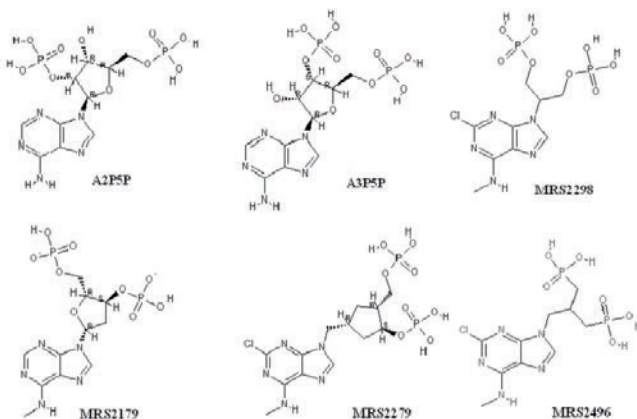


Рис. 5. Некоторые антагонисты P2Y₁-рецепторов

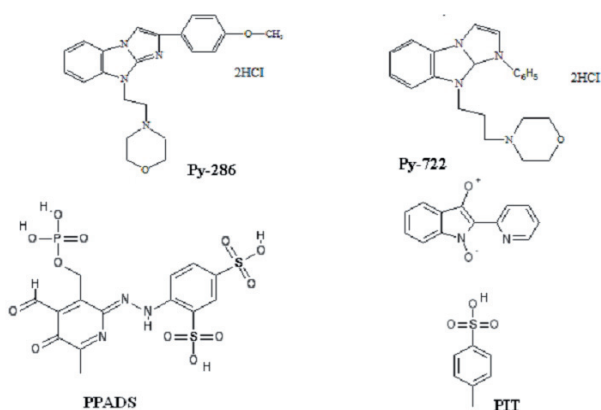


Рис. 6. Химическая структура антагонистов P2Y₁-рецепторов ненуклеотидной природы

По всей видимости, эта физиологическая активность связана с выделением вазоактивного кишечного пептида (VIP), который, взаимодействуя с кишечными секреторными железами, стимулирует их активность [72].

P2Y₁ антагонисты и их клинический потенциал

Участие P2Y₁-рецепторов в функционировании органов и систем происходит при их активации аденозин-5'-трифосфатом (АТФ) и аденозин-5'-дифосфатом (АДФ) (рис. 4).

АТФ по силе конформационного взаимодействия с «участком-связывания» уступает АДФ [3, 12]. Еще одна особенность АТФ — проявление и антагонистической активности по отношению к P2Y₁-рецепторам, например, локализованных на мембране тромбоцитов [35, 42].

При этом, несмотря на достаточную распространенность и функциональную активность P2Y₁-рецепторов в организме, на сегодняшний день наибольшее внимание исследователей сосредоточено на изучении клинического потенциала P2Y₁-антагонистов на тромбоцитарное звено гемостаза. Блокаторы P2Y₁-рецепторов тромбоцитов ингибируют инициацию процесса агрегации, что нехарактерно для современных антитромбоцитарных препаратов, действующие либо на адгезию клеток, либо уже на стадию необратимой агрегации тромбоцитов [43, 44].

Наиболее изученные и описанные P2Y₁-антагонисты — N(6)-метил-2'-диоксиаденозин-3',5'-дифосфат (MRS2179) [18], (N)-метано-N(6)-метил-2-хлор-2'-диоксиаденозин-3',5'-бифосфат (MRS 2279), 2-йодо-N(6)-метил-(N)-метанокарбо-2'-диоксиаденозин-3',5'-бифосфат (MRS 2500) [25, 35, 43]. MRS 2179 — первый антагонист P2Y₁-рецепторов, у которого была выявлена антитромботическая активность на моделях генерализованного коллагенадреналинового тромбоза и тромбоза, индуцированного трехвалентным хлоридом железа. Кроме этого, MRS2179 ингибирует развитие венозного тромбоза [16, 48].

Его аналог — MRS 2279, помимо антагонистического действия в отношении пуриновых P2Y₁-рецепторов, локализованных на мембране тромбоцитов [17], блокирует активацию данных рецепторов на эритроцитах индейки и 1321-N1-человеческой клеточной линии астроцитомы. MRS 2500 подавляет инициируемые АТФ процессы возбуждения и сокращения скелетной мускулатуры [12], на модели *ex vivo* ингибирует АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов, а на моделях генерализованного тромбоза демонстрирует сильный антитромботический эффект [50].

Антиагрегантная активность присуща и ациклическим нуклеотидным аналогам. Так, бифосфонат MRS2496 ([2-[2-[хлор-6-(метиламин) пурин-9-] метил]-3-фосфонопропил] фосфоновая кислота) и фосфонат MRS2298 ([2-[2-хлор-6-(метиламин) пурин-9-]-3-фосфоноксипропил] гидроген фосфат) в экспериментах *in vitro* показали выраженную ингибирующую активность к АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов человека, опосредованную блокированием активации фосфолипазы-С [12, 17, 24] (рис. 5).

Кроме нуклеотидных антагонистов P2Y₁-рецепторов, известны антагонисты и ненуклеотидной природы. P2Y₁-блокирующим эффектом обладают соединения класса бензимидазолов [10, 11]: дигидрохлорид-2-(4-метоксифенил)-(9-морфолиноэтил) имидазо[1,2-а]бензоимидазол (Py-286) [7] и дигидрохлорид-1-(3-морфолинопропил)-2-фенилимидазо[1,2-а]бензимидазол (Py-722) [8] (рис. 6).

Данные вещества в экспериментах *in vitro* и *in vivo* подавляют АДФ-индуцированную активацию и агрегацию тромбоцитов, а также демонстрируют антитромботический эффект, увеличивая время тромбообразования на моделях генерализованного

коллаген-адrenalинированного тромбоза, артериального тромбоза, индуцированного хлоридом железа (III) [9].

Другие антагонисты нуклеотидной природы, такие, как пиридоксальфасфат-6-азофенил-2', 4'-дисульфоновая кислота (PPADS), сурамин, 2,2'-пиридилизотагентозилат-4-метилбензилсульфоновая кислота (PIT), обладают низким сродством к данному подтипу пуриновых рецепторов (рис. 6).

Кроме того, P2Y₁-антагонистическая активность PPADS и сурамина также опосредована ингибированием активности нуклеотидных гидролаз, которые способствуют распаду АТФ до неактивных монофосфатных молекул, а PIT, за счет блокирования P2Y₁-рецептора при взаимодействии с аминокислотными остатками активного участка трансмембранных доменов, подавляет синтез и накопление инозитолтрифосфатов [36].

Литература

1. Багрий, А. Э. Препараты, блокирующие P2Y₁₂-рецепторы тромбоцитов: для практикующего врача / А. Э. Багрий // *Новости медицины и фармации*. — 2011. — № 368. — С. 7–114.
2. Волков, В. И. Когда назначать и как прерывать антитромбоцитарную терапии? Антитромбоцитарные препараты. Профилактика ишемической болезни сердца / В. И. Волков // *Ліки України*. — 2009. — № 133 (7). — С. 108–114.
3. Зиганишин, А. У. P2-рецепторы: перспективная мишень для будущих лекарств / А. У. Зиганишин, Л. Е. Заганишина. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 133 с.
4. Зиганишин, А. У. P2-рецепторы: теоретические предпосылки клинического воздействия / А. У. Зиганишин, Л. Е. Зиганишина, Дж. Бернсток // *Бюлл. эксперимент. биол. и мед.* — 2002. — № 134 (10). — С. 365–369.
5. Иванов, А. А. Молекулярное моделирование аденозиновых рецепторов / А. А. Иванов [и др.] // *Вестник Москов. ун-та. Химия*. — 2002. — № 43 (4). — С. 231–236.
6. Митина, Т. М. Антитромботическая и антиагрегантная активности нового P2Y₁-антагониста — соединения Sbt-119 ex и in vivo / Т. М. Митина [и др.] // *Вестник ВолгГМУ*. — 2011. — № 40 (4). — С. 19–21.
7. Спасов, А. А. Патент № 2377990 (приоритет изобретения 23 июля 2008 г.). Антитромботическое средство, влияющее на регуляцию функциональной активности тромбоцитов / А. А. Спасов [и др.] // *Бюллетень изобретений*. — 2010. — № 1.
8. Спасов, А. А. Патент № 2391345 (приоритет изобретения 23 июля 2008 г.). Дигидрохлорид-1-(3-морфолинопропил)-2-фенилмидазо[1,2-а]бензоимидазол, проявляющий свойства антагониста пуриновых P2Y₁-рецепторов, антиагрегантную и антитромботическую активности / А. А. Спасов [и др.] // *Бюллетень изобретений*. — 2010. — № 16.
9. Спасов, А. А. Антитромботические свойства нового антагониста пуриновых P2Y₁-рецепторов / А. А. Спасов [и др.] // *Бюл. ВНИЦ РАМН и АВО*. — 2006. — № 4. — С. 9–11.

СПАСОВ А. А., ЯКОВЛЕВ Д. С., БУКАТИНА Т. М.

Заключение

Исследование P2Y₁-рецепторов сейчас перестало иметь только фундаментальный интерес и приобрело выраженный клинический прикладной характер. Реальны перспективы появления антиагрегантных, противоопухолевых, противовоспалительных, противодиабетических и др. препаратов, механизм действия которых связан либо с блокадой P2Y₁-рецепторов, либо с их стимуляцией. Несмотря на то, что на сегодняшний день отсутствуют какие-либо зарегистрированные препараты, фармакологический эффект которых был бы связан со воздействием на данный подтип пуринового рецептора, известен ряд высокоселективных веществ блокаторов по отношению к P2Y₁-рецепторам, эффективных *in vitro* и *in vivo*. Это позволяет предположить возможность появления в ближайшем будущем новых лекарственных средств — антагонистов P2Y₁-рецепторов.

10. Anisimova, V. A. Synthesis and pharmacological activity of 9-R-2-halogenophenylimidazo[1,2-a]benzimidazoles / V. A. Anisimova [et al] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. — 2010. — № 44 (7). — P. 345–351.
11. Anisimova, V. A. Synthesis and pharmacological activity of 1-dialkyl(alkyl)aminoethyl-2,3-dihydroimidazo[1,2-a]benzimidazoles / V. A. Anisimova [et al] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. — 2010. — № 5. — P. 241–244.
12. Abbracchio, M. P. International Union of Pharmacology LVIII: Update on the P2Y G Protein-Coupled Nucleotide Receptors: From Molecular Mechanisms and Pathophysiology to Therapy / M. P. Abbracchio [et al] // *Pharmacol. Rev.* — 2006. — № 58 (3). — P. 281–341.
13. Alexander, S. P. H. Guide to Receptors and Channels (GRAC) / S. P. H. Alexander, A. Mathie, J. A. Peters // *Br. J. Pharmacol.* — 4th ed. — 2009. — P. 1–254.
14. Alvarenga, E. C. Low-intensity pulsed ultrasound-dependent osteoblast proliferation occurs by via activation of the P2Y receptor: role of the P2Y₁ receptor / E. C. Alvarenga [et al] // *J. Bone*. — 2010. — № 46 (2). — P. 355–362.
15. Amadio, S. P2Y₁ receptor switches to neurons from glia in juvenile versus neonatal rat cerebellar cortex / S. Amadio [et al] // *BMC Developmental Biology*. — 2007. — № 7. — P. 77.
16. Baurand, A. The P2Y(1) receptor as a target for new antithrombotic drugs: a review of the P2Y(1) antagonist MRS-2179 / A. Baurand, C. Gachet // *Cardiovascular drug reviews*. — 2003. — № 21 (1). — P. 67–76.
17. Boyer, A. L. 2-Chloro N6-methyl-(N)-methanocarba-2'-deoxyadenosine-3',5'-bisphosphate is a selective high affinity P2Y₁ receptor antagonist / A. L. Boyer [et al] // *British journal of pharmacology*. — 2002. — № 135 (8). — P. 2004–2010.
18. Broch-Lips, M. Effect of purinergic receptor activation on Na⁺-K⁺ pump activity, excitability, and function in depolarized skeletal muscle / M. Broch-Lips [et al] // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* — 2010. — № 298. — P. 1438–1444.
19. Burnstock, G. Purinergic signaling. *British journal of pharmacology* / G. Burnstock. — 2006. — № 147. — P.

20. Burnstock, G. Cellular distribution and functions of P2 receptor subtypes in different systems / G. Burnstock, G. E. Knight // *Int. Rev. Cytol.* — 2004. — № 240. — P. 31–304.
21. Burnstock, G. Pathophysiology and Therapeutic Potential of Purinergic Signaling / G. Burnstock // *Pharmacological reviews.* — 2006. — № 58 (1). — P. 58–86.
22. Burnstock, G. Unresolved issues and controversies in purinergic Signalling / G. Burnstock // *The Journal of physiology.* — 2008. — № 586 (14). — P. 3307–3312.
23. Buvinic, S. Nucleotide P2Y1 receptor regulates EGF receptor mitogenic signaling and expression in epithelial cells / S. Buvinic [et al] // *J. Cell Sci.* — 2007. — № 120. — P. 4289–4301.
24. Cattaneo, M. Antiaggregatory activity in human platelets of potent antagonists of the P2Y1 receptor / M. Cattaneo [et al] // *Pharmacol.* — 2004. — № 68 (10). — P. 1995–2002.
25. Camaioni, E. Structure–Activity Relationships of Bisphosphate Nucleotide Derivatives as P2Y1 Receptor Antagonists and Partial Agonists / E. Camaioni [et al] // *J. Med. Chem.* — 1999. — № 42 (9). — P. 1625–1638.
26. Coutinho-Silva, R. P2X and P2Y purinergic receptors on human intestinal epithelial carcinoma cells: effects of extracellular nucleotides on apoptosis and cell proliferation. *American journal of physiology* / R. Coutinho-Silva [et al] // *Gastrointestinal and liver physiology.* — 2005. — № 288 (5). — P. 1024–1035.
27. Cristalli, G. Purinergic receptors: new frontiers for novel therapies / G. Cristalli, H. Zimmermann // *Third Joint Italian–German Purine Club Meeting.* — 2010. — № 6 (1). — P. 47–48.
28. Crain, J. M. Expression of P2 nucleotide receptors varies with age and sex in murine brain microglia / J. M. Crain [et al] // *J. of Neuroinflammation.* — 2009. — № 6. — P. 24.
29. Doengi, M. New evidence for purinergic signaling in the olfactory bulb: A2A and P2Y1 receptors mediate intracellular calcium release in astrocytes / M. Doengi [et al] // *J. FASEB.* — 2008. — № 22. — P. 2368–2378.
30. Fagura, M. S. P2Y1-receptors in human platelets which are pharmacologically distinct from P2YADP-receptors / M. S. Fagura [et al] // *British Journal of Pharmacology.* — 1998. — № 124 (1). — P. 157–164.
31. Farret, A. P2Y purinergic potentiation of glucose-induced insulin secretion and pancreatic beta-cell metabolism / A. Farret [et al] // *J. Clin. Invest.* — 2004. — № 89. — P. 191–196.
32. Fischer, W. Increase of intracellular Ca²⁺ by P2X and P2Y receptor-subtypes in cultured cortical astroglia of the rat / W. Fischer [et al] // *J. Neuroscience.* — 2009. — № 160 (4). — P. 767–783.
33. Franke, H. P2 receptor-mediated stimulation of the PI3-K/Akt-pathway in vivo / H. Franke [et al] // *J. Glia.* — 2009. — № 57 (10). — P. 1031–1045.
34. Franco, M. Contribution of renal purinergic receptors to renal vasoconstriction in angiotensin II – induced hypertensive rats / M. Franco [et al] // *Am. J. Physiol Renal Physiol.* — 2011. — № 300. — P. 1301–1309.
35. Gachet, C. The platelet P2 receptors as molecular targets for old and new antiplatelet drugs / C. Gachet // *Pharmacology & Therapeutics.* — 2005. — P. 180–192.
36. Gachet, C. P2 receptors, platelet function and pharmacological implications / C. Gachet // *Thromb. Haemost.* — 2008. — № 99 (33). — P. 466–472.
37. Gallego, D. P2Y1 receptors mediate inhibitory purinergic neuromuscular transmission in the human colon / D. Gallego [et al] // *Musculoskelet Neuronal Interact.* — 2006. — № 4. — P. 125–127.
38. Gao, Z. G. 2,2'-Pyridylisatogen tosylate antagonizes P2Y1 receptor signaling without affecting nucleotide binding / Z. G. Gao [et al] // *Biochem Pharmacol.* — 2004. — № 68. — P. 231–237.
39. Gorman, M. W. Adenine nucleotide control of coronary blood flow during exercise / M. W. Gorman [et al] // *J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2010. — № 299. — P. H1981–H1989.
40. Govindan, S. Ca²⁺ signalling by P2Y receptors in cultured rat aortic smooth muscle cells / S. Govindan [et al] // *British Journal of Pharmacology.* — 2010. — № 160. — P. 1953–1962.
41. Grasa, L. P2Y(1) receptors mediate inhibitory neuromuscular transmission in the rat colon / L. Grasa [et al] // *British Journal of Pharmacology.* — 2009. — № 158 (6). — P. 1641–1652.
42. Gustafsson, A. J. ADP ribose is an endogenous ligand for the purinergic P2Y1 receptor / A. J. Gustafsson [et al] // *J. Molecular and Cellular Endocrinology.* — 2010. — № 333. — P. 8–19.
43. Jacobson, K. Purine and Pyrimidine (P2) / K. Jacobson, M. Jarvis, M. Williams // *Receptors as Drug Targets. J. Med. Chem.* — 2002. — № 45. — P. 4057–4093.
44. Jacobson, K. A. Structurally related nucleotides as selective agonists and antagonists at P2Y1 receptors / K. A. Jacobson [et al] // *J. of medicinal chemistry.* — 2001. — № 44 (3). — P. 340–349.
45. Kahner, B. N. Role of P2Y receptor subtypes in platelet-derived microparticle generation / B. N. Kahner, R. T. Dorsam, S. P. Kunapuli // *Front Biosci.* — 2008. — № 13. — P. 433–439.
46. Klein, C. Extracellular NAD(+) induces a rise in [Ca(2+)](i) in activated human monocytes via engagement of P2Y(1) and P2Y(11) receptors / C. Klein [et al] // *Cell. Calcium.* — 2009. — № 46 (4). — P. 263–272.
47. Krzemi, E. P. Expression and functional characterization of P2Y1 and P2Y12 nucleotide receptors in long-term serum-deprived glioma C6 cells / E. P. Krzemi [et al] // *The FEBS journal.* — 2007. — № 274 (8). — P. 1970–1982.
48. Lahiri, P. Platelet responsiveness to yohimbine hydrochloride and MRS2179 in the context of the interaction between collagen and epinephrine in acute coronary syndrome / P. Lahiri [et al] // *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* — 2009. — № 43 (1). — P. 105–110.
49. Lugo-Garcia, L. Expression of purinergic P2Y receptor subtypes by INS-1 insulinoma beta-cells: a molecular and binding characterization / L. Lugo-Garcia [et al] // *Eur. J. Pharmacol.* — 2007. — № 568. — P. 54–60.
50. Levchenko, T. P2Y1 and P2Y13 purinergic receptors mediate Ca²⁺ signaling and proliferative responses in pulmonary artery vasa vasorum endothelial cells / T. Levchenko [et al] // *Am. J. Physiol Cell Physiol.* — 2011. — № 300 (2). — P. 266–275.
51. Moore, D. Regional and cellular distribution of the P2Y(1) purinergic receptor in the human brain: striking neuronal localization / D. Moore [et al] // *The Journal of comparative neurology.* — 2000. — № 421 (3). — P. 374–384.
52. Moro, S. Role of the Extracellular Loops of G Protein-Coupled Receptors in Ligand Recognition: A Molecular Modeling Study of the Human P2Y1 Receptor / S. Moro, C. Hoffmann, K. A. Jacobson // *Biochemistry.* — 1999. — № 38 (12). — P. 3498–3507.
53. Mundell, S. J. Rapid resensitization of purinergic receptor function in human platelets / S. J. Mundell // *J.*

of Thrombosis and Haemostasis. — 2008. — № 6. — P. 1393–1404.

54. Nonne, Ch. MRS2500 [2-Iodo-N6-methyl-(N)-methanocarba-2-deoxyadenosine-3,5-bisphosphate], a Potent, Selective, and Stable Antagonist of the Platelet P2Y1 Receptor with Strong Antithrombotic Activity in Mice / Ch. Nonne [et al] // *The J. of pharmacology and experimental therapeutics*. — 2006. — № 316 (2). — P. 556–563.

55. Norambuena, A. P2Y1 receptor activation elicits its partition out of membrane rafts and its rapid internalization from human blood vessels: implications for receptor signaling / A. Norambuena [et al] // *J. Mol. Pharmacol.* — 2008. — № 74. — P. 1666–1677.

56. Petit, P. Evidence for two different types of P2 receptors stimulating insulin secretion from pancreatic B cell / P. Petit [et al] // *Br. J. Pharmacol.* — 1998. — № 125 (6). — P. 1368–1374.

57. Petit, P. P2 purinergic signalling in the pancreatic beta-cell: control of insulin secretion and pharmacology / P. Petit, A. D. Lajoix, R. Gross // *Eur. J. Pharm Sci.* — 2009. — № (372). — P. 67–75.

58. Reifel Saltzberg, J. M. Pharmacological characterization of P2Y receptor subtypes on isolated tiger salamander Muller cells / J. M. Reifel Saltzberg, K. A. Garvey, S. A. Keirstead // *Glia*. — 2003. — № 42. — P. 149–159.

59. Ricatti, M. J. Purinergic signals regulate daily S-phase cell activity in the ciliary marginal zone of the zebrafish retina / M. J. Ricatti [et al] // *J. Biol. Rhythms*. — 2011. — № 26. — P. 107–117.

60. Shabbir, M. Purinergic receptor-mediated effects of ATP in high-grade bladder cancer / M. Shabbir [et al] // *BJU International*. — 2008. — № 101. — P. 106–112.

61. Shen, J. ADP stimulates human endothelial cell migration via P2Y1 nucleotide receptor-mediated mitogen-activated protein kinase pathways / J. Shen [et al] // *Circ. Res.* — 2008. — № 102 (4). — P. 448–456.

62. Siow, N. L. ATP induces synaptic gene expressions in cortical neurons: transduction and transcription control via P2Y1 receptors / N. L. Siow [et al] // *Molecular pharmacology*. — 2010. — № 78 (6). — P. 1059–1071.

63. Horiuchi, T. Comparison of P2 Receptor Subtypes Producing Dilation in Rat Intracerebral Arterioles / T. Horiuchi [et al] // *Stroke*. — 2003. — № 34. — P. 1473–1478.

64. Song, Z. Role of purinergic P2Y1 receptors in

СПАСОВ А. А., ЯКОВЛЕВ Д. С., БУКАТИНА Т. М.

regulation of vasopressin and oxytocin secretion / Z. Song, D. A. Gomes, W. Stevens // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2009. — № 297 (2). — P. 478–484.

65. Sonja Buvinic, M. P2Y1 and P2Y2 receptor distribution varies along the human placental vascular tree: role of nucleotides in vascular tone regulation / M. Sonja Buvinic [et al] // *J. Physiol.* — 2006. — № 573 (2). — P. 427–443.

66. Stojilkovic, S. S. Signaling by purinergic receptors and channels in the pituitary gland / S. S. Stojilkovic [et al] // *Mol. Cell Endocrinol.* — 2010. — № 314 (2). — P. 184–191.

67. Von Kugelgen, I. Pharmacological profiles of cloned mammalian P2Y-receptor subtypes / I. Von Kugelgen [et al] // *Pharmacol. Ther.* — 2005. — № 110. — P. 415–432.

68. Ward, M. M. Subsets of retinal neurons and glia express P2Y1 receptors / M. M. Ward, E. L. Fletcher // *Neuroscience*. — 2009. — № 160 (2). — P. 555–566.

69. Weng, J. Y. Functional characterization of P2Y1 versus P2X receptors in RBA-2 astrocytes: elucidate the roles of ATP release and protein kinase C / J. Y. Weng, T. T. Hsu, S. H. Sun // *Journal of Cellular Biochemistry*. — 2008. — № 104 (2). — P. 554–567.

70. White, N. P2 receptors and cancer / N. White, G. Burnstock // *Pharmacological Reviews*. — 2006. — № 58. — P. 58–86.

71. Wongkhantee, S. Mechanical stress induces osteopontin via ATP/P2Y1 in periodontal cells / S. Wongkhantee, T. Yongchaitrakul, P. Pavasant // *J. Dent Res.* — 2008. — № 87 (6). — P. 564–568.

72. Wood, J. D. The enteric purinergic P2Y1 receptor / J. D. Wood // *Curr Opin Pharmacol.* — 2006. — № 6 (6). — P. 564–570.

73. Zeng, J. W. P2Y1 receptor-mediated glutamate release from cultured dorsal spinal cord astrocytes / J. W. Zeng [et al] // *J. Neurochem.* — 2008. — № 106 (5). — P. 2106–2118.

74. Zeng, J. W. Inhibition of ATP-induced glutamate release by MRS2179 in cultured dorsal spinal cord astrocytes / J. W. Zeng [et al] // *J. Pharmacology*. — 2008. — № 82 (4). — P. 257–263.

75. Zeng, J. W. Role of P2Y1 receptor in astroglia-to-neuron signaling at dorsal spinal cord / J. W. Zeng [et al] // *J. Neurosci Res.* — 2009. — № 87 (12). — P. 2667–2676.