

# От пуринов к пуринергической сигналикации: молекулярные функции и заболевания человека

*Реферативный перевод*

**Источник:** Signal Transduction and Targeted Therapy (2021) 6:162. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00553-z>

Zh. Huang, Na Xie, P. Illes, F. Di Virgilio, H. Ulrich, A. Semyanov, A. Verkhratsky, B. Sperlagh, Shu-G. Yu, C. Huang, Y. Tang

Пурины и их производные, в первую очередь аденозин и АТФ (аденозинтрифосфат), являются ключевыми молекулами, контролирующими внутриклеточный энергетический гомеостаз и синтез нуклеотидов. Выступая в качестве химических посредников, пурины поддерживают пуринергическую передачу сигналов в тканях. Действуя как эндогенные лиганды, пурины связываются с пуринорецепторами и активируют их, опосредуя внеклеточную коммуникацию, называемую «пуринергической сигнализацией». Пуринергическая сигнализация перекрестно связана с разнообразными трансмиттерами для координации таких клеточных процессов как пролиферация, дифференцировка, миграция, апоптоз, что критически важно для правильного функционирования организма. Патологическое нарушение регуляция пуринергической передачи сигналов способствует развитию различных заболеваний, включая нейродегенерацию, системные воспалительные процессы и рак (рис. 1). Данные исследований свидетельствуют о том, что пуринорецепторы являются потенциальными терапевтическими мишенями, при этом специфические агонисты и антагонисты этих рецепторов демонстрируют выраженный терапевтический потенциал, который можно использовать в лечении многих заболеваний. Есть данные, что сбалансированная диета и корректная фитотерапия способствуют восстановлению метаболизма пуринов. Это подчеркивает важность здорового образа жизни для профилактики и облегчения заболеваний

человека, делая акцент на глобальную роль пуринов в поддержании здоровья, как базиса для активного долголетия, а глубокое понимание молекулярных механизмов пуринергической сигнализации открывает новые и обнадеживающие перспективы в лечении самых разных заболеваний.

Пурины и пиримидины давно признаны фундаментальными элементами биоэнергетики. В 1972 г. Джеффри Бернсток предложил гипотезу пуринергической нейротрансмиссии, в которой АТФ описывался как неадренергический и нехолинергический нейротрансмиттер [1]. Гипотеза не убедила большинство исследователей, но была принята после молекулярного клонирования пуринергических рецепторов, опосредующих передачу сигнала в ответ на влияние внеклеточных пуринов. Пуринергические рецепторы делят на два класса в зависимости от селективности к агонистам: аденозиновые рецепторы P1 и нуклеотидные рецепторы P2 (также известные как АТФ-рецепторы) [2]. Эти рецепторы, в свою очередь, подразделяются на несколько подтипов, которые диффузно экспрессируются в тканях и активируются различными производными пурина, выполняя специфические физиологические функции.

## **ПУРИНОСОМА — ОСНОВНАЯ ЕДИНИЦА РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА ПУРИНОВ**

Метаболизм пуринов влияет на широкий спектр клеточных процессов, включая производство энергии и синтез ДНК/РНК. АТФ гидролизует до адено-

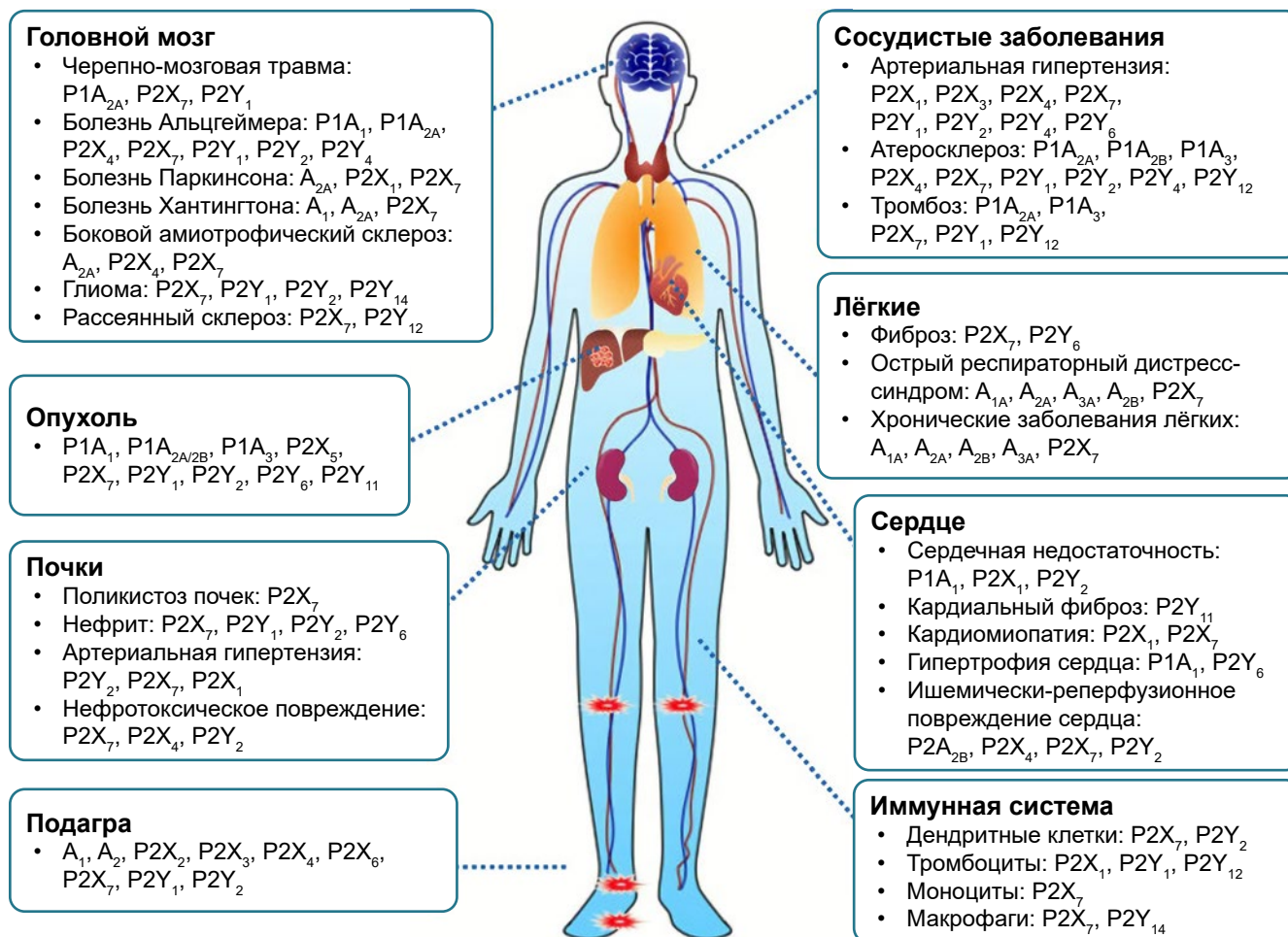


Рис. 1. Роль пуринергической сигнализации в развитии заболеваний человека\*

\* Пуринорецепторы P1, P2X и P2Y диффузно экспрессируются во всех органах и системах человека (система кровообращения, нервная, дыхательная, иммунная, мочевыделительная системы и другие). Нарушение регуляции функции пуринорецепторов приводит к различным заболеваниям, включая неврологические, ревматические, сердечно-сосудистые, онкологические и другие.

зиндифосфата (АДФ) и далее до аденозинмонофосфата (АМФ), удовлетворяя потребность в энергии и облегчая сборку нуклеотидов. Циклический АМФ (цАМФ) является вездесущим вторичным посредником, контролирующим клеточные физиологические реакции, что еще раз подчеркивает решающую роль метаболизма пуринов для правильного функционирования организмов. АМФ может дефосфорилироваться в аденозин, который транспортируется через клеточную мембрану с помощью уравнивающих и концентрирующих нуклеозидных транспортеров (соответственно, ENT и CNT) [3]. Транслокация аденозина с помощью ENT выравнивает уровни аденозина по обе стороны клеточной мембраны, в то время как CNT транспортирует аденозин против градиента концентрации в клетки, поддерживая его высокий внутриклеточный уровень [3]. Аденозин может быть переработан в виде АМФ путем фосфорилирования, или преобразован в мочевую кислоту в качестве конечного метаболита. С другой стороны,

АМФ и другие пуриновые нуклеотиды (т. е. инозинмонофосфат, ксантозинмонофосфат и гуанозинмонофосфат) могут превращаться друг в друга, тем самым создавая клеточный пуриновый пул. Существует два основных пути, поддерживающих этот пул, а именно каскад восстановления и синтез de novo [4]. Путь восстановления обеспечивает источник пуриновых нуклеотидов путем переработки деградированных оснований. В этом каскаде АМФ может генерироваться из аденина, причем эта реакция катализируется аденин фосфорибозилтрансферазой [5]. Такие пуриновые нуклеотиды как инозинмонофосфат и гуанозинмонофосфат могут быть получены из гипоксантина и гуанина соответственно — эти процессы катализируются гипоксантин-гуанин фосфорибозилтрансферазой [6]. Клетки предпочитают путь восстановления синтеза de novo из-за более низких энергетических затрат. Кроме того, во многих клеточных популяциях (например, в клетках головного мозга или костного мозга) отсутствует каскад синтеза пуринов de novo,

поэтому они зависят от единственно возможного пути поддержания пула пуринов — каскада восстановления [7, 8].

Чтобы улучшить использование субстратов и ускорить реакции метаболизма, метаболические ферменты имеют тенденцию образовывать комплексы, известные как метаболоны, часто встречающиеся во многих метаболических путях, включая гликолиз и цикл трикарбоновых кислот. Например, метаболон гликолиза, называемый гликосомой, представляет собой мультиферментную структуру, содержащую ряд гликосомальных ферментов, включая гексокиназу, фосфофруктокиназу, аланин-трансферазу и многие другие [9]. Похожий метаболон также существует в пути синтеза пуринов *de novo*. С помощью техники флуоресцентной визуализации было обнаружено, что все шесть ферментов в пути *de novo* взаимодействуют друг с другом, образуя метаболон, определяемый как «пуриносомма» [10]. В ответ на ограниченное поступление пуринов пуриносомма способствует выработке пуринов для удовлетворения потребности клетки в питательных веществах. Помимо шести ферментов синтеза *de novo*, в пуриносому включены некоторые другие пуриновые ферменты, что указывает на то, что пуриносомма участвует не только в синтезе пуринов *de novo*, но и вносит вклад в другие пути метаболизма пуринов. Формирование пуриносомы происходит в высшей степени динамично — недостаток пуринов в среде способствует сборке пуриносомы, тогда как среда, богатая пуринами, способствует диссоциации ферментного комплекса [10]. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что клетки способны воспринимать внеклеточный уровень пуринов и регулировать синтез пуринов *de novo*, оперативно контролируя сборку и оборот пуриносомы.

### **НАРУШЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ПУРИНОВ ВЫЗЫВАЕТ ГИПЕРУРИКЕМИЮ И ПОДАГРУ**

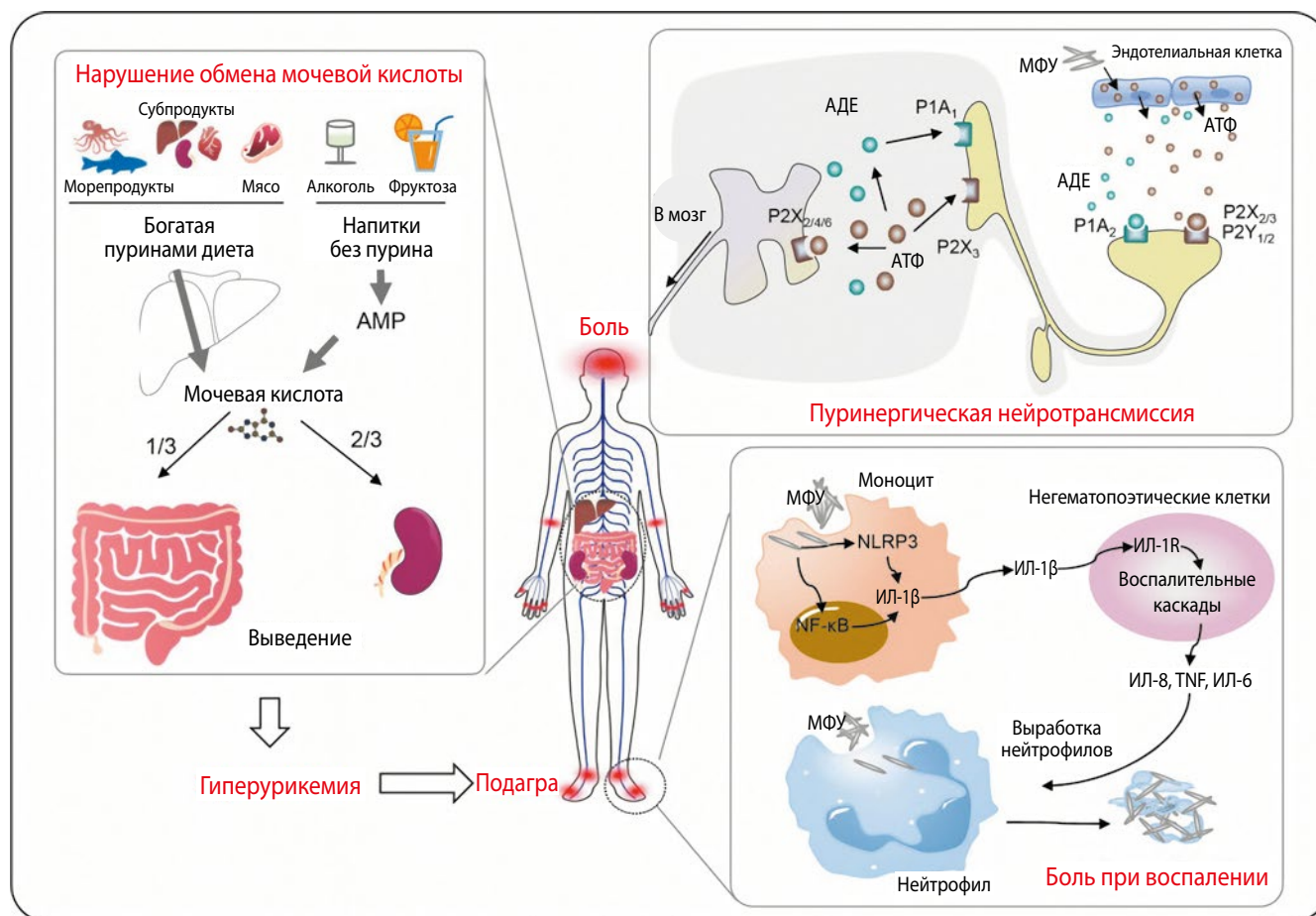
Подагра, архетипическое заболевание, связанное с пуринами, поражает, по разным данным, от 2,7 до 6,7 % населения нашей планеты, что вполне коррелирует с западным образом жизни [11]. В материковом Китае заболеваемость подагрой составляла 0,9 % в 2000–2005 гг., но увеличилась до 1,4 % в 2011–2014 гг., что отражает быструю трансформацию образа жизни [12]. Гиперурикемия (повышенный уровень мочевой кислоты) — это ключевой фактор риска подагры, потому что избыток мочевой кислоты приводит к кристаллизации моновалентной формы урата (МФУ) и его отложению в суставах [13]. Урат является конечным продуктом метаболизма пуринов, и поэтому нарушение регуляции катаболизма пуринов вызывает развитие подагры (рис. 2).

Существует множество причин, объясняющих гиперурикемию и отложение МФУ. Во-первых, богатая пуринами диета вызывает перепроизводство уратов. Продукты, богатые пуринами (красное мясо, субпродукты, морепродукты, алкоголь) повышают уровень мочевой кислоты (уратов) в крови, что может вызывать кристаллизацию в суставах и почках, приводя к подагре. Алкоголь и некоторые напитки, содержащие фруктозу, также являются факторами риска из-за их способности ускорять распад нуклеотидов, тем самым увеличивая образование уратов [14]. Преобразование фруктозы в фруктозо-1-фосфат требует потребления АТФ, что повышает уровня АМФ. Накопленный АМФ встраивается в пуриновый катаболический путь производства мочевой кислоты [15]. Аналогичным образом, метаболизм алкоголя в печени потребляет большое количество АТФ для образования АМФ и, таким образом, способствует гиперурикемии [16].

Во-вторых, потеря уриказы (также известной как уратоксидаза) также, вероятно, приводит к отложению МФУ. У большинства организмов, от бактерий до млекопитающих, урат окисляется ферментом уриказой с образованием растворимого аллантаина, чтобы избежать отложения. Однако у людей и некоторых приматов этот фермент утрачен [17]. Учитывая, что урат также выполняет функцию антиоксиданта, утрата уриказы обеспечивает человеку существенные преимущества в борьбе с заболеваниями, связанными с окислительным стрессом, такими как нейродегенерация и рак [18]. С этой точки зрения, при лечении подагры рекомбинантной уриказой следует учитывать потенциальные побочные эффекты [19].

В-третьих, нарушение выведения мочевой кислоты почками и кишечником в значительной степени способствует гиперурикемии. Примерно две трети мочевой кислоты выводится почками, а оставшаяся треть приходится на желудочно-кишечный тракт [20]. Это объясняет, почему пожилые люди, у которых нарушена функция почек и желудочно-кишечного тракта, чаще страдают подагрой.

Определение гиперурикемии основано на лабораторных данных, показывающих, что ураты начинают кристаллизоваться при концентрации 0,41 ммоль/л. Эти кристаллы, известные как отложения МФУ, могут быть обнаружены с помощью микроскопии и использованы в качестве золотого стандарта для диагностики подагры. Предпочтительными местами отложения МФУ являются суставы, включая первый плюснефаланговый сустав, голеностопный, коленный, а также такие органы, как почки. Отложение МФУ приводит к острому воспалению и интенсивной боли, известной как обострение подагры. Воспаление в пораженных суставах в значительной степени вызвано привлечением иммунных клеток



**Рис. 2.** Нарушение регуляции пуринового обмена способствует развитию подагры и боли\*

\* Нарушение регуляции пуринового обмена способствует развитию подагры и боли. Диета, богатая пуринами, и употребление ряда напитков, включая мясо, морепродукты, субпродукты, пиво и напитки, содержащие фруктозу, приводят к повышению уровня мочевой кислоты в сосудах, что называется гиперурикемией. Отложение уратов в суставах вызывает местное воспаление. При этом аденозин и АТФ действуют как нейромедиаторы, активируя пуринергические рецепторы P1 и P2 соответственно. Эта пуринергическая нейротрансмиссия вызывает сильную боль у больных подагрой. NLRP3 — белок иммунного ответа, основной компонент инфламсомы (ранний феномен воспалительного процесса), МФУ — мононатрий урата, АТФ — аденозинтрифосфат, АМФ — аденозинмонофосфат, АДЕ — аденозин, ИЛ — интерлейкины (белки-цитокины иммунного ответа), TNF — фактор некроза опухоли (внеклеточный белок, провоспалительный цитокин), NF-κB — ядерный фактор «каппа-бэ» (транскрипционный фактор, запускающий экспрессию специфических генов, контролируя иммунный ответ, воспаление и клеточный рост).

(инфильтрирующих макрофагов, нейтрофилов и др.) и накоплением провоспалительных цитокинов (интерлейкин (ИЛ) — 1β, ИЛ-6 и др.) [21].

Исследования показали, что кристаллы МФУ связываются с мембранами макрофагов, провоцируя отток калия и активацию инфламсомы NLRP3 [22]. Далее происходит ауторасщепление прокаспазы-1 в ее зрелую форму, которая трансформирует про-ИЛ-1β в биоактивный ИЛ-1β. После активации макрофагов нейтрофилы привлекаются к очагам воспаления, где они генерируют активные формы кислорода и провоспалительные цитокины, усиливая обострение подагры [23]. Обострение подагры является самоограничивающимся процессом, который разрешается примерно в течение 10 дней, вероятно, из-за накопления противовоспалительных цитокинов, включая ИЛ-10, трансформирующий фактор роста бета 1 и ИЛ-

37 [24, 25]. Нейтрофилы также играют роль в разрешении обострения подагры. Реализуя защитную реакцию, нейтрофилы высвобождают свое содержимое, включая хромосомную ДНК и белки, чтобы сформировать нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs), которые удаляют провоспалительные цитокины — ИЛ-6 и фактор некроза опухоли [26]. Несмотря на временное облегчение приступа подагры, кристаллы МФУ не удаляются из пораженных суставов, а связываются с NETs и собираются в соединительной ткани, образуя подкожные узелки, называемые тофусами, наличие которых указывает на позднюю стадию подагры, известную как тофусная подагра [27]. Развитие тофусной подагры после первого приступа подагры может занять десятилетия, и для купирования этого тяжелого заболевания эффективна уратснижающая терапия [28]. Тофусная подагра часто

сопровождается повреждением костей. Было показано, что кристаллы МФУ откладываются на синовиальной поверхности, вызывая кортикальный разрыв, который затем прогрессирует в эрозию кости [29]. Исследования показали, что кристаллы МФУ снижают жизнеспособность остеобластов, но усиливают развитие остеокластов, что приводит к резорбтивному состоянию и последующей потере костной массы [30, 31]. Крупномасштабное эпидемиологическое исследование выявило 20 %-ное увеличение риска остеопороза у пациентов с подагрой по сравнению с контрольной группой без подагры [32].

Пожизненная терапия, направленная на снижение уровня уратов, является ключом к лечению подагры. Было разработано несколько фармакологических стратегий для достижения целевых уровней уратов в крови. Мочевая кислота образуется путем окисления ксантина ксантиноксидазой, поэтому в настоящее время в качестве средств первой линии защиты используются два ингибитора ксантиноксидазы — аллопуринол и фебуксостат [33]. Аллопуринол является аналогом гипоксантина, который связывает и ингибирует ксантиноксидазу [34]. Помимо снижения продукции мочевой кислоты, ингибирование ксантиноксидазы приводит к накоплению гипоксантина, который включается в путь утилизации пуринов. В клинической практике повышение дозы аллопуринола показало лучший эффект снижения уровня уратов без увеличения побочных реакций [35].

У пациентов с гиперурикемией и хроническими заболеваниями почек фебуксостат оказался лучшим выбором, чем аллопуринол, для замедления развития почечной недостаточности [36]. Однако фебуксостат может вызывать острое повреждение печени [37]. Более того, лечение фебуксостатом приводило к более высокой смертности у пациентов с подагрой и сердечно-сосудистыми заболеваниями по сравнению с аллопуринолом [38]. В совокупности эти наблюдения свидетельствуют о том, что оба ингибитора ксантиноксидазы обладают лечебной эффективностью, хотя не следует игнорировать потенциальные побочные эффекты. Помимо тяжести заболевания, варианты терапии зависят от ряда факторов, включая индивидуальную генетическую изменчивость и состояние почек, печени и сердечно-сосудистой системы [39].

## ПУРИНОРЕЦЕПТОРЫ В ПАТОФИЗИОЛОГИИ

Пуринам свойственны выраженные патофизиологические эффекты, опосредованные воздействием на пуринергические рецепторы, концепция которых была предложена Джеффри Бернстоком.

Пуринергические рецепторы делятся на два подсемейства — P1 и P2. P1 представляют собой рецеп-

торы, сопряженные с G-белком, которые распознают аденозин как эндогенный лиганд и участвуют во многих физиологических реакциях, например, модуляция сердечного ритма [40].

В начале 1990-х годов четыре члена семейства рецепторов P1 —  $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$  и  $A_3$  — были клонированы и описаны [41]. Эти подтипы рецепторов P1 проявляют различное сродство к аденозину, различную фармакологию и тканеспецифические паттерны экспрессии [42]. Рецепторы  $A_1$ ,  $A_{2A}$  и  $A_3$  имеют высокое сродство к аденозину, поэтому они активируются его физиологическим внеклеточным уровнем (нМ). Напротив, активация  $A_{2B}$  требует гораздо более высокой концентрации аденозина (мкМ), что, по-видимому, связано с такими патологическими состояниями как гипоксия [43]. Рецепторы  $A_1$  в основном локализованы в нервной системе, в то время как остальные три подтипа диффузно экспрессируются в широком спектре тканей, включая нервную систему, селезенку, толстую кишку, яички и другие [44]. Функционально аденозиновые рецепторы связаны с различными G-белками, модулирующими активность аденилатциклазы (АЦ) положительным или отрицательным образом, влияя на цитоплазматический цАМФ. Рецепторы  $A_1$  и  $A_3$  связаны с белком  $G_i$ , поэтому их активация подавляет АЦ с последующим снижением уровня цАМФ. Напротив,  $A_{2A}$  и  $A_{2B}$  связаны с белком  $G_s$ , который стимулирует АЦ. Внеклеточный аденозин активирует рецепторы  $A_1$  и  $A_2$  сердечных миоцитов и фибробластов, соответственно, что приводит к снижению продукции цАМФ в миоцитах, но повышению уровня цАМФ в фибробластах, предотвращая гипертрофию миокарда и фиброз [45]. Хотя патофизиологическая функция рецепторов P1 чрезвычайно сложна, аденозин обычно считается «защитным» сигналом от стрессовых состояний, поскольку снижает энергозатратную активность и усиливает поступление питательных веществ [46]. Это свойство делает рецепторы P1 привлекательными мишенями для лечения сердечно-сосудистых и других заболеваний [47].

Семейство рецепторов нуклеотидов P2 делится на два подсемейства: P2X (АТФ-зависимые ионные каналы) и P2Y (метаботропные GPCRs) [48].

Рецепторы P2Y активируются несколькими нуклеотидами, включая АТФ, уридинтрифосфат, АДФ и уридиндифосфат, тогда как P2X активируются только АТФ. В 1993 г. были клонированы первые два рецептора P2Y, а годом позже — первые два рецептора P2X [49, 50]. На сегодняшний день распознаны семь видов группы рецепторов P2X ( $P2X_{1-7}$ ) и восемь видов рецепторов P2Y ( $P2Y_{1, 2, 4, 6, 11, 12, 13}$  и  $P2Y_{14}$ ). По аналогии с аденозиновыми рецепторами P1, рецепторы P2Y связываются со спе-

цифическими белками G, дифференциально регулируя нижестоящие эффекторы.

Рецепторы P2X являются архетипическими катионными каналами, управляемыми АТФ [51]. Причем АТФ является единственным известным физиологическим агонистом [52]. Семейство рецепторов P2X состоит из семи видов (P2X<sub>1-7</sub>), которые собираются в виде гомо- или гетеротримерных комплексов. Среди гомотримерных рецепторов P2X, P2X<sub>1</sub> показывают наибольшее сродство к АТФ, активируясь при концентрациях АТФ < 1 мкМ [53]. Наименее чувствительным является рецептор P2X<sub>7</sub>, которому для активации требуются концентрации АТФ в стомикромолярном диапазоне [54]. Высокая чувствительность к АТФ часто сопровождается быстрой десенсibilизацией, тогда как менее чувствительные подтипы могут демонстрировать стойкую активацию. В соответствии с чувствительностью к АТФ и временем десенсibilизации гомотримерные рецепторы P2X подразделяются на четыре подтипа. Первый тип включает рецепторы P2X<sub>1</sub> и P2X<sub>3</sub>, которые наиболее чувствительны к АТФ и быстро десенсibilизируются. Ко второму типу относятся рецепторы P2X<sub>2</sub> и P2X<sub>5</sub> с более низкой чувствительностью к АТФ и более медленной десенсibilизацией. Рецептор P2X<sub>4</sub> относится к третьему типу, обладающему аналогичной чувствительностью к АТФ, но более длительной десенсibilизацией по сравнению со вторым типом. Последний тип, представленный рецепторами P2X<sub>7</sub>, демонстрирует самую низкую чувствительность к АТФ и практически не вызывает десенсibilизации [55]. Рецептор, P2X<sub>6</sub>, не относится к этим группам, поскольку не способен образовывать гомотримерные рецепторы [56]. Подобно рецепторам P2Y, рецепторы P2X могут активироваться аналогами АТФ с различной активностью. Структурное разнообразие рецепторов P2X обеспечивает широкий репертуар физиологических функций в различных тканях. Для лечения заболеваний человека разработан ряд агонистов и антагонистов P2-рецепторов.

Например, тиенотетрагидропиридины, необратимо инактивирующие P2Y<sub>12</sub>-рецепторы, используются в качестве антитромботических препаратов [57]. Антагонист P2X<sub>3</sub>-рецепторов, AF-219, проходит вторую фазу клинических испытаний для лечения рефрактерного хронического кашля [58]. Обоснованием этих успешных испытаний является то, что АТФ, как правило, действует как провоспалительный сигнал, поэтому антагонисты, нацеленные на P2-рецепторы, могут способствовать сдерживанию воспаления. Напротив, аденозин ограничивает воспалительную реакцию, что указывает на терапевтический потенциал агонистов P1-рецепторов в качестве противовоспалительных средств. Неадеинозон, агонист

A<sub>1</sub>-рецепторов, продемонстрировал положительные результаты при лечении сердечной недостаточности [59]. Другим перспективным применением модуляторов пуринергической сигнализации является терапия рака. Во-первых, воспалительное микроокружение долгое время считалось отличительной чертой рака [60]. Во-вторых, микроокружение опухоли богато АТФ и аденозином [61]. В-третьих, в опухолях самых разных типов экспрессируется множество пуринергических рецепторов [62]. Более того, АТФ и аденозин играют решающую роль в энергетическом метаболизме раковых клеток. После разрозненных сообщений о противораковой активности некоторых пуринергических агонистов [63, 64] было начато несколько клинических испытаний для проверки эффективности антагонистов A<sub>2A</sub>, как по отдельности, так и в сочетании с другими известными химиотерапевтическими или иммунными блокаторами в терапии рака [65, 66]. Открытие такого факта, что микроокружение опухоли богато внеклеточным АТФ [67] послужило толчком к проведению испытаний, призванных использовать эту особенность опухоли для повышения селективности противораковых препаратов [68].

## **ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ НЕЙРОТРАНСМИССИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

В настоящее время хорошо известно, что АТФ является полноценным нейротрансмиттером, способствующим многочисленным функциям нервной системы (рис. 3) [69].

В нейрональных окончаниях АТФ накапливается в синаптических везикулах с помощью везикулярного переносчика нуклеотидов VNUT/SLC17A9. Этот переносчик широко экспрессируется в мозге и играет центральную роль в поддержании концентрации АТФ (> 100 мкМ) в просвете везикул. Генетическая делеция VNUT подавляет экзоцитоз АТФ в линии клеток PC12, что позволяет предположить, что везикулярное хранение АТФ, опосредованное VNUT, является критическим пуринергическим механизмом передачи [70]. Насыщенные АТФ везикулы секретируются путем экзоцитоза, регулируемого Ca<sup>2+</sup>; обработка хелаторами Ca<sup>2+</sup> или ингибиторами экзоцитоза прекращает высвобождение АТФ [71]. Этот Ca<sup>2+</sup>-зависимый экзоцитоз везикул АТФ можно непосредственно наблюдать на живых клетках [72]. Также сообщалось о нескольких невезикулярных механизмах высвобождения АТФ, включая крупные трансмембранные каналы, представленные рецепторами P2X<sub>7</sub>, коннексинами или паннексинами [73, 74]. АТФ часто выделяется в сочетании с другими медиаторами, в частности, с норадреналином (НА), ацетилхолином (АХ)

и с глутаматом в коре головного мозга [74, 75]. АТФ, действующий как единственный нейромедиатор, был обнаружен только в медиальной части поводка (хабнулярного ядра), которое является структурой промежуточного мозга [76].

Часть высвобождаемого АТФ активирует рецепторы P2 аутокринным / паракринным образом. Оставшийся внеклеточный АТФ подвергается гидролизу с образованием дифосфатных нуклеотидов, которые взаимодействуют с рецепторами P2Y, или далее рас-

щепляется с образованием аденозина, тем самым включая рецепторы P1. Таким образом, АТФ или его метаболиты стимулируют пара- или аутокринно пуринергические рецепторы на пост- или пресинаптической мембране соответственно.

Аберрантная пуринергическая передача в головном мозге (нарушение нормального процесса межклеточной передачи сигналов) способствует патогенезу нейродегенеративных расстройств (болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Паркинсона,

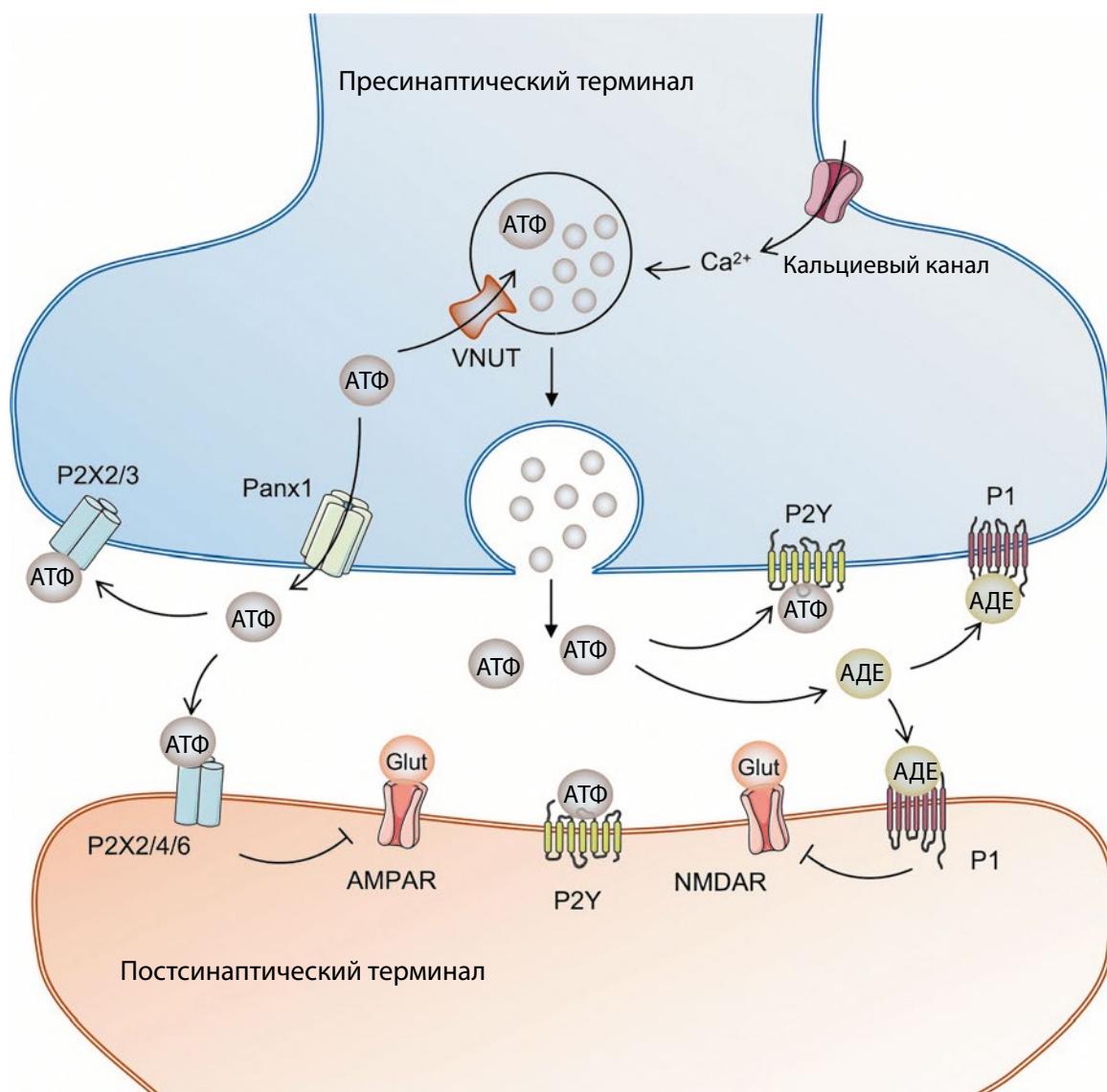


Рис. 3. Пуринергическая нейротрансмиссия в нервной системе\*

\* Пуринорецепторы опосредуют нейротрансмиссию в нервной системе. В пресинаптическом окончании АТФ накапливается в везикулах благодаря транспортеру VNUT, а затем высвобождается в зависимости от концентрации  $Ca^{2+}$  или экспортируется другими каналами, такими как Panx1, независимо от  $Ca^{2+}$ . С одной стороны, внеклеточный АТФ и продукт его распада аденозин активируют пуринорецепторы в пресинаптическом окончании. Этот эффект может регулировать высвобождение других медиаторов, таких как глутамат. С другой стороны, внеклеточный АТФ и аденозин могут взаимодействовать с постсинаптическими пуринорецепторами, тем самым регулируя возбудимость нервных клеток. Это событие также может приводить к интернализации AMPAR и NMDA-рецепторов на постсинаптической мембране, что приводит к снижению тока, индуцированного глутаматом. Интернализация — это процесс, при котором рецепторы, расположенные на клеточной мембране, перемещаются внутрь клетки в специальных пузырьках, называемых эндосомами. VNUT — транспортер везикулярных нуклеотидов, Panx1 — паннексин 1, АДЕ — аденозин, AMPAR — рецептор AMPA, NMDA — рецептор N-метил-D-аспартата.

болезнь Хантингтона и т. д.) и нейропсихиатрических заболеваний (депрессия, тревога, наркомания и т. д.) [77–80]. БА проявляется нарушением познавательной способности, памяти и в настоящее время неизлечима. Отложение агрегатов  $\beta$ -амилоида обычно считается основной причиной потери нейронов и снижения уровня АХ в головном мозге, в то время как другие факторы, гиперфосфорилирование белка тау и нарушенный метаболизм ионов металлов также рассматриваются. Многочисленные исследования, сфокусированные на пуриnergической сигнализации, дают другое объяснение БА. Как упоминалось выше, два рецептора P1  $A_1$  и  $A_{2A}$  ответственны за эффекты аденозина в головном мозге. Предполагается, что роли  $A_1$  и  $A_{2A}$  в прогрессировании БА могут быть различны, так как при лечении агонистами или антагонистами P1 наблюдались как положительные, так и негативные эффекты. У пациентов с БА экспрессия рецепторов  $A_1$  снижена в гиппокампе, а экспрессия  $A_{2A}$  повышена на периферии [81, 82]. Исследование показало, что рецепторы  $A_1$  локализуются совместно с агрегатами  $\beta$ -амилоида, а активация этих рецепторов стимулирует выработку растворимого  $\beta$ -амилоида [83]. Напротив, генетическое подавление рецепторов  $A_{2A}$  у мышей защищает от БА, в то время как активация этого пуринорецептора вызывает дефицит памяти [84, 85]. Эти данные свидетельствуют о том, что  $A_1$  и  $A_{2A}$  могут выполнять противоположные функции во время прогрессирования БА. Эпидемиологические исследования показывают, что кофеин, неселективный антагонист рецепторов  $A_1$  и  $A_{2A}$ , эффективно улучшает когнитивные функции и снижает риск развития БА [86, 87]. Это наблюдение дает основания предполагать, что негативный эффект рецептора  $A_{2A}$  может преобладать над защитным действием рецептора  $A_1$  при прогрессировании БА. Необходимо обратить внимание на сообщения о том, что кофеин поддерживает гематоэнцефалический барьер, предотвращая отложение  $\beta$ -амилоида в мозге [88]. Учитывая, что проницаемость гематоэнцефалического барьера зависит от множества факторов, защитный эффект кофеина может быть обусловлен и другими потенциальными мишенями, помимо рецепторов P1. Например, нарушение регуляции метаболизма АТФ, вызванное нарушением функции митохондрий, является одной из распространенных особенностей мозга при БА [89].

Депрессия — это нейропсихиатрическое заболевание, которое проявляется стойким снижением настроения, потерей интереса к жизни (ангедонией) и негативно влияет на сон, аппетит, самооценку и общее состояние здоровья. Эпидемиологические исследования показывают, что умеренное потребление кофе снижает риск депрессии, тогда как чрез-

мерное потребление может ухудшить ситуацию [90, 91]. Это наблюдение подчеркивает возможное участие аденозиновых рецепторов  $A_1$  и  $A_{2A}$  в механизмах развития депрессии. Введение ингибитора рецептора  $A_{2A}$  уменьшает проявления депрессии у крыс, что указывает на следующий факт — активация рецептора  $A_{2A}$  способствует депрессивному поведению [92]. Отмечено, что крысы с повышенной экспрессией рецептора  $A_{2A}$  демонстрируют депрессивные формы поведения [93]. Напротив, стимуляция рецептора  $A_1$  оказывает антидепрессивное действие. Активация рецепторов  $A_1$  увеличивает активность перемещения, а нокаутирование рецепторов  $A_1$  вызывает неподвижность и другие депрессивные проявления у мышей [94]. Лишение сна, широко используемый метод временного облегчения депрессии, действует посредством активации рецепторов  $A_1$  [95]. Следовательно, умеренное потребление кофеина преимущественно ингибирует рецепторы  $A_{2A}$ , оказывая антидепрессивный эффект, тогда как высокая доза кофеина ингибирует рецепторы  $A_1$ , тем самым ухудшая депрессивные симптомы. Это подтверждается тем, что антагонисты  $A_{2A}$  усиливают эффекты классических антидепрессантов. Два антидепрессанта, агомелатин и тианептин, были испытаны в сочетании с селективным ингибитором рецепторов  $A_1$  (DPCPX) и рецепторов  $A_{2A}$  (DMPX). Такая комбинация показала, что совместное лечение с DMPX, но не с DPCPX, увеличивает концентрацию агомелатина и тианептина в мозге, потенцируя их антидепрессивный эффект [96]. Пуринорецепторы P2 также участвуют в развитии депрессии. Психологический стресс вызывает высвобождение АТФ, активируя рецепторы P2X, что приводит к депрессивному поведению у мышей, которое можно нивелировать введением антагониста рецепторов P2X, [97].

Есть данные, что некоторые ферменты и метаболиты пуриnergической передачи являются потенциальными биомаркерами депрессии. Было обнаружено, что повышенная активность аденозиндезаминазы и ксантинооксидазы, а также повышенный уровень ксантина и гипоксантина коррелируют с более высоким риском депрессии [98]. Эти данные указывают на то, что ферменты и метаболиты, участвующие в обмене пуринов, вместе с пуринорецепторами оказывают глубокое влияние на патофизиологическую функцию нервной системы.

## **ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ И БОЛЬ**

В 1977 г. была обнаружена связь между п/к инъекцией АТФ и других пуринов и возникновением боли [99]. С тех пор ряд исследований доказал, что активация рецепторов P2X приводит к защитно-

му поведению животных, связанному с болью [100, 101]. Иглоукальвание, древний медицинский метод, разработанный в Китае более 4000 лет назад, используется для обезболивания во всем мире. Инъекция агониста рецептора  $A_1$  имитирует анальгезирующий эффект иглоукальвания, что позволяет предположить, что он работает посредством активации рецепторов  $A_1$  [102]. Напротив, рецепторы  $P2X$  обычно усиливают болевые сигналы. Рецептор  $P2X_3$  является наиболее изученным рецептором  $P2$ , связанным с болью; который преимущественно экспрессируется в небольших сенсорных нейронах в ганглиях задних корешков. Блокирование рецепторов  $P2X_3$  токсином приводит к снижению реакции на острую боль в модели на крысах. В контексте заболеваний человека рецепторы  $P2X_3$  связаны с болью при диабетической нейропатии. Электроакупунктура снижает активацию рецепторов  $P2X_3$  в ганглиях задних корешков, что ослабляет нейропатическую боль и облегчает проявления диабетической нейропатии [103]. Не-

смотря на положительные клинические эффекты, акупунктура и электроакупунктура являются инвазивными процедурами, которые не в полной мере отвечают требованиям доказательной медицины. Поэтому селективные агонисты (в основном  $P1$ -рецепторов) и антагонисты (в основном  $P2$ -рецепторов) рассматриваются в качестве перспективных анальгетиков [104].

### ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА ИНТЕГРИРУЕТ ИММУННУЮ СИСТЕМУ И МОДУЛИРУЕТ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ

Подагра классифицируется как ревматическое иммунное заболевание, а боль часто сопровождается местным воспалением [105]. ДНК, которая состоит из пуринов, активирует врожденный иммунитет при транслокации из ядра или митохондрий в цитоплазму [106]. Это объясняет ведущую роль пуринергической передачи в регуляции

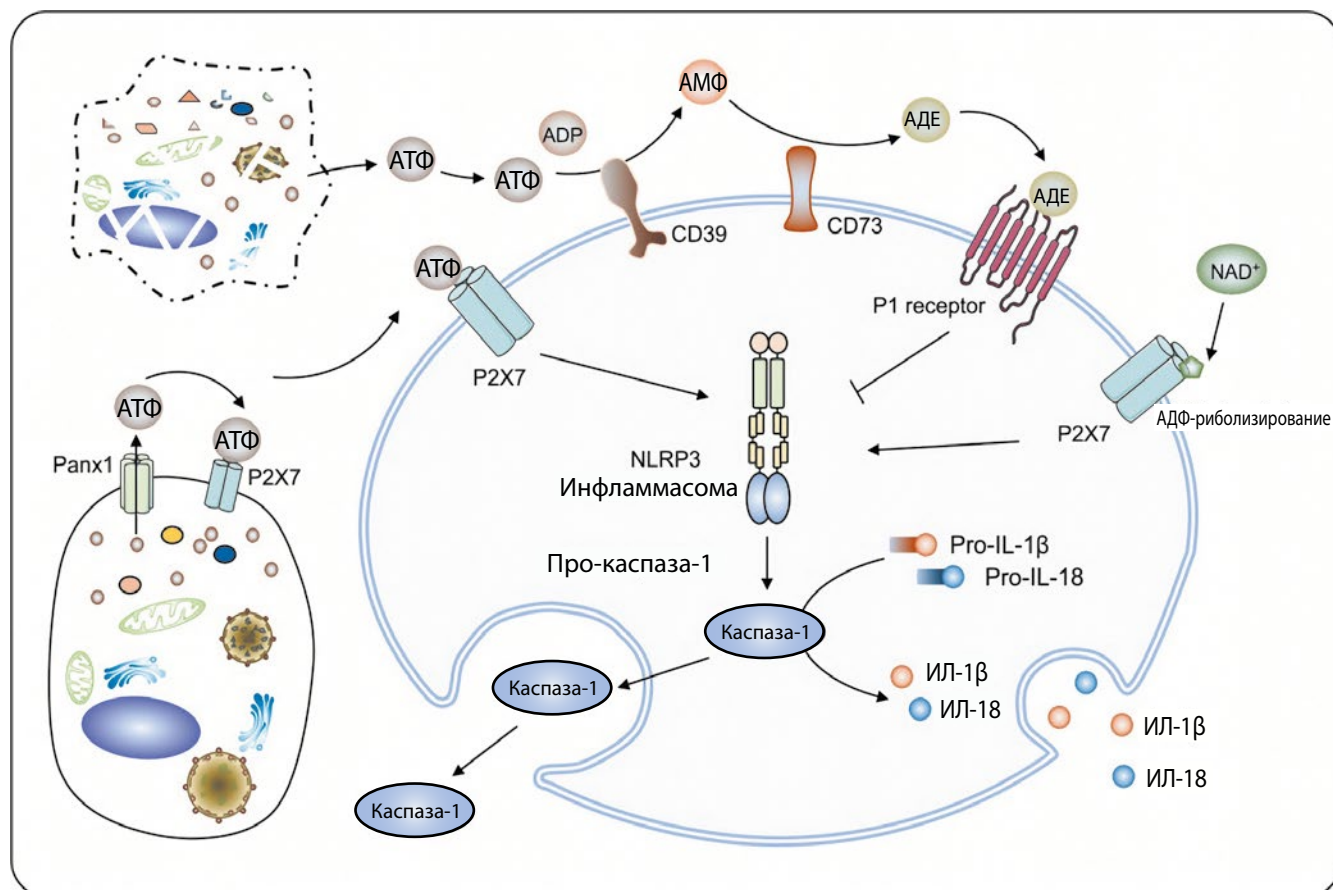


Рис. 4. Пуринергическая сигнализация регулирует иммунные и воспалительные реакции\*

\* Помимо некротических клеток, внеклеточный АТФ может высвобождаться из живых клеток через канал Panx1. Внеклеточный АТФ включает рецепторы  $P2X$ , которые впоследствии активируют инфламмасому NLRP3, индуцируя расщепление прокаспазы-1. Этот эффект приводит к созреванию и высвобождению каспазы-1, тем самым запуская иммунный или воспалительный ответ. В качестве альтернативы, внеклеточный АТФ готов к расщеплению до аденозина (АДЕ) эктоферментами CD39 и CD73. Продукция аденозина, как правило, подавляет иммунные и воспалительные реакции посредством связывания с рецепторами  $P1$ . Кроме того,  $P2X_7$  может активироваться АДФ-рибозилированием с использованием  $NAD^+$  в качестве донора АДФ-рибозы. АДФ — аденозиндифосфат, АДЕ — аденозин, ИЛ — интерлейкины.

иммунной системы и воспалительных реакций (рис. 4). Пуринергические рецепторы экспрессируются практически во всех видах иммунных клеток. Например, нейтрофилы экспрессируют все четыре аденозиновых рецептора и несколько рецепторов P2, включая рецепторы P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>7</sub>, P2Y<sub>2</sub> и P2Y<sub>14</sub> [107]. Кроме того, в иммунных клетках работает несколько эктоферментов, таких как CD39

и CD73, которые регулируют иммунный ответ посредством продукции аденозина из АТФ [108]. В целом, АТФ служит сигналом опасности, который активирует иммунные клетки, в то время как аденозин ослабляет воспалительные реакции [109]. Концептуально, внеклеточный АТФ активирует рецепторы P2 для запуска иммунного ответа; впоследствии АТФ превращается в аденозин ферментами CD39 и CD73,

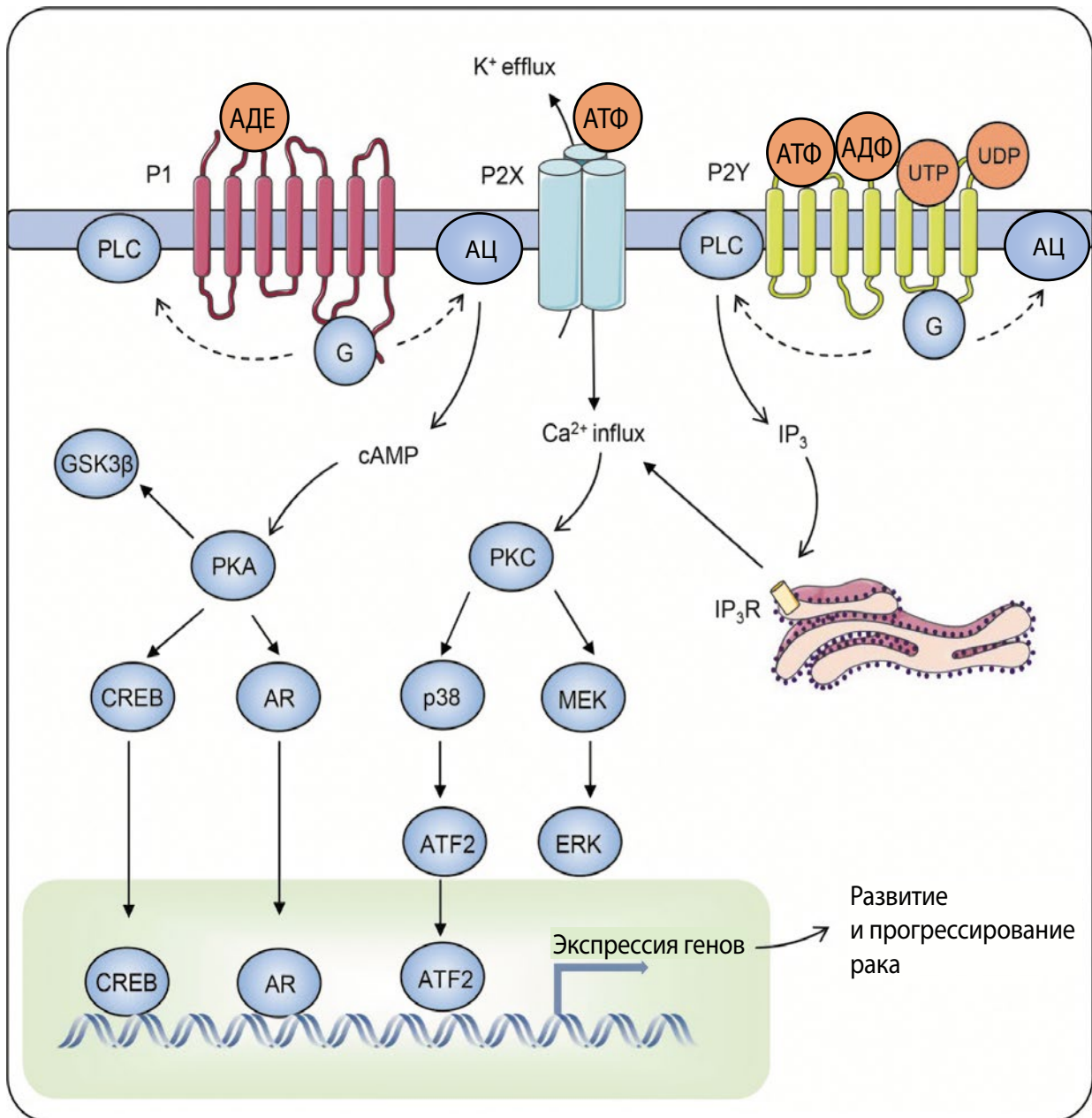


Рис. 5. Пуринергическая сигнализация и рак\*

\* Пуринергическая сигнализация, участвующая в инициации и прогрессировании рака. Микроокружение опухоли богато пуринами, включая аденозин (АДЕ) и другие нуклеотиды. В опухолевых клетках экспрессируется ряд пуринергических рецепторов для получения этих внеклеточных пуринергических сигналов. Активация рецепторов P1 и P2Y приводит к изменению активности аденилатциклазы (АЦ) или фосфолипазы C (PLC) путем связывания с различными G-белками (G), тогда как активация рецепторов P2X генерирует ионные потоки. Эти события изменяют уровень нескольких вторичных посредников, таких как цАМФ, Ca<sup>2+</sup> и InsP3. InsP3 связывается с рецепторами InsP3 на эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), что приводит к высвобождению Ca<sup>2+</sup> из ЭР. Таким образом, эти вторичные посредники регулируют множество белков, включая PKA, PKC, GSK3β, CREB, андрогеновый рецептор (AR), MEK, p38, ERK и ATF2. Среди них есть несколько факторов транскрипции, таких как CREB, AR и ATF2, которые запускают программу транскрипции, связанную с раком.

что приводит к активации рецепторов P1, инициирующих воспаление. Эта модель подтверждается большим количеством доказательств. Учитывая жизненно важную роль внеклеточного АТФ в развитии иммунного ответа, давно стоит вопрос о том, как АТФ высвобождается из клеток при инфекционных поражениях или повреждении тканей. Во-первых, АТФ образуется из некротических клеток [110]. Во-вторых, АТФ также может высвобождаться через несколько типов каналов, например, через паннексин 1 (Panx1) [111]. Второй путь высвобождения АТФ через канал Panx1 регулируется, поскольку определенные стимулы, такие как гипоксия, побуждают Panx1 формировать канал АТФ, тем самым ускоряя отток АТФ [112].

### **ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ РЕГУЛИРУЕТ РАЗВИТИЕ И ПРОГРЕССИРОВАНИЕ ОПУХОЛЕЙ**

Воспалительное и иммуносупрессивное микроокружение является отличительной чертой рака [113]. Учитывая ключевые роли АТФ и аденозина как провоспалительных и противовоспалительных агентов, это предполагает фундаментальную роль пуринергической сигнализации в развитии и прогрессировании опухоли (рис. 5). Микроокружение опухоли богато аденозином и АТФ [114]. Было продемонстрировано, что АТФ накапливается в опухоли в количестве сотен микромоляр, будучи практически неопределимым в здоровых образцах [115]. АТФ контролирует иммунные клетки, а накопление АТФ запускает противоопухолевый иммунитет, тем самым подавляя онкогенез. Несколько типов рецепторов P2 участвуют в подавлении роста опухоли, включая рецепторы P2X<sub>5</sub>, P2X<sub>7</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub> и P2Y<sub>11</sub> [116]. Например, рецепторы P2X<sub>5</sub> способствуют цитотоксическому действию Т-клеток и подавлению хронического миелоидного лейкоза [117]. Напротив, нокаут рецепторов P2X<sub>7</sub> снижает популяцию цитотоксических Т-клеток CD8<sup>+</sup> [118]. Таким образом, накопление АТФ в микроокружении опухоли, по-видимому, является внутренним противоопухолевым механизмом, вызываемым иммунной системой. Однако рецепторы P2 обнаруживаются не только в иммунных клетках, но и в раковых клетках, что заставляет задуматься, почему опухолевые клетки экспрессируют «суицидные» молекулы [119]. Эта проблема становится еще более выраженной в связи с тем, что внеклеточный АТФ, с одной стороны, удаляется из некротических клеток, с другой стороны, его секреция связана с метаболизмом раковых клеток [120]. По-видимому, противоопухолевый иммунитет усиливается при высоком уровне АТФ (поставляемого фармакологически), тогда как небольшое увеличение АТФ (высвобождаемого эндогенно)

стимулирует пролиферацию раковых клеток [121]. Действительно, было показано, что повышенная экспрессия или снижение активности рецепторов P2X<sub>7</sub> соответственно способствует или подавляет рост опухоли [123]. Помимо функции стимуляции роста, низкие уровни АТФ также могут приводить к опухолеобразованию за счет высвобождения иммуносупрессивных цитокинов, таких как ИЛ-10 [123]. Эти данные свидетельствуют о том, что экспрессия определенных P2-рецепторов дает преимущества при лечении опухолей, а также предполагает фармакологический подход к иммунотерапии рака. Согласно этому подходу, инфузия АТФ, как было показано, уменьшает потерю веса и восстанавливает мышечную силу у пациентов с раком легких [124].

### **ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С ПУРИНАМИ**

Гиперурикемия, вызванная нарушением регуляции метаболизма пуринов, связана с метаболическим синдромом, который также характеризуется другими признаками, включая ожирение, гиперликемию, гипертонию, гиперлипидемию и гиперинсулинемию. Подобно другим проявлениям метаболического синдрома, заболевания, связанные с пуринами, взаимосвязаны с современным образом жизни [125]. 12-летнее перспективное исследование показало, что потребление мяса и морепродуктов увеличивает риск подагры до 1,41 и 1,51 соответственно. Напротив, добавление молочных продуктов снижает риск до 0,56 [126]. Хотя высокое содержание пуринов в некоторых продуктах питания способствует их склонности вызывать подагру, потребление овощей, богатых пуринами, не является фактором риска [127]. Это может быть связано с различной биодоступностью производных пуринов животного или растительного происхождения [128]. Более того, овощи полезны при сердечно-сосудистых заболеваниях и ожирении, которые ассоциированы с нарушенным метаболизмом пуринов [129]. Следовательно, вегетарианская диета полезна независимо от наличия пуринов в овощах. При ограничении потребления мяса необходимы альтернативные источники белка — бобовые, молочные продукты. В независимых когортах наблюдалась обратная корреляция между потреблением бобовых и гиперурикемией [130]. Было обнаружено, что молочные продукты снижают уровень мочевой кислоты в сыворотке крови за счет урикозурического действия казеина и лактальбумина, двух белков, полученных из молока [131]. Кофе снижает риск подагры [132]. Было показано, что кофеин конкурентно ингибирует ксантиноксидазу, фермент, производящий мочевую кислоту из гипоксантина и ксантина [133]. Однако

кофеин сам по себе не смог снизить риск подагры, что позволяет предположить, что другие компоненты кофе способствуют его полезному эффекту. Диетические вмешательства согласуются с теорией пищевой гомологии в традиционной китайской медицине, которая утверждает, что большинство продуктов питания обладают терапевтическим потенциалом, поэтому не существует абсолютной сегрегации между продуктами питания и лекарствами. Помимо физических методов, таких как акупунктура и баночный массаж, традиционная китайская медицина также рекомендует фитотерапию, оказывающую многоцелевое действие. Например, кора феллодендри амурского (*cortex phellodendri amurensis*) является одним из наиболее часто используемых в Китае препаратов для лечения подагры [134].

## Выводы

Пурины служат строительным материалом и источником энергии, регулируя многочисленные клеточные процессы путем инициации пуринергической сигнализации. Метаболизм пуринов, регулируемый пуриносомой, определяет доступность пуринов, которые действуют как эндогенные лиганды для ряда пуринергических рецепторов. Активация пуринергических рецепторов контролирует продукцию различных вторичных мессенджеров, включая цАМФ, и  $Ca^{2+}$ , что иницирует нормальные физиологические процессы. Нездоровое питание, генетическая изменчивость или другие патологические события нарушают метаболизм пуринов, что приводит к нейродегенерации, подагре, боли, воспалению и раку. Помимо этих расстройств, пуринергическая сигнализация связана со многими другими заболеваниями, включая сердечные, желудочно-кишечные, мышечные, репродуктивные расстройства. Пуринергическая сигнализация имеет многообещающее будущее в качестве новой мишени для лекарств. Несмотря на значительный прогресс в этой области, для глубокого понимания пуринергической сигнализации еще предстоит выяснить несколько деталей. Например, как взаимодействуют компоненты пуриносомы, функционируя в митохондриях? Как воздействовать на конкретный пуринергический рецептор, не затрагивая другие рецепторы той же подгруппы? Как минимизировать потенциальные побочные эффекты при воздействии на пуринергические рецепторы из-за одновременного воздействия на несколько вторичных мессенджеров? Эти вопросы необходимо решить, прежде чем терапевтические стратегии на основе пуринов смогут широко применяться для лечения соответствующих заболеваний человека.



## Литература

1. Burnstock, G. Purinergic nerves. *Pharmacol. Rev.* 24, 509–581 (1972).
2. Ralevic, V. & Burnstock, G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol. Rev.* 50, 413–492 (1998).
3. Neary, J. T., Shi, Y. F., Kang, Y. & Tran, M. D. Opposing effects of P2X (7) and P2Y
4. Pastor-Anglada, M. & Perez-Torras, S. Who is who in adenosine transport. *Front. Pharmacol.* 9, 627 (2018).
5. Camici, M., Garcia-Gil, M., Pesì, R., Allegrini, S. & Tozzi, M. G. Purine-metabolising enzymes and apoptosis in cancer. *Cancers* 11, 1354 (2019).
6. Silva, C. H., Silva, M., Iulek, J. & Thiemann, O. H. Structural complexes of human adenine phosphoribosyltransferase reveal novel features of the APRT catalytic mechanism. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 25, 589–597 (2008).
7. Townsend, M. H., Robison, R. A. & O'Neill, K. L. A review of HPRT and its emerging role in cancer. *Med. Oncol.* 35, 89 (2018).
8. Ipata, P. L. Origin, utilization, and recycling of nucleosides in the central nervous system. *Adv. Physiol. Educ.* 35, 342–346 (2011).
9. Rustum, Y. M., Takita, H. & Gomez, G. The design of cancer chemotherapy: metabolic modulation and cellular de novo versus salvage metabolism. *Antibiot. Chemother.* (1971) 28, 86–93 (1980).
10. Quinones, W. et al. Structure, properties, and function of glycosomes in *Trypanosoma cruzi*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 10, 25 (2020).
11. An, S., Kumar, R., Sheets, E. D. & Benkovic, S. J. Reversible compartmentalization of de novo purine biosynthetic complexes in living cells. *Science* 320, 103–106 (2008).
12. Dalbeth, N. et al. Gout. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 5, 69 (2019).
13. Liu, R. et al. Prevalence of hyperuricemia and gout in mainland China from 2000 to 2014: a systematic review and meta-analysis. *Biomed. Res. Int.* 2015, 762820 (2015).
14. Richette, P. & Bardin, T. Gout. *Lancet* 375, 318–328 (2010).
15. Wang, M. et al. Elevated fructose and uric acid via aldose reductase contribute to experimental and human alcoholic liver disease. *Hepatology* 72, 1617–1637 (2020).
16. Choi, H. K., Willett, W. & Curhan, G. Fructose-rich beverages and risk of gout in women. *JAMA* 304, 2270–2278 (2010).
17. Faller, J. & Fox, I. H. Ethanol-induced hyperuricemia: evidence for increased urate production by activation of adenine nucleotide turnover. *N. Engl. J. Med.* 307, 1598–1602 (1982).
18. Wu, X. W., Lee, C. C., Muzny, D. M. & Caskey, C. T. Urate oxidase: primary structure and evolutionary implications. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86, 9412–9416 (1989).
19. Ames, B. N., Cathcart, R., Schwiers, E. & Hochstein, P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 78, 6858–6862 (1981).
20. Sundy, J. S. et al. Efficacy and tolerability of pegloticase for the treatment of chronic gout in patients refractory to conventional treatment: two randomized controlled trials. *JAMA* 306, 711–720 (2011).
21. Mitroulis, I., Kambas, K. & Ritis, K. Neutrophils, IL-1beta, and gout: is there a link? *Semin. Immunopathol.* 35, 501–512 (2013).
22. Hari, A. et al. Activation of NLRP3 inflammasome by crystalline structures via cell surface contact. *Sci. Rep.* 4, 7281 (2014).
23. Popa-Nita, O. & Naccache, P. H. Crystal-induced neutrophil activation. *Immunol. Cell Biol.* 88, 32–40 (2010).
24. Chen, Y. H. et al. Spontaneous resolution of acute gouty arthritis is associated with rapid induction of the anti-inflammatory factors TGFbeta1, IL-10 and soluble TNF receptors and the intracellular cytokine negative regulators CIS and SOCS3. *Ann. Rheum. Dis.* 70, 1655–1663 (2011).
25. Zeng, M. et al. IL-37 inhibits the production of pro-inflammatory cytokines in MSU crystal-induced inflammatory response. *Clin. Rheumatol.* 35, 2251–2258 (2016).
26. Schauer, C. et al. Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines. *Nat. Med.* 20, 511–517 (2014).
27. Apel, F., Zychlinsky, A. & Kenny, E. F. The role of neutrophil extracellular traps in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 14, 467–475 (2018).
28. Ragab, G., Elshahaly, M. & Bardin, T. Gout: An old disease in new perspective — a review. *J. Adv. Res.* 8, 495–511 (2017).
29. Towiwat, P. et al. Urate crystal deposition and bone erosion in gout: «inside-out» or «outside-in»? A dual-energy computed tomography study. *Arthritis Res. Ther.* 18, 208 (2016).
30. Chhana, A. et al. Monosodium urate monohydrate crystals inhibit osteoblast viability and function: implications for development of bone erosion in gout. *Ann. Rheum. Dis.* 70, 1684–1691 (2011).
31. Dalbeth, N. et al. Enhanced osteoclastogenesis in patients with tophaceous gout: urate crystals promote osteoclast development through interactions with stromal cells. *Arthritis Rheum.* 58, 1854–1865 (2008).

32. Kok, V. C. et al. Gout as a risk factor for osteoporosis: epidemiologic evidence from a population-based longitudinal study involving 108,060 individuals. *Osteoporos. Int.* 29, 973–985 (2018).
33. Richette, P. et al. 2016 updated EULAR evidence-based recommendations for the management of gout. *Ann. Rheum. Dis.* 76, 29–42 (2017).
34. Pacher, P., Nivorozhkin, A. & Szabo, C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacol. Rev.* 58, 87–114 (2006).
35. Stamp, L. K. et al. A randomised controlled trial of the efficacy and safety of allopurinol dose escalation to achieve target serum urate in people with gout. *Ann. Rheum. Dis.* 76, 1522–1528 (2017).
36. Zhang, X., Wan, D., Yang, G., Peng, Q. & Wang, X. Febuxostat is superior to allopurinol in delaying the progression of renal impairment in patients with chronic kidney disease and hyperuricemia. *Int. Urol. Nephrol.* 51, 2273–2283 (2019).
37. Bohm, M., Vuppalanchi, R. & Chalasani, N. Drug-Induced Liver Injury, N. Febuxostat-induced acute liver injury. *Hepatology* 63, 1047–1049 (2016).
38. White, W. B. et al. Cardiovascular safety of febuxostat or allopurinol in patients with gout. *N. Engl. J. Med.* 378, 1200–1210 (2018).
39. Dalbeth, N., Merriman, T. R. & Stamp, L. K. Gout. *Lancet* 388, 2039–2052 (2016).
40. Mustafa, S. J., Morrison, R. R., Teng, B. & Pelleg, A. Adenosine receptors and the heart: role in regulation of coronary blood flow and cardiac electrophysiology. *Handb. Exp. Pharmacol.* 6, 161–188 (2009).
41. Fredholm, B. B., AP, I. J., Jacobson, K. A., Klotz, K. N. & Linden, J. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol. Rev.* 53, 527–552 (2001).
42. Sachdeva, S. & Gupta, M. Adenosine and its receptors as therapeutic targets: an overview. *Saudi. Pharm. J.* 21, 245–253 (2013).
43. Cieslak, M., Komoszynski, M., Wojtczak, A. & Adenosine, A. Adenosine A (2A) receptors in Parkinson's disease treatment. *Plurinergetic Signal.* 4, 305–312 (2008).
44. Poulsen, S. A. & Quinn, R. J. Adenosine receptors: new opportunities for future drugs. *Bioorg. Med. Chem.* 6, 619–641 (1998).
45. Sassi, Y. et al. Cardiac myocyte-secreted cAMP exerts paracrine action via adenosine receptor activation. *J. Clin. Invest.* 124, 5385–5397 (2014).
46. Borea, P. A., Gessi, S., Merighi, S., Vincenzi, F. & Varani, K. Pharmacology of adenosine receptors: the state of the art. *Physiol. Rev.* 98, 1591–1625 (2018).
47. Reiss, A. B. et al. Adenosine and the cardiovascular system. *Am. J. Cardiovasc. Drugs* 19, 449–464 (2019).
48. Burnstock, G. Purine and purinergic receptors. *Brain Neurosci. Adv.* 2, 2398212818817494 (2018).
49. Lustig, K. D., Shiau, A. K., Brake, A. J. & Julius, D. Expression cloning of an ATP receptor from mouse neuroblastoma cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90, 5113–5117 (1993).
50. Webb, T. E. et al. Cloning and functional expression of a brain G-protein-coupled ATP receptor. *FEBS Lett.* 324, 219–225 (1993).
51. Jiang, R., Taly, A. & Grutter, T. Moving through the gate in ATP-activated P2X receptors. *Trends Biochem. Sci.* 38, 20–29 (2013).
52. Kasuya, G. et al. Structural insights into the nucleotide base specificity of P2X receptors. *Sci. Rep.* 7, 45208 (2017).
53. Evans, R. J. et al. Pharmacological characterization of heterologously expressed ATP-gated cation channels (P2x purinoceptors). *Mol. Pharmacol.* 48, 178–183 (1995).
54. Yan, Z. et al. Experimental characterization and mathematical modeling of P2X7 receptor channel gating. *J. Neurosci.* 30, 14213–14224 (2010).
55. Schmid, R. & Evans, R. J. ATP-gated P2X receptor channels: molecular insights into functional roles. *Annu. Rev. Physiol.* 81, 43–62 (2019).
56. Barrera, N. P., Ormond, S. J., Henderson, R. M., Murrell-Lagnado, R. D. & Edwardson, J. M. Atomic force microscopy imaging demonstrates that P2X2 receptors are trimers but that P2X6 receptor subunits do not oligomerize. *J. Biol. Chem.* 280, 10759–10765 (2005).
57. Baqi, Y. & Muller, C. E. Antithrombotic P2Y12 receptor antagonists: recent developments in drug discovery. *Drug Discov. Today* 24, 325–333 (2019).
58. Abdulqawi, R. et al. P2X3 receptor antagonist (AF-219) in refractory chronic cough: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet* 385, 1198–1205 (2015).
59. Meibom, D. et al. Neladenoson bialanate hydrochloride: a prodrug of a partial adenosine A1 receptor agonist for the chronic treatment of heart diseases. *ChemMedChem* 12, 728–737 (2017).
60. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674 (2011).
61. Gilbert, S. M. et al. ATP in the tumour microenvironment drives expression of nP2X7, a key mediator of cancer cell survival. *Oncogene* 38, 194–208 (2019).
62. Burnstock, G. & Di Virgilio, F. Purinergic signalling and cancer. *Purinergic Signal.* 9, 491–540 (2013).
63. Lelievre, V., Muller, J. M. & Falcon, J. Adenosine modulates cell proliferation in human colon adenocarcinoma. I. Possible involvement of adenosine A1 receptor subtypes in HT29 cells. *Eur. J. Pharmacol.* 341, 289–297 (1998).
64. Farrell, A. W. et al. P2X7 receptor activation induces cell death and CD23 shedding in human RPMI 8226 multiple myeloma cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1800, 1173–1182 (2010).
65. Vijayan, D., Young, A., Teng, M. W. L. & Smyth, M. J. Targeting immunosuppressive adenosine in cancer. *Nat. Rev. Cancer* 17, 709–724 (2017).
66. Allard, B., Allard, D., Buisseret, L. & Stagg, J. The adenosine pathway in immuno-oncology. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 17, 611–629 (2020).
67. Pellegatti, P. et al. Increased level of extracellular ATP at tumor sites: in vivo imaging with plasma membrane luciferase. *PLoS ONE* 3, e2599 (2008).
68. Kamata-Sakurai, M. et al. Antibody to CD137 activated by extracellular adenosine triphosphate is tumor selective and broadly effective in vivo without systemic immune activation. *Cancer Discov.* 11, 328 (2020).
69. Abbraccio, M. P., Burnstock, G., Verkhatsky, A. & Zimmermann, H. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. *Trends Neurosci.* 32, 19–29 (2009).
70. Sawada, K. et al. Identification of a vesicular nucleotide transporter. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 105, 5683–5686 (2008).
71. Bal-Price, A., Moneer, Z. & Brown, G. C. Nitric oxide induces rapid, calcium-dependent release of vesicular glutamate and ATP from cultured rat astrocytes. *Glia* 40, 312–323 (2002).
72. Vessey, K. A., Ho, T., Jobling, A. I., Wang, A. Y. & Fletcher, E. L. Fluorescent labeling and quantification of vesicular ATP release using live cell imaging. *Methods Mol. Biol.* 2041, 209–221 (2020).
73. Xiong, Y. et al. Stretch-induced Ca<sup>2+</sup> independent ATP release in hippocampal astrocytes. *J. Physiol.* 596, 1931–1947 (2018).
74. Pankratov, Y., Lalo, U., Verkhatsky, A. & North, R. A. Vesicular release of ATP at central synapses. *Pflug. Arch.* 452, 589–597 (2006).
75. Potter, P. & White, T. D. Release of adenosine 5'-triphosphate from synaptosomes from different regions of rat brain. *Neuroscience* 5, 1351–1356 (1980).
76. Pankratov, Y., Lalo, U., Verkhatsky, A. & North, R. A. Quantal release of ATP in mouse cortex. *J. Gen. Physiol.* 129, 257–265 (2007).
77. Burnstock, G. Purinergic signalling and neurological diseases: an update. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* 16, 257–265 (2017).
78. Cheffer, A. et al. Purinergic system in psychiatric diseases. *Mol. Psychiatry* 23, 94–106 (2018).
79. Glaser, T. et al. ATP and spontaneous calcium oscillations control neural stem cell fate determination in Huntington's disease: a novel approach for cell clock research. *Mol. Psychiatry* 20, 717 (2020).
80. Oliveira-Giacomelli, A. et al. Purinergic receptors in neurological diseases with motor symptoms: targets for therapy. *Front. Pharmacol.* 9, 325 (2018).
81. Kalaria, R. N., Sromek, S., Wilcox, B. J. & Unnerstall, J. R. Hippocampal adenosine A1 receptors are decreased in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 118, 257–260 (1990).
82. Gussago, C. et al. Different adenosine A2A receptor expression in peripheral cells from elderly patients with vascular dementia and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 40, 45–49 (2014).
83. Angulo, E. et al. A1 adenosine receptors accumulate in neurodegenerative structures in Alzheimer disease and mediate both amyloid precursor protein processing and tau phosphorylation and translocation. *Brain Pathol.* 13, 440–451 (2003).
84. Laurent, C. et al. A2A adenosine receptor deletion is protective in a mouse model of Tauopathy. *Mol. Psychiatry* 21, 97–107 (2016).
85. Li, P. et al. Optogenetic activation of intracellular adenosine A2A receptor signaling in the hippocampus is sufficient to trigger CREB phosphorylation and impair memory. *Mol. Psychiatry* 20, 1339–1349 (2015).
86. Hussain, A., Tabrez, E. S., Mavrych, V., Bolgova, O. & Peela, J. R. Caffeine: a potential protective agent against cognitive decline in Alzheimer's disease. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 28, 67–72 (2018).
87. Kolahdouzan, M. & Hamadeh, M. J. The neuroprotective effects of caffeine in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci. Ther.* 23, 272–290 (2017).
88. Chen, X., Ghribi, O. & Geiger, J. D. Caffeine protects against disruptions of the blood-brain barrier in animal models of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J. Alzheimers Dis.* 20, S127–S141 (2010).
89. Thomas, S. C., Alhasawi, A., Appanna, V. P., Auger, C. & Appanna, V. D. Brain metabolism and Alzheimer's disease: the prospect of a metabolite-based therapy. *J. Nutr. Health Aging* 19, 58–63 (2015).
90. Park, H., Suh, B. S. & Lee, K. Relationship between daily coffee intake and suicidal ideation. *J. Affect. Disord.* 256, 468–472 (2019).
91. Grosso, G., Micek, A., Castellano, S., Pajak, A. & Galvano, F. Coffee, tea, caffeine and risk of depression: a systematic review and dose-response meta-analysis of observational studies. *Mol. Nutr. Food Res.* 60, 223–234 (2016).
92. Padilla, K. M. et al. Behavioral changes induced through adenosine A2A receptor ligands in a rat depression model induced by olfactory bulbectomy. *Brain Behav.* 8, e00952 (2018).

93. Coelho, J. E. et al. Overexpression of adenosine A2A receptors in rats: effects on depression, locomotion, and anxiety. *Front. Psychiatry* 5, 67 (2014).
94. Serchov, T. et al. Increased signaling via adenosine A1 receptors, sleep deprivation, imipramine, and ketamine inhibit depressive-like behavior via induction of Homer1a. *Neuron* 87, 549–562 (2015).
95. Hines, D. J., Schmitt, L. I., Hines, R. M., Moss, S. J. & Haydon, P. G. Antidepressant effects of sleep deprivation require astrocyte-dependent adenosine mediated signaling. *Transl. Psychiatry* 3, e212 (2013).
96. Szopa, A. et al. Agomelatine and tianeptine antidepressant activity in mice behavioral despair tests is enhanced by DMPX, a selective adenosine A2A receptor antagonist, but not DPCPX, a selective adenosine A1 receptor antagonist. *Pharmacol. Rep.* 71, 676–681 (2019).
97. Iwata, M. et al. Psychological stress activates the inflammasome via release of adenosine triphosphate and stimulation of the purinergic type 2X7 receptor. *Biol. Psychiatry* 80, 12–22 (2016).
98. Bartoli, F., Burnstock, G., Crocamo, C. & Carra, G. Purinergic signaling and related biomarkers in depression. *Brain Sci.* 10, 160 (2020).
99. Bleehen, T. & Keele, C. A. Observations on the algogenic actions of adenosine compounds on the human blister base preparation. *Pain* 3, 367–377 (1977).
100. Sokolova, E., Nistri, A. & Giniatullin, R. The ATP-mediated fast current of rat dorsal root ganglion neurons is a novel effector for GABA (B) receptor activation. *Neurosci. Lett.* 338, 181–184 (2003).
101. He, Y. Q. et al. P2X3 receptor-mediated visceral hyperalgesia and neuronal sensitization following exposure to PTSD-like stress in the dorsal root ganglia of rats. *Neurogastroenterol. Motil.* 29, e12976 (2017).
102. He, J. R., Yu, S. G., Tang, Y. & Illes, P. Purinergic signaling as a basis of acupuncture-induced analgesia. *Purinergic Signal.* 16, 297–304 (2020).
103. Tang, Y., Yin, H. Y., Liu, J., Rubini, P. & Illes, P. P2X receptors and acupuncture analgesia. *Brain Res. Bull.* 151, 144–152 (2019).
104. da Silva Ferreira, N. C., Alves, L. A. & Soares-Bezerra, R. J. Potential therapeutic applications of P2 receptor antagonists: from bench to clinical trials. *Curr. Drug Targets* 20, 919–937 (2019).
105. Ji, R. R., Chamesian, A. & Zhang, Y. Q. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation. *Science* 354, 572–577 (2016).
106. Hartlova, A. et al. DNA damage primes the type I interferon system via the cytosolic DNA sensor STING to promote anti-microbial innate immunity. *Immunity* 42, 332–343 (2015).
107. Wang, X. & Chen, D. Purinergic regulation of neutrophil function. *Front. Immunol.* 9, 399 (2018).
108. Deaglio, S. et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J. Exp. Med.* 204, 1257–1265 (2007).
109. Linden, J., Koch-Nolte, F. & Dahl, G. Purine release, metabolism, and signaling in the inflammatory response. *Annu. Rev. Immunol.* 37, 325–347 (2019).
110. Dosch, M., Gerber, J., Jebbawi, F. & Beldi, G. Mechanisms of ATP Release by Inflammatory Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1222 (2018).
111. Wang, J. & Dahl, G. Pannexin1: a multifunction and multiconductance and/or permeability membrane channel. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 315, C290 — C299 (2018).
112. Sridharan, M. et al. Pannexin 1 is the conduit for low oxygen tension-induced ATP release from human erythrocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 299, H1146 — H1152 (2010).
113. O'Donnell, J. S., Teng, M. W. L. & Smyth, M. J. Cancer immunoeediting and resistance to T cell-based immunotherapy. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 16, 151–167 (2019).
114. Yin, J. et al. Potential mechanisms connecting purine metabolism and cancer therapy. *Front. Immunol.* 9, 1697 (2018).
115. Bianchi, G. et al. ATP/P2X7 axis modulates myeloid-derived suppressor cell functions in neuroblastoma microenvironment. *Cell Death Dis.* 5, e1135 (2014).
116. Bellefeuille, S. D., Molle, C. M. & Gendron, F. P. Reviewing the role of P2Y receptors in specific gastrointestinal cancers. *Purinergic Signal.* 15, 451–463 (2019).
117. Overes, I. M. et al. Expression of P2X5 in lymphoid malignancies results in LRH-1-specific cytotoxic T-cell-mediated lysis. *Br. J. Haematol.* 141, 799–807 (2008).
118. De Marchi, E. et al. The P2X7 receptor modulates immune cells infiltration, ectonucleotidases expression and extracellular ATP levels in the tumor microenvironment. *Oncogene* 38, 3636–3650 (2019).
119. Di Virgilio, F. Purines, purinergic receptors, and cancer. *Cancer Res.* 72, 5441–5447 (2012).
120. Grygorczyk, R., Furuya, K. & Sokabe, M. Imaging and characterization of stretch-induced ATP release from alveolar A549 cells. *J. Physiol.* 591, 1195–1215 (2013).
121. Adinolfi, E. et al. Basal activation of the P2X7 ATP receptor elevates mitochondrial calcium and potential, increases cellular ATP levels, and promotes serum-independent growth. *Mol. Biol. Cell* 16, 3260–3272 (2005).
122. Adinolfi, E. et al. Expression of P2X7 receptor increases in vivo tumor growth. *Cancer Res.* 72, 2957–2969 (2012).
123. Marteau, F. et al. Thrombospondin-1 and indoleamine 2,3-dioxygenase are major targets of extracellular ATP in human dendritic cells. *Blood* 106, 3860–3866 (2005).
124. Agteresch, H. J. et al. Beneficial effects of adenosine triphosphate on nutritional status in advanced lung cancer patients: a randomized clinical trial. *J. Clin. Oncol.* 20, 371–378 (2002).
125. Torralba, K. D., De Jesus, E. & Rachabattula, S. The interplay between diet, urate transporters and the risk for gout and hyperuricemia: current and future directions. *Int. J. Rheum. Dis.* 15, 499–506 (2012).
126. Choi, H. K., Atkinson, K., Karlson, E. W., Willett, W. & Curhan, G. Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men. *N. Engl. J. Med.* 350, 1093–1103 (2004).
127. Zgaga, L. et al. The association of dietary intake of purine-rich vegetables, sugar-sweetened beverages and dairy with plasma urate, in a cross-sectional study. *PLoS ONE* 7, e38123 (2012).
128. Choi, H. K., Liu, S. & Curhan, G. Intake of purine-rich foods, protein, and dairy products and relationship to serum levels of uric acid: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis Rheum.* 52, 283–289 (2005).
129. Tsushima, Y. et al. Uric acid secretion from adipose tissue and its increase in obesity. *J. Biol. Chem.* 288, 27138–27149 (2013).
130. Villegas, R. et al. Purine-rich foods, protein intake, and the prevalence of hyperuricemia: the Shanghai Men's Health Study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 22, 409–416 (2012).
131. Dalbeth, N. et al. Acute effect of milk on serum urate concentrations: a randomised controlled crossover trial. *Ann. Rheum. Dis.* 69, 1677–1682 (2010).
132. Choi, H. K., Willett, W. & Curhan, G. Coffee consumption and risk of incident gout in men: a prospective study. *Arthritis Rheum.* 56, 2049–2055 (2007).
133. Kela, U., Vijayvargiya, R. & Trivedi, C. P. Inhibitory effects of methylxanthines on the activity of xanthine oxidase. *Life Sci.* 27, 2109–2119 (1980).
134. Li, X. N. et al. Screening the active compounds of Phellodendri Amurensis cortex for treating prostate cancer by high-throughput chimedomics. *Sci. Rep.* 7, 46234 (2017).