

обуславливает нарушение местной гидродинамики и биодоступности фармакологических средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бикбов М.М., Алтынбаев В.Р., Ярмухаметова А.Л. Результативность методов хирургического лечения влажной формы возрастной макулярной дегенерации // Рос. офтальмол. ж. — 2011. — Т. 4, №3. — С. 35–39. [Bikbov M.M., Altynbaev U.R., Yarmukhametova A.L. Effectiveness of surgical treatment of age-related wet macular degeneration. *Rossiyskiy oftal'mologicheskiy zhurnal*. 2011; 4 (3): 35–39. (In Russ.)]  
2. Будзинская М.В., Гурова И.В. Субретинальная неоваскулярная мембрана при возрастной макулярной дегенерации // Вестн. офтальмол. — 2006. — Т. 122, №4. — С. 49–54. [Budzinskaya M.V., Gurova I.V. Subretinal

neovascular membrane in age-related macular degeneration. *Vestnik oftal'mologii*. 2006; 122 (4): 49–54. (In Russ.)]

3. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Мусина Л.А. Экспериментальное моделирование процесса хронического воспаления и фиброза // Биомедицина. — 2013. — Т. 1, №4. — С. 114–123. [Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Musina L.A. Experimental modeling of the process of chronic inflammation and fibrosis. *Biomeditsina*. 2013; 1 (4): 114–123. (In Russ.)]  
4. Klein R. Prevalence of age-related maculopathy // The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. — 1992. — Vol. 99. — P. 933–942.

5. Liebowitz H.M., Krueger D.E., Maunder L.R., Milton R.C. The Framingham Eye Study monograph: an ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973–1975 // *Surv. Ophthalmol.* — 1980. — Vol. 24. — P. 335–610.

УДК 616.147.3-007.64: 616.149.5: 616-076-079: 615.225.2

## ИССЛЕДОВАНИЕ НАЛИЧИЯ И ЛОКАЛИЗАЦИИ P2-РЕЦЕПТОРОВ В КРОВЕНОСНЫХ СОСУДАХ ЧЕЛОВЕКА

Булат Айратович Зиганшин<sup>1</sup>, Дмитрий Александрович Славин<sup>2</sup>,  
Данияр Фаридович Хазиахметов<sup>1</sup>, Анна Петровна Зиганшина<sup>1</sup>, Лев Ефимович Славин<sup>2</sup>,  
Роин Кондратьевич Джорджикия<sup>1</sup>, Айрат Усманович Зиганшин<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

<sup>2</sup>Казанская государственная медицинская академия, г. Казань, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-368

**Цель.** Провести сравнительное исследование наличия и локализации подтипов P2X- и P2Y-рецепторов в артерии жёлчного пузыря и большой подкожной вене человека (с варикозной болезнью и без неё).

**Методы.** Сегменты кровеносных сосудов человека, полученные интраоперационно, подвергали стандартному двухступенчатому иммуногистохимическому анализу с применением первичных и вторичных антител. Использовали первичные антитела к следующим подтипам рецепторов: P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2X<sub>4</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>, P2Y<sub>4</sub>. Проводили сравнение опытных образцов с контрольными, которые не обрабатывали первичными антителами.

**Результаты.** Иммуногистохимический анализ артерии жёлчного пузыря показал наличие рецепторов P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>. Все подтипы были обнаружены в мышечном слое артерии, а подтип P2Y<sub>1</sub> экспрессирован ещё и на поверхности эндотелиальных клеток. В большой подкожной вене больных без варикозной болезни были обнаружены подтипы рецепторов P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub> и P2Y<sub>1</sub>, все локализованные в гладкомышечном слое вены. По аналогии с артерией жёлчного пузыря P2Y<sub>1</sub>-рецептор также определялся в эндотелиальном слое вены. В то же время в мышечном слое большой подкожной вены, полученной от больных с варикозной болезнью, экспрессированы только P2X<sub>2</sub>- и P2Y<sub>1</sub>-подтипы рецепторов. На эндотелиальных клетках варикозно изменённых вен P2-рецепторы обнаружены не были.

**Вывод.** Различные подтипы P2-рецепторов представлены в гладкомышечном и эндотелиальном слоях артерии жёлчного пузыря и большой подкожной вены человека; различие в подтипах рецепторов, обнаруженных в образцах большой подкожной вены с варикозной болезнью и без неё, вероятнее всего, обусловлено перестройкой рецепторного аппарата, происходящей в процессе развития варикозной болезни.

**Ключевые слова:** артерия жёлчного пузыря, большая подкожная вена, P2-рецепторы, варикозная болезнь, иммуногистохимия.

## EVALUATION OF THE PRESENCE AND LOCALIZATION OF P2 RECEPTORS IN HUMAN BLOOD VESSELS

B.A. Ziganshin<sup>1</sup>, D.A. Slavin<sup>2</sup>, D.F. Khaziakhmetov<sup>1</sup>, A.P. Ziganshina<sup>1</sup>, L.E. Slavin<sup>2</sup>, R.K. Dzhordzhikiya<sup>1</sup>, A.U. Ziganshin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

<sup>2</sup>Kazan State Medical Academy, Kazan, Russia

**Aim.** To study the presence and localization of the P2X and P2Y receptor subtypes in the human cystic artery and great saphenous vein (with and without varicose disease).

**Methods.** Segments of the human blood vessels were stained using a standard two-step immunohistochemical analysis using primary and secondary antibodies. In the experiments primary antibodies to the following receptors were used: P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2X<sub>4</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>, P2Y<sub>4</sub>. In order to determine the presence of a receptor in a vessel sample a comparison was made between staining of the experimental and the control samples, which were not treated with primary antibodies.

**Results.** Immunohistochemical analysis of the cystic artery showed the presence of P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub> receptors. All receptor subtypes were found to be located in the muscular layer of the artery, whereas the P2Y<sub>1</sub> receptor was also

expressed on the surface of the endothelial cells. In the great saphenous vein without varicose disease P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub>, and P2Y<sub>1</sub> receptor subtypes were identified, all of which were found to be located on the smooth muscle cells of the vein. Similarly to the cystic artery, the P2Y<sub>1</sub> receptor was also found within the endothelial layer of the vein. At the same time, only P2X<sub>2</sub> and P2Y<sub>1</sub> receptor subtypes were expressed in the muscular layer of the great saphenous vein affected by varicose disease. No P2 receptor subtypes were identified on the endothelial layer of the varicose-diseased vein.

**Conclusion.** Different P2 receptor subtypes were found to be present in the smooth muscle and endothelial layers of the human cystic artery and great saphenous vein. The identified differences in the receptor subtypes between samples of great saphenous veins with and without varicose disease are, most likely, explained by the restructuring of the receptor apparatus as a result of varicose disease progression.

**Keywords:** cystic artery; great saphenous vein; P2 receptors; varicose disease; immunohistochemistry.

### Введение

P2-рецепторы, агонистами которых являются пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, играют важную роль в функционировании сердечно-сосудистой системы в норме и при патологии [11]. В кровеносных сосудах P2-рецепторы участвуют в осуществлении контроля тонуса и процессах ремоделирования [7].

Аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), будучи основным эндогенным внеклеточным лигандом P2-рецепторов, оказывает двоякое, противоположно направленное действие на тонус кровеносных сосудов. Выступая в качестве ко-трансммиттера с норадреналином и выделяясь из перивазальных симпатических нервов, АТФ вызывает повышение тонуса сосудов [4]. В то же время АТФ, секретлируемая эндотелиальными клетками в ответ на гемодинамические изменения, вызывает расслабление кровеносных сосудов [5].

Такое двоякое действие АТФ обусловлено прежде всего двумя основными факторами: (1) типом рецепторов, на которые АТФ действует (P2X- или P2Y-рецепторы) и (2) локализацией этих рецепторов в сосудистой стенке.

Семейство P2X-рецепторов представляет собой лиганд-оперируемые ионные каналы и включает семь подтипов (P2X<sub>1-7</sub>). Вазоконстриктивный эффект АТФ опосредуется преимущественно P2X-рецепторами, расположенными на гладкомышечных клетках сосудистой стенки.

P2Y-рецепторы являются метаботропными, действие которых сопряжено с G-белком. Это семейство включает восемь подтипов (P2Y<sub>1,2,4,6,11-14</sub>). P2Y-рецепторы опосредуют более медленный эффект и, располагаясь на поверхности эндотелиальных клеток кровеносных сосудов, преимущественно вызывают вазодилатацию. Исключение из этого общего правила — случаи, в которых P2X-рецепторы, расположенные на эндотелиальных клетках, вызывают расслабление, а гладкомышечные P2Y-рецепторы — сокращение сосудистой стенки.

Существует значительное количество исследований, в которых было показано на-

личие и проведена оценка функциональной активности P2-рецепторов в кровеносных сосудах животных [9, 14, 17]. Однако физиологическая и патофизиологическая роль P2-рецепторов кровеносных сосудов человека изучена значительно меньше. Предыдущие исследования, проведённые в нашей лаборатории, позволили фармакологическими методами установить наличие P2-рецептор-опосредованных ответов в большой подкожной вене (БПВ) бедра и в артерии жёлчного пузыря (АЖП) человека [1, 2, 15].

Целью настоящего исследования была сравнительная оценка наличия P2-рецепторов в кровеносных сосудах человека, а также уточнение их локализации с использованием морфологических методов исследования.

### Материал и методы исследования

#### *Исследуемые кровеносные сосуды*

Нами были исследованы АЖП и БПВ бедра человека. Сегменты этих сосудов были получены от больных, находящихся на стационарном хирургическом лечении в лечебно-профилактических учреждениях г. Казани. Сегменты АЖП были получены от больных с калькулёзным холециститом (n=6), которым выполняли операцию по удалению жёлчного пузыря. Сегменты БПВ были получены от двух групп больных:

- 1) пациенты с варикозной болезнью нижних конечностей (n=9), которым проводили хирургическое удаление БПВ с притоками;
- 2) пациенты с ишемической болезнью сердца, которым выполняли аортокоронарное шунтирование с использованием БПВ (n=7).

Все больные давали письменное согласие на участие в исследовании.

От всех пациентов были получены сегменты сосудов длиной 1–2 см. Сосуды после выделения сразу помещали в охлаждённый до 4 °С раствор Кребса (pH=7,3–7,4) и транспортировали в лабораторию. В лаборатории кровеносные сосуды тщательно освобождали от окружающих тканей и фиксировали в течение 4 ч в 4% растворе формальдегида.

*Методика иммунофлюоресцентного окрашивания сосудов*

После фиксации сегменты сосудов помещали в Tissue-Tek® Optimum Cutting Temperature Compound (Sakura® Finetek) и в таком виде замораживали в изопентане, охлаждённом в жидком азоте. Такая методика обеспечивала быструю и равномерную заморозку ткани. Замороженные сегменты сосудов нарезали в крестате (Reichert Jung CM1800, Германия), толщина срезов составляла 12 мкм.

Предметные стёкла с образцами ткани хранили в морозильной камере до начала эксперимента (но не более 7 сут).

Готовые к эксперименту предметные стёкла со срезами кровеносных сосудов промывали фосфатным буфером при комнатной температуре 3 раза по 5 мин, каждый раз удаляя старый и добавляя новый буфер. Далее с целью предотвращения неспецифического окрашивания предметные стёкла с тканью помещались во влажную камеру, и срезы обрабатывали и инкубировали в течение 20 мин в 10% растворе нормальной неиммунной сыворотки лошади, разведённой в фосфатном буфере, содержащем 0,05% мертиолата (merthiolate/thimerosal).

Затем срезы кровеносных сосудов инкубировали с первичными P2-рецептор-специфичными поликлональными кроличьими антителами. Все антитела разводили в 10% растворе нормальной неиммунной сыворотки лошади, разведённой в фосфатном буфере, содержащем 0,05% мертиолата, в соотношении 1:200 (антитело:растворитель). Данную инкубацию проводили в течение 14–16 ч (обычно ткань оставляли инкубироваться на ночь) при комнатной температуре во влажной камере. За время инкубации первичные антитела связывались с соответствующим рецептором в стенке кровеносного сосуда.

После завершения этапа инкубации с первичными антителами предметные стёкла со срезами ткани промывали в фосфатном буфере для удаления не связанных с тканью первичных антител. Все последующие стадии проводились со светочувствительными реагентами, поэтому они выполнялись в темноте или при минимальном освещении.

После промывки стёкла с тканью помещали во влажную камеру для инкубации с вторичными антителами типа Oregon Green (goat anti-rabbit IgG), конъюгированными с флуорохромами. Вторичные антитела также разводили в фосфатном буфере, содержащем 0,05% мертиолата, но в соотношении 1:100 (антитело:растворитель). Разведённые вто-

ричные антитела наносили на срезы с тканью и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре. На данном этапе исследования вторичные антитела специфически связывались с первичными антителами, которые в свою очередь связаны с P2-рецепторами в стенке сосудов.

Не позволяя ткани высохнуть, на неё наносили раствор Citifluor (Citifluor™ Ltd, Лондон, Великобритания), содержащий глицерин. Поверх этого раствора накладывали покровное стекло.

Микроскопирование окрашенных срезов проводили при помощи микроскопа Zeiss AxioPlan (Zeiss, Германия). Фотографирование образцов кровеносных сосудов, окрашенных антителами, осуществляли цифровым фотоаппаратом Leica DC200 (Leica Instruments, США).

*Контрольные образцы*

В каждой серии исследований одно предметное стекло с каждым видом сосудов (АЖП или БПВ) выступало в качестве контрольного образца, который не окрашивали первичными антителами (вместо первичного антитела срезы сосудов инкубировали в 10% растворе нормальной неиммунной сыворотки лошади, разведённой в фосфатном буфере, содержащем 0,05% мертиолата). В остальном протокол исследования для контрольных образцов не отличался от опытной группы.

*Используемые первичные антитела*

При исследовании АЖП использовали первичные антитела к следующим подтипам P2-рецепторов: P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2X<sub>4</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>, P2Y<sub>4</sub>. Для оценки БПВ применяли первичные антитела к следующим подтипам P2-рецепторов: P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>.

*Окраска гематоксилином и эозином*

Для оценки морфологической структуры использованных кровеносных сосудов часть криостатных срезов подвергали рутинной окраске гематоксилином и эозином.

## Результаты

*Артерия жёлчного пузыря*

Иммуногистохимический анализ срезов АЖП показал наличие P2X<sub>1</sub>-, P2X<sub>3</sub>-, P2Y<sub>1</sub>-, P2Y<sub>2</sub>-подтипов рецепторов и отсутствие подтипов рецепторов P2X<sub>2</sub>, P2X<sub>4</sub>, P2Y<sub>4</sub> (табл. 1). Из семейства P2X-рецепторов подтипы P2X<sub>1</sub> и P2X<sub>3</sub> показали высокую экспрессию в гладкомышечных клетках (рис. 1). Среди семейства P2Y-рецепторов наибольшая экспрессия наблюдалась в срезах, окрашенных антителами к подтипу P2Y<sub>1</sub>, и чуть меньшая экспрессия P2Y<sub>2</sub>-подтипа. Оба под-



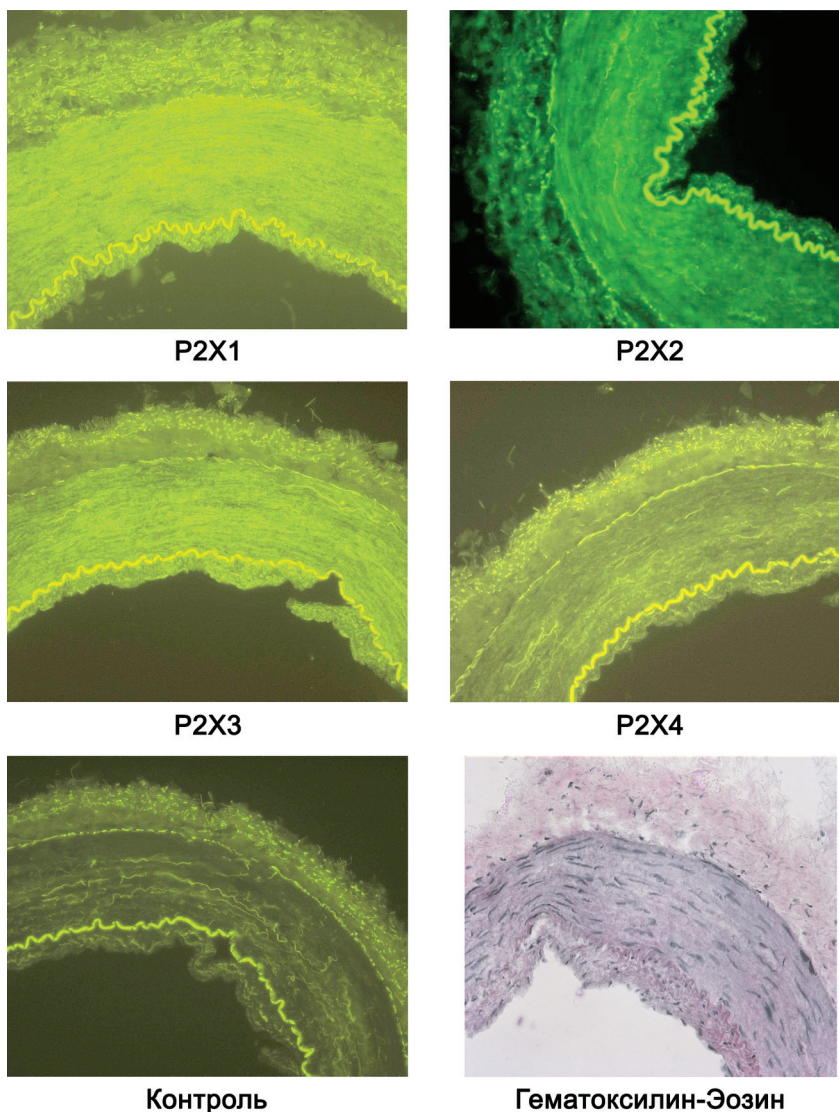


Рис. 1. Микрофотографии гистологических препаратов артерии жёлчного пузыря человека. Иммунофлюоресцентный анализ с антителами к P2X-подтипам рецепторов ( $\times 240$ ). Приведена также микрофотография артерии жёлчного пузыря человека, окрашенной гематоксилином и эозином

типа рецепторов были обнаружены в гладкомышечных клетках сосуда. В то же время P2Y<sub>1</sub>-подтип также экспрессирован на поверхности эндотелиальных клеток. P2Y<sub>2</sub>-подтип рецепторов на эндотелиальных клетках не обнаружен (рис. 2).

*Большая подкожная вена*

Исследования срезов БПВ человека были проведены в двух группах больных — с проявлениями варикозной болезни и без неё.

В срезах БПВ больных без варикозной болезни были обнаружены P2X<sub>1</sub>-, P2X<sub>2</sub>- и P2Y<sub>1</sub>-подтипы рецепторов (табл. 1). Наибольшая иммунореактивность была выявлена по отношению к P2X<sub>1</sub>-подтипу рецепторов. Локализация данного подтипа рецепторов была преимущественно

в гладкомышечных клетках. При окрашивании антителами к P2X<sub>2</sub>-подтипу рецепторов выявлено существенно меньшее свечение, что указывает на меньшую плотность данных рецепторов в БПВ. P2X<sub>2</sub>-рецепторы были в основном сконцентрированы в субэндотелиальных слоях гладких мышц (рис. 3). P2Y<sub>1</sub>-подтип также был выявлен в субэндотелиальных мышечных структурах, однако этот подтип рецепторов также был обнаружен и на поверхности эндотелиальных клеток (рис. 3).

Интересно, что P2Y<sub>1</sub>-рецепторы были также широко представлены в микрососудах БПВ (*vasa vasorum*). P2Y<sub>2</sub>-подтип рецепторов не был обнаружен в срезах вен без варикоз-

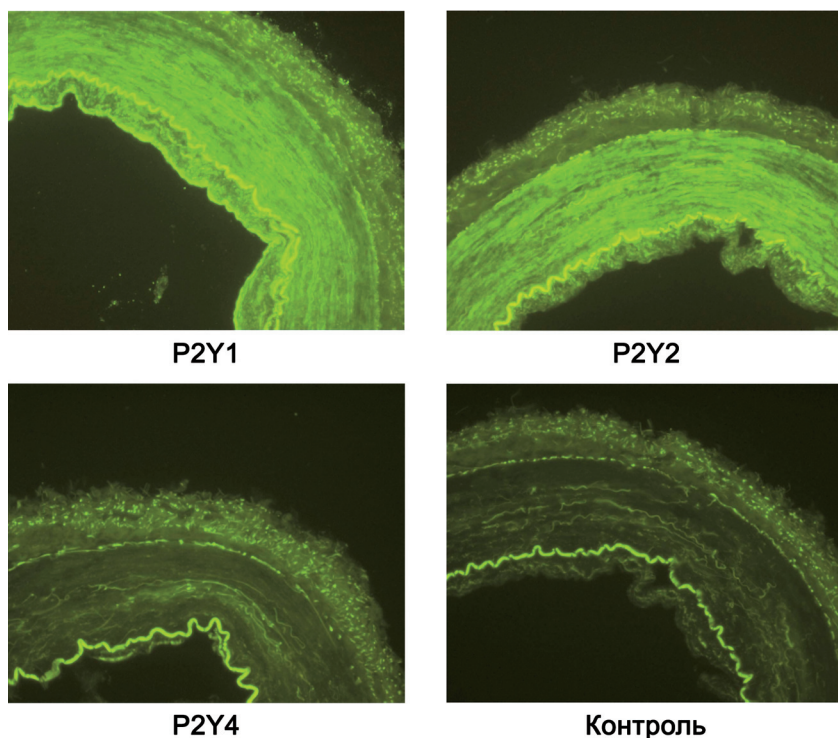


Рис. 2. Микрофотографии гистологических препаратов артерии жёлчного пузыря человека. Иммунофлюоресцентный анализ с антителами к P2Y-подтипам рецепторов (×240)

Таблица 1

Результаты иммуногистохимического анализа артерии жёлчного пузыря и большой подкожной вены бедра человека (с варикозной болезнью и без неё) на наличие и локализацию P2-рецепторов

Рецептор	Артерия жёлчного пузыря		Большая подкожная вена (без варикозной болезни)		Большая подкожная вена (с варикозной болезнью)	
	Экспрессия	Локализация	Экспрессия	Локализация	Экспрессия	Локализация
P2X <sub>1</sub>	+	ГМК	+	ГМК	—	—
P2X <sub>2</sub>	—	—	+	ГМК	+	ГМК
P2X <sub>3</sub>	+	ГМК	н/и	н/и	н/и	н/и
P2X <sub>4</sub>	—	—	н/и	н/и	н/и	н/и
P2Y <sub>1</sub>	+	ГМК + ЭК	+	ГМК + ЭК	+	ГМК
P2Y <sub>2</sub>	+	ГМК	—	—	—	—
P2Y <sub>4</sub>	—	—	н/и	н/и	н/и	н/и

Примечание: ГМК — гладкомышечные клетки; ЭК — эндотелиальные клетки; н/и — не исследованные подтипы рецепторов.

ного поражения, поскольку яркость свечения данных срезов, окрашенных антителами к этому подтипу, не отличалась от таковой контрольных образцов.

В образцах БПВ, полученных от пациентов с варикозной болезнью, были обнаружены P2X<sub>2</sub>- и P2Y<sub>1</sub>-подтипы рецепторов (табл. 1). Как P2X<sub>2</sub>-, так и P2Y<sub>1</sub>-подтипы были локализованы в гладкомышечных клетках. Экспрессия этих рецепторов отмечалась практически во всех слоях мышечной ткани сосуда (рис. 4). Среди этой группы больных ни один

из подтипов рецепторов не был обнаружен на эндотелиальных клетках. По аналогии с образцами, не повреждёнными варикозной болезнью, P2Y<sub>1</sub>-подтип рецепторов хорошо выявлялся в микрососудах БПВ (рис. 4). Подтипы P2X<sub>1</sub> и P2Y<sub>2</sub> в этих образцах сосудов обнаружены не были.

### Обсуждение

В настоящем исследовании были показаны наличие и локализация определённых подтипов P2-рецепторов в АЖП и БПВ чело-

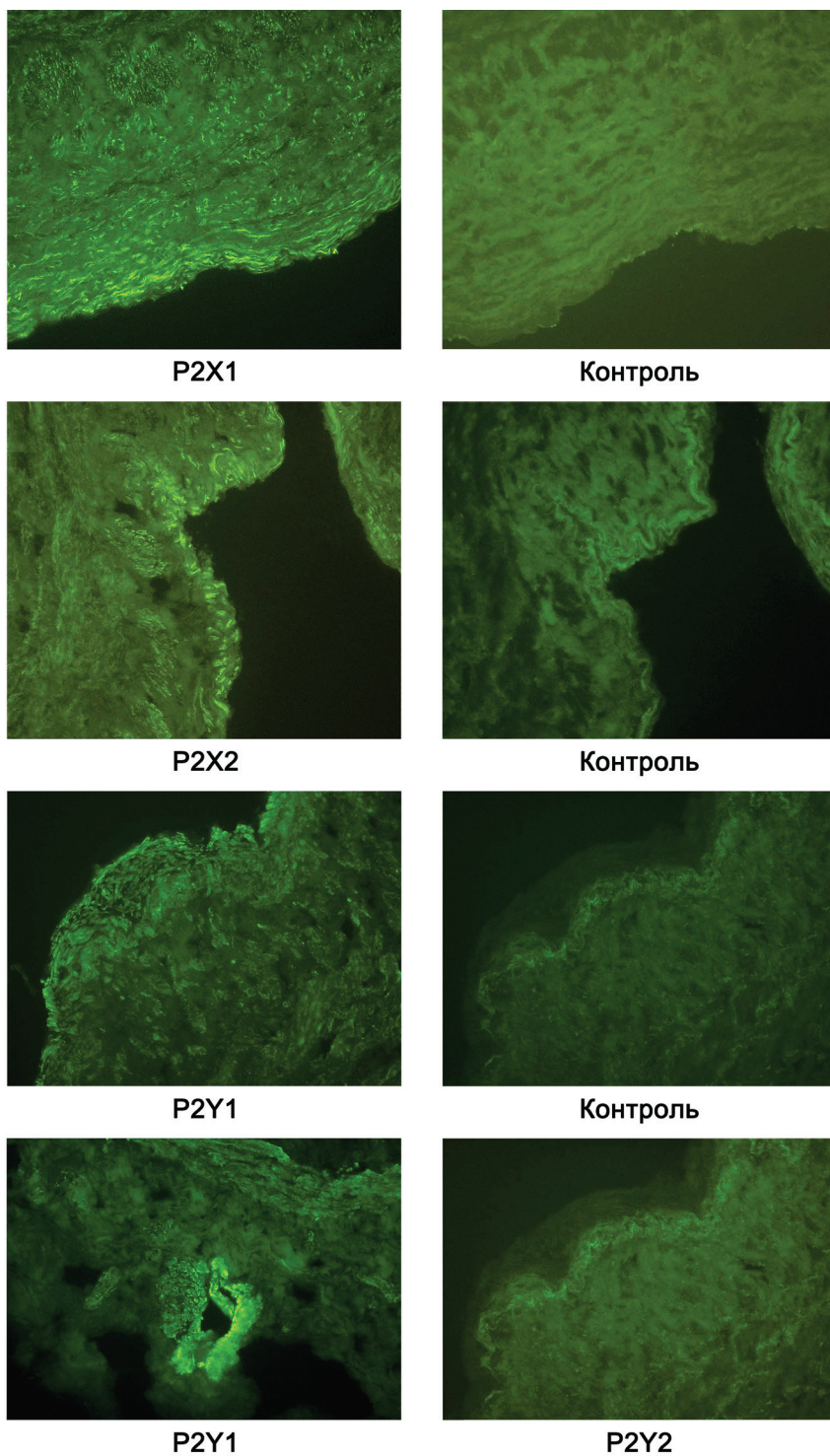


Рис. 3. Микрофотографии гистологических препаратов большой подкожной вены бедра человека, без варикозной болезни. Иммунофлуоресцентный анализ с антителами к P2X- и P2Y-подтипам рецепторов ( $\times 240$ )



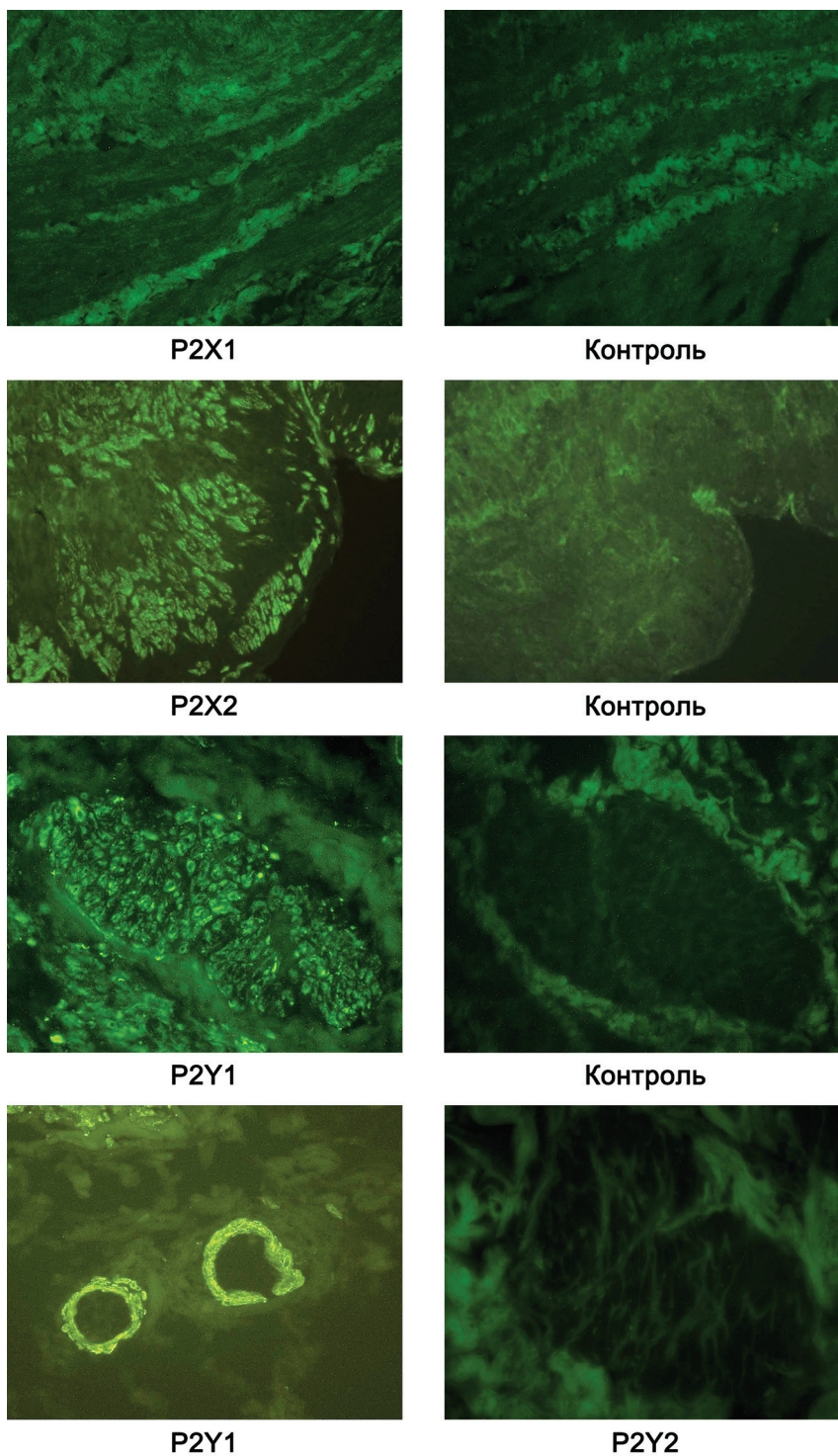


Рис. 4. Микрофотографии гистологических препаратов большой подкожной вены бедра человека, с варикозной болезнью. Иммунофлуоресцентный анализ с антителами к P2X- и P2Y-подтипам рецепторов ( $\times 240$ )

века. Морфологическое подтверждение наличия конкретных подтипов P2-рецепторов даёт более глубокое понимание того, через какие подтипы рецепторов опосредуются ответы, полученные нами ранее в фармакологических экспериментах [1, 2, 15]. Некоторые результаты данного исследования требуют дополнительного обсуждения.

#### *Артерия жёлчного пузыря*

Обнаружение P2X<sub>1</sub>-рецепторов в гладкомышечных клетках АЖП не является удивительным, поскольку данные рецепторы широко представлены в мышечном слое многих сосудов человека и животных. P2X<sub>1</sub>-рецепторы опосредуют быстрый сократительный ответ на АТФ, выделяемому совместно с норадреналином при стимуляции симпатических периваскулярных нервных волокон [12].

В то же время наличие P2X<sub>3</sub>-рецепторов в гладкомышечном слое артерий нетипично, поскольку эти рецепторы в большинстве случаев являются проводниками болевой чувствительности [6]. Возможно, экспрессия этих рецепторов в сосудистой стенке вызвана патофизиологическими механизмами, поскольку образцы АЖП получены от больных с хроническим калькулёзным холециститом, а воспалительные процессы в некоторых органах и тканях вызывают экспрессию и активацию определённых подтипов P2-рецепторов [8]. В настоящее время сложно предположить роль данного подтипа P2-рецепторов в регуляции сосудистого тонуса.

Наличие P2Y<sub>1</sub>-рецепторов в стенке АЖП также является хорошо описанным явлением во многих артериальных сосудах [7]. P2Y<sub>1</sub>-рецепторы, расположенные на гладкомышечных клетках, опосредуют вазодилатирующий эффект АТФ, выделяемой из окончаний чувствительных периваскулярных нервных волокон [12]. В то же время P2Y<sub>1</sub>-рецепторы, локализованные на поверхности эндотелиальных клеток, также опосредуют ослабление сосудистой стенки в ответ на АТФ, либо выделяемую из циркулирующих в сосудистом русле тромбоцитов, либо секретируемую самими эндотелиальными клетками в ответ на изменение гемодинамики (shear stress). Поскольку P2Y<sub>2</sub>-рецепторы были обнаружены в мышечном слое АЖП, вероятнее всего, данный подтип опосредует вазоконстриктивные свойства (описанные ранее в других артериях [7]), поскольку вазодилатирующий эффект активации данного рецептора на сегодняшний день известен только при их локализации на эндотелиальных клетках [7].

#### *Большая подкожная вена*

Примечательные результаты были получены при сравнении экспрессии различных подтипов P2-рецепторов в образцах БПВ при наличии и отсутствии варикозного повреждения. Образцы вен, не поражённые варикозной болезнью, экспрессировали P2X<sub>1</sub>-рецепторы в мышечном слое, в то время как в варикозно изменённых венах данных рецепторов обнаружить не удалось. Поскольку P2X<sub>1</sub>-рецепторы важны для обеспечения вазоконстрикции, возможно, именно утрата этих рецепторов при варикозной болезни объясняет уменьшение сократительной способности БПВ, показанной нами ранее в функциональных фармакологических экспериментах [2, 13]. Аналогичное наблюдение и гипотезу выдвинули M.J. Metcalfe и соавт. в исследовании варикозных вен [10]. Однако интересным отличием нашего исследования является обнаружение P2X<sub>2</sub>-рецепторов, экспрессия которых значительно выше в варикозных венах по сравнению со здоровыми венами.

Перестройка рецепторного аппарата, которая, возможно, происходит в процессе варикозного поражения БПВ [7, 10], может включать и обнаруженную в нашем исследовании повышенную экспрессию P2Y<sub>1</sub>-рецепторов в венах больных с данной патологией. Известно, что, помимо регуляции тонуса кровеносных сосудов, P2Y<sub>1</sub>-рецепторы играют важную роль в реализации синтетической и пролиферативной активности гладкомышечных и эндотелиальных клеток [12, 13]. В связи с этим можно предположить, что патофизиологический механизм развития варикозной болезни вовлекает перестройку P2-рецепторов по следующему механизму: в ответ на атрофические явления, происходящие с мышечным слоем варикозной вены [3], P2Y-рецепторы перестраиваются в сторону усиления синтетической и пролиферативной функций повреждённых тканей. Возможно, именно это приводит к формированию чередующихся участков гипертрофии и атрофии мышечного слоя БПВ, поражённой варикозной болезнью [3].

#### *Практическое значение исследования*

Несмотря на то, что данное исследование носит важный фундаментальный характер в описании конкретных подтипов P2-рецепторов, представленных в артерии и вене человека, полученные данные представляют и значительный практический интерес. В настоящее время P2-рецепторы представляют собой перспективные мишени действия лекарственных средств, в том числе влияю-



щих и на сердечно-сосудистую систему [16].

Наиболее известными препаратами, широко применяемыми в клинической практике, являются антагонисты P2Y<sub>12</sub>-рецепторов клопидогрел, тиклопидин и празугрель — мощные антиагрегантные средства. Описание наличия и локализации конкретных подтипов P2-рецепторов в АЖП человека может служить моделью для прогнозирования наличия аналогичных рецепторов в других мышечных артериях подобного калибра. Разработка селективных агонистов и антагонистов P2X- и P2Y-рецепторов может быть новым направлением развития антигипертензивных лекарственных препаратов.

Информация о рецепторном аппарате БПВ имеет существенное значение для понимания патофизиологии варикозного поражения вен нижних конечностей. P2-рецепторы также могут служить мишенью для разработки лекарственных средств, которые бы замедляли дегенеративные процессы, происходящие при варикозной болезни. Сохранение БПВ и предотвращение её повреждения варикозной болезнью имеют огромное клиническое значение, поскольку данный сосуд служит наиболее распространённым и удобным кондуитом при проведении операций по реваскуляризации миокарда и других шунтирующих операций.

## ВЫВОДЫ

1. Проведённое исследование показало наличие и локализацию различных подтипов P2-рецепторов в кровеносных сосудах человека — артерии жёлчного пузыря и большой подкожной вены.

2. На основании результатов данного морфологического исследования можно судить о том, какие подтипы P2-рецепторов вовлекаются в регуляцию тонуса артерии жёлчного пузыря и большой подкожной вены человека в норме и при патологии. Также можно предположить, что именно эти подтипы P2-рецепторов опосредуют сократительные и расслабительные ответы, обнаруженные нами ранее в фармакологических исследованиях. Вероятно, перестройка P2-рецепторного аппарата играет важную роль в патогенезе варикозной болезни.

3. Уточнение наличия конкретных подтипов P2-рецепторов и их локализации в стенке кровеносных сосудов человека даёт возможность разработки новых лекарственных препаратов, действующих селективно на эти рецепторы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Зиганшин А.У., Зиганшин Б.А., Гиниятова Л.Р., Джорджиджия Р.К. Влияние PPADS на P2X-рецептор-опосредованные ответы кровеносных сосудов человека // *Бюлл. эксперим. биол. и мед.* — 2004. — Т. 137, №3. — С. 321–324. [Ziganshin A.U., Ziganshin B.A., Giniyatova L.R., Dzhordzhikiya R.K. Effect of PPADS on P2X receptor-mediated responses of human blood vessels. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2004; 137 (3): 321–324. (In Russ.)]
2. Зиганшин Б.А., Славин Д.А., Зиганшина А.П. и др. Функциональная активность варикозно изменённой большой подкожной вены человека на разных её участках // *Бюлл. эксперим. биол. и мед.* — 2013. — Т. 155, №4. — С. 419–423. [Ziganshin B.A., Slavin D.A., Ziganshina A.P. et al. Functional activity of varicose human great saphenous vein at different sites. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2013; 155 (4): 419–423. (In Russ.)]
3. Badier-Commander C., Couvelard A., Henin D. et al. Smooth muscle cell modulation and cytokine overproduction in varicose veins. An in situ study // *J. Pathol.* — 2001. — Vol. 193. — P. 398–407.
4. Burnstock G. Noradrenaline and ATP as cotransmitters in sympathetic nerves // *Neurochem. Int.* — 1990. — Vol. 17. — P. 357–368.
5. Burnstock G. Purine and pyrimidine receptors // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2007. — Vol. 64. — P. 1471–1483.
6. Burnstock G. Purinergic mechanisms and pain — an update // *Eur. J. Pharmacol.* — 2013. — Vol. 716. — P. 24–40.
7. Burnstock G., Ralevic V. Purinergic signaling and blood vessels in health and disease // *Pharmacol. Rev.* — 2014. — Vol. 66. — P. 102–192.
8. Idzko M., Ferrari D., Eltzschig H.K. Nucleotide signalling during inflammation // *Nature.* — 2014. — Vol. 509. — P. 310–317.
9. Knight G.E., Oliver-Redgate R., Burnstock G. Unusual absence of endothelium-dependent or -independent vasodilatation to purines or pyrimidines in the rat renal artery // *Kidney Int.* — 2003. — Vol. 64. — P. 1389–1397.
10. Metcalfe M.J., Baker D.M., Turmaine M. et al. Alterations in purinoceptor expression in human long saphenous vein during varicose disease // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 2007. — Vol. 33. — P. 239–250.
11. Ralevic V. P2X receptors in the cardiovascular system and their potential as therapeutic targets in disease // *Curr. Med. Chem.* — 2015. — Vol. 22. — P. 851–865.
12. Ralevic V., Burnstock G. Involvement of purinergic signaling in cardiovascular diseases // *Drug News Perspect.* — 2003. — Vol. 16. — P. 133–140.
13. Schachter M. Endothelium and smooth muscle: trophic interactions and potential for therapeutic intervention // *J. Hum. Hypertens.* — 1990. — Vol. 4, suppl. 4. — P. 17–20; discussion 20-1.
14. Turner C.M., Vonend O., Chan C. et al. The pattern of distribution of selected ATP-sensitive P2 receptor subtypes in normal rat kidney: an immunohistological study // *Cells Tissues Organs.* — 2003. — Vol. 175. — P. 105–117.
15. Ziganshin A.U., Khaziakhmetov D.F., Ziganshina L.E. et al. Varicose disease affects the P2 receptor-mediated responses of human greater saphenous vein // *Vascul. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 42. — P. 17–21.
16. Ziganshin A.U., Ziganshin B.A. P2 receptors — Promising targets for future drugs // *Current Topics in Pharmacol.* — 2012. — Vol. 16. — P. 31–43.
17. Ziganshina A.P., Ziganshin B.A., Ziganshin A.U. Dual effects of ATP on isolated arteries of the bovine eye // *Pharmacol. Res.* — 2012. — Vol. 66. — P. 170–176.