

## Sinir Sisteminde Pürinerjik Mekanizmalar: Adenozin Trifosfatın Migren Patofizyolojisindeki Rolü

Purinergic mechanisms in the nervous system: the role of adenosine triphosphate in the migraine pathophysiology

Erkan Kılınc

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziyojji Ana Bilim Dalı, Bolu



### Özet

Adenozin 5'-trifosfat (ATP) hücre içi enerji kaynağı olmasının yanında hücre dışına çıktığında pürinerjik haberleşmede rol oynayan önemli bir nörotansmitter ve ko-transmitterdir. Vücudun birçok bölümünde bir sinyal molekülü olan ekstrasellüler ATP, merkezi ve periferik sinir sisteminde etkisini iyonotropik P2X ve metabotropik P2Y reseptörleri aracılığı ile gösterir. ATP ve diğer nükleotitlerin aktive ettiği bu pürinerjik reseptörler tüm vücut boyunca dağılım gösterir. ATP' nin merkezi ve periferik sinir sisteminde bir nörotansmitter olarak işlevinin olduğu ve pürinerjik haberleşmenin birçok fizyolojik olayda ve ayrıca ağrı, migren ve inflamasyon gibi patofizyolojik durumlarda rol oynadığı günümüzde daha iyi bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar ATP' nin somatik ve viseral ağrıların başlatılmasında ve iletilmesinde rolü olduğunu göstermektedir. ATP primer afferent sinir terminallerinde bulunan P2X3 ve P2X2/3 reseptörleri aracılığı ile periferik ağrı sinyallerini başlatabilmektedir. ATP bu reseptörleri aktive ettiğinde hücre içine hızlı bir kation girişi ile membran depolarize olmakta ve ağrı sinyalleri oluşmaktadır. Ağrı sinyallerinin periferden merkeze aktarılmasına ise ikinci sıra nöronlarında bulunan P2X2, P2X3 ve P2X6 reseptörleri aracılık etmektedir. Migren ağrısının başlamasındaki asıl olayın trigeminovasküler sistemin aktivasyonu olduğu bilinmesine rağmen migren patofizyolojisi henüz anlaşılamamıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla somatik ağrılarda olduğu gibi bir viseral ağrı olan migren baş ağrısında da ATP' nin pürinoseptörleri aracılığı ile önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Sunulan derlemede bir nörotansmitter olarak ekstrasellüler ATP ve pürinoseptörlerinin migren patofizyolojisindeki işlevleri ve yeni tedavi yaklaşımları tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Adenozin trifosfat, ağrı, trigeminovasküler sistem, migren, pürinerjik reseptörler.

### Abstract

Notwithstanding that adenosine 5'-triphosphate (ATP) is an intracellular energy source, it is an important neurotransmitter and co-transmitter which play a role in purinergic signaling when it get out of the cell. Extracellular ATP is a signaling molecule in the most area of the body and it shows its effects via ionotropic P2X and metabotropic P2Y receptors in the central and peripheral nervous system. These purinergic receptors activated by ATP and other nucleotides demonstrate a wide distribution throughout the body. It is well established nowadays that ATP has function as a neurotransmitter in the central and peripheral nervous system and purinergic signaling plays a role in many physiological process and additionally in the pathological conditions such as pain, migraine and inflammation. Recently studies have showed that ATP has a role in initiation and propagation of somatic and visceral pains. ATP is able to initiate periferal pain signals via P2X3 and P2X2/3 receptors which are located primary afferent nerve terminals. When ATP activate these receptors, pain signals are produced by membrane depolarization via cation inflow to the cell. Transmission of pain signals from periferal to central are mediated by P2X2, P2X3 and P2X6 receptors which are located second order neurons. Although it has been known that main process in initiation of migraine pain is activation of the trigeminovascular system, pathophysiology of migraine is not yet completely understood. It has been claimed by studies recently that ATP may play a key role via its purinoceptors in migraine headache as well like somatic pains. In the present review, functions of extracellular ATP and its purinoceptors in the migraine pathophysiology and new treatment approaches were discussed.

**Keywords:** Adenosine triphosphate, pain, trigeminovascular system, migraine, purinergic receptors.

### GİRİŞ

Adenozin Trifosfat (ATP) tüm memeli hücrelerinde hücresel metabolizma için gerekli olan kimyasal enerjinin

kullanılabilir temel formudur. Hücre içinde bir enerji kaynağı olmakla birlikte ATP, kinazlar tarafından sinyal transdüksiyon yollarında ve ayrıca adenilat siklaz

enzimi tarafından hücre içi ikinci haberci olan döngüsel adenozin monofosfat (cAMP)' in sentezinde bir substrat olarak da kullanılır.

Önceleri ATP' nin hücre içi enerji kaynağı olmasının dışında farklı fizyolojik etkilerinin olduğuna dair çok az bilgi mevcut iken son zamanlarda yapılan araştırmalar pürinerjik sinyalleşme yoluyla ATP' nin sinir sisteminin birçok aktivitesinde rol oynadığını ortaya çıkarmıştır.

İleride bahsedilecek olan çeşitli mekanizmalarla hücre dışına çıkan ATP, ekstrasellüler ortamda ektonükleotidazlar tarafından hızlı bir şekilde adenezine kadar parçalandığı için bu durum ekstrasellüler ATP' nin fonksiyonlarının ortaya çıkarılmasını zorlaştırmıştır.

İlk defa Holton tavşan kulak arterini innerve eden duysal sinirlerin antidromik olarak uyarılması sırasında bu sinirlerden ATP' nin salındığını göstererek ATP' nin sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak fonksiyonu olduğunu önermiştir (1).

Daha sonra üç farklı araştırma gurubu tarafından aynı dönemde birbirinden bağımsız olarak yapılan çalışmalarda, sıçan habenula kesitlerine ve çölyak gangliyondan elde edilen nöron kültürüne ATP uygulanmasıyla elde edilen sinaptik

akımlar kaydedilerek ATP' nin sinir sisteminde hızlı eksitatör postsinaptik akımlara aracılık eden bir nörotransmitter olduğu kesinlik kazanmış oldu (2-4).

Günümüzde ise ATP' nin merkezi ve periferik sinir sisteminde bir nörotransmitter ve ko-transmitter olarak fonksiyonu olduğuna dair veriler artmıştır. ATP ve özellikle ATP' nin bağlandığı reseptörler olan pürinoseptörler hakkındaki bilginin çoğu bu alanda çalışan Avustralyalı bilim insanı Geoffrey Burnstock tarafından literatüre kazandırılmıştır.

ATP sinir sisteminde genel olarak nöroprotektif, otonomik fonksiyonların kontrolü, nöral-gliyal etkileşimler, damar tonusu ve anjiyogenezisin kontrolü, ağrı ve mekanosensör transdüksiyon ve özel duyuların fizyolojisinde önemli rol oynamaktadır (tablo 1) (5,6). Bu derlemede ATP' nin ağrı oluşumu ve iletimi ve özellikle migren ağrısı üzerindeki rolü ele alınmıştır.

### **ATP' nin Kaynakları, Depolanması, Salınması ve Yıkımı**

ATP hücre içinde çok sayıda biyokimyasal reaksiyon için bir enerji kaynağıdır. Bu enerji kaynağı hücrede hızlı bir şekilde sürekli yenilenir veya depolanır. Sitozolde ATP, çoğunlukla glikoz ve trigliseritlerden

Fonksiyon
• Nöroprotektiftir (5,6)
• Eksitator post sinaptik potansiyellere aracılık eder (5,6)
• Çeşitli nörotransmitterler ile bir ko-transmitter olarak ve sıklıkla adenezine yıkıldıktan sonra önemli bir presinaptik ve postsinaptik modülatör olarak işlev görür (5,6)
• Zararlı olabilecek uyarılar için sinir dokusunu uyaran bir tehlike uyarıcısı olarak görev yapar (5,6)
• İnflamatuvar mediyatörlerin salgılanmasında, immünmodulasyonda ve immün süpresyonda önemli bir role sahiptir (5,6)
• Astrositlerin kendilerine özgü şekli almasını, göç ve proliferasyonunu, astrogliozisi ve dokunun yeniden şekillenmesini uyarır (5,6)
• Duysal ağrının algılanmasında, nöropatik ağrılarda önemli bir göreve sahiptir (5,6)
• Nöral kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasında görev yapar (5,6)
• Dildeki duysal algılamada bir transmitterdir ve diğer duysal organlar olan göz, iç kulak ve koku duyusunun fonksiyonunda önemli bir görev yapar (5,6)
• Nöro-gliyal haberleşmede rol oynar (5,6)

**Tablo 1.** ATP' nin sinir sistemindeki bazı önemli görevleri.

glikoliz yoluyla mitokondride ise oksidatif fosforilasyon yoluyla sürekli üretilmektedir.

Sitoplazma yaklaşık 5 mmol/lit (5–10 mM) ATP içerir ancak daha yüksek ATP konsantrasyonlarını (100 mmol/lit' ye kadar) nöronların sekretuar veziküllerinde, mast hücrelerinin sekretuar granüllerinde, plateletlerin serotonerjik granüllerinde ve ekzokrin bezlerde görmek mümkündür (7). Bunlar arasında kan plateletleri yüksek düzeyde ATP depo ettiği için ayrı bir öneme sahiptir ve agregasyon sırasında aktive

olduklarında plateletlerden ATP salınmaktadır (8).

Farklı presinaptik terminallerde ATP ve diğer nükleotitler sekretuar ve sinaptik veziküller içinde depo edilirler (6). İlgili sekretuar veziküllerde ATP tek başına bulunabileceği gibi (medyal habenula ve kortekste olduğu gibi) GABA veya glutamat gibi diğer nörotransmitterler ile birlikte depo edilmiş olarak da bulunabilir ve bu nörotransmitterler ile birlikte salınabilir (9).

Bir nörotransmitter olarak ATP sinapslardan, yaralanma sonucu hasara uğrayan hücrelerden ve mekanik strese maruz kalan hücrelerden salınır. ATP farklı mekanizmalar ile hücreden salınmaktadır. Bu salınım mekanizmaları; presinaptik terminallerden ekzositoz, astrosit membranlarında ekspresse edilen hemikanallar (konnesin veya panneksin), P2X7 reseptörleri, volüme duyarlı Cl<sup>-</sup> kanalları gibi büyük transmembran porlardan difüzyon yolu ile salınımıdır (9). Bunların dışında ATP-bağlı kaset taşıyıcıları ile salındığı da ileri sürülmektedir (5).

ATP' nin sinaptik veziküller içine alınmasına Cl<sup>-</sup> bağımlı veziküler nükleotit transporterin (VNUT) aracılık ettiği bilinmektedir (10), bu bilgi sinir terminallerinden ATP' nin ekzositoz

yoluyla veziküler olarak salındığı yönündeki görüşleri desteklemektedir (5).

Bir nörotransmitter olarak nöronlardan veya diğer fizyolojik işlevler için non-nöronal hücrelerden salınan ekstrasellüler ATP membranda bulunan ektonükleotidazlar tarafından çok hızlı bir şekilde yıkılmaktadır. ATP yıkım ürünlerinin (ADP ve adenozin) de çeşitli purinerjik reseptörlere bağlanabilme özelliğine sahip olduğu düşünülürse bu durum ATP' nin fizyolojik olayları kendisi doğrudan modüle edebildiği gibi yıkım ürünleri ADP ve adenozin üzerinden de dolaylı olarak düzenlediğini göstermektedir. ATP' yi parçalayan ektonükleotidazlar; ekto-nükleozit trifosfat difosfohidrolazlar (E-NTPDaz), ektonükleotit pirofosfatazlar (E-NPP), alkalın fosfatazlar ve ekto-5'-nükleotidazdır (11). Bu enzimlerin substrat spesifiteleri farklı olup E-NTPDaz ve E-NPP, ATP ve ADP' yi AMP' ye hidroliz ederken AMP ise ekto-5'-nükleotidaz tarafından son metabolik ürün olan adenezine hidroliz edilir. Alkalın fosfatazlar ise nükleozit trifosfat, difosfat ve monofosfatlar üzerine eşit derecede substrat spesifitesi gösterirler (12).

### **Merkezi Sinir Sisteminde Hızlı Bir Nörotransmitter Olarak Ekstrasellüler ATP**

Edward ve ark. (2) patch-clamp yöntemi ile rat medyal habenula hücrelerinde tetiklenen hızlı sinaptik akımları geniş spektrumlu ATP reseptör antagonisti olan suramin ile bloke ederek ATP' nin hızlı sinaptik akımlara aracılık ettiğini gösterdiler. Aynı yıl farklı iki araştırma gurubu kültüre alınmış memeli nöronlarında ATP aracılı hızlı sinaptik akımların oluştuğunu göstererek ATP' nin merkezi sinir sisteminde bir nörotransmitter olduğunu kanıtlamışlardır (3,4). ATP' nin bu hızlı eksitator etkisi merkezi sinir sisteminde temel eksitator bir nörotransmitter olan glutamata çok benzemektedir. Ancak ATP' nin ekstrasellüler alana çıktıktan hemen sonra burada bulunan ektonükleotidazlar tarafından hızlı bir şekilde adenezine kadar yıkılması ve adenezinin ATP' ye zıt olarak inhibitör etki göstermesi ATP' nin bu etkisinin çok hızlı ve kısa süreli olduğunu göstermektedir. ATP ilgili sinapslarda eksitator olmasına karşın son yıkım ürünü olan adenozin, merkezi sinir sisteminde pre ve postsinaptik olarak inhibitör bir nöromodulatördür. Adenozin glutamat ve GABA gibi çeşitli nörotransmitterlerin presinaptik salınımını bloke etmektedir ve hücre içi adenil siklaz enzimi üzerinden  $K^+$  çıkışına neden olarak inhibitör postsinaptik etki göstermektedir. Bu durumda ATP' nin

çok hızlı direk eksitator sinaptik etkisini (P2X reseptörleri aracılı çoğunlukla  $Ca^{+2}$  geçişleri ile) son yıkım ürünü olan adenosin aracılığı ile inhibitör dolaylı bir etki takip etmektedir. Dolayısıyla ATP ile aktive edilen fizyolojik olayların çoğu adenosin ile bloke edilmektedir. Örneğin ATP astrositlerden glutamat salınımına yol açarken adenosin ise bu salınımı bloke etmektedir (13). Karşımıza çıkan bu ikili etki, merkezi sinir sisteminde meydana gelen fizyolojik olayların hangilerine doğrudan ATP tarafından aracılık edildiğini anlamamızı zorlaştırmaktadır.

### **Bir Nörotransmitter Olan Extrasellüler ATP' nin Reseptörleri**

ATP' nin aktive ettiği reseptörler birçok dokuda yaygın olarak ekspresse edilmektedir (tablo 2). Pürin yapıdaki ligandların etkilerini ortaya çıkarmak için bağlandıkları reseptörler pürinoseptörler olarak isimlendirilir ve bu pürinoseptörlerin endojen ligandları ATP, ADP, UTP, UDP ve adenosindir (14). Burnstock pürinerjik reseptörleri P1 ve P2 olmak üzere iki genel alt sınıfa ayırmıştır (5). ATP ve ADP P2, adenosin ise P1 reseptörlerini aktive eder (15). P1 reseptörlerinin A1, A2a, A2b ve A3 olmak üzere dört alt tipi bulunmaktadır ve hepsi

G-protein ile kenetli metabotropik reseptörlerdir (16).

ATP, P2 reseptörleri üzerinden etkisini direk gösterirken ektoenzimler tarafından çok hızlı yıkıldığı için son yıkım ürünü olan adenosinin P1 reseptörleri üzerinden yaptığı etki ise ATP' nin dolaylı etkisidir. ATP' nin bağlandığı P2 reseptörleri yapı ve sinyal transdüksiyon mekanizmalarındaki farklılığa bağlı olarak kendi içinde P2X ve P2Y olmak üzere iki alt gruba ayrılır (17), bunlardan P2X reseptörleri iyonotropik ligand-kapılı katyon kanalı iken P2Y reseptörleri ise G-protein kenetli metabotropik reseptörlerdir. P2X reseptörleri aktive edildiğinde kanal açılır ve  $Na^{+}$ ,  $K^{+}$  ve  $Ca^{+2}$  iyonlarının geçişine izin verir. P2X reseptörlerinin şu ana kadar yedi alt grubu tanımlanmıştır bunlar; P2X1, P2X2, P2X3, P2X4, P2X5, P2X6 ve P2X7' dir. P2Y transmembran reseptörlerinin ise sekiz alt grubu tanımlanmış olup bunlardan P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6 ve P2Y11 alt grupları ATP bağlandığında fofsolipaz-C/inositoltrifosfat endoplazmik retikulum (ER)- $Ca^{+2}$  salınım yolunu aktiveleyen Gq/G<sub>11</sub> proteini ile kenetli iken P2Y12, P2Y13 ve P2Y14 reseptörleri ise adenil siklaz enzimini inhibe ederek iyon kanallarını modüle eden Gi/o proteini ile kenetlidir (5).

Reseptör	Ana Dağılım Yeri	Transdüksiyon Mekanizmaları	Cevap Verdiği Ligand	Kaynak
<b>P2X</b>				
<b>P2X1</b>	Dorsal kök spinal nöronları, düz kas, serebellum, plateletler	Katyon kanalı (Ca <sup>+2</sup> ve Na <sup>+</sup> )	ATP	(5,21)
<b>P2X2</b>	Beyin, medulla spinalis, düz kas, pankreas, retina, kromafin hücreler, otonom ve duysal ganliyon	İyon kanalı (özellikle Ca <sup>+2</sup> )	ATP	(5,21)
<b>P2X3</b>	Nosiseptif duysal nöronlar, nükleus traktus solitarius, bazı sempatik nöronlar	Katyon kanalı	ATP	(5,21)
<b>P2X4</b>	Beyin, medulla spinalis, testis, kolon, mikrogliya, endotelial hücreler	İyon kanalı (özellikle Ca <sup>+2</sup> )	ATP	(5,21)
<b>P2X5</b>	Ciltte çoğalma yeteneğindeki hücreler, barsak, mesane, timus, spinal kort, kalp, adrenal medulla	İyon kanalı	ATP	(5,21)
<b>P2X6</b>	Beyin, medulla spinalisteki motor nöronlar	İyon kanalı	Homomultimer olarak fonksiyonu yok	(5)
<b>P2X7</b>	Makrofajlar, mast hücreleri, mikrogliya, pankreas, cilt, endokrin organlar, retinal gangliyon hücreleri, uterus endometriumu	Katyon kanalı ve uzun süreli aktivasyona sahip olan büyük por	ATP	(5,19,21,22, 23)
<b>P2Y</b>				
<b>P2Y1</b>	Beyin, epitelyal ve endotelial hücreler, plateletler, immün hücreler, osteoklastlar	Gq/G11; PLC-β aktivasyonu	ADP, ATP	(5,21)
<b>P2Y2</b>	Osteoblastlar, immün hücreler, epitelyal ve endotelial hücreler, böbrek tübüleri	Gq/G11 ve muhtemelen Gi; PLC-β aktivasyonu	UTP, ATP	(5,21)
<b>P2Y4</b>	Plesenta, endotelial hücreler	Gq/G11 ve muhtemelen Gi; PLC-β aktivasyonu	UTP, ATP	(5,21)
<b>P2Y6</b>	Solunum yolu ve intestinal epitel hücreleri, plesenta, T-hücreleri, timus	Gq/G11 ve PLC-β aktivasyonu	UDP, UTP, ATP	(5,21)
<b>P2Y11</b>	Dalak, barsak, granülositler	Gq/G11 ve G <sub>s</sub> ; PLC-β aktivasyonu	ATP	(5,21)
<b>P2Y12</b>	Plateletler, gliyal hücreler	Gi (Go); adenil siklazın inhibisyonu	ADP, ATP	(5,21)
<b>P2Y13</b>	Dalak, beyin, lenf nodları, kemik iliği	Gi/Go	ADP, ATP	(5,21)
<b>P2Y14</b>	Mast hücreleri, plesenta, adipoz doku, mide, barsak, farklı beyin bölgeleri	Gq/G <sub>11</sub>	UDP	(5,21)
<b>P1</b>				
<b>A1</b>	Beyin, medulla spinalis, kalp, testis, otonom sinir terminaleri	Gi	adenozin	(5)
<b>A2A</b>	Beyin, kalp, dalak, akciğerler	G <sub>s</sub>	adenozin	(5)
<b>A2B</b>	Kalın barsak, mesane	G <sub>s</sub>	adenozin	(5)
<b>A3</b>	Beyin, akciğer, karaciğer, kalp, testis	Gi ve Gq/G <sub>11</sub>	adenozin	(5)
ATP: adenosin trifosfat, ADP: adenosin difosfat, UTP: Üridin trifosfat, UDP: Üridin difosfat, PLC-β: fosfolipaz C beta.				
<b>Tablo2.</b> Purinerjik reseptörlerin vücuttaki dağılımı, transdüksiyon mekanizmaları ve cevap verdiği ligandlar				

Sinir sisteminde ATP' nin purinerjik presinaptik hem de postsinaptik sinapslarda hızlı eksitator postsinaptik bölgelerde lokalizedir (18,19). Bu cevaplarına aracılık eden P2X reseptörleri aynı zamanda presinaptik reseptörlerinden P2X1,...P2X6 reseptörleri nörotransmitter salınımına da aracılık etmektedir (20). Normal yetişkin beyinde

P2X7 reseptör alt tipinin varlığına dair yeterli bilgi mevcut değildir ancak Deuchars ve ark. (19) yaptıkları bir çalışmada immünohistokimyasal boyama ile P2X7 reseptörünün transkriptlerinin beyin sapı ve medulla spinalis boyunca geniş bir dağılım gösterdiğini ortaya çıkarmışlardır.

### **Merkezi ve Periferik Sinir Sisteminde Bir Ko-transmitter Olarak Ekstrasellüler ATP**

Yapılan çalışmalar ekstrasellüler ATP' nin, merkezi sinir sisteminde korteks ve kaudat nükleusta ACh ile birlikte, hipotalamus ve lokus sereleusta NA ile birlikte, hipotalamus, dorsal kök ve retinada GABA ile birlikte, mezolimbik sistemde dopamin ile birlikte, hipokampus ve dorsal kökte glutamat ile birlikte bir ko-transmitter olarak yer aldığını (6,24); periferik sinir sisteminde ise sempatik sinirlerde NA ve NPY ile birlikte (25) parasempatik sinirlerde ACh ve VIP ile birlikte (26), duysal-motor sinirlerde CGRP ve SP ile birlikte (5), non-adrenerjik non-kolinerjik enterik sinirlerde NO ve VIP ile birlikte bir ko-transmitter olarak yer aldığını ortaya çıkarmıştır (27). ATP' nin periferik sinirlerde yukarıda bahsedilen nörotransmitterler ile birlikte bir ko-transmitter olarak bulunması ATP' nin bu sinirlerin işlevlerini modüle ettiğini göstermektedir. Dolayısıyla ATP periferik

sinirlerde bir nöromodülatör olarak görev yapmaktadır. ATP, pürinoseptörler aracılığı ile periferik sinirlerin aracılık ettiği tat, işitme, koku ve görme gibi duysal algılamaalarda, somatik ağrıların algılanmasında ve ağrı impulslarının ikinci sıra nöronlara aktarılmasında ve hatta P2X3 reseptörü aracılığı ile baş ağrısı gibi visseral ağrıların tetiklenmesinde görev almaktadır.

### **Ekstrasellüler ATP ve Ağrı**

Normal koşullarda ATP ekstrasellüler ortamda düşük konsantrasyonlarda bulunur, ancak inflamatuvar hastalıklar, doku yaralanması ve hipoksi gibi durumlarda hücre dışına çıkarak konsantrasyonu artar (28).

ATP primer afferent sinir liflerinin hem periferik hem de merkezi terminallerinde ağrının iletimini modüle ederek ağrının modülasyonunda önemli bir rol oynamaktadır (29). Somatik ağrıların algılanması ve iletilmesinde önemli göreve sahip olan ATP aynı zamanda visseral ağrıların iletilmesinde de görev yapmaktadır (30).

Yapılan bir çalışmada ATP' nin cilde enjekte edilmesi ile ağrı duyusunun ortaya çıktığı bildirilmiştir (31). Başka bir çalışmada ise karajenan ile oluşturulan inflamasyon hayvan modelinde P2

reseptör antagonistlerinin hayvanlara spinal olarak uygulanması sonucunda C-lifleri ile taşınan nosiseptif sinyallerin inhibe edildiği gösterilmiştir (32). Bu çalışmalar ATP' nin ağrı duyusunun başlatılması ve iletilmesinde önemli bir göreve sahip olduğunu göstermektedir. Ekstrasellüler ATP' nin ağrıyı oluşturmak için kullandığı mekanizma genellikle P2X reseptör kanallarının açılması ve sonuçta membran depolarizasyonuna yol açmasıdır. Medulla spinalisteki ikinci sıra nöronları üzerinde bulunan P2X reseptörleri aracılığı ile de ağrı impulslarının geçişine aracılık etmektedir.

Ağrı duyusunun algılanması ve iletilmesinde görev yapan P2X ve P2Y reseptörleri dorsal kök gangliyonu, trigeminal gangliyon, nodoz gangliyon ve petroz gangliyondaki duysal nöronlarda ekspresse olmaktadır ancak trigeminal gangliyon ve dorsal gangliyon nöronlarında P2X2, P2X3 ve P2X2/3 ve ayrıca P2Y1, P2Y2, P2Y4 ve P2Y6 reseptörleri daha fazla ekspresse edilmektedir (33).

Diğer alt tipleri ile karşılaştırıldığında primer duysal nöronlar üzerinde çok miktarda ekspresse edilen (34,35), P2X3 reseptörleri ağrının oluşumuna aracılık etmesi açısından ayrı bir öneme sahiptir.

Ekstrasellüler ATP' nin P2X3 reseptörlerini aktive etmesi ile ağrı sinyalleri oluşmaktadır. P2X3 reseptörleri nanomolar konsantrasyonlardaki ekstrasellüler ATP' ye duyarlıdır, bu özelliği reseptörün ağırlı uyarılara karşı çok hassas ve önemli bir transdüser olduğunu göstermektedir (36). Yapılan bir çalışmada P2X3 geni çıkarılmış farelerin ATP ve formalin enjeksiyonunu takiben spontan ağrı davranışlarında önemli derecede azalma meydana geldiği gözlenmiştir (37).

Nosiseptif nöronlarda özellikle homomerik P2X3 ve heteromerik P2X2/3 reseptörleri yoğun olarak ekspresse edilmektedir (38). Şu ana kadar yapılan çalışmalardan elde edilen bilgilere göre ağrı impulslarının başlatılmasına nosiseptif sinir terminallerinde bulunan P2X3 ve P2X2/3 reseptörleri aracılık ederken diğer P2X reseptörleri de ağrı iletiminin modülasyonunda rol almaktadır. Örneğin P2X reseptörlerinden P2X4 ve P2X7 postsinaptik nöronda  $Ca^{+2}$  geçişlerine aracılık ederek ağrının iletimini modüle edebilmektedir (39), ayrıca P2X reseptörlerinin aktivasyonu primer afferent liflerden glutamat salınımına yol açarak eksitatör iletimi kolaylaştırmaktadır (40).



Nöropatik ve inflamatuvar ağrı modeli oluşturularak yapılan çok sayıda hayvan çalışmasında ATP' nin P2X reseptörleri üzerinden ağrıyı tetiklediği veya ağrı iletimini modüle ettiği gösterilmiştir. Jarvis ve ark. (41) nöropatik ve inflamatuvar ağrı modeli oluşturdukları sıçanlara P2X3 ve P2X2/3 reseptörlerinin antagonisti olan A-317491' i subkutanöz olarak uygulamışlar ve A-317491' in doza-bağımlı bir şekilde nosisepsiyonu azalttığını görmüşlerdir. Ayrıca farklı araştırma gurupları tarafından yapılan nöropatik ve inflamatuvar ağrı modeli çalışmalarında seçici P2X7 reseptör antagonistlerinin (A-438079 ve A-740003) sistemik olarak uygulanmasının anti-nosiseptif etkiler oluşturduğu bulunmuştur (42-44).

P2X7 reseptörlerinin merkezi sinir sistemi (MSS) nöronlarında bulunmadığı ancak ependimal hücrelerde ve aktif mikroglia hücrelerinde bulunduğu ve periferik dokularda geniş bir dağılım gösterdiğinin bilinmesine rağmen (45-47), Deuchars ve ark. (19) yaptıkları bir çalışmada P2X7 reseptör aktivasyonunun merkezi ve periferik sinir sistemindeki (PSS) presinaptik terminallerden glutamatın veziküler salınımını güçlendirdiğini ortaya çıkararak bilinenlerin aksine MSS ve PSS' deki nöronlarda P2X7 reseptörünün

fonksiyonel olarak var olduğunu öne sürmüşlerdir. Yukarıda anlatılanlara zıt olarak ATP ve ADP' nin anti-algojenik rolünün de olduğu iddia edilmektedir (48). ATP' nin nosiseptif etkilerine dair bugüne kadar yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında anti-nosiseptif etkisinden bahsetmek oldukça zordur. Ancak kültüre alınmış sıçan dorsal kök gangliyon nöronlarında patch-clamp tekniği ile yapılan bir çalışmada P2Y1 agonistlerinin (ADP-beta-S ve 2-MeSADP)  $\alpha\beta$ -MeATP ile tetiklenmiş P2X3 reseptör akımlarını bloke ederek analjezik etki gösterdiği bildirilmiştir (48). Bu çalışmada elde edilen anti-nosiseptif etki, muhtemelen dorsal gangliyon nöronlarındaki P2Y reseptör aktivasyonunun (49), burada bulunan P2X3 reseptörlerini inhibe ediyor olmasıyla açıklanabilir. Ancak bunu kanıtlamak için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

### **Migren Baş Ağrısı ve Pürinerjik Haberleşme**

Toplumda önemli ölçüde iş gücü kaybına neden olan migren baş ağrısı, genellikle tek taraflı zonklayıcı baş ağrısı, mide bulantısı, kusma, fotofobi ve fonofobinin eşlik ettiği yenileyici nörovasküler bir hastalıktır (50,51). Migren patofizyolojisini ortaya çıkarmak için bugüne kadar çok

sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen patofizyoloji henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle günümüzde migren baş ağrısı için tam iyileşme sağlayan bir tedavi geliştirilememiş olup tedavide kullanılan ilaçlar profilaktik ve semptomların giderilmesine yöneliktir. Migren patofizyolojisi ile ilgili vasküler teori, nörovasküler teori ve kortikal yayılan depresyon teorisi diğer teorilere göre daha fazla ön plana çıkmıştır. Bu teorilerin ortak noktası, serebral damarlarda vazodilatasyonu takiben damar dışına çıkan nosiseptif veya inflamatuvar moleküllerin duysal sinir uçlarında nosiseptörleri aktive etmesi sonucu ağrının başlaması ve devam etmesidir. Baş ağrılarının oluşumundan sorumlu en önemli yapılardan biri olan dura mater trigeminal sinir lifleri ile yoğun bir şekilde innerve edilmiştir (52,53). Bu lifler çok sayıda vazoaaktif nöropeptit içermektedir ve dura materde özellikle kan damarları boyunca yerleşmişlerdir. Migren ağrısının başlaması genellikle bu perivasküler duysal sinir terminallerinden gelen nosiseptif impulslara bağlıdır. Dolayısıyla bu sinir terminallerinde bulunan nosiseptörler ve bu nosiseptörleri aktive eden endojen moleküller ağrının başlamasında önemli rol oynamaktadır. P1 ve P2 pürinerjik

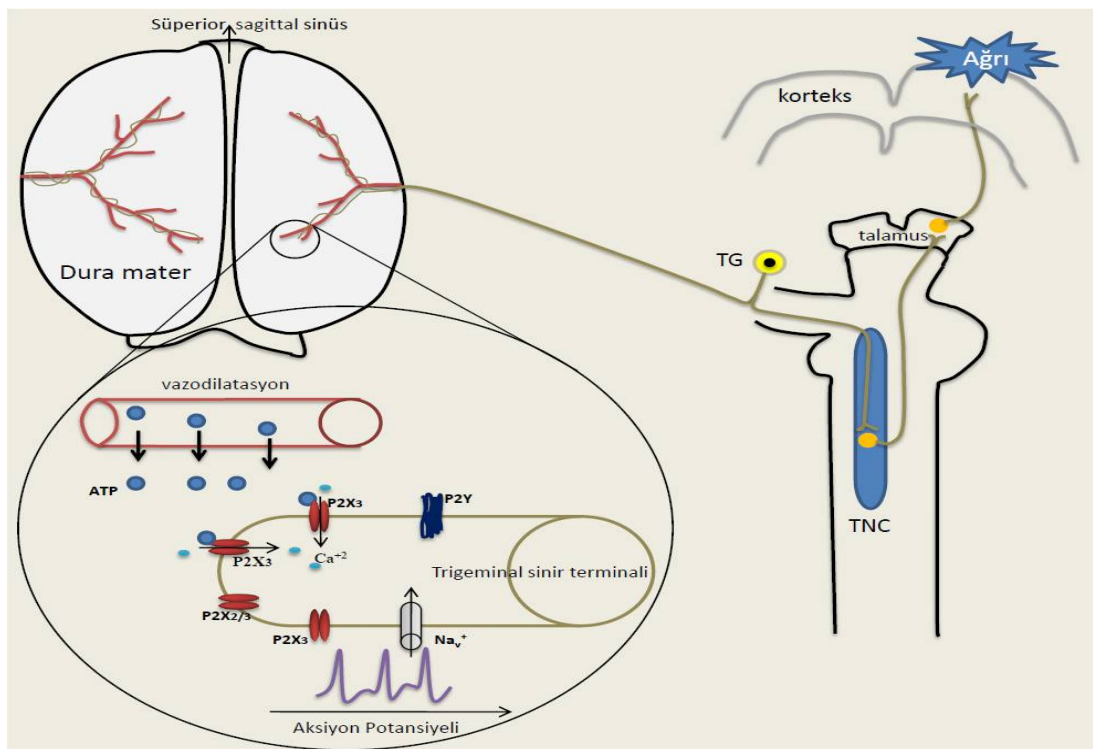
reseptörler MSS' de nöronlar, gliyal hücreler, vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde yaygın olarak bulunmaktadır (6,21). Son zamanlarda yapılan çalışmalar migren ağrı sinyallerinin başlatılması ve iletilmesinde pürinerjik haberleşmenin önemli bir rol oynadığını ileri sürmektedir (13).

Migrenin nörovasküler teorisi göz önünde bulundurulduğunda kortikal yayılan depresyon sırasında yayılan depolarizasyon dalgası trigeminal sinir terminallerinden vazoaaktif moleküllerin salınımına (SP, CGRP, ATP, adenozin) (54,55) ve vasküler düz kaslar üzerindeki reseptörlerinin aktivasyonuna neden olur (56) böylece serebral/dural vazodilatasyon ile damar içinde bulunan nosiseptif ve inflamatuvar moleküller (ATP, bradikinin, serotonin, histamin) damar dışına çıkarak (57), trigeminal duysal sinir terminallerindeki nosiseptörleri aracılığı ile ağrıyı başlatır. Bu mekanizmada ATP hem sinir terminallerinden salınan bir nörotransmitter (58) hem de serebral/dural kan damarlarının gevşemesine yol açan vazodilatör endojen bir moleküldür. ATP vazodilatör etkisini endotel hücreler üzerinde bulunan P2X4, P2Y1, P2Y2, P2Y4 reseptörleri aracılığı ile gerçekleştirmektedir (57).

Migren ağrısının başlamasındaki asıl olayın trigeminovasküler sistemin aktivasyonu olduğu iyi bilinmektedir (55) dolayısıyla yukarıda bahsedilen döngüde ATP ayrıca trigeminal gangliyon nöronlarının afferent duysal liflerinin aktivasyonuna ve duyarlılaşmasına yol açmakta (58) ve bu nosiseptif sinyallerin trigeminal duysal lifler boyunca iletilmesine aracılık etmektedir. ATP' nin ağrıyı başlatmasına nosiseptif duysal nöronlarda ve özellikle meninksleri innerve eden trigeminal duysal sinir terminallerinde bulunan P2X3 ve P2X2/3 reseptörleri aracılık etmektedir (şekil 1) (59,60).

Dura materi innerve eden nosiseptif trigeminal nöronların çoğu P2X3 ekspresse ederler ve uyarıldıklarında ağrıya birlikte nörojenik inflamasyona yol açan CGRP salgınlımına da neden olurlar (61).

Trigeminal ağrıların altında yatan sinir terminallerinin kimyasal aktivasyonunu çalışmak için migren ağrı modeli olarak geliştirdiğimiz *suction electrode* yöntemini kullanarak yaptığımız bir çalışmada (62) meningeal trigeminal sinir terminallerine ex-vivo olarak uygulanan  $\alpha\beta$ -MeATP (P2X3 ve P2X2/3 reseptörlerinin spesifik agonisti) nosiseptif ateşlemeyi tetiklemiştir ve bu nosiseptif ateşleme P2X3 ve P2X2/3



Şekil 1. ATP' nin migren baş ağrısının oluşumundaki rolü.

Dural damarlarda vazodilatasyon sonucu damar dışına çıkan ATP, trigeminal duysal sinir terminallerinde bulunan P2X3 ve P2X2/3 reseptörlerini aktive ederek ağrı impulslarının oluşmasına yol açmaktadır, bu impulslar beyin sapı ve talamus üzerinden ağrının değerlendirildiği kortikal alana taşınarak baş ağrısı hissedilmektedir. TG: Trigeminal gangliyon, TNC: Trigeminal nükleus caudalis.

reseptörlerinin antagonisti olan A317491 ile bloke edilmiştir (63). Bu çalışmalardan elde edilen veriler doğrultusunda P2X3 ve P2X2/3 reseptör antagonistlerinin migren tedavisi için geliştirilecek olan yeni ilaçlar arasında en güçlü aday olmaları kaçınılmazdır. ATP aynı zamanda migren baş ağrısının oluşumunda ve iletilmesinde görev yapan diğer nörotransmitterlerin aracılık ettiği nöronlar arasındaki iletişimi de etkileyerek migren baş ağrısında rol oynamaktadır.

Migrenin vasküler teorisine göre migren atağının iki evresi vardır, ilk evre ağrının olmadığı serebral vazokonstriksiyon ve ikinci evre ise bu vazokonstriksiyonu takiben meydana gelen vazodilatasyondur. İlk evrede meydana gelen lokal vazokonstriksiyona hem hasarlı endotel hücrelerden tek başına salınan ve hem de perivasküler sempatik sinirlerden noradrenalin ile birlikte bir ko-transmitter olarak salınan ATP' nin (vasküler düz kaslar üzerinde bulunan P2 reseptörleri üzerinden) yol açtığı öne sürülmektedir (13). Bu vazokonstriksiyonu takiben meydana gelen vazodilatasyon ise ağrı duyusunun algılanması ile ilişkili olan reaktif hiperemiye yol açmaktadır (57). Vasküler teoriyi temel alarak migren tedavisi için geliştirilen sumatriptan gibi

ilaçlar arteriyel düz kaslar üzerindeki 5-HT1B serotonin reseptörüne bağlanarak vazokonstriksiyon ile migren atağını sonlandırabilmektedir. Ancak sumatriptan migrenli hastaların sadece belli bir bölümünde etkili olduğundan günümüzde ATP' nin vazokonstriksiyona yol açan P2X1 ve P2Y6 reseptörlerinin (64) agonistleri migren tedavisinde umut vadeden yeni terapötik seçenekler olabilir. ATP' nin hem vazodilatör hem vazokonstriktör ve hem de meningeal trigeminal duysal sinir terminallerinde ağrıyı tetikleyici etkisinin birlikte olması bu tür ilaçların geliştirilmesinde bir tezat oluşturmaz çünkü kullanılacak olan agonist (P2X1 ve P2Y6 agonistleri) veya antagonistler (P2X3 ve P2X2/3 antagonistleri) seçici olarak sadece belirli bir ATP reseptörünü hedef alacağı için ikinci bir etkiye yol açmayacaktır.

Pürinerjik reseptörlerden vasküler düz kaslar üzerinde bulunan P2X1, P2Y2, P2Y4 ve P2Y6 vazokonstriksiyona aracılık ederler (8,14) ancak bu reseptörler içinde en güçlü vazokonstriksiyona yol açan P2X1 ve P2Y6 özellikle meningeal arterler (middle) üzerinde bulunur ve serebral vazokonstriksiyona neden olur fakat ekstrasellüler ATP' nin hızlı bir şekilde parçalanmasıyla ortaya çıkan adenozin ise

vasküler endotel hücreleri üzerinde bulunan A2A ve A2B reseptörleri aracılığıyla vazodilatasyona neden olmaktadır (57,64). Görüldüğü gibi ATP farklı dokularda bulunan aynı reseptörler aracılığı ile farklı etkilere neden olmaktadır, bunun nedeni ATP' nin bulunduğu farklı dokularda hücre içi farklı mekanizmaları harekete geçirmesinden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca ATP' nin direk kendisinin tetiklediği fizyolojik olayların son yıkım ürünü olan adenosin tarafından kısa sürede tersine çevrilmesi sonucunda bir birine zıt etkilere sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bu durum her ne kadar bir paradoks gibi görünse de gerçekte fizyolojik koşullar altında ATP' nin tetiklediği aktivasyon ve adenosin ile bu olayların bastırılması arasında bir denge olduğu önerilmektedir (65).

Son yıkım ürünü olan adenosin üzerinden serebral vazodilatasyona yol açmasının yanısıra endotel hücrelerden ve plateletlerden kana salınan ATP endotel hücreleri üzerindeki P2X ve P2Y reseptörleri aracılığı ile endotel hücrelerinden kana endotel kaynaklı gevşetici faktörün (EDRF) salınmasını uyurarak da vazodilatasyona yol açmaktadır (57). Ekstrasellüler ATP' nin hızlı bir şekilde yıkımı göz önüne

alındığında yukarıda migren tedavisi için geliştirilmesi önerilen P2X1 ve P2Y6 reseptör agonistlerinin ektonükleotidazlar tarafından yıkımına karşı daha stabil formlarının sentezlenmesi gerekecektir.

ATP' nin migren patofizyolojisinde tek başına direk rolünün olmasının yanında ayrıca adenosinin de tek başına migren patofizyolojisinde en az ATP kadar önemli bir rolünün olduğunu vurgulamak gerekir. Yapılan çok sayıda çalışmada intravenöz yolla adenosin veya bir adenosin re-uptake inhibitörü olan dipyridamole' un uygulanması ile deneklerde migren benzeri semptomların ortaya çıktığının görülmesi adenosinin migren patofizyolojisinde rolü olduğu yönündeki görüşleri büyük oranda desteklemiştir (66,67). Ayrıca Guieu ve ark.' nin (68) migrenli hastalarla yaptığı bir çalışmada migren atağının ağrı fazında kanda adenosin konsantrasyonunun % 68 oranında bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Fakat ağrı ile ilgili yapılan bu çalışmaların aksine farklı araştırma grubu tarafından yapılan klinik bir çalışmada periferik nöropatik ağrılı hastalara düşük doz adenosinin intravenöz yolla uygulanmasının ağrıyı azalttığı bildirilmiştir (69). Benzer şekilde adenosinin A1 reseptör agonistlerinin (GR79236 gibi) uygulanmasının trigeminal

nükleus kaudalste ve vasküler sistemde CGRP salınımını inhibe ederek trigeminovasküler sistemi inhibe ettiği gösterilmiştir (70,71). Ayrıca adenozin ve agonistlerinin insanlarda kutanöz inflamatuvar ağrı modelinde analjeziye neden olduğu (72) ve hayvan modellerinde ise intratekal olarak uygulanmasının antinosisepsiyona yol açtığı bildirilmiştir (73). Adozinin bu bir birine zıt etkileri muhtemelen diğer adozin reseptörlerinin (A2A, A2B ve A3) fonksiyonlarının tam olarak anlaşılammış olmasından veya A1 reseptörlerinin migren ağrısında antinosiseptif etkiye diğer reseptörlerinin ise pronosisepsiyona aracılık etmesinden kaynaklamaktadır (74). A1 reseptör agonistlerinin trigeminovasküler sistemi inhibe ederek antinosiseptif etki göstermesinden dolayı A1 reseptör agonistleri migren tedavisi için iyi bir seçenek olabilirdi ancak A1 reseptör agonistleri ile yapılan tedavilerin ciddi bradikardi ve hipotansiyona yol açması bu agonistlerin terapötik olarak kullanımlarını büyük ölçüde kısıtlamaktadır (13).

## SONUÇ

Merkezi ve periferik sinir sisteminde yukarıda anlatılan yollardan herhangi biri ile hücre dışına çıkan ATP' nin bazen bir nörotransmitter veya bir ko-transmitter

olarak bazen de bir nöromodülatör olarak fizyolojik olayları etkilediği şimdi daha iyi bilinmektedir. ATP' nin nöroprotektif, damar tonusu ve anjiyogenezisin kontrolü ve özel duyarların fizyolojisinde rol alması gibi fonksiyonlarının yanı sıra özellikle somatik ve viseral ağrıların başlatılması ve üst merkezlere iletilmesindeki rolü de üzerinde durulması gereken bir konudur. Ağrı duyusunu tetikleyen endojen moleküller, bunların reseptörleri ve blokasyonu hakkında uzun yıllardır çok sayıda araştırma yapılıyor olmasına rağmen gün geçtikçe bunlara yenileri eklenmektedir. Son yıllarda endojen nosiseptif bir molekül olarak ATP de bu yeni moleküller arasındaki yerini almıştır. Doku zedelenmesi sonucu hasarlı hücrelerden salınan ATP' nin P2X reseptörleri aracılığı ile ağrıda rol alması ağrıya duyarlı olan somatik yapılarda ekstrasellüler ATP' nin ve pürinerjik reseptörlerinin önemini ortaya koymaktadır. İleride yeni ilaçlar olarak geliştirilme ihtimali olan P2X reseptör antagonistleri bu tür ağrıların tedavisinde iyi birer analjezik ajan olabilirler. Somatik ağrıların yanısıra viseral ağrıların da patogeneğinde veya tedavisinde ilerleme kaydedebilmek için ATP ve pürinoseptörler üzerinde daha fazla çalışılması gerekmektedir. Sunulan derlemede

ağırlıklı olarak üzerinde durulduğu gibi ATP' nin migren patofizyolojisinde küçümsenmeyecek derecede öneminin olduğu görülmektedir. Bu nedenle migren tedavisinde yeni seçenek olarak pürinerjik reseptörler çok iyi birer hedef olabilirler. Bu doğrultuda geliştirilecek olan ilaçların bir kısmı ATP ve adozininin yıkımını kolaylaştırmak veya hızlandırmak suretiyle vazodilatasyonu önleyerek (57) migren atağı sırasında trigeminovasküler sistemde ikinci bir merkezi duyarlılaşmaya engel olabilir (13). Bunun yanı sıra özellikle dura materi innerve eden nosiseptif trigeminal duysal sinir terminallerinde bulunan P2X3 ve P2X2/3 reseptörleri için geliştirilecek olan yeni antagonistler akut migren tedavisinde kullanılabilirler. P2X3 ve P2X2/3 reseptörlerinin ağrı ile ilgili birçok olaya katılıyor olması bu reseptör antagonistlerinin ayrıca hiperaljezi, inflamasyon, kronik ağrı ve nöropatik ağrıların tedavisinde de etkili olabileceğinin bir göstergesidir. Pürinoseptörlerin vücut boyunca geniş bir dağılım gösterdiği ve ATP' nin de her hücrede bulunduğu göz önüne alınırsa ATP ve pürinoseptörlerin kanser ağrısındaki olası rolünün çalışılması da çok yerinde olacaktır. Sonuç olarak ATP' nin farklı reseptör agonistleri, antagonistleri, ATP' yi yıkan enzimler veya ATP' yi yıkan

enzimlerin blokerleri ileride yeni analjezikler olarak karşımıza çıkabilirler.

#### KAYNAKLAR

1. Holton P. The liberation of adenosine triphosphate on antidromic stimulation of sensory nerves. J Physiol 1959;145:494-504.
2. Edwards FA, Gibb AJ, Colquhoun D. ATP receptor-mediated synaptic currents in the central nervous system. Nature 1992;359:144-47.
3. Silinsky EM, Gerzanich V, Vanner SM. ATP mediates excitatory synaptic transmission in mammalian neurones. Br J Pharmacol 1992;106:762-63.
4. Evans RJ, Derkach V, Surprenant A. ATP mediates fast synaptic transmission in mammalian neurons. Nature 1992;357:503-05.
5. Burnstock G. Historical review: ATP as a neurotransmitter. Trends Pharmacol Sci 2006;27:166-76.
6. Abbracchio MP, Burnstock G, Verkhratsky A, Zimmermann H. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. Trends Neurosci 2009; 32:19-29.
7. Bulanova E, Bulfone-Paus S. P2 receptor-mediated signaling in mast cell biology. Purinergic Signal 2010;6:3-17.

8. Ralevic V, Dunn WR. Purinergic transmission in blood vessels. *Auton Neurosci* 2015;191:48-66.
9. Pankratov Y, Lalo U, Verkhratsky A, North RA. Vesicular release of ATP at central synapses. *Pflugers Arch*. 2006;452:589-97.
10. Sawada K, Echigo N, Juge N, Miyaji T, Otsuka M, Omote H, Yamamoto A, Moriyama Y. Identification of a vesicular nucleotide transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:5683-86.
11. Zimmermann H. Ectonucleotidases in the nervous system. *Novartis Found Symp* 2006;276:113-28.
12. Abbracchio MP, Burnstock G, Verkhratsky A, Zimmermann H. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. *Trends Neurosci* 2009; 32:19-29.
13. Cieślak M, Czarnecka J, Roszek K, Komoszyński M. The role of purinergic signaling in the etiology of migraine and novel antimigraine treatment. *Purinergic Signal* 2015;11:307-16.
14. Lewis CJ, Ennion SJ, Evans RJ. P2 purinoceptor-mediated control of rat cerebral(pial) microvasculature; contribution of P2X and P2Y receptors. *J. Physiol* 2000; 527: 315-24.
15. Arulkumaran N, Unwin RJ, Tam FWK. A potential therapeutic role for P2X7 receptor (P2X7R) antagonists in the treatment of inflammatory diseases. *Expert Opin Investig Drugs* 2011; 20: 897-915.
16. Burnstock G. Purinergic receptors and pain. *Curr Pharm Des* 2009;15:1717-35.
17. Abbracchio MP, Burnstock G. Purinoceptors: are there families of P2X and P2Y purinoceptors? *Pharmacol Therap* 1994; 64: 445-75.
18. Atkinson L, Batten TF, Deuchars J. P2X(2) receptor immunoreactivity in the dorsal vagal complex and area postrema of the rat. *Neuroscience* 2000;99:683-96.
19. Deuchars SA, Atkinson L, Brooke RE, Musa H, Milligan CJ, Batten TF, BuckleyNJ, Parson SH, Deuchars J. Neuronal P2X7 receptors are targeted to presynaptic terminals in the central and peripheral nervous systems. *J Neurosci* 2001;21:7143-52.
20. Boehm S. ATP stimulates sympathetic transmitter release via presynaptic P2X purinoceptors. *J Neurosci* 1999;19:737-46.
21. Burnstock G, Knight GE. Cellular distribution and functions of P2 receptor



subtypes in different systems. *Int Rev Cytol* 2004;240:31-304.

22. Slater NM, Barden JA, Murphy CR. Distributional changes of purinergic receptor subtypes (P2X 1-7) in uterine epithelial cells during early pregnancy. *Histochem J* 2000;365-72.

23. Ishii K, Kaneda M, Li H, Rockland KS, Hashikawa T. Neuron-specific distribution of P2X7 purinergic receptors in the monkey retina. *J Comp Neurol* 2003;459:267-77.

24. Burnstock G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. *Physiol Rev* 2007;87:659-97.

25. Burnstock G. Noradrenaline and ATP: cotransmitters and neuromodulators. *J Physiol Pharmacol* 1995; 46:365-84.

26. Burnstock G. Purinergic signalling in the lower urinary tract. *Acta Physiol (Oxf)*. 2013;207:40-52.

27. Burnstock G. The journey to establish purinergic signalling in the gut. *Neurogastroenterol Motil* 2008;20:8-19.

28. Sperlagh B, Vizi ES, Wirkner K, Illes P. P2X7 receptors in the nervous system. *Prog Neurobiol* 2006;78:327-46.

29. Liang S, Xu C, Li G, Gao Y. P2X receptors and modulation of pain

transmission: focus on effects of drugs and compounds used in traditional Chinese medicine. *Neurochem Int* 2010;57:705-12.

30. Burnstock G. Purine-mediated signaling in pain and visceral perception. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:182-88.

31. Hamilton SG, Warburton J, Bhattacharjee A, Ward J, McMahon SB. ATP in human skin elicits a dose-related pain response which is potentiated under conditions of hyperalgesia. *Brain* 2000;123:1238-46.

32. Stanfa LC, Kontinen VK, Dickenson AH. Effects of spinally administered P2X receptor agonists and antagonists on the responses of dorsal horn neurones recorded in normal, carrageenan-inflamed and neuropathic rats. *Br J Pharmacol* 2000;129:351-59.

33. Burnstock G. Purinergic mechanisms and pain-an update. *Eur J Pharmacol*. 2013;716:24-40.

34. Vulchanova L, Riedl MS, Shuster SJ, Stone LS, Hargreaves KM, Buell G, Surprenant A, North RA, Elde R. P2X3 is expressed by DRG neurons that terminate in inner lamina II. *Eur J Neurosci* 1998;10:3470-78.

35. Sokolova E, Skorinkin A, Moiseev I, Agrachev A, Nistri A, Giniatullin R.

Experimental and modeling studies of desensitization of P2X3 receptors. *Mol Pharmacol* 2006;70:373-82.

36. Fabbretti E. ATP P2X3 receptors and neuronal sensitization. *Front Cell Neurosci* 2013;7:236.

37. Cockayne DA, Hamilton SG, Zhu QM, Dunn PM, Zhong Y, Novakovic S, Malmberg AB, Cain G, Berson A, Kassotakis L, Hedley L, Lachnit WG, Burnstock G, McMahon SB, Ford AP. Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X3-deficient mice. *Nature* 2000;407:1011-15.

38. Sessle BJ. Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. *Minerva Anestesiol* 2005;71:117-36.

39. Andó RD, Méhéész B, Gyires K, Illes P, Sperlágħ B. A comparative analysis of the activity of ligands acting at P2X and P2Y receptor subtypes in models of neuropathic, acute and inflammatory pain. *Br J Pharmacol* 2010;159:1106-17.

40. Fields RD, Burnstock G. Purinergic signalling in neuron-glia interactions. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:423-36.

41. Jarvis MF, Burgard EC, McGaraughty S, Honore P, Lynch K, Brennan TJ, Subieta A, Van Biesen T,

Cartmell J, Bianchi B, Niforatos W, Kage K, Yu H, Mikusa J, Wismer CT, Zhu CZ, Chu K, Lee CH, Stewart AO, Polakowski J, Cox BF, Kowaluk E, Williams M, Sullivan J, Faltynek C. A-317491, a novel potent and selective non-nucleotide antagonist of P2X3 and P2X2/3 receptors, reduces chronic inflammatory and neuropathic pain in the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002;99:17179-84.

42. Honore P, Donnelly-Roberts D, Namovic MT, Hsieh G, Zhu CZ, Mikusa JP, Hernandez G, Zhong C, Gauvin DM, Chandran P, Harris R, Medrano AP, Carroll W, Marsh K, Sullivan JP, Faltynek CR, Jarvis MF. A-740003 [N-(1-((cyanoimino)(5-quinolinylamino)methyl)amino)-2,2-dimethylpropyl)-2-(3,4-dimethoxyphenyl)acetamide], a novel and selective P2X7 receptor antagonist, dose-dependently reduces neuropathic pain in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;319:1376-85.

43. Nelson DW, Gregg RJ, Kort ME, Perez-Medrano A, Voight EA, Wang Y, Grayson G, Namovic MT, Donnelly-Roberts DL, Niforatos W, Honore P, Jarvis MF, Faltynek CR, Carroll WA. Structure-activity relationship studies on a series of novel, substituted 1-benzyl-5-phenyltetrazole P2X7 antagonists. *J Med Chem* 2006;49:3659-66.

- 
44. McGaraughty S, Chu KL, Namovic MT, Donnelly-Roberts DL, Harris RR, Zhang XF, Shieh CC, Wismer CT, Zhu CZ, Gauvin DM, Fabiyi AC, Honore P, Gregg RJ, Kort ME, Nelson DW, Carroll WA, Marsh K, Faltynek CR, Jarvis MF. P2X7-related modulation of pathological nociception in rats. *Neuroscience*. 2007;146:1817-28.
  45. Collo G, Neidhart S, Kawashima E, Kosco-Vilbois M, North RA, Buell G. Tissue distribution of the P2X7 receptor. *Neuropharmacology* 1997;36:1277-83.
  46. Lee HY, Bardini M, Burnstock G. Distribution of P2X receptors in the urinary bladder and the ureter of the rat. *J Urol* 2000;163:2002-07.
  47. Pannicke T, Fischer W, Biedermann B, Schädlich H, Grosche J, Faude F, Wiedemann P, Allgaier C, Illes P, Burnstock G, Reichenbach A. P2X7 receptors in Muller glial cells from the human retina. *J Neurosci* 2000;20:5965-72.
  48. Gerevich Z, Müller C, Illes P. Metabotropic P2Y1 receptors inhibit P2X3 receptor-channels in rat dorsal root ganglion neurons. *Eur J Pharmacol* 2005;521:34-38.
  49. Ceruti S, Fumagalli M, Villa G, Verderio C, Abbracchio M. Purinoceptor-mediated calcium signaling in primary neuron-glia trigeminal cultures. *Cell Calcium* 2008;43:576-90.
  50. Cui Y, Kataoka Y, Watanabe Y. Role of cortical spreading depression in the pathophysiology of migraine. *Neurosci Bull* 2014;30:812-22.
  51. Tajti J, Szok D, Majláth Z, Tuka B, Csáti A, Vécsei L. Migraine and neuropeptides. *Neuropeptides* 2015;52:19-30.
  52. Lewis DW. Toward the definition of childhood migraine. *Curr Opin Pediatr* 2004;16:628-36.
  53. Levy D, Burstein R, Kainz V, Jakubowski M, Strassman AM. Mast cell degranulation activates a pain pathway underlying migraine headache. *Pain* 2007;130:166-76.
  54. Dalkara T, Zervas NT, Moskowitz MA. From spreading depression to the trigeminovascular system. *Neurol Sci* 2006;27:86-90.
  55. Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine-current understanding and treatment. *N Engl J Med* 2002;346:257-70.
  56. Pietrobon D. Migraine: new molecular mechanisms. *Neuroscientist* 2005;11:373-86.

57. Burnstock G, Ralevic V. Purinergic signaling and blood vessels in health and disease. *Pharmacol Rev* 2014;66:102-92.
58. Lauritzen M. Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. *Brain* 1994;117:199-210.
59. Hautaniemi T, Petrenko N, Skorinkin A, Giniatullin R. The inhibitory action of the antimigraine nonsteroidal anti-inflammatory drug naproxen on P2X3 receptor-mediated responses in rat trigeminal neurons. *Neuroscience* 2012;209:32-8.
60. Giniatullin R, Nistri A. Desensitization properties of P2X3 receptors shaping pain signaling. *Front Cell Neurosci* 2013;7:245.
61. Staikopoulos V, Sessle BJ, Furness JB, Jennings EA. Localization of P2X2 and P2X3 receptors in rat trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience* 2007;144:208-16.
62. Zakharov A, Vitale C, Kılınc E, Koroleva K, Fayuk D, Shelukhina I, Naumenko N, Skorinkin A, Khazipov R, Giniatullin R. Hunting for origins of migraine pain: cluster analysis of spontaneous and capsaicin-induced firing in meningeal trigeminal nerve fibers. *Front Cell Neurosci* 2015;9:287.
63. Kılınc E, Koroleva K, Guerrero-Toro C, Töre F, Giniatullin R. The Role of Adenosine Triphosphate and its Receptors in Migraine Pathophysiology. *Acta Physiol (Oxf) Turkish Society of Physiological Sciences 41st National Physiology Congress* 2015;215:44-5.
64. Haanes KA, Edvinsson L. Expression and characterization of purinergic receptors in rat middle meningeal artery-potential role in migraine. *PLoS One* 2014;9:e108782.
65. Nishizaki T. ATP- and adenosine-mediated signaling in the central nervous system: adenosine stimulates glutamate release from astrocytes via A2a adenosine receptors. *J Pharmacol Sci* 2004;94:100-2.
66. Kruuse C, Lassen LH, Iversen HK, Oestergaard S, Olesen J. Dipyridamole may induce migraine in patients with migraine without aura. *Cephalalgia* 2006;26:925-33.
67. Sakuma I, Akaishi Y, Fukao M, Makita Y, Makita MA, Kobayashi T, Matsuno K, Miyazaki T, Yasuda H. Dipyridamole potentiates the anti-aggregating effect of endothelium-derived relaxing factor. *Thromb Res Suppl* 1990;12:87-90.

68. Guieu R, Devaux C, Henry H, Bechis G, Pouget J, Mallet D. Adenosine and migraine. *Can J Neurol Sci* 1998;25:55-8.
69. Sollevi A, Belfrage M, Lundeberg T, Segerdahl M, Hansson P. Systemic adenosine infusion: a new treatment modality to alleviate neuropathic pain. *Pain* 1995;61:155-8.
70. Gurden MF, Coates J, Ellis F, Evans B, Foster M, Hornby E, Kennedy I, Martin DP, Strong P, Vardey CJ. Functional characterization of three adenosine receptor types. *Br J Pharmacol* 1993;109:693-8.
71. Sheehan M, Wilson D, Cousins R, Giles H. Relative intrinsic efficacy of adenosine A1 receptor agonist measured using functional and radioligand binding assays. *Br J Pharmacol* 2000;131:34P.
72. Sjolund KF, Segerdahl M, Sollevi A. Adenosine reduces secondary hyperalgesia in two human models of cutaneous inflammatory pain. *Anesthesia Analgesia* 1999;88:605-10.
73. Sjolund KF, Sollevi A, Segerdahl M, Lundeberg T. Intrathecal adenosine analog administration reduces substance P in cerebrospinal fluid along with behavioral effects that suggest antinociception in rats. *Anesthesia Analgesia* 1997;85:627-32.
74. Giffin NJ, Kowacs F, Libri V, Williams P, Goadsby PJ, Kaube H. Effect of the adenosine A1 receptor agonist GR79236 on trigeminal nociception with blink reflex recordings in healthy human subjects. *Cephalalgia* 2003;23:287-92.