

## ГЛУТАМАТ И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОТРАНСМИССИИ

© 2025 г. Н. С. Федоров<sup>1</sup>, Е. С. Невский<sup>1,2</sup>, А. Р. Токмакова<sup>1</sup>, А. И. Маломуж<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Казанский институт биохимии и биофизики РАН, Казань, Россия

<sup>2</sup>Казанский федеральный университет, Казань, Россия

<sup>3</sup>Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева,  
Казань, Россия

\*E-mail: artur57@list.ru

Поступила в редакцию 12.12.2024 г.

После доработки 03.03.2025 г.

Принята к публикации 06.03.2025 г.

В ЦНС глутаминовая кислота (глутамат) является основным возбуждающим нейромедиатором, тогда как функцию основного тормозного нейромедиатора выполняет гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), которая образуется при декарбоксилировании глутамата. N-ацетиласпартилглутамат (NAAG), в свою очередь, является самым распространенным нейропептидом в ЦНС, который способен выполнять функцию нейромедиатора и/или быть источником глутамата. В настоящем обзоре проанализированы экспериментальные данные, доказывающие участие всех этих трех сигнальных молекул в функционировании нервно-мышечного контакта, который является “классическим” холинергическим синапсом периферического отдела нервной системы и до недавнего времени рассматривался как наиболее изученный синаптический контакт в организме позвоночных животных и человека. К настоящему моменту все три сигнальные молекулы выявлены в области нервно-мышечного контакта, получены данные об их выделении в синаптическую щель, и обнаружены рецепторные белки, активация которых сказывается на процессах как спонтанного, так и вызванного квантового выделения ацетилхолина. При этом отмечено, что в синапсах млекопитающих глутамат, NAAG и ГАМК односторонне угнетают процесс некантового выделения ацетилхолина. Механизмы этих модуляторных путей сигнализации глутамата и его производных реализуются при вовлечении всех трех компартментов синаптического контакта: нервного окончания, мышечного волокна и перисинаптической Шванновской клетки.

*Ключевые слова:* нервно-мышечный синапс, нейротрансмиссия, ко-трансмиссия, ацетилхолин, глутамат, ГАМК, N-ацетиласпартилглутамат

**DOI:** 10.31857/S0869813925040018, **EDN:** UFOAVU

### ВВЕДЕНИЕ

Актуальность изучения механизмов, лежащих в основе функционирования нервно-мышечного контакта как модели холинергического синапса, обуславливается не только тем, что это важнейшее звено в инициации любого двигательного акта, включая дыха-

ние, но и тем, что холинергическая сигнализация опосредует частично симпатическую и полностью парасимпатическую иннервацию организма. Более того, холинергическая сигнализация является ключевой в реализации таких процессов в ЦНС, как внимание, обучение и память [1–3].

В настоящем обзоре рассматриваются данные, свидетельствующие в пользу того, что в функционировании периферического холинергического нервно-мышечного контакта принимают участие сигнальные молекулы, которые до недавнего времени принято было рассматривать исключительно в аспекте синаптической сигнализации в ЦНС: глутамат (основной возбуждающий нейромедиатор в ЦНС) [4], N-ацетиласпартилглутамат (NAAG, один из самых распространенных нейропептидов в ЦНС, способный оказывать собственное синаптическое действие) [5] и гамма-аминомасляная кислота (ГАМК, основной тормозной нейромедиатор в ЦНС) [6].

### НЕРВНО-МЫШЕЧНЫЙ КОНТАКТ – УНИКАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СИГНАЛИЗАЦИИ В СИНАПСЕ

Межклеточный контакт между мотонейроном и скелетным мышечным волокном у позвоночных, где функцию нейромедиатора выполняет ацетилхолин, на протяжении уже многих десятилетий является моделью для изучения процессов установления, развития, созревания и функционирования химического синапса. Именно благодаря исследованиям, проведенным на данном межклеточном контакте, были установлены многие фундаментальные аспекты того, как нейрон взаимодействует с иннервируемым им клеткой, причем независимо от природы сигнальной молекулы: теория химической передачи сигнала в нервной системе [7], квантово-везикулярная теория нейротрансмиссии [8] и теория неквантового выделения нейротрансммитера [9], основные механизмы ауторегуляции нейротрансмиссии (синаптическая пластичность) [10, 11], понятие фактора надежности синаптической передачи [12], теория ко-медиации [13] и т.д.

Благодаря тому, что собственно нервно-мышечный контакт интенсивно изучается с середины 50-х годов прошлого столетия, детальное описание его морфологии и основных принципов функционирования можно найти как в классических обзорных работах [12, 14–17], так и в достаточно современной литературе [18–20]. Несмотря на внушительную историю изучения функционирования нервно-мышечного контакта, интерес к нему не пропадает не только со стороны нейробиологов [20, 21], но и со стороны клиницистов [22–26]. Бурное развитие молекулярно-генетических, биохимических и иммуногистохимических методов исследований, создание новых селективных фармакологических агентов, достижения в смежных научных областях – все это позволяет заглянуть глубже и шире в уже, казалось бы, досконально изученный холинергический периферический синапс. Последние тенденции в нервно-мышечной физиологии больше всего затрагивают именно выявление новых или анализ слабо изученных механизмов регуляции передачи сигнала(ов) в межклеточном контакте [27–32] и механизмов регуляции так называемого синаптического гомеостаза [33–37]. Синаптический гомеостаз – это способность межклеточного контакта поддерживать возбудимость (работоспособность) синапса путем регуляции синаптической активности (контакта) в зависимости от изменения паттерна стимуляции посредством активации определенных сигнальных путей [38]. Несомненно, данное понятие включает в себя и зависимую от активности регуляцию процесса нейросекреции. В связи с этим необходимо вкратце описать процесс выделения молекул медиатора из нервного окончания, в нашем случае – это ацетилхолин, секретлируемый из аксона двигательного нейрона.

## ВЫДЕЛЕНИЕ АЦЕТИЛХОЛИНА ИЗ ДВИГАТЕЛЬНОГО НЕРВНОГО ОКОНЧАНИЯ

Синтез ацетилхолина происходит непосредственно в аксоплазме из холина и ацетил-коэнзима А при участии фермента ацетилхолинтрансферазы. Далее молекулы нейротрансмиттера с помощью везикулярного ацетилхолинового транспортера переносятся внутрь синаптических везикул – мембранных структур диаметром около 50 нм, которые обильно присутствуют в нервных окончаниях. Согласно данным различных авторов, в синаптической везикуле запасается порядка 5000–10 000 молекул ацетилхолина. Везикула докирывается и праймируется в участках аксоплазмалеммы (“активных зонах”), находящихся напротив контакта с иннервируемой клеткой. Именно в этих местах и происходит экзоцитоз (за время порядка 100 мкс), в результате которого везикула сливается с пресинаптической мембраной, а ее содержимое попадает в синаптическую щель – пространство межклеточного контакта (50–100 нм). Выделившиеся молекулы ацетилхолина диффундируют вплоть до постсинаптической мембраны мышечного волокна, где активируют лиганд-активируемые ионные каналы – ацетилхолиновые рецепторы. В результате этого происходит открытие каналов, изменение ионной проницаемости мышечной мембраны, и вследствие входа положительно заряженных ионов, в основном натрия, возникает деполяризация мембраны. При достижении определенного уровня деполяризации происходит открытие потенциал-чувствительных натриевых каналов, расположенных в глубине синаптической складки, и генерируется потенциал действия, распространяющийся в обе стороны от места нервно-мышечного контакта по мембране мышечного волокна. В конечном итоге – потенциал действия запускает освобождение кальция из саркоплазматического ретикула, инициирующего сокращение мышечного волокна. Длительность взаимодействия ацетилхолина с холинорецепторами ограничивается не столько диффузией медиатора из места межклеточного контакта, сколько активностью локализованной в синаптической щели и заякоренной на постсинаптической мембране ацетилхолинэстеразой – ферментом, который гидролизует ацетилхолин до холина и ацетата.

К настоящему моменту в процессе нейросекреции ацетилхолина выделяют две формы: квантовую и неквантовую секрецию [9, 17, 19, 20].

Под “квантом” понимают более-менее стабильную порцию медиатора, выделившуюся в синаптическую щель при экзоцитозе одной синаптической везикулы. Квантовое выделение, в свою очередь, может быть спонтанным и вызванным. Спонтанное квантовое выделение – это процесс “самопроизвольного” выделения порции медиатора, который методами электрофизиологии легко регистрируется по возникновению на постсинаптической мембране так называемого миниатюрного потенциала (тока) концевой пластинки (МПКП, или МТКП). Амплитуда таких сигналов обычно составляет около 1 мВ, а частота возникновения – 1 импульс в секунду. Вызванное квантовое выделение – процесс относительно синхронного выделения от нескольких единиц до нескольких десятков квантов медиатора в ответ на электрическую стимуляцию нерва. Электрофизиологически данный вид нейротрансмиссии регистрируется как потенциалы (токи) концевой пластинки (ПКП, или ТКП). Амплитуда этих сигналов варьирует от нескольких мВ до десятков мВ в зависимости от количества выделившихся квантов ацетилхолина. Это количество принято обозначать как “квантовый состав” вызванного ответа, и естественно, что частота появления таких ответов будет определяться частотой стимуляции двигательного нерва. Паттерн изменения квантового состава (амплитуды вызванного постсинаптического ответа) также зависит от частоты и длительности стимуляции нервного окончания.

Неквантовая секреция – активное, белок-опосредованное выделение медиатора из аксоплазмы в синаптическую щель в виде отдельных молекул. Интересно отметить, что наличие феномена неквантового выделения ацетилхолина предположил и впервые

электрофизиологически его зарегистрировал Нобелевский лауреат Katz, один из авторов квантово-везикулярной теории нейросекреции [39]. Многократно было доказано, что в отсутствие стимуляции нерва, в так называемом состоянии “покоя”, подавляющее количество ацетилхолина выделяется именно неквантовым образом. Доля медиатора, выделившегося в процессе спонтанной квантовой секреции, крайне мала [9, 19, 40]

Нередко в нейрофизиологии оперируют понятиями фазное и тоническое выделение. И если первое – это исключительно вызванная квантовая нейросекреция, то второе включает в себя медиатор, выделившийся в синаптическую щель в отсутствие стимула как спонтанным квантовым, так и неквантовым образом.

Физиологическое значение вызванного квантового выделения ацетилхолина, безусловно, заключается в передаче возбуждения с мотонейрона на мышечное волокно с целью инициации сократительного акта. Относительно же спонтанной квантовой нейросекреции долгое время полагали, что самопроизвольное выделение квантов – это частный случай процесса вызванной квантовой секреции, и разница между этим видами нейромедиации заключается лишь в вероятности экзоцитоза синаптической везикулы. Изначально она крайне мала (спонтанное квантовое выделение), а увеличивается многократно при деполяризации мембраны и стремительном повышении уровня кальция вследствие открытия потенциал-чувствительных кальциевых каналов (вызванное квантовое выделение). В связи с этим физиологическое значение спонтанной квантовой секреции всерьез и не рассматривалось. Однако в последнее десятилетие этот вопрос кардинально пересматривается, поскольку получены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что процессы спонтанной и вызванной квантовой секреции хоть и тесно связаны, но все же представляют собой разные, самостоятельные формы нейросекреции [41–44]: (1) эти два процесса могут реализовываться в разных активных зонах; (2) получены свидетельства того, что популяции синаптических везикул, вовлекаемые в эти процессы, могут быть различными; (3) обнаруживаются отличия в “белковой машине экзоцитоза”, опосредующей ту или иную форму нейросекреции; (4) детальный анализ зависимости от внутриклеточного кальция также показал различия для спонтанной и вызванной квантовой форм нейросекреции; (5) выявлены факты дифференциальной регуляции процессов спонтанного и вызванного квантового выделения. Например, удаление мембранного холестерина угнетает вызванную секрецию, но усиливает спонтанное освобождение нейромедиатора как в центральных, так и в нервно-мышечных синапсах [45, 46]. Возвращаясь к вопросу о физиологической роли спонтанной квантовой секреции, — ей приписывают роль нейротрофического фактора поддержания морфофункциональных свойств иннервируемой клетки именно посредством тонической активации постсинаптических рецепторов [47]. Однако в этой связи необходимо напомнить о том, что в отсутствие нервной импульсации ацетилхолина выделяется значимо больше не спонтанной, а именно неквантовой секрецией.

Реализация нейротрофического влияния мотонейрона на иннервируемое скелетное мышечное волокно, судя по всему, является основной функцией неквантово выделяемого ацетилхолина. В пользу этого свидетельствует целый ряд экспериментальных данных. Так, в частности, неквантовое выделение ацетилхолина прекращается при денервации в течение первых нескольких часов, тогда как уровень спонтанной квантовой секреции все еще остается без изменений; при реиннервации, наоборот, регистрируется неквантовое выделение, тогда как первые миниатюрные сигналы возникают после практически полного восстановления уровня неквантовой нейросекреции [48]. Далее, появление одного из первых признаков развития денервационного синдрома, а именно падение мембранного потенциала покоя мышечного волокна, (1) совпадает по срокам с прекращением неквантовой секреции, (2) отсутствует или значительно задерживается при добавлении холиномиметиков в наномолярных концентрациях [49, 50]. Более подробно факты, доказывающие нейротрофическую роль неквантово выделяемого ацетилхолина, изложены в обзорах [19, 40].

Подытоживая данный раздел, следует заключить, что выделение ацетилхолина из двигательной нервной терминали – это процесс многогранный, опосредуется он различными механизмами и не всегда заканчивается возникновением потенциала действия в мышечном волокне. При этом необходимо отметить, что имеет место и большое разнообразие регуляторных механизмов, направленных как на все формы нейросекреции, так и на отдельные, причем запускаются они как со стороны мотонейрона, так и мышечного волокна, а также при участии перисинаптической Шванновской клетки. Это механизмы, запускаемые собственно ацетилхолином при активации метаботропных мускариновых рецепторов [51, 52], ионотропных никотиновых рецепторов [53, 54], АТФ и пуринами [30, 55], адреналином и норадреналином [56, 57], эндоканабиноидами [29, 58], нейротрофинами [27, 32] и т.д. Здесь же мы рассмотрим экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что в нервно-мышечном синапсе имеют место и другие сигнальные пути регуляции нейротрансмиссии, запускаемые глутаматом и его производными.

### ГЛУТАМАТ КАК СИГНАЛЬНАЯ МОЛЕКУЛА В ХОЛИНЕРГИЧЕСКОМ НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ

Глутамат является одной из наиболее распространенных аминокислот в живой клетке и играет не только значительную роль в метаболизме и синтезе белков, но и выступает в качестве самого распространенного возбуждающего нейромедиатора в синапсах ЦНС [4].

Межклеточная сигнальная функция глутамата опосредуется тремя классами ионотропных рецепторов, изначально названных по селективному агонисту:  $\alpha$ -амино3-гидрокси5-метил4-изоксазолпропионовой кислоте (AMPA-рецепторы), N-метил-D-аспартату (NMDA-рецепторы) и каинату (каинатные рецепторы) [59], а также тремя группами метаботропных рецепторов: группа I (mGluR1 и mGluR5), группа II (mGluR2 и mGluR3) и группа III (mGluR4 и mGluR6–8) [60].

Одной из первых работ, результаты которой позволили предположить сигнальную функцию этой аминокислоты за пределами ЦНС, стала работа Kerkut с соавт. [61]. С помощью методов радиоактивного мечения авторам удалось продемонстрировать возможность двигательного нервного окончания захватывать молекулы глутамата из окружающего раствора, транспортировать их по нерву к спинному мозгу, а также выделять в нервно-мышечном синапсе глутамат, который предварительно был апплицирован в раствор, омывающий тела мотонейронов. В 80-х годах прошлого столетия весьма популярной моделью для изучения процессов холинергической нейромедиации был препарат синаптосом электрического органа ската *Torpedo*. На этом препарате и было впервые показано, что глутамат выделяется при стимуляции вместе с ацетилхолином [62].

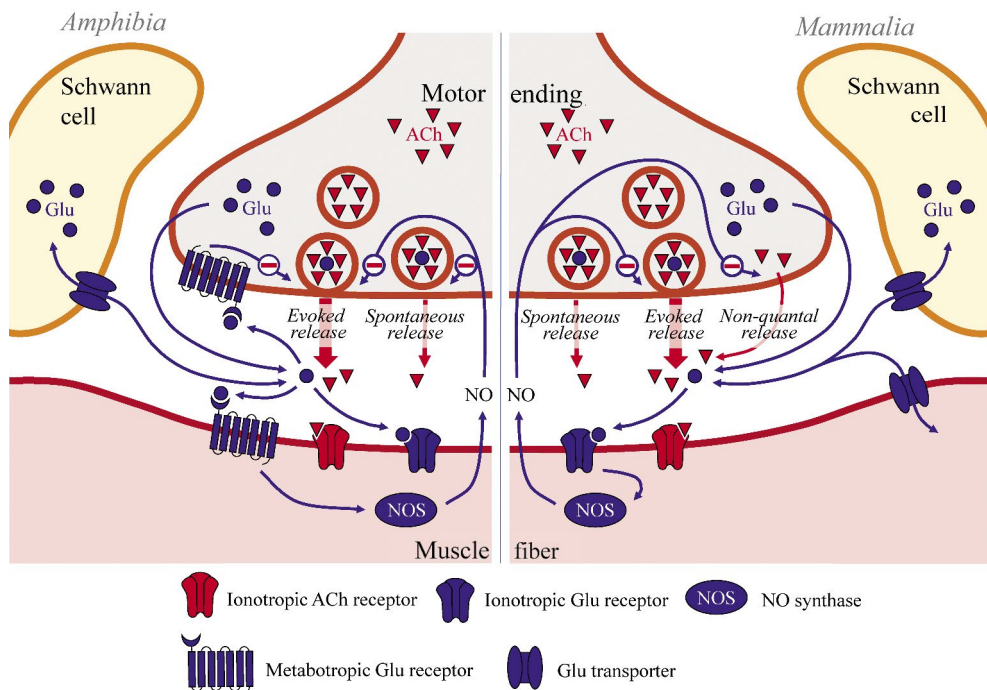
Начало 1990-х годов ознаменовалось появлением новых методов исследований, которые позволили анализировать точную локализацию тех или иных молекул в клетке. Так, аккумуляция молекул глутамата была обнаружена в терминалях мотонейронов *Xenopus* [63] и в зоне концевых пластинок мышц задних конечностей крысы [64]. Подробный анализ распределения аминокислоты показал, что молекул аминокислоты действительно больше именно в области пресинапса, чем за его пределами, а уровень сопоставим с концентрацией глутамата в гиппокампе [65]. Более того, в этой же работе была продемонстрирована ассоциация молекул аминокислоты с синаптическими везикулами, что предполагает совместное выделение ацетилхолина и глутамата в синаптическую щель. Очередным свидетельством в пользу комедиации является также факт обнаружения экспрессии везикулярных транспортеров глутамата в мотонейронах [66] и наличия этих транспортеров в моторных синапсах в местах рядом с везикулярными транспортерами ацетилхолина [67]. Совместная локализация данных везикулярных транспортеров была позднее обнаружена и в синаптических везикулах электрического органа ската *Torpedo* [68].

Рассматривая синаптическую функцию глутамата, нельзя обойти и вопрос мембранных транспортеров, которые обеспечивают обратный захват аминокислоты. И эти белки (GLAST-1 и GLT-1) обнаружены в нервно-мышечных контактах крысы [69]. Продемонстрирована локализация глутаматных транспортеров как на мембране мышечного волокна [70], так и на глиальных клетках [71]. Локализация GLAST транспортеров на перисинаптических Шванновских клетках была обнаружена и в нервно-мышечном контакте лягушки [72], причем авторами были продемонстрированы одновременно и зависимое от частоты стимуляции нерва эндогенное выделение глутамата, и функциональная активность трансмембранного транспортера аминокислоты.

В зрелом нервно-мышечном контакте амфибий глутамат приводил к снижению уровня как спонтанной, так и вызванной квантовой секреции ацетилхолина, и эти эффекты реализовались при активации метаболитных рецепторов [72, 73]. В этих работах наличие mGluR было подтверждено иммуногистохимически. В нервно-мышечном синапсе ящерицы также были обнаружены mGluR, и их активация тоже приводила к снижению уровня вызванного квантового выделения ацетилхолина [74]. Наличие эффекта глутамата на нейросекрецию предполагает пресинаптическую локализацию рецепторов, однако метаболитные рецепторы в синапсе ящерицы и лягушки имели как пре- так и постсинаптическую локализацию [72, 74]. Причем, как было показано несколько позднее, активация постсинаптических рецепторов способна инициировать образование в мышечном волокне молекул оксида азота (NO), которые, выступая в качестве ретроградного посредника, попадают в нервную терминаль, где и инициируют процесс угнетения выделения квантов ацетилхолина [75]. Помимо метаболитных рецепторов, в синапсах холоднокровных были обнаружены ионотропные NMDA-рецепторы [73, 74].

В нервно-мышечном синапсе млекопитающих к настоящему моменту обнаружены лишь ионотропные AMPA- и NMDA-рецепторы, причем разными методами и разными коллективами авторов показана исключительно постсинаптическая их локализация [76–80]. Кроме того, выявлена и функциональная связь NMDA-рецептора, обладающего относительно высокой кальциевой проводимостью, и фермента NO-синтазы, который в свою очередь является кальций-активируемым ферментом, образующим NO и сконцентрированным в постсинаптической области [81]. Среди широкого круга эффектов этой свободно радикальной молекулы непосредственно в мышце были выявлены возможность ее транссинаптического действия и способность в нервном окончании угнетать процесс неквантовой секреции ацетилхолина [82, 83]. Аппликация глутамата в нервно-мышечный синапс крысы никак не повлияла на процессы спонтанной и вызванной квантовой секреции ацетилхолина, однако уровень неквантового выделяемого ацетилхолина значительно упал [79]. Детальный фармакологический анализ показал участие именно NMDA-рецепторов и NO-синтазы в реализации угнетающего эффекта аминокислоты на тоническое выделение ацетилхолина, которому, как уже упоминалось выше, приписывают роль нейротрофического фактора [19, 40]. В нервно-мышечном синапсе мышцы активация глутаматных NMDA-рецепторов через механизм, связанный с усиленной продукцией NO, подавляла вызванное квантовое выделение ацетилхолина в условиях интенсивной активности двигательного нерва [84]. Говоря о NMDA-рецепторах и трофических влияниях, необходимо упомянуть обнаружение участия этих рецепторов в процессах раннего развития нервно-мышечного контакта [85] и реиннервации после повреждения нерва [86].

Таким образом, в нервно-мышечных синапсах позвоночных обнаружены все звенья глутаматергической сигнализации и выявлены модуляторные воздействия на процессы нейросекреции ацетилхолина. Несмотря на некоторую специфику рецепторных механизмов в синапсах холоднокровных и млекопитающих, обнаруживается один и тот же аспект: аминокислота угнетает процессы выделения основного нейромедиатора (рис. 1).



**Рис. 1.** Схема глутаматергической регуляции выделения ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах амфибий и млекопитающих.

### N-АЦЕТИЛАСПАРТИЛГЛУТАМАТ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ: САМОСТЯТЕЛЬНАЯ СИГНАЛЬНАЯ МОЛЕКУЛА ИЛИ ИСТОЧНИК ГЛУТАМАТА?

N-ацетиласпартилглутамат (NAAG) – самый распространенный нейропептид в ЦНС млекопитающих, который способен быть нейромедиатором [5, 87]. Помимо нейромедиаторной функции, он может играть роль нейромодулятора в глутаматергических синапсах [88]. Эти сигнальные функции обусловлены весьма уникальными свойствами синаптического действия и метаболизма нейропептида. Дело в том, что NAAG способен активировать глутаматные ионотропные NMDA-рецепторы и обладает высокой аффинностью к глутаматным метаботропным рецепторам mGluR3, которые часто локализованы пресинаптически, и их активация приводит к угнетению выделения нейромедиатора. В то же время нейропептид способен гидролизываться до глутамата при помощи фермента глутаматкарбоксипептидазы II (GCP II), который имеет второе название – N-ацетилированная α-связанная кислая дипептидаза (N-acetylated α-linked acidic dipeptidase; NAALADase) [89]. Данный фермент локализуется на мембране глиальных клеток, и при гидролизе нейропептида глутамат образуется непосредственно в синаптической щели.

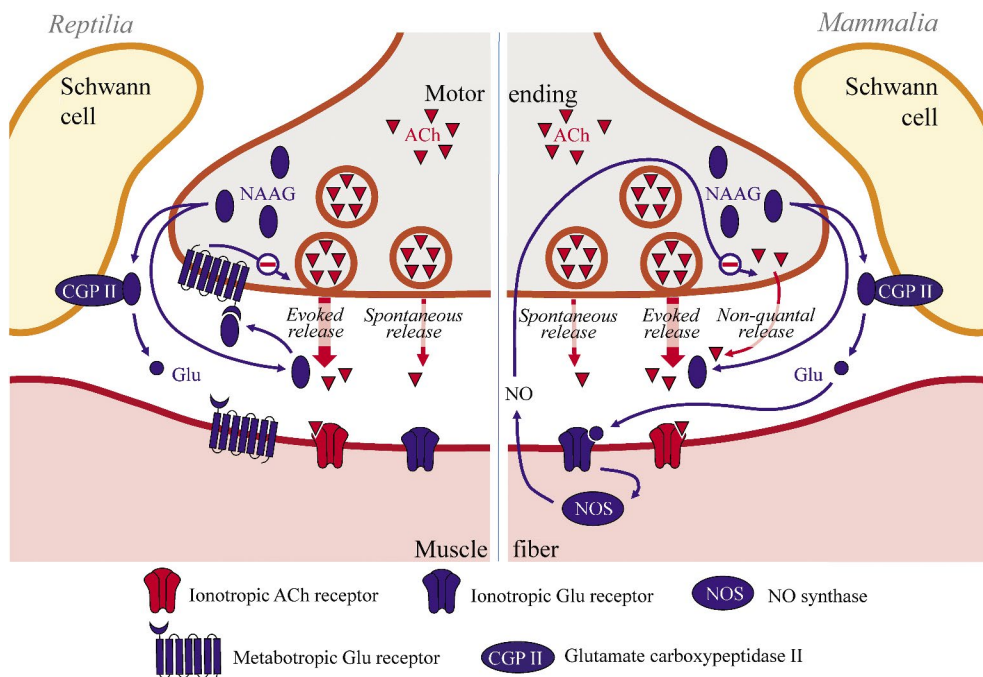
Относительно высокие концентрации NAAG были обнаружены в мотонейронах спинного мозга и двигательных ядрах черепно-мозговых нервов [90, 91]. Более того, нейропептид был обнаружен в седалищном нерве [90] и непосредственно в нервных терминалях диафрагмального нерва крысы [76], а также в терминалях скелетной мышцы ящерицы [74]. Интересно отметить, что фермент GCP II также был обнаружен в глиальных клетках седалищного нерва [71], на мембране перисинаптических Шван-

новских клеток у млекопитающих [76] и у рептилий [74], причем у млекопитающих продемонстрирована функциональная активность фермента [92].

На нервно-мышечном препарате ящерицы было получено подтверждение стимулирующего выделения NAAG из двигательной терминали, наличие метаботропных mGluR2/3 рецепторов, активация которых приводила к ингибированию вызванной квантовой секреции ацетилхолина [74].

На нервно-мышечном синапсе крысы не оценивали влияние нейропептида на вызванную нейросекрецию ацетилхолина. Однако было установлено, что уровень неквантового выделения ацетилхолина снижается в присутствии NAAG [92]. Эффект нейропептида, как оказалось, полностью реализуется после GCP II-опосредуемого гидролиза до глутамата, который в свою очередь активирует постсинаптические NMDA-рецепторы, ассоциированные с ферментом NO-синтазы. Образующиеся в саркоплазме молекулы NO, как описано выше, действуют в качестве ретроградного сигнала, достигают нервного окончания и приводят, в конечном итоге, к угнетению процесса неквантового выделения ацетилхолина из двигательного аксона [82].

Вопрос, вынесенный в заглавие раздела, о том, является ли в нервно-мышечном синапсе NAAG самостоятельной сигнальной молекулой или выступает исключительно как предшественник образующегося в щели глутамата, до сих пор не решен (рис. 2). И если в исследовании на нервно-мышечном препарате ящерицы была однозначно показана возможность активации mGluR3 именно NAAG (на фоне ингибированной GCP II) [74], то в нервно-мышечном синапсе крысы при добавлении нейропептида наблюдался эффект повышения частоты спонтанной секреции [92], которого при аппликации глутамата не было даже при использовании аминокислоты в более высокой концентрации [79]. Эффект ли это продуктов гидролиза нейропептида или его самого, еще предстоит выяснить.



**Рис. 2.** Схематическое представление данных о роли нейропептида N-ацетиласпартилглутамата (NAAG) в регуляции процессов выделения ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах рептилий и млекопитающих.



ГАМК КАК СИГНАЛЬНАЯ МОЛЕКУЛА В ХОЛИНЕРГИЧЕСКОМ  
НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ

ГАМК (gamma-aminobutyric acid, GABA) представляет собой непротеиногенную аминокислоту, которая является наиболее распространенным тормозным нейромедиатором в синапсах ЦНС, где она играет важную роль не только в процессах функционирования зрелого мозга, но и в процессах развития нервной ткани [6, 93, 94]. Как правило, в ГАМКергических нейронах молекулы аминокислоты образуются из глутамата посредством его декарбоксилирования ферментом глутаматдекарбоксилаза (L-glutamic acid decarboxylase, GAD) и закачиваются в синаптические везикулы везикулярным транспортером ГАМК (VGAT) [95]. Синаптическое же действие аминокислоты реализуется при активации ионотропных GABA<sub>A</sub>- и метаботропных GABA<sub>B</sub>-рецепторов [96, 97]. Ранее отдельно выделяли и GABA<sub>C</sub>-рецепторы, сейчас же их классифицируют как подкласс ионотропных GABA<sub>A</sub>-рецепторов (GABA<sub>A-p</sub>) [98]. Удаляется ГАМК из межклеточного пространства трансмембранными транспортерами, которых на сегодняшний день идентифицировано шесть [99]. Четыре из них (GAT-1, GAT-2, GAT-3 и транспортер бетаина/ГАМК типа 1) чаще всего рассматриваются как основные игроки в межклеточной сигнализации [100]. При этом GAT-1 и GAT-3 являются двумя основными подтипами GAT, ответственными за регуляцию внеклеточных уровней ГАМК в центральной нервной системе [101].

Экспериментальные факты, свидетельствующие о возможности функционирования ГАМКергической сигнализации за пределами ЦНС, стали накапливаться достаточно давно [93, 102]. Так, в частности, молекулы аминокислоты, фермент GAD, ГАМК-транспортеры и ГАМК-рецепторы, а также физиологические эффекты активации последних были обнаружены в холинергических нейронах вегетативных ганглиев и в нейронах, иннервирующих гладкую мускулатуру [103]. При иммуногистохимическом анализе нервно-мышечного препарата диафрагмы крысы было выявлено сосредоточение молекул ГАМК в области концевой пластинки, а также фермента GAD [104]. Иммунореактивность к GAD значимо раньше была обнаружена в нервно-мышечных соединениях и в аксонах двигательных нейронов человека и обезьяны [105]. При этом необходимо отметить, что ГАМК способна синтезироваться и непосредственно в скелетной мышце без участия GAD, как это было показано на миоцитах и миотрубках крысы в культуре [106], где аминокислота, возможно, играет еще и важную роль в метаболизме развивающейся мышечной ткани [107]. Несмотря на то что у взрослых крыс за пределами моторного синапса иммуногистохимически ГАМК не обнаруживался, тем не менее метаболомный анализ у мышей выявил наличие аминокислоты в зрелых мышечных волокнах [108]. Более того, выявлена корреляция увеличения ГАМК в мышцах и в плазме вследствие длительных физических тренировок. Это позволило выдвинуть предположение, что ГАМК может действовать как миокин-подобная молекула [109]. В пользу этого свидетельствуют данные недавно проведенного исследования на нервно-мышечном препарате лягушки [110]. Оказалось, что, используя тот же протокол иммуногистохимического окрашивания, какой применялся для препарата млекопитающих, в мышце холоднокровного животного выявляется значительное количество молекул ГАМК, которые покидают мышцу в процессе сократительной активности, вызванной электрической стимуляцией нерва.

Поскольку в нервно-мышечном синапсе крысы паттерн иммуногистохимического окрашивания как для ГАМК, так и для GAD несколько больше паттерна окрашивания ацетилхолиновых рецепторов (маркера собственно области синаптического контакта), то нельзя отрицать и возможность наличия и/или синтеза аминокислоты в теле глиальных клеток. Дело в том, что глиальные (перисинаптические Шванновские) клетки активно участвуют в процессе синаптической нейротрансмиссии, и это доказано для

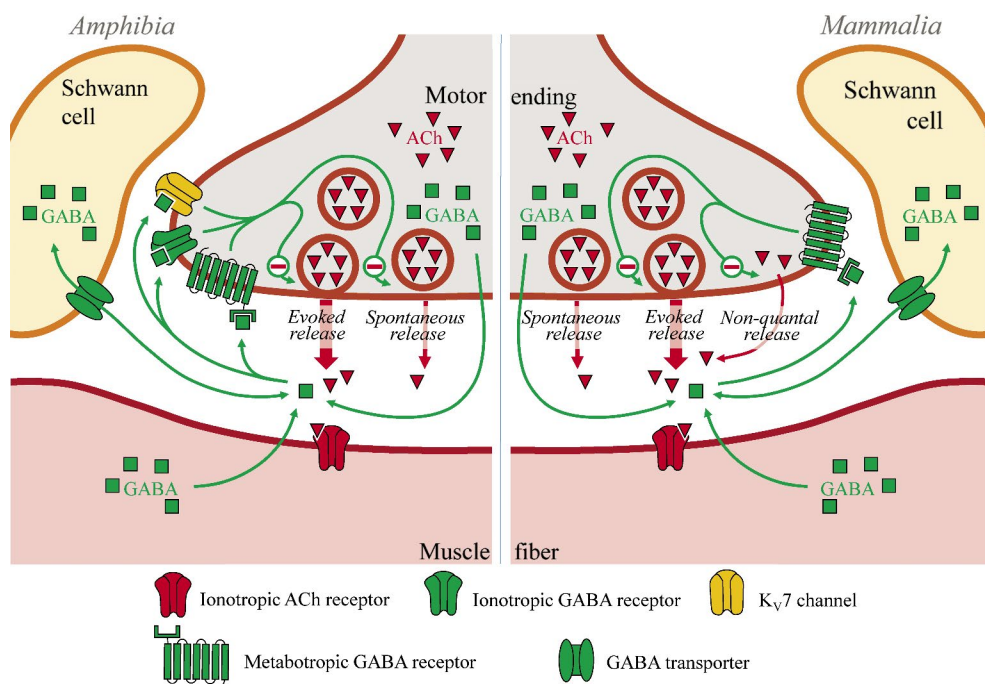
нервно-мышечного синапса в частности [111, 112]. Глиальные клетки способны высвобождать синаптически активные молекулы, называемые глиторансмиттерами, в ответ на нейрональную активность, а ГАМК, наряду с АТФ, аденозином и D-серинем, считается основным из глиторансмиттеров [113, 114].

Несмотря на все вышесказанное, нельзя не рассматривать и возможность выделения ГАМК из двигательных нервных терминалей вместе с ацетилхолином, по крайней мере у млекопитающих. Во-первых, совместное выделение ГАМК и ацетилхолина из холинергических окончаний в ЦНС рассматривается как уже доказанный факт [115–117]. Во-вторых, получены доказательства того, что эффекты эндогенного ГАМК на нервно-мышечную передачу у млекопитающего проявляются именно при стимуляции двигательного нерва и не связаны напрямую с сократительной активностью мышцы, что снова свидетельствует в пользу пресинаптического источника выделения аминокислоты [118, 119].

Так какое же синаптическое действие оказывает ГАМК в нервно-мышечном синапсе и через какие рецепторные белки? При анализе влияния аминокислоты на функционирование нервно-мышечного контакта амфибий было показано мультитаргетное влияние ГАМК, которое приводит к снижению уровня как спонтанного квантового, так и вызванного квантового выделения ацетилхолина [110]. Мультитаргетность заключается в том, что эффект ГАМК опосредовался активацией как  $GABA_A$ -, так и  $GABA_B$ -рецепторов. Но что оказалось не менее интересным, были получены веские доказательства того, что ГАМК способен напрямую активировать калиевые каналы  $K_v7$  подтипа [110]. При анализе влияния ГАМК на процессы нейросекреции у млекопитающих на настоящий момент, наоборот, установлен лишь один рецепторный механизм, а именно активация  $GABA_B$  подтипа аминокислотных рецепторов [120]. Активация этих рецепторов не влияет на процесс спонтанной квантовой секреции ацетилхолина, а вот уровень неквантовой и вызванной квантовой секреции при этом снижается. Анализ распределения метаботропных  $GABA_B$ -рецепторов в нервно-мышечном синапсе крысы выявил преимущественно пресинаптическую локализацию [120, 121].

Довольно выраженное снижение квантового состава при аппликации ГАМК [120] у млекопитающих позволило сделать предположение о возможном угнетающем влиянии аминокислоты на сократительную активность мышцы. И это предположение получило свое подтверждение в экспериментах по регистрации изометрического сокращения в присутствии блокаторов ГАМК-рецепторов [118] и ингибиторов ГАМК-транспортеров [119]. В присутствии блокаторов ГАМК-рецепторов (устранение влияния эндогенно выделяемой аминокислоты) наблюдалось увеличение силы сокращений, а при ингибировании ГАМК-транспортеров (накопление и усиление эффекта эндогенно выделяемой аминокислоты), наоборот, наблюдалось снижение силы сокращений. Причем эти эффекты имели место только при инициации сокращений, вызванных стимуляцией двигательного нерва; при прямой стимуляции мышцы изменений в амплитуде сокращений не наблюдалось. В этих исследованиях были получены не только косвенные доказательства выделения ГАМК, но и продемонстрирована функциональная значимость ГАМК-транспортеров в процессах нервно-мышечной передачи. Наличие этих белков в области моторного синапса было подтверждено иммуногистохимически [104, 119].

Таким образом, вышеприведенные данные однозначно доказывают наличие и функционирование в нервно-мышечном синапсе позвоночных ГАМКергического сигнального пути, способного модулировать процессы холинергической нейротрансмиссии (рис. 3).



**Рис. 3.** Схема ГАМКергической регуляции выделения ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах амфибий и млекопитающих.

### ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ И ВОЗМОЖНЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АМИНОКИСЛОТНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ

Несмотря на значительное количество экспериментальных данных о наличии глутамат- и ГАМКергической сигнализации в нервно-мышечном контакте позвоночных, ряд аспектов функционирования рассматриваемых аминокислот в периферическом синапсе все еще остаются не выясненными. Тем не менее уже в настоящее время есть все основания полагать, что физиологическая роль глутамат- и ГАМКергической сигнализации заключается как минимум в регуляции процессов выделения основного медиатора по принципу “отрицательной обратной связи”. Активное выделение глутамата и ГАМК в синаптическую щель наблюдается именно при стимуляции нерва, и обе эти сигнальные молекулы, в той или иной мере, угнетают процесс тонического выделения ацетилхолина, а также уменьшают и количество медиатора, выделяемого в ответ на стимуляцию нерва. Оба этих момента можно рассматривать как механизмы для обеспечения длительного функционирования нервно-мышечной передачи, поскольку при высоком факторе надежности синаптической передачи (характерном для нервно-мышечного контакта [12]) уменьшение тонического выделения медиатора и “избыточного” количества квантов при фазном выделении позволяет “сэкономить”, сберечь пул медиатора для более длительной эффективной передачи возбуждения на иннервируемое мышечное волокно. В качестве подтверждения этой гипотезы можно привести результаты работы [28], где показано, что следствием активации пресинаптических

TRPV1-каналов является небольшое снижение уровня вызванного выделения ацетилхолина из двигательной нервной терминали; в то же время отмечается уменьшение утомления мышцы при стимуляции нерва. Вероятно, подобный механизм имеет место и в случае с ГАМКергической модуляцией нервно-мышечной трансмиссией, и этот аспект может иметь вполне практическое значение. Собственного говоря, актуальность клинического значения ГАМКергической сигнализации в функционировании нервно-мышечного аппарата в настоящее время крайне высока, и это обусловлено как минимум двумя аспектами. Первый из них касается терапии тяжелых форм мышечной спастичности и миастении, а второй – использования в спорте и индустрии спортивного питания. Вкратце осветим оба этих аспекта.

Мышечная спастичность – патологическое повышение мышечного тонуса, приводящее к непроизвольным сокращениям скелетных мышц и спазмам. Это состояние может быть вызвано травмой спинного мозга [122], черепно-мозговой травмой [123], инсультом [124] и очень часто развивается у детей с ДЦП [125]. Во всех этих случаях одним из способов снятия мышечной спастичности является прием препарата баклофен, который представляет собой селективный агонист GABA<sub>B</sub>-рецепторов. Поскольку причина повышенного тонуса скелетных мышц находится в ЦНС, а препарат достаточно плохо проникает через гематоэнцефалический барьер [126], то наиболее эффективно показала себя именно интратекальная баклофеновая терапия спастичности, при которой препарат доставляется при помощи помпы (насоса) непосредственно в окружающее спинной мозг субарахноидальное пространство [127]. При этом вопрос об эффективности баклофена для терапии спастичности в ряде случаев при пероральном способе приема все еще обсуждается [122, 128]. В данном случае в основе механизма действия препарата (помимо его влияния на ЦНС) как раз может быть задействован механизм снижения вызванной секреции ацетилхолина за счет селективной активации GABA<sub>B</sub>-рецепторов на двигательном нервном окончании.

Клиническая значимость ГАМКергической регуляции вызванной нейросекреции ацетилхолина из двигательных нервных окончаний может проявляться и при терапии другого патологического состояния нервно-мышечного аппарата: при некоторых формах миастении – заболевания, сопровождающегося развитием патологической слабости и утомляемости скелетной мышцы. В частности, это актуально для врожденного миастенического синдрома, при котором в основе патогенеза лежит дефицит ацетилхолинэстеразы в синаптической щели [129]. Так, недавно были получены данные, позволяющие предположить использование антагонистов GABA<sub>B</sub>-рецепторов в нервно-мышечном синапсе в качестве потенциальных кандидатов для симптоматического лечения миастенических синдромов [130].

ГАМКергическая регуляция периферической холинергической нейротрансмиссии, судя по всему, имеет важное практическое значение не только для клиники, но и для спорта. Так, установлено, что все тот же баклофен, введенный в организм животных до физической нагрузки, приводит к увеличению выносливости и снижению утомления, причем эффект этот обусловлен в том числе действием на периферию и не связан с влиянием на энергетический метаболизм [131]. В то же время в рацион людей, ведущих активный образ жизни, и особенно у спортсменов, все чаще входит ГАМК (как биодобавка) и содержащие ГАМК продукты [132–135]. Это обусловлено широким спектром биологического действия аминокислоты. Отмечается, что перорально принимаемый ГАМК обладает, в частности, нейропротективным, антигипертензивным, антидиабетическим, антиоксидантным, антимикробным, противораковым и противовоспалительным эффектами [136]. Прием ГАМК снижает беспокойство, стресс, улучшает общее расслабление и сон [137, 138]. При этом отмечается усиление выделения гормона роста [139], который стимулирует транспорт аминокислот [140] и выработку инсулиноподобного фактора роста 1, повышающего интенсивность синтеза белка в тканях, в том числе в мышцах [141]. Повышение уровня

гипертрофии скелетных мышц при пероральном приеме ГАМК – одна из ключевых причин использования аминокислоты в рационе спортсменов [135]. Кроме этого, недавно были получены данные, свидетельствующие в пользу положительного влияния ГАМК на процесс регенерации мышечной ткани, поврежденной при интенсивной физической нагрузке [142].

Возможная клиническая значимость глутаматергической сигнальной системы в нервно-мышечном синапсе на настоящий момент рассматривается в двух следующих аспектах. Первый из них связан с установлением синаптического контакта холинергического мотонейрона и мышечного волокна. Показано, что фармакологическая блокада NMDA-рецепторов в нервно-мышечном синапсе значительно замедляет переход от полинейрональной к мотонейрональной иннервации скелетной мускулатуры в период раннего развития, тогда как активация этих рецепторов, наоборот, ускоряет процесс избыточной иннервации в онтогенезе [85]. Далее, оказалось, что и при травме двигательного нерва, когда идет процесс реиннервации скелетной мышцы, NMDA-рецепторы в нервно-мышечном синапсе играют также важную роль в восстановлении функциональных связей [86]. Второй аспект тоже связан с процессом реиннервации скелетной мышцы, но он все же уникален по своей сути. Дело в том, что формируется совершенно новая парадигма восстановления подвижности после травмы спинного мозга, когда реиннервация со стороны мотонейронов соответствующего отдела ЦНС неосуществима. Экспериментально показано, что при определенной хирургической манипуляции супраспинальные нейроны могут устанавливать функциональный синаптический контакт со скелетными мышечными волокнами, и, что интересно, синаптическая нейротрансмиссия в этом случае становится глутаматергической [143, 144].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования нескольких последних десятилетий уже неоднократно доказали, что нервно-мышечный синапс – это не просто межклеточный контакт, где происходит передача импульса с мотонейрона на скелетное мышечное волокно для инициации сократительного акта. Это сложно устроенная и крайне пластичная морфофункциональная структура, которую уже нельзя рассматривать без участия глиальных клеток и где имеет место целый набор многоконтурных сигнальных связей, среди которых недавно были выявлены глутаматергический и ГАМКергический пути сигнализации.

Анализ представленных в обзоре данных позволяет сделать следующие заключения: (1) в периферическом холинергическом синапсе функционируют активируемые глутаматом и ГАМК сигнальные пути, модулирующие процессы нейросекреции; (2) в зависимости от филогенетической принадлежности и связанной с ней спецификой, механизмы этих путей могут иметь свои особенности в разных синапсах; (3) выявленные пути регуляции нейросекреции затрагивают все три компартмента межклеточного контакта – пресинаптическое окончание, постсинаптическую область мышечного волокна и глиальную клетку; (4) идентифицированные пути регуляции, запускаемые, как правило, при повышении нейрональной активности, направлены на снижение выделения ацетилхолина. А это, в свою очередь, при высоком факторе надежности передачи возбуждения в нервно-мышечном синапсе может рассматриваться как способ сохранить медиатор для обеспечения более длительной передачи возбуждения с мотонейрона на мышцу.

Дальнейшие исследования функциональных аспектов глутамат- и ГАМКергической сигнализации в нервно-мышечном синапсе, несомненно, позволят разработать новые подходы для терапии нервно-мышечных заболеваний, заболеваний/травм периферической нервной системы, а также травм спинного мозга.

## ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы, руководство и координация (А. И. М.), написание чернового варианта (Н. С. Ф., Е. С. Н., А. Р. Т. и А. И. М.), редактирование манускрипта, а также обсуждение и одобрение финальной версии (Н. С. Ф., Е. С. Н., А. Р. Т. и А. И. М.).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Поддержано грантом РФФ № 23-25-00330 (<https://rscf.ru/project/23-25-00330/>).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных в качестве объекта.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sarter M, Hasselmo ME, Bruno JP, Givens B* (2005) Unraveling the attentional functions of cortical cholinergic inputs: Interactions between signal-driven and cognitive modulation of signal detection. *Brain Res Brain Res Rev* 48: 98–111.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.08.006>
2. *Hasselmo ME* (2006) The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 16: 710–715.  
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.09.002>
3. *Danışman B, Akçay G, Gökçek-Saraç Ç, Kantar D, Aslan M, Derin N* (2022) The Role of Acetylcholine on the Effects of Different Doses of Sulfite in Learning and Memory. *Neurochem Res* 47: 3331–3343.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-022-03684-z>
4. *Zhou Y, Danbolt NC* (2014) Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *J Neural Transm (Vienna)* 121: 799–817.  
<https://doi.org/10.1007/s00702-014-1180-8>
5. *Neale JH, Bzdega T, Wroblewska B* (2000) N-Acetylaspartylglutamate: The most abundant peptide neurotransmitter in the mammalian central nervous system. *J Neurochem* 75: 443–452.  
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0750443.x>
6. *Obata K* (2013) Synaptic inhibition and  $\gamma$ -aminobutyric acid in the mammalian central nervous system. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 89: 139–156.  
<https://doi.org/10.2183/pjab.89.139>
7. *Valenstein ES* (2002) The discovery of chemical neurotransmitters. *Brain Cogn* 49: 73–95.  
<https://doi.org/10.1006/brcg.2001.1487>
8. *Katz B* (2003) Neural transmitter release: From quantal secretion to exocytosis and beyond. *J Neurocytol* 32: 437–446.  
<https://doi.org/10.1023/B:NEUR.0000020603.84188.03>
9. *Vyskocil F, Malomouzh AI, Nikolsky EE* (2009) Non-quantal acetylcholine release at the neuromuscular junction. *Physiol Res* 58: 763–784.  
<https://doi.org/10.33549/physiolres.931865>
10. *Zucker RS, Regehr WG* (2002) Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol* 64: 355–405.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.64.092501.114547>
11. *Ma J, Kelly L, Ingram J, Price TJ, Meriney SD, Dittrich M* (2015) New insights into short-term synaptic facilitation at the frog neuromuscular junction. *J Neurophysiol* 113: 71–87.  
<https://doi.org/10.1152/jn.00198.2014>
12. *Wood SJ, Slater CR* (2001) Safety factor at the neuromuscular junction. *Prog Neurobiol* 64: 393–429.  
[https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(00\)00055-1](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(00)00055-1)
13. *Burnstock G* (2009) Purinergic cotransmission. *Exp Physiol* 94: 20–24.  
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2008.043620>

14. *Salpeter MM* (1987) The vertebrate neuromuscular junction. New York. Alan R. Liss Inc.
15. *Hall ZW, Sanes JR* (1993) Synaptic structure and development: The neuromuscular junction. *Cell* 72 Suppl: 99–121.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(05\)80031-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(05)80031-5)
16. *Hughes BW, Kusner LL, Kaminski HJ* (2006) Molecular architecture of the neuromuscular junction. *Muscle Nerve* 33: 445–461.  
<https://doi.org/10.1002/mus.20440>
17. *Slater CR* (2015) The functional organization of motor nerve terminals. *Prog Neurobiol* 134: 55–103.  
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.09.004>
18. *Willadt S, Nash M, Slater C* (2018) Age-related changes in the structure and function of mammalian neuromuscular junctions. *Ann N Y Acad Sci* 1412: 41–53.  
<https://doi.org/10.1111/nyas.13521>
19. *Malomouzh AI, Nikolsky EE* (2018) Modern concepts of cholinergic neurotransmission at the motor synapse. *Biochemistry (Moscow) Suppl Series A Membr and Cell Biol* 12 (3): 209–222.  
<https://doi.org/10.1134/S1990747818030078>
20. *Slater CR* (2024) Neuromuscular Transmission in a Biological Context. *Compr Physiol* 14: 5641–5702.  
<https://doi.org/10.1002/cphy.c240001>
21. *Legay C, Mei L* (2017) Moving forward with the neuromuscular junction. *J Neurochem* 142 Suppl 2: 59–63.  
<https://doi.org/10.1111/jnc.14028>
22. *Lacomis D* (2024) What Is in the Neuromuscular Junction Literature? *J Clin Neuromuscul Dis* 26: 90–99.  
<https://doi.org/10.1097/CND.0000000000000504>
23. *El-Wahsh S, Fraser C, Vucic S, Reddel S* (2024) Neuromuscular junction disorders: Mimics and chameleons. *Pract Neurol* 24: 467–477.  
<https://doi.org/10.1136/pn-2024-004148>
24. *Cacciatore S, Calvani R, Esposito I, Massaro C, Gava G, Picca A, Tosato M, Marzetti E, Landi F* (2024) Emerging Targets and Treatments for Sarcopenia: A Narrative Review. *Nutrients* 16: 3271.  
<https://doi.org/10.3390/nu16193271>
25. *Atarian S* (2024) New treatment strategies in Myasthenia gravis. *Rev Neurol (Paris)* 180: 971–981.  
<https://doi.org/10.1016/j.neurol.2024.09.006>
26. *Ramdas S, Painho T, Vanegas MI, Famili DT, Lim MJ, Jungbluth H* (2024) Targeted Treatments for Myasthenia Gravis in Children and Adolescents. *Paediatr Drugs* 26: 719–740.  
<https://doi.org/10.1007/s40272-024-00649-3>
27. *Bogacheva PO, Molchanova AI, Pravdivceva ES, Miteva AS, Balezina OP, Gaydukov AE* (2022) ProBDNF and Brain-Derived Neurotrophic Factor Prodomain Differently Modulate Acetylcholine Release in Regenerating and Mature Mouse Motor Synapses. *Front Cell Neurosci* 16: 866802.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2022.866802>
28. *Arkipov AY, Fedorov NS, Nurullin LF, Khabibrakhmanov AN, Mukhamedyarov MA, Samigullin DV, Malomouzh AI* (2023) Activation of TRPV1 Channels Inhibits the Release of Acetylcholine and Improves Muscle Contractility in Mice. *Cell Mol Neurobiol* 43: 4157–4172.  
<https://doi.org/10.1007/s10571-023-01403-y>
29. *Tarasova E, Bogacheva P, Chernyshev K, Balezina O* (2024) Quantal size increase induced by the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol requires activation of CGRP receptors in mouse motor synapses. *Synapse* 78: e22281.  
<https://doi.org/10.1002/syn.22281>
30. *Giniatullin AR, Mukhutdinova KA, Petrov AM* (2024) Mechanism of Purinergic Regulation of Neurotransmission in Mouse Neuromuscular Junction: The Role of Redox Signaling and Lipid Rafts. *Neurochem Res* 49: 2021–2037.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-024-04153-5>
31. *Gafurova CR, Tsentsevitsky AN, Fedorov NS, Khaziev AN, Malomouzh AI, Petrov AM* (2024)  $\beta$ 2-Adrenergic Regulation of the Neuromuscular Transmission and Its Lipid-Dependent Switch. *Mol Neurobiol* 61: 6805–6821.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-024-03991-2>
32. *Polishchuk A, Cilleros-Mañé V, Balanyà-Segura M, Just-Borràs L, Forniés-Mariné A, Silvera-Simón C, Tomàs M, Jami El Hirchi M, Hurtado E, Tomàs J, Lanuza MA* (2024) BDNF/TrkB signalling, in cooperation with muscarinic signalling, retrogradely regulates PKA pathway to phosphorylate SNAP-25 and Synapsin-1 at the neuromuscular junction. *Cell Commun Signal* 22: 371.  
<https://doi.org/10.1186/s12964-024-01735-2>
33. *Takamori M* (2017) Synaptic Homeostasis and Its Immunological Disturbance in Neuromuscular Junction Disorders. *Int J Mol Sci* 18: 896.  
<https://doi.org/10.3390/ijms18040896>

34. *Rodriguez Cruz PM, Cossins J, Beeson D, Vincent A* (2020) The Neuromuscular Junction in Health and Disease: Molecular Mechanisms Governing Synaptic Formation and Homeostasis. *Front Mol Neurosci* 13: 610964.  
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.610964>
35. *Bosch-Queralt M, Fledrich R, Stassart RM* (2023) Schwann cell functions in peripheral nerve development and repair. *Neurobiol Dis* 176: 105952.  
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105952>
36. *Zakirjanova GF, Giniatullin AR, Gafurova CR, Malomouzh AI, Fedorov NS, Khaziev AN, Tsentsevitsky AN, Petrov AM* (2023) Effects of cholesterol oxidase on neurotransmission and acetylcholine levels at the mice neuromuscular junctions. *Arch Biochem Biophys* 749: 109803.  
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2023.109803>
37. *Li Y, Badawi Y, Meriney SD* (2024) Age-Related Homeostatic Plasticity at Rodent Neuromuscular Junctions. *Cells* 13: 1684.  
<https://doi.org/10.3390/cells13201684>
38. *Macleod GT, Zinsmaier KE* (2006) Synaptic homeostasis on the fast track. *Neuron* 52: 569–571.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.11.006>
39. *Katz B, Miledi R* (1977) Transmitter leakage from motor nerve endings. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 196: 59–72.  
<https://doi.org/10.1098/rspb.1977.0029>
40. *Маломуж АИ, Никольский ЕЕ* (2010) Неквантовое освобождение медиатора: миф или реальность? *Успехи физиол наук* 41(2): 27–43. [*Malomouzh AI, Nikolsky EE* (2010) Nonquantal mediator release: Myth or reality? *Uspekhi Fiziol Nauk* 41(2): 27–43. (In Russ)].
41. *Ramirez DMO, Kavalali ET* (2011) Differential regulation of spontaneous and evoked neurotransmitter release at central synapses. *Curr Opin Neurobiol* 21: 275–282.  
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.01.007>
42. *Melom JE, Akbergenova Y, Gavornik JP, Littleton JT* (2013) Spontaneous and evoked release are independently regulated at individual active zones. *J Neurosci* 33: 17253–17263.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3334-13.2013>
43. *Walter AM, Haucke V, Sigrist SJ* (2014) Neurotransmission: Spontaneous and evoked release filing for divorce. *Curr Biol* 24: R192–R194.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.01.037>
44. *Peled ES, Newman ZL, Isacoff EY* (2014) Evoked and spontaneous transmission favored by distinct sets of synapses. *Curr Biol* 24: 484–493.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.01.022>
45. *Teixeira G, Vieira LB, Gomez MV, Guatimosim C* (2012) Cholesterol as a key player in the balance of evoked and spontaneous glutamate release in rat brain cortical synaptosomes. *Neurochem Int* 61: 1151–1159.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.08.008>
46. *Petrov AM, Yakovleva AA, Zefirov AL* (2014) Role of membrane cholesterol in spontaneous exocytosis at frog neuromuscular synapses: Reactive oxygen species-calcium interplay. *J Physiol* 592: 4995–5009.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.279695>
47. *Cisterna BA, Vargas AA, Puebla C, Fernández P, Escamilla R, Lagos CF, Matus MF, Vilos C, Cea LA, Barnafi E, Gaete H, Escobar DF, Cardozo CP, Sáez JC* (2020) Active acetylcholine receptors prevent the atrophy of skeletal muscles and favor reinnervation. *Nat Commun* 11: 1073.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-14063-8>
48. *Nikolsky EE, Oranska TI, Vyskocil F* (1996) Non-quantal acetylcholine release in the mouse diaphragm after phrenic nerve crush and during recovery. *Exp Physiol* 81: 341–348.  
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.1996.sp003938>
49. *Bray JJ, Forrest JW, Hubbard JJ* (1982) Evidence for the role of non-quantal acetylcholine in the maintenance of the membrane potential of rat skeletal muscle. *J Physiol* 326: 285–296.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1982.sp014192>
50. *Urazaev A, Naumenko N, Malomough A, Nikolsky E, Vyskocil F* (2000) Carbachol and acetylcholine delay the early postdenervation depolarization of muscle fibres through M1-cholinergic receptors. *Neurosci Res* 37: 255–263.  
[https://doi.org/10.1016/s0168-0102\(00\)00126-7](https://doi.org/10.1016/s0168-0102(00)00126-7)
51. *Tsentsevitsky AN, Kovyazina IV, Nurullin LF, Nikolsky EE* (2017) Muscarinic cholinoreceptors (M1-, M2-, M3- and M4-type) modulate the acetylcholine secretion in the frog neuromuscular junction. *Neurosci Lett* 649: 62–69.  
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.04.015>
52. *Kovyazina IV, Khamidullina AA* (2023) Muscarinic Cholinoreceptors in Skeletal Muscle: Localization and Functional Role. *Acta Naturae* 15: 44–55.  
<https://doi.org/10.32607/actanaturae.25259>



53. *Zhilyakov N, Arkhipov A, Malomouzh A, Samigullin D* (2021) Activation of Neuronal Nicotinic Receptors Inhibits Acetylcholine Release in the Neuromuscular Junction by Increasing Ca<sup>2+</sup> Flux through Cav1 Channels. *Int J Mol Sci* 22: 9031.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22169031>
54. *Noronha-Matos JB, Sousa-Soares C, Correia-de-Sá P* (2024) Differential participation of CaMKII/ROCK and NOS pathways in the cholinergic inhibitory drive operated by nicotinic  $\alpha 7$  receptors in perisynaptic Schwann cells. *Biochem Pharmacol* 231: 116649.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116649>
55. *Sousa-Soares C, Noronha-Matos JB, Correia-de-Sá P* (2023) Purinergic Tuning of the Tripartite Neuromuscular Synapse. *Mol Neurobiol* 60: 4084–4104.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-023-03317-8>
56. *Petrov AM, Zakirjanova GF, Kovyazina IV, Tsentsevitsky AN, Bukharaeva EA* (2022) Adrenergic receptors control frequency-dependent switching of the exocytosis mode between “full-collapse” and “kiss-and-run” in murine motor nerve terminal. *Life Sci* 296: 120433.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120433>
57. *Dmitrieva SA, Vologin SG, Tsentsevitsky AN, Arkhipov AY, Khuzakhmetova VF, Sibgatullina GV, Bukharaeva EA* (2023) Sympathetic Innervation and Endogenous Catecholamines in Neuromuscular Preparations of Muscles with Different Functional Profiles. *Biochemistry (Mosc)* 88(3): 364–373.  
<https://doi.org/10.31857/S0320972523030065>
58. *Haynes EMK, Kalmar JM, Vis-Dunbar M, Crosby KM, Mriduraj A, Jakobi JM* (2023) A systematic review of how cannabinoids affect motoneuron output. *J Neurophysiol* 130: 247–263.  
<https://doi.org/10.1152/jn.00460.2022>
59. *Hansen KB, Wollmuth LP, Bowie D, Furukawa H, Menniti FS, Sobolevsky AI, Swanson GT, Swanger SA, Greger IH, Nakagawa T, McBain CJ, Jayaraman V, Low C-M, Dell'Acqua ML, Diamond JS, Camp CR, Perszyk RE, Yuan H, Traynelis SF* (2021) Structure, Function, and Pharmacology of Glutamate Receptor Ion Channels. *Pharmacol Rev* 73: 298–487.  
<https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000131>
60. *Gregory KJ, Goudet C* (2021) International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CXI. Pharmacology, Signaling, and Physiology of Metabotropic Glutamate Receptors. *Pharmacol Rev* 73: 521–569.  
<https://doi.org/10.1124/pr.119.019133>
61. *Kerkut GA, Shapira A, Walker RJ* (1967) The transport of 14C-labelled material from CNS to and from muscle along a nerve trunk. *Comp Biochem Physiol* 23: 729–748.  
[https://doi.org/10.1016/0010-406x\(67\)90337-4](https://doi.org/10.1016/0010-406x(67)90337-4)
62. *Vyas S, Bradford HF* (1987) Co-release of acetylcholine, glutamate and taurine from synaptosomes of Torpedo electric organ. *Neurosci Lett* 82: 58–64.  
[https://doi.org/10.1016/0304-3940\(87\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0304-3940(87)90171-6)
63. *Fu WM, Liou HC, Chen YH, Wang SM* (1998) Coexistence of glutamate and acetylcholine in the developing motoneurons. *Chin J Physiol* 41: 127–132.
64. *Meister B, Arvidsson U, Zhang X, Jacobsson G, Villar MJ, Hökfelt T* (1993) Glutamate transporter mRNA and glutamate-like immunoreactivity in spinal motoneurons. *Neuroreport* 5: 337–340.  
<https://doi.org/10.1097/00001756-199312000-00040>
65. *Waerhaug O, Ottersen OP* (1993) Demonstration of glutamate-like immunoreactivity at rat neuromuscular junctions by quantitative electron microscopic immunocytochemistry. *Anat Embryol (Berl)* 188: 501–513.  
<https://doi.org/10.1007/BF00190144>
66. *Herzog E, Landry M, Buhler E, Bouali-Benazzouz R, Legay C, Henderson CE, Nagy F, Dreyfus P, Giros B, El Mestikawy S* (2004) Expression of vesicular glutamate transporters, VGLUT1 and VGLUT2, in cholinergic spinal motoneurons. *Eur J Neurosci* 20: 1752–1760.  
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03628.x>
67. *Boulland J-L, Qureshi T, Seal RP, Rafiki A, Gundersen V, Bergersen LH, Fremeau RT, Edwards RH, Storm-Mathisen J, Chaudhry FA* (2004) Expression of the vesicular glutamate transporters during development indicates the widespread corelease of multiple neurotransmitters. *J Comp Neurol* 480: 264–280.  
<https://doi.org/10.1002/cnc.20354>
68. *Li H, Harlow ML* (2014) Individual synaptic vesicles from the electroplaque of Torpedo californica, a classic cholinergic synapse, also contain transporters for glutamate and ATP. *Physiol Rep* 2: e00206.  
<https://doi.org/10.1002/phy2.206>

69. *Francolini M, Brunelli G, Cambianica I, Barlati S, Barbon A, La Via L, Guarneri B, Boroni F, Lanzillotta A, Baiguera C, Ettorre M, Buffelli M, Spano P, Clementi F, Pizzi M* (2009) Glutamatergic reinnervation and assembly of glutamatergic synapses in adult rat skeletal muscle occurs at cholinergic endplates. *J Neuropathol Exp Neurol* 68: 1103–1115.  
<https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181b7bfc8>
70. *Rinholm JE, Stettalokken G, Marcaggi P, Skare Ø, Storm-Mathisen J, Bergersen LH* (2007) Subcellular localization of the glutamate transporters GLAST and GLT at the neuromuscular junction in rodents. *Neuroscience* 145: 579–591.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.12.041>
71. *Carozzi VA, Canta A, Oggioni N, Ceresa C, Marmiroli P, Konvalinka J, Zoia C, Bossi M, Ferrarese C, Tredici G, Cavaletti G* (2008) Expression and distribution of “high affinity” glutamate transporters GLT1, GLAST, EAAC1 and of GCPII in the rat peripheral nervous system. *J Anat* 213: 539–546.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2008.00984.x>
72. *Pinard A, Lévesque S, Vallée J, Robitaille R* (2003) Glutamatergic modulation of synaptic plasticity at a PNS vertebrate cholinergic synapse. *Eur J Neurosci* 18: 3241–3250.  
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2003.03028.x>
73. *Tsentsevitsky A, Nurullin L, Nikolsky E, Malomouzh A* (2017) Metabotropic and ionotropic glutamate receptors mediate the modulation of acetylcholine release at the frog neuromuscular junction. *J Neurosci Res* 95: 1391–1401.  
<https://doi.org/10.1002/jnr.23977>
74. *Walder KK, Ryan SB, Bzdega T, Olszewski RT, Neale JH, Lindgren CA* (2013) Immunohistological and electrophysiological evidence that N-acetylaspartylglutamate is a co-transmitter at the vertebrate neuromuscular junction. *Eur J Neurosci* 37: 118–129.  
<https://doi.org/10.1111/ejn.12027>
75. *Pinard A, Robitaille R* (2008) Nitric oxide dependence of glutamate-mediated modulation at a vertebrate neuromuscular junction. *Eur J Neurosci* 28: 577–587.  
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06355.x>
76. *Berger UV, Carter RE, Coyle JT* (1995) The immunocytochemical localization of N-acetylaspartyl glutamate, its hydrolysing enzyme NAALADase, and the NMDAR-1 receptor at a vertebrate neuromuscular junction. *Neuroscience* 64: 847–850.  
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)92578-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)92578-8)
77. *Grozdanic Z, Gossrau R* (1998) Co-localization of nitric oxide synthase I (NOS I) and NMDA receptor subunit 1 (NMDAR-1) at the neuromuscular junction in rat and mouse skeletal muscle. *Cell Tissue Res* 291: 57–63.  
<https://doi.org/10.1007/s004410050979>
78. *Mays TA, Sanford JL, Hanada T, Chishti AH, Rafael-Fortney JA* (2009) Glutamate receptors localize postsynaptically at neuromuscular junctions in mice. *Muscle Nerve* 39: 343–349.  
<https://doi.org/10.1002/mus.21099>
79. *Malomouzh AI, Mukhtarov MR, Nikolsky EE, Vyskocil F, Lieberman EM, Urazaev AK* (2003) Glutamate regulation of non-quantal release of acetylcholine in the rat neuromuscular junction. *J Neurochem* 85: 206–213.  
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01660.x>
80. *Malomouzh AI, Nurullin LF, Arkhipova SS, Nikolsky EE* (2011) NMDA receptors at the endplate of rat skeletal muscles: Precise postsynaptic localization. *Muscle Nerve* 44: 987–989.  
<https://doi.org/10.1002/mus.22250>
81. *Stamler JS, Meissner G* (2001) Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev* 81: 209–237.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.1.209>
82. *Mukhtarov MR, Vyskocil F, Urazaev AK, Nikolsky EE* (1999) Non-quantal acetylcholine release is increased after nitric oxide synthase inhibition. *Physiol Res* 48: 315–317.
83. *Mukhtarov MR, Urazaev AK, Nikolsky EE, Vyskocil F* (2000) Effect of nitric oxide and NO-synthase inhibition on nonquantal acetylcholine release in the rat diaphragm. *Eur J Neurosci* 12: 980–986.  
<https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00992.x>
84. *Kasimov MR, Fatkhrahmanova MR, Mukhutinova KA, Petrov AM* (2017) 24S-Hydroxycholesterol enhances synaptic vesicle cycling in the mouse neuromuscular junction: Implication of glutamate NMDA receptors and nitric oxide. *Neuropharmacology* 117: 61–73.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.01.030>
85. *Personius KE, Slusher BS, Udin SB* (2016) Neuromuscular NMDA Receptors Modulate Developmental Synapse Elimination. *J Neurosci* 36: 8783–8789.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1181-16.2016>

86. *Personius KE, Siebert D, Koch DW, Udin SB* (2022) Blockage of neuromuscular glutamate receptors impairs reinnervation following nerve crush in adult mice. *Front Cell Neurosci* 16: 1000218.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2022.1000218>
87. *Neale JH, Olszewski RT, Zuo D, Janczura KJ, Profaci CP, Lavin KM, Madore JC, Bzdega T* (2011) Advances in understanding the peptide neurotransmitter NAAG and appearance of a new member of the NAAG neuropeptide family. *J Neurochem* 118: 490–498.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07338.x>
88. *Morland C, Nordengen K* (2022) N-Acetyl-Aspartyl-Glutamate in Brain Health and Disease. *Int J Mol Sci* 23: 1268.  
<https://doi.org/10.3390/ijms23031268>
89. *Cassidy M, Neale JH* (1993) N-acetylaspartylglutamate catabolism is achieved by an enzyme on the cell surface of neurons and glia. *Neuropeptides* 24: 271–278.  
[https://doi.org/10.1016/0143-4179\(93\)90015-3](https://doi.org/10.1016/0143-4179(93)90015-3)
90. *Ory-Lavollée L, Blakely RD, Coyle JT* (1987) Neurochemical and immunocytochemical studies on the distribution of N-acetyl-aspartylglutamate and N-acetyl-aspartate in rat spinal cord and some peripheral nervous tissues. *J Neurochem* 48: 895–899.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1987.tb05601.x>
91. *Fuhrman S, Palkovits M, Cassidy M, Neale JH* (1994) The regional distribution of N-acetylaspartylglutamate (NAAG) and peptidase activity against NAAG in the rat nervous system. *J Neurochem* 62: 275–281.  
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.62010275.x>
92. *Malomouzh AI, Nikolsky EE, Lieberman EM, Sherman JA, Lubischer JL, Grossfeld RM, Urazaev AK* (2005) Effect of N-acetylaspartylglutamate (NAAG) on non-quantal and spontaneous quantal release of acetylcholine at the neuromuscular synapse of rat. *J Neurochem* 94: 257–267.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03194.x>
93. *Watanabe M, Maemura K, Kanbara K, Tamayama T, Hayasaki H* (2002) GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *Int Rev Cytol* 213: 1–47.  
[https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(02\)13011-7](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(02)13011-7)
94. *Ji X, Liu S, Li S, Li X, Luo A, Zhang X, Zhao Y* (2024) GABA in early brain development: A dual role review. *Int J Dev Neurosci* 84:843–856.  
<https://doi.org/10.1002/jdn.10387>
95. *Omote H, Moriyama Y* (2013) Vesicular neurotransmitter transporters: An approach for studying transporters with purified proteins. *Physiology (Bethesda)* 28: 39–50.  
<https://doi.org/10.1152/physiol.00033.2012>
96. *Olsen RW, Sieghart W* (2008) International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of gamma-aminobutyric acid(A) receptors: Classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update. *Pharmacol Rev* 60: 243–260.  
<https://doi.org/10.1124/pr.108.00505>
97. *Bowery NG, Bettler B, Froestl W, Gallagher JP, Marshall F, Raiteri M, Bonner TI, Enna SJ* (2002) International Union of Pharmacology. XXXIII. Mammalian gamma-aminobutyric acid(B) receptors: Structure and function. *Pharmacol Rev* 54: 247–264.  
<https://doi.org/10.1124/pr.54.2.247>
98. *Naffaa MM, Hung S, Chebib M, Johnston GAR, Hanrahan JR* (2017) GABA-p receptors: Distinctive functions and molecular pharmacology. *Br J Pharmacol* 174: 1881–1894.  
<https://doi.org/10.1111/bph.13768>
99. *Scimemi A* (2014) Structure, function, and plasticity of GABA transporters. *Front Cell Neurosci* 8: 161.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00161>
100. *Ryan RM, Ingram SL, Scimemi A* (2021) Regulation of Glutamate, GABA and Dopamine Transporter Uptake, Surface Mobility and Expression. *Front Cell Neurosci* 15: 670346.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2021.670346>
101. *Zhou Y, Danbolt NC* (2013) GABA and Glutamate Transporters in Brain. *Front Endocrinol (Lausanne)* 4: 165.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00165>
102. *Erdő SL, Wolff JR* (1990) gamma-Aminobutyric acid outside the mammalian brain. *J Neurochem* 54: 363–372.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1990.tb01882.x>
103. *Malomouzh A, Ilyin V, Nikolsky E* (2019) Components of the GABAergic signaling in the peripheral cholinergic synapses of vertebrates: A review. *Amino Acids* 51: 1093–1102.  
<https://doi.org/10.1007/s00726-019-02754-x>
104. *Nurullin LF, Nikolsky EE, Malomouzh AI* (2018) Elements of molecular machinery of GABAergic signaling in the vertebrate cholinergic neuromuscular junction. *Acta Histochem* 120: 298–301.  
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.02.003>

105. *Chan-Palay V, Engel AG, Wu JY, Palay SL* (1982) Coexistence in human and primate neuromuscular junctions of enzymes synthesizing acetylcholine, catecholamine, taurine, and gamma-aminobutyric acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79: 7027–7030.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.79.22.7027>
106. *Sibgatullina GV, Malomouzh AI* (2020) GABA in developing rat skeletal muscle and motor neurons. *Protoplasma* 257: 1009–1015.  
<https://doi.org/10.1007/s00709-020-01485-1>
107. *Sibgatullina G, Al Ebrahim R, Gilizhdinova K, Tokmakova A, Malomouzh A* (2024) Differentiation of Myoblasts in Culture: Focus on Serum and Gamma-Aminobutyric Acid. *Cells Tissues Organs* 213: 203–212.  
<https://doi.org/10.1159/000529839>
108. *Hatazawa Y, Senoo N, Tadaishi M, Ogawa Y, Ezaki O, Kamei Y, Miura S* (2015) Metabolomic Analysis of the Skeletal Muscle of Mice Overexpressing PGC-1 $\alpha$ . *PLoS One* 10: e0129084.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129084>
109. *Roberts LD, Ashmore T, McNally BD, Murfitt SA, Fernandez BO, Feelisch M, Lindsay R, Siervo M, Williams EA, Murray AJ, Griffin JL* (2017) Inorganic Nitrate Mimics Exercise-Stimulated Muscular Fiber-Type Switching and Myokine and  $\gamma$ -Aminobutyric Acid Release. *Diabetes* 66: 674–688.  
<https://doi.org/10.2337/db16-0843>
110. *Tsentsevitsky AN, Sibgatullina GV, Petrov AM, Malomouzh AI, Kovyazina IV* (2024) GABA Receptors and Kv7 Channels as Targets for GABAergic Regulation of Acetylcholine Release in Frog Neuromuscular Junction. *Neurochem Res* 50: 25.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-024-04274-x>
111. *Feng Z, Koirala S, Ko C-P* (2005) Synapse-glia interactions at the vertebrate neuromuscular junction. *Neuroscientist* 11: 503–513.  
<https://doi.org/10.1177/1073858405277409>
112. *Gould TW, Ko C-P, Willison H, Robitaille R* (2024) Perisynaptic Schwann Cells: Guardians of Neuromuscular Junction Integrity and Function in Health and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* a041362.  
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041362>
113. *Yoon B-E, Lee CJ* (2014) GABA as a rising gliotransmitter. *Front Neural Circuits* 8: 141.  
<https://doi.org/10.3389/fncir.2014.00141>
114. *Christensen RK, Delgado-Lezama R, Russo RE, Lind BL, Alcocer EL, Rath MF, Fabbiani G, Schmitt N, Lauritzen M, Petersen AV, Carlsen EM, Perrier J-F* (2018) Spinal dorsal horn astrocytes release GABA in response to synaptic activation. *J Physiol* 596: 4983–4994.  
<https://doi.org/10.1113/JP276562>
115. *Saunders A, Granger AJ, Sabatini BL* (2015) Corelease of acetylcholine and GABA from cholinergic forebrain neurons. *Elife* 4: e06412.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.06412>
116. *Granger AJ, Wang W, Robertson K, El-Rifai M, Zanello AF, Bistrong K, Saunders A, Chow BW, Nuñez V, Turrero García M, Harwell CC, Gu C, Sabatini BL* (2020) Cortical ChAT<sup>+</sup> neurons co-transmit acetylcholine and GABA in a target- and brain-region-specific manner. *Elife* 9: e57749.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.57749>
117. *Nair A, Teo YY, Augustine GJ, Graf M* (2023) A functional logic for neurotransmitter corelease in the cholinergic forebrain pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 120: e2218830120.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.2218830120>
118. *Lenina O, Petrov K, Kovyazina I, Malomouzh A* (2019) Enhancement of mouse diaphragm contractility in the presence of antagonists of GABAA and GABAB receptors. *Exp Physiol* 104: 1004–1010.  
<https://doi.org/10.1113/EP087611>
119. *Fedorov NS, Sibgatullina GV, Malomouzh AI* (2024) Impairment of Skeletal Muscle Contraction by Inhibitors of GABA Transporters. *Int J Mol Sci* 25: 12510.  
<https://doi.org/10.3390/ijms252312510>
120. *Malomouzh AI, Petrov KA, Nurullin LF, Nikolsky EE* (2015) Metabotropic GABAB receptors mediate GABA inhibition of acetylcholine release in the rat neuromuscular junction. *J Neurochem* 135: 1149–1160.  
<https://doi.org/10.1111/jnc.13373>
121. *Malomouzh AI, Nurullin LF, Nikolsky EE* (2015) Immunohistochemical evidence of the presence of metabotropic receptors for  $\gamma$ -aminobutyric acid at the rat neuromuscular junctions. *Dokl Biochem Biophys* 463: 236–238.  
<https://doi.org/10.1134/S1607672915040092>

122. *Dietz N, Wagers S, Harkema SJ, D'Amico JM* (2023) Intrathecal and Oral Baclofen Use in Adults with Spinal Cord Injury: A Systematic Review of Efficacy in Spasticity Reduction, Functional Changes, Dosing, and Adverse Events. *Arch Phys Med Rehabil* 104: 119–131.  
<https://doi.org/10.1016/j.apmr.2022.05.011>
123. *Meythaler JM, Guin-Renfroe S, Grabb P, Hadley MN* (1999) Long-term continuously infused intrathecal baclofen for spastic-dystonic hypertonia in traumatic brain injury: 1-year experience. *Arch Phys Med Rehabil* 80: 13–9.  
[https://doi.org/10.1016/s0003-9993\(99\)90301-5](https://doi.org/10.1016/s0003-9993(99)90301-5)
124. *Schiess MC, Oh IJ, Stimming EF, Lucke J, Acosta F, Fisher S, Simpson RK* (2011) Prospective 12-Month Study of Intrathecal Baclofen Therapy for Poststroke Spastic Upper and Lower Extremity Motor Control and Functional Improvement. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface* 14: 38–45.  
<https://doi.org/10.1111/j.1525-1403.2010.00308.x>
125. *Hasnat MJ, Rice JE* (2015) Intrathecal baclofen for treating spasticity in children with cerebral palsy. *Cochrane Database Syst Rev* 2015: CD004552.  
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD004552.pub2>
126. *Kent CN, Park C, Lindsley CW* (2020) Classics in Chemical Neuroscience: Baclofen. *ACS Chem Neurosci* 11: 1740–1755.  
<https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00254>
127. *Balaratnam MS, Stevenson VL* (2022) Intrathecal baclofen pumps: What the neurologist needs to know. *Pract Neurol* 22(3): 241–246.  
<https://doi.org/10.1136/practneurol-2021-003184>
128. *Mizuno S, Takeda K, Maeshima S, Shigeru S* (2018) Effect of oral baclofen on spasticity poststroke: Responders versus non-responders. *Top Stroke Rehabil* 25(6): 438–444.  
<https://doi.org/10.1080/10749357.2018.1474422>
129. *Ohno K, Engel AG, Brengman JM, Shen XM, Heidenreich F, Vincent A, Milone M, Tan E, Demirci M, Walsh P, Nakano S, Akiguchi I* (2000) The spectrum of mutations causing end-plate acetylcholinesterase deficiency. *Ann Neurol* 47: 162–70.
130. *Petrov K, Lenina O, Leroy J, Bernard V, Germain T, Truong C, Nurullin L, Sibgatullina G, Ohno K, Samigullin D, Krejci E* (2025) An  $\alpha 7$  nicotinic and GABA B receptor-mediated pathway controls acetylcholine release in the tripartite neuromuscular junction. *J Physiol* 603: 507–527.  
<https://doi.org/10.1113/JP287243>
131. *Abdelmalki A, Merino D, Bonneau D, Bigard A, Guezennec C* (1997) Administration of a GABA B Agonist Baclofen Before Running to Exhaustion in the Rat: Effects on Performance and on Some Indicators of Fatigue. *Int J Sports Med* 18: 75–78.  
<https://doi.org/10.1055/s-2007-972598>
132. *Kanehira T, Nakamura Y, Nakamura K, Horie K, Horie N, Furugori K, Sauchi Y, Yokogoshi H* (2011) Relieving Occupational Fatigue by Consumption of a Beverage Containing Gamma-Amino Butyric Acid. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 57: 9–15.  
<https://doi.org/10.3177/jnsv.57.9>
133. *Feng S, Li T, Wei X, Zheng Y, Zhang Y, Li G, Zhao Y* (2024) The Antioxidant and Anti-Fatigue Effects of Rare Ginsenosides and  $\gamma$ -Aminobutyric Acid in Fermented Ginseng and Germinated Brown Rice Puree. *Int J Mol Sci* 25: 10359.  
<https://doi.org/10.3390/ijms251910359>
134. *Oketch-Rabah HA, Madden EF, Roe AL, Betz JM* (2021) United States Pharmacopeia (USP) Safety Review of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA). *Nutrients* 13: 2742.  
<https://doi.org/10.3390/nu13082742>
135. *Sakashita M, Nakamura U, Horie N, Yokoyama Y, Kim M, Fujita S* (2019) Oral Supplementation Using Gamma-Aminobutyric Acid and Whey Protein Improves Whole Body Fat-Free Mass in Men After Resistance Training. *J Clin Med Res* 11: 428–434.  
<https://doi.org/10.14740/jocmr3817>
136. *Ngo D-H, Vo TS* (2019) An Updated Review on Pharmaceutical Properties of Gamma-Aminobutyric Acid. *Molecules* 24: 2678.  
<https://doi.org/10.3390/molecules24152678>
137. *Abdou AM, Higashiguchi S, Horie K, Kim M, Hatta H, Yokogoshi H* (2006) Relaxation and immunity enhancement effects of  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) administration in humans. *BioFactors* 26: 201–208.  
<https://doi.org/10.1002/biof.5520260305>
138. *Yamatsu A, Yamashita Y, Pandharipande T, Maru I, Kim M* (2016) Effect of oral  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) administration on sleep and its absorption in humans. *Food Sci Biotechnol* 25: 547–551.  
<https://doi.org/10.1007/s10068-016-0076-9>

139. *Anderson RA, Mitchell R* (1986) Effects of  $\beta$ -aminobutyric acid receptor agonists on the secretion of growth hormone, luteinizing hormone, adrenocorticotrophic hormone and thyroid-stimulating hormone from the rat pituitary gland in vitro. *J Endocrinol* 108: 1–8.  
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1080001>
140. *Riggs TR, Walker LM* (1960) Growth hormone stimulation of amino acid transport into rat tissues in vivo. *J Biol Chem* 235: 3603–3607.
141. *Tujioka K, Okuyama S, Yokogoshi H, Fukaya Y, Hayase K, Horie K, Kim M* (2007) Dietary  $\gamma$ -aminobutyric acid affects the brain protein synthesis rate in young rats. *Amino Acids* 32: 255–260.  
<https://doi.org/10.1007/s00726-006-0358-2>
142. *Horii M, Bumrungkit C, Yanaka N, Hawke TJ, Rebalka IA, Kumrungsee T* (2025) Effects of oral  $\gamma$ -aminobutyric acid intake on muscle regeneration in diabetic mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 328: C967–C985.  
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00963.2024>
143. *Brunelli G, Spano P, Barlati S, Guarneri B, Barbon A, Bresciani R, Pizzi M* (2005) Glutamatergic reinnervation through peripheral nerve graft dictates assembly of glutamatergic synapses at rat skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 8752–8757.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0500530102>
144. *Pizzi M, Brunelli G, Barlati S, Spano P* (2006) Glutamatergic innervation of rat skeletal muscle by supraspinal neurons: A new paradigm in spinal cord injury repair. *Curr Opin Neurobiol* 16: 323–328.  
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.05.013>

## **Glutamate and its Derivatives in the Regulation of Peripheral Cholinergic Neurotransmission**

**N. S. Fedorov<sup>a</sup>, E. S. Nevsky<sup>b</sup>, A. R. Tokmakova<sup>a</sup>, and A. I. Malomouzh<sup>a,c,\*</sup>**

<sup>a</sup>*Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, RAS, Kazan, Russia*

<sup>b</sup>*Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia*

<sup>c</sup>*Kazan National Research Technical University, Kazan, Russia*

\**e-mail: artur57@list.ru*

In the CNS, glutamate is the main excitatory neurotransmitter, while gamma-aminobutyric acid (GABA) functions as the main inhibitory neurotransmitter. N-acetylaspartylglutamate (NAAG), in turn, is the most abundant neuropeptide in the CNS and is also capable of acting as a neurotransmitter. This review analyzes experimental data proving the participation of all three of these signaling molecules in the functioning of the neuromuscular junction, which is a “classical” cholinergic synapse of the peripheral nervous system and, until recently, was considered the most studied synaptic junction in the organism of vertebrates and humans. To date, all three signaling molecules have been identified in the area of the neuromuscular junction, data have been obtained on their release into the synaptic cleft, and receptor proteins have been discovered whose activation affects the processes of both spontaneous and evoked quantal release of acetylcholine. It is noted that in mammalian synapses, glutamate, NAAG and GABA unidirectionally inhibit the process of non-quantal release of acetylcholine. The mechanisms of these modulatory pathways of glutamate and its derivatives signaling are realized with the involvement of all three compartments of the synaptic contact: nerve ending, muscle fiber and perisynaptic Schwann cell.

**Keywords:** neuromuscular junction, neurotransmission, co-transmission, acetylcholine, glutamate, GABA, N-acetylaspartylglutamate