

А. В. Чорномидз, В. В. Буката, І. Б. Чорномидз
 ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
 ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ
 ORCID: 0000-0001-5479-8298
 ORCID: 0000-0001-9638-1052
 ORCID: 0000-0002-9797-7891

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ГЛУТАМАТ-АСПАРТАТНОЇ СИГНАЛІЗАЦІЇ ТА СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ: МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ, ФІЗІОЛОГІЧНІ ФУНКЦІЇ, ПАТОЛОГІЧНІ НАСЛІДКИ ТА ШЛЯХИ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ВПЛИВУ

Вступ. Взаємодія між системою збуджувальних амінокислот (L-глутамат, L-аспарат) і системою оксиду азоту (NO) є фундаментальним сигнальним каскадом в організмі ссавців, який функціонує за принципом «двосічного меча», визначає межу між фізіологічною адаптацією та патологічним пошкодженням.

Мета дослідження. Провести комплексний міждисциплінарний аналіз і систематизувати сучасні дані про молекулярні механізми, фізіологічну та патологічну роль, а також терапевтичний потенціал глутамат-NO сигнального шляху.

Результати й обговорення. Центральною інтегративною подією є активація іонотропного NMDA-рецептора (NMDAR), яка запускає кальцій-залежний синтез NO нейрональною синтазою (nNOS). У фізіологічних умовах цей каскад є незамінним для синаптичної пластичності (LTP), нейроваскулярного спряження та периферичної регуляції (наприклад, у ШКТ). Однак його гіперактивація за наявності ішемії, травми та нейрозапалення запускає механізм ексайтотоксичності. В огляді детально проаналізовано ключові патогенетичні ланки: (1) перетворення NO на високотоксичний пероксинітрит; (2) роль індукцибельної iNOS у нейрозапаленні; (3) феномен «роз'єднання» (uncoupling) nNOS через дефіцит кофактора BH4; (4) критичну роль супрамолекулярного комплексу GluN2B-PSD-95-nNOS як мішені «просмертельного» сигналу. Обговорено патологічну роль каскаду при інсульті, нейродегенеративних захворюваннях (Альцгеймера, Паркінсона) та у формуванні хронічного болю.

Висновки. Проаналізовано клінічні невдачі неселективних антагоністів NMDAR і обґрунтовано зміщення терапевтичних стратегій у бік «тонкої модуляції» системи. Перспективними напрямками є селективні антагоністи субодиниці GluN2B, блокатори ONOO-, стабілізатори nNOS та інноваційні пептиди, що руйнують патологічний зв'язок PSD-95/nNOS. Розуміння цього каскаду залишається пріоритетом для розроблення нових методів лікування неврологічних і соматичних захворювань.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксид азоту (NO); глутамат; NMDA-рецептор; ексайтотоксичність; нейрональна синтаза NO (nNOS).

ВСТУП. В основі гомеостазу, адаптації та патології багатоклітинних організмів лежить складна мережа міжклітинної комунікації. Протягом десятиліть наше розуміння цієї мережі базувалося на класичних парадигмах, як-от синаптична передача через везикулярне вивільнення нейромедіаторів або ендокринна сигналізація через гормони, що циркулюють у крові. Проте відкриття останніх десятиліть ХХ ст. кардинально розширили ці догми, виявивши принципово нові класи сигнальних молекул. Серед них особливе місце належить оксиду азоту (NO) – ефемерному, високореактивному газоподібному радикалу,

чиє відкриття як ендогенного месенджера було відзначено Нобелівською премією з фізіології або медицини в 1998 р. [1]. Його унікальні властивості, зокрема здатність до вільної дифузії через клітинні мембрани, кинули виклик традиційним уявленням про просторову та часову специфічність клітинної сигналізації [2].

Паралельно інша сигнальна система міцно закріпила за собою статус наріжного каменя функціонування центральної нервової системи (далі – ЦНС). Це система збуджувальних амінокислот (далі – ЗАА), головними представниками якої є L-глутамат і L-аспарат. Ці молекули є не просто метаболітами, а такими, що домінують, збуджувальними

нейромедіаторами в мозку ссавців, що опосередковують більшість швидких синаптичних передач і лежать в основі вищих нервових функцій, як-от навчання та пам'ять [3].

На перший погляд ці дві системи – класична, високоспецифічна синаптична передача через 3АА та дифузна, неспецифічна модуляція через NO – видаються функціонально різними світами. Однак, як виявилося, вони нерозривно пов'язані на найбільш фундаментальному молекулярному рівні. Центральною ланкою, що об'єднує ці системи, є іонотропний N-метил-D-аспартатний (далі – NMDA) рецептор – унікальний молекулярний комплекс, активація якого глутаматом і аспартатом за деяких умов запускає кальцій-залежний синтез оксиду азоту [4]. Цей елегантний, але потенційно летальний каскад (NMDA-рецептор $\rightarrow$ Ca^{2+} $\rightarrow$ nNOS $\rightarrow$ NO) є молекулярним перехрестям, де сходяться шляхи фізіологічної адаптації та патологічного пошкодження.

Функціонування цього каскаду є класичним прикладом біологічної подвійності, або «двосічного меча». У фізіологічних умовах він є необхідним для синаптичної пластичності [5], нейроваскулярного спряження [6] та регуляції функцій периферичних органів, включаючи шлунково-кишковий тракт [7]. Проте за умов патології, як-от ішемія, травма або нейрозапалення, його гіперактивація стає центральним механізмом ексайтотоксичності – процесу загибелі нейронів через надмірне збудження [8]. Цей процес відіграє ключову роль у патогенезі гострого ішемічного інсульту [9], хронічних нейродегенеративних захворювань (хвороби Альцгеймера, Паркінсона, бічного аміотрофічного склерозу) [10] та формуванні хронічних больових синдромів [11].

Метою огляду є проведення комплексного, міждисциплінарного аналізу сучасних наукових даних щодо взаємодії глутамат-аспартатної системи та системи оксиду азоту. Ми прагнемо систематизувати знання, починаючи від фундаментальних молекулярних механізмів їхнього зв'язку, через фізіологічну роль у центральній і периферичній нервовій системі, і закінчуючи глибоким аналізом їхнього внеску в патогенез ключових захворювань людини. Особливу увагу буде приділено обговоренню потенційних фармакологічних стратегій, спрямованих на модуляцію цього сигнального шляху, що відкриває нові горизонти для терапії широкого спектра неврологічних і соматичних розладів. Отже, ця робота має на меті прокласти міст від

фундаментальної біохімії та нейрофізіології до реальної клінічної практики.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для розуміння фізіологічних і патологічних наслідків взаємодії між збуджувальними амінокислотами й оксидом азоту необхідно детально розглянути молекулярний апарат, що лежить в основі цього зв'язку. Центральною подією є перетворення зовнішньоклітинного хімічного сигналу (глутамат/аспартат) на внутрішньоклітинний іонний сигнал (Ca^{2+}), який, у свою чергу, запускає ферментативний синтез вторинного газоподібного месенджера (NO).

NMDA-рецептор як ключова точка конвергенції

NMDA-рецептор (далі – NMDAR) є унікальним представником родини іонотропних глутаматних рецепторів, що виконує функцію молекулярного інтегратора синаптичних сигналів [12]. Структурно це гетеротетрамерний комплекс, що зазвичай складається із двох обов'язкових субодиниць GluN1 та двох регуляторних субодиниць GluN2 (A–D) або GluN3 (A–B). Комбінаторне розмаїття цих субодиниць визначає біофізичні та фармакологічні властивості рецептора, а також його локалізацію в різних ділянках мозку та на різних етапах розвитку [13].

На відміну від AMPA-рецепторів, що забезпечують швидку деполяризацію у відповідь на глутамат, активація NMDAR вимагає збігу двох подій, що робить його «детектором збігів» (coincidence detector). По-перше, необхідне зв'язування агоніста – глутамату або аспартату – із сайтом на субодиниці GluN2. По-друге, водночас має відбутися зв'язування ко-агоніста – гліцину або D-серину – із сайтом на субодиниці GluN1 [14]. Але навіть за цих умов у стані спокою іонний канал рецептора заблокований іоном магнію (Mg^{2+}). Цей блок є потенціал-залежним і знімається лише тоді, коли постсинаптична мембрана зазнає значної деполяризації, зазвичай унаслідок попередньої активації AMPA-рецепторів. Лише в разі дотримання всіх трьох умов – зв'язування агоніста, ко-агоніста та деполяризації мембрани – канал NMDAR відкривається. Його ключовою особливістю є висока проникність для іонів кальцію (Ca^{2+}) [15]. Саме цей потужний вхід Ca^{2+} у постсинаптичний нейрон є критичним сигналом, що трансформує короткочасну електричну подію у тривалі біохімічні зміни, зокрема й синтез оксиду азоту.

Кальцій-залежний синтез оксиду азоту

Надходження Ca^{2+} через NMDAR запускає каскад реакцій, центральним ферментом якого є нейрональна синтаза оксиду азоту (nNOS або NOS-1) [16]. Цей фермент належить до родини цитохром P450-редуктаз і для своєї активації потребує зв'язування з комплексом кальцій – кальмодулін. Іони Ca^{2+} , що ввійшли до цитоплазми, зв'язуються з білком кальмодуліном (CaM), спричиняють його конформаційні зміни. Активованний комплекс $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$, у свою чергу, зв'язується з nNOS, ініціює її каталітичну активність [17].

Висока швидкість та просторова специфічність цього зв'язку забезпечуються завдяки складній архітектурі постсинаптичної щільності (postsynaptic density, PSD). nNOS не є вільно дифундуючим білком у цитоплазмі; вона фізично «пришвартована» до внутрішньоклітинного домену NMDAR, а саме до субодиниці GluN2B, через білок-посередник PSD-95 [18]. Цей білок, що містить PDZ-домени, діє як молекулярний «каркас», утримує nNOS у безпосередній близькості до джерела надходження кальцію – іонного каналу NMDAR. Таке супрамолекулярне угруповання забезпечує миттєву та локалізовану активацію nNOS у відповідь на стимуляцію NMDAR, що дозволяє синтезувати NO саме там і тоді, де це необхідно для синаптичної модуляції.

Каталітична реакція, що здійснюється nNOS, полягає в п'ятиелектронному окисленні гуанідинової групи амінокислоти L-аргініну. Цей складний процес потребує наявності молекулярного кисню (O_2) та кофакторів, як-от NADPH, флавін-аденін-динуклеотид (далі – FAD), флавін-мононуклеотид (далі – FMN) і тетрагідробіоптерин (BH_4). Кінцевими продуктами реакції є L-цитрулін та молекула оксиду азоту (NO) [19].

Особливу, лімітуючу роль серед кофакторів відіграє тетрагідробіоптерин (BH_4). Його наявність є абсолютно необхідною для підтримки структурної цілісності ферменту та перенесення електронів. За умов патології, пов'язаних з інтенсивним окисним стресом (наприклад, ішемія або нейрозапалення), BH_4 швидко окислюється та виснажується. Це призводить до феномену «роз'єднання» nNOS. У «роз'єданому» стані фермент втрачає здатність завершити синтез NO і натомість починає генерувати супероксидний радикал, з використанням кисню та NADPH [20]. Отже, nNOS парадоксально перетворюється із сигнального ферменту

на потужне джерело окисного пошкодження, що має фундаментальне значення для розуміння його патологічної ролі.

Оксид азоту як ретроградний модулятор

Синтезований у постсинаптичному нейроні, NO завдяки своїм унікальним фізико-хімічним властивостям – малий розмір, відсутність заряду, висока ліпофільність – не підпорядковується класичним законам нейротрансмісії. Він не потребує ні везикул для зберігання, ні транспортерів для вивільнення, ні мембранних рецепторів для дії. NO вільно дифундує з місця свого синтезу в усіх напрямках, долаючи клітинні мембрани й діючи в радіусі до 100 мкм [2]. Одним із ключових напрямків цієї дифузії є зворотний, або ретроградний, рух через синаптичну щілину до пресинаптичної терміналі. Це робить NO ідеальним кандидатом на роль ретроградного месенджера – молекули, що інформує пресинаптичний нейрон про рівень активності постсинаптичного партнера [21].

У пресинаптичній терміналі NO взаємодіє з кількома мішенями:

1. **Канонічний шлях (цГМФ-залежний).** Головною та найбільш вивченою мішенню NO є фермент розчинна гуанілатциклаза (далі – рГЦ). Зв'язування NO з гемовою групою рГЦ різко підвищує її активність, що призводить до конверсії ГТФ у циклічний гуанозинмонофосфат (далі – цГМФ). цГМФ, у свою чергу, активує протеїнкіназу G (PKG), яка може фосфорилювати низку білків, що беруть участь в екзоцитозі синаптичних везикул, тим самим посилюючи вивільнення глутамату [22].

2. **S-нітрозилювання.** NO може безпосередньо модифікувати білки шляхом S-нітрозилювання – ковалентного приєднання NO-групи до тиольної групи залишку цистеїну. Ця посттрансляційна модифікація є реверсивною і діє як регуляторний «перемикач» для багатьох білків. Показано, що S-нітрозилювання білків пресинаптичного апарату, як-от синаптотакмін, може модулювати ймовірність вивільнення нейромедіатора [23].

Таким чином, каскад, що починається з активації NMDAR, замикається в петлю позитивного зворотного зв'язку: глутамат стимулює синтез NO, а NO, у свою чергу, посилює подальше вивільнення глутамату. Цей механізм є фундаментальним для посилення синаптичної ефективності. Однак описана петля є лише однією стороною регуляторної ролі NO. Для підтримання гомеостазу та запобігання гіперактивації система має

вбудований механізм негативного зворотного зв'язку. NO, що дифундує, може діяти автокринно (на той самий нейрон) або ретроградно, вступаючи в реакцію із самим NMDA-рецептором. Шляхом S-нітрозилювання специфічних цистеїнових залишків на субодиницях NMDAR (зокрема, на GluN1) NO знижує імовірність відкриття каналу [24]. Це обмежує подальше надходження Ca^{2+} і слугує потужним «гальмівним» механізмом, що захищає нейрон від початкових стадій ексайтотоксичності. Отже, уже на молекулярному рівні закладено тонкий баланс між посиленням (через цГМФ) і пригніченням (через S-нітрозилювання NMDAR), порушення якого й визначає перехід до патології [25].

Фізіологічна роль глутамат-NO сигналізації

Елегантний молекулярний каскад, що зв'язує активацію NMDA-рецепторів із синтезом оксиду азоту, є не просто біохімічним курйозом, а фундаментальним механізмом, який лежить в основі низки критично важливих фізіологічних процесів як у центральній, так і в периферичній нервовій системі. Його функція полягає у швидкому перетворенні точкової синаптичної активності на дифузний локальний сигнал, що дозволяє координувати роботу груп клітин.

Синаптична пластичність, навчання та пам'ять. Найбільш вивченою роллю глутамат-NO шляху є його участь у синаптичній пластичності, зокрема, у довготривалій потенціації (далі – LTP) – стійкому посиленні синаптичної передачі, що вважається клітинним корелятом навчання та пам'яті [26]. Індукція LTP у багатьох синапсах, особливо в гіпокампі, є класичним прикладом роботи цього каскаду. Високочастотна стимуляція пресинаптичного нейрона зумовлює значне вивільнення глутамату, що призводить до сильної деполяризації постсинаптичної мембрани та зняття магнієвого блоку з NMDAR. Вхід Ca^{2+} через NMDAR запускає синтез NO, який, як ретроградний месенджер, дифундує назад до пресинаптичної терміналі. Там він, через цГМФ-залежний шлях, посилює подальше вивільнення глутамату у відповідь на наступні стимули [27]. Однак дія NO не є суто ретроградною. Паралельно відбувається і постсинаптична дія: активована цГМФ протеїнкіназа G (PKG) може фосфорилювати білки, що сприяють мобілізації та вбудовуванню AMPA-рецепторів у постсинаптичну мембрану, таким чином підвищують її чутливість до глутамату [28]. Ця скоординована дія по обидва боки

синапсу «закріплює» та посилює синаптичний зв'язок, що є основою для формування енграми пам'яті. Експерименти з використанням інгібіторів NOS або «виключенням» гена nNOS у мишей переконливо демонструють порушення LTP і дефіцит просторового навчання, що підтверджує критичну роль цього шляху [29].

Нейроваскулярне спряження та регуляція мозкового кровотоку. Мозок, не маючи значних енергетичних резервів, потребує точного та швидкого узгодження між нейронною активністю та локальним кровотоком для доставки кисню та глюкози. Цей процес, відомий як нейроваскулярне спряження, або функціональна гіперемія, значною мірою опосередковується глутамат-NO каскадом [6]. Коли нейрони окремої ділянки мозку активуються, вони вивільняють глутамат. Глутамат діє на NMDAR постсинаптичних нейронів, запускає синтез NO. NO, завдяки своїй здатності до дифузії, легко досягає гладком'язових клітин сусідніх артерій, активує в них розчинну гуанілатциклазу, що приводить до релаксації та локального розширення судин (вазодилатації) [30]. Отже, підвищена нейронна активність автоматично спричиняє посилення місцевого кровотоку, забезпечує метаболічні потреби активних нейронів. Варто зазначити, що хоча цей NO-залежний шлях, керований нейронами, є ключовим компонентом, сучасне розуміння функціональної гіперемії є складнішим. Воно включає також критичний внесок астроцитів, які, реагуючи на глутамат, запускають власні кальцій-залежні шляхи, що приводять до вивільнення інших вазоактивних речовин (наприклад, простагландинів) [6]. Отже, нейроваскулярне спряження є результатом складної нейро-гліально-судинної взаємодії. Цей сукупний механізм лежить в основі таких методів нейровізуалізації, як функціональна магнітно-резонансна томографія (далі – фМРТ).

Роль у периферичній нервовій системі й органах травлення. Глутамат-NO сигнальний шлях не є прерогативою ЦНС. Він також відіграє ключову роль у функціонуванні периферичної нервової системи, зокрема ентєральної нервової системи (далі – ЕНС), яка регулює роботу шлунково-кишкового тракту (далі – ШКТ). NO є головним інгібіторним (розслаблюючим) нейромедіатором у ШКТ, відповідальним за релаксацію гладкої мускулатури сфінктерів (наприклад, пілоричного та внутрішнього анального) та за спадний компонент перистальтичного

рефлексу [7; 31]. Хоча NO в ЕНС може синтезуватися у відповідь на різні стимули, активація NMDAR на ентєральних нейронах є одним з доведених механізмів запуску його продукції. Цей механізм залучений до регуляції моторики, забезпечує розслаблення кишки попереду харчового болюса.

Окрім того, глутамат-NO каскад є центральним у передачі та модуляції больових сигналів (ноцицепції). Активація NMDAR та подальший синтез NO в ноцицептивних нейронах дорзального рогу спинного мозку є ключовим етапом у розвитку центральної сенситизації – процесу, що лежить в основі переходу гострого болю у хронічний, включаючи вісцеральний біль, що походить від органів травлення [11; 32]. По суті, центральна сенситизація є патологічною формою синаптичної пластичності, що багато в чому нагадує LTP у гіпокампі. Завдяки тому ж каскаду NMDAR → NO відбувається «запам'ятовування» не когнітивної інформації, а «больового сліду» (pain engram).

Патофізіологічні аспекти: «Темний бік» глутамат-NO взаємодії

Якщо в умовах фізіологічної, короточасної активації глутамат-NO каскад є інструментом тонкої синаптичної модуляції, то його надмірна та тривала активація перетворюється на потужний механізм клітинного пошкодження та загибелі. Ця патологічна трансформація, відома як ексайтотоксичність, лежить в основі широкого спектра гострих і хронічних захворювань нервової системи. Дисбаланс у цій системі перетворює оксид азоту з фізіологічного месенджера на цитотоксичний агент.

Ексайтотоксичність та ішемічне пошкодження мозку (інсульт)

Ішемічний інсульт є клінічним прототипом ексайтотоксичного пошкодження. Припинення мозкового кровотоку запускає згубний біохімічний каскад, центральною подією якого є масивне неконтрольоване вивільнення глутамату в позаклітинний простір. Це відбувається через енергетичний колапс (відмову АТФ-залежних іонних насосів, зокрема Na^+/K^+ -АТФази) та реверсію роботи глутаматних транспортерів [9].

Надлишкова концентрація глутамату призводить до тонічної, безперервної активації всіх типів глутаматних рецепторів, але саме гіперактивація NMDAR є найбільш руйнівною. Це спричиняє тривале відкриття їхніх каналів і масивний, неконтрольований приплив Ca^{2+} до нейронів, що запускає внутрішньоклітинні летальні програми. Водночас

цей кальцієвий «оверлоуд» спричиняє надмірну активацію nNOS та гіперпродукцію NO [33]. У цьому контексті NO проявляє свою подвійну природу.

Головний механізм токсичності NO пов'язаний з його взаємодією із супероксид-аніоном (O_2^-), який у великих кількостях генерується дисфункціональними мітохондріями в умовах ішемії. Ця реакція, що протікає з дифузійно-контрольованою швидкістю, утворює пероксинітрит (далі – ONOO^-) – надзвичайно потужний і стабільний оксидант [34]. Пероксинітрит спричиняє незворотне пошкодження клітинних структур через нітрування тирозинових залишків у білках (що порушує їхню функцію), окислення ліпідів мембран і пошкодження ДНК, що в кінцевому підсумку призводить до загибелі нейронів [35].

Водночас існують докази, що NO може мати й захисні властивості. Шляхом S-нітрозилювання деяких білків NO може пригнічувати апоптоз. Наприклад, S-нітрозилювання каспаз (ключових ферментів апоптозу) інгібує їхню протеолітичну активність. Також S-нітрозилювання гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (GAPDH) запобігає її транслокації в ядро, де вона може ініціювати загибель клітини [36].

Для повного розуміння патогенезу інсульту критично важливо диференціювати часовий і клітинний внесок трьох різних ізоформ NOS [37]. 1) nNOS (нейрональна), як обговорювалося, активується миттєво через гіперактивацію NMDAR і сприяє ранньому ексайтотоксичному пошкодженню в ядрі інфаркту; 2) eNOS (ендотеліальна), навпаки, у ранній фазі часто відіграє захисну роль, оскільки її продукт (NO) підтримує мікроциркуляцію та вазодилатацію в зоні «напівтіні» (пенумбри), намагаючись зберегти тканину; 3) iNOS (індуцибельна), яка відсутня у здоровому мозку, потужно індукується через години та дні після інсульту в активованій мікроглії та астроцитах. Саме вона генерує масивні, неконтрольовані потоки NO у відстроченій фазі, значно посилюючи нейрозапалення та утворення пероксинітриту.

Кінцевий результат – виживання чи загибель нейрона – залежить від тонкого балансу між цими про- і антиапоптотичними шляхами, концентрації NO, наявності супероксиду та загального метаболічного стану клітини.

Нейродегенеративні захворювання

На відміну від гострої ексайтотоксичності за наявності інсульту, у разі хронічних

нейродегенеративних захворювань, як-от хвороби Альцгеймера (далі – ХА), Паркінсона (далі – ХП) і бічний аміотрофічний склероз (далі – БАС), реалізується механізм «повільної ексайтотоксичності» [10]. Уважається, що тривалий, хронічний дисбаланс у глутаматергічній системі, можливо, навіть на субклінічному рівні, призводить до поступового пошкодження та загибелі вразливих популяцій нейронів. За наявності ХА, наприклад, патологічні олігомери бета-амілоїду можуть вбудовуватися в мембрани та порушувати функцію глутаматних транспортерів глії, що призводить до підвищення фонові концентрації глутамату та гіперактивності NMDAR [38]. Це, у свою чергу, веде до хронічної гіперпродукції NO, утворення пероксинітриду й нітрозативного стресу, що є однією із ключових ланок у патогенезі захворювання. Пошкодження виходить за рамки простої ONOO⁻-токсичності. Накопчується все більше доказів того, що патологічне S-нітрозилювання (пряма модифікація білків NO-групою) є самостійним механізмом дисфункції. Наприклад, у патогенезі хвороби Паркінсона S-нітрозилювання ферменту «Parkin» порушує його здатність видаляти пошкоджені мітохондрії (процес мітофагії), що сприяє загибелі дофамінергічних нейронів [39]. Схожі механізми, пов'язані з мітохондріальною дисфункцією та оксидативним стресом, що підвищують вразливість нейронів до глутамату, обговорюються і для ХП та БАС [40].

Хронічний біль та центральна сенситизація

Як було зазначено, глутамат-NO каскад є ключовим у розвитку центральної сенситизації – нейропластичного процесу в дорзальних рогах спинного мозку, що лежить в основі хронічного болю [32]. Тривала або інтенсивна стимуляція периферичних ноцицепторів (наприклад, у разі запалення або пошкодження тканин) спричиняє стійке вивільнення глутамату із центральних терміналей аферентних волокон. Це призводить до активації NMDAR на спінальних нейронах другого порядку, синтезу NO і активації цГМФ/PKG шляху. Результатом є фосфорилювання та підвищення активності як AMPA-, так і NMDA-рецепторів, що робить нейрон гіперзбудливим. Клінічно це проявляється як гіпералгезія (надмірний біль на больовий стимул) і алодинія (біль у відповідь на неболючий стимул, як-от дотик) [11]. Інгібітори NOS у тваринних моделях ефективно запобігають розвитку та зменшують прояви

нейропатичного та запального болю, підтверджуючи центральну роль NO в цих процесах.

Роль індукцибельної NOS (iNOS) за наявності нейрозапалення

Важливо розрізняти конститутивні ізоформи NOS (nNOS та eNOS), які виробляють невеликі, «сигнальні» кількості NO у відповідь на короткочасне підвищення Ca²⁺, та індукцибельну NOS (iNOS або NOS-2) [41]. Експресія iNOS відсутня у здорових тканинах, але потужно індукується у гліальних клітинах (мікроглії, астроцитах) та інфільтруючих макрофагах у відповідь на прозапальні стимули, як-от бактеріальний ліпополісахарид (далі – LPS) та цитокіни (TNF- α , IL-1 β) [42]. На відміну від nNOS, iNOS є кальцій-незалежною і після синтезу виробляє великі, мікромольні концентрації NO протягом тривалого часу. Цей «нітрозативний вибух» є частиною захисної імунної відповіді, але в умовах хронічного нейрозапалення стає потужним фактором пошкодження. Високі концентрації NO, що продукуються iNOS, легко взаємодіють із супероксидом, генеруючи величезну кількість пероксинітриду та сприяючи масивному оксидативному та нітрозативному стресу, що посилює загибель нейронів [43].

Патологічні прояви у шлунково-кишковому тракті

Хоча більшість досліджень ексайтотоксичності сфокусована на ЦНС, аналогічні руйнівні процеси відбуваються і в ентєральній нервовій системі (ЕНС), де гіперактивація глутамат-NO шляху сприяє патогенезу низки гастроентерологічних захворювань.

Ентєральна нейропатія за наявності запальних захворювань кишечника (далі – ЗЗК). В умовах хронічного запалення в разі хвороби Крона та виразкового коліту прозапальні цитокіни, що масивно продукуються у стінці кишки, спричиняють подвійний удар по глутаматному гомеостазу. По-перше, вони знижують експресію глутаматних транспортерів на ентєральних гліальних клітинах, порушують кліренс глутамату. По-друге, вони індукують експресію iNOS в імунних клітинах і глії [42]. Це створює «ідеальний шторм»: накопичення глутамату спричиняє ексайтотоксичність через NMDAR, а паралельна гіперпродукція NO з iNOS веде до масивного утворення пероксинітриду. Результатом є загибель ентєральних нейронів, що призводить до стійких порушень моторики (наприклад, формування стриктур або дилатації) та секреції, які зберігаються навіть у стадії ремісії [44].

Пошкодження епітеліального бар'єра.

Надлишок NO та пероксинітриту має пряму токсичну дію не тільки на нейрони, але й на епітеліоцити. Вони можуть порушувати функціонування білків щільних контактів (tight junctions), як-от оклюдин і клаудини, що призводить до підвищення кишкової проникності («синдром дірявого кишечника»). Це полегшує транслокацію бактеріальних компонентів із просвіту кишки у кровотік, що ще більше підсилює імунну відповідь та запалення, замикаючи порочне коло [45; 46].

Вісцеральна гіперчутливість за наявності функціональних розладів. Як було зазначено, глутамат-NO каскад є основою центральної сенситизації при болю. У контексті синдрому подразненого кишечника (далі – СПК) та функціональної диспепсії, де часто присутнє мікрозапалення, навіть незначна, але хронічна гіперактивація цього шляху на рівні спинного мозку може призвести до формування стійкої вісцеральної гіперчутливості. Це пояснює, чому фізіологічні стимули, як-от нормальна перистальтика або розтягнення кишки газами, сприймаються пацієнтами як виражений біль [11; 32].

Отже, у шлунково-кишковому тракті дисрегуляція глутамат-NO сигналізації сприяє пошкодженню нервового апарату, порушенню бар'єрної функції та хронізації болю, що робить її важливою терапевтичною мішенню в гастроентерології.

Терапевтичні перспективи та майбутні напрями

Глибоке розуміння подвійної ролі глутамат-NO каскаду у фізіології та патології неминує ставити питання про можливість його фармакологічної модуляції з терапевтичною метою. Ідея про те, що пригнічення ексайтотоксичності може бути ефективною стратегією за наявності інсульту, нейродегенерації та хронічного болю, домінувала в нейрофармакології протягом десятиліть. Однак клінічний шлях виявився значно складнішим, ніж передбачалося, що змусило переглянути початкові підходи та шукати більш тонкі та селективні методи втручання.

Модуляція NMDA-рецепторів

NMDA-рецептор, як центральна ланка каскаду, був першою і найбільш очевидною мішенню. Проте історія розроблення антагоністів NMDAR є повчальною ілюстрацією складнощів та ризиків втручання у фундаментальні сигнальні системи.

Перше покоління антагоністів NMDAR, як-от фенциклідин (далі – PCP), кетамін і дизоцилпін (МК-801), були неконкурентними

блокаторами іонного каналу. Хоча вони демонстрували потужну нейропротекторну дію в доклінічних моделях ішемії, їх клінічне застосування виявилось неможливим через вузьке терапевтичне вікно та неприйнятний профіль побічних ефектів. Тотальна блокада NMDAR, необхідних для нормальної синаптичної передачі, призводила до серйозних психотоміметичних реакцій (галюцинацій, психозу), когнітивних порушень та порушення рухової координації [47]. Це продемонструвало, що стратегія «вимкнення» рецептора є занадто грубою.

Сучасні зусилля спрямовані на більш витончені підходи:

Антагоністи гліцинового сайту. Модуляція ко-агоністичного сайту GluN1 (гліцинового сайту) дозволяє тонше «налаштовувати» активність рецептора, а не повністю її блокувати. Препарати, що діють на цей сайт, мають потенційно кращий профіль безпеки [48].

Селективні антагоністи субодинаць. Ключовим відкриттям стало те, що провиживальні (синаптичні) та просмертельні (екстрасинаптичні) сигнали часто опосередковуються різними субодинацями GluN2. Уважається, що синаптичні NMDAR, що містять переважно субодинацю GluN2A, активують нейропротекторні шляхи (наприклад, Akt\CREB), тоді як екстрасинаптичні NMDAR, збагачені субодинацею GluN2B, запускають каскади клітинної загибелі [5]. Ключове механістичне пояснення цієї різниці, що поєднує всі ланки нашого огляду, лежить у їхньому різному білковому оточенні. Саме екстрасинаптичні GluN2B-вмісні рецептори (на відміну від синаптичних GluN2A) фізично «пришвартовані» до nNOS через білок-каркас PSD-95 [18]. Таким чином, їхня активація в разі патології (наприклад, витік глутамату внаслідок ішемії) призводить до прицільного, потужного та локального синтезу NO, запускає летальний каскад ONOO- саме там, де це найбільш руйнівні. Це відкрило шлях для розроблення селективних антагоністів GluN2B (наприклад, іфенпродил), які могли б блокувати патологічну сигналізацію та водночас зберігати фізіологічну функцію синаптичних рецепторів [49].

Низькоафінні блокатори каналу. Препарати, що мають низьку спорідненість щодо іонного каналу (наприклад, мемантин, схвалений для лікування хвороби Альцгеймера), діють як «розумні» блокатори. Вони блокують канал лише під час патологічної, тонічної активації слабкими концентраціями глутамату, але легко «вибиваються» з каналу

під час фізіологічної, фазної передачі, тим самим мінімально впливають на нормальну синаптичну функцію [50].

Інгібітори синтази оксиду азоту (NOS)

Альтернативною стратегією є вплив на наступну ланку каскаду – синтез NO. Однак і тут постає проблема селективності. В організмі існують три основні ізоформи NOS, що виконують різні функції: nNOS (нейрональна), eNOS (ендотеліальна) та iNOS (індуцибельна). eNOS відіграє критично важливу роль у підтримці тону судин і перфузії тканин, її пригнічення є небажаним, оскільки може погіршити кровопостачання, особливо в ішемізованих ділянках [46; 51]. Тому розроблення селективних інгібіторів nNOS та/або iNOS є пріоритетом.

Селективні інгібітори nNOS. Були розроблені сполуки, що вибірково інгібують nNOS (наприклад, 7-нітроіндазол). У доклінічних моделях вони демонструють нейропротекторний ефект за наявності інсульту, зменшують прояви нейропатичного болю, маючи водночас менший вплив на артеріальний тиск порівняно з неселективними інгібіторами [52].

Селективні інгібітори iNOS. З огляду на руйнівну роль iNOS за наявності нейрозапалення її селективна блокада є привабливою стратегією для лікування сепсису, ЗЗК та, можливо, нейродегенеративних захворювань. Препарати цієї групи активно розробляються та проходять дослідження [52].

Майбутні дослідження та новітні стратегії

Майбутнє фармакології глутамат-NO шляху, імовірно, лежить у ще більш цілеспрямованих підходах, спрямованих не на блокування ферментів чи рецепторів, а на модуляцію білок-білкових взаємодій або специфічних downstream-ефектів.

Руйнування зв'язку PSD-95/nNOS. Оскільки патологічна активація nNOS залежить від її фізичного зв'язку з NMDAR через PSD-95, розрив цього зв'язку може селективно запобігти ексайтотоксичності, без впливу на інші функції nNOS у клітині. Короткі пептиди, що імітують сайт зв'язування (наприклад, ZL006), показали вражаючу нейропротекторну ефективність у доклінічних моделях інсульту без побічних ефектів, властивих антагоністам NMDAR [53]. Цей напрям є одним з найперспективніших у сучасній нейрофармакології.

Модуляція S-нітрозилювання. Замість того щоб блокувати синтез NO, можна спробувати керувати його дією. Розроблення

сполук, які могли б селективно посилювати нейропротекторне S-нітрозилювання (наприклад, каспаз) або, навпаки, блокувати патологічне S-нітрозилювання, є складним, але потенційно дуже ефективним підходом.

«Пастки» для пероксинітриту. З огляду на те, що головним токсичним агентом є пероксинітрит, розроблення сполук, які могли б ефективно його нейтралізувати (peroxynitrite scavengers), є ще однією важливою стратегією для обмеження пошкодження тканин унаслідок ішемії та запалення [34].

Отже, хоча шлях до клінічного застосування модуляторів глутамат-NO каскаду виявився тернистим, нові знання про молекулярні тонкощі цього шляху відкривають безпрецедентні можливості для розроблення нового покоління високоселективних і безпечних препаратів для лікування найважчих захворювань нервової системи та внутрішніх органів.

ВИСНОВКИ. Проведений комплексний аналіз наукової літератури беззаперечно демонструє, що функціональний зв'язок між системою збуджувальних амінокислот (глутамату й аспартату) та системою оксиду азоту є одним із фундаментальних і еволюційно консервативних механізмів міжклітинної сигналізації в організмі ссавців. Центальною молекулярною платформою, що інтегрує ці два шляхи, виступає NMDA-рецептор, який функціонує як високоточний біохімічний перетворювач, трансформуючи специфічний синаптичний сигнал у дифузний сигнал газоподібного месенджера.

Нами було показано, що каскад NMDA-рецептор $\rightarrow \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{nNOS} \rightarrow \text{NO}$ є класичним прикладом біологічної подвійності. У фізіологічних умовах він є незамінним для таких процесів, як синаптична пластичність (LTP), що лежить в основі навчання та пам'яті, та нейроваскулярне спряження, яке забезпечує адекватне кровопостачання активних ділянок мозку. На периферичному рівні, зокрема в органах травлення, цей шлях бере участь у регуляції моторики та передачі сенсорних сигналів.

Водночас гіперактивація цього каскаду є потужним патогенетичним механізмом, що лежить в основі «темного боку» глутаматергічної передачі – ексайтотоксичності. Надлишковий синтез NO, особливо в умовах оксидативного стресу, призводить до утворення високотоксичного пероксинітриту,

що запускає каскади незворотного пошкодження нейронів. Цей механізм є ключовим у патогенезі гострого ішемічного пошкодження мозку, відіграє значну роль у повільній загибелі нейронів унаслідок хронічних нейродегенеративних захворювань та є центральною ланкою у формуванні центральної сенситизації, що підтримує хронічні больові синдроми, вісцеральний біль також.

Історія фармакологічного втручання в цей шлях продемонструвала як його величезний потенціал, так і значні труднощі. Невдачі з неселективними блокаторами NMDAR підкреслили небезпеку грубого втручання у фундаментальні сигнальні системи. Сучасні та майбутні терапевтичні стратегії зміщуються в бік більш тонкої модуляції: від селективного впливу на окремі субодиниці рецепторів та специфічні ізоформи NOS до інноваційних підходів, спрямованих на розрив патологічних білок-білкових взаємодій, як-от зв'язок між NMDAR та nNOS.

Підсумовуючи, взаємодія глутамат-аспартатної системи й оксиду азоту є «двосічним мечем», баланс якого визначає межу між нейропластичністю та нейродегенерацією, між фізіологічною сигналізацією та патологічним пошкодженням. Подальше поглиблене вивчення молекулярних тонкощів цього зв'язку залишається пріоритетним завданням для біохімії, фармакології та

клінічної медицини, оскільки саме тут лежать ключі до розроблення нових, більш ефективних і безпечних методів лікування найважчих захворювань людини.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО ФІНАНСУВАННЯ. Автори заявляють про відсутність фінансування для проведення цього дослідження та написання цієї статті.

ВІДПОВІДНІСТЬ НОРМАМ БІОЕТИКИ. Стаття є оглядом літератури. Оскільки робота не передбачала проведення нових досліджень за участю людей або тварин, отримання висновку комісії з біоетики не було потрібне.

ВНЕСОК КОЖНОГО З АВТОРІВ. Чорномидз А. В.: формулювання ідеї та мети огляду; написання тексту; рецензування та редагування.

Буката В. В.: аналіз літератури; концептуалізація; написання тексту.

Чорномидз І. Б.: пошук, відбір та аналіз джерел; критичний перегляд, редагування, доповнення, фіналізація тексту.

Усі автори прочитали та схвалили фінальну версію рукопису.

ІНФОРМАЦІЯ ЩОДО КОНФЛІКТУ ІНТЕРЕСІВ: конфлікт інтересів відсутній.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Furchgott R. F., Ignarro L. J., Murad F. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1998. *NobelPrize.org*. 1998. URL: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/summary/> (дата звернення: 05.11.2025).
2. Garthwaite J. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *European Journal of Neuroscience*. 2008. Vol. 27. № 11. P. 2783–2802. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2008.06285.x
3. Watkins J. C., Evans R. H. Excitatory amino acid transmitters. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1981. Vol. 21. № 1. P. 165–204. DOI: 10.1146/annurev.pa.21.040181.001121
4. Garthwaite J., Charles S. L., Chess-Williams R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature*. 1988. Vol. 336. № 6197. P. 385–388. DOI: 10.1038/336385a0
5. Hardingham G. E., Bading H. Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neuroscience*. 2010. Vol. 11. № 10. P. 682–696. DOI: 10.1038/nrn2911

6. Attwell D., Buchan A. M., Charpak S. et al. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*. 2010. Vol. 468. № 7321. P. 232–243. DOI: 10.1038/nature09613
7. Stark M. E., Szurszewski J. H. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology*. 1992. Vol. 103. № 6. P. 1928–1949. DOI: 10.1016/0016-5085(92)91454-c
8. Choi D. W. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*. 1988. Vol. 1. № 8. P. 623–634. DOI: 10.1016/0896-6273(88)90162-6
9. Dirnagl U., Iadecola C., Moskowitz M. A. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends in Neurosciences*. 1999. Vol. 22. № 9. P. 391–397. DOI: 10.1016/s0166-2236(99)01401-0
10. Lipton S. A., Rosenberg P. A. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *New England Journal of Medicine*. 1994. Vol. 330. № 9. P. 613–622. DOI: 10.1056/NEJM199403033300907
11. Meller S. T., Gebhart G. F. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain*. 1993. Vol. 52. № 2. P. 127–136. DOI: 10.1016/0304-3959(93)90268-i

12. Paoletti P., Bellone C., Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013. Vol. 14. № 6. P. 383–400. DOI: 10.1038/nrn3504
13. Cull-Candy S., Leszkiewicz D. N. Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses. *Science's STKE*. 2004. Vol. 2004. № 255. P. re16. DOI: 10.1126/stke.2552004re16
14. Johnson J. W., Ascher P. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature*. 1987. Vol. 325. № 6104. P. 529–531. DOI: 10.1038/325529a0
15. MacDermott A. B., Mayer M. L., Westbrook G. L. et al. NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones. *Nature*. 1986. Vol. 321. № 6069. P. 519–522. DOI: 10.1038/321519a0
16. Brecht D. S., Snyder S. H. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1990. Vol. 87. № 2. P. 682–685. DOI: 10.1073/pnas.87.2.682
17. Knowles R. G., Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochemical Journal*. 1994. Vol. 298. № 2. P. 249–258. DOI: 10.1042/bj2980249
18. Brenman J. E., Chao D. S., Gee S. H. et al. Interaction of nitric oxide synthase with the postsynaptic density protein PSD-95 and α 1-syntrophin mediated by PDZ domains. *Cell*. 1996. Vol. 84. № 5. P. 757–767. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81566-0
19. Stuehr D. J. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 1999. Vol. 1411. № 2–3. P. 217–230. DOI: 10.1016/s0005-2728(99)00016-3
20. Förstermann U., Sessa W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*. 2012. Vol. 33. № 7. P. 829–837. DOI: 10.1093/eurheartj/ehs304
21. Schuman E. M., Madison D. V. Nitric oxide and synaptic function. *Annual Review of Neuroscience*. 1994. Vol. 17. № 1. P. 153–183. DOI: 10.1146/annurev.ne.17.030194.001101.
22. Harteneck C., Koesling D., Söling A. et al. Expression of soluble guanylyl cyclase. *FEBS Letters*. 1990. Vol. 272. № 1–2. P. 221–223. DOI: 10.1016/0014-5793(90)81116-i
23. Jaffrey S. R., Erdjument-Bromage H., Ferris C. D. et al. Protein S-nitrosylation: a physiological signal for neuronal nitric oxide. *Nature Cell Biology*. 2001. Vol. 3. № 2. P. 193–197. DOI: 10.1038/35051609
24. Lipton S. A., Choi Y. B., Pan Z. H. et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*. 1993. Vol. 364. № 6438. P. 626–632. DOI: 10.1038/364626a0
25. Nakamura T., Tu S., Lipton S. A. Protein S-nitrosylation as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. *EMBO Molecular Medicine*. 2015. Vol. 7. № 7. P. 876–890. DOI: 10.15252/emmm.201404822
26. Bliss T. V., Collingridge G. L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*. 1993. Vol. 361. № 6407. P. 31–39. DOI: 10.1038/361031a0
27. Bon C., Garthwaite J. On the role of nitric oxide in hippocampal long-term potentiation. *Journal of Neuroscience*. 2003. Vol. 23. № 5. P. 1941–1948. DOI: 10.1523/jneurosci.23-05-01941.2003
28. Ivanova E. A., Maltsev A. V., Giniatullin R. A. Modulation of AMPA Receptors by Nitric Oxide in Nerve Cells. *Biochemistry (Moscow)*. 2020. Vol. 85. Suppl 1. P. S158 – S168. DOI: 10.1134/s0006297920140131
29. O'Dell T. J., Hawkins R. D., Kandel E. R., Arancio O. Evidence that nitric oxide synthase is involved in long-term potentiation. *Science*. 1991. Vol. 254. № 5034. P. 1014–1016. DOI: 10.1126/science.1718012
30. Iadecola C. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2004. Vol. 5. № 5. P. 347–360. DOI: 10.1038/nrn1387
31. Sanders K. M., Ward S. M. Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncholinergic neurotransmission. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1992. Vol. 262. № 3. P. G379 – G392. DOI: 10.1152/ajpgi.1992.262.3.g379
32. Woolf C. J., Salter M. W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science*. 2000. Vol. 288. № 5472. P. 1765–1769. DOI: 10.1126/science.288.5472.1765
33. Szydlowska K., Tymianski M. Calcium, ischemia and excitotoxicity. *Cell Calcium*. 2010. Vol. 47. № 2. P. 122–129. DOI: 10.1016/j.ceca.2010.01.003
34. Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*. 2007. Vol. 87. № 1. P. 315–424. DOI: 10.1152/physrev.00029.2006
35. Radi R. Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. *Journal of Biological Chemistry*. 2004. Vol. 279. № 35. P. 36171–36174. DOI: 10.1074/jbc.R400029200
36. Mattson M. P. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*. 2004. Vol. 430. № 7000. P. 631–639. DOI: 10.1038/nature02621
37. Li Y., Zhang J., Li Y. Roles of Nitric Oxide in Brain Ischemia and Reperfusion. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23. № 8. P. 4243. DOI: 10.3390/ijms23084243
38. Beal M. F. Excitotoxicity and nitric oxide in Parkinson's disease pathogenesis. *Annals of Neurology*. 1998. Vol. 44. № S3. P. S110 – S114. DOI: 10.1002/ana.410440718
39. Chung K. K., Thomas B., Li X. et al. S-nitrosylation of parkin regulates its E3 ubiquitin ligase activity and is neuroprotective. *Science*. 2004. Vol. 304. № 5675. P. 1328–1331. DOI: 10.1126/science.1094049
40. Brown G. C. Nitric oxide and neurodegeneration. *Nitric Oxide*. 2010. Vol. 23. № 3. P. 153–154. DOI: 10.1016/j.niox.2010.05.002
41. Олещук О. М., Чорномидз А. В. Значення системи оксиду азоту у функціонуванні шлунка в нормі та при патології. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18. № 2. С. 84–95.
42. Calabrese V., Mancuso C., Calvani M. et al. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nature Reviews Neuroscience*. 2007. Vol. 8. № 10. P. 766–775. DOI: 10.1038/nrn2214
43. De Giorgio R., Guerrini S., Barbara G. et al. Inflammatory neuropathies of the enteric nervous system.

Gastroenterology. 2007. Vol. 132. № 5. P. 1972–1983. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.02.049

44. Ferrier L., Bйrard F., Deb-Rinker P. Impairment of the intestinal barrier by ethanol involves enteric microflora and mast cell activation in rodents. *The American Journal of Pathology*. 2006. Vol. 168. № 4. P. 1148–1154. DOI: 10.2353/ajpath.2006.050607

45. Lipton S. A. Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: memantine and beyond. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006. Vol. 5. № 2. P. 160–170. DOI: 10.1038/nrd1958

46. Корда М. М., Олещук О. М., Чорномидз А. В. Роль системи оксиду азоту у функціонуванні органів шлунково-кишкового тракту : монографія. Тернопіль : ТНМУ, 2021. 152 с.

47. Kew J. N., Kemp J. A. Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. *Psychopharmacology*. 2005. Vol. 179. № 1. P. 4–29. DOI: 10.1007/s00213-005-2215-z

48. Martel M. A., Wyllie D. J., Hardingham G. E. In developing therapies for neurodegenerative disease, have we forgotten the synapse? *Current Opinion in Pharmacology*. 2009. Vol. 9. № 1. P. 7–14. DOI: 10.1016/j.coph.2008.10.005

49. Parsons C. G., Stuffer A., Danysz W. Memantine: a NMDA receptor antagonist that improves memory by restoration of homeostasis in the glutamatergic system... *Neuropharmacology*. 2007. Vol. 53. № 6. P. 699–723. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2007.07.026

50. Moncada S., Palmer R. M., Higgs E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*. 1991. Vol. 43. № 2. P. 109–142. DOI: 10.1124/pr.43.2.109

51. Moore P. K., Handy R. L. Selective inhibitors of neuronal nitric oxide synthase – is no NOS really good NOS for the nervous system? *Trends in Pharmacological Sciences*. 1997. Vol. 18. № 7. P. 204–211. DOI: 10.1016/s0165-6147(97)01053-7

52. Sharma J. N., Al-Omran A., Parvathy S. S. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*. 2007. Vol. 15. № 6. P. 252–259. DOI: 10.1007/s10787-007-0013-x

53. Aarts M., Liu Y., Liu L. et al. Treatment of ischemic brain damage by perturbing NMDA receptor-PSD-95 protein interactions. *Science*. 2002. Vol. 298. № 5594. P. 846–850. DOI: 10.1126/science.1072873

REFERENCES

1. Furchgott, R. F., Ignarro, L. J., & Murad, F. (1998). *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1998*. Nobel Prize. org. Retrieved from: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/summary/>

2. Garthwaite, J. (2008). Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *European Journal of Neuroscience*, 27 (11), 2783–2802. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06285.x>

3. Watkins, J. C., & Evans, R. H. (1981). Excitatory amino acid transmitters. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 21 (1), 165–204. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.21.040181.001121>

4. Garthwaite, J., Charles, S. L., & Chess-Williams, R. (1988). Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature*, 336 (6197), 385–388. DOI: <https://doi.org/10.1038/336385a0>

5. Hardingham, G. E., & Bading, H. (2010). Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: Implications for neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 11 (10), 682–696. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn2911>

6. Attwell, D., Buchan, A. M., Charpak, S., Lauritzen, M., Macvicar, B. A., & Newman, E. A. (2010). Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*, 468 (7321), 232–243. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature09613>

7. Stark, M. E., & Szurszewski, J. H. (1992). Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology*, 103 (6), 1928–1949. DOI: [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(92\)91454-c](https://doi.org/10.1016/0016-5085(92)91454-c)

8. Choi, D. W. (1988). Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*, 1 (8), 623–634. DOI: [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(88\)90162-6](https://doi.org/10.1016/0896-6273(88)90162-6)

9. Dirnagl, U., Iadecola, C., & Moskowitz, M. A. (1999). Pathobiology of ischaemic stroke: An integrated view. *Trends in Neurosciences*, 22 (9), 391–397. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(99\)01401-0](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(99)01401-0)

10. Lipton, S. A., & Rosenberg, P. A. (1994). Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *New England Journal of Medicine*, 330 (9), 613–622. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJM199403033300907>

11. Meller, S. T., & Gebhart, G. F. (1993). Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain*, 52 (2), 127–136. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(93\)90268-i](https://doi.org/10.1016/0304-3959(93)90268-i)

12. Paoletti, P., Bellone, C., & Zhou, Q. (2013). NMDA receptor subunit diversity: Impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 14 (6), 383–400. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn3504>

13. Cull-Candy, S., & Leszkiewicz, D. N. (2004). Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses. *Science's STKE*, 2004 (255), re16. DOI: <https://doi.org/10.1126/stke.2552004re16>

14. Johnson, J. W., & Ascher, P. (1987). Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature*, 325 (6104), 529–531. DOI: <https://doi.org/10.1038/325529a0>

15. MacDermott, A. B., Mayer, M. L., Westbrook, G. L., Smith, S. J., & Barker, J. L. (1986). NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones. *Nature*, 321 (6069), 519–522. DOI: <https://doi.org/10.1038/321519a0>

16. Bredt, D. S., & Snyder, S. H. (1990). Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme.

- Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87 (2), 682–685. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.87.2.682>
17. Knowles, R. G., & Moncada, S. (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochemical Journal*, 298 (2), 249–258. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj2980249>
 18. Brenman, J. E., Chao, D. S., Gee, S. H., McGee, A. W., Craven, S. E., Santillano, D. R., Wu, Z., Fregien, N., Froehner, S. C., Clerc, R. G., & Brecht, D. S. (1996). Interaction of nitric oxide synthase with the postsynaptic density protein PSD-95 and α 1-syntrophin mediated by PDZ domains. *Cell*, 84 (5), 757–767. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81566-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81566-0)
 19. Stuehr, D. J. (1999). Mammalian nitric oxide synthases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1411 (2–3), 217–230. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(99\)00016-3](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(99)00016-3)
 20. Fürsternann, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: Regulation and function. *European Heart Journal*, 33 (7), 829–837. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs304>
 21. Schuman, E. M., & Madison, D. V. (1994). Nitric oxide and synaptic function. *Annual Review of Neuroscience*, 17 (1), 153–183. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.17.030194.001101>
 22. Harteneck, C., Koesling, D., Süling, A., Schultz, G., & Bühme, E. (1990). Expression of soluble guanylyl cyclase. *FEBS Letters*, 272 (1–2), 221–223. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)81116-i](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)81116-i)
 23. Jaffrey, S. R., Erdjument-Bromage, H., Ferris, C. D., Tempst, P., & Snyder, S. H. (2001). Protein S-nitrosylation: A physiological signal for neuronal nitric oxide. *Nature Cell Biology*, 3 (2), 193–197. DOI: <https://doi.org/10.1038/35051609>
 24. Lipton, S. A., Choi, Y. B., Pan, Z. H., Lei, S. Z., Chen, H. S. V., Sucher, N. J., Loscalzo, J., & Nakanishi, N. (1993). A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*, 364 (6438), 626–632. DOI: <https://doi.org/10.1038/364626a0>
 25. Nakamura, T., Tu, S., & Lipton, S. A. (2015). Protein S-nitrosylation as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. *EMBO Molecular Medicine*, 7 (7), 876–890. DOI: <https://doi.org/10.15252/emmm.201404822>
 26. Bliss, T. V., & Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361 (6407), 31–39. DOI: <https://doi.org/10.1038/361031a0>
 27. Bon, C., & Garthwaite, J. (2003). On the role of nitric oxide in hippocampal long-term potentiation. *Journal of Neuroscience*, 23 (5), 1941–1948. DOI: <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-05-01941.2003>
 28. Ivanova, E. A., Maltsev, A. V., & Giniatullin, R. A. (2020). Modulation of AMPA Receptors by Nitric Oxide in Nerve Cells. *Biochemistry*, 85 (1), S158–S168. DOI: <https://doi.org/10.1134/s0006297920140131>
 29. O'Dell, T. J., Hawkins, R. D., Kandel, E. R., & Arancio, O. (1991). Evidence that nitric oxide synthase is involved in long-term potentiation. *Science*, 254 (5034), 1014–1016. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1718012>
 30. Iadecola, C. (2004). Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 5 (5), 347–360. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn1387>
 31. Sanders, K. M., & Ward, S. M. (1992). Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncholinergic neurotransmission. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 262 (3), G379–G392. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1992.262.3.g379>
 32. Woolf, C. J., & Salter, M. W. (2000). Neuronal plasticity: Increasing the gain in pain. *Science*, 288 (5472), 1765–1769. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.288.5472.1765>
 33. Szydlowska, K., & Tymianski, M. (2010). Calcium, ischemia and excitotoxicity. *Cell Calcium*, 47 (2), 122–129. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2010.01.003>
 34. Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87 (1), 315–424. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2006>
 35. Radi, R. (2004). Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. *Journal of Biological Chemistry*, 279 (35), 36171–36174. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.R400029200>
 36. Mattson, M. P. (2004). Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 430 (7000), 631–639. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature02621>
 37. Li, Y., Zhang, J., & Li, Y. (2022). Roles of nitric oxide in brain ischemia and reperfusion. *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (8), 4243. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23084243>
 38. Beal, M. F. (1998). Excitotoxicity and nitric oxide in Parkinson's disease pathogenesis. *Annals of Neurology*, 44 (S3), S110 – S114. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.410440718>
 39. Chung, K. K., Thomas, B., Li, X., Plettenburg, O., Oh, Y. S., Linden, D. J., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2004). S-nitrosylation of parkin regulates its E3 ubiquitin ligase activity and is neuroprotective. *Science*, 304 (5675), 1328–1329. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1094049>
 40. Brown, G. C. (2010). Nitric oxide and neurodegeneration. *Nitric Oxide*, 23 (3), 153–154. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2010.05.002>
 41. Oleshchuk, O. M., & Chornomydz, A. V. (2016). Znachennia systemy oksydu azotu u funkcionuvanni shlunka v normi ta pry patolohii [The role of the nitric oxide system in the functioning of the stomach in norm and pathology]. *Medychna ta klinichna khimiia*, 18 (2), 84–95.
 42. Calabrese, V., Mancuso, C., Calvani, M., Rizzarelli, E., Butterfield, D. A., & Stella, A. M. G. (2007). Nitric oxide in the central nervous system: Neuroprotection versus neurotoxicity. *Nature Reviews Neuroscience*, 8 (10), 766–775. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn2214>
 43. De Giorgio, R., Guerrini, S., Barbara, G., Stanghellin, V., & Corinaldesi, R. (2007). Inflammatory neuropathies of the enteric nervous system. *Gastroenterology*, 132 (5), 1972–1983. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.02.049>
 44. Ferrier, L., Bérard, F., & Deb-Rinker, P. (2006). Impairment of the intestinal barrier by ethanol involves enteric microflora and mast cell activation in rodents. *The American Journal of Pathology*, 168 (4), 1148–1154. DOI: <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.050607>
 45. Lipton, S. A. (2006). Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: Memantine

and beyond. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5 (2), 160–170. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd1958>

46. Korda, M. M., Oleshchuk, O. M., & Chornomydz, A. V. (2021). *Rol systemy oksydu azotu u funkcionuvanni orhaniv shlunkovo-kyshkovoho traktu* [The role of the nitric oxide system in the functioning of the gastrointestinal tract organs]. TNMU.

47. Kew, J. N., & Kemp, J. A. (2005). Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. *Psychopharmacology*, 179 (1), 4–29. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00213-005-2215-z>

48. Martel, M. A., Wyllie, D. J., & Hardingham, G. E. (2009). In developing therapies for neurodegenerative disease, have we forgotten the synapse? *Current Opinion in Pharmacology*, 9 (1), 7–14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.10.005>

49. Parsons, C. G., Stuffer, A., & Danysz, W. (2007). Memantine: A NMDA receptor antagonist that improves memory by restoration of homeostasis in the glutamatergic system – Too little activation is bad, too much is

even worse. *Neuropharmacology*, 53 (6), 699–723. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.07.026>

50. Moncada, S., Palmer, R. M., & Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 43 (2), 109–142. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.43.2.109>

51. Moore, P. K., & Handy, R. L. (1997). Selective inhibitors of neuronal nitric oxide synthase – Is no NOS really good NOS for the nervous system? *Trends in Pharmacological Sciences*, 18 (7), 204–211. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(97\)01053-7](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(97)01053-7)

52. Sharma, J. N., Al-Omran, A., & Parvathy, S. S. (2007). Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*, 15 (6), 252–259. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10787-007-0013-x>

53. Aarts, M., Liu, Y., Liu, L., Besshoh, S., Arundine, M., Gurd, J. W., Wang, Y. T., Salter, M. W., & Tymianski, M. (2002). Treatment of ischemic brain damage by perturbing NMDA receptor-PSD-95 protein interactions. *Science*, 298 (5594), 846–850. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1072873>

Адреса для листування: chornomydz@tdmu.edu.ua

A. V. Chornomydz, V. V. Bukata, I. B. Chornomydz
IVAN HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

THE INTERPLAY OF GLUTAMATE-ASPARTATE SIGNALING AND THE NITRIC OXIDE SYSTEM: MOLECULAR MECHANISMS, PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS, PATHOLOGICAL CONSEQUENCES, AND THERAPEUTIC INTERVENTIONS

Summary

Introduction. The interaction between the excitatory amino acid (EAA) system (L-glutamate, L-aspartate) and the nitric oxide (NO) system is a fundamental signaling cascade in mammals. It functions as a “double-edged sword”, defining the boundary between physiological adaptation and pathological damage.

The Aim of the Study. To conduct a comprehensive, interdisciplinary analysis and to systematize current data on the molecular mechanisms, physiological and pathological roles, and therapeutic potential of the glutamate-NO signaling pathway.

Results and Discussion. The central integrative event is the activation of the ionotropic NMDA-receptor (NMDAR), which triggers calcium-dependent NO synthesis by neuronal NO synthase (nNOS). Under physiological conditions, this cascade is essential for synaptic plasticity (LTP), neurovascular coupling, and peripheral regulation (e.g., in the GIT). However, its overactivation during ischemia, trauma, and neuroinflammation initiates the mechanism of excitotoxicity. This review provides a detailed analysis of key pathogenetic links: (1) the conversion of NO into the highly toxic peroxynitrite; (2) the role of inducible iNOS in neuroinflammation; (3) the phenomenon of nNOS “uncoupling” due to deficiency of its cofactor BH4; and (4) the critical role of the GluN2B-PSD-95-nNOS supramolecular complex as a “pro-death” signal target. The pathological role of the cascade in stroke, neurodegenerative diseases (Alzheimer’s, Parkinson’s), and the formation of chronic pain is discussed.

Conclusions. The clinical failures of non-selective NMDAR antagonists are analyzed, justifying the shift in therapeutic strategies toward “fine-tuning” modulation. Promising approaches include selective GluN2B subunit antagonists, ONOO- scavengers, nNOS stabilizers, and innovative peptides that disrupt the pathological PSD-95/nNOS interaction. Understanding this cascade remains a priority for developing new treatments for neurological and somatic disorders.

KEY WORDS: Nitric Oxide (NO); Glutamate; NMDA-receptor; Excitotoxicity; neuronal NO synthase (nNOS).

Стаття надійшла до редакції 17.11.2025

Стаття прийнята 10.12.2025

Статтю опубліковано 31.12.2025



ИДЛГ