

УДК 577

Н.С.Репкина (5 курс, каф. БФ), Н.Б.Саульская, д.б.н., в.н.с. (Институт физиологии РАН)

ПРИЖИЗНЕННЫЙ МОНИТОРИНГ L-ЦИТРУЛЛИНА КАК ПОКАЗАТЕЛЯ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Межклеточный мессенджер оксид азота (NO) вовлекается в регуляцию функций сердечно-сосудистой, иммунной и нервной систем. Серьезной методической проблемой при исследовании NO является его короткое время жизни (3-5 сек). NO продуцируется под действием NO-синтазы из L-аргинина с образованием побочного продукта реакции аминокислоты L-цитруллина. Известно, что внутриклеточное и тканевое содержание L-цитруллина в центральной нервной системе (ЦНС) отражает продукцию оксида азота [1].

Цель работы состояла в разработке метода прижизненного мониторинга содержания L-цитруллина в межклеточном пространстве ЦНС и в исследовании механизмов, регулирующих поступление L-цитруллина в межклеточное пространство стриатума. Работа выполнена на крысах линии Спрег-Доули методом прижизненного внутримозгового микродиализа. Для регистрации L-цитруллина мы разработали модификацию ранее использованного нами метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимическим детектированием. Подобраны условия хроматографического разделения целевых аминокислот, позволяющие с высокой селективностью определять содержание L-цитруллина в десятиминутных порциях диализата стриатума, которое составляет $0,10 \pm 0,02$ мкМ/л.

Показано, что введение в латеральный стриатум тетродотоксина (1 мкМ/л, n=6), блокирующего потенциал-управляемые натриевые каналы, не приводит к изменениям уровня цитруллина в межклеточном пространстве этой структуры во время введения препарата, но сопровождается ростом уровня этой аминокислоты после отмены препарата. Локальная калиевая деполяризация нейронов стриатума (K^+ , 70 мкМ/л, n=5) не сказывается на фоновом уровне L-цитруллина в межклеточном пространстве стриатума. Введения в латеральный отдел стриатума субстрата NO-синтазы – L-аргинина (n=12) в концентрации 10^{-4} не приводит к изменению уровня цитруллина в межклеточном пространстве этой структуры во время введения, однако наблюдался рост уровня этой аминокислоты после окончания введения аргинина. Введение L-аргинина в той же концентрации в вентральный отдел стриатума приводит к увеличению уровня цитруллина в межклеточном пространстве данной структуры во время и после введения препарата.

Полученные результаты позволяют предположить, что изменения внеклеточного содержания L-цитруллина в вентральном стриатуме являются показателем продукции оксида азота, а в латеральном стриатуме, видимо, отражают окончание продукции оксида азота. Кроме того, полученные результаты о влиянии калиевой деполяризации и блокады потенциал-управляемых натриевых каналов свидетельствуют, что поступление L-цитруллина из внутриклеточных депо в межклеточное пространство осуществляется не за счет экзоцитоза, а, видимо, с использованием белковых транспортеров.

ЛИТЕРАТУРА:

1. G.P.T. Martinelly, V.L. Friedrich, Jr. & G.R. Holstetn. L-citrulline immunostaining identifies nitric oxide production sites within neurons. // Neuroscience – 2002. – V. 144, N1, pp. 111-122.