

© Н.Г.Наумов, 2016
УДК 611.813.018:612.13:599.323.4

Н.Г.Наумов

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АСТРОЦИТОВ ПРИЛЕЖАЩЕГО ЯДРА ПЕРЕДНЕГО МОЗГА ПОСЛЕ ОГРАНИЧЕНИЯ КРОВОТОКА В БАССЕЙНЕ ОБЕИХ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ У КРЫС

Кафедра гистологии и эмбриологии им. проф. А.Г.Кнорре (зав. — проф. Э.И.Валькович), Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

На крысах ($n=12$) исследованы реактивные изменения астроцитов прилежащего ядра переднего мозга после глобальной ишемии мозга, вызываемой билатеральной окклюзией обеих общих сонных артерий, являющейся моделью, часто используемой для оценки эффективности действия фармакологических средств, обладающих антиишемическими и нейропротекторными свойствами. При данных условиях прилежащее ядро находится в области частичной ишемии. Морфометрическое исследование прилежащего ядра было проведено у трех групп крыс (по 4 особи в каждой): после перевязки обеих общих сонных артерий, после ложной операции и у интактных. На серийных срезах астроциты выявляли, используя реакцию на глиальный фибриллярный кислый белок с докраской гематоксилином. Через 7 сут после операции у каждого животного на площади среза в 7 последовательных квадратах (по 0,01 мм² каждый) подсчитывали количество астроцитов, измеряли расстояние между их телами и стенкой капилляра в пределах окружности радиусом 20 мкм, определяли площадь тел клеток и длину их главных отростков. Установлено, что астроциты прилежащего ядра в модели двусторонней окклюзии общих сонных артерий в течение 7 сут переживают состояние частичной ишемии. Их реактивные изменения проявляются признаками цитотоксического отека, повреждающего белки промежуточных филаментов в телах, отростках и периваскулярных глиальных мембранах. Концентрация тел астроцитов вблизи кровеносных капилляров является адаптационным механизмом и условием выживания клеток при ограничении кровотока в головном мозгу.

Ключевые слова: астроциты, прилежащее ядро, гипоксия, реактивные изменения

Распространенной моделью ишемических повреждений головного мозга является перевязка обеих общих сонных артерий. В этом случае страдают все отделы мозга, но стволовые — в меньшей степени [15]. Кровоснабжение мозга поддерживается за счет двух позвоночных артерий, и животные выживают в течение 2–4 нед, если их не подвергать стрессовым воздействиям [9]. Данная модель глобальной ишемии мозга является удобной для оценки эффективности действия фармакологических средств, обладающих антиишемическими и нейропротекторными свойствами [6, 8, 9, 13], и обычно используется для установления функциональных и биохимических постишемических нарушений. Однако при данных условиях реактивные изменения клеток прилежащего ядра, расположенного в области частичной ишемии, ранее не изучались. Это может быть связано с отсутствием методических приемов, способных установить степень ограничения кровотока при моделировании пролонгированной глобальной ишемии в бассейне различных артериальных сосудов, а также с выбором отделов мозга, подлежащих изучению в данной модели. Для оценки

степени реактивных изменений клеток мозга и их различий в данной модели пролонгированной глобальной ишемии были выбраны области мозга, заведомо находящиеся в полярных условиях кровоснабжения, а именно — глубокие слои передней цингулярной коры, получающие кровь от ветвей передней лобной артерии, наиболее удаленных от действующих позвоночных артерий, и паранигральное ядро, получающее кровь от срединных среднемозговых артерий, являющихся первыми ветвями действующих задних мозговых артерий [15].

Имеются сведения о различиях реактивных изменений астроцитов, обусловленные степенью ишемии. При этом в глубоких слоях передней цингулярной коры изменения астроцитов проявлялись отеком, снижением экспрессии и перегруппировкой белков промежуточных филаментов в телах, отростках клеток их укорочением, уменьшением расстояния между телами астроцитов и стенкой капилляров [4]. Обнаружено, что в паранигральном ядре через 7 сут глобальной ишемии определялись реактивные изменения астроцитов гипертрофического типа [3, 4]. Причины таких значи-

Сведения об авторе:

Наумов Николай Георгиевич (e-mail: nnaumov@gmail.com), кафедра гистологии и эмбриологии им. проф. А.Г.Кнорре, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

тельных различий изменений астроцитов, зависящих от условий гемодинамики, включающих целый комплекс альтеративных и компенсаторно-приспособительных процессов, все же не вполне ясны и требуют их дальнейшего изучения.

Прилежащее ядро находится в области входящих септальных артерий, расположенных ближе к стволам большого артериального (виллизиева) круга, и степень ограничения кровотока в них может оказаться иной (предположительно меньшей), чем в передней цингулярной коре, но большей, чем в структурах среднего мозга. Реактивные изменения клеток прилежащего ядра в данной модели гипоксии ранее не изучались.

Цель данной работы — исследовать структурные, пространственные и количественные изменения астроцитов в прилежащем ядре переднего мозга в условиях ограничения кровотока.

Материал и методы. Опыты выполнены согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ от 2003 г. № 267 на крысах-самцах линии Вистар массой 200–220 г в возрасте 4 мес, полученных из питомника «Рапполово» РАМН (Ленинградская обл.). Исследована наиболее широкая вентромедиальная часть прилежащего ядра переднего мозга между передней спайкой, расположенной у основания стриопаллидарного комплекса и обонятельными ядрами, находящимися вблизи поверхности левого полушария. Астроциты в этой части прилежащего ядра были исследованы у трех групп крыс. 1-ю группу составили 4 интактные крысы (основной контроль). У крыс 2-й экспериментальной группы (4 особи) воспроизводили неполную ишемию переднего мозга. Под кратковременным эфирным наркозом проводили билатеральную окклюзию обеих общих сонных артерий. Крыс фиксировали на станке, препарировали общие сонные артерии и перевязывали их. Рану обрабатывали антисептиком и послойно зашивали. 3-ю группу составили ложнопериоперированные животные, у которых воспроизводили все этапы операции без перевязки сонных артерий (4 особи, 2-й контроль). Экспериментальных и ложнопериоперированных животных декапитировали через 7 сут после операции.

У всех животных головной мозг через 3 мин после декапитации фиксировали в 9% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации и заливали в парафин, изготавливали серийные срезы во фронтальной плоскости толщиной 3 мкм в области основания колена мозолистого тела.

Глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) астроцитов выявляли с использованием мышинных антител, клон GA-5 (Biocare medical, США), разведение 1:250. Вторичные биотинилированные антитела применяли из набора Vectastain ABC (США). После проявления связанных антигенов диаминобензидином срезы докрашивали гематоксилином Карацци.

Визуальную и морфометрическую оценку астроцитов осуществляли в 7 последовательных квадратах площадью 0,01 мм² у каждого животного в группе. Определяли количество астроцитов, расстояние между их телами и стенкой капилляра в пределах окружности радиусом 20 мкм, площадь тел клеток и длину их главных отростков. Морфометрию проводили с помощью программы Imagescore (Электронный анализ, Россия). Среднее арифметическое, среднее квадратическое отклонение и стандартная ошибка среднего арифметического были определены с помощью компьютерной программы EXCEL. О значимости различий судили по величине *t*-критерия Стьюдента и считали их значимыми при *P*<0,05.

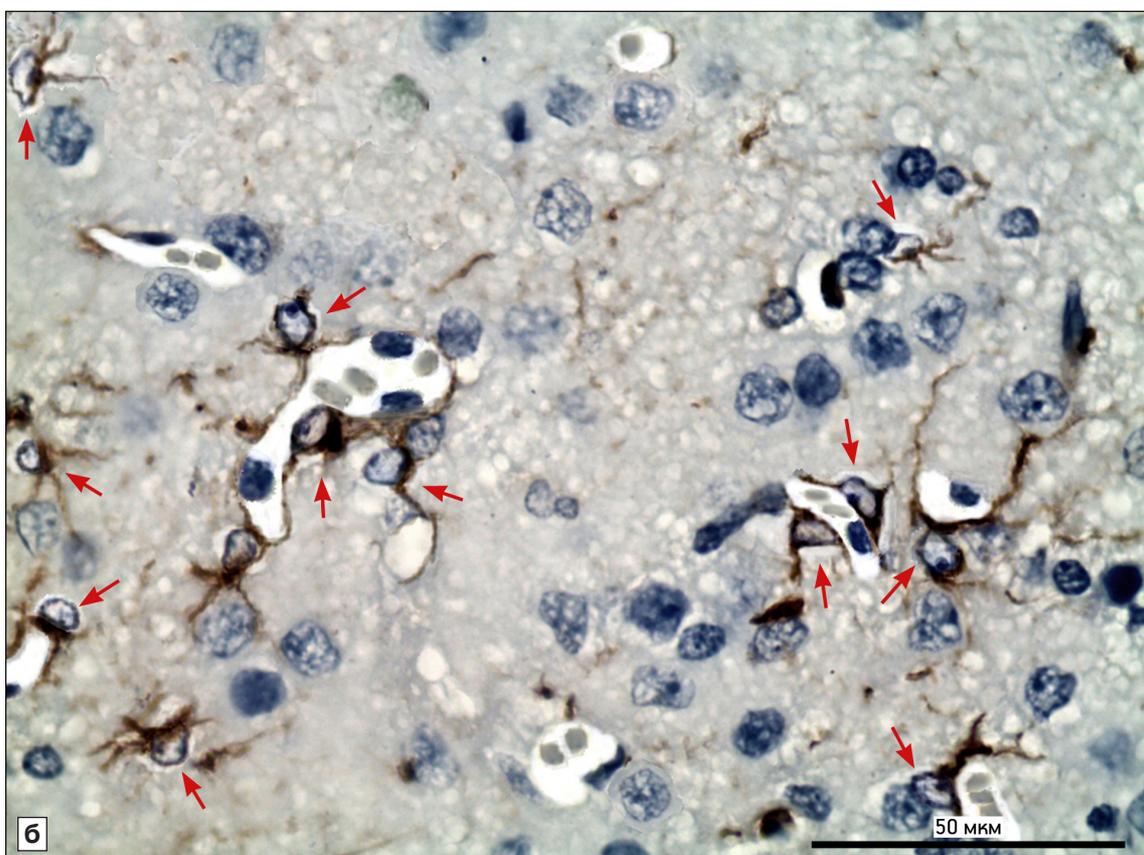
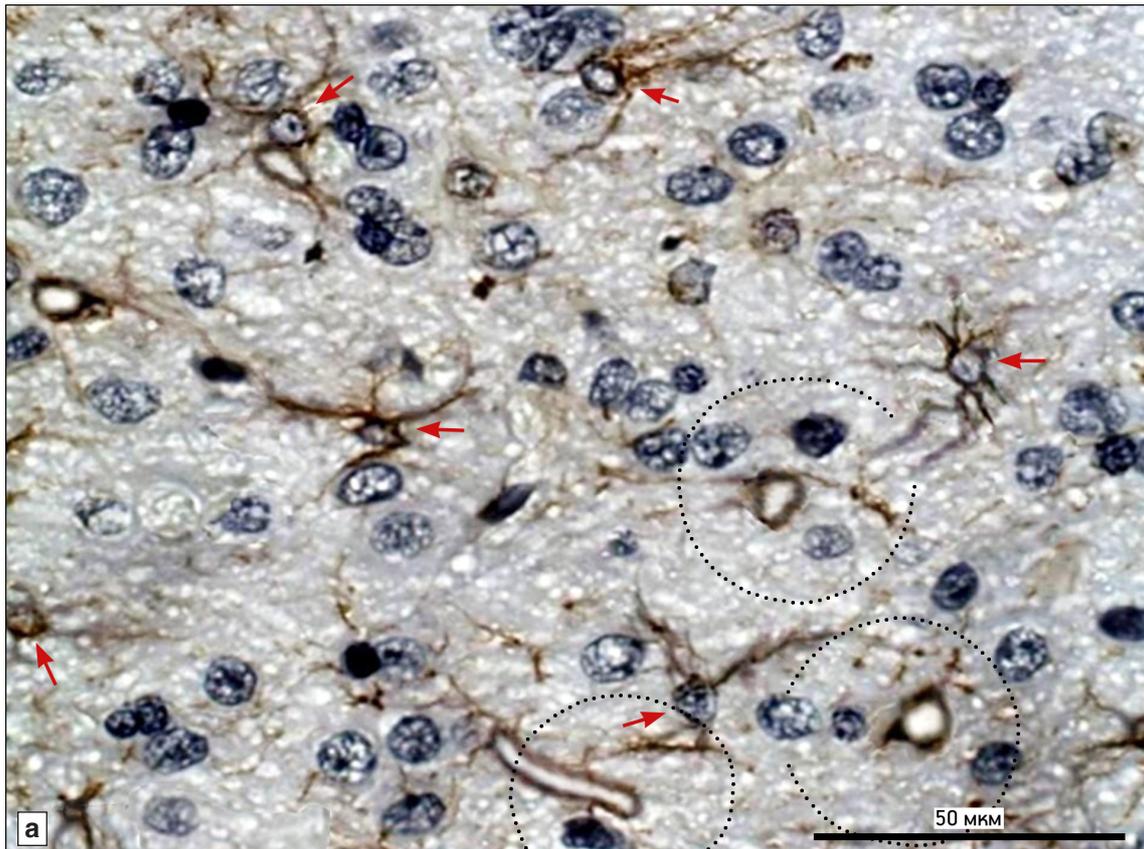
Результаты исследования. Протоплазматические астроциты в прилежащем ядре у интактных крыс имели небольшое тело и длинные главные отростки. Округлое светлое ядро, содержало, преимущественно, эухроматин и крупное ядрышко (реже 2 небольших ядрышка), обычно расположенное слегка эксцентрично и окруженное нуклеоплазмой. Ядро астроцитов было окружено ободком, состоящим из белков промежуточных филаментов, обычно тонким и содержащим равномерно экспрессируемый GFAP (рисунк, а). Тонкие осевые отростки астроцитов в количестве от 3 до 7 также равномерно экспрессировали GFAP. На их протяжении и на конце были видны участки разрыхленного GFAP⁺-материала, часто имевшие вид кисточек. Концевые отделы некоторых отростков достигали периваскулярных глиальных мембран и входили в их состав. В этих мембранах GFAP⁺-структуры образовывали непрерывную густую сеть. Толщина совокупности этих структур во многих участках мембраны визуальна была не меньшей, чем в телах и основаниях главных отростков клеток. Средняя длина главных отростков астроцитов на плоскости в несколько раз превышала длинный диаметр тел клеток, которые располагались на разном расстоянии от капилляров (таблица). Сателлитные

Характеристика астроцитов прилежащего ядра переднего мозга после частичной ишемии ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Группа животных	Количество астроцитов	Расстояние между телом астроцита и стенкой капилляров, мкм	Площадь тел, мкм ²	Длина отростков, мкм
Интактные	3,5±0,3	10,8±1,3	38,3±1,7	14,5±1,5
После ложной операции	3,3±0,3	11,0±1,2	38,0±1,8	13,7±1,6
После ишемии	3,6±0,3	4,1±1,1*	49,3±2,4*	7,0±1,0*

* Различия по сравнению с параметрами у интактных крыс значимы при *P*<0,05.

Примечание. Количество астроцитов в 28 квадратах, каждый из которых 0,01 мм².



Строение и расположение астроцитов в прилежащем ядре у intactных крыс (а) и через 7 сут частичной ишемии (б) мозга. Астроциты — красные стрелки. Центр окружности радиусом 20 мкм, обведенный пунктирной линией, совмещен со стенкой кровеносного капилляра, ближайшей к телу астроцита. Иммуногистохимическая реакция на глиальный фибриллярный кислый белок, докраска гематоксилином

формы глиоцитов, в том числе астроциты, были единичны.

Через 7 сут после ложной операции структурных и топографических различий астроцитов в прилежащем ядре, по сравнению с интактными крысами, не наблюдалось (см. таблицу).

Через 7 сут экспериментальной ишемии в телах астроцитов наблюдались признаки отека (см. рисунок, б). Вокруг ядра, в отличие от астроцитов в группах контроля, определялся светлый однородный ободок цитоплазмы. Площадь тел клеток, по сравнению с таковой у животных контрольных групп, возросла в 1,3 раза ($P < 0,05$). Ядро астроцитов также выглядело просветленным, эухроматин во многих клетках был неразмоченным, ядрышко располагалось вблизи ядерной оболочки. GFAP⁺-материал в телах большинства астроцитов концентрировался в одном из участков цитоплазмы вблизи поверхности ядра. Основания главных отростков многих астроцитов были утолщены и также представляли собой область концентрации GFAP. В остальной части главных и других отростков астроцитов GFAP⁺-материал выглядел более истонченным, чем в группах контроля; участки его разрыхленного расположения отсутствовали. Длина главных отростков астроцитов, в сравнении с таковой в обеих группах контроля, значительно сократилась ($P < 0,05$). В периваскулярных глиальных мембранах GFAP⁺-структуры выглядели более тонкими, чем в контроле, и в ряде участков отсутствовали.

Большинство тел астроцитов располагались периваскулярно и являлись клетками-сателлитами. Расстояние между телами астроцитов и стенкой капилляра сократилось в 2,6–2,7 раза ($P < 0,05$). Количество астроцитов после ишемии значительно не изменилось.

Обсуждение полученных данных. Полученные данные о строении астроцитов и особенностях расположения их тел относительно стенки сосудов в прилежащем ядре у молодых интактных крыс не отличались от аналогичных характеристик этих клеток в паранигральном ядре среднего мозга и глубоких слоях передней цингулярной коры у здоровых животных этого же возраста [3, 4]. Протоплазматические астроциты содержали GFAP⁺-структуры, формировавшие густую протяженную сеть в телах, главных отростках и непрерывных периваскулярных мембранах. Единичные астроциты являлись спутниками стенки сосудов и тел нейронов.

Ишемия мозга, развивающаяся после перевязки обеих общих сонных артерий, является глобальной, но ее признаки убывают в направлении от переднего мозга к среднему. Клетки прилежа-

щего ядра расположены в центре частичной ишемии, как и клетки передней цингулярной коры. В этом убеждают как данные анатомии артериального русла головного мозга крыс, так и сопоставление установленных реактивных изменений астроцитов прилежащего ядра с изменениями этих клеток в глубоких слоях передней цингулярной коры, находящихся в условиях аналогичного эксперимента [3, 4]. Восходящие септальные артерии, кровоснабжающие прилежащее ядро и передние лобные артерии, кровоснабжающие переднюю цингулярную кору, выключенные перевязкой общих сонных артерий, могут получать ограниченный объем крови только через сосуды большого артериального круга из действующих позвоночных артерий [15].

Реактивные изменения астроцитов в прилежащем ядре и глубоких слоях передней цингулярной коры в условиях аналогичного эксперимента принципиально не различались: клетки находились в состоянии цитотоксического отека [3, 4], признаки которого у нейронов и глиоцитов наблюдались также через 6–7 сут в полосатом теле после окклюзии основания средней мозговой артерии [12]. Авторы полагают, что эти изменения происходят в зоне, прилегающей к центру инфаркта мозга (супраоптическая область в их модели), так называемой области ишемической «полутени» (зона пенумбры), т. е. области частичной ишемии. Грубые нарушения экспрессии GFAP в телах, отростках астроцитов и периваскулярных глиальных мембранах, установленные при использовании нами модели ишемии как в прилежащем ядре, так и в передней цингулярной коре [3, 4], свидетельствуют о том, что данные клетки находятся именно в центре частичной ишемии.

Вовлечение в реактивные изменения клеток паранигрального ядра среднего мозга, проявляющееся острым набуханием нейронов и изменением астроцитов гипертрофического типа [3, 4], может означать, что кровоток в срединных среднемозговых артериях (ветвях, действующих задних мозговых артерий) все же нарушен, вероятно, в меньшей степени, чем в ветвях передней мозговой артерии (возможно, вследствие турбулентности кровотока). Именно этими наименее измененными условиями гемодинамики можно объяснить гипертрофические изменения астроцитов, коррелирующие с данными о накоплении гликогена и увеличении продукции промежуточных филаментов этих клеток [14], соответствующих началу формирования астроцитарного компонента капсулы по периферии зоны инфаркта [10].

Концентрация тел астроцитов вблизи стенки кровеносных капилляров может быть обусловле-

на их перемещением в течение 1-х суток ишемии за счет густой сети микрофиламентов, распределенных вблизи плазмолеммы их тел и отростков [2, 16]. Смещению тел астроцитов может препятствовать именно GFAP, который в фокусе ишемии или вблизи нее фрагментируется и растворяется в течение нескольких часов [12]. Подобные дегенеративные изменения скелета астроцитов прилежащего ядра и в модели ишемии, использованной в данной работе, могли произойти прежде, чем GFAP стал частично восстановленным. Для уточнения механизмов процесса смещения клеток макроглии в мозгу у взрослых особей, уже ставшего очевидным в отношении олигодендроцитов [1, 5], но малоизвестного в отношении астроцитов [3, 4], требуются дальнейшие специальные исследования с большим количеством промежуточных сроков эксперимента.

Увеличение числа периваскулярных астроцитов, олигодендроцитов и нейронов [3, 4] может иметь компенсаторно-приспособительное значение для всех клеток этого комплекса и нейронов в особенности, поскольку принято считать, что увеличение числа клеток-сателлитов способствует передаче телам нейронов РНК, аминокислот [1, 7] и факторов роста [11].

Таким образом, астроциты прилежащего ядра в модели двусторонней окклюзии общих сонных артерий в течение 7 сут переживают фокальную частичную ишемию. Их реактивные изменения принципиально не отличаются от изменений астроцитов передней цингулярной коры, находящихся в аналогичных условиях, и проявляются признаками цитотоксического отека, повреждающего белки промежуточных филаментов в телах, отростках и периваскулярных глиальных мембранах. Концентрация астроцитов вблизи кровеносных капилляров составляет адаптационный механизм и является условием выживания клеток при ограничении кровотока в головном мозгу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богомолов Д.В., Пиголкин Ю.И., Должанский О.В. Морфометрическое исследование нейроглиальных комплексов головного мозга при судебно-медицинской диагностике наркоманий // Суд.-мед. экспертиза. 2001. Т. 44, № 4. С. 18–19.
2. Васильев Ю.Г., Берестов Д.С. Гомеостаз и пластичность мозга. Ижевск: изд. Ижевск. ГСХА, 2011.
3. Дробленков А.В., Монида М.В., Валькович Э.И. Ранние реактивные изменения астроцитов паранигрального ядра среднего мозга после переднемозговой ишемии и воздействия церебропротектора ропрена у крыс // Морфология. 2014. Т. 145, вып. 1. С. 24–27.
4. Дробленков А.В., Наумов Н.Г., Монида М.В. и др. Реакция клеточных элементов головного мозга крыс на циркуляторную гипоксию // Мед. акад. журн. 2013. Т. 13, № 3. С. 19–28.
5. Дробленков А.В., Шабанов П.Д. Дофаминергические механизмы алкогольной зависимости. СПб.: Art-Xpress, 2014.
6. Марышева В.В., Михеев В.В., Шабанов П.Д. Влияние амтизола на устойчивость мышей линии SHR к острой гипоксии с гиперкапнией в условиях изолированного функционирования одного из полушарий головного мозга // Бюл. экспер. биол. 2012. Т. 154, № 10. С. 447–451.
7. Певзнер Л.З. Функциональная биохимия нейроглии. Л.: Наука, 1972.
8. Пошивалов В.П. Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах. М., 1978. Деп. в ВИНТИ, № 3164–3178.
9. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Soultanov V.S. К механизму действия полипренолов при ишемии головного мозга // Мед. акад. журн. 2011. Т. 11, № 2. С. 24–31.
10. Clark R.K., Lee E.V., Fish C.J. et al. Development of tissue damage, inflammation and resolution following stroke: an immunohistochemical and quantitative planimetric study // Brain Res. Bull. 1993. Vol. 31, № 5. P. 565–572.
11. Dai X., Larcher L.D., Clinton P.V. et al. The trophic role of oligodendrocytes in the basal forebrain // J. Neurosci. 2003. Vol. 23, № 13. P. 5846–5853.
12. Garcia J.H., Yoshida Y., Chen H. et al. Progression from ischemic injury to infarct following middle cerebral artery occlusion in the rat // Am. J. Pathol. 1993. Vol. 142, № 2. P. 623–635.
13. Ginsberg M.D., Busto R. Rodent models of cerebral ischemia // Stroke. 1989. Vol. 20. P. 1627–1642.
14. Kajihara H., Tsutsumi E., Kinoshita A. et al. Activated astrocytes with glycogen accumulation in ischemic penumbra during the early stage of brain infarction: immunohistochemical and electron microscopic studies // Brain Res. 2001. Vol. 909, № 3. P. 92–101.
15. Paxinos G. The rat nervous system. 3-d ed. Amsterdam: Elsevier Acad. Press, 2004. P. 1176–1780.
16. Racchetti G., D'Alessandro R., Meldolesi J. Astrocyte stellation, a process dependent on Rac1 is sustained by the regulated exocytosis of enlargeosomes // Glia. 2012. Vol. 60, issue 3. P. 465–475.

Поступила в редакцию 18.06.2015

REACTIVE CHANGES IN THE ASTROCYTES OF FOREBRAIN NUCLEUS ACCUMBENS AFTER RESTRICTION OF BLOOD FLOW IN THE BASIN OF BOTH COMMON CAROTID ARTERIES IN RATS

N. G. Naumov

Reactive changes of astrocytes were studied in forebrain nucleus accumbens in rats ($n = 12$) after global cerebral ischemia induced by bilateral occlusion of both common carotid arteries, which is a frequently used model to assess the effectiveness of pharmacological agents that have anti-ischemic and neuroprotective properties. Under these conditions, the nucleus accumbens was in the area of partial ischemia. Morphometric study of nucleus accumbens was performed in three groups of rats (4 animals in each group) after ligation of both common carotid arteries, after a sham operation and in healthy animals. Astrocytes were demonstrated in serial sections using the reaction to glial fibrillary acidic protein counterstained with hematoxylin. 7 days after the surgery, in each animal the number of astrocytes was counted in the sections in 7 successive squares of $0,01 \text{ mm}^2$

each, the distance between their bodies and the capillary wall was measured within the circle of 20 μm radius, the cell body area and the length of their main processes were determined. It is found that astrocytes in the nucleus accumbens in the model of bilateral occlusion of the common carotid arteries for 7 days experienced a partial state of ischemia. Their reactive changes were manifested by the signs of the cytotoxic edema, damaging intermediate filament proteins in their bodies, processes

and in the perivascular glial membranes. The concentration of the astrocyte cell bodies near blood capillaries is the adaptation mechanism and is a condition for the survival of cells under the restriction of blood flow in the brain.

Key words: *astrocytes, the nucleus accumbens, hypoxia, reactive changes*

A.G.Knorre Department of Histology and Embryology. St. Petersburg State Pediatric Medical University

© В. М. Черток, Е. П. Коцюба, 2016
УДК 591.88:612.26:595.384.2

В. М. Черток¹, Е. П. Коцюба²

ЛОКАЛИЗАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ КИСЛОРОДЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ФАКТОРА, ИНДУЦИРОВАННОГО ГИПОКСИЕЙ 1 α В МОЗГУ МОХНАТОРУКОГО КРАБА *ERIOCHEIR JAPONICA* В НОРМЕ И ПРИ ОСТРОЙ АНОКСИИ (ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

¹ Кафедра анатомии человека (зав. — проф. В. М. Черток), Тихоокеанский государственный медицинский университет;

² лаборатория цитофизиологии (зав. — канд. биол. наук М. В. Ващенко), Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток

Методами вестерн-иммуоблоттинга и иммуногистохимии изучена экспрессия фактора, индуцированного гипоксией 1 α (HIF-1 α), в мозгу мохнаторукого краба *Eriocheir japonica* в норме и при 2-, 4-, 6- и 12-часовой аноксии на модели депривации воды. У интактных крабов количество иммунопозитивных нейронов небольшое, но возрастает при увеличении продолжительности аноксии. Особенно выраженный прирост доли нейронов с экспрессией HIF-1 α установлен в клеточной группе 6. В группе 9/11 наиболее высокие значения показателя наблюдаются между 2–6 ч аноксии. В группе 17 значимые изменения доли иммунопозитивных клеток отмечены только через 2 ч аноксии. После 6-часовой аноксии доля нейронов с экспрессией HIF-1 α во всех клеточных группах сокращается, но реакция появляется в гемоцитах. Предполагается, что увеличение доли иммунопозитивных нейронов и появление экспрессии HIF-1 α в гемоцитах мозга при аноксии играет важную роль в обеспечении компенсаторных и защитных процессов, повышающих адаптивные возможности мохнаторукого краба в условиях гипоксического стресса.

Ключевые слова: *центральная нервная система, мохнаторукий краб, фактор, индуцированный гипоксией 1 α , аноксия*

В регуляции кислородного гомеостаза важная роль принадлежит семейству высококонсервативных транскрипционных факторов — факторов, индуцируемых гипоксией (HIF). Ключевую роль в этом процессе, как теперь установлено, играет кислородчувствительный транскрипционный фактор HIF-1 α [11, 17, 19]. Имеются доказательства, что HIF-1 α у млекопитающих участвует в

механизмах нейропротекции при гипоксии/ишемии и оксидативном стрессе [4, 11, 15]. Недавние исследования показали, что гипоксия стимулирует экспрессию HIF-1 α и в ряде органов беспозвоночных [7, 8, 12]. В ЦНС беспозвоночных подобные исследования проводились только биохимическими методами, не позволяющими судить о распределении таких клеток в отдельных струк-

Сведения об авторах:

Черток Виктор Михайлович (e-mail: chertokv@mail.ru), кафедра анатомии человека, Тихоокеанский государственный медицинский университет, 690990, г. Владивосток, пр. Острякова, 2

Коцюба Александр Евгеньевич (e-mail: akotc@mail.ru), лаборатория цитофизиологии, Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17