

В.М. Черток<sup>1</sup>, А.Е. Коцюба<sup>1</sup>, Е.П. Коцюба<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России

<sup>2</sup> Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток

## Гемоксигеназа-2 в нейронах головного и спинного мозга человека

*Исследовали иммунолокализацию гемоксигеназы-2 в нейронах некоторых ядер спинного и ствола головного мозга у 6 мужчин 18–44 лет, умерших в результате причин, не связанных с повреждением центральной нервной системы. Нейроны с позитивной реакцией определяются во всех исследованных отделах мозга, где их содержание в различных ядрах варьирует от 0,5 до 16% от общего числа клеток, обнаруженных посредством окраски метиленовым синим. Во всех чувствительных ядрах велика доля мелких нейронов с высокой или умеренной плотностью отложения продукта реакции. Крупные клетки двигательных ядер чаще демонстрируют отрицательную или низкую интенсивность ферментативной реакции.*

**Ключевые слова:** монооксид углерода, гемоксигеназа-2, ствол мозга, спинной мозг.

### Введение

36

Несмотря на то, что известные газотрансмиттеры (оксид азота, сероводород и монооксид углерода) являются высокотоксичными веществами, они продуцируются практически во всех органах, что указывает на высокую значимость газообразных молекул в жизнедеятельности организма [1, 2]. Наименее изученным из этого класса газообразных регуляторов по разным причинам оказался монооксид углерода (СО), функциональные свойства и механизмы действия которого до сих пор вызывают противоречивые оценки [1, 3]. Несколько лет назад появились сообщения о том, что в центральной нервной системе (ЦНС) СО играет важную роль в обеспечении эффекта долговременной потенциации, ноцицептивной сигнализации, регуляции гемодинамики [4].

Непосредственным и, возможно, единственным субстратом для эндогенного образования СО служит молекула гема, расщепление которой катализируется ферментом гемоксигеназой (НО). При этом высвобождаются также биливердин, быстро превращающийся под действием биливердинредуктазы в билирубин, и двухвалентное железо, участвующее в синтезе активных форм кислорода [1]. Установлено 3 изоформы гемоксигеназы: одна индуцибельная — НО-1 (белок теплового шока

НСП32, который играет важную роль в адаптации клеток к действию стрессорных факторов) и две конститутивные — НО-2 и НО-3. Последняя в синтезе СО участия не принимает, и ее функциональное значение в организме пока не известно.

В головном мозге крыс определяется высокая активность НО-2 [5]. Наибольший уровень экспрессии этого фермента отмечен в конечном мозге, мозжечке, гиппокампе, а также в обонятельной луковице, в которой концентрация СО достигает значительных цифр (10–30 мкМ) [5]. Однако биохимические методы, с помощью которых был получен основной объем информации о СО, не позволяют судить о наличии и доле энзимопозитивных нейронов в соответствующих отделах мозга, локализации и функциональной принадлежности ядер, клетки которых участвуют в синтезе СО, и других характеристиках, необходимых для формирования более полного представления о свойствах этой сигнальной молекулы.

Вместе с тем, иммуногистохимических исследований НО-позитивных нейронов мозга немного, и они ограничиваются преимущественно новой корой и гиппокампом мелких лабораторных животных [4]. В настоящей работе представлены материалы по иммунолокализации нейронов, экспрессирующих НО, в головном и спинном мозге человека.

V.M. Chertok<sup>1</sup>, A.E. Kotsyuba<sup>1</sup>, E.P. Kotsyuba<sup>2</sup>

<sup>1</sup> State Medical University, Vladivostok

<sup>2</sup> Institute of Marine Biology, Far East Branch of RAS, Vladivostok

## Heme oxygenase-2 neurons brain and spinal cord of human

*Immune localization of heme oxygenase-2 in neurons of some nuclei of the spinal cord and brain stem in 6 men 18–44 years old who died from causes unrelated to injury of central nervous system was studied. Neurons with positive reaction are determined for all studied regions of the brain where their contents in various nuclei ranging from 0,5 to 16% of the total number of cells detected by methylene blue. In all the sensory nuclei there is a high proportion of small neurons with a high or moderate density of reaction product deposits. Large cells of motor nuclei often exhibit negative or low intensive enzyme reaction.*

**Key words:** carbon monoxide, heme oxygenase-2, brain stem, spinal cord.

## Материалы и методы

Для исследования использован материал судебно-медицинских вскрытий 6 практически здоровых мужчин в возрасте 18–44 лет, погибших от механической травмы, не связанной с повреждением ЦНС. Образцы спинного (на уровне Th<sub>III-IV</sub>) и продолговатого мозга фиксировали в 4% растворе параформальдегида (Serva, Германия), приготовленном на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4), при 4 °С в течение 4 сут, затем погружали в 25% раствор сахарозы (Serva, Германия) на 3 сут, после чего замораживали и хранили в жидком изопентале при -70 °С. Для иммуногистохимического определения НО-2 из образцов мозга готовили криостатные срезы толщиной 40 мкм, которые последовательно инкубировали в 1% нормальной сыворотке лошади в течение 1 ч при комнатной температуре, затем — с моноклональными антителами мыши против НО-2 (Abscam, Великобритания) в разведении 1:1000 при температуре 4 °С в течение 18 ч, после этого — с биотинилированными антителами лошади против IgG мыши (Vector Labs, США) в разведении 1:100 в течение 2 ч и с авидин-пероксидазным комплексом (Vectastain Elite ABC Kit, Vector Labs, США) 1 ч при комнатной температуре. Между инкубациями проводили отмывки препаратов фосфатным буфером. Иммунопреципитат визуализировали с помощью диаминобензидина (DAB Substrate Kit for Peroxidase, Vector Laboratories, США) под контролем микроскопа. Затем срезы промывали, обезвоживали в спиртах по стандартной методике и заключали в полистерол [4].

В серии из последовательных срезов один окрашивали 0,5% раствором метиленового синего, другой использовали для иммуногистохимического обнаружения НО. Для оценки специфичности реакции производили обработку срезов без первичных или вторичных антител.

Исследуемые ядра мозга ориентировали по характерным признакам в сагиттальной и фронтальной плоскости, после чего их контуры воспроизводили на экране монитора в соответствии с положением ядер относительно координат сетки. В проекции каждого ядра определяли средний диаметр профильного поля нервных клеток. На основании проведенных измерений все нейроны были разделены на 5 размерных групп: 1 — сверхмалые (5–10/5–10 мкм<sup>2</sup>), 2 — малые (11–12/5–10 мкм<sup>2</sup>), 3 — средние (13–22/7,5–22 мкм<sup>2</sup>), 4 — крупные (23–30/7,5–30 мкм<sup>2</sup>), 5 — сверхкрупные (31–120/7,5–120 мкм<sup>2</sup>). Помимо этого высчитывали долю НО-позитивных нейронов от общего числа нервных клеток, выявленных при окраске препаратов метиленовым синим, а также величину среднего значения оптической плотности продукта реакции в энзимпозитивных клетках, которую вычисляли по сумме яркости пикселей при сканировании профиля каждого нейрона [6]. По данному признаку среди иммунопозитивных нейронов выделяли 4 типа клеток с характерным для каждого из них уровнем оптической плотности продукта реакции (ОППР): низким (30–50 усл.ед.), умеренным (51–70 усл.ед.), высоким (71–100 усл.ед.) и очень высоким (свыше 100 усл.ед.).

Измерения размеров нейронов, их ранжирование по группам, а также вычисление в клетках оптической плотности продукта реакции и статистическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерных программ автоматизированной системы анализа изображений Allegro MC [7] только в тех ядрах, в которых постоянно и в достаточном количестве для статистической обработки определялись НО-позитивные нейроны.

Данные количественного анализа представляли в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего, полученных при обработке не менее 12 срезов с каждого отдела мозга и у каждого человека. Для оценки значимости цифровых данных применяли *t*-критерий Стьюдента. Значение доверительного интервала  $p < 0,05$  считали статистически достоверными.

## Результаты

В местах локализации НО выпадает гранулярный осадок, который в зависимости от интенсивности реакции окрашивает нейроны в различные оттенки коричневого (рис. 1 а–з). В исследованных образцах головного и спинного мозга выявляется разное число НО-позитивных нейронов (рис. 2), которые отличаются между собой формой, размерами, плотностью расположения клеток. Большая часть нейронов, экспрессирующих НО, во всех ядрах имеет овальную или веретеновидную форму и размеры от 9 до 30 мкм. Значительно реже встречаются более крупные НО-позитивные клетки звездчатой или треугольной формы (рис. 1 е). Преципитат откладывается также в стенках капилляров и внутримозговых артерий (рис. 1 д, з).

В спинном мозге распределение иммунопозитивных нейронов имеет определенные особенности (рис. 1 а–в). Многочисленные НО-позитивные клетки постоянно встречаются в его задних рогах (область I–V пластин Рикседа) и около центрального канала, что соответствует местоположению X пластины. Небольшое число таких нейронов наблюдается в промежуточной зоне (VII пластина). В передних рогах, в области VIII–IX пластин, НО-позитивные клетки либо отсутствуют, либо имеются их единичные экземпляры.

Количественное распределение энзимпозитивных клеток в задних рогах, около центрального канала, в промежуточной зоне и передних рогах спинного мозга, а также значения ОППР в этих нейронах представлены на диаграмме (см. рис. 2). Как видно из рисунка, наиболее многочисленную группу (около 16%) составляют нейроны, расположенные в области студенистого вещества. Они представлены клетками 1 и 2-й группы округлой, овальной и веретеновидной формы, преимущественно с высокими и очень высокими значениями ОППР. В таких нейронах выпадает гомогенный осадок темно-коричневого цвета, равномерно заполняющий цитоплазму клеток, оставляя свободной лишь зону ядра. Вентральнее от них, в области II–III пластин, выявляются нейроны средней величины с менее интенсивной реакцией. В них мелкозернистый преципитат светло-коричневого цвета, образованный отдельно лежащими или слившимися гранулами, концентрируется в основном на периферии клеток. Ближе к основанию заднего рога, в проекции собственного ядра спинного мозга (III–IV пластины), наблюдается компактное скопление полигональных клеток 2 и 3-й группы с низкой и умеренной плотностью отложения продукта реакции (см. рис. 1 а–в). Около центрального канала концентрируются энзимпозитивные клетки, большинство из которых относят к 3 и 4-й группе, они обладают высокой и очень высокой интенсивностью реакции. Доля таких нейронов колеблется от 8 до 13% (в среднем 10,8%) от общего числа клеток, обнаруженных в области X пластины при помощи метиленового синего (см. рис. 2). В промежуточной зоне рассеяны нейроны различной формы диаметром от 9 до 30 мкм с умеренным и высоким уровнем ОППР. Более крупные клетки (50–90 мкм)

звездчатой формы в VII пластине встречаются только в проекции промежуточного медиального ядра, где нейроны располагаются на некотором расстоянии друг от друга или образуют небольшие скопления, состоящие из 3–5 клеток. В передних рогах НО-позитивных нейронов очень мало: от 0,5 до 1,5%. Обычно это крупные полигональные клетки диаметром 100–120 мкм, с невысокими значениями ОППР, лежащие в проекции моторных ядер (рис. 1 ж). Как правило, они окружены небольшим количеством мелких интенсивно окрашенных нервных клеток.

В продолговатом мозге наиболее многочисленную группу НО-позитивные нейроны образуют в проекции ядра солитарного тракта и ретикулярного латерального ядра (13,7 и 11,6%, соответственно). В этих же ядрах установлены и наиболее высокие значения ОППР (см. рис. 2). Почти вдвое ниже доля энзимпозитивных клеток и величина ОППР в дорсальном ядре блуждающего нерва, ретикулярном мелкоклеточном, нижнем оливарном ядре. Ограниченное число клеток (1,5–3,8%) выявляется в ретикулярных гигантоклеточном и парагигантоклеточном ядрах, ядрах шва задней группы (темном и крупном).

В проекции ядра солитарного тракта и ретикулярного латерального ядра клетки, экспрессирующие НО, представлены в основном овальными и веретеновидными нейронами 1–3-й группы, обладающими интенсивной иммуногистохимической реакцией, которые располагаются преимущественно на периферии вентральной части ядер (рис. 1 в, г). В их ростральной части наряду с мелкими округлыми или веретеновидными иммунореактивными клетками встречаются небольшие компактные группы нейронов треугольной или звездчатой формы диаметром 60–80 мкм с низким или умеренным содержанием продукта реакции.

Большая часть НО-позитивных нейронов дорсального ядра блуждающего нерва и нижнего оливарного ядра имеет округлую или веретеновидную форму, небольшие размеры (1 и 2-я группа клеток) и умеренную или высокую интенсивность реакции (рис. 1 д, е). В дорсолатеральной части последнего обнаруживаются нейроны 3 и 4-й группы с более плотным отложением преципитата. В ретикулярном мелкоклеточном ядре энзимпозитивные нейроны концентрируются в основном в ростральной части ядра, где располагаются клетки средней величины веретеновидной и треугольной формы с низкой и умеренной ОППР. Среди них встречаются единичные клетки, в которых продукт реакции образует более плотные скопления.

В большинстве крупных мультиполярных нейронов ретикулярного крупноклеточного ядра, а также в ядрах шва интенсивность иммуногистохимической реакции очень низкая. В некоторых клетках 4-й, а иногда и 5-й группы этих ядер светло-коричневые гранулы образующегося осадка заполняют большую часть цитоплазмы, включая отростки (рис. 1 е). В мелких клетках 2 и 3-й группы, которые обычно располагаются на периферии ретикулярного гигантоклеточного ядра, а также в темном и крупном ядре шва, где они составляют основную часть НО-позитивных нейронов, определяется более интенсивное отложение продукта реакции.

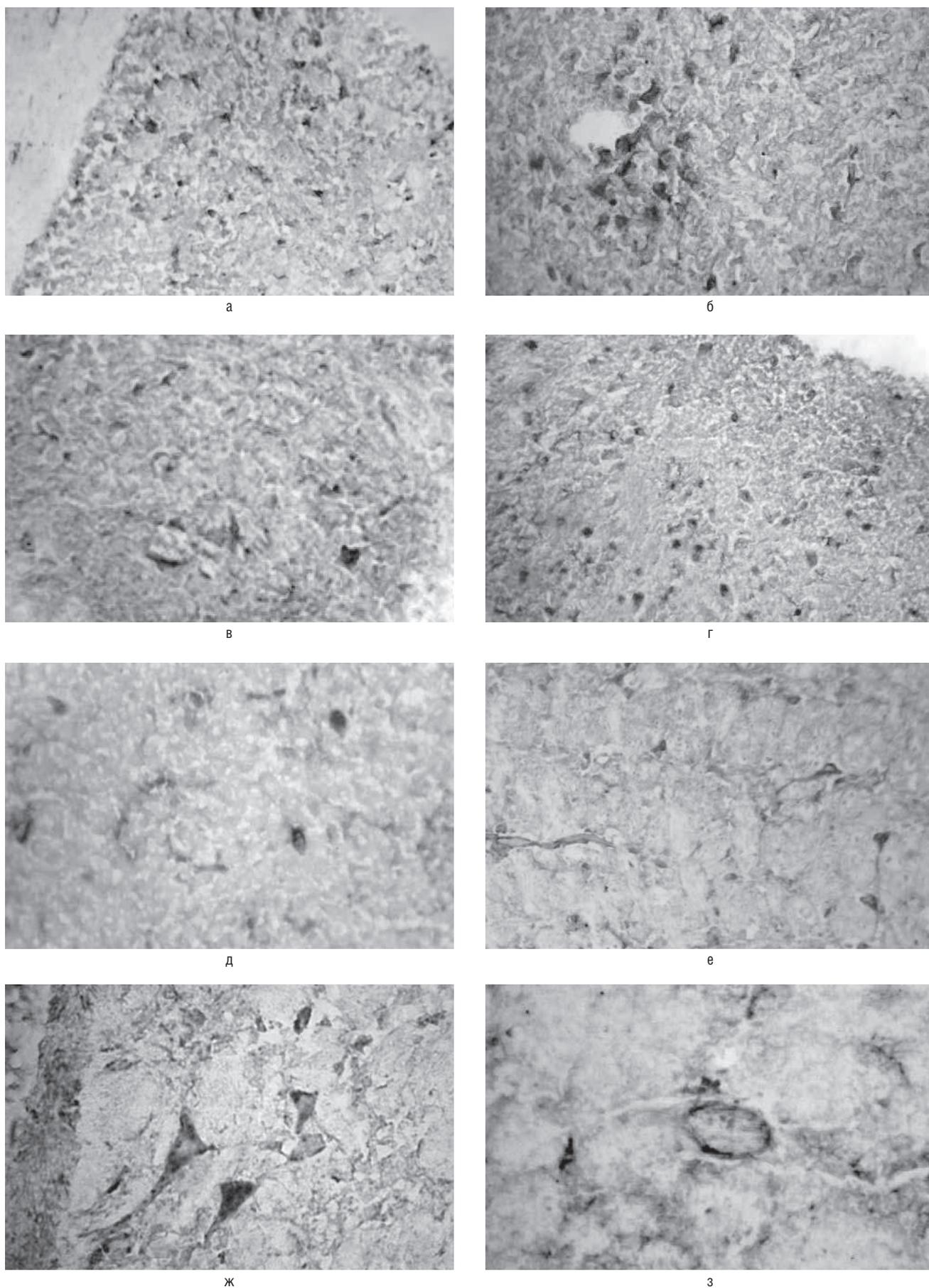
### Обсуждение

За последние два десятка лет представления о химических свойствах и механизме действия нейротрансмиттеров заметно изменились в связи с открытием газо-

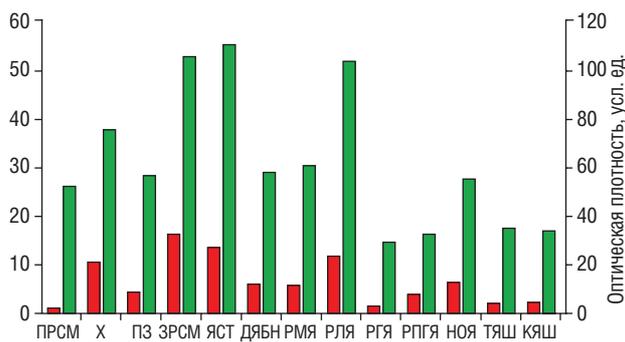
образных сигнальных молекул, которые, удовлетворяя основным критериям классических нейротрансмиттеров, в то же время коренным образом отличаются от них. Они не накапливаются в синаптических пузырьках и не высвобождаются путем экзоцитоза, у них нет «собственных» рецепторов на постсинаптической мембране [2]. Одно из уникальных свойств газовых посредников — молекулярный механизм, за счет которого данные вещества передают сигнал. В отличие от классических мессенджеров, передающих сигнал по принципу каскада, газотрансмиттеры химически модифицируют внутриклеточные протеины, быстро изменяя таким способом клеточный метаболизм.

В настоящее время накапливается все больше фактов в пользу того, что в качестве нейротрансмиттера монооксид углерода может играть заметную роль в реализации некоторых функций ЦНС [1, 4]. Об этом свидетельствуют и полученные нами данные. Во-первых, в различных участках головного и спинного мозга установлено неравномерное распределение нейронов, экспрессирующих НО. Доля энзимпозитивных нейронов в исследованных ядрах варьирует от 0,5 до 16% от общего числа клеток, окрашенных метиленовым синим. Во многих ядрах НО-позитивные нейроны не обнаруживаются совсем, или встречаются единичные экземпляры клеток. Во-вторых, отмечено большое разнообразие структуры НО-позитивных нейронов. Они отличаются между собой размерами, формой, интенсивностью иммуногистохимической реакции, распределением в ядре. В-третьих, установлена определенная зависимость между функциональной принадлежностью ядер, числом энзимпозитивных нейронов и средними значениями ОППР в нейронах этих ядер. В двигательных ядрах доля энзимпозитивных нейронов в среднем в 4–6 раз меньше, чем в чувствительных. В последних велика доля нейронов с высокой и очень высокой плотностью отложения продукта реакции, поэтому значения ОППР в них в 1,5–4 раза выше, чем в двигательных, крупные клетки которых чаще демонстрируют отрицательную реакцию или низкую ее интенсивность. Содержание продукта реакции в этих ядрах существенно возрастает лишь в небольших по величине клетках, по-видимому, интернейронах, которые обычно располагаются на периферии ядер, между ядрами или между крупными нейронами. Как отмечалось ранее, клетки сходной структуры и локализации аккумулируют и другие известные газотрансмиттеры — оксид азота и сероводород [8, 9]. Несколько лет назад было установлено, что СО, так же как и NO, инициирует развитие долговременной потенциации в гиппокампе [10]. Добавление СО во время слабой тетанической или низкоамплитудной стимуляции приводило к развитию долговременной потенциации. Ингибиторы НО блокировали индукцию долговременной потенциации и прекращали уже возникшую потенцию. Иммуногистохимическими исследованиями показано наличие морфологического субстрата для осуществления этой функции в головном мозге: НО постоянно присутствовал в пирамидных и гранулярных нейронах гиппокампа мышей [4].

В качестве нейротрансмиттера СО может участвовать в механизмах центральной регуляции гемодинамики. Проведенное нами иммуногистохимическое исследование показывает, что в большинстве ядер, входящих в состав так называемого бульбарного вазомоторного центра, постоянно определяются НО-позитивные нейроны. Наибольшее число таких клеток находится в ядре одиночного пути. В связи с этим представ-



**Рис. 1.** Распределение гемоксигеназы-2 в спинном и продолговатом мозге человека. НО-позитивные нейроны в верхнем грудном отделе спинного мозга (а–в); а — область студенистого вещества; б — область вблизи центрального канала; в — передний рог; г — ядро солитарного тракта; д — дорсальное ядро блуждающего нерва; е, ж — ретикулярное гигантоклеточное ядро; з — НО в стенке внутримозгового сосуда (парагигантоклеточное ядро). а, в, е — об. 3,4<sup>x</sup>, ок. 10<sup>x</sup>; б, д, ж, з — об. 20<sup>x</sup>, ок. 10<sup>x</sup>; г — об. 10<sup>x</sup>, ок. 10<sup>x</sup>.



**Рис. 2.** Доля НО-позитивных нейронов (красные столбики) и средний показатель оптической плотности (зеленые столбики) в исследуемых ядрах.

ПРСМ — передний рог спинного мозга; X — область X-пластины; ПЗ — промежуточная зона; ЗРСМ — задний рог спинного мозга; ЯСТ — ядро солитарного тракта; ДЯБН — дорсальное ядро блуждающего нерва; РМЯ — ретикулярное мелкоклеточное ядро; РЛЯ — ретикулярное латеральное ядро; РГЯ — ретикулярное гигантоклеточное ядро; РПГЯ — ретикулярное парагигантоклеточное ядро; НОЯ — нижнее оливарное ядро; ТЯШ — темное ядро шва; КЯШ — крупное ядро шва.

За 100% принято число нейронов соответствующих ядер, окрашенных метиленовым синим.

40

ляют интерес экспериментальные данные о том, что при унилатеральной микроинъекции гемина в область ядра солитарного тракта, которая приводит к освобождению СО, наблюдается значительное снижение кровяного давления и частоты сердечных сокращений [11]. Эти эффекты не проявляются при предварительном введении Zn-протопоририна IX — ингибитора НО. Исследование клеточных механизмов регуляции активности НО показало, что синтез СО увеличивается в ответ на повышение цитозольной концентрации кальция, активацию протеинкиназы С и тирозинкиназ [1]. В ЦНС это происходит при активации метаболитных глутаматных рецепторов I типа [3]. В стволе мозга метаболитные рецепторы, активированные в ядре солитарного тракта, способны регулировать проведение сигнала через специфические цГМФ-зависимые механизмы к ядрам, которые обеспечивают эфферентные влияния на сердце и кровеносные сосуды. В этом случае монооксид углерода выступает в качестве модулятора, усиливая спонтанную или вызванную секрецию ацетилхолина, серотонина и некоторых других медиаторов и гормонов, что может происходить через изменение внутриклеточной концентрации цАМФ, в результате непосредственного активирования аденилатциклазы, или опосредованно через цГМФ-зависимые фосфодиэстеразы [4].

В двигательных ядрах мишенью для таких воздействий могут быть не только обнаруженные нами крупные энзим-позитивные клетки, но и небольшие нейроны, отличающиеся интенсивной ферментативной реакцией, которые обычно располагаются на периферии этих ядер или между крупными нейронами и, помимо НО, содержат нитроксидсинтазу и цистатионин-β-синтазу [8, 9].

Нейротрансмиттерная и модуляторная функция СО может быть задействована в ноцицептивной сигнализации. Полученные нами результаты свидетельствуют

о том, что экспрессия НО наблюдается в тех клетках спинного мозга, которые участвуют в реализации указанной функции. Среди чувствительных образований заднего рога особый интерес представляют нейроны студенистого вещества небольшой и средней величины, отличающиеся высоким содержанием продукта иммуногистохимической реакции. Как известно, аксоны многих из этих клеток заканчиваются в ретикулярном латеральном ядре и нижней оливе, в которых нами установлено относительно высокое содержание НО-позитивных нейронов. По некоторым данным, эти нейроны продуцируют энкефалин — пептид опиоидного типа, интегрирующий болевые эффекты [12]. В пределах студенистого вещества дискриминируется локализация болевых эффекторов. Эксперименты, проведенные с использованием метода нозерн-блоттирования, показали 2–7-кратное повышение НО-2 мРНК в гомогенате ткани спинного мозга крыс при хроническом применении опиоидов, в то время как у толерантных к ним животных наблюдалось лишь 3-кратное повышение гемоксигеназы [13].

С помощью метэнкефалина и нейротензина нейроны I–III пластины уменьшают или снимают болевые эффекты, индуцируемые импульсами тонких корешковых волокон с веществом Р. Кроме того, не менее 10% нервных клеток, окружающих центральный канал, имеют прямой ноцицептивных вход, о чем свидетельствует появление в их цитоплазме после болевой стимуляции Fos-белка [14]. Заметим, что, по нашим данным, доля НО-позитивных клеток в области X пластины спинного мозга также колеблется в пределах 10%. Нисходящий контроль боли осуществляется церебральными системами, которые при помощи коллатералей связаны с восходящими ноцицептивными путями, образуя таким образом важную систему «обратной связи». При этом происходит торможение ноцицептивных нейронов заднего рога спинного мозга и активация тех нейронов студенистого вещества, которые участвуют в пресинаптическом торможении ноцицептивной информации [14].

Анатомически нисходящие системы представлены в основном рафе- и ретикулоспинальным путями, образованными аксонами крупных клеток ядер шва и ретикулярного крупноклеточного ядра. Особая роль в антиноцицепции в этих системах принадлежит серотонину — нейротрансмиттеру с широким спектром действия. В области указанных ядер сосредоточено большее количество серотонинергических нейронов [8, 9] и, как показали наши наблюдения, НО-позитивных клеток. В нейронах этих же ядер выявляется и нитроксидсинтаза, активность которой значительно возрастает при развитии травматической болезни [15]. Усиление ноцицептивной сигнализации при травмах активирует соответствующие ферментные системы, приводя к увеличению синтеза оксида азота и монооксида углерода, которые каждый своим путем активируют растворимую гуанилатциклазу с последующим увеличением содержания цГМФ в ткани. Однако СО является слабым активатором растворимой гуанилатциклазы, но тем не менее, благодаря своей химической стабильности, он может оказывать хотя и слабые, но долговременные эффекты.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (Госконтракт 4.740.11.0186).

REFERENCES

1. Boehning D., Snyder S.H. Novel Neural Modulators. *Ann. Rev. Neurosci.* 2003; 26: 105-131.
2. Wang R. Signal Transduction and the Gasotransmitters. NO, CO and H<sub>2</sub>S in Biology and Medicine. *Humana Press. Saskatoon. Canada.* 2004. 377.
3. Jones W., Durante W., Korthuis R.J. Heme Oxygenase-1 deficiency leads to alteration of soluble guanylate cyclase redox regulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2010; 335 (1): 85-91.
4. Maines M.D. The heme oxygenase system, past, present and future. *Antioxidant Redox. signaling.* 2004; 6 (5): 797-801.
5. Ingi T., Chiang G., Ronnett G.V. The regulation of heme turnover and carbon monoxide biosynthesis in cultured primary rat olfactory receptor neurons. *J. Neurosci.* 1996; 16 (18): 5621-5628.
6. Starceva M.S., Chertok V.M. Kolichestvennaya ocenka intensivnosti gistohimicheskikh i immunogistohimicheskikh reakcij s primeneniem standartnyh komp'yuternyh programm. *Tihookeanskij medicinskij zhurnal.* 2012; 1: 118-120.
7. Chertok V.M., Afanas'ev A.A., Kocyuba A.E. Primenenie avtomatizirovannoj sistemy analiza izobrazhenij Allegro-MC dlya morfometricheskikh issledovanij. *Morfologiya.* 2003; 4: 88-92.
8. Kocyuba A.E., Chertok V.M. Prostranstvennaya organizacija serotoninergicheskikh i nitroksidergicheskikh neyronov v nekotoryh yadrah bul'barnogo otdela serdechnosudistogo centra cheloveka. *Tihookeanskij medicinskij zhurnal.* 2010; 4: 43-46.
9. Chertok V.M., Kocyuba A.E., Babich E.V. Nitroksidergicheskie nejrony v nekotoryh yadrah prodolgovatogo mozga cheloveka i krysy. *Citologiya.* 2009; 51 (7): 612-616.
10. Alkadi K.A., Al-Hijailan R.S. Malik K. et al. Retrograde carbon monoxide is required for induction of long-term potentiation in rat superior cervical ganglion. *J. Neurosci.* 2001; 21 (10): 3515-3520.
11. Lo W.C., Lu P.J., Ho W.Y. Cystein 184 of endothelial nitric oxide synthase is involved in heme coordination and catalytic activity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; 318 (1): 8-16.
12. Dikenson E. O lokalizacii i mehanizmah dejstviya opioidov. *'Eksperim. klinich. farmakol.* 1994. 57: 3-12.
13. Li X., David C.J. Chronic morphine exposure and the expression of heme oxygenase type 2. *Brain Res. Mol.* 2000; 75 (2): 179-184.
14. Lee J.H., Price R.H., Williams F.G. et al. Nitric oxide synthase is found in some spinothalamic neurons and neuronal processes that appose spinal neurons that express Fos induced by noxious stimulation. *Brain Res.* 1993; 608 (2): 324-333.
15. Dyujzen I.V., Motavkin P.A. Nitroksidergicheskie mehanizmy formirovaniya boli. *Dal'nevostochnyj medicinskij zhurnal.* 2003; 2: 11-16.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Чертюк Виктор Михайлович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека ГБОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России

Адрес: 690002, Владивосток, пр. Острякова, д. 2

Тел.: 8 (4232) 45-34-73

Е-mail: chertokv@mail.ru

**Коцюба Александр Евгеньевич**, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии человека ГБОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России

Адрес: 690002, Владивосток, пр. Острякова, д. 2

Тел.: 8 (4232) 45-34-73

Е-mail: akotc@mail.ru

**Коцюба Елена Пантелеймоновна**, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории цитофизиологии Института биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН

Адрес: 690041, Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17

Тел.: 8 (4232) 43-75-29

Е-mail: epkotsuba@mail.ru