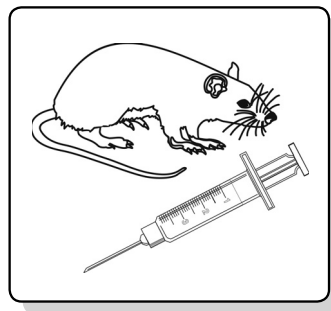


# Теоретическая и экспериментальная медицина



<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2020-2-38-41>

УДК 611.813-013-018:612.823:615.355]:599.323.4-092.9

Б.Я. Рыжавский, Д.И. Жильников

## ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ 3 $\beta$ -ГИДРОКСИСТЕРОИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫСЫ

Дальневосточный государственный медицинский университет,  
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-30-53-11, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск

### Резюме

Гистохимическим методом исследована 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа (ГСДГ) в разных отделах гипоталамуса белых крыс. Показано, что ГСДГ-позитивная реакция имела в нейронах перивентрикулярного серого вещества, вентромедиального, вентролатерального и аркуатного ядер гипоталамуса. В паравентрикулярном ядре ГСДГ-позитивными являлись нейроны, относящиеся к «мелкоклеточным», располагавшиеся преимущественно по периферии данного ядра.

*Ключевые слова:* гипоталамус, 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа, нейроны, эпендимоциты.

B.Ya. Rizhavskii, D.I. Zhilnikov

## HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF 3 $\beta$ -HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASE IN HYPOTHALAMUS OF RATS

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

### Summary

3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase (GSDG) in different parts of the hypothalamus was studied by histochemical method. It was shown that GSDG-positive reaction was present in neurons of the periventricular gray matter, ventromedial, ventrolateral, and arcuate nuclei of the hypothalamus. In the paraventricular nucleus, GSDG-positive neurons were «small-cell» neurons located primarily in the peripheral part of this nucleus.

*Key words:* hypothalamus, 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase, neurons, ependymocytes.

3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа (ГСДГ) – ключевой фермент стероидогенеза, катализирующий трансформацию прегненолона в прогестерон. ГСДГ является маркером стероидпродуцирующих клеток, в том числе, вырабатывающих нейростероиды. ГСДГ-позитивные клетки головного мозга могут быть выявлены методами иммуногистохимии, гибридизации *in situ*, полимеразной цепной реакции [1, 3, 6, 10, 11, 12]. Интерес к изучению синтеза нейростероидов обусловлен данными о способности к нему как у нейронов центральной и периферической нервной системы, так и у клеток макро- и микроглии, а также о влиянии нейростероидов на важные свойства нервной ткани, изменениях их концентрации при патологии, экспериментальных воздействиях, зависимости от гор-

монального статуса организма [4-6, 8, 10-15]. Ранее нами была охарактеризована активность ГСДГ в неокортексе, гиппокампе, мозжечке, среднем и продолговатом мозге, эпендимоцитах [4-6]. Настоящая работа, являющаяся продолжением этих исследований, посвящена изучению ГСДГ в гипоталамусе, одна из важнейших функций которого связана с секреторной активностью клеток, продуцирующих либерины и статины, регулирующие функционирование аденогипофиза, а также синтезом окситоцина и антидиуретического гормона, поступающих в нейрогипофиз. Первые из них вырабатываются мелкоклеточными гипофизотропными нейронами, вторые – крупноклеточными нейронами супраоптического и паравентрикулярного ядер [3, 7].

## Материалы и методы

Исследовалась активность ГСДГ в головном мозге взрослых интактных крыс-самцов ( $n=5$ ). Крысы содержались в стандартных условиях вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Содержание животных и эвтаназия проводились согласно «Правилам проведения работ с экспериментальными животными» (Приложение к приказу МЗ СССР №755 от 12.09.1977 г.).

На криостате «Leica» готовили серийные коронарные срезы толщиной 20 мкм, проходившие через оба полушария головного мозга (ГМ) в области от Bregma -0,84 до Bregma -5,16, включающие различные зоны

гипоталамуса. При этом для реакции брали каждый 5-й срез. Реакцию на ГСДГ проводили на покровных стеклах с инкубационным раствором приготовленным по прописи [2], с использованием дегидроэпиандростерона (субстрат), НАД и нитросинего тетразолия (все реактивы производства «Sigma», США) при температуре 37 °C в течение 30 мин. Препараты заключали в глицерин-желатину. Определение зоны мозга, в которой имелись ГСДГ-позитивные клетки, проводили по [7, 15]. Размеры ГСДГ-позитивных нейронов определяли помощи окуляр-микрометра МОВ-15.

## Результаты и обсуждение

Изучение препаратов показало, что ГСДГ-позитивные клетки имеются в разных зонах гипоталамуса. Во всех срезах, прошедших через разные зоны гипоталамуса, интенсивной реакцией характеризовались эпендимоциты, выстилающие просвет 3-го желудочка (рис. 1, 3, 6). Их цитоплазма окрашивалась продуктами реакции в темнофиолетовый цвет. Эти данные согласуются с результатами, свидетельствующими о высокой активности ГСДГ в эпендиме боковых желудочков мозга [4].

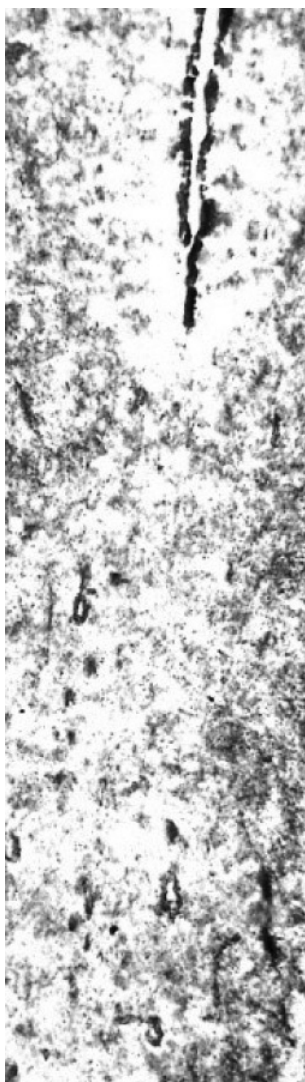


Рис. 1. Просвет 3-го желудочка, выстланный эпендимоцитами (сверху) и перивентрикулярное серое вещество, содержащее ГСДГ-позитивные нейроны. Увеличение 4×15

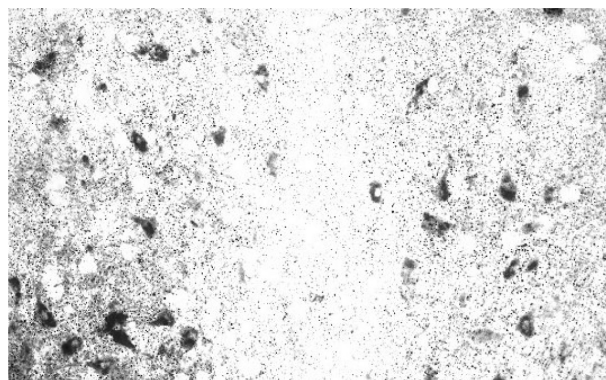


Рис. 2. Симметрично расположенные правое и левое вентромедиальные ядра гипоталамуса. Увеличение 20×15

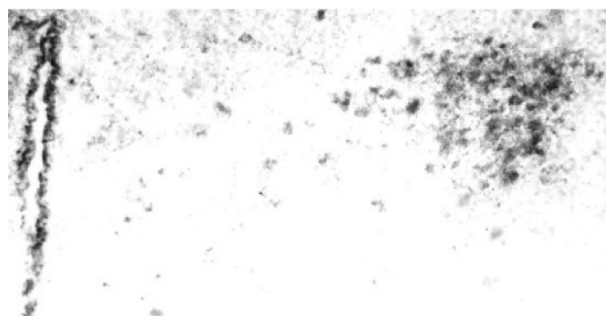


Рис. 3. Латеральное вентромедиальное ядро гипоталамуса. Слева – 3-й желудочек, выстланный эпендимоцитами. Увеличение 20×15



Рис. 4. Латеральное вентромедиальное ядро гипоталамуса. Увеличение 40×15

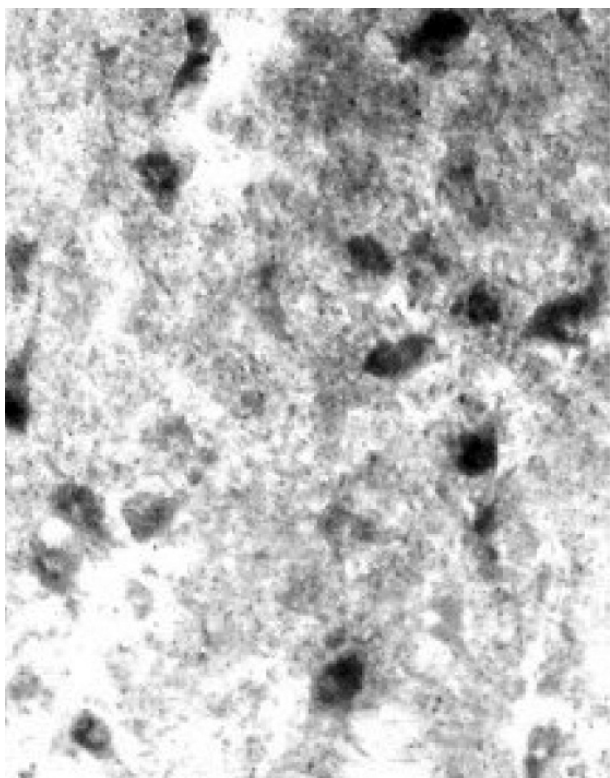


Рис. 5. Аркуатное ядро гипоталамуса. Увеличение 40×15

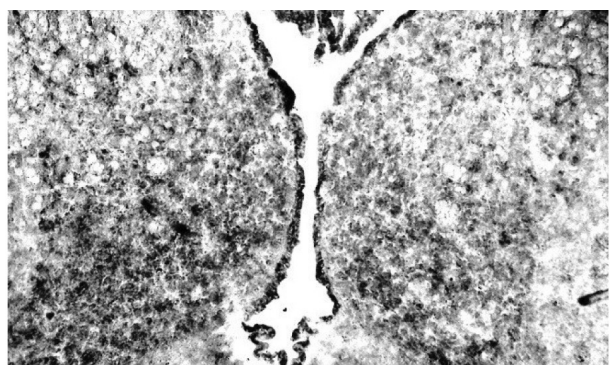


Рис. 6. Паравентрикулярное ядро. В центре – 3-й желудочек, выстланный эпандимоидами. Увеличение 4×15

Непосредственно вокруг стенки 3-го желудочка выявлялись расположенные отдельно или небольшими группами ГСДГ-позитивные нейроны, входящие в состав перивентрикулярного серого вещества [15]. Эти нейроны имели небольшие размеры (10-12 мкм), угловатую или веретеновидную форму перикариона (рис. 1).

На расстоянии 50-100 мкм от 3-го желудочка на срезах, проходящих через среднюю часть гипоталамуса, обнаруживались ГСДГ-позитивные нейроны, входящие в состав вентромедиального и дорсомедиального ядер. На большем удалении от 3-го желудочка (400-500 мкм) скопления таких нейронов обнаруживались в составе вентролатерального ядра гипоталамуса (рис. 2, 3). Нейроны этих ядер имели строение

изодендритических, размеры их перикарионов варьировали от 15 до 25-30 мкм. Данные клетки имели веретеновидную, угловатую, звездчатую форму, тонкие, прямые отростки, в которых, как и в перикарионе, выявлялся продукт реакции (рис. 4). В вентральной части гипоталамуса, в зоне аркуатного ядра также имелись ГСДГ-позитивные нейроны, располагавшиеся на небольшом расстоянии друг от друга. Они имели угловатую форму, размеры их перикарионов равнялись 20-30 мкм (рис. 5).

В переднем гипоталамусе, в паравентрикулярном ядре, ГСДГ-позитивными являлись только некоторые нейроны, составлявшие меньшую часть ядра. Это были мелкие нейроны, имевшие размеры перикарионов равные 10-15 мкм, располагавшиеся преимущественно по периферии ядра, небольшими группами или отдельно друг от друга (рис. 6). Такое распределение прореагировавших нейронов в паравентрикулярном ядре может быть объяснено наличием в нем крупных и мелких нейронов, различающихся по химическим и физиологическим свойствам секретируемых гормонов [3, 7].

Таким образом, полученные данные говорят о том, что в разных зонах гипоталамуса имеется значительное число клеток, синтезирующих нейростероиды. Во-первых, это эпандимциты 3-го желудочка, способные к выделению секрета, как в вещество мозга, так и в ликвор [3, 7]. Во-вторых, это нейроны, расположенные в различных мелкоклеточных зонах гипоталамуса, рассматриваемых как место продукции либеринов и статинов, регулирующих функции аденогипофиза. В-третьих, это мелкие ГСДГ-позитивные нейроны в составе паравентрикулярного ядра, в функции которого входят как продукция антидиуретического гормона, так и секреция аденогипофизотропных гормонов [3, 7].

Оценивая способность клеток гипоталамуса к секреции нейростероидов, следует учитывать способность этих соединений выступать в качестве модуляторов в межнейрональных синапсах, уменьшать повреждающий эффект различных патогенов, то есть проявлять нейропротекторный эффект при травмах и патологии нервной системы [1, 10, 12, 13]. Кроме того, можно предполагать, что изменения концентрации и состава нейростероидов, продуцируемых различными клетками гипоталамуса, может оказывать паракринное и аутокринное действие на функционирование его различных нейронов, в том числе, вырабатывающих аденогипофизотропные гормоны.

Мы полагаем, что новые данные о ГСДГ-позитивных клетках гипоталамуса, их распределении в его разных отделах, изложенные в статье, могут представлять интерес при изучении изменений синтеза и концентрации различных нейростероидов в этом отделе мозга при экспериментальных воздействиях и патологических процессах.

#### Литература

1. Гончаров Н.П., Кация Г.В., Нижник А.Н. Нейростероиды и их биологическое значение // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 35, № 4. – С. 3-10.
2. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов // Лабораторные методы. – М.: Мир, 1982. – 272 с.

3. Руководство по гистологии. Т. 1. – СПб.: СпецЛит, 2011. – 832 с.
4. Рыжавский Б.Я., Задворная О.В.  $3\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа в эпендимocyтaх выстилки желудочков мозга и ворсинках сосудистого сплетения крыс разного возраста // Морфология. – 2012. – Т. 142, № 5. – С. 26-29.
5. Рыжавский Б.Я., Жильников Д.И. Гистохимический анализ  $3\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы в нейронах ствола головного мозга крысы // Дальневосточный медицинский журнал. – 2019. – № 4. – С. 28-31.
6. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Гистохимическое выявление  $3\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы в нейронах головного мозга крысы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т. 152, № 9. – С. 347-349.
7. Угрюмов М.В. Нейроэндокринная регуляция в онтогенезе. – М.: Наука, 1989. – 248 с.
8. Gottfried-Blackmore A., Sierra A., Jellinck P.H., et al. Brain microglia express steroid-converting enzymes in the mouse // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2008. – Vol. 109 (1-2). – P. 96-107.
9. Guennoun R., Schumacher M., Robert F., et al. Neurosteroids: expression of functional  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase by rat sensory neurons and Schwann cells // Eur. J. Neurosci. – 1997. – Vol. 9 (11). – P. 2236-2247.
10. Hovorkova P., Kristofikova Z., Horinek A., et al. Lateralization of  $17\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 10 in hippocampi of demented and psychotic people // Dement. Geriatr. Cogn. Disord. – 2008. – Vol. 26 (3). – P. 193-198.
11. Mellon S.H., Griffin L.D., Compagnone N.A. Biosynthesis and action of neurosteroids. Novel brain function: biosynthesis and actions of neurosteroids in neurons // Brain Res Rev. – 2001. – Vol. 37, № 1-3. – P. 3-12.
12. Mishra S., Chaube R. Distribution and localization of  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $3\beta$ -HSD) in the brain and its regions of the catfish *Heteropneustes fossilis* // Gen. Comp. Endocrinol. – 2017. – Vol. 241. – P. 80-88.
13. Mizuno G., Munetsuna E., Yamada H., et al. Fructose intake during gestation and lactation differentially affects the expression of hippocampal neurosteroidogenic enzymes in rat offspring // Endocr. Res. – 2017. – Vol. 42 (1). – P. 71-77.
14. Patte-Mensah C., Kibaly C., Boudard D., et al. Neurogenic pain and steroid synthesis in the spinal cord // J. Mol. Neurosci. – 2006. – Vol. 28 (1). – P. 17-31.
15. Paxinos G., Watson C. The rat brain in Stereotaxic Coordinates. Academic press. – 2013. – 472 p.

#### Literature

1. Goncharov N.P., Katsyia G.V., Nizhnik A.N. Neurosteroids and their biological significance // Advances in Physiological Sciences. – 2004. – Vol. 35, № 4. – P. 3-10.
2. Lloida Z., Gossrau R., Shibley T. Enzymes Histochemistry: A Laboratory Manual. – М.: Mir, 1982. – 272 p.
3. Guide on Histology. Vol. 1. – СПб.: SpetsLit, 2011. – 832 p.
4. Ryzhavsky B.Ya., Zadvornaya O.V.  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in ependymocytes of the lining of the lateral ventricles of the brain and villi of the vascular plexus in rats of different ages // Morphology. – 2012. – Vol. 142, № 5. – P. 26-29.
5. Ryzhavsky B.Ya., Zhilnikov D.I. Histochemical analysis of  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in neurons of the brain stem in rats // Far Eastern Medical Journal. – 2019. – № 4. – P. 28-31.
6. Ryzhavsky B.Ya., Litvintseva E.M. Histochemical detection of  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in the neurons of the rat's brain // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2011. – Vol. 152, № 9. – P. 347-349.
7. Ugryumov M.V. Neuroendocrine regulation in ontogenesis. – М.: Nauka, 1989. – 248 p.
8. Gottfried-Blackmore A., Sierra A., Jellinck P.H., et al. Brain microglia express steroid-converting enzymes in the mouse // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2008. – Vol. 109 (1-2). – P. 96-107.
9. Guennoun R., Schumacher M., Robert F., et al. Neurosteroids: expression of functional  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase by rat sensory neurons and Schwann cells // Eur. J. Neurosci. – 1997. – Vol. 9 (11). – P. 2236-2247.
10. Hovorkova P., Kristofikova Z., Horinek A., et al. Lateralization of  $17\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 10 in hippocampi of demented and psychotic people // Dement. Geriatr. Cogn. Disord. – 2008. – Vol. 26 (3). – P. 193-198.
11. Mellon S.H., Griffin L.D., Compagnone N.A. Biosynthesis and action of neurosteroids. Novel brain function: biosynthesis and actions of neurosteroids in neurons // Brain Res Rev. – 2001. – Vol. 37, № 1-3. – P. 3-12.
12. Mishra S., Chaube R. Distribution and localization of  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $3\beta$ -HSD) in the brain and its regions of the catfish *Heteropneustes fossilis*. Gen. Comp. Endocrinol. – 2017. – Vol. 241. – P. 80-88.
13. Mizuno G., Munetsuna E., Yamada H., et al. Fructose intake during gestation and lactation differentially affects the expression of hippocampal neurosteroidogenic enzymes in rat offspring. Endocr. Res. – 2017. – Vol. 42 (1). – P. 71-77.
14. Patte-Mensah C., Kibaly C., Boudard D., et al. Neurogenic pain and steroid synthesis in the spinal cord. J. Mol. Neurosci. – 2006. – Vol. 28 (1). – P. 17-31.
15. Paxinos G., Watson C. The rat brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press. – 2013. – 472 p.

**Координаты для связи с авторами:** Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96; Жильников Дмитрий Игоревич – аспирант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ.