



Фундаментальная медицина

Оригинальное исследование
УДК 616-002. 2-001.8:577.17
<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2024-2-6>

ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ 3 β -ГИДРОКСИСТЕРОИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ В НЕКОТОРЫХ ОРГАНАХ, НЕ ОТНОСИМЫХ К ПРОДУЦИРУЮЩИМ СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ

Борис Яковлевич Рыжавский

Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия, 19151943@rambler.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-4320-8341>

Аннотация. Гистохимическим методом изучалась активность 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы в органах, не относимых к продуцирующим стероидные гормоны (печени, почке, сердце, тимусе, легких), у интактных крыс Вистар. Реакция оценивалась как положительная при наличии в цитоплазме клеток гранул диформаза темного или фиолетового цвета. В клетках миокарда, тимуса, легких они не выявлялись, то есть реакция была отрицательной. В печени в гепатоцитах наблюдалась положительная реакция. В почках интенсивная положительная реакция была выявлена в цитоплазме клеток извитых отделов проксимальных и дистальных канальцев нефронов. В почечных тельцах продукты реакции не обнаруживались. Клетки петель нефронов и собирательных трубочек, расположенные в мозговом веществе почек, не содержали гранул диформаза. Высказывается предположение о том, что положительная реакция на 3 β -стероиддегидрогеназу в печени и почках обусловлена участием клеток этих органов в катаболизме стероидных гормонов, а также возможной способностью клеток данных органов к синтезу стероидных гормонов.

Ключевые слова: 3 β -гидроксистероиддегидрогеназа, почки, печень, сердце, легкие, тимус

Для цитирования: Рыжавский Б.Я. Гистохимический анализ активности 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы в некоторых органах, не относимых к продуцирующим стероидные гормоны / Б.Я. Рыжавский // Дальневосточный медицинский журнал. – 2024. – № 2. – С. 34-38. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2024-2-6>.

HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF 3 β -HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASE ACTIVITY IN SOME ORGANS NOT CLASSIFIED AS PRODUCING STEROID HORMONES

Boris Ya. Ryzhavsii

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia, 19151943@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4320-8341>

Abstract. The activity of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in organs not classified as producing steroid hormones (liver, kidney, heart, thymus, lungs) in intact Wistar rats was studied using a histochemical method. The reaction was assessed as positive if there were dark blue or purple diformazan granules in the cytoplasm of the cells. They were not detected in the cells of the myocardium, thymus, and lungs, that is, the reaction was negative. In the liver, a positive reaction was observed in hepatocytes. In the kidneys, an intense positive reaction was detected in the cytoplasm of the cells of the convoluted sections of the proximal and distal tubules of the nephrons. No reaction products were detected in the renal corpuscles. Nephron loop and collecting duct cells located in the renal medulla did not contain diformazan granules. It has been suggested that the positive reaction to 3 β -steroid dehydrogenase in the liver and kidneys is due to the participation of the cells of these organs in the catabolism of steroid hormones, as well as the possible ability of the cells of these organs to synthesize steroid hormones.

Keywords: 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, kidneys, liver, heart, lungs, thymus



For citation: Ryzhavskii B.Ya. Histochemical analysis of 3β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in some organs not classified as producing steroid hormones / B.Ya. Ryzhavskii // Far Eastern medical journal. – 2024. – № 2. – P. 34-38. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2024-2-6>.

Збета-гидроксистероиддегидрогеназа (3β -ГСДГ) – ключевой фермент в синтезе стероидных гормонов коры надпочечников, гонад, плаценты, обеспечивающий образование прогестерона из прегненолона [1]. Его активность изучается как для определения степени стероидогенной активности этих органов, так и для «маркировки» стероидпродуцирующих клеток [1-6]. При этом было установлено, что активностью 3β -ГСДГ обладают, кроме перечисленных органов, также нейроны и глиocyты центральной и периферической нервной системы, вырабатывающие нейростероиды. Это было показано при использовании различных методов, в том числе, гистохимическом [6]. Изучение 3β -ГСДГ в желудочно-кишечном тракте выявило положительную реакцию в эпителиоцитах тонкой кишки, тогда как в эпителиоцитах желудка и толстой кишки, а также в собственной пластинке слизистой оболочки этих органов она была отрицательной [7]. Таким образом, активность 3β -ГСДГ была выявлена гистохимическим методом в клетках органов, не относимых к железам, продуцирующим стероидные гормоны. В связи с этим, возникает вопрос о наличии клеток, обладающих активностью 3β -ГСДГ и в других органах, не относимых к секретирующим стероидные гормоны. Этот вопрос обусловливается, в частности, тем, что 3β -ГСДГ участвует как в реакции синтеза данных гормонов, так и их катаболизма, протекающих в различных органах, не относящихся к синтезирующим стероидные гормоны. В связи

с этим, вполне объяснимо, что активность данного фермента обнаружена в органах, осуществляющих катаболизм стероидных гормонов. Это было показано, в частности, при применении биохимических методов, радиоиммунного анализа и/или газовой хроматографии/масс-спектрометрии в печени и почках [8-11].

Эти данные обуславливают вопрос о том, возможно ли выявление активности 3β -ГСДГ в органах, не относимых к секретирующим стероидные гормоны, при применении гистохимического метода, который является менее затратным, более доступным и, кроме того, позволяет определять клетки органа, которые обладают активностью фермента. Нами, при использовании гистохимического метода, была выявлена активность 3β -ГСДГ в эпителиоцитах тонкой кишки, тогда как она не обнаруживалась в эпителиоцитах толстой кишки и желудка, а также в собственной пластинке слизистой оболочки органов желудочно-кишечного тракта [7]. В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилось изучить, используя гистохимическую методику, активность 3β -ГСДГ в ряде внутренних органов, не относимых к продуцентам стероидных гормонов.

Эти данные могут быть полезными для более полного понимания причин снижения или повышения концентрации стероидных гормонов, в том числе, при экспериментальном изучении действия лекарственных препаратов, предлагаемых для коррекции отклонений от нормы содержания гормонов в организме.

Материалы и методы

Работа проведена на интактных крысах линии Вистар (возраст 2-4 месяца, $n=8$). Исследована активность 3β -ГСДГ в органах, которые не относятся к секретирующим стероидные гормоны, принадлежат к различным системам организма и развиваются в эмбриогенезе из различных источников. Животные содержались в условиях одного вивария, с соблюдением документа ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», получали в свободном доступе воду и разнообразный корм *ad libitum*. Эвтаназию животных осуществляли декапитацией под легким эфирным наркозом. Исследовались срезы сердца, легких, тимуса, печени, почки. Взятие материала проводилось сразу после декапитации животных. Гистохимическое изучение проведено на криостатных срезах толщиной 20 мкм (криостат Leica, Германия). Срезы сердца проходили через предсердия и желудочки, срезы печени и легких – через несколько их долей, срезы тимуса – через несколько долек органа. Срезы почки готовили двух видов: проходящие поперек органа в области его ворот и направленные параллельно вентральной и дорсальной поверхности и проходящие через его корковое и мозговое вещество, а также ворота органа. Срезы

монтировались на покровных стеклах. Их инкубация осуществлялась в термостате при 37 °C в течение 30 минут в растворе, приготовленном по [2] с использованием реактивов фирмы Sigma (США). В инкубационный раствор в расчете на 1 мл 0,1М раствора фосфатного буфера (рН 7,5) вносились 1 мг НАД, 1,0 мг нитросинего тетразолия, 0,1 мг дегидроэпиандростерона. Контрольные срезы инкубировали в среде без добавления субстрата или НАД. Кроме того, для контроля реакцию проводили на срезах надпочечников этих же животных. Реакцию в корковом веществе расценивали как положительный контроль, реакцию в мозговом веществе – как отрицательный контроль. Микропрепараты изучали при различных увеличениях (от 15×10 до 15×100) микроскопа МИКМЕД-6, ЛОМО (Россия). Реакция оценивалась как положительная при окраске исследуемых структур фиолетовыми гранулами диформаза. Отсутствие окраски среза или его бледно-розовое диффузное окрашивание расценивалось как отрицательная реакция. Цифровой камерой Sony (Япония) проводилась фотосъемка препаратов, микрофотографии импортировались в компьютер и также подвергались изучению.

Результаты и обсуждение

Изучение препаратов, полученных в контролях, при инкубации срезов в среде без НАД или без дегидроэпиандростерона, не выявило активности 3β -ГСДГ. Изучение надпочечников показало в корковом веществе надпочечников интенсивное окрашивание цитоплазмы стерокортикоцитов всех зон фиолетовыми гранулами. В мозговом веществе надпочечников реакция была отрицательной. Эти результаты согласуются с описанными ранее [7].

Изучение срезов сердца, легких и тимуса у всех исследованных животных не выявило в их клетках продуктов реакции (рис. 1а, б, в). В противоположность этому, в печени гепатоциты всех долек окрашивались гранулами диформаза. При этом во многих дольках интенсивность реакции была различной по интенсивности в их разных зонах. Часто она была максимальной в зоне, окружающей центральную вену (рис. 1г).

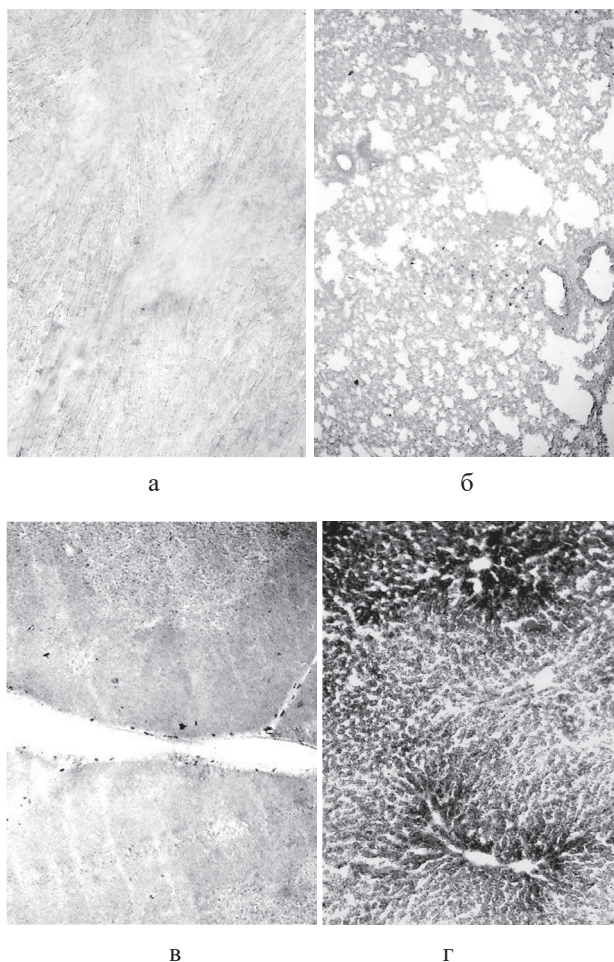


Рис. 1. Реакция на 3β -ГСДГ. а – миокард, б – легкое, в – тимус, г – печень. Увеличение 15×10

В почке всех исследованных крыс при малом увеличении микроскопа, ввиду различий интенсивности реакции, выявлялось четкое разделение органа на корковое и мозговое вещество. Как известно, корковое вещество включает в себя почечные тельца, извитые отделы проксимальных и дистальных канальцев,

а также начальные отделы прямых проксимальных и конечные отделы дистальных прямых канальцев нефронов. Кроме того, здесь начинаются тонкие отделы нефронов и собирательные трубочки. В мозговом веществе расположены петли нефронов, а также собирательные трубочки [12-15]. Интенсивность реакции коркового вещества резко превосходила ее в мозговом (рис. 2а, б). При этом в корковом веществе она была различной в его различных структурах (рис. 2б), что свидетельствует о разной активности в них 3β -ГСДГ. Так, в почечных тельцах активность 3β -ГСДГ не выявлялась (рис. 2б). В противоположность этому, цитоплазма извитых отделов проксимальных канальцев интенсивно окрашивалась продуктом реакции, гранулами диформаза, имевшими фиолетовый цвет. Ядра этих клеток не содержали таких гранул (рис. 2б). Эти канальцы, обладающие большой протяженностью и составляющие значительную часть длины нефрона, располагались рядом со «своим» почечным тельцем. Они определялись, отличаясь от других отделов нефрона, максимальным диаметром а также неровной границей просвета. Интенсивная окраска диформаза обнаруживалась и в цитоплазме эпителиоцитов дистальных извитых канальцев, характеризующихся меньшим, чем проксимальные, диаметром и ровной границей просвета [12-15]. Эти морфологические особенности позволяли различать на препаратах дистальные и проксимальные извитые отделы нефронов. В расположенных в корковом веществе начальных частях тонких отделов, а также в собирательных трубочках коркового вещества, цитоплазма клеток не содержала гранул диформаза. Клетки тонких отделов, прямых дистальных канальцев, а также собирательных трубочек, локализованные в мозговом веществе почки, также не содержали гранул диформаза, их цитоплазма на препаратах имела диффузную светло-розовую окраску (рис. 2а, б).

Таким образом, полученные результаты, во-первых, свидетельствуют о том, что в разных исследованных органах, не являющихся стероидпродуцирующими эндокринными железами, реакция на 3β -ГСДГ была различной. Она была отрицательной в сердце, легких, тимусе и положительной в печени и почках, то есть в органах, которые играют важную роль в катаболизме стероидных гормонов. Имеющиеся данные говорят о том, что 3β -ГСДГ является одним из ферментов, участвующих в данном процессе [1]. Это дает основание предполагать, что выявленная в работе активность 3β -ГСДГ в печени и почках отражает участие фермента в катаболизме стероидов. Вместе с тем, она может обуславливаться также синтезом в печени и почке стероидных гормонов, показанным в исследованиях [8-11]. Так, в печени человека, в цитозоле и микросомной фракции клеток, обнаружены как 3β -ГСДГ, так и 3α -ГСДГ [8]. Показано также, что способностью окислять 3β -гидроксистероиды обладает алкогольдегидрогеназа клеток печени человека, то



есть этому ферменту присуща и активность 3β -ГСДГ [9]. В почках крыс разного возраста установлено наличие 3β -ГСДГ и других ферментов, участвующих в синтезе стероидных гормонов [10]. В культуре первичных гломерулярных мезангиальных клеток почки человека была обнаружена 3β -ГСДГ, активность которой стимулировалась введением ЛПНП [11]. Эти данные позволяют полагать, что наличие активности 3β -ГСДГ в печени и почках может определяться как их участием в катаболизме стероидных гормонов, так и способностью к их синтезу.

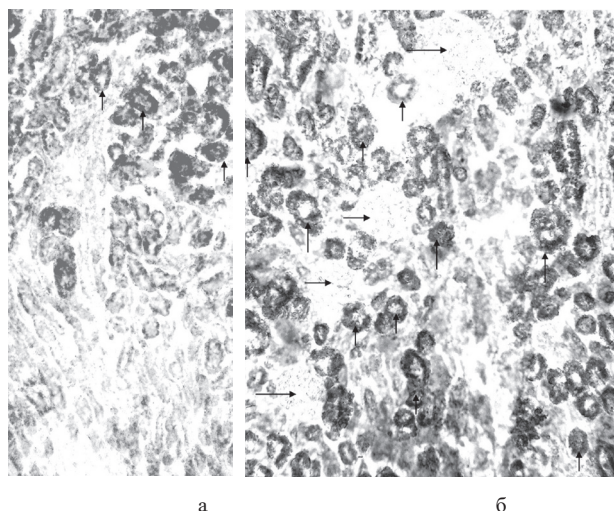


Рис. 2. Почка. Реакция на 3β -ГСДГ. а – граница коркового (вверху) и мозгового (внизу) вещества. Увеличение 15×10 ; б – корковое вещество. Горизонтальные стрелки указывают на почечные тельца, вертикальные – на извитые отделы канальцев нефронов. Увеличение 15×20

Гистохимическое изучение активности 3β -ГСДГ, проведенное в работе, показало ее различия в печени и почке. Одно из них состоит в том, что в печени все гепатоциты дают положительную реакцию, интенсивность которой может различаться в разных зонах печеночных долек. В отличие от этого, в почке имеются резкие отличия активности фермента в корковом и мозговом веществе. В мозговом веществе почки продукты реакции не обнаруживаются, в корковом веществе активность 3β -ГСДГ резко различается в разных отделах нефронов: она не выявляется в почечных тельцах, тогда как в извитых отделах проксимальных и дистальных канальцев обнаруживается интенсивная реакция.

Полученные новые данные могут быть полезными при изучении состояния стероидпродуцирующих органов (надпочечников, гонад, плаценты) при их гипо- или гиперфункции. Исследования, прежде всего экспериментальные, проводимые при этом, нередко включает в себя, наряду с определением концентрации гормонов, исследование активности 3β -ГСДГ в эндокринных железах, плаценте [1, 2]. В то же время, известно, что концентрация гормонов в крови зависит как от интенсивности их синтеза эндокринными клетками, так и от скорости катаболизма. В связи с этим изложенные в работе данные позволяют полагать, что гистохимическое изучение активности 3β -ГСДГ в таких органах, как печень и почка, может быть полезным для более полной оценки механизмов поддержания нормальной концентрации в организме стероидных гормонов, а также их изменений в условиях патологии и ее коррекции.

Выводы

1. Гистохимическое изучение активности 3β -ГСДГ показало наличие активности фермента в печени и почках и ее отсутствие в сердце, легких, тимусе. Эти данные расширяют представления об этом ферменте в органах, не относимых к секретирующим стероидные гормоны.

2. В почках разные отделы нефронов характеризуются разной интенсивностью реакции на 3β -ГСДГ.

Она максимальна в извитых проксимальных и дистальных канальцах, отрицательная – в почечных тельцах. В тонких канальцах, начальных отделах прямых нисходящих и конечных отделах прямых восходящих канальцев коркового вещества, а также в мозговом веществе реакция на 3β -ГСДГ отрицательная.

Список источников

1. Розен В.Б. Основы эндокринологии. – М.: Издательство МГУ, 1994. – 383 с.
 Rosen V.B. Fundamentals of endocrinology. – М.: Moscow State University Publishing House, 1994. – 383 p.
2. Лойда З., Госсрай Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. – М.: Мир, 1982. – 270 с.
 Loida Z., Gossrau R., Schibler T. Histochemistry of enzymes. – М.: Mir, 1982. – 270 p.
3. Луценко М.Т., Довжикова И.В. Гормональная функция плаценты при обострении цитомегаловирусной инфекции в период гестации // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2014. – № 52. – С. 62-67.
 Lutsenko M.T., Dovzhikova I.V. Hormonal function of the placenta during exacerbation of cytomegalovirus infection during gestation // Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration. – 2014. – № 52. – P. 62-67.
4. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Гистохимическое выявление 3β -гидроксистероиддегидрогеназы в нейронах головного мозга крысы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т. 152, № 9. – С. 347-349.
 Ryzhavskii B. Ya., Litvintseva E.M. Histochemical detection of 3β -hydroxysteroid dehydrogenase in rat brain neurons // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2011. – Vol. 152, № 9. – P. 347-349.



5. Ryzhavsii B.Y., Zadornaya O.V. 3 β -Hydroxysteroid dehydrogenase in ependymocytes in the pavement of the lateral ventricles and villi of the vascular plexus in rats at different ages // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2013. – Vol. 43, № 7. – P. 860-868.
7. Tsutsui K., Ukena K., Usui M., Sakamoto H., Takase M. Novel brain function: biosynthesis and actions of neurosteroids in neurons // *Neuroscience Research*. – 2000. – Vol. 36, № 4. – P. 261-273.
8. Рыжавский Б.Я., Жильников Д.И. Активность 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы в слизистой оболочке разных отделов пищеварительной системы // *Дальневосточный медицинский журнал*. – 2023. – № 2. – С. 58-63.
Ryzhavsii B. Ya., Zhilnikov D.I. Activity of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in the mucous membrane of different parts of the digestive system // *Far Eastern Medical Journal*. – 2023. – № 2. – P. 58-63.
9. Pirog E.C., Collins D.C. Metabolism of dihydrotestosterone in human liver: importance of 3 α - and 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase // *J. Clin Endocrinol Metab*. – 1999. – Vol. 84 (9). – P. 3217-3221.
10. Holmquist A.J., Auld D.S., Vallee B.L. 3- β -Hydroxy-5 β -steroid dehydrogenase activity of human liver alcohol dehydrogenase is specific to gamma-subunits // *Biochemistry*. – 1988. – Vol. 27, № 12. – P. 4284-4288.
11. Dalla V., Toffolo V., Vianello S., Belvedere P., Colombo L.J. Expression of cytochrome P450c17 and other steroid-converting enzymes in the rat kidney throughout the life-span // *Steroid Biochem Mol Biol*. – 2004. – Vol. 91 (1-2). – P. 49-58.
12. Nishikawa T., Suematsu S., Saito J., Soyama A., Ito H., Kino T., Chrousos G. Human renal mesangial cells produce aldosterone in response to low-density lipoprotein (LDL) // *J Steroid Biochem Mol Biol*. – 2005. – Vol. 96 (3-4). – P. 309-316.
13. Руководство по гистологии. – СПб.: СпецЛит, 2009. – Т. 1. – 831 с.
Guide to histology. St. Petersburg: SpetsLit. – 2009. – Vol. 1. – 831 p.
14. Руководство по гистологии. – СПб.: СпецЛит, 2011. – Т. 2. – 511 с.
Guide to histology. Saint Petersburg. SpecialLit. – 2011. – Vol. 2. – 511 p.
15. Хэм А., Кормак Н. Гистология. – Филадельфия, Торонто: J.B. Company, 1983. – Т. 4. – 244 с.
Ham A., Cormack N. Histology. 1983. Philadelphia, Toronto. J.B. Company. – Vol. 4. – P. 244.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 12.03.2024.

The article was accepted for publication 12.03.2024.

