

**Влияние тиреоидных гормонов на пролиферативную и эстроген-  
синтезирующую активность клеток гранулезы коров *in vitro***

**Научный руководитель – Лебедева Ирина Юрьевна**

**Монтилла Елена Кястучо**

*Аспирант*

Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика  
Л.К. Эрнста, Лаборатория биологических проблем репродукции животных, поселок  
Дубровицы, Россия  
*E-mail: montvila94@bk.ru*

Репродуктивная функция самок млекопитающих зависит от соответствующей работы тиреоидной системы. Гормоны щитовидной железы способны непосредственно влиять на функцию яичника, что подтверждается экспрессией различных изоформ тиреоидного рецептора в овариальных клетках человека, мышей, свиней и коров. Исследования *in vitro* показали, что тиреоидные гормоны могут оказывать как позитивное, так и негативное действие на функциональное состояние и активность соматических и половых клеток овариальных фолликулов. Целью представленной работы было изучение влияния тироксина (Т4) или трийодтиронина (Т3) на пролиферативную и стероидогенную активность клеток гранулезы коров в культуре. Клетки гранулезы выделяли из фолликулов диаметром 1-5 мм. Для получения монослойной культуры клетки предварительно культивировали в течение двух суток на покровных стеклах в среде ТС-199, содержащей 10% сыворотки. Затем стекла с клетками помещали в среду без сыворотки, содержащую Т4 (25, 50, 100 и 200 нг/мл) или Т3 (0.5, 1, 2 и 4 нг/мл) и инкубировали в течение следующих 48 ч. После культивирования отбирали образцы культуральных сред для определения концентрации эстрадиола-17 $\beta$  методом ИФА. Клетки фиксировали 2%-ным раствором параформальдегида и пермеабелизировали 0,2%-ным раствором Тритона X-100. Неспецифическое связывание иммуноглобулинов блокировали путем обработки клеток 10%-ным раствором нормальной лошадиной сыворотки. Образцы инкубировали с первичными мышинными антителами к ядерному антигену пролиферирующих клеток PCNA и затем - со вторыми биотинилированными антителами (лошадиными антимышинными иммуноглобулинами). Для визуализации специфического связывания применяли Vectastain ABC reagent и коричневый хромофор DAB. Долю пролиферирующих клеток оценивали по числу клеток, окрашенных в коричневый цвет. Было обнаружено, что оба тиреоидных гормона оказывают дозозависимое ростостимулирующее влияние на клетки гранулезы коров. Тироксин в концентрации 50-100 нг/мл повышал в 2.0-2.1 раза долю PCNA-позитивных клеток ( $P < 0.05$ ), тогда как при 200 нг/мл доля таких клеток снижалась до контрольного уровня. Сходный характер влияния на пролиферативную активность клеток гранулезы был выявлен при воздействии трийодтиронина. Доля PCNA-позитивных клеток возрастала ( $P < 0.05$ ) в 1.9-2.8 раза в присутствии Т3 (0.5-2.0 нг/мл), достигая максимума при его содержании в среде 1 нг/мл ( $P < 0.001$ ). Увеличение гормональной концентрации до 4 нг/мл приводило к снижению числа клеток с позитивной реакцией на PCNA ( $P < 0.01$ ). В то же время содержание в среде эстрадиола-17 $\beta$ , известного регулятора пролиферации гранулезных клеток, возрастало лишь незначительно при воздействии Т4 и Т3 на клетки в культуре. Таким образом, тиреоидные гормоны в физиологических концентрациях способны оказывать ростостимулирующее влияние на клетки гранулезы из малых антральных фолликулов коров, которое не связано с продукцией эстрадиола-17 $\beta$ . Работа выполнена по государственному заданию (рег. ЦИТиС № АААА-А18-118021990006-9).