

**Влияние тиреоидных гормонов на функциональное состояние
культивируемых клеток гранулезы коров**

Научный руководитель – Лебедева Ирина Юрьевна

Монтивила 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

Любые нарушения в работе тиреоидной системы оказывают негативное влияние на воспроизводительную функцию самок. Помимо регуляции обмена веществ, тесно связанного с функционированием репродуктивной системы, гормоны щитовидной железы, очевидно, способны непосредственно влиять на клетки яичника, которые экспрессируют различные изоформы тиреоидного рецептора. Однако результаты исследований *in vitro* действия тиреоидных гормонов на овариальные клетки млекопитающих достаточно противоречивы и свидетельствуют о его видоспецифичности, а также о вызывании как позитивных, так и негативных эффектов. Целью представленной работы было изучение влияния тироксина (Т4) или трийодтиронина (Т3) на апоптотическую резистентность и секреторную 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% фетальной 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 половых стероидных гормонов 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 проапоптотическому белку Вах (Clone 2D2, Bio-Rad, USA) и затем - со вторыми биотинилированными антителами (лошадиными антимышиными иммуноглобулинами). Для визуализации специфического связывания применяли Vectastain ABC reagent и коричневый хромофор DAB. Долю Вах-позитивных клеток оценивали по числу клеток, окрашенных в коричневый цвет. При содержании в среде культивирования 50 нг/мл тироксина было выявлено возрастание относительного числа Вах-позитивных клеток гранулезы по сравнению с таковым в контроле (с 44.4 ± 1.7 до 55.9 ± 3.9 %, $p < 0,05$). При остальных тестируемых концентрациях действие гормона не было существенным. Доля Вах-позитивных клеток в культуре увеличивалась в присутствии 1 нг/мл трийодтиронина до 57.6 ± 6.5 % ($p < 0,05$) и затем снижалась до 41.8 ± 1.9 % ($p < 0,01$) при повышении концентрации последнего до 4 нг/мл. В то же время не было выявлено никакого влияния тироксина или трийодтиронина на содержание прогестерона и эстрадиола-17 β в среде, кондиционированной клетками. Таким образом, тиреоидные гормоны в физиологических концентрациях способны оказывать проапоптотическое действие на клетки гранулезы из малых антральных фолликулов коров, которое не связано с регуляцией продукции половых стероидных гормонов. Работа выполнена по государственному заданию (рег. ЦИТиС № АААА-А18-118021990006-9).