

---

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

---

УРОВНИ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ,  
ВОВЛЕЧЕННЫХ В РЕГУЛЯЦИЮ АКТИВНОСТИ ТИРЕОИДНОЙ  
СИСТЕМЫ, У САМЦОВ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ  
НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР И ВЛИЯНИЕ НА ЭТИ ПОКАЗАТЕЛИ  
АНТАГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА

© 2025 г. К. В. Деркач<sup>1,\*</sup>, А. С. Печальнова<sup>1</sup>, Е. Е. Черненко<sup>1</sup>,  
И. И. Зорина<sup>1</sup>, А. О. Шпаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,

Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: derkatch\_k@list.ru

Поступила в редакцию 03.10.2024 г.

После доработки 21.10.2024 г.

Принята к публикации 22.10.2024 г.

Адаптационные механизмы к длительному воздействию низких температур, направленные на усиление термогенеза и изменение метаболизма, включают повышение активности гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной (ГГТ) оси. В связи с этим актуальными задачами являются изучение баланса тиреоидных гормонов (ТГ), экспрессии и активности ферментов, ответственных за их синтез в щитовидной железе (ЩЖ), экспрессии основных компонентов ГГТ оси, а также исследование влияния антагонистов рецептора тиреотропного гормона (ТТГ) на эти показатели при их введении животным, находящимся в условиях воздействия холода. Целью работы было изучить уровни ТТГ и ТГ в крови и экспрессию гипоталамических, гипофизарных и тироидальных генов, вовлеченных в синтез и секрецию ТТГ и ТГ, у самцов крыс, подвергнутых 10-дневному воздействию низких температур (+5°C), а также оценить влияние на эти показатели однократной обработки животных тиено[2,3-д]-пириимидиновым производным TRY1, разработанным нами аллостерическим антагонистом рецептора ТТГ. У крыс, подвергнутых воздействию холода, развивался Т3(трийодтиронин)-гипертриеоз, который был ассоциирован со снижением уровня тироксина вследствие усиления его конверсии в Т3, на что указывает повышение соотношения Т3/Т4 и экспрессии дейодиназы 2-го типа (DIO2) в ЩЖ. В сравнении с контролем в ЩЖ гипертриеоидных крыс повышалась экспрессия генов *Tg* и *Nis*, кодирующих тиреоглобулин и  $\text{Na}^+/\text{I}^-$ -симпортер. TRY1 нормализовал уровень Т3 и снижал экспрессию *Tg* и *Nis*, что указывает на снижение им ТТГ-стимулированной активности рецептора ТТГ. TRY1 также повышал экспрессию генов  $\beta$ -субъединицы ТТГ и рецептора тиролиберина в гипофизе, что может быть обусловлено более высоким порогом чувствительности тиреотрофов к ингибирующему влиянию Т3 в условиях длительного Т3-гипертриеоза. Особенностью холод-индуцированного Т3-гипертриеоза у крыс были тканевая специфичность изменений экспрессии гена *DIO2* – ее повышение в ЩЖ и снижение в гипоталамусе, а также сохранение повышенной экспрессии гена *DIO2* в ЩЖ после обработки TRY1. Таким образом, длительное воздействие холодом приводит к развитию у крыс выраженного Т3-гипертриеоза с повышенной экспрессией генов, ответственных за синтез ТГ, причем обработка аллостерическим антагонистом рецептора ТТГ в значительной степени нормализует эти показатели.

**Ключевые слова:** холодовая адаптация, тиреоидный гормон, гипертриеоз, рецептор тиреотропного гормона, щитовидная железа, аллостерический антагонист, дейодиназа

**DOI:** 10.31857/S0869813925010079, **EDN:** UKABVX

## ВВЕДЕНИЕ

Гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная (ГГТ) система и продуцируемые ею тиреоидные гормоны (ТГ) играют ведущую роль в регуляции обмена веществ и в поддержании энергетического баланса. В соответствии с этим важнейшей функцией ГГТ системы является как краткосрочная, так и долговременная адаптация организма человека и животных к меняющимся условиям окружающей среды, в том числе к изменениям температурного режима. Получены многочисленные свидетельства того, что активность ГГТ системы и регуляторные влияния в ней в значительной степени меняются как при перегревании организма, так и при его охлаждении, в том числе в условиях длительного нахождения при низких температурах [1–4]. При воздействии холода включаются механизмы адаптивного термогенеза, в основе которых лежит усиление продукции эффекторного гормона тиреоидной оси – трийодтиронина (Т3) [5]. Повышение уровня Т3 обусловлено усилением конверсии синтезируемого щитовидной железой (ЩЖ) тироксина (Т4) в Т3. Этот процесс катализируется дейодиназами 1-го (DIO1) и 2-го типа (DIO2), причем DIO2 отвечает за синтез Т3 преимущественно в ЩЖ и буром жире, в то время как DIO1 – в печени и белом жире [5–8]. Экспрессия и стимуляция активности DIO2 в буром жире и DIO1 в печени индуцируются холодовым воздействием через посредство активации симпатической нервной системы [5, 9]. Повышение активности DIO2 в буром жире обусловлено необходимостью стимуляции Т3-индуцированного липолиза, направленного на усиление выработки тепла, а также на интенсификацию и оптимизацию метаболизма липидов. Так, локально повышенный в буром жире уровень Т3 повышает экспрессию разобщающих белков-1 и -3 (UCP-1, UCP-3), регуляторов окислительного фосфорилирования, усиливая митохондриальную динамику и термогенез [5, 9–11].

Следует, однако, отметить, что несмотря на доминирующую точку зрения о развитии гипертиреоидного состояния при воздействии холода на организм человека и животных, информация о балансе ТГ и паттерне изменений экспрессии и активности ферментов, ответственных за их продукцию, весьма противоречива, что во многом обусловлено проведением экспериментов на различных моделях холодового воздействия с различной продолжительностью. Большинство исследований выполнены на моделях краткосрочного холодового воздействия [8, 9, 12], в то время как длительное воздействие холода и вызванный этим адаптивный термогенез практически не изучены. Отсутствуют данные об изменениях в экспрессии генов ГГТ оси, прямо или опосредованно вовлеченных в регуляцию синтеза и секреции ТТГ и ТГ. Нет сведений о влиянии различных фармакологических агентов на функции тиреоидной системы при длительном охлаждении организма, что может быть полезно как в отношении понимания молекулярных механизмов изменения активности различных компонентов ТТГ оси и тиреоидного статуса в условиях нахождения организма при низких температурах, так и в отношении контроля уровня ТГ в этих условиях. Кроме того, модель индуцированного низкими температурами гипертиреоза может быть пригодна для тестирования антагонистов и инверсионных агонистов рецептора ТТГ, действующих на этапе ТТГ-опосредуемой активации системы синтеза ТГ в ЩЖ.

Целью работы было изучить уровни ТТГ и ТГ в крови и экспрессию гипоталамических, гипофизарных и тироидальных генов, вовлеченных в синтез и секрецию ТТГ и ТГ, у самцов крыс, подвергнутых воздействию низких температур (+5°C) на протяжении 10 дней, а также оценить влияние на эти показатели соединения TPY1, наделенного активностью аллостерического антагониста рецептора ТТГ. Ранее было показано, что TPY1 снижает стимулированную тиролиберином (TRH) продукцию ТГ, но слабо влияет на их базовые уровни, что важно во избежание развития дефицита ТГ [13].

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Соединение 5-амино-*N*-(*трет*-бутил)-4-(4-(3-метоксипроп-1-ин-1-ил)фенил)-2-(метиотио)тиено-[2,3-*d*] пиридин-6-карбоксамид (TPY1) синтезировали из 5-амино-4-(3-аминофенил)-*N*-*трет*-бутил-2-(метилсульфанил)тиено[2,3-*d*]пиридин-6-карбоксамида, как описано ранее [13]. Структуру TPY1 подтверждали данными масс-спектрометрии высокого разрешения (ESI<sup>+</sup>, 100 В, метанол): найдено – 463.1238 [M + Na]; рассчитано для C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>Na – 463.1233.

Для экспериментов были взяты самцы крыс Wistar в возрасте 3 месяца, которые на 10 дней были помещены в освещаемую камеру (12 ч день/12 ч ночь) с температурой воздуха +5°C. В качестве группы сравнения использовали самцов крыс того же возраста, которые содержались в тех же условиях, но при нормальной температуре 22 ± 2°C. Во избежание дополнительных стрессовых воздействий, вызванных изоляцией, животные располагались в клетках по 5 крыс в каждой. В обеих (экспериментальной и контрольной) группах было по 10 животных. Животные обеих групп имели свободный доступ к пище (стандартный сухой гранулированный корм) и питьевой воде (режим *ad libitum*).

В экспериментальной группе до помещения в камеру с низкой температурой (0-й день) и после 10-дневного пребывания в крови животных оценивали уровни ТТГ и ТГ – свободного и общего тироксина (fT4, tT4) и свободного и общего трийодтироина (fT3, tT3). Уровни гормонов в крови контрольных крыс оценивали в те же временные сроки. Для оценки уровня ТТГ использовали ИФА-наборы фирм «Cusabio Biotech Co., Ltd» (Китай), для измерения уровней ТГ – наборы фирмы «Иммунотех» (Россия). Образцы крови забирали из хвостовой вены под местным наркозом (2%-ный раствор лидокаина, 2 мг/кг).

Экспериментальную группу крыс случайным образом делили на две группы животных (в каждой *n* = 5): крысы, которые не подвергались обработке с помощью TPY1 и которым вместо TPY1 вводили его растворитель ДМСО (200 мкл) («Cold»), и крысы, которым внутрибрюшинно вводили TPY1 в дозе 25 мг/кг (в 200 мкл ДМСО) («Cold+TPY»). Препарат вводили крысам, которые продолжали находиться в камере с низкой температурой. Концентрации ТГ в группах «Cold» и «Cold+TPY» оценивали через 2 и 3.5 ч после введения препарата. В конце эксперимента животных извлекали из камеры и наркотизировали с помощью хлоралгидрата (доза 400 мг/кг, в/б), декапитировали и забирали образцы тканей гипоталамуса и щитовидной железы для оценки экспрессии целевых генов. Аналогичную процедуру осуществляли и с контрольными животными («Control»), случайным образом отбирая 5 крыс.

Экспрессию целевых генов в тканях щитовидной железы и гипоталамуса крыс оценивали с помощью количественной ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией. Для этого из этих тканей выделяли тотальную РНК, для чего использовали реагент «ExtraRNA» («Evrogen», Россия). Процедуру обратной транскрипции осуществляли с использованием набора реагентов «MMLV RT Kit» («Evrogen», Россия). Амплификацию проводили в инкубационной смеси, которая включала 10 нг продукта ПЦР, по 0.4 мКМ прямого и обратного праймеров и реагент «qPCRmix-HS SYBR+LowROX» («Евроген», Россия). Для детектирования сигнала использовали прибор 7500 Real-Time PCR System («Thermo Fisher Scientific Inc.», США). В качестве генов домашнего хозяйства были взяты гены, кодирующие 18S-рРНК (*18S rRNA*) и β-актин (*Actb*). Для оценки экспрессии целевых генов использовали следующие последовательности комплементарных кДНК прямого и обратного праймеров: для гена тиреоглобулина (*Tg*) – GCCCTAACTCATCCGTCCA (For) и TGTGATAAGCCCATCGTCCT (Rev); для гена Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup>-симпортера (*Nis*) – AAGTGACCGGGTTGGACATC (For) и AGCCAACGAGCATTACCA (Rev), для гена дейодиназы 2-го типа (*DIO2*) – CGTCATCCTCAAGTGTCCCC (For) и TGGTACGCGCACATTACCTT (Rev);

для гена дейодиназы 3-го типа (*DIO3*) – GCCCGTTGGTGCTCAATT (For) и CTGTGGGATGACGTAGGGTG (Rev); для гена рецептора тиролиберина (*Trhr1*) – CCAAGCTAGCTCATAGGCC (For) и GCATGCAAGTCAACAGGGTG (Rev); для гена протиролиберина (*pro-Trh*) – AGGAGCTCTGGAACGTCTGAT (For) и AGCGTCAATGTCACACTCGG (Rev); для гена  $\beta$ -субъединицы TTF (*Tsh\beta*) – TTGTTGGCAAGTGTACATCGT (For) и GCAGTAGGCACACTCTCC (Rev). Полученные данные рассчитывали методом  $\Delta\Delta C_t$ , значения RQ рассчитывали по отношению к экспрессии соответствующего гена вЩЖ, гипоталамусе или гипофизе крыс контрольной группы, которую принимали за единицу.

Статистический анализ проводили с помощью программы IBM SPSS Statistics 26 («IBM», США). Нормальность распределения проверяли, используя критерий Шапиро–Уилка. Все данные имели нормальное распределение, вследствие чего для сравнения групп использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Данные представляли как  $M \pm SEM$ , различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Уровни тироксина, общего (tT4) и свободного (fT4), в крови крыс, которые в течение 10 дней находились на холодае, значимо снижались по сравнению с таковыми у соответствующего контроля и экспериментальной группы до помещения животных в камеру с охлаждением (табл. 1). Уровень tT3, напротив, повышался в сравнении с таковым в контроле и в экспериментальной группе до воздействия холода, в то время как уровень fT3 значимо не менялся, хотя и имел тенденцию к повышению (табл. 1). Уровни TTF в исследуемых группах существенно не менялись (табл. 1). При этом после 10-дневного воздействия холода заметно возрастали соотношения концентраций tT3/TTF и fT3/TTF – в среднем на 63–83%, что указывает на индуцированное холодом развитие у животных T3-гипертиреоза. Кроме того, повышались соотношения fT3/fT4 и tT3/tT4 на 61 и 92% соответственно, что свидетельствует в пользу интенсивной конверсии T4 в T3.

**Таблица 1.** Уровни тиреоидных гормонов и тиреотропного гормона в крови крыс после 10-дневной экспозиции в камере при температуре +5°C в сравнении с таковыми до экспозиции и с контрольной группой

Гормон	«Control» *	«Cold» (исходная нулевая точка)	«Cold» (через 10 дней)
fT4, пМ	$39.5 \pm 1.4$	$39.7 \pm 1.3$	$31.2 \pm 2.3$ <sup>a,b</sup>
tT4, нМ	$52.9 \pm 2.1$	$54.4 \pm 2.5$	$35.6 \pm 1.8$ <sup>a,b</sup>
fT3, пМ	$2.95 \pm 0.23$	$3.08 \pm 0.33$	$3.90 \pm 0.39$
tT3, нМ	$2.56 \pm 0.12$	$2.72 \pm 0.11$	$3.41 \pm 0.11$ <sup>a,b</sup>
TTF, мкЕД/мл	$1.14 \pm 0.19$	$1.08 \pm 0.19$	$0.83 \pm 0.14$

Примечание. \* – значения ТГ в крови в контрольной группе крыс через 10 дней после начала эксперимента. Эти значения не отличаются от исходных уровней гормонов как в контрольной группе животных (не используются для анализа), так и в экспериментальной группе «Cold» до начала экспозиции при низких температурах. Различия с группой «Control» <sup>(a)</sup> и с группой «Cold» до помещения в камеру с низкими температурами <sup>(b)</sup> статистически значимы при  $p < 0.05$ .  $M \pm SEM$ ,  $n = 10$ .

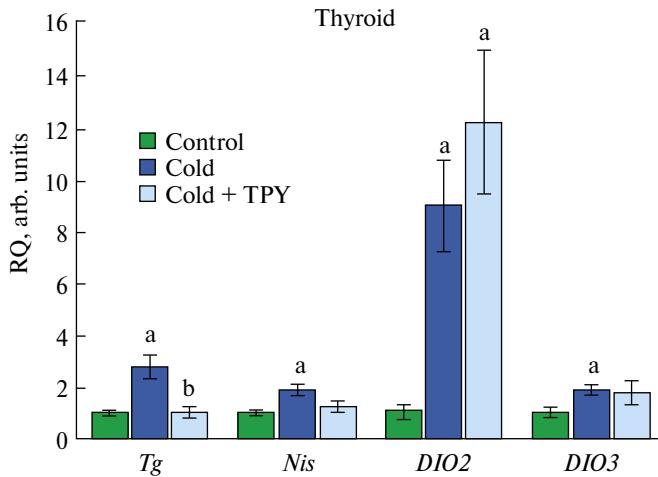
Обработка крыс низкомолекулярным аллостерическим антагонистом TPY1 после их 10-дневного пребывания в камере с низкими температурами через 3.5 ч приводила к нормализации уровня обеих форм Т3, существенно повышенных в результате воздействия холодом (табл. 2). При этом TPY1 в меньшей степени влиял на уровни тироксина, которые были и так значимо понижены при содержании животных при низких температурах. Необходимо отметить, что через 2 ч после обработки TPY1 изменений в уровнях ТГ отмечено не было (табл. 2). Тем самым TPY1 нормализует уровень Т3, эффекторного гормона тиреоидной оси, и не вызывает тиреоидного дефицита, поскольку уровни fT3 и tT3 соответствуют контрольным их значениям.

**Таблица 2.** Влияние TPY1 (25 мг/кг, однократно, внутрибрюшинно), аллостерического антагониста рецептора ТТГ, на уровни тиреоидных гормонов в крови крыс с Т3-гипертиреозом, вызванным длительным холодовым воздействием, через 2 и 3.5 ч после обработки им животных на 10-й день холодового воздействия

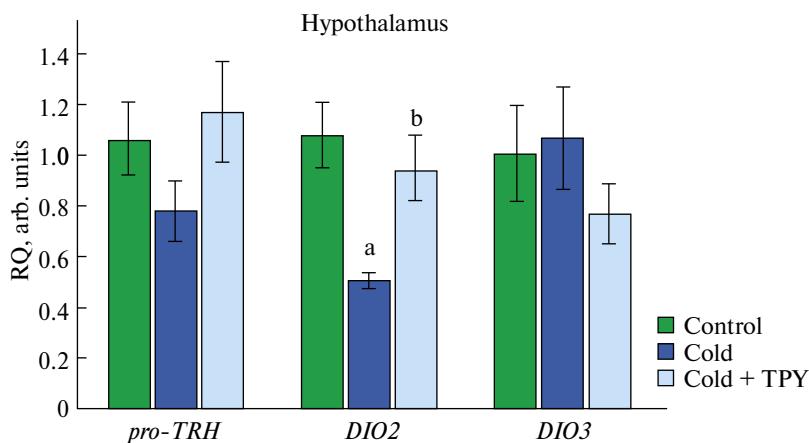
Группа	До холодового воздействия	Через 10 дней холодового воздействия	Через 2 ч после введения ДМСО или TPY1	Через 3.5 ч после введения ДМСО или TPY1
Свободный тироксин (fT4), пМ				
«Cold»	39.6 ± 2.3	29.4 ± 3.8 <sup>a</sup>	28.5 ± 1.1 <sup>a</sup>	27.7 ± 1.5 <sup>a</sup>
«Cold+TPY»	39.9 ± 1.5	33.0 ± 3.0 <sup>a</sup>	36.3 ± 1.8	31.7 ± 1.8 <sup>a</sup>
Общий тироксин (tT4), нМ				
«Cold»	50.5 ± 3.6	34.7 ± 2.4 <sup>a</sup>	33.6 ± 1.9 <sup>a</sup>	33.1 ± 2.2 <sup>a</sup>
«Cold+TPY»	58.3 ± 2.7	36.4 ± 2.8 <sup>a</sup>	34.0 ± 1.7 <sup>a</sup>	29.7 ± 0.9 <sup>a</sup>
Свободный трийодтиронин (fT3), пМ				
«Cold»	3.13 ± 0.49	3.94 ± 0.44	3.92 ± 0.31	3.61 ± 0.35
«Cold+TPY»	3.03 ± 0.51	4.14 ± 0.40	4.82 ± 0.61	2.98 ± 0.13 <sup>b</sup>
Общий трийодтиронин (tT3), нМ				
«Cold»	2.70 ± 0.15	3.29 ± 0.18 <sup>a</sup>	3.48 ± 0.15 <sup>a</sup>	3.35 ± 0.21
«Cold+TPY»	2.74 ± 0.16	3.53 ± 0.11 <sup>a</sup>	3.27 ± 0.11 <sup>a</sup>	2.71 ± 0.21 <sup>b</sup>

Примечание. В группе «Cold» через 2 и 3.5 ч вводили ДМСО, в группе «Cold+TPY» через 2 и 3.5 ч вводили TPY1 (25 мг/кг). Различия со значениями гормонов до (<sup>a</sup>) и после 10-дневного холодового воздействия (<sup>b</sup>) статистически значимы при  $p < 0.05$ .  $M \pm SEM$ ,  $n = 5$ .

Изучение экспрессии генов в основных звеньях ГГТ оси у крыс после длительного холодового воздействия позволило получить следующие результаты (рис. 1–3). В гипоталамусе отмечали двукратное снижение экспрессии гена *DIO2*, кодирующего DIO2, и отсутствие значимых изменений в экспрессии генов *pro-Trh* и *DIO3*, кодирующих протиролиберин (про-TRH) и DIO3 (рис. 1). Экспрессия генов *Trhr1* и *Tshβ*, кодирующих рецептор TRH и β-субъединицу ТТГ, в гипофизе не менялась (рис. 2), в то время как в щитовидной железе отмечали значительное повышение экспрессии генов тиреоглобулина,  $\text{Na}^+/\text{I}^-$ -симпортера и дейодиназы 2-го типа, ответственных за синтез ТГ, и сравнительно небольшое повышение экспрессии гена *DIO3* (рис. 3).



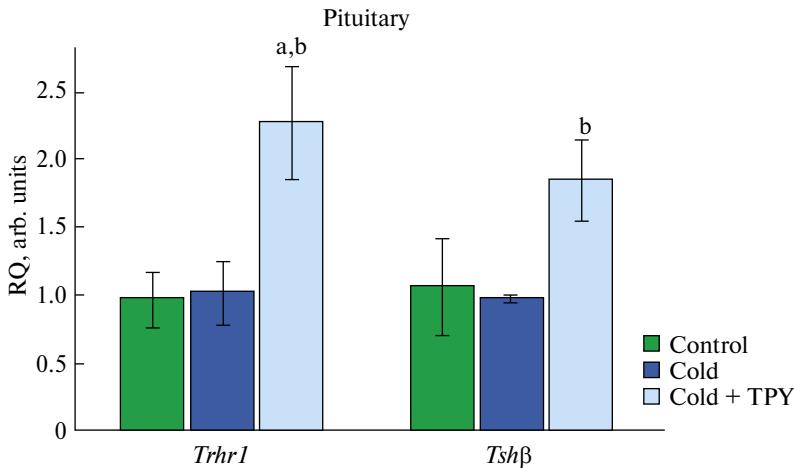
**Рис. 1.** Экспрессия генов протиролиберина и дейодиназ 2-го и 3-го типов в гипоталамусе крыс после длительного холодового воздействия и влияние на нее однократной обработки TPY1 (25 мг/кг, внутрибрюшинно). Различия с группой «Control» (<sup>a</sup>) и с группой «Cold» (<sup>b</sup>) статистически значимы при  $p < 0.05$ .  $M \pm SEM$ ,  $n = 5$ .



**Рис. 2.** Экспрессия генов рецептора TRH и  $\beta$ -субъединицы тиреотропного гормона в гипофизе крыс после длительного холодового воздействия и влияние на нее однократной обработки TPY1 (25 мг/кг, внутрибрюшинно). Различия с группой «Control» (<sup>a</sup>) и с группой «Cold» (<sup>b</sup>) статистически значимы при  $p < 0.05$ .  $M \pm SEM$ ,  $n = 5$ .

Обработка TPY1 приводила к нормализации экспрессии гена *DIO2* в гипоталамусе (рис. 1), значимо усиливала экспрессию генов *Trhr1* и *Tsh $\beta$*  в гипофизе (рис. 2), а также вызывала ослабление экспрессии генов тиреоглобулина и  $\text{Na}^+/\text{I}^-$ -симпортера в ЩЖ, при этом сохраняя высокий уровень экспрессии гена *DIO2* (рис. 3). Тем самым длительное пребывание животных на холодах приводило к существенному изменению экспрессии гена, кодирующего фермент *DIO2*, ответственный за конверсию T4 в T3, в гипоталамусе и ЩЖ, причем в исследуемых тканях это влияние было разнонаправленным. Наряду с этим усиливалась экспрессия генов, кодирующих белки, вовлеченные в синтез ТГ –

тиреоглобулина и  $\text{Na}^+/\text{I}^-$ -симпортера. Обработка TPY1 приводила к ослаблению этих изменений, за исключением сохранения повышенной экспрессии гена *DIO2*.



**Рис. 3.** Экспрессия генов тиреоглобулина, натрий-йодидного симпортера и дейодиназ 2-го и 3-го типов в щитовидной железе крыс после длительного холодового воздействия и влияние на нее однократной обработки TPY1 (25 мг/кг, внутрибрюшинно).

Различия с группой «Control» (<sup>a</sup>) и с группой «Cold» (<sup>b</sup>) статистически значимы при  $p < 0.05$ .  $M \pm SEM$ ,  $n = 5$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Длительное снижение температуры окружающей среды приводит к запуску комплекса компенсаторных процессов, важную роль среди которых играет усиление термогенеза и распределение энергетических ресурсов в организме. Поскольку ключевую роль в регуляции термогенеза и энергетического обмена играет тиреоидная система, ее активность значительно меняется при длительном охлаждении, что подтверждают многочисленные свидетельства, полученные как при обследовании людей, так и экспериментальных животных [1, 8, 9, 14, 15]. При этом продолжительность и выраженность воздействия низких температур, функциональное состояние надпочечниковой оси и ряд других факторов оказывают значимое влияние на характер адаптационных изменений в уровне ТГ и в активности всей ГГТ оси. Нами показано, что 10-дневное пребывание крыс в камере с низкой температурой (+5°C) приводит к повышению у них уровня тТ3 в крови и соотношений уровней Т3 и ТТГ, что указывает на развитие у животных Т3-гипертиреоза (табл. 1, 2). Важно, что у животных при этом значительно снижалась концентрация обеих форм Т4. Это свидетельствует об изменении соотношения ТГ как основной характеристики холод-индуцированного гипертиреоидного состояния, что, как мы полагаем, обусловлено усилением конверсии Т4 в Т3, катализируемой *DIO2*.

Другие авторы также отмечали значительное повышение уровня Т3 в условиях как острого, так и хронического охлаждения у человека [1, 13, 16] и экспериментальных животных [3, 6–8, 11, 15, 17, 18]. Довольно неожиданным было обнаружение того, что уровень Т3 в условиях 12-часовой экспозиции крыс в камере с температурой +8°C повышался даже у крыс с гипертиреозом, обусловленным неонатальной гиперлептинемией [7]. Однако степень выраженности повышения уровня Т3, а также

сопутствующие уровни тироксина сильно варьировали [15]. Так, например, у людей, находившихся в течение 42 недель в арктических широтах, отмечали значимое повышение уровня Т3, в то время как уровень тироксина демонстрировал тенденцию к снижению, но различия с контрольной группой не были значимыми [14]. У крыс с моделью холод-индуцированного гипертиреоза, которая, как и наша модель, имела продолжительность 10 дней, было показано отсутствие значимых изменений в уровне Т4, но продемонстрировано значимое повышение уровня Т3 [18]. Следует, однако, отметить, что авторы оценивали только свободные формы ТГ.

Причиной вариабельности соотношения и уровней ТГ при холодовом воздействии являются различные ответы на него гипоталамических звеньев ГГТ оси и различный паттерн изменений экспрессии DIO2 и ее функциональной активности в периферических тканях, что определяется многими факторами, включая продолжительность холодового воздействия, воздействие хронического стресса, гормональный статус [15, 19]. В условиях краткосрочного воздействия низких температур наблюдается мощная активация ГГТ оси, что выражается в значительном повышении активности нейронов паравентрикулярных ядер гипоталамуса, продуцирующих TRH, как гипофизотропных, ответственных за TRH-индуцированное высвобождение тиреотропина ТТГ, так и негипофизотропных, вовлеченных в регуляцию энергетического обмена и термогенеза бурого жира [15, 19, 20]. Повышение выброса гипоталамическими нейронами TRH в ответ на холодовое воздействие приводит к повышению секреции ТТГ и интенсифицирует продукцию ТГ вЩЖ [15, 21]. Однако это справедливо для острого воздействия холода и в условиях отсутствия влияния других факторов стресса. Так, через 1 ч после холодового воздействия уровень мРНК для про-TRH в гипоталамусе крыс значительно повышается, но уже через 2 ч начинает возвращаться к нормальным значениям, что синхронизировано с колебаниями уровней ТГ [22]. Острый стресс, в том числе вызванный введением кортикостероидов, притуплял ответ ГГТ оси на воздействие холода [23]. Сходный эффект имел и хронический стресс, который предотвращал повышение экспрессии гена *pro-TRH* в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса и обусловленное этим увеличение уровня ТТГ в крови [12, 17]. Ослабление ответа ГГТ оси на воздействие холода отмечали и при обработке самок крыс эстрadiолом, который блокировал индуцированное холода повышение экспрессии гена *pro-Trh*, что не только указывает на зависимость ГГТ ответа на холода от гормонального статуса, но и свидетельствует о его гендерной специфичности [17]. Нами у крыс с 10-дневным пребыванием в камере при температуре +5°C не было выявлено изменений экспрессии гена *pro-Trh* в гипоталамусе (рис. 1), экспрессии гена *Tshβ*, кодирующего β-субъединицу ТТГ, в гипофизе (рис. 2), а также повышения уровня ТТГ в крови (табл. 1), что свидетельствует об отсутствии признаков гиперактивации гипоталамических звеньев ГГТ оси при длительном холодовом воздействии. Это может быть обусловлено запуском компенсаторных механизмов, ослабляющих стимулирующее влияние такого воздействия на активность TRH-экспрессирующих нейронов, и ингибирующим эффектом на него хронического стресса, вызванного длительной экспозицией при низких температурах.

Ослабление ответа гипоталамического звена ГГТ оси на холодовое воздействие переключает адаптационные механизмы на повышение продукции Т3 на периферии, в первую очередь в буром жире, где осуществляется термогенез. Так, в условиях холода повышается активность DIO2, а также ее экспрессия в буром жире, что впервые было показано еще в 1988 г. бразильскими учеными [6] и в дальнейшем получило многочисленные подтверждения [6, 9, 11]. При этом данные об экспрессии и активности DIO2 в других периферических тканях при холодовом воздействии фрагментарны, в том числе вЩЖ, где изначально осуществляется синтез значительной части пул Т3, циркулирующего в крови [8, 15]. Нами показано значительное повышение (более чем в 8 раз) экспрессии гена *DIO2* вЩЖ крыс, подвергшихся 10-дневному охлаждению (рис. 3), чем и обусловлено снижение уровня Т4 и повышение уровня Т3 в крови жи-

вотных, что характеризуется как системный Т3-гипертиреоз. Тем самым еще на уровне синтеза ТГ в тироцитах отмечается резкое повышение соотношения Т3/Т4, вызванное DIO2-катализируемой конверсией Т4 в Т3 в щитовидной железе. Имеются основания полагать, что усиление конверсии Т4 в Т3 в буром жире и других периферических тканях, мишених ТГ, может приводить также к локальному (тканевому) Т3-гипертиреозу. Наряду с повышением экспрессии гена *DIO2* в ткани щитовидной железы нами показано повышение экспрессии генов, кодирующих тиреоглобулин и  $\text{Na}^+/\text{I}$ -симпортер, ответственных за синтез тироксина тироцитами, а также повышение экспрессии гена *DIO3*, кодирующего DIO3, осуществляющую конверсию Т4 в активной формы Т3 (3,3',5-Т3) в неактивные их метаболиты (рис. 3). Это указывает на повышение продукции ТГ и на высокую интенсивность их метаболизма при длительном воздействии низких температур.

Важно отметить, что в отличие от щитовидной железы экспрессия гена, кодирующего DIO2, в гипоталамусе снижалась в 2 раза (рис. 1), это указывает на тканевую специфичность изменений экспрессии и активности фермента при длительном холодовом воздействии. Это хорошо согласуется с наблюдением других авторов о снижении внутригипоталамического содержания ТГ у крыс, находящихся под воздействием низких температур [8].

При индуцированной холодом модели Т3-гипертиреоза система синтеза ТГ в щитовидной железе, основным компонентом которой является рецептор ТТГ, не подвержена каким-либо фармакологическим воздействиям, мишенью которых являлись бы рецептор ТТГ или пострецепторные стадии ТТГ-индуцированной сигнальной трансдукции. Вследствие этого представляло интерес оценить влияние на нее разработанного нами соединения TPY1, производного тиено[2,3-d]-пиримидина, наделенного активностью аллостерического антагониста рецептора ТТГ [13]. Подобно другим тиено[2,3-d]-пиримидиновым производным с активностью аллостерических регуляторов рецептора ТТГ, TPY1 взаимодействует с аллостерическим сайтом рецептора, локализованным внутри трансмембранных каналов. Этот сайт не перекрывает с расположенным во внеклеточном домене высокоаффинным ортоаллостерическим сайтом, мишенью для ТТГ и стимулирующим антител к рецептору ТТГ [24]. В связи с этим эффекты TPY1 и структурно близких ему соединений на ТТГ-индуцированную сигнальную трансдукцию обусловлены их влиянием на устойчивость активированных гормоном конформаций рецептора и(или) на процесс передачи волны конформационных перестроек с лиганд-связанным ортоаллостерическим сайтом рецептора к трансдукторным и адаптерным белкам, функционально сопряженным с рецептором ТТГ (гетеротримерные G-белки,  $\beta$ -аррестины) [25]. Необходимо отметить, что ранее влияние аллостерических антагонистов или инверсионных агонистов рецептора ТТГ на тиреоидный статус и компоненты ГТГ оси у животных с различными по этиологии и патогенезу формами гипертиреоза не изучалось. Тестирование таких соединений ограничивалось экспериментами на культурах клеток [13, 26–28] или на здоровых животных с эутиреоидным статусом [13, 28–30].

В настоящем исследовании нами показано, что однократное введение TPY1 через 3.5 ч приводило к нормализации повышенных при индуцированном холодом Т3-гипертиреозе уровней fT3 и tT3, в незначительной степени влияя на уровень тироксина (табл. 2). При обработке крыс с помощью TPY1 в щитовидной железе отмечали сохранение высокого уровня экспрессии гена *DIO2*, что свидетельствует об интенсивности конверсии Т4 в Т3. В то же время повышенная в группе «Cold» экспрессия генов *Tg* и *Nis*, вовлеченных в синтез тироксина, в группе «Cold+TPY1» нормализовалась (рис. 3). Поскольку экспрессия генов, кодирующих тиреоглобулин и  $\text{Na}^+/\text{I}$ -симпортер, находится под контролем ТТГ [31–34], то ее снижение в группе «Cold+TPY1» обусловлено TPY1-индуцированным ингибированием ТТГ-стимулированной активности рецептора ТТГ в тироцитах. Необходимо, однако, отметить, что в норме ТТГ через рецептор ТТГ стимулирует и экспрессию гена *DIO2* [35], в связи с чем сохранение высокого уровня его экспрессии в щитовидной железе группы «Cold+TPY1» требует дальнейшего изучения.

TPY1 повышал экспрессию генов, кодирующих рецептор TRH и  $\beta$ -субъединицу ТТГ в гипофизе, в результате чего она значимо превосходила таковую в контроле (*Trhr1*) или в группе «Cold» (*Tsh $\beta$* ) (рис. 2). Как можно полагать, это обусловлено вызываемой TPY1 нормализацией уровня Т3, который по механизму отрицательной обратной связи ингибирует экспрессию как гена *Trhr1* [36], так и гена *Tsh $\beta$*  [37,38]. Тем самым TPY1, ослабляя Т3-гипертиреоз, способствовал повышению чувствительности тиреотрофов adenогипофиза к гипоталамическому TRH, а также стимулировал продукцию ими ТТГ. Достаточно необычно то, что уровни Т3 в группах «Cold+TPY1» и «Control» являются сходными, а экспрессия генов *Trhr1* и *Tsh $\beta$*  в группе «Cold+TPY1» повышена. В свою очередь, экспрессия этих генов в группах «Cold» и «Control» не различается, несмотря на значительное различие тиреоидного статуса. Возможным объяснением этого является то, что в гипофизе крыс группы «Cold» в условиях длительного повышения уровня Т3 сформировались компенсаторные механизмы регуляции экспрессии Т3-зависимых генов, направленные на повышение порога ее чувствительности к негативному влиянию Т3. Вследствие этого резкое снижение уровня этого гормона в группе «Cold+TPY1» в сравнении с таковым в группе «Cold» и привело к стимуляции экспрессии генов *Trhr1* и *Tsh $\beta$* . В то же время следует отметить, что обработка TPY1 существенно не повлияла на экспрессию про-TRH в гипоталамусе, хотя известно, что синтез и секреция TRH в значительной степени определяются уровнем тиреоидных гормонов. С другой стороны, имеются и другие механизмы, вовлеченные в контроль продукции TRH, в том числе прогормон-конвертазы 1-го и 2-го типов, осуществляющие сайт-специфичный протеолиз молекулы про-TRH и ответственные тем самым за генерацию «зрелого» TRH [39]. Среди регуляторов прогормон-конвертаз важнейшую роль играют лептин, инсулин, меланокортиковые пептиды и нейропептид Y, уровни которых в ЦНС существенно меняются при различных физиологических состояниях [39–41]. Все это требует дальнейших исследований с оценкой динамики изменения интрагипоталамических уровней лептина и инсулина и экспрессии орексигенных и анорексигенных факторов в гипоталамусе.

Таким образом, 10-дневное воздействие на крыс низких температур приводит к развитию Т3-гипертиреоза, для которого характерно снижение уровня тироксина вследствие ускорения его конверсии в Т3. На это указывают повышение соотношений Т3/Т4 в среднем на 65–92% и восьмикратное повышение экспрессии *DIO2* в ЩЖ. В ЩЖ гипертиреоидных крыс повышается экспрессия генов белков, ответственных за синтез ТГ (тиреоглобулина,  $\text{Na}^+/\text{I}$ -симпортера), и компенсаторно усиливается экспрессия гена *DIO3*, кодирующего *DIO3*, ответственную за деградацию Т4 и Т3. Обработка крыс TPY1, аллостерическим антагонистом рецептора ТТГ, нормализует уровень Т3 и снижает экспрессию генов тиреоглобулина и  $\text{Na}^+/\text{I}$ -симпортера, что указывает на вызываемое TPY1 снижение активности рецепторов ТТГ. TPY1-обработка также повышает экспрессию генов  $\beta$ -субъединицы ТТГ и рецептора TRH в гипофизе, что может быть обусловлено сформировавшимся в течение длительного Т3-гипертиреоза более высоким порогом чувствительности тиреотрофов гипофиза к ингибирующему (по механизму отрицательной обратной связи) влиянию Т3, вследствие чего снижение уровня этого гормона при обработке TPY1 и способствует активации синтеза ТТГ. Особенностью индуцированного холдом Т3-гипертиреоза являются тканевая специфичность изменений экспрессии гена *DIO2* (повышение в ЩЖ и снижение в гипоталамусе), а также сохранение повышенной его экспрессии в ЩЖ после обработки TPY1. Все это указывает на то, что контроль экспрессии и активности *DIO2* в условиях холд-индуцированного Т3-гипертиреоза не ограничивается отрицательными обратными связями, контролирующими активность компонентов ТТГ оси, и, как можно полагать, включает и другие регуляторные пути.

## БЛАГОДАРНОСТИ

ЯМР и масс-спектрометрические исследования ТРУ1 проведены с использованием оборудования ресурсных центров Санкт-Петербургского государственного университета «Магнитно-резонансные методы исследования» и «Методы анализа состава вещества».

## ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Идея работы и планирование эксперимента (А. О. Ш., К. В. Д.), проведение экспериментов, анализ экспериментальных данных (К. В. Д., А. С. П., Е. Е. Ч., И. И. З.), написание и редактирование статьи (А. О. Ш., К. В. Д.), разработка общей концепции (А. О. Ш.).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Российского научного фонда (проект № 19-75-20122). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по биоэтике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, протокол № 3-2/2024 заседания № 3 от 28.03.2024 г.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Laurberg P, Andersen S, Karmisholt J* (2005) Cold adaptation and thyroid hormone metabolism. *Horm Metab Res* 37(9): 545–549.  
<https://doi.org/10.1055/s-2005-870420>
2. *Silva JE* (2006) Thermogenic mechanisms and their hormonal regulation. *Physiol Rev* 86(2): 435–464.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00009.2005>
3. *Tsibulnikov S, Maslov L, Voronkov N, Oeltgen P* (2020) Thyroid hormones and the mechanisms of adaptation to cold. *Hormones (Athens)* 19(3): 329–339.  
<https://doi.org/10.1007/s42000-020-00200-2>
4. *Filfilan WM* (2023) Thyroid Hormones Regulate the Thermoregulatory Mechanisms of the Body: Review. *Pak J Biol Sci* 26(9): 453–457.  
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2023.453.457>
5. *Silva JE, Bianco SD* (2008) Thyroid-adrenergic interactions: physiological and clinical implications. *Thyroid* 18(2): 157–165.  
<https://doi.org/10.1089/thy.2007.0252>
6. *Bianco AC, Silva JE* (1988) Cold exposure rapidly induces virtual saturation of brown adipose tissue nuclear T3 receptors. *Am J Physiol* 255(4 Pt 1): E496–E503.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.1988.255.4.E496>
7. *Dutra SC, de Moura EG, Lisboa PC, Trevenzoli IH, Passos MC* (2011) Leptin-programmed rats respond to cold exposure changing hypothalamic leptin receptor and thyroid function differently from cold-exposed controls. *Regul Pept* 171(1–3): 58–64.  
<https://doi.org/10.1016/j.regpep.2011.07.005>
8. *Iwen KA, Oelkrug R, Brabant G* (2018) Effects of thyroid hormones on thermogenesis and energy partitioning. *J Mol Endocrinol* 60(3): R157–R170.  
<https://doi.org/10.1530/JME-17-0319>
9. *Yau WW, Yen PM* (2020) Thermogenesis in Adipose Tissue Activated by Thyroid Hormone. *Int J Mol Sci* 21(8): 3020.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21083020>

10. Lee JY, Takahashi N, Yasubuchi M, Kim YI, Hashizaki H, Kim MJ, Sakamoto T, Goto T, Kawada T (2012) Triiodothyronine induces UCP-1 expression and mitochondrial biogenesis in human adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 302(2): C463–C472.  
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00010.2011>
11. Gavril A, Hasselgren PO, Glasgow A, Doyle AN, Lee AJ, Fox P, Gautam S, Hennessey JV, Kolodny GM, Cypress AM (2017) Variable Cold-Induced Brown Adipose Tissue Response to Thyroid Hormone Status. *Thyroid* 27(1): 1–10.  
<https://doi.org/10.1089/thy.2015.0646>
12. Castillo-Campos A, Gutiérrez-Mata A, Charli JL, Joseph-Bravo P (2021) Chronic stress inhibits hypothalamus-pituitary-thyroid axis and brown adipose tissue responses to acute cold exposure in male rats. *J Endocrinol Invest* 44(4): 713–723.  
<https://doi.org/10.1007/s40618-020-01328-z>
13. Derkach KV, Fokina EA, Bakhtyukov AA, Sorokoumov VN, Stepochkina AM, Zakhарова IO, Shpakov AO (2022) The Study of Biological Activity of a New Thieno[2,3-D]-Pyrimidine-Based Neutral Antagonist of Thyrotropin Receptor. *Bull Exp Biol Med* 172(6): 713–716.  
<https://doi.org/10.1007/s10517-022-05462-x>
14. Reed HL, Silverman ED, Shakir KM, Dons R, Burman KD, O'Brian JT (1990) Changes in serum triiodothyronine (T3) kinetics after prolonged Antarctic residence: the polar T3 syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 70(4): 965–974.  
<https://doi.org/10.1210/jcem-70-4-965>
15. Zhang Z, Boelen A, Kalsbeek A, Fliers E (2018) TRH Neurons and Thyroid Hormone Coordinate the Hypothalamic Response to Cold. *Eur Thyroid J* 7(6): 279–288.  
<https://doi.org/10.1159/000493976>
16. Reed HL, Burman KD, Shakir KM, O'Brian JT (1986) Alterations in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis after prolonged residence in Antarctica. *Clin Endocrinol (Oxf)* 25(1): 55–65.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1986.tb03595.x>
17. Uribe RM, Zácarias M, Corkidi G, Cisneros M, Charli JL, Joseph-Bravo P (2009) 17 $\beta$ -Oestradiol indirectly inhibits thyrotrophin-releasing hormone expression in the hypothalamic paraventricular nucleus of female rats and blunts thyroid axis response to cold exposure. *J Neuroendocrinol* 21(5): 439–448.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2009.01861.x>
18. Venditti P, Napolitano G, Di Stefano L, Agnisola C, Di Meo S (2011) Effect of vitamin E administration on response to ischaemia-reperfusion of hearts from cold-exposed rats. *Exp Physiol* 96(7): 635–646.  
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2011.058289>
19. Perello M, Stuart RC, Vaslet CA, Nillni EA (2007) Cold exposure increases the biosynthesis and proteolytic processing of prothyrotropin-releasing hormone in the hypothalamic paraventricular nucleus via beta-adrenoceptors. *Endocrinology* 148(10): 4952–4964.  
<https://doi.org/10.1210/en.2007-0522>
20. Zoeller RT, Kabeer N, Albers HE (1990) Cold exposure elevates cellular levels of messenger ribonucleic acid encoding thyrotropin-releasing hormone in paraventricular nucleus despite elevated levels of thyroid hormones. *Endocrinology* 127(6): 2955–2962.  
<https://doi.org/10.1210/endo-127-6-2955>
21. Sánchez E, Fekete C, Lechan RM, Joseph-Bravo P (2007) Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) expression is differentially regulated in the hypothalamic paraventricular nucleus of lactating rats exposed to suckling or cold stimulation. *Brain Res* 1132(1): 120–128.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.11.020>
22. Uribe RM, Redondo JL, Charli JL, Joseph-Bravo P (1993) Suckling and cold stress rapidly and transiently increase TRH mRNA in the paraventricular nucleus. *Neuroendocrinology* 58(1): 140–145.  
<https://doi.org/10.1159/000126523>
23. Sotelo-Rivera I, Jaimes-Hoy L, Cote-Vélez A, Espinoza-Ayala C, Charli JL, Joseph-Bravo P (2014) An acute injection of corticosterone increases thyrotrophin-releasing hormone expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus but interferes with the rapid hypothalamus pituitary thyroid axis response to cold in male rats. *J Neuroendocrinol* 26(12): 861–869.  
<https://doi.org/10.1111/jne.12224>
24. Shpakov AO (2023) Allosteric Regulation of G-Protein-Coupled Receptors: From Diversity of Molecular Mechanisms to Multiple Allosteric Sites and Their Ligands. *Int J Mol Sci* 24(7): 6187.  
<https://doi.org/10.3390/ijms24076187>
25. Shpakov AO (2023) Allosteric sites and allosteric regulators of G protein-coupled receptors – gray cardinals of signal transduction. *J Evol Biochem Physiol* 59(Suppl.1): S1–S106.  
<https://doi.org/10.1134/S0022093023070013>

26. Neumann S, Pope A, Geras-Raaka E, Raaka BM, Bahn RS, Gershengorn MC (2012) A drug-like antagonist inhibits thyrotropin receptor-mediated stimulation of cAMP production in Graves' orbital fibroblasts. *Thyroid* 22(8): 839–843.  
<https://doi.org/10.1089/thy.2011.0520>
27. Shpakova EA, Shpakov AO, Chistyakova OV, Moyseyuk IV, Derkach KV (2012) Biological activity in vitro and in vivo of peptides corresponding to the third intracellular loop of thyrotropin receptor. *Dokl Biochem Biophys* 443: 64–67.  
<https://doi.org/10.1134/S1607672912020020>
28. Marcinkowski P, Hoyer I, Specker E, Furkert J, Rutz C, Neuenschwander M, Sobottka S, Sun H, Nazare M, Berchner-Pfannschmidt U, von Kries JP, Eckstein A, Schülein R, Krause G (2019) A New Highly Thyrotropin Receptor-Selective Small-Molecule Antagonist with Potential for the Treatment of Graves' Orbitopathy. *Thyroid* 29(1): 111–123.  
<https://doi.org/10.1089/thy.2018.0349>
29. Derkach KV, Shpakova EA, Titov AK, Shpakov AO (2015) Intranasal and Intramuscular Administration of Lysine-Palmitoylated Peptide 612–627 of Thyroid-Stimulating Hormone Receptor Increases the Level of Thyroid Hormones in Rats. *Int J Pept Res Ther* 21: 249–260.  
<https://doi.org/10.1007/s10989-014-9452-6>
30. Derkach KV, Bakhtyukov AA, Sorokoumov VN, Shpakov AO (2020) New Thieno-[2,3-d]pyrimidine-Based Functional Antagonist for the Receptor of Thyroid Stimulating Hormone. *Dokl Biochem Biophys* 491(1): 77–80.  
<https://doi.org/10.1134/S1607672920020064>
31. Van Heuverswyn B, Streijdio C, Brocas H, Refetoff S, Dumont J, Vassart G (1984) Thyrotropin controls transcription of the thyroglobulin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81(19): 5941–5945.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.81.19.5941>
32. Saito T, Endo T, Kawaguchi A, Ikeda M, Nakazato M, Kogai T, Onaya T (1997) Increased expression of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter in cultured human thyroid cells exposed to thyrotropin and in Graves' thyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 82(10): 3331–3336.  
<https://doi.org/10.1210/jcem.82.10.4269>
33. Morgan SJ, Neumann S, Marcus-Samuels B, Gershengorn MC (2016) Thyrotropin and Insulin-Like Growth Factor 1 Receptor Crosstalk Upregulates Sodium-Iodide Symporter Expression in Primary Cultures of Human Thyrocytes. *Thyroid* 26(12): 1794–1803.  
<https://doi.org/10.1089/thy.2016.0323>
34. Jang D, Eliseeva E, Klubo-Gwiezdzinska J, Neumann S, Gershengorn MC (2022) TSH stimulation of human thyroglobulin and thyroid peroxidase gene transcription is partially dependent on internalization. *Cell Signal* 90: 110212.  
<https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2021.110212>
35. Jang D, Morgan SJ, Klubo-Gwiezdzinska J, Banga JP, Neumann S, Gershengorn MC (2020) Thyrotropin, but Not Thyroid-Stimulating Antibodies, Induces Biphasic Regulation of Gene Expression in Human Thyrocytes. *Thyroid* 30(2): 270–276.  
<https://doi.org/10.1089/thy.2019.0418>
36. Yamada M, Monden T, Satoh T, Iizuka M, Murakami M, Iriuchijima T, Mori M (1992) Differential regulation of thyrotropin-releasing hormone receptor mRNA levels by thyroid hormone in vivo and in vitro (GH3 cells). *Biochem Biophys Res Commun* 184(1): 367–372.  
[https://doi.org/10.1016/0006-291X\(92\)91202-2](https://doi.org/10.1016/0006-291X(92)91202-2)
37. Chin WW, Carr FE, Burnside J, Darling DS (1993) Thyroid hormone regulation of thyrotropin gene expression. *Recent Prog Horm Res* 48: 393–414.  
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571148-7.50018-x>
38. Goulart-Silva F, de Souza PB, Nunes MT (2011) T3 rapidly modulates TSH $\beta$  mRNA stability and translational rate in the pituitary of hypothyroid rats. *Mol Cell Endocrinol* 332(1–2): 277–282.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.11.005>
39. Cyr NE, Stuart RC, Zhu X, Steiner DF, Nillni EA (2012) Biosynthesis of proTRH-derived peptides in prohormone convertase 1 and 2 knockout mice. *Peptides* 35(1): 42–48.  
<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.02.024>
40. Sanchez VC, Goldstein J, Stuart RC, Hovanessian V, Huo L, Munzberg H, Friedman TC, Bjorbaek C, Nillni EA (2004) Regulation of hypothalamic prohormone convertases 1 and 2 and effects on processing of prothyrotropin-releasing hormone. *J Clin Invest* 114(3): 357–369.  
<https://doi.org/10.1172/JCI21620>
41. Cyr NE, Toorie AM, Steger JS, Sochat MM, Hyner S, Perello M, Stuart R, Nillni EA (2013) Mechanisms by which the orexin NPY regulates anorexigenic  $\alpha$ -MSH and TRH. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 304(6): E640–E650.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00448.2012>

## Thyroid Hormone Levels and Expression of Genes Involved in the Regulation of the Thyroid System Activity in Male Rats Exposed to Prolonged Low Temperatures and the Effect of a Thyroid-Stimulating Hormone Receptor Antagonist on These Parameters

K. V. Derkach<sup>a,\*</sup>, A. S. Pechalnova<sup>a</sup>, E. E. Chernenko<sup>a</sup>, I. I. Zorina<sup>a</sup>,  
and A. O. Shpakov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,  
Saint-Petersburg, Russia  
\*e-mail: derkatch\_k@list.ru

Adaptation mechanisms to prolonged exposure to low temperatures, leading to increased thermogenesis and changes in metabolism, include increased activity of the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. In this regard, the current tasks are to study the balance of thyroid hormones (THs), the expression and activity of enzymes responsible for their synthesis in the thyroid gland (TG), the expression of the main components of the HPT axis, as well as to investigate the effect of thyroid stimulating hormone (TSH) receptor antagonists on these indicators when administered to animals exposed to cold. The aim of the work was to study the blood levels of TSH and THs and the expression of hypothalamic, pituitary and thyroid genes involved in the synthesis and secretion of TSH and THs in male rats that were kept for 10 days at low temperatures (+5°C), and to evaluate the effect of a single treatment of animals with the thieno[2,3-d]-pyrimidine derivative of TPY1, an allosteric antagonist of the TSH receptor developed by us, on these parameters. Rats exposed to cold developed T3-hyperthyroidism, which was associated with a decrease in the thyroxine level due to an increase in its conversion to T3, as indicated by an increase in the T3/T4 ratio and deiodinase type 2 (DIO2) expression in the TG. Compared with the control, the TG of hyperthyroid rats had an increased expression of the *Tg* and *Nis* genes encoding thyroglobulin and  $\text{Na}^+/\text{I}^-$ -symporter. TPY1 normalized the T3 level and decreased the expression of *Tg* and *Nis*, indicating a decrease in the TSH-stimulated activity of the TSH receptor by this TSH antagonist. TPY1 also increased the expression of the TSH  $\beta$ -subunit and thyroliberin receptor genes in the pituitary gland, which may be due to a higher threshold of sensitivity of thyrotrophs to the inhibitory effect of T3 under conditions of long-term T3 hyperthyroidism. A feature of cold-induced T3 hyperthyroidism in rats was the tissue specificity of changes in *DIO2* gene expression, its increase in the TG and decrease in the hypothalamus, as well as the preservation of increased *DIO2* gene expression in the TG after TPY1 treatment. Thus, prolonged exposure to cold leads to the development of pronounced T3 hyperthyroidism in rats with increased expression of genes responsible for the TH synthesis, and treatment with an allosteric antagonist of the TSH receptor significantly normalizes these indicators.

**Keywords:** cold adaptation, thyroid hormone, hyperthyroidism, thyroid stimulating hormone receptor, thyroid gland, allosteric antagonist, deiodinase