

УДК 612.592:612.43/44.084

В.В. Ломако<sup>1\*</sup>, О.В. Шило<sup>1</sup>, Л.М. Самохіна<sup>2</sup>

## Гіпофізарно-тиреоїдна система щурів різного віку за умов короткочасних холодових впливів

UDC 612.592:612.43/44.084

V.V. Lomako<sup>1\*</sup>, O.V. Shylo<sup>1</sup>, L.M. Samokhina<sup>2</sup>

## Pituitary-Thyroid System in Rats of Different Ages Under Short-Term Cold Exposures

**Ключові слова:** тиреотропний гормон, тиреоїдні гормони, холодова адаптація, вік, щури.

**Key words:** thyroid-stimulating hormone, thyroid hormones, cold adaptation, age, rats.

Для підвищення стійкості організму до холоду використовуються особливі режими охолодження, які засновані на різних термінах, кратності та температурі впливу. Під час вибору температурних режимів, а також для оцінки їхнього впливу на організм людини доцільно керуватися розробленим у рамках European COST Action 730 універсальним температурним кліматичним індексом (Universal Thermal Climate Index). При цьому величина температурного стресу визначається за еквівалентною шкалою, яка базується і будується на даних комбінованого впливу факторів навколишнього середовища, а саме: температури повітря, показників сонячної радіації, вологості та швидкості вітру. У наших експериментах використовували низькі позитивні (10°C) та негативні (–12°C) температурні впливи. Згідно з індексом 10°C відповідають нижній межі діапазону температур, в якому відсутній температурний стрес, а –12°C — нижній межі діапазону, для якого характерний термальний стрес середньої величини [1].

Гіпофізарно-тиреоїдна система (ГТС) підтримує метаболічний баланс в організмі за допомогою регуляції позитивного і негативного зворотного зв'язку, основним регуляторним механізмом якого є секреція тиреотропного (ТТГ) та тиреоїдних (ТГ) гормонів, які відіграють важливу роль у метаболізмі, енергетичному балансі

Special cooling modes, based on different periods, frequency and temperature of exposure are used to increase the body's resistance to cold. When selecting temperature modes, as well as for assessing their impact on human body, it is expedient to follow the Universal Thermal Climate Index developed within the European COST Action 730. Herewith, the value of thermal stress is determined by an equivalent scale, based and built on a combined impact of environmental factors, namely air temperature, parameters of solar radiation, humidity and wind speed. In our experiments, we used low positive (10°C) and negative (–12°C) temperature exposures. According to the index, the temperature of 10°C corresponds to the lower limit of temperature range with no thermal stress, and that of –12°C matches the lower limit of range characterized by moderate thermal stress [1].

The pituitary-thyroid system (PTS) maintains metabolic balance in the body by regulating positive and negative feedback, the main regulatory mechanism of which is secretion of thyroid-stimulating hormone (TSH) and thyroid hormones (TH), which play a key role in metabolism, energy balance and thermogenesis. By stimulating numerous metabolic pathways involved in development, remodelling and delivery of energy to tissues, TH promote cold-induced thermogenesis in

<sup>1</sup>Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,  
<sup>2</sup>ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України»,  
м. Харків, Україна

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>GI 'L.T. Mala National Institute of Therapy of the National Academy  
of Medical Sciences of Ukraine', Kharkiv, Ukraine

**\*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:**

вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61016;  
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52  
електронна пошта: victoria0regia@gmail.com

**\*To whom correspondence should be addressed:**

23, Pereyaslavska str., Kharkiv, Ukraine 61016;  
tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 5952  
e-mail: victoria0regia@gmail.com

Надійшла 30.01.2024

Прийнята до друку 27.05.2024

Received January, 30, 2024

Accepted May, 27, 2024

© Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2024

© Publisher Publishing House 'Akademperiodyka' of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2024

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

та термогенезі. В результаті стимуляції численних метаболічних шляхів, залучених до розвитку, ремоделювання та доставки енергії до тканин, ТГ сприяють індукованому холодом термогенезу у бурій жировій тканині. Таким чином, тривалість і ступінь адаптації до холоду певною мірою залежать від функції щитоподібної залози. Адаптація до холоду викликає дейодування тироксину (Т4), що сприяє підвищенню рівня трийодтироніну (Т3) у крові людей і тварин. Трийодтиронін є індуктором експресії йодтироніндейодинази в бурому жирі, печінці та нирках [2, 4, 5]. Крім того, морфологічні та функціональні зміни у ГТС відбуваються як природна адаптація до процесу старіння [3].

Мета роботи — вивчити стан центральної і периферичної ланок гіпофізарно-тиреоїдної системи щурів різного віку за умов короткочасних холодкових впливів за температури 10 та  $-12^{\circ}\text{C}$ .

Експерименти були схвалені комітетом із біоетики Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (Протокол № 2 від 11.03.2020 р.) і проводилися відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) і положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Роботу виконували на 6-, 12- і 24-місячних самцях білих безпородних щурів, яких до експерименту утримували у віварію на стандартному раціоні.

За умов короткочасних холодкових впливів (КЧХВ) щурів утримували при 10 або  $-12^{\circ}\text{C}$  у холодovій камері протягом 15 хв кожної години, потім 45 хв вони знаходилися поза холодovою камерою за температури 22– $24^{\circ}\text{C}$ . Таким чином, КЧХВ проводили два дні по дев'ять раз протягом світлої частини доби.

Щурів розділили на групи ( $n = 5$  у кожній): контрольну (інтактні тварини); КЧХВ  $10^{\circ}\text{C}$  та КЧХВ  $-12^{\circ}\text{C}$ .

Тварин з експерименту виводили шляхом декапітації.

Забір крові, як і фрагментів інших тканин для біохімічних і морфологічних досліджень, проводили після декапітації тварин. Зразки крові центрифугували при 500 g за температури  $22^{\circ}\text{C}$  протягом 15 хв на центрифугі «MPW-311» (Mechanika Precyzyjna, Польща), потім відокремлювали сироватку крові і зберігали до аналізу при  $-18^{\circ}\text{C}$ .

brown adipose tissue. Thus, the duration and degree of cold adaptation depend to some extent on thyroid function. Adaptation to cold causes deiodination of thyroxine (T4), resulting in increased triiodothyronine (T3) level in human and animal blood. Triiodothyronine is an inducer of iodothyronine deiodinase expression in brown fat, liver, and kidneys [2, 4, 5]. In addition, morphological and functional changes in PTS occur as a natural adaptation to aging [3].

The research aim herein was to investigate the state of central and peripheral links of pituitary-thyroid system in rats of different ages under short-term cold exposures at 10 and  $-12^{\circ}\text{C}$ .

Experiments were approved by the Bioethics Committee of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine (Protocol No. 2 of March 11, 2020) and were conducted in accordance with the Law of Ukraine ‘On the Protection of Animals Against Cruelty’ (No. 3447-IV of February 21, 2006) and the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986).

The research was carried out in 6-, 12-, and 24-month-old white outbred male rats, housed in the animal facility on a standard diet before experiment.

Under short-term cold exposures (STCEs), rats were kept at 10 or  $-12^{\circ}\text{C}$  in a cold chamber for 15 min each hour, followed by a 45-min stay outside the cold chamber at 22– $24^{\circ}\text{C}$ . Thus, the STCEs were performed for two days, by 9 times during daylight hours.

Rats were divided into the following groups ( $n = 5$  in each): control (intact animals); STCEs  $10^{\circ}\text{C}$  and STCEs  $-12^{\circ}\text{C}$ .

Animals were sacrificed by decapitation.

Blood samples, as well as the fragments of other tissues for biochemical and morphological studies were taken after decapitation. Blood samples were centrifuged at 500 g at  $22^{\circ}\text{C}$  for 15 min using a MPW-311 centrifuge (Mechanika Precyzyjna, Poland), then serum was separated and stored at  $-18^{\circ}\text{C}$  before analysis.

The content of TSH, T4, T3 and their free forms (FT4 and FT3) was determined by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using standard kits: TSH-ELISA, T4-ELISA, T3-ELISA, FT4-ELISA and FT3-ELISA (XEMA, Kyiv) according to the manufacturer’s instructions. Optical density was measured using an enzyme-linked immunosorbent photometer-analyser ‘Humanreader’ (Human, Germany). To assess the functional state of PTS, the



Вміст ТТГ, Т4, Т3 та їхніх вільних форм (Т4в і Т3в) визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою стандартних наборів: ТТГ-ІФА, Т4-ІФА, Т3-ІФА, вТ4-ІФА та вТ3-ІФА (ХЕМА, Київ) згідно з інструкціями виробника. Оптичну щільність вимірювали на імуноферментному фотометрі-аналізаторі «Humanreader» (Human, Німеччина). Також для оцінки функціонального стану ГТС розраховували універсальні системні індекси та коефіцієнти: індекс периферичної конверсії (ПК = Т3в/Т4в), інтегральний тиреоїдний індекс (ІТІ) ((Т3в + Т4в)/ТТГ) та системні коефіцієнти Т3/ТТГ і Т4/ТТГ.

Дані було проаналізовано за допомогою пакета «Excel» (Microsoft, США) та Social Science Statistics. Розподіл даних за нормальним законом було перевірено за допомогою тесту Колмогорова-Смірнова. Статистичний аналіз результатів проводили за методом ANOVA. Дані представлені у вигляді  $M \pm SE$ .

Аналіз отриманих результатів показав, що у щурів контрольної групи за віком розбіжності визначено тільки у 24-місячних тварин порівняно з 6- і 12-місячними і тільки за вмістом ТТГ, який знижувався майже удвічі (табл. 1). Отримані результати узгоджуються з даними роботи R.P. Peeters [6], в якій відзначається залежне від віку зниження рівня ТТГ на тлі незмінної концентрації Т4в. Зниження секреції ТТГ, ймовірно, є результатом підвищеної чутливості тиреотропних тканин до Т4, але при цьому не можна виключати й впливу зниження секреції гіпоталамусом тиреотропного релізінг-гормону. Незважаючи на зниження рівня ТТГ при старінні, яке призводить до пригнічення секреції Т4 щитоподібною залозою, концентрація Т4 та Т4в не змінюється, оскільки з віком розпад Т4 зменшується [6].

У 6-місячних щурів КЧХВ приводили до зменшення вмісту тільки ТТГ майже у 2,5 рази і тільки при 10°C, вміст Т4 мав тенденцію до зменшення за обох режимів; у 12-місячних тварин — до зменшення вмісту ТТГ майже у чотири рази та Т4 удвічі при 10°C, а також Т4 при -12°C майже на 30%; у 24-місячних — до підвищення вмісту Т4 при -12°C і його вільної форми Т4в за температури 10°C (табл. 1).

Такі зміни досліджуваних показників у 6- та 12-місячних тварин можуть указувати на пригнічення за цих умов функціональної активності щитоподібною залозою, оскільки вміст Т4, який є продуктом секреції самої залози, зменшувався, а вміст Т3, що є продуктом периферійної конверсії Т4 у печінці, нирках та жировій

universal system indices and the coefficients such as: peripheral conversion index (PCI = FT3/FT4), integral thyroid index (ITI) ((FT3 + FT4)/TSH), and T3/TSH and T4/TSH systemic coefficients were calculated as well.

The data were analysed using Excel (Microsoft, USA) and Social Science Statistics software packages. The Kolmogorov-Smirnov test was used to test the data for normal distribution. Results were statistically analysed using the ANOVA method. Data are presented as  $M \pm SE$ .

The analysis of findings showed that in control group rats, differences were determined only in 24-month-old animals compared to 6- and 12-month-old ones and by TSH content only, which decreased almost twice (Table 1). These findings are consistent with the reported data of R.P. Peeters [6], who noted an age-dependent reduction of TSH levels against the background of unchanged T4 concentration. A decrease in TSH secretion likely results from an increased sensitivity of thyroid tissues to T4, but the impact of reduced secretion of thyrotropin-releasing hormone by hypothalamus is not excluded. Despite a decrease in TSH levels with aging, which results in suppression of T4 secretion by thyroid gland, the concentration of T4 and FT4 remains unchanged, since the T4 decay reduces with age [6].

In 6-month-old rats, STCEs resulted in a reduction of TSH content alone by nearly 2.5 times and at 10°C only, the T4 levels tended to decrease in both modes; in 12-month-old animals it led to an almost four-fold reduction of TSH content and a two-fold one for T4 at 10°C, as well as T4 decreased at -12°C by almost 30%; in 24-month-old animals it resulted in an increased content of T4 at -12°C and FT4 at 10°C (Table 1).

In 6- and 12-month-old animals, these changes in the studied parameters may testify to a suppression of functional activity of thyroid gland under these conditions, since the T4 content, which is a product of gland secretion, decreased, whereas the content of T3, as a product of peripheral T4 conversion in liver, kidneys and adipose tissue, remained unchanged. In 24-month-old rats, on the contrary, the T4 content in blood augmented under STCEs -12°C against the background of unchanged T3 content, thus suggesting the activation of thyroid gland. Fluctuations in TH levels within the euthyroid range are associated with the ability to adapt to low temperatures and affect energy balance [2].

In addition, the universal indices and system coefficients were calculated to assess the functional state of PTS (Table 2).



**Таблиця 1.** Вміст тиреотропіну та тиреоїдних гормонів у сироватці крові щурів різного віку після короточасних холодових впливів,  $M \pm SE$

**Table 1.** TSH and TH contents in blood serum of rats of different ages after short-term cold exposures,  $M \pm SE$

Умови експерименту Experiment conditions	Гормон Hormone				
	ТТГ TSH	Т3	Т4	Т3в	Т4в
	мМО/л mIU/l	нМ/л nM/l		пМ/л pM/l	
Вік 6 місяців Age of 6 months					
Контроль Control	5,3 ± 0,6	1,3 ± 0,1	25,3 ± 7,1	6,8 ± 0,4	12,2 ± 1,8
КЧХВ -12°C STCEs -12°C	4,2 ± 1,7	1,3 ± 0,03	18,4 ± 1,9	6,2 ± 0,1	12,4 ± 1,04
КЧХВ 10°C STCEs 10°C	2,4 ± 0,6*	1,3 ± 0,03	18,5 ± 3,2	6,3 ± 0,1	10,5 ± 0,3
Вік 12 місяців Age of 12 months					
Контроль Control	7,9 ± 3,5	1,4 ± 0,2	27,2 ± 4,8	5,9 ± 0,1	11,2 ± 0,7
КЧХВ -12°C STCEs -12°C	5,9 ± 3,1	1,3 ± 0,1	18,4 ± 1,9*	6,2 ± 0,3	9,5 ± 1,3
КЧХВ 10°C STCEs 10°C	1,9 ± 0,7*	1,4 ± 0,1	13,3 ± 1,0*	6,3 ± 0,2	11,8 ± 0,1
Вік 24 місяці Age of 24 months					
Контроль Control	2,5 ± 1,5 <sup>#</sup>	1,4 ± 0,1	17,0 ± 1,7	6,0 ± 0,2	9,8 ± 0,8
КЧХВ -12°C STCEs -12°C	1,7 ± 0,6 <sup>#</sup>	1,3 ± 0,01	26,0 ± 4,6*	6,7 ± 0,4	8,2 ± 0,7**
КЧХВ 10°C STCEs 10°C	1,4 ± 0,3 <sup>#</sup>	1,5 ± 0,3	19,4 ± 2,5	6,2 ± 0,2	8,1 ± 0,5* <sup>#</sup>

**Примітки:** \* — відмінності значущі порівняно з контрольною групою щурів відповідного віку,  $p < 0,05$ ; # — відмінності значущі порівняно з 6-місячними щурами,  $p < 0,05$ .

**Notes:** \* – differences are significant compared to the control group of rats of corresponding age,  $p < 0.05$ ; # – differences are significant compared to 6-month-old rats,  $p < 0.05$ .

тканині, не змінювався. У 24-х місячних щурів, навпаки, вміст Т4 у крові підвищувався за умов КЧХВ -12°C на тлі також незміненого вмісту Т3, що може свідчити про активацію щитоподібної залози. Коливання рівня ТГ у межах еутиреоїдного діапазону пов'язані зі здатністю адаптуватися до низьких температур і впливати на енергетичний баланс [2].

Крім того, для оцінки функціонального стану ГТС розраховували універсальні індекси та системні коефіцієнти (табл. 2).

Відомо, що ІПК — показник тканинного перетворення Т4 в його більш біологічно активний метаболіт Т3 (тобто показник периферійного тканинного дейодування). Показано, що з віком ІПК значуще не змінювався, але мав тенденцію

The PCI is known to be an index of tissue conversion of T4 into its more biologically active metabolite T3 (*i. e.*, an index of peripheral tissue deiodination). The PCI was shown as not significantly changed with age, but tended to increase (Table 2). It was found that IPC in 6-month-old animals remained unchanged under any mode of STCEs, in 12-month-old ones it augmented only under STCEs -12°C, and in aged 24-month-old rats it increased under both modes of cold exposure (Table 2).

The ratio of thyroid hormones to their pituitary regulator TSH is characterised by ITI, a decrease in which testifies to the function suppression of the gland itself.

In our experiments, ITI in 6-month-old rats increased under both modes of STCEs (Table 2),



**Таблиця 2.** Зміни універсальних індексів і системних коефіцієнтів у щурів різного віку після короточасних холодкових впливів,  $M \pm SE$

**Table 2.** Changes in universal indices and system coefficients in rats of different ages after short-term cold exposures,  $M \pm SE$

Умови експерименту Experiment conditions	Вік, місяці Age, months		
	6	12	24
Індекс периферичної конверсії Т3в/Т4в Peripheral conversion index FT3/FT4			
Контроль Control	0,56 ± 0,04	0,52 ± 0,03	0,62 ± 0,05
КЧХВ -12°C STCEs -12°C	0,53 ± 0,03	0,68 ± 0,07* #	0,80 ± 0,08* #
КЧХВ 10°C STCEs 10°C	0,60 ± 0,02	0,54 ± 0,04	0,77 ± 0,06* #
Інтегральний тиреоїдний індекс (Т3в + Т4в)/ТТГ Integral thyroid index (FT3 + FT4)/TSH			
Контроль Control	3,84 ± 0,79	6,89 ± 4,83	12,46 ± 4,64#
КЧХВ -12°C STCEs -12°C	10,21 ± 1,75*	7,99 ± 5,21	12,48 ± 3,64
КЧХВ 10°C STCEs 10°C	8,48 ± 1,75*	13,07 ± 3,56	12,78 ± 3,02
Системний коефіцієнт Т3/ТТГ T3/TSH systemic coefficient			
Контроль Control	0,31 ± 0,05	0,56 ± 0,38	1,16 ± 0,48#
КЧХВ -12°C STCEs -12°C	0,71 ± 0,21*	0,78 ± 0,51	0,69 ± 0,34
КЧХВ 10°C STCEs 10°C	0,58 ± 0,1*	0,74 ± 0,07	1,41 ± 0,44#
Системний коефіцієнт Т4/ТТГ T4/TSH systemic coefficient			
Контроль Control	5,12 ± 1,72	6,64 ± 3,88	9,56 ± 3,21
КЧХВ -12°C STCEs -12°C	8,29 ± 3,35	5,81 ± 3,49	22,96 ± 7,37*
КЧХВ 10°C STCEs 10°C	8,57 ± 2,27	9,38 ± 2,11	17,41 ± 4,64

**Примітки:** \* — відмінності значущі порівняно з контрольною групою щурів відповідного віку,  $p < 0,05$ ; # — відмінності значущі порівняно з 6-місячними щурами,  $p < 0,05$ .

**Notes:** \* – differences are significant compared to the control group of rats of corresponding age,  $p < 0.05$ ; # – differences are significant compared to 6-month-old rats,  $p < 0.05$ .



до збільшення (табл. 2). Встановлено, що ІПК у 6-місячних тварин не змінювався за жодного режиму КЧХВ, у 12-місячних він збільшувався тільки за КЧХВ  $-12^{\circ}\text{C}$ , а у старих 24-місячних щурів підвищувався за обох режимів холодого впливу (табл. 2).

Відношення гормонів щитоподібної залози до їх гіпофізарного регулятора ТТГ характеризує ІПІ, зниження якого вказує на пригнічення функції самої залози. У наших експериментах ІПІ у 6-місячних щурів підвищувався за обох режимів КЧХВ (табл. 2), що може свідчити про активацію щитоподібної залози. Отже можна припустити, що молоді щури зазнають більшого стресу порівняно із 12- і 24-місячними.

Для більш повного судження про ступінь гормональних змін у ГТС обчислювали розрахункові системні коефіцієнти Т3/ТТГ та Т4/ТТГ, які характеризують кількість периферичних тиреоїдних гормонів на одиницю ТТГ. Так, коефіцієнт Т3/ТТГ підвищувався тільки у 6-місячних щурів після обох режимів КЧХВ, а коефіцієнт Т4/ТТГ — тільки у 24-місячних тварин: значуще після КЧХВ  $-12^{\circ}\text{C}$ , за  $10^{\circ}\text{C}$  — мав таку тенденцію (табл. 2).

Таким чином, активність центральної ланки ГТС, що визначається за вмістом ТТГ у сироватці крові, з віком знижується, оскільки у 24-місячних тварин порівняно з 6- і 12-місячними вміст ТТГ зменшується вдвічі. За умов КЧХВ  $10^{\circ}\text{C}$  у щурів усіх вікових груп її активність також знижується, однак за температури  $-12^{\circ}\text{C}$  не змінюється.

Стан периферичної ланки ГТС, що оцінюється за вмістом Т4 та Т3, із віком не змінюється. Вміст Т3 за обох режимів КЧХВ не змінюється у жодній з вікових груп, вміст Т4 зменшується у 12-місячних щурів за обох режимів КЧХВ, у 6-місячних — має таку тенденцію, у 24-місячних збільшується за температури  $-12^{\circ}\text{C}$ .

## Література

1. Błażejczyk K, Broede P, Fiala D, et al. Principles of the new universal thermal climate index (UTCI) and its application to bioclimatic research in European scale. *Miscellanea Geographica*. 2010; 14(1): 91–102.
2. Cheng X, Zhang H, Guan S, et al. Receptor modulators associated with the hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Front Pharmacol* [Internet]. 2023 Dec 04 [cited 2024 Jan 15] 14: 1291856. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2023.1291856/full>

which may testify to thyroid gland activation. Thus, we can assume that young rats undergo more stress than 12- and 24-month-old animals.

To make a more complete assessment of the degree of hormonal changes in PTS, we calculated the estimated T3/TSH and T4/TSH systemic coefficients, which characterise the amount of peripheral thyroid hormones per unit of TSH. For example, the T3/TSH coefficient increased only in 6-month-old rats after both modes of STCEs, and that of T4/TSH did in 24-month-old animals only: it significantly augmented after STCEs  $-12^{\circ}\text{C}$ , and had this tendency at  $10^{\circ}\text{C}$  (Table 2).

Thus, the activity of central link of PTS, determined by the TSH content in blood serum, reduced with age, since in 24-month-old animals, if compared with 6- and 12-month-old ones, the TSH content was two-fold lower. Under STCEs  $10^{\circ}\text{C}$ , its activity was also decreased in rats of all age groups, but remained unchanged at  $-12^{\circ}\text{C}$ .

The state of peripheral link of PTS, assessed by T4 and T3 content, remained unchanged with age. The T3 content in both modes of STCEs does not change in any of age groups, the content of T4 decreases in 12-month-old rats under both modes of STCEs, it has this tendency in 6-month-old rats, and increases at  $-12^{\circ}\text{C}$  in 24-month-old animals.

## References

1. Błażejczyk K, Broede P, Fiala D, et al. Principles of the new universal thermal climate index (UTCI) and its application to bioclimatic research in European scale. *Miscellanea Geographica*. 2010; 14(1): 91–102.
2. Cheng X, Zhang H, Guan S, et al. Receptor modulators associated with the hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Front Pharmacol* [Internet]. 2023 Dec 04 [cited 2024 Jan 15] 14: 1291856. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2023.1291856/full>
3. Duntas LH. Aging and the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. *Vitam Horm*. 2021; 115: 1–14.
4. Filfilan WM. Thyroid hormones regulate the thermoregulatory mechanisms of the body: review. *Pak J Biol Sci*. 2023; 26(9): 453–7.
5. Maushart CI, Senn JR, Loeliger RC, et al. Free thyroxine levels are associated with cold induced thermogenesis in healthy



3. Duntas LH. Aging and the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. *Vitam Horm.* 2021; 115: 1–14.
4. Filfilan WM. Thyroid hormones regulate the thermoregulatory mechanisms of the body: review. *Pak J Biol Sci.* 2023; 26(9): 453–57.
5. Maushart CI, Senn JR, Loeliger RC, et al. Free thyroxine levels are associated with cold induced thermogenesis in healthy euthyroid individuals. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2021 June 14 [cited 2024 Jan 15] 12: 666595. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2021.666595/full>
6. Peeters RP. Thyroid hormones and aging. *Hormones.* 2008; 7(1): 28–35.