
ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

**АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ РЕЦЕПТОРА ТИРЕОТРОПНОГО
ГОРМОНА – НОВЫЕ ГОРИЗОНТЫ В ФАРМАКОЛОГИИ ТИРЕОИДНОЙ
ПАТОЛОГИИ**

© 2025 г. А. О. Шпаков¹ *, К. В. Деркач¹

*¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия*

**E-mail: alex_shpakov@list.ru*

Поступила в редакцию 06.08.2025 г.

После доработки 27.08.2025 г.

Принята к публикации 29.08.2025 г.

Экспрессируемый в щитовидной железе (ЩЖ) рецептор тиреотропного гормона (ТТГР) является ключевым компонентом сигнальной системы, регулируемой ТТГ (тиреотропным гормоном) и ответственной за синтез тиреоидных гормонов, рост и пролиферацию клеток ЩЖ. Рецептор ТТГ присутствует и в некоторых нетиреоидных тканях (костная ткань, орбитальные фибробласты и др.), контролируя их физиологические функции. Он имеет значительный по размеру эктодомен, где локализован высокоаффинный ортостерический сайт, с которым связывается ТТГ и аутоантитела к ТТГР, а также трансмембранный домен, который содержит значительное число аллостерических сайтов с различной локализацией. Активация ТТГР гормоном приводит к запуску множества сигнальных каскадов, опосредуемых через различные типы G-белков и β -аррестины. Селективность и эффективность активации этих каскадов во многом определяются аллостерическими механизмами, которые включают образование комплексов ТТГР, влияние на ТТГ-сигналинг “внутреннего” агониста, локализованного на С-конце шарнирной петли эктодомена ТТГР, статус N-гликозилирования ТТГ. Изменения активности ТТГР являются причинами большого числа заболеваний ЩЖ и ряда других патологий, однако в настоящее время регуляторы ТТГР в медицине практически не применяются. Другие варианты терапии не направлены непосредственно на ТТГР, с чем связаны многие их побочные эффекты. Поскольку использование лигандов ортостерического сайта ТТГР несет значительные риски, внимание исследователей привлекают лиганды его аллостерических сайтов, в том числе локализованных в трансмембранном канале. Они имеют широкий профиль фармакологической активности, включая регуляторы с собственной активностью (прямые и инверсионные агонисты, нейтральные антагонисты), модуляторы эффектов ТТГ (PAM, NAM, SAM, BAM) и регуляторы с комбинированной активностью (аго-PAM, аго-NAM), наделены умеренной активностью, не вызывая гиперактивации или полного блокирования ТТГР, во многих случаях демонстрируют селективность в отношении определенных сигнальных каскадов, сохраняют активность при пероральном введении. Тем самым они могут быть применены для лечения различных заболеваний ЩЖ, включая болезнь Грейвса, тиреоидит Хашимото, первичный гипотиреоз, аденомы и рак ЩЖ, а также офтальмопатии Грейвса и заболеваний опорно-двигательного аппарата. В обзоре систематизированы и проанализированы данные о разработанных нами и другими авторами низкомолекулярных аллостерических регуляторах ТТГР, оценены перспективы их применения в клинике.

Ключевые слова: тиреотропный гормон, аллостерический сайт, аллостерический модулятор, аллостерический инверсионный агонист, рецептор тиреотропного гормона, тиреоидный гормон, аутоиммунный гипотиреоз

ВВЕДЕНИЕ

Гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная (ГГТ) ось выполняет множество функций, включая контроль метаболических процессов и термогенеза, регуляцию сердечно-сосудистой системы и опорно-двигательного аппарата, обеспечение функционирования нервной системы [1]. Ее эффекторным компонентом являются тиреоидные гормоны (ТГ) – тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3), причем Т3 образуется из Т4 в результате дейодирования, катализируемого дейодиназами 1-го и 2-го типов [2]. Т3 регулирует экспрессию большого числа Т3-специфичных генов, активируя в клетках-мишенях рецепторы ТГ, представляющие собой ядерные транскрипционные факторы. Синтез ТГ осуществляется в тироцитах, фолликулярных клетках щитовидной железы (ЩЖ) в ответ на стимуляцию тиреотропным гормоном (ТТГ), который секретируется тиротрофами гипофиза [3]. Секреция ТТГ, в свою очередь, стимулируется небольшим пептидом тиролиберин (thyrotropin-releasing hormone, TRH), который секретируется нейронами паравентрикулярных ядер гипоталамуса после сайт-специфичного протеолиза про-тиролиберина, предшественника TRH [1].

Важнейшим этапом регуляции ГГТ оси гормонами является функциональное взаимодействие ТТГ со специфичным к нему рецептором ТТГ (ТТГР), который относится к G-белок-сопряженным рецепторам (GPCR) и локализован в базолатеральной мембране тироцитов. После связывания ТТГ с рецептором происходит активация внутриклеточных сигнальных путей, ответственных за синтез ТГ, рост и дифференцировку тироцитов [4]. Нарушение взаимодействия ТТГ с рецептором, а также воздействие на ТТГР различных стимулов гормональной и негормональной природы, в первую очередь аутоантител к ТТГР, препятствует нормальному функционированию ГГТ оси и является причиной различных форм тиреоидной патологии. Поскольку мишенями ТТГ являются некоторые нетиреоидные ткани, где экспрессируются ТТГР [5, 6], то изменение уровня ТТГ в крови, экспрессии ТТГР в нетиреоидных тканях и появление ТТГР-аутоантител может привести к патологии, напрямую не связанной с функциональным состоянием ЩЖ, – эндокринной офтальмопатии, дисфункциям опорно-двигательного аппарата, ТТГР-позитивным опухолям нетиреоидной локализации.

Тем самым актуальной проблемой молекулярной эндокринологии и фармакологии являются поиск и разработка лигандов ТТГР с различным профилем фармакологической активности, которые способны нормализовать активность ТТГР и нижележащих ТТГР-опосредуемых сигнальных путей в условиях их гиперстимуляции или, напротив, при значительном снижении их активности. ТТГ и его структурные аналоги по целому ряду причин очень ограниченно используются в клинической практике, причем в основном в диагностических целях. Это обусловлено высокой стоимостью их рекомбинантных форм, неполным структурным соответствием этих форм эндогенному ТТГ, а также высокой иммуногенностью. Для компенсации дефицита ТГ у пациентов с гипотиреозом обычно используют заместительную терапию левотироксином или трийодтиронином, в то время как при лечении аутоиммунного гипертиреоза (болезни Грейвса) обычно применяют ингибиторы синтеза ТГ. Однако эти подходы не всегда оказываются эффективными и характеризуются рядом побочных эффектов [7, 8]. Наиболее важно то, что при экстратиреоидных проявлениях аутоиммунных заболеваний ЩЖ, например при офтальмопатии Грейвса, в дополнение к фармакологическому контролю баланса тиреоидных гормонов приходится прибегать к терапии глюкокортикоидами, которые при длительном использовании вызывают широкий спектр функциональных нарушений в организме. Это обусловлено тем, что заместительная или антигипертиреоидная терапия не направлена на коррекцию функций ТТГР, а ориентирована почти исключительно на эффекторные звенья ГГТ оси. Результатом является дисбаланс регуляторных влияний в ГГТ оси, что пагубно сказывается на здоровье пациента как в ходе фармакотерапии, так и при ее отмене. Одним из подходов для решения проблемы фармакологической

коррекции заболеваний ЩЖ и других ТТГ-зависимых патологий является разработка аллостерических регуляторов ТТГР, что позволит целенаправленно регулировать ТТГР, ключевое звено опосредуемой ТТГ сигнальной трансдукции, и минимизировать риски необратимого нарушения функций ГГТ оси вследствие длительного изменения активности ее эффекторных звеньев. Современным достижениям в области разработки аллостерических регуляторов ТТГР с различной фармакологической активностью, в том числе результатам собственных исследований, и посвящен настоящий обзор.

КОМПОНЕНТЫ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ, РЕАЛИЗУЕМЫХ ЧЕРЕЗ ТТГР

Эндогенные ортостерические агонисты ТТГР

ТТГ, как и гонадотропины – лютеинизирующий (ЛГ) и фолликулостимулирующий гормоны (ФСГ), принадлежит к семейству гипофизарных гликопротеиновых гормонов, формируя, подобно гонадотропинам, прочный $\alpha\beta$ -гетеродимерный комплекс. Этот комплекс включает общую для всех этих гормонов α -субъединицу и вариабельную β -субъединицу, специфичную для каждого гормона [9]. Синтез обеих субъединиц ТТГ осуществляется в тиреотрофах, локализованных в области *pars distalis* аденогипофиза, вследствие чего “классическую” форму ТТГ обозначают как PD-ТТГ [10]. Секреция PD-ТТГ стимулируется TRH, который секретируется гипоталамическими TRH-экспрессирующими нейронами и по механизму отрицательной обратной связи подавляется ТГ [3]. $\alpha\beta$ -гетеродимерный комплекс ТТГ образует структуру типа “цистиновых узлов”, в которой α - и β -субъединицы переплетены между собой. Стабильность такого комплекса обеспечивается “цистиновым” центром, образованным тремя внутримолекулярными дисульфидными связями. Такая структура устойчива к изменению осмолярности и pH среды, к воздействию детергентов и агентов, влияющих на окислительно-восстановительный баланс.

Каждая субъединица подвергается посттрансляционным модификациям, в том числе N-гликозилированию, которое осуществляется по остатку Asn²³ в β -субъединице ТТГ и остаткам Asn⁵² и Asn⁷⁸ в α -субъединице [11]. Модифицирующие ТТГ N-гликаны представляют собой слабо разветвленные структуры, содержащие на концах отрицательно заряженные остатки сиаловых кислот и сульфатированного N-ацетилгалактозамина. α -субъединица гликозилирована полностью и содержит два N-гликана, в то время как β -субъединица может иметь один N-гликан или быть негликозилированной, что генерирует ди- и тригликозилированные формы ТТГ [11]. N-гликозилирование ТТГ играет важную роль в характере биологической активности гормона и является одним из ключевых факторов в развитии тиреоидной патологии [12]. Дегликозилированные формы ТТГ не способны активировать ТТГР и функционируют как антагонисты, ингибируя передачу сигнала, индуцированного PD-ТТГ с нормальным N-гликозилированием [13]. Наряду с PD-ТТГ, в другом отделе аденогипофиза, *pars tuberalis*, продуцируется форма ТТГ с более высокой молекулярной массой (РТ-ТТГ), которая обычно находится в комплексе с иммуноглобулином G или альбумином. В отличие от PD-ТТГ, она содержит сильно разветвленные N-гликаны с высоким содержанием сиаловых кислот, чем и обусловлено увеличение ее молекулярной массы [10]. TRH не влияет на синтез и секрецию РТ-ТТГ, поскольку рецепторы к нему в *pars tuberalis* отсутствуют. В гипофизе человека также синтезируется тиреостимулин, укороченный гомолог ТТГ, состоящий из двух субъединиц GPA2 и GPB5, которые имеют 29 и 43% гомологии при сравнении с α - и β -субъединицами ТТГ [14]. Тиреостимулин может частично компенсировать недостаток ТТГ у пациентов с врожденным гипотиреозом, стимулируя ТТГР [15]. Как и РТ-ТТГ, продукция тиреостимулина не находится под контролем TRH и тиреоидных гормонов, что существенно усложняет взаимоотношения между гормональными влияниями в ГГТ оси и вне ее.

Рецептор ТТГ и внутриклеточные сигнальные пути

ТТГР в значительных количествах экспрессируется в тироцитах ЩЖ, являясь мишенью для PD-ТТГ, РТ-ТТГ и тиреостимулина. ТТГР также обнаружены в других компонентах ГТТ оси – гипоталамусе и аденогипофизе [16, 17], а также в ряде других тканей [18, 19]. Как и родственные ему рецепторы ЛГ и ФСГ, ТТГР содержит большой внеклеточный домен (эктодомен), включающий 11 обогащенных лейцином повторов (LRRD), в котором локализован высокоаффинный ортостерический сайт для связывания ТТГ и тиреостимулина. Эктодомен через шарнирную область соединяется с трансмембранным доменом (ТМД), образованным семью гидрофобными спиралями (ТМ1–ТМ7). Эти спирали формируют трансмембранный канал и соединены между собой тремя внеклеточными (ECL1–ECL3) и тремя цитоплазматическими (ICL1–ICL3) петлями. После ТМ7 в цитоплазме располагается С-концевой субдомен, который является мишенью для фосфорилирования специфичными GRK-киназами [20, 21]. Цитоплазматические петли и С-концевой субдомен вовлечены во взаимодействие с $\alpha\beta\gamma$ -гетеротримерными G-белками и β -аррестинами, опосредуя передачу гормонального сигнала к внутриклеточным каскадам. Внеклеточные петли участвуют во взаимодействии с эктодоменом и шарнирной областью, обеспечивая переход ТТГР в активированное состояние после связывания с ТТГ и запуская волну конформационных перестроек, достигающую сайтов взаимодействия ТТГР с G-белками и β -аррестинами [20]. В процессе протеолиза ТТГР генерируются короткие полипептиды, являющиеся антигенами для образования аутоантител к ТТГР с различным профилем фармакологической активности [22, 23]. Одни из них (M22) вызывают гиперактивацию ТТГР, что ведет к избыточной продукции ТГ и развитию аутоиммунного гипертиреоза (болезни Грейвса) [24, 25], в то время как другие (K1-70) снижают активность ТТГР и вызывают аутоиммунный гипотиреоз (тиреоидит Хашимото) [26].

После связывания ТТГР с гормоном происходит активация различных типов G-белков и рекрутирование β -аррестинов с образованием функционально активных комплексов, опосредующих трансдукцию ТТГ-сигнала к внутриклеточным эффекторам [27, 28] (рис. 1). Активированный гормоном ТТГР может сопрягаться со всеми четырьмя классами G-белков – G_s , $G_{q/11}$, $G_{i/o}$ и $G_{12/13}$ [29–32]. Основными сигнальными путями ТТГ, опосредуемыми через G-белки, являются: 1) аденилатциклазный каскад, включающий ТТГР– G_s -белок– аденилатциклазу (АЦ)–цАМФ–протеинкиназу А–CREB или другие цАМФ-активируемые транскрипционные факторы; 2) фосфолипазный каскад, включающий ТТГР– $G_{q/11}$ -белок–фосфолипазу – $\text{C}\beta 1/3$ -инозитол-1,4,5-трифосфат и диацилглицерин–повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) и активацию форбол-чувствительных изоформ протеинкиназы С, и 3) 3-фосфоинозитидный каскад, который включает ТТГР– $\beta\gamma$ -димер G-белка–фосфолипазу – $\text{C}\beta 2$ -фосфатидилинозитол-3-киназу–Akt-киназу–комплекс mTOR (рис. 1). Опосредуемая через G_s -белки стимуляция протеинкиназы А и фактора CREB в тироцитах приводит к усилению экспрессии генов ключевых белков синтеза ТГ – тиреоглобулина, тиреопероксидазы (ТПО), Na/I-симпортера, а также некоторых тиреоид-специфичных транскрипционных факторов (TTF-1/NKx2.1, TTF-2/FoxE1, PAX8), вовлеченных в морфогенез и дифференцировку клеток ЩЖ [33, 34]. Кроме того, ТТГР наделен собственной базальной активностью в отсутствие гормональной стимуляции, которая может сильно повышаться вследствие активирующих мутаций. Связывание ТТГ с таким конститутивно активированным ТТГР может вызвать обратный эффект – ослабить его стимулирующее влияние на внутриклеточные сигнальные пути [35].

Важную роль в ТТГ-сигналинге как в тироцитах, так и в нетиреоидных тканях играют β -аррестины, которые не только вовлечены в интернализацию, деградацию и рециклизацию комплексов ТТГР с гормоном, но в составе сигналом функционируют как трансдукторные компоненты внутриклеточного сигналинга, регулируя, наряду с G-белками, каскад митогенактивируемых протеинкиназ и 3-фосфоинозитидный

путь [36] (рис. 1). β -аррестины могут являться связующим звеном между сигнальными путями, реализуемыми через ТТГР и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1), опосредуя согласованное влияние ТТГ и ИФР-1 на клетки-мишени, что продемонстрировано в орбитальных фибробластах [37].

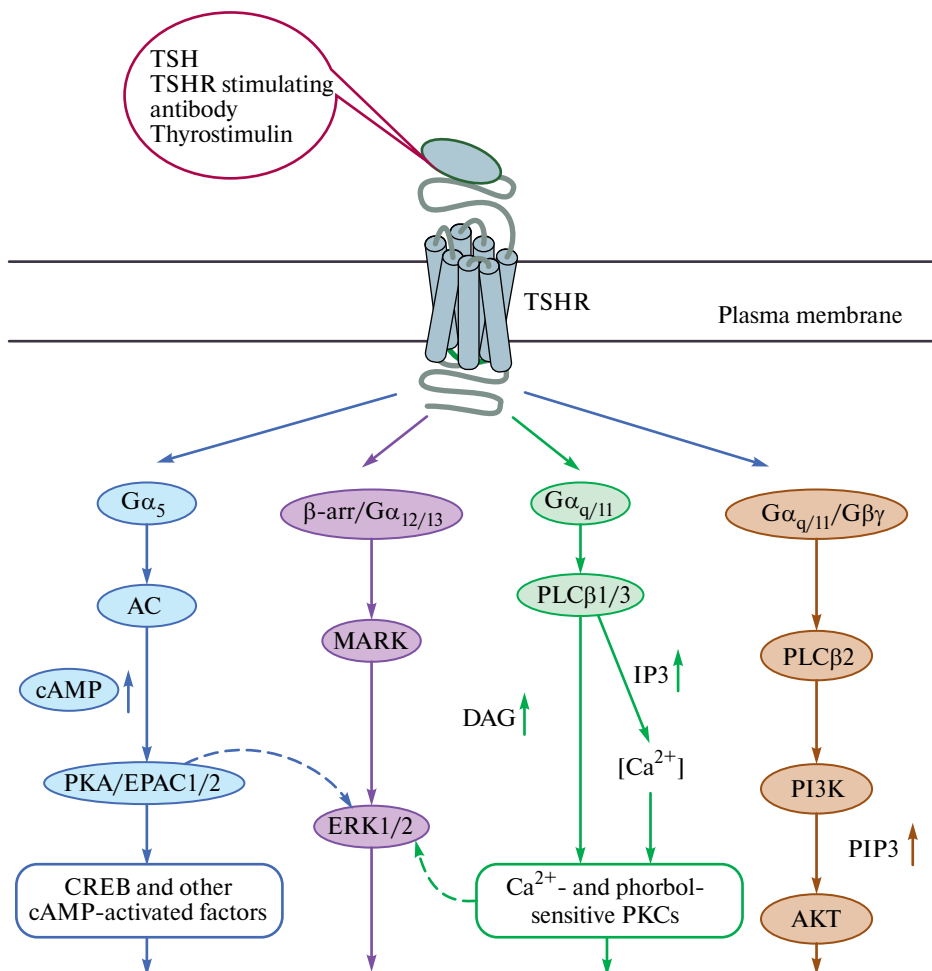
Следует отметить, что ТТГ и его функциональные гомологи при связывании с ТТГР способны активировать сразу несколько внутриклеточных каскадов, что обусловлено множественностью конформаций рецептора. Показано, что в активации различных типов G-белков и β -аррестинов участвуют различные молекулярные детерминанты, локализованные в шарнирной петле и в различных локусах TMD [20, 38–41]. Однако факторы, влияющие на предвзятость ТТГ-сигналинга в отношении внутриклеточных мишеней в тироцитах и в других клетках, экспрессирующих ТТГР, а также ответственные за дисбаланс опосредуемых через ТТГР внутриклеточных каскадов в условиях патологии, в настоящее время остаются малоизученными. Не вызывает сомнений, однако, что определяющую роль в контроле интенсивности и эффекторной специфичности ТТГ-сигналинга играют аллостерические механизмы и регуляторы аллостерических сайтов в молекуле ТТГР, которые стали интенсивно исследовать сравнительно недавно.

ЭНДОГЕННЫЕ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ТТГР

Согласно современным представлениям, в GPCR, наряду с ортостерическим сайтом, как правило, единственным в молекуле рецептора, имеются несколько (до десяти и более) аллостерических сайтов [42, 43], и это в полной мере приложимо к ТТГР и родственным ему рецепторам гонадотропинов [43, 44]. В настоящее время с помощью фармакологических подходов доказано или предсказано наличие аллостерических сайтов в шарнирной петле ТТГР, во внутренней части его трансмембранного канала, в ICL и их интерфейсах с трансмембранными спиралями. Опираясь на данные по регуляторному влиянию на ТТГ-сигналинг ТТГР-аутоантител, комплексообразования ТТГР и статуса N-гликозилирования ТТГ, аллостерические сайты также могут располагаться в LRRD, во внешнем входе в трансмембранный канал и на боковых поверхностях TMD. В дополнение к этому в ТТГР идентифицирован участок, представляющий собой “внутренний” (связанный) агонист, наделенный свойствами аллостерического модулятора ТТГР [45]. Ниже будут рассмотрены различные модели аллостерической регуляции ТТГР, в том числе с помощью эндогенных регуляторов и синтетических лигандов аллостерических сайтов.

“Внутренний” аллостерический агонист ТТГР

При изучении роли шарнирной петли в активации ТТГР был обнаружен участок FNPCEIDIMGY (p10), расположенной на ее С-конце, который был классифицирован как “внутренний” агонист ТТГР (Tethered Agonistic Ligand, TAL1) [20, 45, 46]. На начальном этапе ему отводили роль инверсионного агониста, предотвращающего активацию ТТГР гормоном [47]. Однако дальнейшие исследования показали, что участок p10 способен активировать как полноразмерный ТТГР, так и рецептор, лишенный эктодомена, а инактивирующая мутация, состоящая в замене остатка Glu в нем на лизин, блокирует стимуляцию рецептора гормоном и стимулирующими ТТГР-аутоантителами [48]. Важность спейсерного участка, лежащего на границе шарнирной петли и TM1, подтверждена результатами молекулярного докинга, которые показали, что даже небольшие конформационные перестройки в нем критически влияют на передачу ТТГ-сигнала к G-белкам [49].



Synthesis of thyroid hormones (in thyrocytes), growth, differentiation and survival of thyrocytes and other TSH-sensitive cells, control of proliferation and metastasis of TSHR-positive tumor cells

Рис. 1. Сигнальные пути ТТГ в тироцитах и в некоторых нетиреоидных тканях. Активация ТТГР (TSHR) гормоном или другими агентами (стимулирующие TSHR-антитела, тиреостимулин) приводит к запуску множества сигнальных каскадов, реализуемых через различные типы G-белков и β -аррестины, причем селективность их активации определяется как характером стимуляции TSHR, так и специфичностью клеток-мишеней. Генерируемая из G α_s -белка G α_s -субъединица стимулирует аденилатциклазу (AC), что приводит к повышению уровня цАМФ (cAMP) в клетке, активации протеинкиназы A (PKA) и(или) обменных факторов EPAC-семейства (EPAC1/2) и повышению активности cAMP-регулируемых транскрипционных факторов, в том числе фактора CREB, контролирующих пролиферацию и синтез ТГ. Генерируемая из G $\alpha_{q/11}$ -белка G $\alpha_{q/11}$ -субъединица и G $\beta\gamma$ -димер, который образуется из G $\alpha_{q/11}$ - и G $\beta\gamma$ -белков, стимулируют изоформу 2 фосфолипазы C β (PLC β 2) и далее фосфатидилинозитол-3-киназу (PI-3-K), катализирующую образование фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата (PIP $_3$), что приводит к активации Akt-киназы и зависимых от нее эффекторов, вовлеченных в контроль метаболизма и выживаемости клеток. G $\alpha_{q/11}$ -субъединица также стимулирует PLC β 1/3, катализирующие образование инозитол-1,4,5-трифосфата (IP $_3$), вызывающего повышение уровня внутриклеточного Ca $^{2+}$, и диацилглицерина (DAG). Результатом этого является активация Ca $^{2+}$ - и фоболчувствительных изоформ протеинкиназы C (PKC), вовлеченных в контроль клеточной дифференцировки, роста, апоптоза. Стимуляция β -аррестинового сигналинга приводит к активации каскада митогенактивируемых протеинкиназ (MAPK), в том числе ее эффекторного звена – ERK1/2-киназа, также влияет на активность PI-3-K. В некоторых клетках в активации ERK1/2 участвуют G α_s -субъединица (через активацию PKA), G $\alpha_{q/11}$ -субъединица (через активацию PKC) и G $\alpha_{12/13}$ -субъединица.

В настоящее время установлено, что участок p10 осуществляет конститутивную активацию ТТГР (в отсутствие ТТГ), обеспечивая стабилизацию его активированной конформации. При этом он не вовлечен в реализацию эффектов низкомолекулярных регуляторов, действующих на аллостерические сайты, локализованные в трансмембранном канале, что указывает на его модулирующее влияние исключительно на сигнальную трансдукцию, генерируемую агонистами ортостерического сайта [45]. В рецепторе ЛГ в этом же локусе шарнирной петли также обнаружен “внутренний” агонист, который стабилизирует активированную конформацию рецептора и положительно модулирует его взаимодействие с G-белками [45, 50]. В то же время, в отличие от участка p10 в ТТГР, соответствующий участок в рецепторе ЛГ вовлечен в реализацию стимулирующего эффекта низкомолекулярных агонистов (соединение Org43553), мишенью которых является трансмембранный аллостерический сайт, на ЛГ-зависимые внутриклеточные каскады [21].

Комплексообразование ТТГР

Образование рецепторных комплексов между протомерами GPCR играет важную роль в регуляции их активности и предвзятости внутриклеточного сигналинга, что справедливо для рецепторов гипофизарных гликопротеиновых гормонов [40]. Протомеры в составе таких комплексов действуют как аллостерические модуляторы гормонального сигналинга [51, 52]. Так, рецепторы ФСГ в функционально активном состоянии образуют гомоди(олиго)мерные комплексы, а также гетероди(олиго)мерные комплексы с протомерами рецептора ЛГ, причем в последнем случае ФСГ способен контролировать ЛГ-зависимые сигнальные пути [53]. Это обусловлено эволюционно древним механизмом трансактивации рецепторных комплексов, когда связывание гормона с одним протомером (например, с протомером рецептора ФСГ) приводит к активации другого протомера (например, протомера рецептора ЛГ) [52]. Тем самым в случае рецептора ФСГ комплексообразование играет роль позитивного аллостерического модулятора. В случае рецептора ЛГ ситуация обратная, поскольку в мономерном состоянии он имеет существенно более высокую активность, чем в составе гомоди(олиго)мерных комплексов [53]. Наряду с этим, комплексообразование гонадотропиновых рецепторов определяет предвзятость внутриклеточного сигналинга, будучи важнейшим механизмом избирательной регуляции эффекторных белков [40].

В случае ТТГР комплексообразование, как и для рецептора ФСГ, играет роль позитивного аллостерического модулятора, поскольку для активации ТТГ-сигналинга необходимо образование гомоди(олиго)мерных комплексов ТТГР [20, 40]. На это указывают следующие факты. Образование комплексов между протомерами ТТГР отмечается уже на стадии посттрансляционного процессинга, что имеет важное значение для созревания ТТГР с последующими его транслокацией и встраиванием в плазматическую мембрану [54, 55]. При изучении взаимодействия активированного гормоном ТТГР с G_s - и $G_{q/11}$ -белками показано, что оно приводит к запуску внутриклеточных каскадов только в случае связывания одной или двух молекул ТТГ с гомодимерным комплексом ТТГР [27, 56]. Гомодимеризация ТТГР необходима для манифестации двухфазного ответа системы ТТГР– G_s -белок–АЦ–цАМФ на ТТГ, когда при низких концентрациях гормона наблюдается мощная ее стимуляция, а при высоких концентрациях эффект гормона ослабляется вследствие активации $G_{i/o}$ -белков [27]. Причиной этого является сдвиг равновесия между мономерными и ди(олиго)мерными формами ТТГР в сторону мономерных форм при повышенных концентрациях ТТГ [57, 58]. Предполагают, что определенную роль в стабилизации ТТГР-комплексов, а следовательно, и в эффективности и предвзятости ТТГ-сигналинга может играть статус N-гликозилирования ТТГ [58]. Большое значение придают и контактам ТТГР с мембранными липидами, в том числе при его встраивании в липидные рафты. Имеются основания считать, что

липидное окружение регулирует соотношение мономерных и ди(олиго)мерных форм ТТГР, причем наибольший вклад в этот процесс вносят холестерин, фосфолипиды и GM1-ганглиозиды [57, 59]. Тем самым комплексообразование ТТГР может в значительной степени зависеть от липидного состава плазматической мембраны и локализации в ней липидных рафтов.

Показано дифференцированное влияние различных мутаций на комплексообразование ТТГР. Негативные эффекты инактивирующих мутаций часто обусловлены нарушением стабильности ди(олиго)мерных комплексов ТТГР [60, 61], в то время как мутации, генерирующие конститутивно активные формы ТТГР, стабилизируют образование ТТГР-комплексов [62, 63]. Тем самым повышение базальной активности ТТГР может быть следствием повышения доли ди- и олигомерных форм рецептора [20].

При изучении механизмов ди(олиго)меризации ТТГР показано, что ведущую роль в этом играют боковые поверхности ТМ, хотя определенный вклад в стабилизацию комплекса вносят и некоторые сегменты эктодомена [63]. Для формирования комплексов ТТГР наиболее важны контакты между ТМ1 и гидрофобной спиралью Н8 (псевдотрансмембранным участком 8), а также между ТМ2 обоих протомеров, поскольку в этом случае создаются благоприятные условия для эффективного связывания ТТГ [64]. Однако возможны и другие контакты, как показывают данные молекулярного моделирования димерных комплексов ТТГР, в том числе в парах – ТМ2/ТМ2, ТМ2/ТМ4, ТМ2/ТМ7, ТМ3/ТМ4, ТМ7/Р8 [58]. В составе гомоди(олиго)мерного комплекса протомеры ТТГР имеют не идентичную конформацию. Такая несимметричность приводит к тому, что один протомер отвечает за связывание гормона, в то время как другой вовлечен в активацию G-белка или β -аррестина. Тем самым ключевым этапом сигнальной трансдукции является процесс трансактивации, когда связывающая и сигнал-передающая функции в комплексах ТТГР пространственно разделены. Сходный механизм трансактивации реализуется и в других рецепторных комплексах, включая рецепторы тирозинкиназного и цитокинового типов [65, 66].

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ ТТГР

Поскольку ТТГ и его структурные аналоги имеют крайне ограниченное применение в медицине, в основном в сегменте диагностики тиреоидной патологии, а применение ТГ и антитиреоидная терапия характеризуются рядом нежелательных эффектов, то ведется разработка других регуляторов ТТГР с различным профилем фармакологической активности, причем значительный интерес представляют препараты с умеренной активностью, во избежание гиперактивации или значительного ингибирования функций ЩЖ, и предвзятостью к определенным ТТГ-зависимым эффекторным системам клеток.

Основные принципы разработки лигандов аллостерических сайтов ТТГР

Наибольшие перспективы открываются на пути создания лигандов аллостерических сайтов ТТГР, которые могут иметь различный профиль фармакологической активности [43, 67]. Они могут быть наделены собственной активностью (в отсутствие гормональной стимуляции), функционировать как прямые или инверсионные агонисты и нейтральные антагонисты, или модулировать эффекты ТТГ, функционировать как положительные (РАМ), негативные (НАМ), “молчащие” (САМ) и предвзятые (ВАМ) аллостерические модуляторы. В присутствии РАМ происходит повышение интенсивности стимулирующего эффекта и(или) снижение эффективной концентрации эндогенного ТТГ, в присутствии НАМ – ослабление этого эффекта и(или) повышение эффективной концентрации гормона, в присутствии САМ – изменение паттерна других аллостерических влияний на ТТГР без заметного влияния на связывание и эффективность ТТГ,

в присутствии ВАР – селективное изменение эффективности влияния ТТГ на определенный сигнальный путь, например на реализуемый через G_s-белок АЦ каскад или на β-аррестинный сигналинг. Возможно сочетание собственной и модулирующей активности, когда соединение стимулирует рецептор и в дополнение к этому усиливает (аго-РАМ) или снижает эффекты гормона (аго-НАМ) [43]. Тем самым разработка регуляторов аллостерических сайтов ТТГ предоставляет широкие возможности для тонкой регуляции ТТГ-сигналинга при различных формах патологии, включая таргетную коррекцию нарушений активности определенных внутриклеточных эффекторов и зависимых от них клеточных процессов. В отличие от лигандов ортостерического сайта, аллостерические регуляторы проявляют умеренную активность, не вызывая гиперактивации и десенситизации рецептора или полного его блокирования, что физиологично и востребовано в клинике.

Наиболее подходящей мишенью для разработки низкомолекулярных регуляторов ТТГ являются аллостерические сайты, локализованные в трансмембранном канале рецептора [43, 67, 68]. Такие сайты не перекрываются с ортостерическим сайтом, расположенным в эктодомене, и не требуют проникновения лиганда через плазматическую мембрану, как это происходит в случае аллостерических сайтов, расположенных в ICL ТТГ. В этой связи следует отметить, что модифицированные липофильными радикалами пептиды, производные ICL ТТГ, в том числе пальмитоилированный пептид 612–627-Lys(Palm)Ala, производный С-концевой половины ICL3, несмотря на высокую специфичность и эффективность действия *in vitro*, при введении крысам демонстрировали сравнительно низкую биологическую активность за исключением интраназального способа введения, что обусловлено их протеолитической деградацией и низкой биодоступностью для ткани ЦЖ [69, 70]. В свою очередь, аллостерические регуляторы, действующие на ECL или участки шарнирной петли ТТГ, способны значимо влиять на связывание ТТГ с ортостерическим сайтом, результатом чего может стать неспецифическое подавление ТТГ-сигналинга. Вследствие этого ценность таких регуляторов с точки зрения контроля ТТГ-зависимых внутриклеточных каскадов не является очевидной.

Отправной точкой для создания низкомолекулярных регуляторов ТТГ, лигандов трансмембранных аллостерических сайтов, стало изучение биологической активности соединения Org41841 с активностью агониста рецептора ЛГ, разработанного сотрудниками фирмы “Organon” в 2002 г. [71]. Оно стимулировало активность рецептора ЛГ и индуцировало овариальный стероидогенез, что делало его подходящим кандидатом на роль индуктора овуляции. Однако дальнейшие исследования показали, что Org41841 влияло и на активность ТТГ, так как трансмембранный аллостерический сайт этого рецептора имел высокое структурное сходство с таковым рецептора ЛГ [72]. Исследования Org41841 привели к идентификации в TMD ТТГ ряда молекулярных детерминант, ответственных за его аллостерическую регуляцию и переход рецептора в активированное состояние. Было установлено, что карман, в котором локализован этот сайт или, альтернативно, два взаимно перекрывающихся сайта, образован аминокислотными остатками, локализованными в TM3, TM4, TM5, TM6 и TM7, а петля ECL2 формирует внешний вход в этот карман, являясь селективным фильтром для потенциальных лигандов [73]. В рецепторе ЛГ вход в трансмембранный канал не столь узкий, как в ТТГ, и содержит меньшее число гидрофобных аминокислотных остатков. Тем самым лиганды аллостерического трансмембранного сайта ТТГ, в отличие от таковых рецептора ЛГ, имеют более высокую гидрофобность и большую компактность, что позволяет им эффективно проникнуть внутрь трансмембранного канала через достаточно узкий и гидрофобный вход в него. Несмотря на это, ряд таких лигандов способны, хотя и с меньшей эффективностью, оказывать влияние на активность рецептора ЛГ, и это требует пристального внимания при тестировании специфической активности аллостерических ТТГ-регуляторов [43, 44, 74].

Аллостерические регуляторы с активностью прямых агонистов ТТГР

Основываясь на изучении структуры трансмембранного аллостерического сайта ТТГР, в 2009 г. были разработаны два прямых агониста – NCGC00168126-01, *N*-(4-(5-(3-(фуран-2-илметил)-4-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиназолин-2-ил)-2-метоксибензилокси)фенил)ацетамид, и NCGC00161870-01, *N*-(4-(5-(3-бензил-5-гидрокси-4-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиназолин-2-ил)-2-метоксибензилокси)-фенил)ацетамид [75] (рис. 2). При инкубации с первичной культурой тироцитов, действуя в микромолярных концентрациях, они стимулировали активность АЦ и повышали экспрессию генов, ответственных за синтез ТГ. По эффективности они были сопоставимы с ТТГ, причем NCGC00161870-01 был активнее NCGC00168126-01. Наряду с этим, при введении мышам оба соединения повышали у них уровень тироксина и стимулировали поглощение радиоактивного йода тканями ЩЖ, и их активность сохранялась при пероральном способе введения [75, 76]. Дальнейшие исследования NCGC00161870-01 (С2-агониста), показали, что он способен активировать мутантную форму ТТГР с заменами в эктодомене (Cys⁴¹Ser, Leu²⁵²Pro), которые препятствуют активации рецептора с помощью ТТГ [77]. Максимальный стимулирующий эффект С2-агониста на активность АЦ сохранялся, хотя и немного ослабевал (на 17%), при его воздействии на ТТГР, лишенный эктодомена. Мутация Leu⁴⁶⁷Pro, затрагивающая трансмембранный аллостерический сайт, которая слабо влияла на активацию мутантного рецептора с помощью ТТГ, предотвращала стимулирующий эффект С2-агониста. Тем самым разработанные аллостерические прямые агонисты могут быть эффективны при гипотиреозе центрального генеза, обусловленного недостаточной секрецией гипофизарного ТТГ, а также при субклиническом гипотиреозе, который обусловлен резистентностью тироцитов к ТТГ вследствие мутаций в эктодомене ТТГР [77].

Актуальной задачей является разработка предвзятых аллостерических агонистов ТТГР, селективно активирующих определенные типы G-белков. В настоящее время разработаны соединения MS437 и MS438, которые в наномолярных концентрациях стимулировали сигнальные пути, реализуемые через G_s -, $G_{q/11}$ - и $G_{12/13}$ -белки, но не влияли на $G_{i/o}$ -белки. Это предотвращало опосредуемое через $G_{i/o}$ -белки ингибирование цАМФ-сигналинга и обеспечивало устойчивое во времени повышение продукции ТГ [78]. Показаны различия в паттерне взаимодействия MS437 и MS438 с ТМЗ в трансмембранном аллостерическом сайте, поскольку MS437 образует контакты с остатком Thr⁵⁰¹, в то время как MS438 в большей степени контактирует с Ser⁵⁰⁵ и Glu⁵⁰⁶. Эти различия определяют более высокую активность MS437 при стимуляции G_s -белка и, соответственно, его более выраженный стимулирующий эффект в отношении синтеза ТГ [78].

Для избирательной активации фосфолипазного пути в 2020 г. был разработан предвзятый аллостерический агонист MSq1, который в наномолярных концентрациях стимулировал $G_{q/11}$ -белки и фосфолипазу С β , а также зависимые от ионов кальция и диацилглицерина изоформы протеинкиназы С в культуре СНО-клеток с экспрессированным в них ТТГР [79]. MSq1 не влиял на АЦ путь и каскад митогенактивируемых протеинкиназ, регуляция которых осуществляется через G_s -белки и β -аррестины. Изучение молекулярных детерминант, ответственных за взаимодействие ТТГР с MSq1, показало, что они локализованы в верхней части трансмембранного канала. Аллостерический сайт, мишень MSq1, включает аминокислотные остатки, расположенные на обращенной вовнутрь канала поверхности ТМ1, ТМ2, ТМ3 и ТМ7, а с внешней стороны он прикрыт сегментами ECL1 и ECL2 [79]. Поскольку молекулярные детерминанты, с которыми взаимодействует MSq1, отличаются от таковых MS437 и MS438, то речь может идти о множественности (по крайней мере, не менее двух) аллостерических сайтов в трансмембранном канале ТТГР, которые, как можно полагать, взаимно перекрываются, но не совпадают между собой. В настоящее время представляет также интерес создание аллостерических агонистов ТТГР, предвзятых к активации β -аррестинового

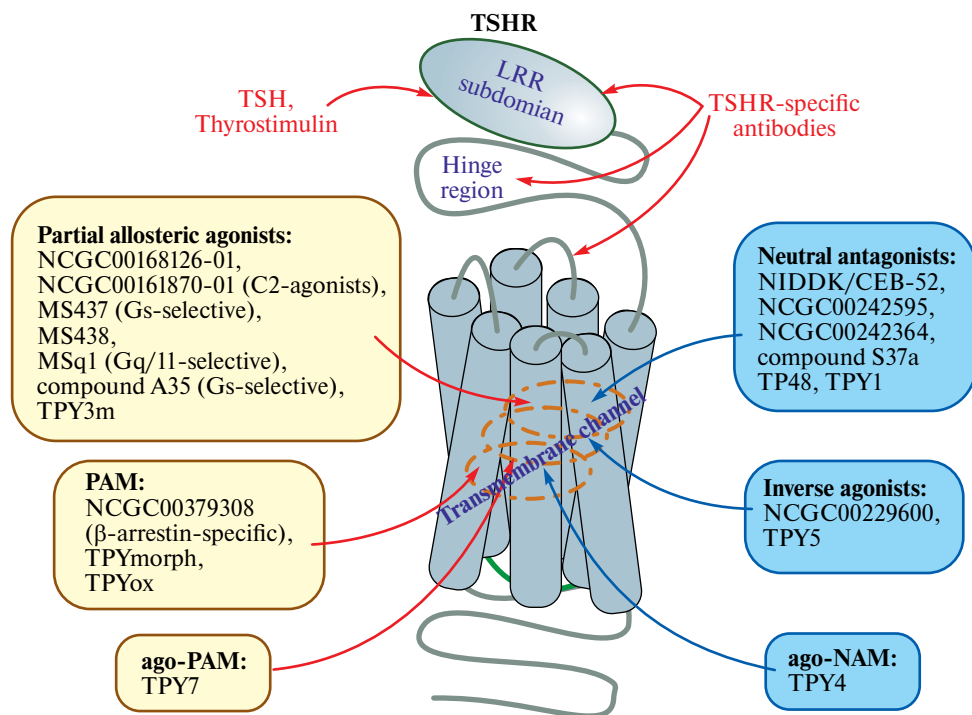


Рис. 2. Низкомолекулярные регуляторы ТТГР, лиганды аллостерических сайтов, локализованных в трансмембранном канале ТТГР, с различной фармакологической активностью. Желтым цветом закрашены поля с синтетическими прямыми (частичными) аллостерическими агонистами, позитивными аллостерическими модуляторами (positive allosteric modulators, PAM) и PAM с собственной агонистической активностью (ago-PAM), повышающими базальную и (или) стимулированную активность ТТГР. Синим цветом закрашены поля с синтетическими нейтральными антагонистами, инверсионными аллостерическими агонистами и негативными аллостерическими модуляторами (negative allosteric modulators, NAM) с собственной агонистической активностью (ago-NAM), негативно влияющими на стимулированную активность ТТГР. Красным цветом выделены эндогенные активаторы ТТГР.

сигналинга, тем более, что ряд ключевых аминокислотных остатков, локализованных в трансмембранном канале ТТГР и потенциально вовлеченных в такую активацию, предсказан с помощью компьютерных методов [32, 80].

В ходе проводимого нами поиска прямых агонистов ТТГР было разработано соединение TPY3m, этил-2-(4-(4-(5-амино-6-(*трет*-бутилкарбамоил)-2-(метилтио)тиено[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)фенил)-1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)ацетат, которое *in vitro* и *in vivo* повышало активность ТТГР, и его стимулирующий эффект проявлялся в основном по отношению к G_s -белку и цАМФ-сигналингу [68, 81, 82]. На это указывают данные о стимулирующем влиянии TPY3m на АЦ систему в тироидальных мембранах, выделенных из ЩЖ крыс, а также выраженный стимулирующий эффект TPY3m в культуре тироцитов FRTL-5 и при различных путях введения крысам на экспрессию цАМФ-зависимых генов, вовлеченных в синтез ТГ. TPY3m не влиял на стимулирующие эффекты ТТГ на экспрессию генов, вовлеченных в синтез ТГ, в культивируемых тироцитах [81]. Кроме того, в его присутствии сохранялись и даже потенцировались стимулирующие эффекты TRH на продукцию ТГ и экспрессию ключевых генов синтеза ТГ [68, 82]. Тем самым TPY3m не конкурирует с ТТГ за места связывания с ТТГР и, более того, способен стабилизировать активированную конформацию этого рецептора

при его связывании с ТТГ. Способность ТРУЗm стимулировать продукцию ТГ при пероральном способе введения (40 мг/кг/сутки) указывает на его устойчивость и хорошую всасываемость в желудочно-кишечном тракте, что характерно и для ряда других изученных нами тиено[2,3-d]-пиримидиновых производных [82]. Даже длительное введение ТРУЗm крысам слабо влияло на экспрессию ТТГР в ЩЖ, а при отмене препарата не вызывало ослабления ответа ЩЖ на эндогенный ТТГ [81, 82]. Морфологические исследования не выявили патологических изменений в ЩЖ после трех- и пятидневной обработки крыс с помощью ТРУЗm, что свидетельствует об отсутствии у него способности повреждать ткани ЩЖ [68, 82].

Поскольку основным показанием для применения агонистов ТТГР являются различные формы гипотиреоза, то крайне важной была апробация ТРУЗm для коррекции экспериментального гипотиреоидного состояния, адекватной моделью которого стали крысы с продолжительным сахарным диабетом 2-го типа и сниженным уровнем ТГ. Трехдневная обработка диабетических крыс с помощью ТРУЗm (20 мг/кг/сутки, в/б) приводила к устойчивому восстановлению уровней Т4 и Т3 без существенного влияния на уровень ТТГ в крови и на экспрессию ключевых генов ГГТ оси, включая ген ТТГР, в ткани ЩЖ [68]. Это отличает ТРУЗm от левотироксина, лечение которым приводило не только к резкому снижению уровня ТТГ, но и к дисбалансу регуляторных влияний в ГГТ оси, вызванному скачкообразными транзиторными подъемами уровней ТГ после перорального приема препарата. Тем самым ТРУЗm может служить прототипом для создания лекарственных препаратов, предназначенных для коррекции тиреоидной недостаточности как центрального генеза, так и обусловленного аутоиммунными факторами и метаболическими расстройствами [68]. Помимо компенсации дефицита ТГ, аллостерические агонисты ТТГР могут быть наделены совершенно необычными свойствами ингибиторов роста и метастазирования опухолей ЩЖ, как это было показано в 2024 г. Gershengorn с соавт. для прямого агониста ТТГР – соединения А35 [83]. Несмотря на то, что рост и дифференцировка нормальных тироцитов регулируются в основном через систему ТТГР–G_s-белок–АЦ, в клетках рака ЩЖ этот процесс от цАМФ-сигналинга непосредственно не зависит. Хотя принято считать, что ТТГ является стимулятором опухолевого роста при раке ЩЖ, вследствие чего у пациентов с этой патологией обычно проводят супрессию синтеза ТТГ высокими концентрациями ТГ [84], данные о митогенном потенциале ТТГ в отношении нормальных и опухолевых клеток ЩЖ противоречивы. Тем неожиданнее то, что А35, которое стимулировало АЦ и повышало ростовую активность в нормальных тироцитах, при действии на опухолевые клетки ЩЖ, в которых имелись функционально активные ТТГР, не влияло на цАМФ-сигналинг и при этом ингибировало опухолевый рост [83]. Авторы предположили, что АЦ-система в опухолевых клетках не способна стимулироваться ТТГ, в то время как активация других сигнальных каскадов, реализуемая через ТТГР, может оказывать на рост супрессирующий эффект, что и наблюдалось в случае А35. Подавление роста опухоли ЩЖ и ее метастазирования было продемонстрировано и на животных моделях, что свидетельствует о релевантности применения аллостерических агонистов ТТГР для лечения рака ЩЖ. По результатам молекулярного докинга установлено, что сайт связывания для А35 заметно отличается от таковых для MS437, MS438 и MSq1 и содержит аминокислотные остатки, локализованные на внутренних поверхностях спиралей TM3, TM5, TM6 и TM7 и в сегментах ECL2 и ECL3 [83], и это является еще одним аргументом в пользу множественности трансмембранных аллостерических сайтов в ТТГР.

Тем самым в настоящее время нами и другими авторами разработана линейка низкомолекулярных прямых агонистов ТТГР, которые могут быть использованы для лечения субклинического гипотиреоза, гипотиреоидных состояний, обусловленных метаболическими расстройствами, некоторых форм рака ЩЖ, а также могут быть полезны при диагностике метастазов и рецидивов рака ЩЖ с помощью радиоактивного йода, являясь полноценной заменой рекомбинантному ТТГ.

Аллостерические регуляторы с активностью позитивных аллостерических модуляторов и аго-РАМ ТТГР

Недостатком прямых аллостерических регуляторов ТТГР могут быть риски гиперактивации тиреоидной системы. В случае отсутствия выраженного дефицита ТГ это может привести к нарушению продукции эндогенного ТТГ, что часто происходит при длительной заместительной терапии левотироксином (Т4) и лиотиронином (Т3), и к десенситизации ТТГР, в том числе в нетиреоидных тканях. Альтернативой в этом случае служат РАМ, которые сами не вызывают стимуляции ТТГР, но потенцируют действие на него эндогенного ТТГ, результатом чего является умеренная активация ТТГ-сигналинга. При этом возможно селективное усиление только определенных сигнальных каскадов, что будет наделять активированный гормоном ТТГР предвзятостью сигнальной трансдукции. Поскольку ТТГ играет определяющую роль в развитии костной ткани, препятствуя ее потере и стимулируя ее формирование [85, 86], то РАМ и аго-РАМ, наделенные умеренной агонистической активностью, могут быть востребованы для предотвращения остеопороза, вызванного нарушением функционирования тиреоидной системы. При этом на фармакологические характеристики таких регуляторов накладываются жесткие ограничения, поскольку они должны быть селективными в отношении усиления эффекта ТТГ на β -аррестиновые пути, которые вовлечены в ТТГ-опосредуемую активацию остеобластов и формирование костной ткани [27, 87, 88].

В 2018 г. было разработано соединение NCGC00379308, *N*-(1-фенилэтил)-2-(пиперазин-1-ил)хиназолин-4-амин, с активностью РАМ для ТТГР (рис. 2). В клетках остеосаркомы человека (U2OS) это соединение потенцировало вызываемую ТТГ транслокацию к рецептору β 1-аррестина и усиливало стимулирующий эффект ТТГ на секрецию остеопонтина и на экспрессию генов – *OPN* и *ALP1*, кодирующих остеопонтин и щелочную фосфатазу, маркеры остеогенеза [89]. При совместном воздействии NCGC00379308 и ТТГ на U2OS-клетки уровень мРНК генов *OPN* и *ALP1* был в 5.5 и 1.6 раза выше, чем при обработке одним ТТГ, в то время как инкубация этих клеток с одним NCGC00379308 не влияла на изучаемые маркеры остеогенеза. NCGC00379308 не оказывал заметного влияния на АЦ и фосфолипазный пути, являясь предвзятым РАМ для β -аррестинового сигналинга. Тем самым NCGC00379308 способен усиливать стимулирующий ТТГ-сигнал на рост и дифференцировку предшественников остеобластов, что может быть использовано для нормализации функционирования костной ткани в условиях дефицита ТТГ или нарушения его сигналинга в остеобластах [89].

Нами разработано соединение ТРУ7, метил-2-(4-(4-(5-амино-6-(трет-бутилкарбамоил)-2-(метилтио)тиено[2,3-*d*]-пиримидин-4-ил)фенил)-1Н-1,2,3-триазол-1-ил ацетат, структурный гомолог ТРУ3m, с активностью аго-РАМ, предназначенный для коррекции гипотиреоза [90]. ТРУ7 при введении крысам (15 мг/кг, в/б) повышал уровни общего Т4 и свободного Т3, усиливал экспрессию генов *Тро* и *Dio2*, кодирующих тиреопероксидазу и D2-дейодиназу, ответственные за синтез и конверсию ТГ. Его агонистическая активность была значительно ниже, чем у прямого агониста ТРУ3m, но при этом ТРУ7 обладал способностью отчетливо потенцировать эффекты ТРН, повышая его эффекты на уровни ТГ в крови и экспрессию гена *Dio2* в ЩЖ. Эффекты ТРУ7 сохранялись при пятидневном введении, что указывает на отсутствие десенситизации ТТГР при его длительном воздействии. Тем самым ТРУ7 с активностью аго-РАМ может быть применен для восстановления тиреоидного статуса как при ослаблении секреции ТТГ тиреотрофами гипофиза в условиях вторичного (сниженная активность тиреотрофов) или третичного (ослабление секреции ТРН гипоталамическим нейронами) гипотиреоза, так и при дефиците ТГ, вызванном снижением чувствительности ТТГР к гормональной стимуляции, но при условии отсутствия значимой деструкции тироцитов ЩЖ.

С целью разработки РАМ ТТГР без заметного вклада агонистической активности нами были разработаны два новых тиено[2,3-*d*]-пиримидиновых аналога, 5-амино-*N*-(трет-бутил)-2-(метилтио)-4-{4-[3-(оксиран-2-илметокси)проп-1-ин-1-ил]фенил} тиено[2,3-*d*]пиримидин-6-карбоксамид (ТРУох) и 5-амино-*N*-(трет-бутил)-4-{4-[3-(2-гидрокси-3-морфолинопропокси)про-1-ин-1-ил]фенил}-2-(метилтио)тиено[2,3-*d*]пиримидин-6-карбоксамид (ТРУmorph). Эти соединения проявляли активность РАМ, но существенно различались по динамике их эффекта, причем ТРУох даже продемонстрировал изменение фармакологического профиля [91]. При введении крысам ТРУmorph (20 мг/кг, в/б) усиливало стимулирующие эффекты TRH на уровни ТГ и на экспрессию ряда тироидальных генов, ответственных за продукцию ТГ. ТРУmorph не влиял на тиреоидную систему в отсутствие ее стимуляции TRH, что позволяет классифицировать его, как “чистый” РАМ. Потенцирующее влияние ТРУmorph на эффекты TRH отчетливо выявлялось через 3.5 ч. Это, с одной стороны, свидетельствует в пользу сравнительно медленного нарастания его потенцирующего эффекта, что характерно для РАМ, а с другой стороны, указывает на стабильность ТРУmorph в кровотоке [91]. Через 2 ч после введения ТРУох демонстрировал активность, характерную для РАМ, но через 3.5 ч отмечалась тенденция к снижению уровня ТГ и исчезновение его потенцирующего влияния на эффекты TRH, что, как мы полагаем, обусловлено относительно высокой реакционной способностью оксиранового цикла в ТРУох. Мы полагаем две возможные причины: либо оксирановый цикл раскрывается с образованием аллостерического регулятора ТТГР с антагонистической активностью, либо за счет раскрытия этого цикла происходит необратимое связывание ТРУох в трансмембранном канале рецептора [91]. Тем самым для разработки препаратов с активностью РАМ ТТГР наиболее перспективным является ТРУmorph, чье действие направлено на усиление стимулирующего эффекта эндогенного ТТГ на синтез ТГ, опосредуемого через G_s -белки, и это отличает его от β -аррестин-специфичного РАМ – NCGC00379308 [89].

*Аллостерические регуляторы с активностью нейтральных антагонистов
и инверсионных агонистов ТТГР*

Разработка инверсионных агонистов ТТГР обусловлена необходимостью лечения таких заболеваний, как аутоиммунный гипертиреоз (болезнь Грейвса) и часто ассоциированная с ним офтальмопатия Грейвса, первопричинами которых являются стимулирующие ТТГР-аутоантитела, вызывающие гиперактивацию ТТГР, локализованных в ЩЖ и в нетиреоидных тканях (орбитальных фибробластах), а также рак ЩЖ или ТТГ-зависимые новообразования нетиреоидной локализации, вызванные активирующими мутациями в ТТГР [43, 92]. Инверсионные агонисты не только препятствуют стимулирующему воздействию аутоантител или ТТГ на рецептор, но и, что крайне важно, нормализуют его базальную активность, перманентно повышенную в силу различных причин. Нейтральные антагонисты менее востребованы, поскольку эффективны только в случае лечения болезни Грейвса, да и то в том случае, когда они блокируют передачу стимулирующего сигнала, индуцированного тем паттерном ТТГР-аутоантител, которые вырабатываются у конкретного пациента, а также при супрессии опухолей, в которых ТТГР сохраняют чувствительность к ТТГ [93]. ТТГР с активирующими мутациями, как правило, не чувствительны к гормональной стимуляции, и нейтральный антагонист в этом случае малоэффективен.

Первым нейтральным антагонистом ТТГР стало соединение NIDDK/CEB-52, разработанное Neumann с соавт. в 2008 г. [74] (рис. 2). Оно являлось аналогом Org41841, в фенольное кольцо которого для повышения гидрофобности и облегчения проникновения в трансмембранный аллостерический сайт ТТГР была введена метоксипропиленовая группа. NIDDK/CEB-52 подавлял (в среднем на 70%) эффекты ТТГ и стимулирующих ТТГР-аутоантител на активность АЦ в клетках с экспрессированным в них

ТТГР, а также ингибировал ТТГ-индуцированную стимуляцию экспрессии генов, ответственных за синтез ТГ, в первичной культуре тироцитов. Ни в одной из изученных клеточных культур NIDDK/CEB-52 не влиял на базальную активность ТТГР, что позволило отнести его к нейтральным антагонистам и позиционировать как препарат для коррекции аутоиммунного гипертиреоза [74]. В качестве значимых недостатков NIDDK/CEB-52 отмечали его способность, хотя и в небольшой степени, влиять на активность рецептора ЛГ.

Возникшие проблемы со специфичностью побудили ту же группу авторов к разработке соединений NCGC00242595 и NCGC00242364, которые не влияли на рецептор ЛГ [94, 95]. В условиях *in vitro* оба соединения предотвращали повышение уровня цАМФ, вызванное ТТГ и стимулирующими аутоантителами, в орбитальных фибробластах [94], а *in vivo* при введении мышам NCGC00242364 почти вдвое снижал стимулирующий эффект TRH на уровень тироксина и подавлял стимулированную им экспрессию генов тиреопероксидазы и Na/I-симпортера [95]. Оба соединения не влияли на базовую активность АЦ, базовые уровни ТГ и экспрессию тироидальных генов.

Немецкие ученые в 2019 г. разработали соединение S37a, которое имело семь центров хиральности, причем целевой активностью был наделен только один стереоизомер [96]. В клетках с экспрессированным в них ТТГР соединение S37a, будучи взято в микромолярных концентрациях, супрессировало стимулирующие эффекты ТТГ, активирующих ТТГР-аутоантител (M22, KSAб1), олигоклональных активирующих аутоантител, выделенных из крови пациентов с болезнью Грейвса, а также низкомолекулярного аллостерического агониста NCGC00161870-01 (C2). При введении мышам соединение S37a отчетливо подавляло стимулирующие эффекты различных агентов на тиреоидную систему, имело высокую биодоступность (более 50%) и не оказывало значимых побочных эффектов, что позволяет рекомендовать его как прототип для лечения аутоиммунного гипертиреоза и офтальмопатии Грейвса [93, 96].

Нами на основе структуры соединения TP48 с антагонистической активностью [97] был разработан нейтральный антагонист TPY1, который в культивируемых тироцитах крыс FRTL-5 предотвращал стимулирующий эффект ТТГ на продукцию ТГ и экспрессию тироидальных генов, а при введении крысам (25 мг/кг, в/б) снижал TRH-стимулированные уровни ТГ в крови и экспрессию генов, кодирующих тиреопероксидазу, тиреоглобулин и Na/I-симпортер, в ткани ЩЖ, не влияя на базовые уровни этих показателей в отсутствие TRH-стимуляции [98]. Трехдневное введение TPY1 крысам не вызывало у них тиреоидного дефицита и не приводило к каким-либо деструктивным изменениям в ЩЖ, что указывает на релевантность этого соединения для разработки фармакологических антагонистов ТТГР. Необходимо отметить, что соединение TP48, структура которого стала базисом для разработки других негативных регуляторов ТТГР, через 2 ч после введения проявляло себя как нейтральный антагонист, но при более длительной экспозиции начинало демонстрировать свойства слабого инверсионного агониста ТТГР [97, 98].

Первыми инверсионными агонистами рецептора ТТГ стали соединения NCGC00161856, 2-{3-[(2,6-диметилфенокси)метил]-4-метоксифенил}-3-(фуран-2-илметил)-1,2-дигидрохиназолин-4(1H)-1, и его пиридиновый аналог NCGC00229600, которые наряду со стимулированной, снижали базальную активность ТТГР [99, 100] (рис. 2). При действии на культивируемые орбитальные фибробласты, полученные от пациентов с болезнью Грейвса и имеющие повышенную экспрессию ТТГР, NCGC00229600 подавлял в них стимуляцию аутоантителами АЦ, что указывает на его способность предотвращать развитие офтальмопатии.

Нами разработано соединение TPY5 со свойствами инверсионного агониста, которое при введении крысам ингибировало TRH-стимулированные уровни ТГ и в небольшой степени снижало их базальные уровни, причем соединение TPY5 было активным как при внутрибрюшинном (20 мг/кг), так и при пероральном (40 мг/кг) введении [101].

При пероральном введении ТРУ5 снижал базовую экспрессию гена, кодирующего тиреопероксидазу, а также TRH-стимулированную экспрессию генов тиреоглобулина и дейодиназы 2-го типа, вовлеченных в синтез и конверсию ТГ. Неожиданным было то, что ТРУ5 снижал базовую экспрессию гена ТТГР в ЩЖ, поскольку инверсионные агонисты, как правило, оказывают противоположный эффект на специфичный к ним рецептор. Более того, снижая TRH-индуцированную продукцию ТГ, он не предотвращал ингибирующего влияния TRH на экспрессию гена ТТГР [101]. Эти во многом парадоксальные эффекты ТРУ5 требуют дальнейшего изучения.

Алlostерические регуляторы с комбинированной активностью негативных алlostерических модуляторов и агонистов ТТГР

Длительные курсы анти тиреоидных препаратов, применяемых для снижения уровня ТГ при гипертиреозе, часто приводят к дефициту ТГ, что на втором этапе лечения требует заместительной терапии препаратами ТГ или комбинированной терапии анти тиреоидными препаратами и левотироксином. С риском развития тиреоидного дефицита сопряжено и применение описанных выше инверсионных агонистов ТТГР. Нельзя исключить и того, что при длительном применении алlostерические нейтральные антагонисты ТТГР также могут индуцировать постепенное снижение уровня ТГ, хотя этот вопрос остается неизученным. В этом отношении перспективными могут быть аго-NAM ТТГР, которые предотвращают гиперактивацию ТТГР агонистами ортостерического сайта (ТТГ, стимулирующие ТТГР-аутоантитела), но при этом сами, хотя и в небольшой степени, способны стимулировать базальную активность ТТГР. Тем самым они предотвращают гиперактивацию ТТГ-зависимых каскадов в тканях-мишенях, но обеспечивают их активность на умеренном, близком к норме уровне.

Нами разработано соединение ТРУ4, структурный гомолог ТРУ1, с активностью аго-NAM *in vitro* и *in vivo* (рис. 2). При инкубации с FRTL-5-клетками ТРУ4 (50 мкМ) повышал уровни Т3 и Т4 в инкубационной среде, но при этом ингибировал стимулирующий эффект на них ТТГ [102]. При внутрибрюшинном и пероральном введении крысам ТРУ4 через 3.5 ч повышал уровни ТГ, в то время как предобработка животных с помощью ТРУ4 ослабляла стимулирующий эффект, вызываемый TRH, в наибольшей степени для свободного Т4. Это обусловлено не только ослаблением TRH-стимулированного синтеза Т4, но и повышением его конверсии в Т3, осуществляемой D2-дейодиназой. Уровень ТТГ во всех группах крыс, обработанных TRH, был повышен, что указывает на отсутствие ингибирующего влияния ТРУ4 на секрецию ТТГ аденогипофизом. В присутствии антагониста ТРУ1 стимулирующий эффект ТРУ4 на уровни ТГ снижался, что свидетельствует либо о совпадении, либо о частичном перекрывании сайтов их связывания в трансмембранном канале ТТГР [102]. По спектру биологической активности разработанный нами ранее пептидин 612–627-Lys(Palm)Ala, модифицированный пальмитоильным радикалом фрагмент ICL3 ТТГР [69, 70], также имел активность, позволяющую отнести его к аго-NAM. Однако он уступает по активности ТРУ4 вследствие повышенной деградации и более низкой биодоступности для ЩЖ [103].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Алlostерические механизмы регуляции играют ключевую роль в функционировании большинства (если не всех) GPCR, и ТТГР в этом отношении не исключение. Однако, несмотря на большое число работ по изучению алlostерической регуляции ТТГР, в этой области остается много белых пятен и нерешенных вопросов. Так, показано влияние на функциональную активность ТТГР процесса образования рецепторных комплексов, в которых протомеры оказывают взаимное влияние друг на друга путем

взаимодействия с аллостерическими сайтами, локализованными в местах их контакта. Однако не решен вопрос о том, как это влияет на предвзятость сигналинга и на специфичность взаимодействия ТТГР с различными формами ТТГ и тиреостимулином, а также не изучена возможность образования гетерокомплексов ТТГР с другими типами рецепторов. В этой связи необходимо отметить, что в отношении родственного ТТГР рецептора ЛГ такие данные имеются, и они крайне важны для понимания всей машинерии ЛГ-сигналинга [43, 44]. Показано влияние статуса N-гликозилирования молекулы ТТГ на его способность активировать ТТГР, но роль аллостерических механизмов в этом остается неизученной, а также не установлены особенности сигнальной трансдукции РТ-ТТГ, имеющего более объемные, отрицательно заряженные N-гликаны. Важно, что в случае гонадотропинов влияние N-гликозилирования на сигнальную трансдукцию, а также его роль в патогенезе заболеваний репродуктивной системы интенсивно изучаются [44]. Не выяснено, влияют ли такие эндогенные аллостерические регуляторы GPCR, как ионы натрия, магния и цинка, гидрофобные аминокислоты и мембранные липиды [104–107], на активность ТТГР, и, если такое влияние имеет место, где могут быть локализованы потенциальные сайты для их связывания.

В настоящее время на основе различных гетероциклических соединений разработана широкая линейка аллостерических регуляторов ТТГР, которые эффективны как при стимуляции ТТГР в отсутствие гормона (прямые агонисты, аго-NAM) или в его присутствии (аго-РАМ, РАМ), так и при снижении базальной (инверсионные агонисты) или стимулированной гормоном активности ТТГР (нейтральные антагонисты, NAM, аго-NAM) [22, 32, 40, 43, 67, 68, 88]. В соответствии с фармакологической активностью эти регуляторы могут быть использованы для лечения тиреоидной патологии (болезни Грейвса и Хашимото, неаутоиммунный гипотиреоз, рак ЩЖ и др.) и других заболеваний, для которых показана этиопатогенетическая роль нарушений функций ТТГР (остеопороз, офтальмопатия Грейвса и др.). Однако все исследования этих востребованных в клинике регуляторов находятся на стадии доклинических испытаний, что обусловлено как недостаточностью изучения механизмов их действия, так и опасениями в отношении “нецелевого” их эффекта. К сожалению, те же проблемы возникают и при внедрении в клинику аллостерических регуляторов других GPCR [108, 109]. Однако можно полагать, что достигнутый в последние годы прогресс при разработке аллостерических регуляторов ТТГР и структурно близких им рецепторов ЛГ и ФСГ позволит в скором будущем перейти к таргетной терапии социально значимых ТТГ-зависимых заболеваний.

ВКЛАД АВТОРОВ

А. О. Ш. – разработка концепции обзора, анализ первоисточников, написание и редактирование текста. К. В. Д. – анализ первоисточников, написание и редактирование текста, подготовка иллюстративного материала.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (№ 19-75-20122).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данного обзора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ortiga-Carvalho TM, Chiamolera MI, Pazos-Moura CC, Wondisford FE* (2016) Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis. *Compr Physiol* 6(3): 1387–1428.
<http://doi.org/10.1002/cphy.c150027>
2. *Contreras-Jurado C* (2025) Thyroid Hormones and Co-workers: An Overview. *Methods Mol Biol* 2876: 3–16.
http://doi.org/10.1007/978-1-0716-4252-8_1
3. *Feldt-Rasmussen U, Effraimidis G, Klose M* (2021) The hypothalamus-pituitary-thyroid (HPT)-axis and its role in physiology and pathophysiology of other hypothalamus-pituitary functions. *Mol Cell Endocrinol* 525: 111173.
<http://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111173>
4. *Tuncel M* (20117) Thyroid Stimulating Hormone Receptor. *Mol Imaging Radionucl Ther* 26(Suppl 1): 87–91.
<http://doi.org/10.4274/2017.26.suppl.10>
5. *Naicker M, Naidoo S* (2022) Cellular and molecular distribution of thyroid-specific proteins, thyroid-stimulating hormone receptor (TSH-R) and thyroglobulin (TG) in the central nervous system. *Neurochem Int* 155: 105305.
<http://doi.org/10.1016/j.neuint.2022.105305>
6. *Lanzolla G, Marinò M, Menconi F* (2024) Graves disease: latest understanding of pathogenesis and treatment options. *Nat Rev Endocrinol* 20(11): 647–660.
<http://doi.org/10.1038/s41574-024-01016-5>
7. *Ghuvic Z, Obradovic M, Stewart AJ, Essack M, Pitt SJ, Samardzic V, Soskic S, Gojobori T, Isenovic ER* (2021) Levothyroxine Treatment and the Risk of Cardiac Arrhythmias – Focus on the Patient Submitted to Thyroid Surgery. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12: 758043.
<http://doi.org/10.3389/fendo.2021.758043>
8. *Jin M, Jang A, Kim CA, Kim TY, Kim WB, Shong YK, Jeon MJ, Kim WG* (2023) Long-term follow-up result of antithyroid drug treatment of Graves' hyperthyroidism in a large cohort. *Eur Thyroid J* 12(2): e220226.
<http://doi.org/10.1530/ETJ-22-0226>
9. *Fan QR, Hendrickson WA* (2005) Structural biology of glycoprotein hormones and their receptors. *Endocrine* 26(3): 179–188.
<http://doi.org/10.1385/endo:26:3:179>
10. *Fröhlich E, Wahl R* (2023) Pars Distalis and Pars Tuberalis Thyroid-Stimulating Hormones and Their Roles in Macro-Thyroid-Stimulating Hormone Formation. *Int J Mol Sci* 24(14): 11699.
<http://doi.org/10.3390/ijms241411699>
11. *Wide L, Eriksson K* (2019) Unique Pattern of N-Glycosylation, Sialylation, and Sulfonation on TSH Molecules in Serum of Children Up to 18 Months. *J Clin Endocrinol Metab* 104(10): 4651–4659.
<http://doi.org/10.1210/jc.2018-02576>
12. *Wide L, Eriksson K* (2021) Thyrotropin N-glycosylation and Glycan Composition in Severe Primary Hypothyroidism. *J Endocr Soc* 5(4): bvab006.
<http://doi.org/10.1210/jendso/bvab006>
13. *Estrada JM, Soldin D, Buckey TM, Burman KD, Soldin OP* (2014) Thyrotropin isoforms: implications for thyrotropin analysis and clinical practice. *Thyroid* 24(3): 411–423.
<http://doi.org/10.1089/thy.2013.0119>
14. *Querat B* (2021) Unconventional Actions of Glycoprotein Hormone Subunits: A Comprehensive Review. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12: 731966.
<http://doi.org/10.3389/fendo.2021.731966>
15. *Wondisford FE* (2002) The thyroid axis just got more complicated. *J Clin Invest* 109(11): 1401–1402.
<http://doi.org/10.1172/JCI15865>

16. *Brokken LJ, Scheenhardt JW, Wiersinga WM, Prummel MF* (2001) Suppression of serum TSH by Graves' Ig: evidence for a functional pituitary TSH receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 86(10): 4814–4817.
<http://doi.org/10.1210/jcem.86.10.7922>
17. *Prummel MF, Brokken LJ, Wiersinga WM* (2004) Ultra short-loop feedback control of thyrotropin secretion. *Thyroid* 14(10): 825–829.
<http://doi.org/10.1089/thy.2004.14.825>
18. *Yang Q, Li J, Kou C, Zhang L, Wang X, Long Y, Ni J, Li S, Zhang H* (2022) Presence of TSHR in NK Cells and Action of TSH on NK Cells. *Neuroimmunomodulation* 29(1): 77–84.
<http://doi.org/10.1159/000516925>
19. *Mendonça-Reis E, Guimarães-Nobre CC, Teixeira-Alves LR, Miranda-Alves L, Berto-Junior C* (2024) TSH Receptor Reduces Hemoglobin S Polymerization and Increases Deformability and Adhesion of Sick Erythrocytes. *Anemia* 2024: 7924015.
<http://doi.org/10.1155/2024/7924015>
20. *Kleinau G, Worth CL, Kreuchwig A, Biebermann H, Marcinkowski P, Scheerer P, Krause G* (2017) Structural-Functional Features of the Thyrotropin Receptor: A Class A G-Protein-Coupled Receptor at Work. *Front Endocrinol (Lausanne)* 8: 86.
<http://doi.org/10.3389/fendo.2017.00086>
21. *Duan J, Xu P, Cheng X, Mao C, Croll T, He X, Shi J, Luan X, Yin W, You E, Liu Q, Zhang S, Jiang H, Zhang Y, Jiang Y, Xu HE* (2021) Structures of full-length glycoprotein hormone receptor signalling complexes. *Nature* 598(7882): 688–692.
<http://doi.org/10.1038/s41586-021-03924-2>
22. *Duan J, Xu P, Luan X, Ji Y, He X, Song N, Yuan Q, Jin Y, Cheng X, Jiang H, Zheng J, Zhang S, Jiang Y, Xu HE* (2022) Hormone- and antibody-mediated activation of the thyrotropin receptor. *Nature* 609(7928): 854–859.
<http://doi.org/10.1038/s41586-022-05173-3>
23. *Xiang P, Latif R, Morshed S, Davies TF* (2024) Hypothyroidism Induced by a TSH Receptor Peptide-Implications for Thyroid Autoimmunity. *Thyroid* 34(12): 1513–1521.
<http://doi.org/10.1089/thy.2024.0089>
24. *Krieger CC, Neumann S, Gershengorn MC* (2020) Is There Evidence for IGF1R-Stimulating Abs in Graves' Orbitopathy Pathogenesis? *Int J Mol Sci* 21(18): 6561.
<http://doi.org/10.3390/ijms21186561>
25. *Faust B, Billesbølle CB, Suomivuori CM, Singh I, Zhang K, Hoppe N, Pinto AFM, Diedrich JK, Muftuoglu Y, Szkudlinski MW, Saghatelian A, Dror RO, Cheng Y, Manglik A* (2022) Autoantibody mimicry of hormone action at the thyrotropin receptor. *Nature* 609(7928): 846–853.
<http://doi.org/10.1038/s41586-022-05159-1>
26. *Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, Gutierrez-Buey G, Lazarus JH, Dayan CM, Okosieme OE* (2018) Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol* 14(5): 301–316.
<http://doi.org/10.1038/nrendo.2018.18>
27. *Boutin A, Gershengorn MC, Neumann S* (2020) β -Arrestin 1 in Thyrotropin Receptor Signaling in Bone: Studies in Osteoblast-Like Cells. *Front Endocrinol (Lausanne)* 11: 312.
<http://doi.org/10.3389/fendo.2020.00312>
28. *Vieira IH, Rodrigues D, Paiva I* (2022) The Mysterious Universe of the TSH Receptor. *Front Endocrinol (Lausanne)* 13: 944715.
<http://doi.org/10.3389/fendo.2022.944715>
29. *Laugwitz KL, Allgeier A, Offermanns S, Spicher K, Van Sande J, Dumont JE, Schultz G* (1996) The human thyrotropin receptor: a heptahelical receptor capable of stimulating members of all four G protein families. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(1): 116–120.
<http://doi.org/10.1073/pnas.93.1.116>
30. *Büch TR, Biebermann H, Kalwa H, Pinkenburg O, Hager D, Barth H, Aktories K, Breit A, Gudermann T* (2008) G13-dependent activation of MAPK by thyrotropin. *J Biol Chem* 283(29): 20330–20341.
<http://doi.org/10.1074/jbc.M800211200>

31. *Boutin A, Krieger CC, Marcus-Samuels B, Klubo-Gwiedzinska J, Neumann S, Gershengorn MC* (2020) TSH Receptor Homodimerization in Regulation of cAMP Production in Human Thyrocytes in vitro. *Front Endocrinol (Lausanne)* 11: 276.
<http://doi.org/10.3389/fendo.2020.00276>
32. *Krause G, Eckstein A, Schüle R* (2020) Modulating TSH Receptor Signaling for Therapeutic Benefit. *Eur Thyroid J* 9(Suppl 1): 66–77.
<http://doi.org/10.1159/000511871>
33. *Postiglione MP, Parlato R, Rodriguez-Mallon A, Rosica A, Mithbaakar P, Maresca M, Marians RC, Davies TF, Zannini MS, De Felice M, Di Lauro R* (2002) Role of the thyroid-stimulating hormone receptor signaling in development and differentiation of the thyroid gland. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(24): 15462–15467.
<http://doi.org/10.1073/pnas.242328999>
34. *Bruno R, Ferretti E, Tosi E, Arturi F, Giannasio P, Mattei T, Scipioni A, Presta I, Morisi R, Gulino A, Filetti S, Russo D* (2005) Modulation of thyroid-specific gene expression in normal and nodular human thyroid tissues from adults: an in vivo effect of thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 90(10): 5692–5697.
<http://doi.org/10.1210/jc.2005-0800>
35. *Michalek K, Morshed SA, Latif R, Davies TF* (2009) TSH receptor autoantibodies. *Autoimmun Rev* 9(2): 113–116.
<http://doi.org/10.1016/j.autrev.2009.03.012>
36. *Boutin A, Eliseeva E, Gershengorn MC, Neumann S* (2014) β -Arrestin-1 mediates thyrotropin-enhanced osteoblast differentiation. *FASEB J* 28(8): 3446–3455.
<http://doi.org/10.1096/fj.14-251124>
37. *Cui X, Wang F, Liu C* (2023) A review of TSHR- and IGF-1R-related pathogenesis and treatment of Graves' orbitopathy. *Front Immunol* 14: 1062045.
<http://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1062045>
38. *Bonomi M, Busnelli M, Persani L, Vassart G, Costagliola S* (2006) Structural differences in the hinge region of the glycoprotein hormone receptors: evidence from the sulfated tyrosine residues. *Mol Endocrinol* 20(12): 3351–3363.
<http://doi.org/10.1210/me.2005-0521>
39. *Mueller S, Szkudlinski MW, Schaarschmidt J, Günther R, Paschke R, Jaeschke H* (2011) Identification of novel TSH interaction sites by systematic binding analysis of the TSHR hinge region. *Endocrinology* 152(8): 3268–3278.
<http://doi.org/10.1210/en.2011-0153>
40. *Krause G, Marcinkowski P* (2018) Intervention Strategies into Glycoprotein Hormone Receptors for Modulating (Mal-)function, with Special Emphasis on the TSH Receptor. *Horm Metab Res* 50(12):894–907.
<http://doi.org/10.1055/a-0749-6528> Erratum in: (2018) *Horm Metab Res* 50(12): e8.
<http://doi.org/10.1055/a-0789-9317>
41. *Yeste D, Baz-Redón N, Antolín M, García-Arumi E, Mogas E, Campos-Martorell A, González-Llorens N, Aguilar-Riera C, Soler-Colomer L, Clemente M, Fernández-Cancio M, Camats-Tarruella N* (2024) Genetic and Functional Studies of Patients with Thyroid Dysghormonogenesis and Defects in the TSH Receptor (TSHR). *Int J Mol Sci* 25(18): 10032.
<http://doi.org/10.3390/ijms251810032>
42. *Bock A, Bermudez M* (2021) Allosteric coupling and biased agonism in G protein-coupled receptors. *FEBS J* 288(8): 2513–2528.
<http://doi.org/10.1111/febs.15783>
43. *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.
<http://doi.org/10.3390/ijms24076187>
44. *Shpakov AO* (2024) Hormonal and Allosteric Regulation of the Luteinizing Hormone/Chorionic Gonadotropin Receptor. *Front Biosci (Landmark Ed)* 29(9): 313.
<http://doi.org/10.31083/j.fbl2909313>

45. Schulze A, Kleinau G, Neumann S, Scheerer P, Schöneberg T, Brüser A (2020) The intramolecular agonist is obligate for activation of glycoprotein hormone receptors. *FASEB J* 34(8): 11243–11256. <http://doi.org/10.1096/fj.202000100R>
46. Krause G, Kreuchwig A, Kleinau G (2012) Extended and structurally supported insights into extracellular hormone binding, signal transduction and organization of the thyrotropin receptor. *PLoS One* 7(12): e52920. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0052920>
47. Vlaeminck-Guillem V, Ho SC, Rodien P, Vassart G, Costagliola S (2002) Activation of the cAMP pathway by the TSH receptor involves switching of the ectodomain from a tethered inverse agonist to an agonist. *Mol Endocrinol* 16(4): 736–746. <http://doi.org/10.1210/mend.16.4.0816>
48. Brüser A, Schulz A, Rothmund S, Ricken A, Calebiro D, Kleinau G, Schöneberg T (2016) The Activation Mechanism of Glycoprotein Hormone Receptors with Implications in the Cause and Therapy of Endocrine Diseases. *J Biol Chem* 291(2): 508–520. <http://doi.org/10.1074/jbc.M115.701102>
49. Schaarschmidt J, Nagel MBM, Huth S, Jaeschke H, Moretti R, Hintze V, von Bergen M, Kalkhof S, Meiler J, Paschke R (2016) Rearrangement of the Extracellular Domain/Extracellular Loop 1 Interface Is Critical for Thyrotropin Receptor Activation. *J Biol Chem* 291(27): 14095–14108. <http://doi.org/10.1074/jbc.M115.709659>
50. He X, Duan J, Ji Y, Zhao L, Jiang H, Jiang Y, Eric Xu H, Cheng X (2022) Hinge region mediates signal transmission of luteinizing hormone and chorionic gonadotropin receptor. *Comput Struct Biotechnol J* 20: 6503–6511. <http://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.039>
51. Lazim R, Suh D, Lee JW, Vu TNL, Yoon S, Choi S (2021) Structural Characterization of Receptor-Receptor Interactions in the Allosteric Modulation of G Protein-Coupled Receptor (GPCR) Dimers. *Int J Mol Sci* 22(6): 3241. <http://doi.org/10.3390/ijms22063241>
52. Mirchandani-Duque M, Choucri M, Hernández-Mondragón JC, Crespo-Ramírez M, Pérez-Olives C, Ferraro L, Franco R, Pérez de la Mora M, Fuxe K, Borroto-Escuela DO (2024) Membrane Heteroreceptor Complexes as Second-Order Protein Modulators: A Novel Integrative Mechanism through Allosteric Receptor-Receptor Interactions. *Membranes (Basel)* 14(5): 96. <http://doi.org/10.3390/membranes14050096>
53. Ulloa-Aguirre A, Zariñán T (2016) The Follitropin Receptor: Matching Structure and Function. *Mol Pharmacol* 90(5):596–608. <http://doi.org/10.1124/mol.116.104398> Erratum in: (2017) *Mol Pharmacol* 91(1): 48. <http://doi.org/10.1124/mol.111.104398err>
54. Latif R, Michalek K, Davies TF (2010) Subunit interactions influence TSHR multimerization. *Mol Endocrinol* 24(10): 2009–2018. <http://doi.org/10.1210/me.2010-0001>
55. Krieger CC, Boutin A, Neumann S, Gershengorn MC (2022) Proximity ligation assay to study TSH receptor homodimerization and crosstalk with IGF-1 receptors in human thyroid cells. *Front Endocrinol (Lausanne)* 13: 989626. <http://doi.org/10.3389/fendo.2022.989626>
56. Allen MD, Neumann S, Gershengorn MC (2011) Occupancy of both sites on the thyrotropin (TSH) receptor dimer is necessary for phosphoinositide signaling. *FASEB J* 25(10): 3687–3694. <http://doi.org/10.1096/fj.11-188961>
57. Latif R, Ando T, Davies TF (2007) Lipid rafts are triage centers for multimeric and monomeric thyrotropin receptor regulation. *Endocrinology* 148(7): 3164–3175. <http://doi.org/10.1210/en.2006-1580>
58. Mezei M, Latif R, Davies TF (2022) Modeling TSH Receptor Dimerization at the Transmembrane Domain. *Endocrinology* 163(12): bqac168. <http://doi.org/10.1210/endocr/bqac168>

59. *De Gregorio F, Pellegrino M, Picchiatti S, Belardinelli MC, Taddei AR, Fausto AM, Rossi M, Maggio R, Giorgi F* (2011) The insecticide 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethane (DDT) alters the membrane raft location of the TSH receptor stably expressed in Chinese hamster ovary cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 253(2): 121–129.
<http://doi.org/10.1016/j.taap.2011.03.018>
60. *Calebiro D, de Filippis T, Lucchi S, Covino C, Panigone S, Beck-Peccoz P, Dunlap D, Persani L* (2005) Intracellular entrapment of wild-type TSH receptor by oligomerization with mutants linked to dominant TSH resistance. *Hum Mol Genet* 14(20): 2991–3002.
<http://doi.org/10.1093/hmg/ddi329>
61. *Tenenbaum-Rakover Y, Grasberger H, Mamasasiri S, Ringkarnanont U, Montanelli L, Barkoff MS, Dahood AM, Refetoff S* (2009) Loss-of-function mutations in the thyrotropin receptor gene as a major determinant of hyperthyrotropinemia in a consanguineous community. *J Clin Endocrinol Metab* 94(5): 1706–1712.
<http://doi.org/10.1210/jc.2008-1938>
62. *Biebermann H, Winkler F, Handke D, Teichmann A, Gerling B, Cameron F, Eichhorst J, Grüters A, Wiesner B, Kühnen P, Krude H, Kleinau G* (2012) New pathogenic thyrotropin receptor mutations decipher differentiated activity switching at a conserved helix 6 motif of family A GPCR. *J Clin Endocrinol Metab* 97(2): E228–E232.
<http://doi.org/10.1210/jc.2011-2106>
63. *Zoenen M, Urizar E, Swillens S, Vassart G, Costagliola S* (2012) Evidence for activity-regulated hormone-binding cooperativity across glycoprotein hormone receptor homomers. *Nat Commun* 3: 1007.
<http://doi.org/10.1038/ncomms1991>
64. *Latif R, Ali MR, Mezei M, Davies TF* (2015) Transmembrane domains of attraction on the TSH receptor. *Endocrinology*. 156(2): 488–498.
<http://doi.org/10.1210/en.2014-1509>
65. *Ashim J, Seo MJ, Ji S, Heo J, Yu W* (2025) Research approaches for exploring the hidden conversations of G protein-coupled receptor transactivation. *Mol Pharmacol* 107(6): 100043.
<http://doi.org/10.1016/j.molpha.2025.100043>
66. *Lin HH* (2025) An Alternative Mode of GPCR Transactivation: Activation of GPCRs by Adhesion GPCRs. *Int J Mol Sci* 26(2): 552.
<http://doi.org/10.3390/ijms26020552>
67. *Zhang Y, Tan Y, Zhang Z, Cheng X, Duan J, Li Y* (2024) Targeting Thyroid-Stimulating Hormone Receptor: A Perspective on Small-Molecule Modulators and Their Therapeutic Potential. *J Med Chem* 67(18): 16018–16034.
<http://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c01525>
68. *Derkach KV, Pechalnova AS, Sorokoumov VN, Zorina II, Morina IV, Chernenko EE, Didenko EA, Romanova IV, Shpakov AO* (2025) Effect of a Low-Molecular-Weight Allosteric Agonist of the Thyroid-Stimulating Hormone Receptor on Basal and Thyroliberin-Stimulated Activity of Thyroid System in Diabetic Rats. *Int J Mol Sci* 26(2): 703.
<http://doi.org/10.3390/ijms26020703>
69. *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.
<http://doi.org/10.1134/S1607672912020020>
70. *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.
<http://doi.org/10.1007/s10989-014-9452-6>
71. *van Straten NC, Schoonus-Gerritsma GG, van Someren RG, Draaijer J, Adang AE, Timmers CM, Hanssen RG, van Boeckel CA* (2002) The first orally active low molecular weight agonists for the LH receptor: thienopyr(im)idines with therapeutic potential for ovulation induction. *Chembiochemistry* 3(10): 1023–1026.
[http://doi.org/10.1002/1439-7633\(20021004\)3:10<1023::AID-CBIC1023>3.0.CO;2-9](http://doi.org/10.1002/1439-7633(20021004)3:10<1023::AID-CBIC1023>3.0.CO;2-9)

-
72. Moore S, Jaeschke H, Kleinau G, Neumann S, Costanzi S, Jiang JK, Childress J, Raaka BM, Colson A, Paschke R, Krause G, Thomas CJ, Gershengorn MC (2006) Evaluation of small-molecule modulators of the luteinizing hormone/choriogonadotropin and thyroid stimulating hormone receptors: structure-activity relationships and selective binding patterns. *J Med Chem* 49(13): 3888–3896.
<http://doi.org/10.1021/jm060247s>
73. Hoyer I, Haas AK, Kreuchwig A, Schüle R, Krause G (2013) Molecular sampling of the allosteric binding pocket of the TSH receptor provides discriminative pharmacophores for antagonist and agonists. *Biochem Soc Trans* 41(1): 213–217.
<http://doi.org/10.1042/BST20120319>
74. Neumann S, Kleinau G, Costanzi S, Moore S, Jiang JK, Raaka BM, Thomas CJ, Krause G, Gershengorn MC (2008) A low-molecular-weight antagonist for the human thyrotropin receptor with therapeutic potential for hyperthyroidism. *Endocrinology* 149(12): 5945–5950.
<http://doi.org/10.1210/en.2008-0836>
75. Neumann S, Huang W, Titus S, Krause G, Kleinau G, Alberobello AT, Zheng W, Southall NT, Inglese J, Austin CP, Celi FS, Gavrilova O, Thomas CJ, Raaka BM, Gershengorn MC (2009) Small-molecule agonists for the thyrotropin receptor stimulate thyroid function in human thyrocytes and mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(30): 12471–12476.
<http://doi.org/10.1073/pnas.0904506106>
76. Neumann S, Gershengorn MC (2011) Small molecule TSHR agonists and antagonists. *Ann Endocrinol (Paris)* 72(2): 74–76.
<http://doi.org/10.1016/j.ando.2011.03.002>
77. Allen MD, Neumann S, Gershengorn MC (2011) Small-molecule thyrotropin receptor agonist activates naturally occurring thyrotropin-insensitive mutants and reveals their distinct cyclic adenosine monophosphate signal persistence. *Thyroid* 21(8): 907–912.
<http://doi.org/10.1089/thy.2011.0025>
78. Latif R, Ali MR, Ma R, David M, Morshed SA, Ohlmeyer M, Felsenfeld DP, Lau Z, Mezei M, Davies TF (2015) New small molecule agonists to the thyrotropin receptor. *Thyroid* 25(1): 51–62.
<http://doi.org/10.1089/thy.2014.0119>
79. Latif R, Morshed SA, Ma R, Tokat B, Mezei M, Davies TF (2020) A Gq Biased Small Molecule Active at the TSH Receptor. *Front Endocrinol (Lausanne)* 11: 372.
<http://doi.org/10.3389/fendo.2020.00372>
80. Neumann S, Malik SS, Marcus-Samuels B, Eliseeva E, Jang D, Klubo-Gwiedzinska J, Krieger CC, Gershengorn MC (2020) Thyrotropin Causes Dose-dependent Biphasic Regulation of cAMP Production Mediated by Gs and Gi/o Proteins. *Mol Pharmacol* 97(1): 2–8.
<http://doi.org/10.1124/mol.119.117382>
81. Bakhtyukov AA, Derkach KV, Fokina EA, Sorokoumov VN, Zakharova IO, Bayunova LV, Shpakov AO (2022) Development of Low-Molecular-Weight Allosteric Agonist of Thyroid-Stimulating Hormone Receptor with Thyroidogenic Activity. *Dokl Biochem Biophys* 503(1): 67–70.
<http://doi.org/10.1134/S1607672922020016>
82. Derkach KV, Sorokoumov VN, Morina IY, Kuznetsova VS, Romanova IV, Shpakov AO (2024) Regulatory Effects of 5-Day Oral and Intraperitoneal Administration of a Thienopyrimidine Derivative on the Thyroid Status in Rats. *Bull Exp Biol Med* 177(4): 559–563.
<http://doi.org/10.1007/s10517-024-06223-8>
83. Sarkar R, Bolel P, Kapoor A, Eliseeva E, Dulcey AE, Templin JS, Wang AQ, Xu X, Southall N, Klubo-Gwiedzinska J, Neumann S, Marugan JJ, Gershengorn MC (2024) An Orally Efficacious Thyrotropin Receptor Ligand Inhibits Growth and Metastatic Activity of Thyroid Cancers. *J Clin Endocrinol Metab* 109(9): 2306–2316.
<http://doi.org/10.1210/clinem/dgae114>
84. Worden F (2014) Treatment strategies for radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer. *Ther Adv Med Oncol* 6(6): 267–279.
<http://doi.org/10.1177/1758834014548188>

85. Zou Y, Li B, Wang X, Mao J, Zhang Y (2022) The risk between thyrotropin suppression and bone mineral density in differentiated thyroid cancer. *Medicine (Baltimore)* 101(48): e31991. <http://doi.org/10.1097/MD.00000000000031991>
86. Dziedzic M, Bonczar M, Ostrowski P, Stachera B, Plutecki D, Buziak-Bereza M, Hubalewska-Dydejczyk A, Walocha J, Koziej M (2024) Association between serum TSH concentration and bone mineral density: an umbrella review. *Hormones (Athens)* 23(3): 547–565. <http://doi.org/10.1007/s42000-024-00555-w>
87. Boutin A, Neumann S, Gershengorn MC (2016) Multiple Transduction Pathways Mediate Thyrotropin Receptor Signaling in Preosteoblast-Like Cells. *Endocrinology* 157(5): 2173–2181. <http://doi.org/10.1210/en.2015-2040>
88. Mezei M, Latif R, Das B, Davies TF (2021) Implications of an Improved Model of the TSH Receptor Transmembrane Domain (TSHR-TMD-TRIO). *Endocrinology* 162(7): bqab051. <http://doi.org/10.1210/endo/bqab051>
89. Neumann S, Eliseeva E, Boutin A, Barnaeva E, Ferrer M, Southall N, Kim D, Hu X, Morgan SJ, Marugan JJ, Gershengorn MC (2018) Discovery of a Positive Allosteric Modulator of the Thyrotropin Receptor: Potentiation of Thyrotropin-Mediated Preosteoblast Differentiation In Vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 364(1): 38–45. <http://doi.org/10.1124/jpet.117.244095>
90. Derkach KV, Didenko EA, Sorokoumov VN, Shpakov AO (2025) Substitution of an Ethyl Group with a Methyl Group in the Variable Moiety of TPY3m, a Thyroid-Stimulating Hormone Receptor Agonist, Modifies the Effect of This Analogue on the Basal and Thyroliberin-Stimulated Levels of Thyroid Hormones in Rats. *Cell Tissue Biol* 19(2): 102–112. <http://doi.org/10.1134/S1990519X24600716>
91. Derkach KV, Pechalnova AS, Nazarov IR, Didenko EA, Sorokoumov VN, Shpakov AO (2025) Development of Thieno[2,3-d]-pyrimidine-based Positive Allosteric Modulators of Thyroid Stimulating Hormone Receptor and their Effect on Thyroid Status in Rats. *J Evol Biochem Physiol* 61(2): 425–437. <https://doi.org/10.1134/S002209302502005X>
92. Nagayama Y, Nishihara E (2022) Thyrotropin receptor antagonists and inverse agonists, and their potential application to thyroid diseases. *Endocr J* 69(11): 1285–1293. <http://doi.org/10.1507/endocrj.EJ22-0391>
93. Barbesino G, Salvi M, Freitag SK (2022) Future Projections in Thyroid Eye Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 107(Suppl_1): S47–S56. <http://doi.org/10.1210/clinem/dgac252>
94. Turcu AF, Kumar S, Neumann S, Coenen M, Iyer S, Chiriboga P, Gershengorn MC, Bahn RS (2013) A small molecule antagonist inhibits thyrotropin receptor antibody-induced orbital fibroblast functions involved in the pathogenesis of Graves ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 98(5): 2153–2159. <http://doi.org/10.1210/jc.2013-1149>
95. Neumann S, Nir EA, Eliseeva E, Huang W, Marugan J, Xiao J, Dulcey AE, Gershengorn MC (2014) A selective TSH receptor antagonist inhibits stimulation of thyroid function in female mice. *Endocrinology* 155(1): 310–314. <http://doi.org/10.1210/en.2013-1835>
96. 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, Schüle 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. <http://doi.org/10.1089/thy.2018.0349>
97. 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. <http://doi.org/10.1134/S1607672920020064>

-
98. *Derkach KV, Fokina EA, Bakhtyukov AA, Sorokoumov VN, Stepanchikina AM, Zakharova 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): 713–717.
<http://doi.org/10.1007/s10517-022-05462-x>
 99. *Neumann S, Huang W, Eliseeva E, Titus S, Thomas CJ, Gershengorn MC* (2010) A small molecule inverse agonist for the human thyroid-stimulating hormone receptor. *Endocrinology* 151(7): 3454–3459.
<http://doi.org/10.1210/en.2010-0199>
 100. *Neumann S, Eliseeva E, McCoy JG, Napolitano G, Giuliani C, Monaco F, Huang W, Gershengorn MC* (2011) A new small-molecule antagonist inhibits Graves' disease antibody activation of the TSH receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 96(2): 548–554.
<http://doi.org/10.1210/jc.2010-1935>
 101. *Derkach KV, Bakhtyukov AA, Sorokoumov VN, Lebedev IA, Didenko EA, Shpakov AO* (2024) Low Molecular Weight Thyrotropin Receptor Inverse Agonist is Active upon both Intraperitoneal and Oral Administration. *J Evol Biochem Physiol* 60(1): 295–305.
<https://doi.org/10.1134/S0022093024010216>
 102. *Derkach KV, Didenko EA, Sorokoumov VN, Zakharova IO, Shpakov AO* (2025) Low-molecular-weight Ligand of the Thyroid-stimulating Hormone Receptor with the Activity of a Partial Agonist and a Negative Allosteric Modulator. *Dokl Biochem Biophys* 520(1): 53–57.
<http://doi.org/10.1134/S1607672924600799>
 103. *Derkach KV, Shpakova EA, Didenko EA, Sorokoumov VN, Shpakov AO* (2025) The Effect of Various Types of Allosteric Regulators on Basal and Hormone-Stimulated Thyrotropin Receptor Activity In Vitro and In Vivo. *Rev Clin Pharm Drug Ther* 23(1): 41–50
<https://doi.org/10.17816/RCF635741>
 104. *Zarzycka B, Zaidi SA, Roth BL, Katritch V* (2019) Harnessing Ion-Binding Sites for GPCR Pharmacology. *Pharmacol Rev* 71(4): 571–595.
<http://doi.org/10.1124/pr.119.017863>
 105. *Wang Y, Yu Z, Xiao W, Lu S, Zhang J* (2021) Allosteric binding sites at the receptor-lipid bilayer interface: novel targets for GPCR drug discovery. *Drug Discov Today* 26(3): 690–703.
<http://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.12.001>
 106. *Persechino M, Hedderich JB, Kolb P, Hilger D* (2022) Allosteric modulation of GPCRs: From structural insights to in silico drug discovery. *Pharmacol Ther* 237: 108242.
<http://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2022.108242>
 107. *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.
<http://doi.org/10.1134/S0022093023070013>
 108. *Roth BL, Krumm BE* (2024) Molecular glues as potential GPCR therapeutics. *Biochem Pharmacol* 228: 116402.
<http://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116402>
 109. *Conflitti P, Lyman E, Sansom MSP, Hildebrand PW, Gutiérrez-de-Terán H, Carloni P, Ansell TB, Yuan S, Barth P, Robinson AS, Tate CG, Gloriam D, Grzesiek S, Eddy MT, Prosser S, Limongelli V* (2025) Functional dynamics of G protein-coupled receptors reveal new routes for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 24(4): 251–275.
<http://doi.org/10.1038/s41573-024-01083-3>

Allosteric Regulators of the Thyroid-Stimulating Hormone Receptor – New Horizons in the Pharmacology of Thyroid Pathology

A. O. Shpakov^{a,*}, and K. V. Derkach^a

*^aSechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, Russia*

**e-mail: alex_shpakov@list.ru*

The thyroid stimulating hormone receptor (TSHR) expressed in the thyroid gland is a key component of the TSH-regulated signaling system responsible for the synthesis of thyroid hormones and the growth and proliferation of thyroid cells. The TSH receptor is also present in some non-thyroid tissues (bone tissue, orbital fibroblasts, etc.), controlling their physiological functions. It has a large ectodomain containing a high-affinity orthosteric site that binds TSH and autoantibodies to TSHR, as well as a transmembrane domain containing a significant number of allosteric sites with different localizations. Activation of TSHR by the hormone leads to the launch of a large number of signaling cascades mediated through various types of G proteins and β -arrestins. The selectivity and efficiency of activation of these cascades are largely determined by allosteric mechanisms, which include the formation of TSHR complexes, the effect on TSH signaling of the “internal” agonist localized at the C-terminus of the hinge loop of the TSHR ectodomain, and the N-glycosylation status of TSH. Changes in TSHR activity are the causes of a large number of thyroid diseases and other pathologies, but at present TSHR regulators are practically not used in medicine. Other therapy is not directly targeted at TSHR, which is associated with many of their side effects. Since the use of ligands of the TSHR orthosteric site carries significant risks, the attention of researchers is attracted by ligands of its allosteric sites, including those localized in the transmembrane channel. They have a wide profile of pharmacological activity, including regulators with their own activity (direct and inverse agonists, and neutral antagonists), modulators of TSH effects (PAM, NAM, SAM, and BAM) and regulators with combined activity (ago-PAM, ago-NAM). Allosteric ligands are endowed with moderate activity, without causing hyperactivation or complete blockade of TSHR, in many cases demonstrate selectivity for certain signaling cascades, and retain activity when administered orally. Thus, they can be used to treat various thyroid diseases, including Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis, primary hypothyroidism, adenomas and thyroid cancer, as well as Graves' ophthalmopathy and diseases of the musculoskeletal system. The review systematizes and analyzes data on low-molecular allosteric regulators of TSHR developed by us and other authors, and assesses the prospects for their use in the clinic.

Keywords: thyroid stimulating hormone, allosteric site, allosteric modulator, allosteric inverse agonist, thyroid stimulating hormone receptor, thyroid hormone, autoimmune hyperthyroidism