



УДК 547.963

РОЛЬ УГЛЕВОДОВ ТИРЕОГЛОБУЛИНА
ПРИ ЕГО ИОДИРОВАНИИ *IN VITRO**Бабаев Т. А., Алимбаева Н. Т., Виха Г. В.**Институт биохимии Академии наук УзССР, Ташкент;**Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва*

Проведено иодирование тиреоглобулина после частичного отщепления его углеводных остатков. Показано, что после энзиматического отщепления части углеводов от молекулы тиреоглобулина синтез тироксина в его составе при иодировании *in vitro* резко снижается.

Физиологическое назначение тиреоглобулина — обеспечивать высокий выход иодтиронина из доступного количества иода. В тиреоглобулине протекает энзиматическая конденсация иодированных тирозинов в тироксин [1—3]. Нативная структура тиреоглобулина играет важную роль в образовании тироксина [4]. Тиреоглобулины из разных видов животных содержат от 8 до 10% углеводов [5]. Функциональная роль углеводов до сих пор еще не установлена с достаточной определенностью, хотя в последнее время появился ряд работ, посвященных этому вопросу. N-Ацетилнейраминовая кислота влияет на поведение молекулы тиреоглобулина при электрофокусировке и электрофорезе [6, 7]. Приведены доказательства важной роли N-ацетилнейраминовой кислоты в миграции синтезированного тиреоглобулина из аппарата Гольджи к месту иодирования его в клетке [8, 9]. Удаление N-ацетилнейраминовой кислоты открывает новые группировки, могущие функционировать как антигенные детерминанты [10]. Остаток галактозы участвует в формировании антигенных свойств тиреоглобулина [11].

В данной работе изучено влияние углеводной составляющей тиреоглобулина на его иодирование *in vitro* при действии иода в присутствии иодистого калия.

Тиреоглобулин выделен из щитовидной железы крупного рогатого скота по описанному методу [12]. Ферментативное отщепление части углеводных групп от тиреоглобулина проведено по описанной методике [13]. В результате был получен тиреоглобулин с разным содержанием углеводов (табл. 1): I — тиреоглобулин, в котором 35% N-ацетилнейраминовой кислоты удалено, остальные углеводы остались неизменными; II — тиреоглобулин, в котором отщеплено 14% N-ацетилнейраминовой кислоты, 28% маннозы, 28% галактозы; III — тиреоглобулин, в котором отщеплено 35% N-ацетилнейраминовой кислоты, 70% маннозы, 70% галактозы и 36% N-ацетилглюкозамина.

Результаты, полученные при изучении влияния модификации тиреоглобулина путем отщепления углеводных групп на процесс его иодирования и гормонообразовательную функцию, приведены в табл. 2.

Таблица 1

Содержание углеводов в тиреоглобулинах после их ферментативного дегликозилирования

Углеводы	Тиреоглобулины						
	нативный	после ферментативного гидролиза					
		I		II		III	
содержание, %	содержание, %	отщепление, %	содержание, %	отщепление, %	содержание, %	отщепление, %	
NeuNAc	1,19	0,75	35,0	1,03	13,8	0,77	34,5
Man	2,10	2,10	0	1,50	28,1	0,61	71,0
Gal	1,18	1,18	0	0,84	28,5	0,34	71,2
Fuc	0,63						
GlcNAc	1,94	1,94	0	1,71	12,2	1,24	36,0

Таблица 2

Результаты иодирования нативного и частично дегликозилированного тиреоглобулинов *

Аминокислоты	Содержание аминокислот до иодирования, моль/моль гликопротеина				
	А	Б	В	Г	Д
Тирозин	112,2	112,1	111,6	112,6	104,2
Моноидтирозин (МИТ)	7,7	7,7	13,2	13,7	16,2
Диидтирозин (ДИТ)	5,7	6,2	10,6	10,3	9,6
Тироксин (Т ₄)	4,3	4,4	8,8	6,3	7,5
Общее количество иодтирозинов	22,0	22,7	41,4	36,6	42,8
МИТ + ДИТ					
Т ₄	3,1	3,2	2,7	3,8	3,3
	Увеличение иодтирозинов после иодирования				
МИТ	3,5	4,2	5,8	5,8	13,7
ДИТ	2,8	3,7	6,5	8,9	16,3
Т ₄	1,6	1,7	0,2	1,8	0,6
Общее количество иодтирозинов	9,5	11,3	12,7	18,3	19,0

* А — нативный тиреоглобулин; Б — тиреоглобулин после преинкубации при 37° в течение 10 сут; В — тиреоглобулин, десалированный на 35%; Г — тиреоглобулин, от которого отщеплены N-ацетилнейраминная кислота (14%), манноза (28%) и галактоза (28%); Д — тиреоглобулин, от которого отщеплены N-ацетилнейраминная кислота (35%), манноза (70%), галактоза (70%) и N-ацетилглюкозамин (36%).

В контрольных опытах проведено иодирование тиреоглобулина нативного (табл. 2, А) и проинкубированного в течение 10 сут при 37° и рН 6,0 без гликозидаз (табл. 2, В).

В тиреоглобулине протекает энзиматическая конденсация иодтирозина в тироксин. Образование тироксина происходит также *in vitro* при иодировании тиреоглобулина в определенных условиях [14].

Как видно из табл. 2, А, при иодировании тиреоглобулина *in vitro* наблюдается образование иодтирозинов и тироксина. При этом общее количество иодированных аминокислот при иодировании возрастает до 31,5 (в нативном тиреоглобулине оно составляло 22,0). В контрольном опыте при иодировании проинкубированного в течение 10 сут при 37° тиреоглобулина происходит более интенсивное образование иодтирозинов. При этом количество иодтирозинов увеличивается на 11,3 остатка (в нативном — на 9,5). Количество иодтирозинов достигает 34 моль на моль

белка (табл. 2, Б). Иодирование тиреоглобулина, от которого отщеплено 35% N-ацетилнейраминовой кислоты, приводит к интенсивному образованию новых иодтирозинов, однако при этом наблюдается подавление синтеза тироксина (табл. 2, В). При иодировании тиреоглобулина, от которого отщеплено 14% N-ацетилнейраминовой кислоты, 28% маннозы, 28% галактозы, общее количество иодтирозинов увеличивается за счет образования моно- и диодтирозинов, тогда как содержание тироксина (табл. 2, Г) почти такое же, что и в контрольных опытах (табл. 2, А и Б).

Иодирование тиреоглобулина после отщепления 35% N-ацетилнейраминовой кислоты, 70% маннозы, 70% галактозы, 36% N-ацетилглюкозамина приводит к интенсивному образованию моно- и диодтирозинов, но, как и при иодировании тиреоглобулина, в котором отщеплено 35% N-ацетилнейраминовой кислоты, наблюдается резкое торможение синтеза тироксина (табл. 2, Д).

При сравнении полученных результатов видно, что при иодировании тиреоглобулина после отщепления углеводных остатков общее количество иодтирозинов существенно возрастает. Это свидетельствует о том, что число доступных для атаки иодом остатков тирозина возрастает при отщеплении углеводов. В то же время синтез тироксина зависит от степени сиаилирования молекулы тиреоглобулина. При глубоком отщеплении N-ацетилнейраминовой кислоты от тиреоглобулина нарушается процесс конденсации иодтирозинов в тироксин *in vitro*.

N-Ацетилнейраминовая кислота занимает терминальное положение в олигосахаридных цепях тиреоглобулина. Ряд свойств тиреоглобулина зависит от N-ацетилнейраминовой кислоты, понижированной при физиологических значениях рН. Форма молекулы тиреоглобулина и его взаимодействие с другими молекулами может изменяться с изменением суммарного отрицательного заряда молекулы. В результате отщепления N-ацетилнейраминовой кислоты уменьшается суммарный отрицательный заряд молекул тиреоглобулина, следствием этого могут быть конформационные перестройки, нарушающие тонкую структуру молекулы и затрудняющие конденсацию иодтирозинов в тироксин.

Несколько большее образование тироксина (табл. 2, Д) при иодировании тиреоглобулина после глубокого отщепления углеводов, чем при иодировании десиаилированного на 35% тиреоглобулина (табл. 2, В), можно объяснить тем, что отщепление маннозы, галактозы и N-ацетилглюкозамина от десиаилированного гликопротеина приводит к новым конформационным перестройкам в биополимере, которые направлены в сторону частичного восстановления нативной пространственной структуры.

Таким образом, в опытах *in vitro* из всех углеводных компонентов тиреоглобулина N-ацетилнейраминовая кислота оказывает наибольшее влияние на процесс образования тироксина.

Экспериментальная часть

Тиреоглобулин выделен из щитовидной железы крупного рогатого скота по описанному методу [12]. Отщепление углеводов от тиреоглобулина проводили по методике [13].

Содержание углеводов (маннозы, галактозы, фукозы) в тиреоглобулинах определяли после гидролиза 2 н. HCl (104°, 4 ч) на хроматографе (тип 71102, Чехословакия).

Глюкозамин определяли после гидролиза тиреоглобулина 3 н. HCl (110°, 3 ч), как описано [16]. N-Ацетилнейраминовую кислоту находили по методу Уоррена [15].

Количественное определение иодтирозина. 4–5 мл тиреоглобулина (1 мг/мл) диализовали 12 ч против 8 М раствора мочевины, содержащего 0,1 М KCl, 0,04 М лизин и 0,014 М гистидин, центрифугировали, затем спектрофотометрически определяли иодтирозин [4].

Иодирование тиреоглобулинов осуществляли в 0,1 М фосфатном буфере, рН 7,5, при 30° по описанному методу [6]. К 1 мл 1% раствора тиреоглобулина в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,5) при постоянном перемешивании в течение 30 мин добавляли иодирующий реагент (0,48 М KI и 0,04 М I₂) из расчета 200 моль на моль гликопротеина. Непрореагировавший иод удаляли диализом. Далее количественно определяли моно- и диодтирозины и тироксин спектрофотометрически [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Harington C. R., Pitt-Rivers R. V. (1945) *Biochem. J.*, **39**, 157—161.
2. Hillman G. (1956) *J. Naturforsch. (11b)*, 419—422.
3. Туракулов Я. X. (1959) Обмен иода и тиреоидные гормоны, с. 55—60, ФАН, Ташкент.
4. Edelhoch H., Lippoldt R. E. (1962) *J. Biol. Chem.*, **237**, 2778—2787.
5. Spiro R. G. (1973) *Adv. Prot. Chem.*, **27**, 349—367.
6. Tarutani O., Shulman S. (1971) *Biochem. et biophys. acta*, **229**, 642—648.
7. Tarutani O., Shueman S. (1971) *Biochem. et biophys. acta*, **236**, 384—390.
8. Monaco F., Robbins J. (1973) *J. Biol. Chem.*, **248**, 2328—2336.
9. Monaco F., Grimaldi S., Dominici R., Robbins J. (1975) *Endocrinology*, **97**, 347—350.
10. Salabe G. B., Salabe H., Dominici R., Andreoli M. (1974) *Endocrin. exp.*, **8**, 182—186.
11. Monaco F., Andreoli M. (1976) *Acta endocrinol.*, **83**, 93—98.
12. Городецкий С. И., Осечинский И. В., Соколов А. В., Малышева Л. Ф., Меклер Л. Б. (1972) *Пробл. эндокрин.*, **5**, 93—97.
13. Каверзнева Е. Д., Виха Г. В., Ланук В. А. (1975) *Биоорг. химия*, **1**, 1379—1381.
14. Muns J., Coons A., Salter W. T. (1941) *J. Biol. Chem.*, **139**, 135—139.
15. Warren L. (1959) *J. Biol. Chem.*, **234**, 1971—1975.
16. Walborg E. F., Cobb B. F., Adams-Mayne M., Ward G. W. (1963) *Ann. Biochem.*, **6**, 367—373.

Поступила в редакцию
10.V.1978

ROLE OF THYREOGLOBULIN CARBOHYDRATES IN ITS IN VITRO IODINATION

БАБАЈЕВ Т.А., АЛИМБАБАЈЕВА Н.Т., ВИКНА Г.В.

*Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the Uzbek SSR,
Tashkent, N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Iodination of thyreoglobulin was performed after partial cleavage of its carbohydrate moiety. It was demonstrated that enzymatic removal of some of the thyreoglobulin carbohydrates results in sharp decline of the thyroxine synthesis upon in vitro iodination.