

УДК 612.44.018

## Гормоны щитовидной железы: биосинтез и механизмы действия

В. И. Кандрор

ВИЛЛЕН ИОСИФОВИЧ КАНДРОР — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией патологической физиологии Эндокринологического научного центра РАМН (ЭНЦ РАМН). Область научных интересов: эндокринология, иммунология, биохимия, молекулярная биология.

117036 Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, ГУ ЭНЦ РАМН, тел. (095) 129-67-94, E-mail vik@mail.cnt.ru

Название щитовидной железы (англ. thyroid, нем. Schilddrüse) трудно связать с ее формой, поскольку на самом деле она состоит из двух соединенных перешейком долей и мало напоминает щит. Томас Уортон (Thomas Wharton, 1614—1673), вслед за Везалием описавший эту железу у человека, дал ей это название, по-видимому, исходя из ее близкого расположения к одному из хрящей трахеи, который по форме действительно похож на греческий щит (thyreos) [1].

Щитовидная железа вырабатывает гормоны, регулирующие множество физиологических и биохимических процессов в организме практически во всех тканях. Поэтому ее считают «первой скрипкой» в эндокринном ансамбле, руководимом высшими центрами головного мозга, гипоталамусом и гипофизом. Помимо йодированных тиронинов (собственно тиреоидных гормонов) в этой железе у человека вырабатывается и полипептидный гормон кальцитонин, синтез и механизм действия которого в данном обзоре не рассматриваются.

В настоящем обзоре представлены современные данные исследований механизмов регуляции щитовидной железы, а также биосинтеза, секреции и механизма действия тиреоидных гормонов. Особое внимание уделено возможности объяснения эффектов тиреоидных гормонов *in vivo* с позиций взаимодействия этих гормонов с их внутри- и внеядерными клеточными рецепторами *in vitro*.

### Биосинтез и секреция тиреоглобулина и тиреоидных гормонов

Щитовидная железа обладает рядом особенностей, связанных с ее структурой. Она состоит из мелких фолликулов, выстланных однослойным кубовидным эпителием — тиреоцитами. Синтезируемый этими клетками предшественник тиреоидных гормонов, тиреоглобулин, поступает не в межклеточное пространство (как пептидные продукты других эндокринных желез), а в просвет фолликула, где «дозревает», а затем проникает обратно в клетки (рис. 1). Из огромной молекулы тиреоглобулина (молекулярная масса 660000) образуются лишь около трех молекул тиреоидных гормонов, общая молекулярная масса которых составляет всего 2700.

Ген тиреоглобулина локализован на хромосоме 8q24. Информационная РНК тиреоглобулина примерно в 10 раз крупнее средней мРНК эукариотических клеток. Как и все белки, предназначенные «на экспорт» из клеток, тиреоглобулин синтезируется на полисомах вместе с так называемым сигнальным пептидом, который обеспечивает его проникновение в цис-

терны шероховатого эндоплазматического ретикулума. Далее сигнальный пептид отщепляется, и белок через гладкую эндоплазматическую сеть поступает в аппарат Гольджи. Одновременно с отщеплением сигнального пептида начинается гликозилирование тиреоглобулина, которое заканчивается в аппарате Гольджи. Окончательное содержание углеводов в молекуле гликопротеина составляет 8—10% его молекулярной массы. Гликозилирование — необходимое условие секреции тиреоглобулина в просвет фолликула. После присоединения остатков сиаловой кислоты тиреоглобулин поступает в так называемые пузырьки экзоцитоза, которые доставляют его к апикальной (обращенной в просвет фолликула) мембране клетки. Направленное движение пузырьков зависит от интактности цитоскелета клетки [2]. Мембраны пузырьков сливаются с клеточной мембраной, и их содержимое поступает в просвет фолликула. В этом процессе, по-видимому, принимает участие карбоксиметилаза; акцепторами метильных групп служат белки как мембраны, так и содержимого экзоцитозных пузырьков [3]. Помимо тиреоглобулина пузырьки содержат йодидпероксидазу (тиреоидную пероксидазу, ТПО). Скорость экзоцитоза тиреоглобулина контролируется тиреотропным гормоном (ТТГ) гипофиза.

Под влиянием ТТГ ускоряется также и обратный процесс — эндоцитоз тиреоглобулина из просвета фолликула (коллоидного пространства) в клетку. Свободные мембраны пузырьков концентрируются у апикальной поверхности тиреоцитов и поступают в микроворсинки (псевдоподии), выпячивающиеся в просвет фолликула. Основная роль в процессе эндоцитоза тиреоглобулина принадлежит рецепторам апикальной мембраны и, возможно, фосфорилированию углеводных групп самого белка [4]. Перенос тиреоглобулина в клетку ограничивает скорость продукции тиреоидных гормонов [3]. Эндоцитозные пузырьки («коллоидные капли») сливаются с лизосомами клетки, образуя так называемые фаголизосомы, в которых происходит гидролиз йодированного тиреоглобулина. Высвобождающиеся при этом тиреоидные гормоны — тетраiodтиронин (тироксин,  $T_4$ ) и триiodтиронин ( $T_3$ ) — секретируются в кровь (см. рис. 1). В гидролизе тиреоглобулина принимают участие гликозидгидролазы, кислые протеазы и дипептидгидролазы, активность которых максимальна при pH 4,0. В свободном виде оказываются преимущественно  $T_4$  и  $T_3$ , тогда как большинство моноiod- и диiodтирозинов (соответственно МИТ и ДИТ) остается в составе олигопептидов. Протеолиз тиреоглобулина происходит по мере миграции фаголизосом к базальной (обращенной к

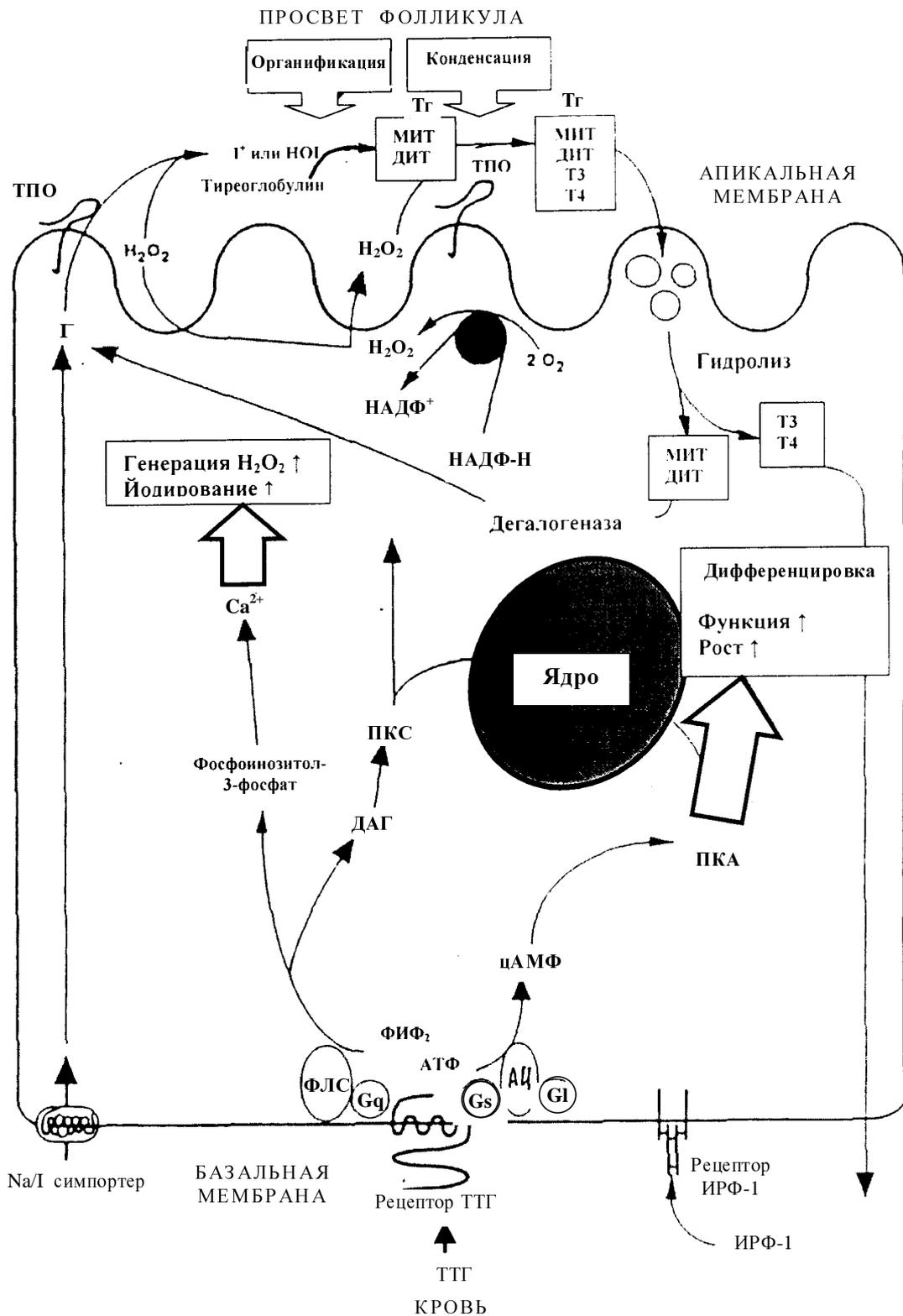


Рис. 1. Схема синтеза и двунаправленного перемещения тиреоглобулина в фолликулярной клетке (тиреоците) щитовидной железы с отдельными элементами внутриклеточной передачи регуляторных сигналов:

Тг — тиреоглобулин; ФЛС — фосфолипиды; АЦ — аденилатциклаза; ФИФ<sub>2</sub> — фосфоинозитолдифосфат; ДАГ — диацилглицерин; ПКА — протеинкиназа А; ПКС — протеинкиназа С

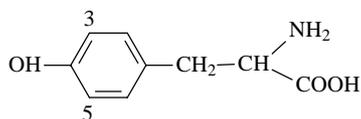
капиллярам) мембране клетки. Средние концентрации  $T_4$  и  $T_3$  в ткани щитовидной железы составляют соответственно 0,3 и 0,02 мкмоль/г (200 и 15 мкг/г).

Пока неясно, происходит ли секреция  $T_4$  и  $T_3$  в кровь путем простой диффузии (за счет градиента концентраций) или путем активного транспорта с участием переносчиков. Большинство молекул йодтирозинов быстро дейодируется в клетках щитовидной железы, причем не весь освобождающийся при этом йодид утилизируется повторно. Из железы в кровь за сутки выделяется около 50 мкг йодида.

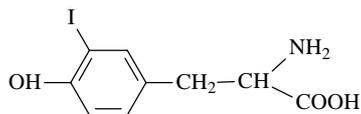
В оттекающей от щитовидной железы крови присутствуют  $T_4$ ,  $T_3$ , МИТ, ДИТ, небольшие количества тиреоглобулина и йодид. За сутки железа производит 80–100 мкг  $T_4$ , их которых 80% подвергается на периферии монодейодированию с образованием примерно равных количеств  $T_3$  и биологически инертного реверсивного  $T_3$  ( $pT_3$ ) (рис. 2).

Главная особенность щитовидной железы состоит в

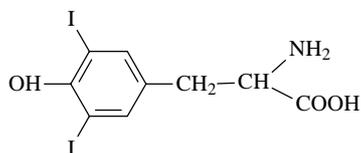
1) L-тирозин



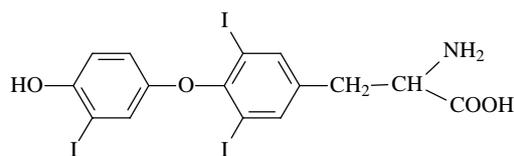
2) L-3-монойодтирозин (МИТ)



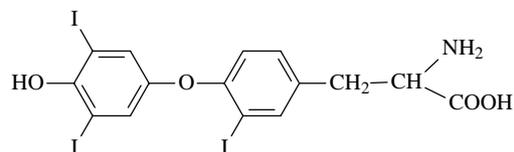
3) 3,5-дйодтирозин (ДИТ)



4) L-3,5, 3'-трийодтиронин ( $T_3$ )



5) L-3, 3',5'-трийодтиронин (реверсивный  $T_3$ )



6) L-3, 5, 3',5'-тетрайодтиронин (тироксин  $T_4$ )

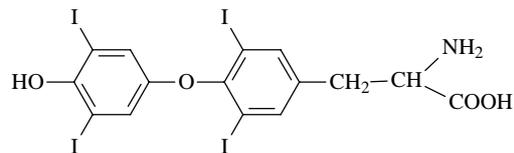


Рис. 2. Йодированные тирозины и тиронины в молекуле тиреоглобулина

том, что только в ней йод используется в процессе синтеза гормонов. Участие в синтезе тиреоидных гормонов — единственно известная физиологическая роль йода. Этот микроэлемент поглощается из крови многими органами (слюнными и молочными железами, слизистой желудочно-кишечного тракта, почками и др.), но только в щитовидной железе он входит в состав биологически активных соединений. Для нормальной продукции тиреоидных гормонов дети грудного возраста должны получать не менее 30 мкг/кг йода в сутки, а подростки и взрослые — 150 мкг/сут. В какой бы химической форме йод ни поступал в организм, щитовидная железа поглощает его только в форме йодида ( $I^-$ ), причем этот процесс происходит против химического и электрического градиентов. Йодид продолжает поступать в щитовидную железу до тех пор, пока градиент его концентрации между тиреоцитами и плазмой крови не превысит 100 : 1. Транспорт йодида через базальную клеточную мембрану тиреоцитов осуществляется особым белком переносчиком одновременно с натрием ( $Na/I$ -симпортер); ген этого белка клонирован [5].

Йодирование тиреоглобулина происходит вблизи апикальной мембраны тиреоцита или на ней самой. В реакцию вступает окисленный йодид. Эта реакция катализируется тиреоидной пероксидазой и требует присутствия  $H_2O_2$ . Образование перекиси водорода в тиреоцитах происходит с участием НАДФ•Н-цитохром *c*-редуктазы. Йодирование продолжается, по-видимому, и в просвете фолликулов. Молекула тиреоглобулина содержит более 100 остатков тирозина, составляющих 3% массы всей молекулы белка. Однако йодированию (с образованием МИТ и ДИТ) подвергается не более 10% таких остатков. Конденсация двух молекул ДИТ приводит к образованию  $T_4$ , а конденсация одной молекулы ДИТ с одной МИТ — к образованию  $T_3$  (см. рис. 2). Эти гормоны остаются в составе тиреоглобулина и запасаются в просвете фолликула (коллоиде), пока не поступят в клетку. Крупные атомы йода стабилизируют фенильные группы тиронина, располагающиеся под прямым углом друг к другу [3]. Содержание  $T_4$  в тиреоглобулине не превышает 3 молей/моль, а  $T_3$  — 0,3 молей/моль. Общее же содержание йода в тиреоглобулине колеблется от 1 до 15 атомов/моль.

ТПО представляет собой связанный с мембраной гемопротейн. Его ген расположен на хромосоме 2pter-12. ТПО катализирует окисление йодида в реакционноспособную форму (вероятно в свободнорадикальную), йодирование тирозиновых остатков и их внутримолекулярную конденсацию.

**Биосинтез и секреция тиреотропного гормона гипофиза**

Практически все процессы синтеза и секреции тиреоидных гормонов контролируются ТТГ. ТТГ повышает активность или увеличивает число йодидных «насосов» на базальной мембране тиреоцитов, повышает активность ТПО и ускоряет синтез и процессинг тиреоглобулина. Образование псевдоподий на апикальной мембране тиреоцитов и все последующие процессы образования и секреции  $T_4$  и  $T_3$  также стимулируются ТТГ. Однако в регуляции активности щитовидной железы принимают участие и другие факторы (йод, катехоламины, простагландины, эпи-

дермальный и инсулиноподобный факторы роста и т.д.). Клетка щитовидной железы интегрирует множество сигналов в единый координированный процесс биосинтеза и секреции тиреоидных гормонов [6].

ТТГ секретируется тиреотрофными клетками передней доли гипофиза, которые составляют лишь около 5% всех клеток этой железы. Он принадлежит к семейству гликопротеиновых гормонов; на долю углеводов приходится 16% его массы. Подобно другим гормонам этого семейства, ТТГ состоит из двух разных нековалентно связанных субъединиц. Его  $\alpha$ -субъединица по аминокислотной последовательности идентична таковой в других гликопротеиновых гормонах гипофиза [лютеинизирующем (ЛГ), фолликулостимулирующем (ФСГ)] и хорионическом гонадотропине. Биологическую и иммунологическую специфичность ТТГ придает  $\beta$ -субъединица, но отдельно от  $\alpha$ -субъединицы она не взаимодействует с рецепторами на тиреоцитах и не стимулирует секрецию тиреоидных гормонов. Сама по себе  $\alpha$ -субъединица также биологически неактивна. Объединению субъединиц гормона способствует их гликозилирование. Ген  $\beta$ -субъединицы ТТГ, локализованный на хромосоме 1, экспрессируется только в гипофизарных тиреотрофах, тогда как ген  $\alpha$ -субъединицы (расположенный на хромосоме 6) — и во многих других клетках.

Синтез и секреция ТТГ в свою очередь находятся под контролем тиреоидных гормонов (внутренняя система регуляции) и гипоталамических гормонов — тиролиберина, соматостатина и, возможно, дофамина (внешняя регуляция). Тиролиберин стимулирует, а соматостатин ингибирует продукцию ТТГ гипофизом. Нейрогормон тиролиберин представляет собой трипептид пироглю-Гис-Про-амид, который образуется из более длинной 9-членной пептидной цепи. Из преоптической области гипоталамуса он поступает в гипофиз по особой (портальной) системе сосудов. Хотя концентрация тиролиберина в гипоталамусе весьма велика, более 80% его содержится во внегипоталамических отделах головного мозга, где он, по-видимому, играет роль нейротрансмиттера, регулирующего поведенческие и электрофизиологические процессы [7]. Стимуляция секреции ТТГ тиролиберинем опосредуется специфическими рецепторами на тиреотрофных клетках гипофиза и повышением внутриклеточной концентрации кальция. Уровень тиролиберина в периферической крови поддается определению только у новорожденных.

#### Взаимодействие тиреотропного гормона гипофиза с рецепторами

Влияние ТТГ на щитовидную железу реализуется путем его взаимодействия со специфическими рецепторами, расположенными на базальной поверхности тиреоцитов. Рецептор ТТГ (ТТГР) сцеплен с G-белком и проводит гормональный сигнал в клетку через каскадные реакции систем цАМФ и фосфоинозитола. ТТГР и его мРНК присутствуют не только в щитовидной железе, но и в некоторых других тканях, хотя его роль в них остается неизвестной [7]. Ген ТТГР человека локализован на хромосоме 22q11—q13. Кодируемый им белок принадлежит к семейству рецепторов с семью гидрофобными трансмембранными участками. ТТГР человека синтезируется в виде про-белка, кото-

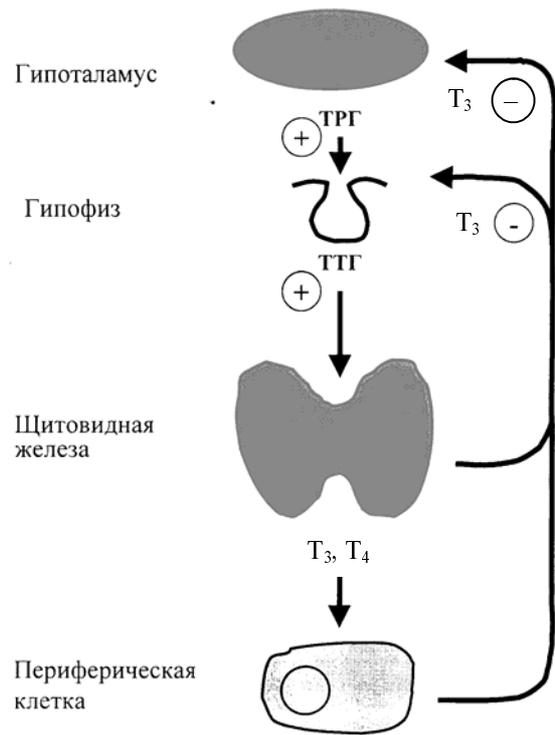


Рис. 3. Структура гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы с прямыми и обратными связями

рый состоит из 744 аминокислотных остатков и 20-членного сигнального пептида. После отщепления последнего образуются две субъединицы рецепторного белка, объединенные дисульфидными связями. Субъединица А содержит ТТГ(лиганд)-связывающий участок, а меньшая субъединица В — трансмембранный домен с тремя внеклеточными и тремя цитоплазматическими петлями. Взаимодействие ТТГ со своим рецептором приводит к активации аденилатциклазы и увеличению внутриклеточной концентрации циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и кальция. Далее происходит активация протеинкиназ и фосфорилирование сериновых и треониновых остатков многих внутриклеточных пептидов, завершающаяся ускорением захвата йодида, синтеза, экзо- и эндоцитоза тироглобулина, его протеолиза и секреции тиреоидных гормонов (см. рис. 1). Какие из фосфорилированных белков определяют различные эффекты ТТГ в щитовидной железе, пока неясно, но практически все эти эффекты имитируются аналогами цАМФ [3]. Нормальное содержание ТТГ в сыворотке периферической крови в зависимости от метода определения колеблется в пределах 0,5—10 мкЕ/мл и остается постоянным на протяжении суток.

Основное ингибирующее действие на секрецию ТТГ в физиологических условиях оказывают сами тиреоидные гормоны по механизму отрицательной обратной связи (рис. 3).

#### Содержание тиреоидных гормонов в крови

Попадая в кровь, тиреоидные гормоны образуют комплекс с гликопротеином — тироксинсвязывающим глобулином, который синтезируется в печени. Этот

глобулин связывает примерно 70% присутствующего в плазме  $T_4$  и 50%  $T_3$ . К менее важным белкам плазмы, транспортирующим тиреоидные гормоны, относятся транстиретин (тироксинсвязывающий преальбумин) и альбумин. На долю свободного  $T_4$  в сыворотке приходится всего 0,03%, а на долю свободного  $T_3$  — 0,3% общего количества тиреоидных гормонов в крови. Биологически активны только свободные гормоны, тогда как связанные с белками обеспечивают их резерв и высвобождаются по мере утилизации свободных [6]. Снижение концентрации свободных тиреоидных гормонов по механизму обратной связи увеличивает их собственную секрецию (через усиление продукции ТТГ), и в результате концентрация гормонов в крови поддерживается на постоянном уровне. Дальнейшая регуляция содержания тиреоидных гормонов в крови осуществляется на периферии. При многих внутренних болезнях и голодании периферические клетки образуют меньшее количество  $T_3$  из  $T_4$  [8]. По всей вероятности, снижение уровня  $T_3$  в таких условиях представляет собой компенсаторную реакцию, направленную на уменьшение энергозатрат и сбережение субстратов окисления.

Содержание общего  $T_4$  в сыворотке в норме колеблется от 51 до 154 нмоль/л (4—12 мкг%), а свободного  $T_4$  7,7—25,7 пмоль/л (0,6—2,0 нг%). Уровень общего  $T_3$  составляет 1,2—3,5 нмоль/л (75—230 нг%). Из присутствующего в крови  $T_3$  на долю непосредственно секретируемого щитовидной железой гормона приходится лишь 20%; остальное его количество образуется в печени, почках и других периферических тканях из  $T_4$  под действием 5'-дейодиназы типа I. Активным центром дейодиназы йодтиронинов является селенистеин. Таким образом, селен принимает косвенное участие в регуляции функций организма. Около 80% необходимого для гипофиза и головного мозга  $T_3$  образуется местно из  $T_4$  под действием другого фермента — 5'-дейодиназы типа II. Поэтому в настоящее время истинным тиреоидным гормоном считают именно  $T_3$ , тогда как  $T_4$  отводится роль прогормона [5]. Клеточная мембрана содержит ряд энергозависимых транспортных систем для тиреоидных гормонов [9], причем их проникновение в клетки сопряжено с переносом некоторых аминокислот и  $Na^+—H^+$  обменом [10].

#### Действие тиреоидных гормонов

В отличие от многих гормонов, обладающих более или менее локальными эффектами в тех или иных тканях, тиреоидные гормоны характеризуются чрезвычайно широким спектром действия. Под их контролем находятся практически все органы и ткани, все реакции метаболизма, общие энергозатраты и потребление кислорода (так называемый калоригенный эффект). Эти гормоны оказывают влияние на рост, развитие организма и дифференцировку тканей в периоды до и непосредственно после рождения. Интересно отметить, что в процессе эволюции влияние тиреоидных гормонов на процессы развития (например, превращение головастика в лягушку) сформировалось раньше их метаболических эффектов, которые полностью проявляются лишь у теплокровных животных [5].

К 1950—60-м гг. сложилась точка зрения, согласно которой объектом непосредственного действия тирео-

идных гормонов в клетке являются митохондрии [11]. Трудно перечислить многочисленные данные о разобщении окислительного фосфорилирования или ослаблении дыхательного контроля, которые привлекались для объяснения калоригенного эффекта тиреоидных гормонов. Однако еще в 1966 г. было показано, что при введении животным  $T_3$  активация синтеза ядерной РНК в печени по времени опережает ускорение митохондриального окисления [12]. В 1972 г. Дж. Оппенгеймер с соавторами [13] впервые обнаружил места специфического связывания  $T_3$  в клеточных ядрах периферических тканей. Эти «места» отвечали всем критериям истинных рецепторов, и их сродство к  $T_3$  на порядок превышало сродство к  $T_4$ .

#### Взаимодействие тиреоидных гормонов с внутриядерными рецепторами

Ядерные рецепторы  $T_3$  (ТР), как выяснилось в дальнейшем, принадлежат к многочисленному семейству лигандзависимых белковых факторов транскрипции, куда входят также рецепторы стероидных гормонов, витамина D, ретиновых кислот и некоторые другие [14]. Все эти факторы прочно ассоциированы с хроматином и дополнительными ядерными белками, которые образуют с ними гетеродимеры. Последние связываются с участками ДНК, носящими название «тиреоидчувствительных элементов» (ТЧЭ). ТР кодируются протоонкогеном *c-erbA*, который у человека расположен в двух локусах ( $\alpha$  и  $\beta$ ) на хромосомах 17 и 3 соответственно. В структуре рецептора различают С-концевой участок, необходимый для связывания лиганда. Как показывает рентгеноструктурный анализ,  $T_3$  помещается в гидрофобном «кармане», образованном отдельными аминокислотными цепями [15]. ТР обладают также ДНК-связывающим доменом, в котором присутствуют две аминокислотные последовательности с цистеиновыми остатками, хелирующими атомом цинка («цинковые пальцы»). Одни из аминокислот этих структур «распознают» специфические последовательности ТЧЭ, которые связывают рецептор в форме мономера, а другие необходимы для образования димерного рецептора, т.е. той его формы, в которой он способен активировать гены. Между лиганд-связывающим и ДНК-связывающим доменами ТР расположен богатый основными аминокислотами «шарнирный» фрагмент.

Связывающие рецептор  $T_3$  последовательности ДНК (ТЧЭ) играют определяющую роль в позитивном или негативном действии  $T_3$  на экспрессию генов. Связанные с ДНК рецепторы находятся в форме гомо- или гетеродимеров с другими ядерными белками (в частности с рецепторами ретиновых кислот).  $T_3$  оказывает стабилизирующее действие на ДНК-рецепторный комплекс [16—18].

В результате альтернативного сплайсинга мРНК ТР образуются несколько белков (соответственно  $TR\alpha_1$ ,  $TR\alpha_2$  и  $TR\beta_1$ ,  $TR\beta_2$ ). С-концевой участок ТР содержит активируемый лигандом «трансактивирующий» домен (АФ-2), без которого даже связавшийся с ТЧЭ гормон-рецепторный комплекс не активирует гены.  $TR\alpha_1$ ,  $TR\beta_1$  и  $TR\beta_2$  одинаково связывают  $T_3$  и взаимодействуют с ТЧЭ генов-мишеней.  $TR\alpha_2$  не связывает  $T_3$  и, более того, ингибирует связывание других ТР с ДНК [19]. В разных тканях и в разные периоды развития

организма соотношение рецепторных изоформ различно [17]. В сердечной и скелетных мышцах, а также в буром жире экспрессируется  $TR\alpha_1$ . В печени, почках и мозге преобладает  $TR\beta_1$ , а в передней доле гипофиза —  $TR\beta_2$ . Все это создает возможность тончайшей регуляции биологических эффектов тиреоидных гормонов в зависимости от конкретных условий. Свободные  $TR$  репрессируют  $T_3$ -чувствительные гены [16].

Под влиянием тиреоидных гормонов возрастает общее содержание мРНК в тканях, но биологические эффекты  $T_3$  определяются избирательной регуляцией экспрессии отдельных генов. Доказательством прямого влияния  $T_3$  на гены является не только срок возрастания (или снижения) уровней специфических мРНК, но и присутствие в данном гене ТЧЭ, необходимого для проявления биологического эффекта гормона. Для ТЧЭ, опосредующих стимуляцию геновой экспрессии, характерны повторы последовательности AGGTCA. В «позитивных» ТЧЭ чаще всего встречаются прямые повторы, разделенные четырьмя нуклеотидами, затем инвертированный палиндром, разделенный шестью нуклеотидами, и крайне редко — палиндром. ТЧЭ активны лишь при определенном положении по отношению к промотору гена [15]. Общая конформация комплексов  $TR$ —ТЧЭ и их способность активировать аппарат транскрипции генов-мишеней определяются множеством факторов, включая изоформы  $TR$ , присутствие других ядерных белков, структуру и ориентацию ТЧЭ, образование мономеров, гомо- и гетеродимеров  $TR$  и присутствие или отсутствие лиганда. Тиреоидные гормоны в физиологических концентрациях снижают связывание гомодимеров  $TR$  (но не их мономеров или гетеродимеров) с определенными ТЧЭ. В присутствии лиганда ( $T_3$ ) комплекс гомодимера  $TR$  с ДНК быстро диссоциирует ( $t_{1/2} < 2$  мин) [18], что «освобождает» транскрипцию от репрессорного действия свободных («безлигандных»)  $TR$ . Иными словами, в отсутствие лиганда гомодимеры  $TR$  играют роль «сайленсоров» (тушителей) экспрессии генов; в присутствии же  $T_3$  действие «сайленсоров» отменяется (рис. 4).

В ядрах клеток присутствуют белки, которые в отсутствие  $T_3$  связаны с  $TR$  ( $TR$ -ассоциированные корепрессоры, ТРАК) (рис. 4, А). Добавление  $T_3$  приводит к отсоединению ТРАК от  $TR$  и присоединению ими других ядерных белков — коактиваторов, которые «сопрягают»  $TR$  с аппаратом транскрипции генов (см. рис. 4, Б). В настоящее время один из таких коактиваторов (КСР-1) идентифицирован [20]. Крайне интересно, что  $TR$  и КСР-1 взаимодействуют с коактиватором сигнальной системы цАМФ CREB [21], и таким образом происходит конвергенция двух основных сигнальных систем, одна из которых «запускается» с рецепторов клеточной мембраны, а вторая — с ядерных рецепторов.

Среди генов, непосредственно контролируемых  $T_3$ , наиболее изучен, вероятно, ген гипофизарного гормона роста (ГР) крыс [22]. Интересно, что продукция ГР под влиянием  $T_3$  возрастает только у зрелых, но не у новорожденных животных. Отсюда следует, что даже наличие специфических ТЧЭ не гарантирует чувствительности гена-мишени к гормону.

Особое внимание привлекает регуляция  $T_3$  гипофизарных генов, кодирующих субъединицы ТТГ. Как

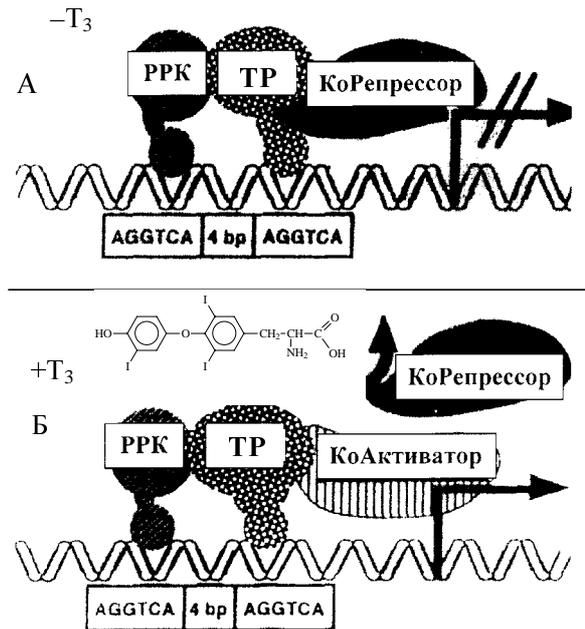


Рис. 4. Схема взаимодействия рецептора  $T_3$  с другими внутриядерными белками и тиреоид-чувствительным элементом ДНК:

PPK — рецептор ретиноевой кислоты;  $TR$  — рецептор тиреоидного гормона  $T_3$ ; А — «тушение» экспрессии гена; Б — стимуляция экспрессии гена.

уже отмечалось, тиреоидные гормоны не стимулируют, а ингибируют продукцию ТТГ (механизм отрицательной обратной связи). Это объясняют присутствием в генах ТТГ «негативных» ТЧЭ, опосредующих именно ингибирование транскрипции  $\beta$ -субъединицы ТТГ [23]. Таким образом, характер действия гормона определяется не только на рецепторном уровне, но и на уровне ДНК-мишени. Имеются данные и об ингибировании  $T_3$  экспрессии гена гипоталамического тиролиберина [24].

К другим генам-мишеням тиреоидных гормонов относятся гены, кодирующие ряд печеночных ферментов липогенеза, липолиза и других окислительных реакций (в частности митохондриальной  $\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназы). На примере гена малатдегидрогеназы отчетливо проявляется роль взаимодействия многих регуляторных факторов. Так, у голодных животных  $T_3$  практически не усиливает экспрессию этого гена, тогда как у животных, получающих диету с малым количеством жира и высоким содержанием углеводов, действие гормона резко выражено. Такие взаимодействия могут обуславливать и тканевую, и генную специфичность действия тиреоидных гормонов [5].

Под влиянием тиреоидных гормонов возрастает количество примерно 8% печеночных мРНК. Этот эффект отчасти опосредуется влиянием  $T_3$  на продукцию других факторов (например, ГР). Непосредственно регулируются  $T_3$ , по-видимому, не более 5% печеночных генов. Особый интерес среди них вызывает так называемый ген белка S-14. Он экспрессируется преимущественно в тех тканях, где протекают реакции липогенеза. Содержание мРНК этого белка резко и

быстро возрастает при введении  $T_3$  и углеводов и падает при голодании и диабете. Предполагается, что белок S-14, располагаясь в ядерном матриксе, облегчает транскрипцию генов ферментов липогенеза [25].

Известно, что тиреоидные гормоны резко изменяют состояние и функцию миокарда. Наиболее ярко это проявляется ростом минутного объема сердца [8]. Пока не ясно, в какой мере это зависит от прямого влияния гормонов на миокард, а в какой связано с изменением гемодинамической нагрузки на сердце. Однако под действием  $T_3$  усиливается экспрессия гена тяжелой цепи  $\alpha$ -миозина ( $\alpha$ МТЦ), обладающего большей АТФ-азной активностью, чем  $\beta$ МТЦ, что могло бы объяснять увеличение сократимости миокарда. Кроме того,  $T_3$  в сердечной мышце стимулирует синтез  $Ca^{2+}$ -АТФазы, которая ускоряет исчезновение кальция из цитоплазмы и тем самым увеличивает скорость диастолического расслабления миокарда. Среди других регулируемых  $T_3$  генов сердца — гены малатдегидрогеназы, Na/K-АТФазы, предсердного натриуретического фактора и некоторые другие [5].

Зависимость эффектов тиреоидных гормонов от многих факторов особенно наглядно проявляется в ткани центральной нервной системы. Общеизвестно, насколько важную роль играют эти гормоны в развитии мозга у млекопитающих, включая человека. Однако в мозге зрелых особей, несмотря на присутствие в нем достаточного количества ТР, изменение уровня  $T_3$  не сказывается ни на потреблении кислорода, ни на активности таких «классических» мишеней, как митохондриальная  $\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназа или малатдегидрогеназа. В мозге тиреоидные гормоны изменяют не количество мРНК основного белка миелина, а лишь скорость, с которой достигается максимум ее содержания. Это может приводить к нарушению всей координированной программы межсинаптической передачи [5].

Концепция «геномного» механизма действия тиреоидных гормонов, их влияния на скорость транскрипции соответствующих генов формируется в настоящее время магистральное направление исследований в данной области. Признание за ядерными местами связывания  $T_3$  роли «инициаторов» эффектов гормона базируется на следующих наблюдениях: 1) они обнаруживаются во всех тканях, реагирующих на тиреоидные гормоны; 2) сродство аналогов  $T_3$  к этим местам пропорционально биологической активности вводимых соединений; 3) при полном насыщении этих мест  $T_3$  реакция на него оказывается максимальной [5]. Однако в ряде случаев тиреоидные гормоны контролируют не транскрипцию генов, а «судьбу» первичного транскрипта, влияя на период полужизни мРНК или самого белка [26]. Например, транскрипция гена «яблочного» фермента в печени под действием  $T_3$  возрастает в 4–5 раз, тогда как содержание этой мРНК — в 10–12 раз, т.е., тиреоидные гормоны, по-видимому, снижают скорость ее распада [27]. Аналогичные данные получены в отношении мРНК аполипротеина А-1 [28], КоА-карбоксилазы [29], 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы [30] и некоторых других.

Остается неясным, однако, в какой степени изменение транскрипционных, трансляционных и посттрансляционных процессов синтеза тех или иных

белков под влиянием тиреоидных гормонов способно объяснить один из их кардинальных эффектов — возрастание теплопродукции и потребления кислорода.

Усиление термогенеза под влиянием тиреоидных гормонов связано главным образом с ускоренным окислением свободных жирных кислот [8]. Однако эти гормоны стимулируют не только липолиз, но и липогенез. Результатом одновременной стимуляции обоих процессов должно являться «бесполезное» рассеивание энергии в виде тепла и «вторичное» ускорение митохондриального дыхания. Одновременно при гипертиреозе уменьшается и масса тела. У грызунов термогенез на холоду возрастает за счет «сжигания» бурой жировой ткани. У человека бурая жировая ткань присутствует только в неонатальном периоде. Однако и в белом жире присутствует мРНК белка, разобщающего окислительное фосфорилирование в митохондриях [5]. Индуцируют ли тиреоидные гормоны синтез этого белка, неизвестно. Определенный вклад в повышение потребления  $O_2$  вносит, по-видимому, и стимуляция генов Na/K-АТФазы в печени, почках, скелетных и сердечной мышцах и жировой ткани.

#### ***Взаимодействие тиреоидных гормонов с внеядерными рецепторами***

Уже отмечалось, что влияние тиреоидных гормонов на процессы развития организмов сформировалось в эволюции гораздо раньше их калоригенного эффекта. Однако если со временем меняются объекты регуляторного действия гормонов, то исключается ли возможность изменения и механизмов их действия? Иными словами, не сформировались ли у теплокровных дополнительные механизмы действия тиреоидных гормонов, которые позволяли бы легче понять генез их калоригенного и других эффектов? Этот вопрос тем более правомерен, что большинство геномных эффектов  $T_3$  пока не удается напрямую связать с физиологическими проявлениями гормонального действия в организме млекопитающих.

В литературе описаны многие эффекты йодтиронинов, независимые от их взаимодействия с ядерными рецепторами. К ним относятся регуляция внутриклеточного содержания и распределения некоторых ионов и других соединений (например, глюкозы), количества адренергических рецепторов, изменение транспортных функций клеточной мембраны, состояния цитоскелета и т.п. [15]. В основе таких эффектов может лежать активация известных путей проведения сигналов в клетку через фосфолипид- и  $Ca^{2+}$ -зависимую протеинкиназу С, цАМФ-зависимую протеинкиназу А, инозитолфосфаты или комплекс  $Ca^{2+}$ — кальмодулин. Механизмы большинства негеномных эффектов йодтиронинов исследованы недостаточно. В некоторых случаях не установлены даже специфические «рецепторы» такого действия.

Йодтиронины изменяют количество 5'-монодейодиназы типа II на клеточной мембране, действуя не через ген фермента, а через полимеризацию актина микрофиламентов, т.е., влияют на перенос фермента в клеточную мембрану [31]. Физиологическое значение данного эффекта трудно оценить, поскольку им обладает не  $T_3$ , а реверсивный  $T_3$  ( $rT_3$ ). Однако именно  $T_3$  в первые минуты своего действия увеличивает плотность  $\beta$ -адренорецепторов на поверхности клеток

миокарда негеномным путем. Возможно, острое изменение плотности этих рецепторов играет роль в характерном для гипертиреоза повышении минутного объема сердца (вследствие возрастания реакции миокарда на катехоламины). Негеномный эффект  $T_3$  показан и в отношении Na-каналов клеток миокарда, что также могло бы опосредовать инотропное действие тиреоидных гормонов. Места связывания  $T_3$  обнаружены на поверхности нервных синапсов в мозге. Эти «рецепторы» сопряжены с G-белком и его ГТФазной активностью [33]. Не исключено, что именно данный механизм лежит в основе изменения нервной проводимости под действием тиреоидных гормонов.

Тиреоидные гормоны связываются с некоторыми белками цитозоля, в частности с мономером пируваткиназы  $M_2$ , препятствуя ассоциации мономеров в обладающий ферментативной активностью тетрамер [34]. Интересно, что мономер пируваткиназы проявляет наибольшее сродство именно к  $T_3$ ;  $rT_3$  не связывается с этим белком. Уменьшение активности пируваткиназы снижает образование АТФ в ходе гликолиза, что теоретически могло бы повышать доступность АДФ для процессов окислительного фосфорилирования.

Наибольшее отношение к росту потребления  $O_2$  должны были бы иметь митохондриальные эффекты йодтиронинов. Давно известно, что тиреоидные гормоны стимулируют дыхание изолированных митохондрий [35, 36]. Предложено 5 возможных механизмов усиления митохондриального дыхания под действием тиреоидных гормонов [5]: 1) повышение активности адениннуклеотидтранслоказы, которая ускоряет перенос АДФ в митохондрии; 2) стимуляция цикла трикарбоновых кислот с возрастанием уровня доноров электронов; 3) усиление поглощения фосфата; 4) стимуляция АТФ-синтазы (за счет снижения градиента  $H^+$  по обе стороны внутренней мембраны митохондрий и 5) стимуляция митохондриальной цепи транспорта электронов.

В литературе имеются указания на существование специфического митохондриального рецептора тиреоидных гормонов, которым может быть сам «эффектор», т.е. фермент, осуществляющий транслокацию АДФ—АТФ через мембрану этих клеточных органелл (АдНТ) [36, 38]. Несмотря на скептическое отношение к этим данным со стороны ряда авторов [5], они безусловно заслуживают внимания. Интересная гипотеза высказана В.П. Скулачевым [39]. Согласно этой гипотезе, в организме существует механизм «мягкого» разобщения окислительного фосфорилирования, обуславливающий рост потребления  $O_2$  в состоянии покоя митохондрий. Цель такого разобщения заключается в снижении внутриклеточной концентрации  $O_2$ , что предотвращает возможность образования анион-радикала кислорода, способного повреждать генетический аппарат клетки. Роль «мягкого» разобщителя автор отводит тиреоидным гормонам.

Необходимо подчеркнуть, что условия экспериментов, в которых наблюдались негеномные эффекты тиреоидных гормонов исключают участие ядерных ТР в механизмах их развития. Во многих случаях последствия таких эффектов могли бы иметь более очевидное физиологическое значение, чем взаимодействие этих гормонов с аппаратом синтеза белка в клетках. Вместе с тем, следует подчеркнуть, что сам срок воз-

никновения таких эффектов после добавления тиреоидных гормонов *in vitro* (минуты и даже секунды) препятствует признанию их физиологической роли, поскольку *in vivo* действие  $T_3$  и особенно  $T_4$  проявляется через несколько часов или суток [8].

В заключение можно, по-видимому, вслед за Тейта [40] предположить существование в клетке не одного, а нескольких мест инициации эффектов тиреоидных гормонов. Условия и факторы, определяющие преобладание того или иного механизма их действия, еще предстоит выяснить.

#### С л о в а р ь т е р м и н о в

**Инотропное действие** — увеличивающее силу сердечных сокращений

**Псевдоподии** — ложноножки. В данном контексте микроскопические выросты протоплазмы тиреоцитов, через которые осуществляется обратный транспорт тиреоглобулина из фолликулов в клетки

#### С п и с о к с о к р а щ е н и й

АдНТ — адениннуклеотидтранслоказа

ДИТ — дийодтирозин

МИТ — монойодтирозин

$rT_3$  — реверсивный  $T_3$

$T_3$  — трийодтиронин

$T_4$  — тетраiodтиронин (тироксин)

ТПО — тиреоидная пероксидаза

ТР — ядерные рецепторы  $T_3$

ТТГ — тиреотропный гормон (гипофиза)

ТЧЭ — тиреоидчувствительный элемент последовательности ДНК, связывающийся с рецептором гормона  $T_3$

CREB — cyclic AMP response element binding protein, белок, связывающий элемент ДНК, чувствительный к цАМФ

G-белок — один из семейства белков клеточной мембраны, активизирующихся после взаимодействия с ГТФ; G-белки участвуют в передаче сигнала от клеточных рецепторов к ферментам внутренней поверхности мембран, например, аденилатциклазе, которая катализирует превращение АТФ в цАМФ

КСР-1 (kielin/cv2-like protein-1) — белок, подобный киелину. Киелин — белок лягушки

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Volpe R. In: Burrow G.N., Oppenheimer J.H., Volpe R. Thyroid Function and Disease. W.B. Saunders Co, 1989, p. 1—10.
2. Ericson J.E. Endocrinology, 1980, v. 106, p. 833—841.
3. Burrow G.N. In: Burrow G.N., Oppenheimer J.H., Volpe R. Thyroid Function and Disease. W.B. Saunders Co., 1989, p. 11—40.
4. Eggo M.C., Drucker D., Cheifetz R. e. a. Can. J. Biochem. Cell Biol., 1983, v. 61, p. 662—669.
5. Тенпермен Дж., Тенпермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Пер. с англ. М.: Мир, 1989.
6. Чернышева М.П. Гормоны животных. СПб: Глаголь, 1995.

7. *Oppenheimer Дж., Шварц Г.Л., Стрейт К.А.* В кн.: Молекулярная эндокринология. Пер. с англ. М.: Медицина, 2003, с. 241—261.
8. Болезни органов эндокринной системы. Под ред. И. И. Дедова. М.: Медицина, 2000.
9. *Yan Z., Hinkle P.M.* J. Biol. Chem., 1993, v. 268, p. 20179—20184.
10. *Beslin A., Chantoux F., Blondeau J.-P. e. a.* Endocrinology, 1995, v. 136, p. 5385—5390.
11. *Wolf E., Wolf J.* In: The Thyroid Gland. Eds. R. Pitt-Rivers, W. Trotter. London: Butterworths, 1964, p. 237—252.
12. *Tata J.R., Widnell C.C.* Biochem. J., 1966, v. 98, p. 604—620.
13. *Oppenheimer J.H., Koerner D., Schwartz H.L. e. a.* J. Clin. Endocrinol. Metab., 1972, v. 35, p. 330—333.
14. *Lazar M.A.* Endocr Rev., 1993, v. 14, p. 348—399.
15. *Чун У.У., Йен П.М.* В кн.: Болезни щитовидной железы. Пер. с англ. М.: Медицина, 2000, с. 1—17.
16. *Brent G.A., Dunn M.K., Harney J.W. e. a.* New Biol., 1989, v. 1, p. 329—336.
17. *Brent G.A.* N. Engl. J. Med., 1994, v. 331, p. 847—853.
18. *Yen P., Brubaker J., Apriletti J. e. a.* Endocrinology, 1994, v. 134, p. 1075—1081.
19. *Katz D., Reginato M., Lazar M.A.* Mol. Cell. Biol., 1995, v. 15, p. 2341—2348.
20. *Takeshita A., Yen P., Misiti S. e. a.* Ibid., 1996, v. 137, p. 3594—3597.
21. *Kamei Y., Xu L., Heinzl T. e. a.* Cell., 1996, v. 85, p. 403—414.
22. *Samuels H., Tsai J.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1973, v. 70, p. 3488—3492.
23. *Carr F.E., Kaseem L.L., Wong N.C.* J. Biol. Chem., 1992, v. 267, p. 18689—18694.
24. *Lezoulac'h F., Hassan A.H.S., Giraud P. e. a.* Mol. Endocrinol., 1992, v. 6, p. 1797—1804.
25. *Kinlaw W.B.* Thyroid, 1992, v. 2 (Suppl. 1), p. 5—85.
26. *Ролл Э.* В кн.: Молекулярная эндокринология. Пер. с англ. Под ред. Б.Д. Вайнтрауба. М.: Медицина, 2003, с. 234—240.
27. *Song M-KH., Dozin B., Grieco D. e. a.* J. Biol. Chem., 1988, v. 263, p. 17970—17974.
28. *Strobl W., Gorder N.L., Lin-Lee Y.C. e. a.* J. Clin. Invest., 1990, v. 85, p. 659—667.
29. *Katsurada A., Iritani L., Fukuda H. e. a.* Eur. J. Biochem., 1990, v. 190, p. 435—441.
30. *Simonet W.S., Ness G.C.* J. Biol. Chem., 1988, v. 263, p. 12448—12453.
31. *Farwell A.P., DiBenedetto D.J., Leonard J.L.* Ibid., 1993, v. 268, p. 5055—5062.
32. *Siegrust-Kaiser C.A., Juge-Aubry C., Tranter M.P. e. a.* J. Biol. Chem., 1990, v. 265, p. 5296—5302.
33. *Giguere A., Fortier S., Beaudry C. e. a.* Endocrinology, 1996, v. 137, p. 2558—2564.
34. *Fanjul A.N., Farias R.N.* J. Biol. Chem., 1993, v. 268, p. 175—179.
35. *Mowbray J., Corrigall J.* Eur. J. Biochem., 1984, v. 139, p. 95—99.
36. *Sterling K.* Bull. NY Acad. Med., 1977, v. 53, p. 260—276.
37. *Davis P.J.* In: The Thyroid. Eds. L.E. Braverman, R.D. Utiger. J.B. Lippincott, 1991, p. 190—203.
38. *Sterling K., Brenner M.A.* Metabolism, 1995, v. 44, p. 193—199.
39. *Скулачев В.П.* Биохимия, 1994, т. 59, № 12, с. 1910—1912.
40. *Tata J.R.* Nature (London), 1975, v. 257, p. 18—23.