

© О.В.СВИРИДОВ, 1994

УДК 616.153.962.4:577.175.4]-07 (048.8)

О.В. Свиридов

БЕЛКИ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ ТИРЕОИДНЫЕ ГОРМОНЫ, И ИХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ¹

Лаборатория химии белковых гормонов Института биоорганической химии (дир. - член-корр. АН Беларуси О.А.Стрельченко) АН Беларуси, Минск

Стероидные и тиреоидные гормоны оказывают регуляторное действие на целый комплекс физиологических процессов, составляющих основу нормального развития и функционирования организма. В русле крови человека от 96 до 99,9% общих масс кортизола, прогестерона, тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3) циркулируют в виде комплексов с гормонсвязывающими транспортными белками [53]. Гипотеза "свободных гормонов" [68, 70] отводит этим транспортным белкам пассивную функцию поддержания стационарного пула биологически активных несвязанных гормонов за счет быстрой диссоциации комплексов в ответ на потребности тканей-мишеней. Исследования последних лет выявили активную роль транспортных белков и их рецепторов на поверхности клеточных мембран во взаимодействии стероидных и тиреоидных гормонов с компетентными тканями.

Структурные аспекты биологической активности комплексов кортикостероидсвязывающего и секвестероидсвязывающего глобулинов с природными лигандами подробно изложены в обзорной статье [76]. Настоящий обзор литературы посвящен описанию физико-химических свойств и биомедицинских характеристик многокомпонентной системы белков, связывающих тиреоидные гормоны в плазме крови человека. Особое внимание уделено рассмотрению физиологического значения этих белков в рамках гипотезы свободных гормонов и в свете их недавно обнаруженных специфических транспортных функций.

1. Гипотеза свободных гормонов о физиологической роли T_4 -связывающих белков плазмы человека

Содержание не связанных с белками тиреоидных гормонов в сыворотке человека не превышает 0,4% от их общей концентрации. Однако тиреоидный статус человека в норме и при заболеваниях, а также механизмы многих физиологических процессов с участием T_4 и T_3 можно объяснить биологической активностью свободных гормонов и количественно оценить путем определения их концентрации. Гипотеза о свободных гормонах, которая была выдвинута еще в 50-х годах [68], получила затем экспериментальное и теоретическое развитие, а недавно была представлена в виде физиологически обоснованной математической модели [53].

Рассмотрим, придерживаясь сложившейся в этой области терминологии, как гипотеза свободных гормонов в свете накопленных за длительный период экспериментальных данных определяет физиологическое значение транспортных белков плазмы [53, 68, 70].

1. Резервная функция. Тироксинсвязывающие белки обеспечивают накопление и хранение тиреоидных гормонов вне щитовидной железы.

2. Буферная функция. Ткани защищены от неконтролируемого избыточного поступления гормона и захватывают его из постоянно возобновляемого свободного пула в соответствии с метаболической потребностью.

3. Высвобождающая функция. Связана со второй функцией и основана на том, что кинетические характеристики обратного гормон-белкового взаимодействия обеспечивают за счет быстрой диссоциации комплексов постоянное возобновление функции свободных гормонов.

Резервная функция вносит существенный вклад в тиреоидный гомеостаз, который заключается в поддержании постоянства поступления тиреоидного гормона в ткани и обеспечивает стационарный характер гормонального действия. Биохимическим индикатором резервной функции служит отношение средней концентрации общего T_4 (100 нМ) к средней концентрации свободного T_4 (30 пМ) в сыворотке. При отсутствии высокоаффинного T_4 -связывающего глобулина (ТСГ) в сыворотке это отношение уменьшается более чем в 3 раза, тогда как удаление среднеаффинного T_4 -связывающего преальбумина (ТСПА, транстиретин) или низкоаффинного альбумина дает лишь незначительный эффект. Значит, ТСГ сыворотки является главным периферическим запасающим белком для T_4 , секретируемого щитовидной железой. Соответствующий биохимический индекс для T_3 (2 нМ/8 пМ) мал и может обсуждаться в связи с механизмом доставки гормона тканям, а не с его резервированием в сыворотке. Существенный вклад в понимание важности резервной функции T_4 -связывающих белков внесли данные о том, что транспортные белки обеспечивают равномерное распределение поступившего тиреоидного гормона по всем клеткам органа [51, 53]. Хотя альбумин в принципе способен выполнить эту роль, действие ТСГ может быть более эффективным из-за меньшей чувствительности к физиологическим вариациям содержания жирных кислот [53].

Эффективность выполнения транспортным белком буферной функции зависит от величины K_d его комплекса с тиреоидным гормоном, которая должна быть одного порядка с концентрацией свободного гормона в сыворотке. Сравнение значений концентрации свободного T_4 ($3,4 \cdot 10^{-11}$ М) и K_d ТСГ (10^{-10} М) показывает, что, хотя ТСГ и не самый оптимальный буфер, но все же более подходящий для этой роли, чем остальные гораздо менее аффинные T_4 -связывающие белки. Физиологическое значение буферной функции ТСГ выведено, в частности, из наблюдений за больными с наследственным отсутствием ТСГ. Эти больные имели повышенные концентрации тиреоглобулина в сыворотке вследствие ответной реакции щитовидной железы на увеличенную секрецию тиреотропина из-за больших флюктуаций содержания свободного T_4 в сыворотке, лишенной ТСГ и обладающей пониженной буферной емкостью [70].

Физиологическая роль и механизм проявления гормонвысвобождающей функции ТСГ явились предметом дискуссии, что нашло отражение в ряде противоречивых публикаций [32, 52, 55, 56]. W.Pardridge и соавт. [55, 56], основываясь на результатах экспериментов по перфузии органов *in vivo*, сделали вывод, что T_4 , связанный с ТСГ, поступает только в некоторые органы, например печень, и недоступен для других, в частности для мозга, тогда как комплекс T_4 с альбумином является главным источником гормона для всех тканей. Высвобождение тиреоидного гормона происходит внутри капилляров из-за резкого снижения гормон-белкового сродства под действием ингибирующих факторов [55]. Другие авторы [32, 52, 70], исходя из теоретических расчетов и собственных экспериментальных данных, показали, что скорость диссоциации комплекса и количество высвобождающегося гормона в равновесных условиях достаточны для удовлетворения потребностей любой ткани, т.е. избирательная доставка гормона в ткань за счет усиленной диссоциации в специфических условиях капиллярного транзита не может играть определяющую роль.

Трудно усомниться в фундаментальном положении гипотезы активных свободных гормонов о том, что связанные в системе транспортных белков T_4 и T_3 могут переходить по законам термодинамики в свободный пул и следовать далее по пути метаболизма, включающему взаимодействие со своими мембранными рецепторами. Однако эта гипотеза оставляет открытым во-

¹ Автор выражает благодарность д-ру Jacob Robbins (отдел генетики и биохимии, Национальный институт здоровья США) за методическую помощь в подготовке этого обзора.

Т а б л и ц а 1

Многокомпонентная система белков, связывающих тиреоидные гормоны в плазме человека

Белок	Концентрация в плазме*, мг/л	Молекулярная масса, кД	$K_d \cdot 10^5, M^{-1}$		Ссылка
			для T_4	для T_3	
ТСПА	250	53	700 ^а	100 ^а	[69,70]
Альбумин	42 000	66	5 ^а	1 ^а	[58,70]
ТСГ	15	54	100 000	5 000	[69,70]
АпоА-I	1 500	28	750	~7	[17,71]
АпоА-II	350	17,5	~10	—	[22,71]
АпоА-IV	18	46	~10	—	[22,71]
АпоВ-100	1 000	550	25	—	[18,71]
АпоС-I	50	6,6	~10	—	[17,71]
АпоС-II	40	8,8	~10	—	[17,71]
АпоС-III	130	8,8	~10	—	[17,71]
АпоЕ	45	34	~10	—	[22,71]
IgA	2 100	160	14	—	[8,61]
IgG	12 500	150	20	—	[8,61]
IgM	1 250	950	1 100	70	[8,61]

* Даны средние значения из диапазонов, приведенных в литературе [61, 70, 71].

^а Равновесный параметр для первого высокоаффинного центра связывания.

прос о специфических функциях транспортных белков, присутствующих во внеклеточных жидкостях, в процессах взаимодействия тиреоидных гормонов с компетентными клетками. Дело в том, что данная гипотеза принимает во внимание главным образом кинетические и термодинамические аспекты гормон-белковых взаимодействий, определяемые микроструктурой активных центров, оставляя на втором плане специфические физико-химические свойства макромолекулы в целом и ее характерные структурные элементы. Поэтому в следующем разделе нашей статьи перед тем, как рассмотреть данные литературы об активной роли некоторых транспортных белков во взаимодействии тиреоидных гормонов с клеткой, мы остановимся на обсуждении макромолекулярных свойств отдельных компонентов системы T_4 -связывающих белков плазмы.

II. Свойства и специфические транспортные функции многокомпонентной системы белков, связывающих тиреоидные гормоны в плазме человека

Долгое время считали, что плазма крови человека содержит только три белка, взаимодействующих с тиреоидными гормонами: ТСГ, ТСПА и альбумин [68, 69]. В последнее время обнаружено новое свойство известных белков — аполипопротеинов и нормальных иммуноглобулинов плазмы — способность специфически связывать тиреоидные гормоны и регулировать их поступление в ткани-мишени [4, 6, 8, 19, 22]. Выявлена также активная роль "классических" T_4 -связывающих белков во взаимодействии тиреоидных гормонов с клеткой [1, 30, 41, 51]. Таким образом, в настоящее время можно говорить о системе транспортных белков плазмы, компоненты которой связаны между собой и тиреоидными гормонами общим термодинамическим соотношением и в то же время выполняют индивидуальные функции по направленной доставке одного из двух гормонов в специфические ткани.

Подвижность компонентов системы T_4 -связывающих белков сыворотки человека при электрофорезе в полиакриламидном геле уменьшается в следующем ряду: ТСПА, альбумин, ТСГ, липопротеины, иммуноглобулины. Применение электрофоретической техники высокого разрешения позволяет провести анализ распределения связанных тиреоидных гормонов в этом ряду и сле-

дательные для медицинской диагностики выводы о содержании и биологической активности как отдельных транспортных белков, так и системы в целом. Мы же используем указанный порядок при описании свойств компонентов системы T_4 -связывающих белков сыворотки человека, чтобы избежать произвольного разделения этих белков на важные и второстепенные, поскольку их биологически обоснованная иерархия будет создана, судя по темпам исследований только в ближайшем будущем. В табл. 1 приведены основные характеристики системы транспорта тиреоидных гормонов в плазме человека.

II.1. ТСПА

ТСПА имеет мол. м. ~53 кД и является негликозилированным тетрамером четырех идентичных субъединиц, каждая из которых состоит из 127 аминокислотных остатков [46].

Высокоочищенный ТСПА доступен в больших количествах благодаря разработке эффективных способов его выделения традиционными методами белковой химии [14] и хроматографией по сорбенту к тиолсепарозе и иммобилизованному ретинолсвязывающему белку [34]. Однако из-за особенностей строения своего активного центра ТСПА практически не взаимодействует с биоспецифическими сорбентами, содержащими иммобилизованный тиреоидный гормон [6, 37].

Аминокислотная последовательность ТСПА, определенная прямым секвенированием белка [46], полностью соответствует последовательности нуклеотидов в клонированной кДНК для ТСПА [50]. Кристаллографические исследования белка при высоком разрешении (1, 8 Å) дали исчерпывающую информацию о структурах высокого порядка, в частности о необычно большом вкладе β -структуры, наличии короткого α -спирального участка и о пространственной организации T_4 -связывающих центров [23, 24]. ТСПА — очень стабильный белок: по данным спектроскопии 1H -ЯМР [66] его вторичная и третичная структуры устойчивы даже при 80°C.

ТСПА имеет два одинаковых по строению [23], но различающихся по сорбенту и емкости центра связывания тиреоидных гормонов с $K \sim 7 \cdot 10^7$ и $7 \cdot 10^5 M^{-1}$ (для T_4) и $1 \cdot 10^7$ и $6 \cdot 10^5 M^{-1}$ (для T_3) при pH 7,4 и 37°C [70]. Взаимодействие T_4 или T_3 с одним из центров вызывает отрицательную кооперативность связывания по другому центру, и поэтому почти все молекулы ТСПА несут только по одной молекуле гормона [69]. Время полужизни комплекса ТСПА с T_4 и T_3 составляет 7,4 и 1,0 с соответственно [70]. Молекула ТСПА содержит на своей поверхности четыре идентичных, независимых от T_4 центра взаимодействия с ретинолсвязывающим белком ($K_d \sim 10^6 - 10^7 M^{-1}$), из которых *in vivo* занят только один [42].

Соединения, существенно отличающиеся по структуре от йодтиронинов, также способны взаимодействовать с T_4 -связывающим центром ТСПА. Среди них наиболее изучены барбитал, 8-анилин-1-нафталинсульфокислота, 2,4-динитрофенол, салицилаты и пенициллин [68, 70]. Недавно [54] было проведено системное исследование различных классов химических соединений, обладающих лекарственными свойствами, которые конкурируют со ^{125}I - T_4 за связывание с ТСПА и другим высокоаффинным транспортным белком ТСГ. Показано, что эти два белка существенно различаются по сорбенту к изученным лекарствам. Так, с ТСПА особенно сильно взаимодействуют соединения ряда антралиновой кислоты (потенциал связывания 175—20% относительно T_4), причем флуореновая кислота связывается активнее самого T_4 . В отличие от связывания с ТСГ комплексообразование ТСПА с T_4 в существенной степени ингибируется салицилатом и ацетилсалициловой кислотой и не подвержено влиянию дифенилгидантоина [54].

Биосинтез ТСПА происходит главным образом в печени [25], центральной нервной системе [29] и в глазу [49] млекопитающих. Время полужизни этого белка в системе кровообращения человека составляет около 2 сут. Концентрация ТСПА в нормальной сыворотке варьирует от 100 до 400 мг/л. Регуляторное действие на биосинтез ТСПА оказывают половые и анаболические стероиды, половые стероидные гормоны и наркотические вещества [69]. Концентрации ТСПА и ТСГ в сыворотке изменяются под действием этих соединений в противоположных направлениях. Эстрогены, в частности, при беременности вызывают умеренное снижение уровня ТСПА, тогда как андрогены стимулируют увеличение содержания этого белка. Пониженные концентрации ТСПА были выявлены в сыворотке людей, принимающих героин и метадон [69]. Интересной с медицинской точки зрения характеристикой метаболизма ТСПА является снижение его концентрации при некоторых нетиреоидных заболеваниях, травмах, реакции острой фазы и недостатке питания [72]. Повышенное содержание ТСПА в сыворотке наблюдается при некоторых формах рака, в частности при карциноме поджелудочной железы [62].

Относительно небольшой по размерам ген ТСПА (7300 пар оснований) состоит из четырех эксонов и отличается высокой эволюционной стабильностью. Так, выявлено 90% гомологичных структур в ТСПА человека и крысы [36]. Некоторые авторы [45] на основании данных о структурной гомологии относят ТСПА к семейству гастроинтестинальных пептидов, к которому принадлежат глюкагон, секретин, вазоактивный пептид кишечника, ингибиторный пептид желудка и глицинтин.

Неизвестны генетические нарушения, проявляющиеся при полном отсутствии ТСПА у человека. Вместе с тем обнаружены шесть генетических вариантов ТСПА с заменами одного аминокислотного остатка в полипептидной цепи. Один из вариантов имеет повышенное родство к T_4 , четыре других варианта у больных с наследственной амилоидотической полинейропатией и молекулярный вариант ТСПА при системном склерозе амилоидозе обладают более низким или нормальным родством к T_4 [13, 64, 72].

Микрогетерогенность ТСПА, не связанная с генетическими факторами и посттрансляционной модификацией, обнаружена при изоэлектрическом фокусировании сыворотки [59]. Два химических агента, не относящихся к аминокислотам, и компоненты глутатиона способны ассоциировать с ТСПА, обуславливая микрогетерогенность белка и изменение родства к T_4 [60]. Этим же методом в присутствии 8 М мочевины выявлены два компонента в пуле высокоочищенного ТСПА, введение которых в русло крови кролика существенно увеличивает обратный ток тиреоидных гормонов из внесосудистого пространства в кровоток. По мнению авторов [48], усиление обмена тиреоидных гормонов под действием экзогенно вводимых связывающих белков может иметь терапевтическое значение при плазмаферезе и гемодиффузии в случаях тяжелого тиреотоксикоза.

В литературе [13] обсуждалась особая функция ТСПА в центральной нервной системе. Предполагалось, что ТСПА переносит связанный тиреоидный гормон в спинномозговую жидкость. Однако позднее на биологической модели *in vivo* было показано, что ТСПА человека, химически конъюгированный с N-броммацетил- $[^{125}I]$ - T_4 , не проникает из плазмы в спинномозговую жидкость крысы [28]. Тем не менее весьма вероятно, что T_4 , поступающий из плазмы в эпителиальные клетки хориоидного сплетения, связывается с синтезированным *in situ* ТСПА, образовавшийся комплекс секретируется в спинномозговую жидкость и распределяется в мозге [29].

В цикле работ Ш.С.Азимовой и соавт. [1–3] с использованием биологической модели *in vivo* и очищенных гомологичных ТСПА человека и крысы изучена физиологическая роль комплексов тиреоидных гормонов с ТСПА. Комплекс ТСПА — тиреоидный гормон из сыворотки проникает через плазматическую мембрану в клетки-мишени [1]. В компетентных клетках комплекс локализуется на рибосомах, митохондриях, в липидных каплях и аппарате Гольджи. В клетках, не чувствительных к тиреоидным гормонам, небольшое количество поступившего ТСПА концентрируется в лизосомах. Исследование транслокации ТСПА в различные субмитохондриальные фракции показало, что белок из цитоплазмы проникает через внешнюю мембрану и локализуется на внутренней мембране и матриксе митохондрий [2]. Найдено также, что ТСПА поступает в клетки печени, мозга и легких, транслоцируется из цитозоля в ядро и акцентируется хроматином, не подвергаясь при этом модификациям, затрагивающим его антигенные детерминанты [3]. На основании результатов сравнительного изучения структур ТСПА и клеточных рецепторов тиреоидных гормонов, а также данных о транслокации через плазматическую мембрану и внутриклеточном транспорте ТСПА сделан вывод о том, что ТСПА представляет собой базовую часть истинного рецептора тиреоидных гормонов.

По мнению авторов [55], механизм проникновения T_4 в орган может состоять либо в диссоциации комплекса под действием неконкурентного ингибитора в микроциркуляции печени, либо во взаимодействии ТСПА со специфическим рецептором на внешней поверхности клеточной мембраны.

C. Divino и G. Schussler [30] показали, что ТСПА, добавленный в разбавленную сыворотку или раствор альбумина человека, усиливает поглощение T_4 в культуре клеток гепатомы НЕР G2 человека. Это побудило авторов [30] изучить возможность прямого взаимодействия ТСПА со специфическими связывающими центрами на поверхности клеток НЕР G2. Найдено, что связывание ТСПА с клетками данной линии зависит от температуры и времени, причем термодинамическое равновесие наступает через 2 ч инкубации. Анализ взаимодействия по методу Скэтчарда выявил один класс эквивалентных центров связывания с $K_d \sim 5$ нМ при 4°C и 14 нМ при 37°C. После протеолитического разрушения ТСПА, связанного на поверхности клеточной мембраны, определили, что 88% белка интернализуется клеткой. Насыщение связывающих центров ТСПА гормоном усили-

вало захват и интернализацию белка. T_4 и негормональные лиганды (салицилат и синтетический флавоноид EMD 21388) стимулировали поглощение нормального ТСПА и его молекулярного варианта с точечной заменой в положении 30 полипептидной цепи клетками астроцитами и гепатомами [73]. Сделан вывод о том, что взаимодействие между ТСПА и его клеточным рецептором является частью механизма активного транспорта T_4 в клетку и может обуславливать дополнительные метаболические эффекты гормона.

II.2. Альбумин

Альбумин человека состоит из одной негликозилированной полипептидной цепи с мол. м. 66 кД. Известна последовательность 548 аминокислотных остатков этого белка. Из них 48% составляют β -структуру, а 15% образуют α -спиральные участки. Охарактеризованы три главных домена в полипептидной цепи с повторяющимися аминокислотными последовательностями. В русле крови альбумин транспортирует многие низкомолекулярные физиологически активные вещества, в том числе жирные кислоты, аминокислоты, билирубин, ионы металлов, стероиды и йодтиронины. Ген альбумина расположен на длинном плече хромосомы 4. Из 15 эксонов гена два кодируют сигнальный пептид из 18 аминокислотных остатков и пропептид из 6 остатков [58]. Альбумин продуцируется печенью в 25 и 1250 раз более интенсивно, чем соответственно ТСПА и ТСГ. Его концентрация в нормальной сыворотке составляет в среднем 4200 мг/мл, а время полужизни в кровообращении — 13 сут. Содержание альбумина в сыворотке умеренно снижается при циррозе печени, нефрозе, воспалительных реакциях, травмах [70]. В одном [58] из множества обзоров, посвященных альбумину, можно найти полные сведения о его структуре, физико-химических свойствах, молекулярной генетике и метаболизме. Мы же остановимся далее на описании свойств комплексов альбумина с тиреоидными гормонами.

Альбумин содержит один относительно высокоаффинный центр связывания йодтиронинов с K_d $5 \cdot 10^5$ M^{-1} (для T_4) и $1 \cdot 10^5$ M^{-1} (для T_3), а также от 2 до 6 центров низкого родства с K_d $5 \cdot 10^4$ M^{-1} (для T_4) и $5 \cdot 10^3$ M^{-1} (для T_3) [70]. Связывание тиреоидных гормонов с альбумином ингибируется жирными кислотами и другими органическими анионами [70], а также NaCl в физиологических концентрациях [77].

В дополнение к “нормальным” центрам связывания T_4 при генетических повреждениях молекулы альбумина обнаружен центр с K_d $7 \cdot 10^6$ M^{-1} . Этот аналог в небольших количествах присутствует в нормальной сыворотке, и его концентрация резко повышается при дисальбуминемической гипертиреоксинемии [42]. При этом заболевании около 25% общего альбумина проявляет повышенное родство к T_4 , что приводит к существенному увеличению количества гормона, переносимого этим транспортным белком [42]. Важное для медицинской диагностики аномальное связывание $[^{125}I]$ - T_4 с альбумином легко выявляется после ингибирования ТСПА барбиталом и инактивации ТСГ обработкой сыворотки при pH 3,0 [12].

О специфической роли альбумина в транспорте тиреоидных гормонов в ткани сообщалось лишь в нескольких публикациях [47, 51, 81]. Было высказано предположение, что альбумин может опосредовать усиленное поглощение связанных с ним йодтиронинов печенью за счет взаимодействия белка со своим рецептором на гепатоцитах [81]. В другой работе [47] отмечают факт интернализации комплекса T_4 —альбумин периферическими лейкоцитами человека. C. Mendel и соавт. [51] в экспериментах на крысах показали, что 4% раствор альбумина человека, не содержащий ТСПА и ТСГ, при введении вместе со $[^{125}I]$ - T_4 через порталную вену в печень обеспечивает равномерное распределение меченого гормона по всем клеткам органа, тогда как при перфузии печени не связанным с альбумином $[^{125}I]$ - T_4 весь гормон захватывается перипортальными клетками.

II.3. ТСГ

ТСГ имеет мол. м. 54 кД и в отличие от ТСПА и альбумина является гликопротеином, содержащим 23% сахаров по массе.

Современные эффективные методики выделения и очистки ТСГ основаны на лиганд-аффинной хроматографии [6, 37]. Существует международный стандарт ТСГ с чистотой более 99% (препарат 88/638) [26].

Полная первичная структура ТСГ была выведена на основании результатов секвенирования двух клонов комплементарной ДНК [35]. Сделан вывод, что секретируемый зрелый белок содержит 395 аминокислот, составляющих молекулярную массу полипептидного компонента 44180. Выявлено шесть потенциальных мест гликозилирования в положениях 16, 79, 145, 175, 233 и 391, из которых, как известно [82], четыре содержат оли-

госахаридные цепи, присоединенные N-гликозидными связями к остаткам аспарагина. Сравнение аминокислотных последовательностей ТСГ и спектра белков с известными первичными структурами неожиданно выявило высокую степень гомологии с представителями семейства сериновых антипротеаз (серпинов): α_1 -антихимотрипсин (58% гомологии), α_1 -антитрипсин (53%) и антитромбин III (27%) [35]. Интересно, что к тому же семейству относится и транскортин человека [40], хотя ни ТСГ, ни транскортин не обладают свойствами антипротеаз. Ген ТСГ расположен в средней части длинного плеча хромосомы X между полосами Xq 11 и Xq 23 [79]. Кодированная область гена ТСГ состоит из 1245 пар оснований, организованных в 4 эксона [35]. Сведения о вторичной структуре ТСГ получены на основании характеристик кругового дихроизма и флюоресцентных свойств белка [38, 74]. ТСГ содержит примерно равные доли α -спирали и β -структуры. Расчеты термодинамических параметров плавления третичной структуры ТСГ по данным микрокалориметрии показывают, что в ТСГ присутствуют два близких по пространственной организации домена.

Оба тиреоидных гормона и их структурные аналоги связываются по одному центру в молекуле ТСГ. При 37°C и pH 7,4 значения K_d составляют $1 \cdot 10^{10}$ и $5 \cdot 10^8$ M⁻¹ для T_4 и T_3 соответственно [70]. Несмотря на очень высокую энергию связывания, приближающуюся по порядку к энергии химических реакций, взаимодействие является обратимым. Диссоциация комплексов ТСГ с тиреоидными гормонами протекает достаточно быстро: время полужизни равно 4 и 39 с соответственно для T_3 и T_4 [70]. T_4 имеет структуру наиболее предпочтительного лиганда для ТСГ. Тем не менее этот белок способен связывать, хотя и с невысоким сродством, многие соединения, которые имеют лишь частичное структурное сходство с T_4 . Так, сообщалось о взаимодействии с T_4 -связывающим центром ТСГ лекарственных препаратов 5,5'-дифенилгидантонна, фенклофенака, диазепамы, салицилатов [69]. Кроме того, ТСГ связывает 8-анилин-1-нафталинсульфонат, что используется в исследованиях комплексообразования методами флюоресцентной спектроскопии и для вытеснения T_4 из комплекса с ТСГ при иммуноанализе [70].

ТСГ синтезируется в печени [13]. Его концентрация в нормальной сыворотке составляет 15–30 мг/л. Время полужизни ТСГ в кровообращении 5 дней [63]. Ряд природных и синтетических препаратов способны увеличивать (эстрогены, героин, метадон, 5-фторурацил, перфеназин, клофибрат) или уменьшать (андрогены, глюкокортикоиды, анаболические стероиды) содержание ТСГ в организме человека [69]. Высокие концентрации ТСГ в сыворотке обнаружены при остром вирусном гепатите, хроническом активном гепатите и первичном циррозе печени [72]. Поскольку повышенные концентрации ТСГ были выявлены у 92% больных с гепатоклеточной карциномой, то его можно считать надежным, хотя и неспецифическим, онкомаркером [78]. Скорость продуцирования этого белка снижается как при гипотиреозе, так и при тяжелом тиреотоксикозе. Клиренс замедляется при состояниях с аномально низкими концентрациями тиреоидных гормонов в плазме и усиливается при тиреотоксикозе. Этот сложный эффект тиреоидных гормонов обуславливает значительные колебания концентраций ТСГ в плазме людей с нарушениями функции щитовидной железы [70].

В последнее время интенсивно изучаются генетические варианты ТСГ. На молекулярном уровне установлены три типа альтераций гена ТСГ: делеция одного нуклеотида, замещение одного нуклеотида и замещение двух нуклеотидов [44]. Эти аномалии гена проявляются как наследственное полное отсутствие ТСГ в плазме человека или в виде генетических вариантов с заменами соответственно одного или двух аминокислотных остатков, пониженным сродством к тиреоидным гормонам, измененными зарядовыми свойствами и повышенной термоллабильностью [65].

Из девяти описанных в литературе молекулярных вариантов ТСГ три имеют общую замену лейцина на фенилаланин в положении 283 паряду со специфичными для них мутациями. Такая же замена в положении 283 характерна и для ТСГ, обладающего всеми свойствами нативного белка [44]. Это позволяет говорить о полиморфизме ТСГ по кодону 283. Такой полиморфизм ТСГ характерен для всех этнических групп населения [44]. Вместе с тем можно сделать неблагоприятный прогноз о том, что замещение в положении 283 в принципе может быть важным для появления иных специфических мутаций гена ТСГ.

Олигосахаридные цепи ответственны за микрогетерогенность ТСГ и в существенной степени определяют скорость выведения этого гликопротеина из кровообращения [13]. В процессе клиренса особенно важны концевые сигнальные кислоты. Десилированный ТСГ с экспонированными остатками галактозы имеет очень высокую скорость клиренса за счет быстрого погло-

щения гепатоцитов поверхностными рецепторами, способными связывать многие асиалогликопротеины [63].

Особую роль углеводный компонент играет в функционировании ТСГ при беременности. Гиперэстрогемия, характерная для этого физиологического состояния организма, влияет на углеводную структуру ТСГ, что в свою очередь приводит к уменьшению на 15% скорости клиренса ТСГ [9]. Этим, однако, нельзя объяснить двукратное повышение содержания ТСГ при беременности [69]. По-видимому, как усиленный синтез, так и замедленный клиренс определяют повышенные концентрации этого гликопротеина в сыворотке беременных женщин.

При хроматографии чистого ТСГ из сыворотки ретроплатентарной (послеродовой) крови на конканавалин А-сепарозе гликопротеин разделяется на две фракции, одна из которых (ТСГ-1), составляющая около 10% от общей массы, не взаимодействует с иммобилизованным лектином и элюируется в свободном объеме, а другая адсорбируется на аффинной колонке [10, 75]. Установлено, что ТСГ-1 является характерным для беременности структурным вариантом ТСГ с особым строением углеводного компонента и специфической микрогетерогенной структурой. В то же время ТСГ-1 не отличается от ТСГ нормальной сыворотки по аминокислотному составу, вторичной и третичной структурам полипептидной цепи, а также по строению и свойствам гормонсвязывающего центра. Изучение в модельных системах *in vivo* клиренса вариантов ТСГ показало, что ТСГ-1 и характерная для беременности высокоосиалированная фракция ТСГ [9] выводятся из кровообращения крысы в 1,5–2,5 раза медленнее, чем вариант, соответствующий ТСГ нормальной сыворотки.

Разработана радиоиммунологическая система для количественного определения ТСГ-1 в сыворотке крови человека. Найденно, что в сыворотке крови здоровых доноров доля ТСГ-1 составляет в среднем 1,2% от уровня общего ТСГ, к сроку разрешения от беременности эта величина повышается до 8% в сыворотке и 9,5% в амниотической жидкости и медленно снижается после родов, достигая через 5 мес значения, характерного для нормы [5]. По данным двух групп авторов [9], при злокачественных новообразованиях различной локализации и нарушениях функции печени доля ТСГ-1 составляет 3–10%.

Таким образом, ТСГ-1 является минорным компонентом плазмы крови человека в норме. Повышение концентрации общего ТСГ, вызываемое различными ненаследственными причинами, сопровождается увеличением доли ТСГ-1. Высказано предположение, что биосинтез структурного варианта ТСГ, содержащего только трехатомные олигосахаридные цепи со специфической микрогетерогенной структурой, представляет собой один из способов физиологической адаптации к увеличению потребности организма в ТСГ. Если возникает необходимость в увеличении концентрации ТСГ в крови, то реакция синтезирующего органа может состоять в избирательном усилении биосинтеза долгоживущего структурного варианта за счет изменения механизмов посттрансляционного гликозилирования полипептидной цепи.

Биологический смысл обсуждавшейся выше структурной гомологии между ТСГ и серпинами рассматривается в работе [57]. Ингибиторы сериновых протеаз в активной форме имеют напярженную (S) конформацию. В этой конформации у α_1 -антитрипсина действительно протеазы доступны петля, в которой надлежащим образом сближены остатки активного центра Met-358 и Ser-359. Под действием фермента петля разрывается и молекула антипротеазы претерпевает необратимый переход в расслабленную (R) конформацию, в которой эти два аминокислотных остатка удалены друг от друга. Такой конформационный переход сопровождается существенным увеличением термостабильности макромолекулы. По данным авторов [57], ТСГ и транскортин, имея родственную α_1 -антитрипсину третичную структуру, расщепляются эластазой нейтрофилов и приобретают повышенную тепловую устойчивость. При этом у транскортина в отличие от ТСГ существенно снижается сродство к лиганду. Таким образом, в случае комплекса транскортина с кортизолом S—R-переход *in vivo* с участием компетентных лейкоцитов при воспалительной реакции может приводить к высвобождению гормона и обеспечению доставки повышенных количеств глюкокортикоида к месту воспаления. Хотя у ТСГ и не выявлено изменений сродства к лиганду в результате конформационного S—R-перехода, возможность сайтспецифичного ферментативного расщепления этого белка может реализовываться в ходе взаимодействия с клетками-мишенями направленного транспорта тиреоидного гормона.

K.Hashizume и соавт. [41] впервые высказали экспериментально обоснованное предположение о том, что ТСГ выполняет транспортную функцию не только в сыворотке крови, но и на уровне плазматической мембраны клетки. В их работе изучено взаимодействие *in vitro* между периферическими моноядерными клетками человека и комплексами [¹²⁵I]- T_4 с интактными и десили-

ализованным ТСГ. Найдено, что связанный с белком гормон способен проникать в клетку. Процесс поглощения комплекса клеткой зависит от температуры, времени инкубации и содержания углеводных цепей связывающего белка. Механизм трансмембранного переноса может включать интернализацию тройного комплекса T_4 — ТСГ — рецептор ТСГ.

Важной функцией ТСГ при беременности может быть его участие в переносе тиреоидных гормонов из плазмы матери в кровообращение плода [31]. T_4 играет ключевую роль в раннем нейrogenезе, и ТСГ может опосредовать гормональную связь между матерью и плодом путем регуляции трансплацентарного переноса T_4 [31, 33]. В этой связи особую функцию в фетоплацентарной системе может выполнять характерный для беременности структурный вариант гликопротеина ТСГ-1, которым обогащен общий ТСГ, обнаруженный в амниотической жидкости [5].

II.4. Аполипопротеины

Аполипопротеины составляют один из самых представительных классов белков плазмы крови человека. Благодаря своей амфифильной структуре эти белки обладают способностью связывать и тем самым обеспечивать солиubilизацию липидов в водном окружении плазмы. В известном обзоре [71] подробно описаны структурно-функциональные свойства и биомедицинское значение аполипопротеинов.

Ранние наблюдения показали, что T_4 и T_3 способны ассоциировать с липопротеидными частицами плазмы человека [43]. Позже с помощью аффинной хроматографии плазмы на T_4 -сефарозе [11, 39] и фотоаффинного ковалентного мечения липопротеинов высокой, низкой и очень низкой плотности (соответственно ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП) [125 I]- T_4 [17, 18, 22, 39] было найдено, что апоА-I, апоА-II, апоА-IV, апоВ-100, апоС-I, апоС-II, апоС-III и апоЕ являются T_4 -связывающими компонентами липопротеидных частиц. На основании результатов кинетических и равновесных экспериментов [7, 17, 18, 39] сделан вывод о том, что связывание тиреоидных гормонов с аполипопротеинами является зависимым от времени, обратимым, насыщенным и чувствительным к специфическим ингибиторам процесса взаимодействия со структурно обособленным центром в белке, комплементарным лиганду. Число таких центров в макромолекуле варьирует от 1 в апоА-I [21] до 3 в апоВ-100 [18, 20]. Из изученных аполипопротеинов только апоА-I и его липидный комплекс апоА-I-ЛПВП проявляют достаточно высокое сродство к гормону (K_d 10^7 — 10^8 М $^{-1}$) [7, 17].

Известно, что многие типы клеток человека имеют поверхностные рецепторы апоВ-100 и апоЕ, участвующие в доставке холестерина в клетку путем связывания и последующей интернализации комплекса ЛПНП — рецептор [71]. На основе этого механизма был создан гипотеза о физиологической роли комплекса тиреоидного гормона с ЛПНП, которая недавно получила экспериментальную проверку [19]. Авторы изучили поглощение [125 I]- T_3 и [125 I]- T_4 фибробластами кожи человека, выращенными в присутствии обедненной липопротеинами сыворотки. При добавлении в среду фракции ЛПНП, апоВ-100 или апоЕ в концентрациях, достаточных для связывания гормона, но не превышающих емкость клеточного рецептора, наблюдали увеличение на 27—63% начальной скорости поглощения и количества поглощенного T_4 (но не T_3) в состоянии равновесия. Этот эффект отсутствовал у клеток с дефицитом рецепторов (наследственная гиперхолестеринемия, низкая экспрессия рецепторов при избытке холестерина в среде). Специфический характер действия ЛПНП и соответствующих аполипопротеинов подтверждался тем фактом, что другие T_4 -связывающие белки, наоборот, пропорционально своим концентрациям в среде снижали количество T_4 , проникающего в клетку. Авторы [19] предположили, что существуют два пути транспорта T_4 в фибробласты. Первый — через центры связывания свободного гормона на клеточной поверхности, второй, дополнительный путь, недоступный для T_3 , — через рецепцию комплекса T_4 — ЛПНП и интернализацию последнего.

II.5. Иммуноглобулины

Иммуноглобулины образуют обширное семейство структурно родственных белков, которые состоят из двух пар полипептидных цепей, удерживаемых дисульфидными мостиками и нековалентными связями. Пять таких стандартных четырехцепочечных фрагментов, соединенных J-цепью, присутствуют в IgM. Тяжелые цепи, включающие около 450 аминокислотных остатков, по своему строению разделяются на пять классов, что лежит в основе классификации иммуноглобулинов: IgG, IgA, IgM, IgD и IgE. Кроме того, существуют 4 подкласса IgG и 2 подкласса IgA. Легкие цепи (около 214 остатков) являются общими для всех классов иммуноглобулинов, хотя и могут различаться

соотношением типов К и λ . В семейство иммуноглобулинов входят также белки, которые не обладают активностью антител. Это миеломные белки, свободные субъединицы иммуноглобулинов и белки Бенс-Джонса. Подробные сведения о структурных, функциональных и генетических характеристиках иммуноглобулинов можно почерпнуть из авторитетного источника [61] и соотнести с излагаемыми ниже гормонсвязывающими свойствами этих гликопротеинов.

Впервые уникальный клинический случай связывания T_4 с фракцией иммуноглобулинов сыворотки больного карциномой щитовидной железы был описан J. Robbins и соавт. [67]. В последовавших затем многочисленных наблюдениях и системных исследованиях охарактеризованы приобретенные изменения в системе транспорта тиреоидных гормонов у человека, которые заключаются в появлении аномальных связывающих белков, аутоантител, относящихся к иммуноглобулинам различных классов [16]. Относительное число случаев (частотность) обнаружения аутоантител к тиреоидным гормонам при массовых обследованиях взрослого населения не превышает долей процента, но при тиреоидных заболеваниях такие аутоантитела присутствуют у 5% больных [16].

В ходе работ по изучению “патологического” связывания гормонов щитовидной железы с аномальными белками были получены отдельные сведения о взаимодействии T_4 и T_3 с нормальными иммуноглобулинами человека. Так, при оценке методики детекции анти- T_4 (T_3) аутоантител в очищенной фракции иммуноглобулинов нормальной сыворотки отмечалось “неспецифическое” связывание T_4 и T_3 с нормальными IgG [27]. При экспериментальной проверке предположения об “иммуноглобулиновой” природе ингибитора связывания тиреоидных гормонов в сыворотке были получены данные, косвенно свидетельствующие о T_4 -связывающих свойствах нормального IgM человека [15].

В ходе системного исследования T_4 -связывающих белков плазмы человека с помощью нового методического подхода, основанного на использовании лиганд-аффинной хроматографии, было показано, что постоянными компонентами белковой смеси, биоспецифически выделяемой из ретроплацентарной и нормальной сывороток человека с помощью T_4 -сефарозы, являются IgG и IgM [6]. Оставалось неясным, являются ли T_4 -связывающие иммуноглобулины аутоантителами, т.е. аномальными белками, которые появляются при достаточно редких патологических состояниях, или же они относятся к нормальным транспортным белкам плазмы.

С целью ответа на этот вопрос изучены кинетические и равновесные характеристики взаимодействия T_4 с IgA, IgG, IgM и белками Бенс-Джонса, выделенными в чистом виде из сыворотки крови человека [8]. Найдено, что комплексобразование T_4 с иммуноглобулинами является зависимым от времени, обратимым, насыщенным и чувствительным к специфическим ингибиторам процесса. Необходимым и достаточным для связывания T_4 компонентом молекулярной структуры иммуноглобулина является, по-видимому, L-цепь типа К или λ . Ковалентное присоединение H-цепи может резко увеличивать сродство к тиреоидному гормону (μ -цепь в IgM) или изменять чувствительность участка связывания к химическим агентам и pH среды (μ -цепь в IgM, γ -цепь в IgG). Экспериментальные данные показывают, что T_4 -связывающий IgM не принадлежит к “патологическому” типу белков — анти- T_4 аутоантителам: зависимость реакции связывания T_4 от физико-химических условий среды является типичной для нормальных транспортных белков; частотность обнаружения T_4 -связывающего IgM в случайно выбранных индивидуальных пробах сыворотки здоровых людей составляет 100%; комплекс IgM — T_4 структурно отличается от комплекса антиген — антитело, так как не способен взаимодействовать с первым компонентом комплекса. Авторы [8] считают, что специфические T_4 -связывающие свойства иммуноглобулинов нормальной сыворотки могли долгое время оставаться нераскрытыми из-за недостатков традиционного метода анализа, который не способен обнаружить слабые проявления T_4 -связывающей активности этих белков в физиологических жидкостях, содержащих эндогенный ингибитор Cl^- и (или) экзогенный ингибитор 8-анилин-1-нафталинсульфокислоту.

Особая биологическая роль IgM выявлена в ходе экспериментов *in vitro* с использованием модельной системы тиреоидный гормон — связывающий белок — плазматическая мембрана микроворсинков синцитиотрофобласта человека [4]. Важно отметить, что выбранная в качестве объекта исследования ткань формирует поверхность контакта между материнской кровью и плодом, является компетентной в отношении тиреоидных гормонов [11] и содержит поверхностные рецепторы иммуноглобулинов [61]. В этой модельной системе очищенные ТСПА, альбумин, апоА-I, ТСГ, IgG и IgM при концентрациях, близких к K_d их комплексов с тиреоидными гормонами, оказывали пропорциональное концентрациям ингибирующее действие на свя-

Активная роль лиганд-белковых комплексов в транспорте тиреоидных гормонов в клетки некоторых тканей

Белок	Лиганд	Клетки	Механизм	Ссылка
ТСПА	T_3, T_4	Гепатоциты in vivo НЕР G2 in vitro	Рецепция и интернализация комплекса	[1,30]
Альбумин	T_4	Гепатоциты in vivo	Равномерное распределение лиганда по всем клеткам органа	[51,53]
ТСГ	T_4	Лейкоциты in vitro	Рецепция и интернализация комплекса	[41]
АпоВ-100	T_4	Фибробласты in vitro	То же	[19]
IgM	T_3	Плазматические мембраны плаценты in vitro	Увеличение числа T_3 -связывающих мест за счет рецепции IgM мембранами	[4]

зывание $[^{125}I]-T_3$ или $[^{125}I]-T_4$ с мембранным рецептором тиреоидных гормонов. Зависимость мембранного связывания $[^{125}I]-T_4$ от концентрации IgM в системе носила типичный для всех изученных белков характер. В случае T_3 такая зависимость была уникальной для IgM и включала фазу стимулирующего действия IgM (10^{-11} – 10^{-9} M) и фазу ингибирования (10^{-8} – 10^{-7} M). В присутствии 30 пM IgM на 75% увеличивалась концентрация мембранных мест связывания T_3 при снижении K_d в 2,2 раза. В отдельном эксперименте показано [5], что IgM специфически взаимодействует с двумя типами связывающих центров на плазматических мембранах плаценты с $K_{d(1)} = 5,0 \cdot 10^9$ M $^{-1}$, $V_{max(1)} = 34$ фмоль/мг общего мембранного белка и $K_{d(2)} = 2,7 \cdot 10^7$ M $^{-1}$, $V_{max(2)} = 2,0$ пмоль/мг мембранного белка. Авторы [4] считают, что стимулирующий эффект IgM обусловлен увеличением числа T_3 -связывающих мест на мембранах микроворсинок за счет образования комплекса IgM с его мембранным рецептором, проявляющего повышенную T_3 -связывающую активность.

В табл. 2 обобщены специфические транспортные функции T_4 -связывающих белков плазмы человека.

III. Заключение

Система транспортных белков, обратимо связывающих более 99% общей массы T_3 и T_4 в плазме крови человека, включает ТСПА, альбумин, ТСГ, апоА-I, апоА-II, апоА-IV, апоВ-100, апоС-I, апоС-II, апоС-III, апоЕ, IgM, IgY и IgA. В этот широкий спектр белков входят и их структурные варианты, отличающиеся элементами химического состава, некоторыми физическими свойствами и особенностями взаимодействия с йодтиронидами. По величине сродства к тиреоидным гормонам связывающие белки можно условно разделить на три группы: низкоаффинные (альбумин, большинство аполипопротеинов, IgG и IgA; $K_d \sim 10^5$ – 10^6 M $^{-1}$), среднеаффинные (ТСПА и апоА-I; $K_d \sim 10^7$ – 10^8 M $^{-1}$) и высокоаффинные (ТСГ и его варианты; $K_d \sim 10^9$ – 10^{10} M $^{-1}$). Существуют эффективные методы выделения и очистки этих белков. Известны строение генов, параметры биосинтеза и клиренса, первичная, вторичная и третичная структуры полипептидных цепей, физические свойства молекул.

T_4 -связывающие белки плазмы не обладают генетическим родством, различаются по химическому строению и физическим свойствам и выполняют различные основные или дополнительные биологические функции. Их объединяет участие в термодинамическом равновесии со свободными гормонами и наличие структурно обособленного активного центра, в большей или меньшей степени комплементарного структуре йодтиронида.

Гипотеза о свободных гормонах объясняет и количественно описывает все клеточные эффекты T_4 и T_3 на основе концентрации несвязанных гормонов в плазме, а связывающим белкам отводит резервную, буферную и гормонвысвобождающую функции. Исследования последних лет выявили активную роль транспортных белков и их клеточных рецепторов в механизмах взаимодействия тиреоидных гормонов с компетентными тканями: комплекс T_4 – ТСГ интернализуется периферическими моноядерными клетками, T_3 и T_4 , связанные с ТСПА, транслицируются через плазматическую мембрану и распределяются между субклеточными фракциями печени и других органов, апоА-I избирательно усиливает поглощение T_4 фибробластами, а IgM стимулирует связывание T_3 с плазматическими мембранами плаценты.

Понимание фундаментальных основ функционирования многокомпонентной системы T_4 -связывающих белков плазмы важно для диагностики заболеваний человека и правильного применения фармакологических средств, которые могут влиять

на комплексобразование тиреоидных гормонов с транспортными белками.

Поскольку многие компоненты системы T_4 -связывающих белков участвуют в целом ряде хорошо изученных физиологических процессов, казалось бы, не имеющих прямого отношения к метаболизму йодтиронинов, интересно выяснить влияние связанного тиреоидного гормона на эти процессы.

В целом создается впечатление, что каждый отдельный T_4 -связывающий белок может выполнять специализированную функцию по доставке одного из двух тиреоидных гормонов в специфическую ткань. Разнообразие транспортных белков и компетентных тканей дает широкий простор исследованиям, результаты которых должны появиться уже в ближайшем будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азимова Ш.С., Умарова Г.Д., Петрова О.С. и др. // Биохимия. — 1984. — Т. 49, № 8. — С. 1350 — 1356.
2. Азимова Ш.С., Умарова Г.Д., Петрова О.С. и др. // Там же. — № 9. — С. 1478 — 1485.
3. Азимова Ш.С., Умарова Г.Д., Тухтаев К.Р., Абдукаримов А.Р. // Там же. — № 10. — С. 1640 — 1646.
4. Карпыза Е.И., Киклевич И.Е., Ермоленко М.Н., Свиридов О.В. // Биохимия. — 1993. — Т. 58, № 2. — С. 285 — 293.
5. Свиридов О.В., Ермоленко М.Н., Будникова Л.П., Карпыза И.Е. // Пробл. эндокринологии. — 1989. — № 2. — С. 48 — 52.
6. Свиридов О.В., Ермоленко М.Н., Пышко Е.С. и др. // Биохимия. — 1990. — Т. 55, № 2. — С. 329 — 337.
7. Свиридов О.В., Пышко Е.С., Ермоленко М.Н., Стрельченко О.А. // Там же. — № 11. — С. 2002 — 2010.
8. Свиридов О.В., Ермоленко М.Н. // Там же. — 1994. — Т. 59, № 1. — С. 78 — 87.
9. Ain K.B., Mori Y., Refetoff S. // J. clin. Endocr. Metab. — 1987. — Vol. 65, N 4. — P. 689—696.
10. Ain K.B., Refetoff S. // Ibid. — 1988. — Vol. 66, N 5. — P. 1037—1043.
11. Alderson R., Pastan I., Cheng S.Y. // Endocrinology. — 1985. — Vol. 116, N 6. — P. 2621—2630.
12. Arevalo G. // Clin. Chem. — 1988. — Vol. 34, N 4. — P. 705—708.
13. Bartalena L. // Endocr. Rev. — 1990. — Vol. 11, N 1. — P. 47—63.
14. Bashor M.M., Hewett J., Lackey A. et al. // Prep. Biochem. — 1987. — Vol. 17, N 3. — P. 209—227.
15. Benvenaga S., Costante G., Melluso R. et al. // Acta endocr. (Kbh.). — 1983. — Vol. 103, N 1. — P. 46—52.
16. Benvenaga S., Trimarchi F., Robbins J. // J. Endocr. Invest. — 1987. — Vol. 10. — P. 605—619.
17. Benvenaga S., Cahnmann H.J., Gregg R.E., Robbins J. // J. clin. Endocr. Metab. — 1989. — Vol. 68, N 6. — P. 1067—1072.
18. Benvenaga S., Cahnmann H.J., Gress R.E., Robbins J. // Biochimie. — 1989. — Vol. 71. — P. 263—268.
19. Benvenaga S., Robbins J. // Endocrinology. — 1990. — Vol. 126, N 2. — P. 933—941.
20. Benvenaga S., Cahnmann H.J., Robbins J. // Ibid. — Vol. 127, N5. — P. 2241—2246.
21. Benvenaga S., Cahnmann H.J., Robbins J. // Ibid. — 1991. — Vol. 128, N 1. — P. 547—552.

22. Benvenaga S., Cahnmann H.J., Rader D. et al. // *Ibid.* — 1992. — Vol. 131, N 6. — P. 2805–2811.
23. Blake C.C.F., Gailey S.J. // *Nature.* — 1977. — Vol. 268. — P. 115–120.
24. Blake C.C.F., Geisow M.J., Oatley S.J. et al. // *J. molec. Biol.* — 1978. — Vol. 121. — P. 339–356.
25. Bridges C.D.B., Peters T., Smith J.E. et al. // *Fed. Proc.* — 1986. — Vol. 45, N 9. — P. 2291–2303.
26. Bristow A.F., Gaines-Das R.E., Buttress N. et al. // *Clin. Endocr.* — 1993. — Vol. 38, N 4. — P. 361–366.
27. Calzi L.L., Benvenaga S., Battiato S. et al. // *Clin. Chem.* — 1988. — Vol. 34, N 12. — P. 2561–2562.
28. Chanoine L.R., Alex S., Fang S.L. // *Annual Meeting of the Endocrine Society, 73-rd: Abstracts.* — Washington, 1991. — P. 132.
29. Dickson W.R., Aldred A.R., Menting J.G.T. et al. // *J. biol. Chem.* — 1987. — Vol. 262, N 29. — P. 13907–13915.
30. Divino C.M., Schussler G.C. // *Ibid.* — 1990. — Vol. 265, N 3. — P. 1425–1429.
31. Ekins R. // *Lancet.* — 1985. — Vol. 1. — P. 1129–1132.
32. Ekins R., Edwards P.R. // *Amer. J. Physiol.* — 1988. — Vol. 255. — P. E403–E409.
33. Ekins R. // *Endocr. Rev.* — 1990. — Vol. 11, N 1. — P. 5–46.
34. Fex G., Laurell C.-B., Thulin E. // *Europ. J. Biochem.* — 1977. — Vol. 75, N 1. — P. 181–186.
35. Flink I.L., Bailey T.J., Gustafson T.A. et al. // *Proc. nat. Akad. Sci. USA.* — 1986. — Vol. 83. — P. 7708–7712.
36. Fung W.-P., Thomas T., Dickson P.W. et al. // *J. biol. Chem.* — 1988. — Vol. 263. — P. 480–488.
37. Gershengorn M. C., Cheng S.-Y., Lippoldt R.E. et al. // *Ibid.* — 1977. — Vol. 252, N 23. — P. 8713–8718.
38. Gershengorn M.C., Lippoldt R.E., Edelhoch H., Robbins J. // *Biochemistry.* — 1977. — Vol. 252, N 23. — P. 8719–8723.
39. Grimaldi S., Bartalena L., Carlini F., Robbins J. // *Endocrinology.* — 1986. — Vol. 118, N 6. — P. 2362–2369.
40. Hammond G.L. // *Endocr. Rev.* — 1990. — Vol. 11, N1. — P. 65–79.
41. Hashizume K., Sakurai A., Miyamoto T. et al. // *Endocr. Jap.* — 1986. — Vol. 33, N 5. — P. 665–674.
42. Hennemann G., Docter K. // *The Thyroid Gland* / Ed. M.A. Greer. — New York, 1990. — P. 221–231.
43. Hoch H., Lewallen C.G. // *J. clin. Endocr. Metab.* — 1974. — Vol. 38, N 4. — P. 663–673.
44. Janssen O.E., Bertenshaw R., Takeda K. et al. // *Trends Endocr. Metab.* — 1991. — Vol. 2. — P. 104–114.
45. Jornvall H., Carlstrom A., Petterson T. et al. // *Nature.* — 1981. — Vol. 291. — P. 261–263.
46. Kanda Y., Goodman D.S., Canfield R.E., Morgan F.J. // *J. biol. Chem.* — 1974. — Vol. 249. — P. 6796–6805.
47. Kostrouch Z., Raska I., Felt V. et al. // *Experientia (Basel).* — 1987. — Vol. 49, N 10. — P. 1119–1120.
48. Luckebach C., Wahl R., Kallee E. // *Europ. J. clin. Chem. clin. Biochem.* — 1992. — Vol. 30, N 7. — P. 387–390.
49. Martone R.L., Herbert J., Dwork A., Shon E.A. // *Biochem. biophys. Res. Commun.* — 1988. — Vol. 151, N 2. — P. 905–912.
50. Mita S., Maeda S., Shimada K., Araki S. // *Ibid.* — 1984. — Vol. 124. — P. 558–568.
51. Mendel C.M., Weisiger R.A., Jones A.L., Cavalieri R.R. // *Endocrinology.* — 1987. — Vol. 120, N 5. — P. 1742–1749.
52. Mendel C.M., Cavalieri R.R., Weisiger R.A. // *Ibid.* — 1988. — Vol. 123, N 4. — P. 1817–1824.
53. Mendel C.M. // *Endocr. Rev.* — 1989. — Vol. 10, N 3. — P. 232–274.
54. Munro S.L., Lim C.F., Hall J.G. et al. // *J. clin. Endocr. Metab.* — 1989. — Vol. 68, N 6. — P. 1141–1147.
55. Pardridge W.M., Premachandra B.M., Fierer G. // *Amer. J. Physiol.* — 1985. — Vol. 248. — P. G545–G550.
56. Pardridge W.M. // *Ibid.* — 1987. — Vol. 252. — P. E157–E164.
57. Pemberton P.A., Stein P.E., Pepys M.B. et al. // *Nature.* — 1988. — Vol. 336. — P. 257–258.
58. Peters T.Jr. // *Advanc. Protein Chem.* — 1985. — Vol. 37. — P. 161–246.
59. Petterson T., Carlstrom A., Jornvall H. // *Biochemistry.* — 1987. — Vol. 26, N 14. — P. 4578–4583.
60. Petterson T.M., Carlstrom A., Ehrenberg A., Jornvall H. // *Biochem. biophys. Res. Commun.* — 1989. — Vol. 158, N 4. — P. 341–347.
61. Putnam F.W. // *The Plasma Proteins* / Ed. F. W. Putnam. — 2nd Ed. — New York, 1987. — Vol. 5. — P. 50–140.
62. Rejatanavin R., Liberman C., Lowrence C.D. et al. // *J. clin. Endocr. Metab.* — 1985. — Vol. 61, N 1. — P. 17–21.
63. Refetoff S., Fang V.S., Marshall J.S. // *Ibid.* — 1975. — Vol. 56. — P. 177–182.
64. Refetoff S., Dwulet F.E., Benson M.D. // *Ibid.* — 1986. — Vol. 63, N 6. — P. 1432–1437.
65. Refetoff S. // *Endocr. Rev.* — 1989. — Vol. 10, N 3. — P. 275–293.
66. Reid D.G., Saunders M.R. // *J. biol. Chem.* — 1989. — Vol. 264, N 4. — P. 2003–2012.
67. Robbins J., Rall J.E., Rawson R.W. // *J. clin. Endocr. Metab.* — 1956. — Vol. 16, N 5. — P. 573–579.
68. Robbins J., Rall J.E. // *Physiol. Rev.* — 1960. — Vol. 40. — P. 415–489.
69. Robbins J., Bartalena L. // *Thyroid Hormone Metabolism* / Ed. G. Hennemann. — New York, 1986. — P. 3–38.
70. Robbins J. // *The Thyroid* / Ed. R.D. Utiger. — Philadelphia, 1991. — P. 116–127.
71. Scanu A.M. // *The Plasma Proteins.* — New York, 1987. — Vol. 5. — P. 142.
72. Schussler G.C. // *Thyroid.* — 1990. — Vol. 1, N 1. — P. 25–34.
73. Schussler G., Divino C.M., Saraiva M.J. // *Progress in Thyroid Research* / Eds A. Gordon, J. Gross, G. Hennemann. — Rotterdam, 1991. — P. 725–728.
74. Siegel J.S., Villanueva G.B., Korcek L., Tabachnik M. // *Int. J. Biochem.* — 1984. — Vol. 16, N 5. — P. 575–577.
75. Strel'chyonok G.A., Avvakumov G.V., Akhrem A.A. // *Carbohydr. Res.* — 1984. — Vol. 134. — P. 133–140.
76. Strel'chyonok G.A., Avvakumov G.V. // *J. Steroid Biochem.* — 1990. — Vol. 35, N 5. — P. 519–534.
77. Tabachnik M. // *J. biol. Chem.* — 1967. — Vol. 242, N 7. — P. 1646–1650.
78. Teru S. // *Europ. J. nucl. Med.* — 1984. — Vol. 9, N 3. — P. 121–124.
79. Trent J.M., Flink I.L., Morkin E. et al. // *Amer. J. hum. Genet.* — 1987. — Vol. 41, N 3. — P. 428–435.
80. Wahl R., Schmidberger H., Fessler E. et al. // *Endocrinology.* — 1989. — Vol. 124, N 3. — P. 1428–1437.
81. Weisiger R., Gollan J., Ockner R. // *Science.* — 1981. — Vol. 211. — P. 1048–1051.
82. Zinn A.B., Marshall J.S., Carlson D.M. // *J. biol. Chem.* — 1978. — Vol. 253, N 19. — P. 6768–6773.

Поступила 17.02.94