

---

**ОБЩИЕ ПРОБЛЕМЫ, ОБЗОРЫ**

---

УДК 636.4.082.265:612.12.128

DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2022.3.5-15

**ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ, ФУНКЦИИ  
ТИРЕОГЛОБУЛИНА И ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ТГ (обзор)**

Хрейм Уаель Б.В., Калинин Е.В., Мехрад А.Т. Зубков А.В.

*Российский университет дружбы народов (РУДН), Москва, Российская Федерация*

Цель обзора – систематизация литературных данных о структуре, функции тиреоглобулина (ТГ) и экспрессии гена ТГ. Общая молекулярная структура ТГ консервативна у всех позвоночных, а продукция гормонов щитовидной железы трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4) инициируется в процессе протеолиза ТГ. При доставке ТГ из тиреоцитов в просвет фолликулов щитовидной железы множественные остатки тирозина могут йодироваться с образованием моноидтирозина и/или дийодтирозина. Под действием тиреотропного гормона активируются его рецептор и многие продукты генов щитовидной железы, участвующие в гормоногенезе. Тиреотропный гормон инициирует посттрансляционные изменения ТГ, которые повышают его способность к образованию Т3; этот процесс важен при дефиците йода. Мутации гена ТГ вызывают нарушение синтеза гормонов щитовидной железы, что приводит к врожденному гипотиреозу. Легкий гипотиреоз или эутиреоз с зобом обычно выявляются в семействе мутаций гена ТР. В большинстве случаев у пораженных особей родители гомозиготны по инактивации мутаций в гене ТГ. Реже сложные гетерозиготные мутации приводят к потере функции обоих аллелей. Из-за большого размера и сложности молекулярной структуры конечного продукта возможность получения рекомбинантного ТГ в настоящее время ограничена.

*Ключевые слова: тиреоглобулин, экспрессия гена, ко-регуляторы транскрипции, синтез тиреоидных гормонов, мутации гена.*

*Проблемы биологии продуктивных животных, 2022, 3: 5-15.*

**Введение**

Гормоны щитовидной железы синтезируются тиреоцитами позвоночных. Источником гормонов щитовидной железы является тиреоглобулин (Т) - большой димерный йодогликопротеин, с молекулярной массой мономера 330 кДа, который является наиболее экспрессируемым белком в щитовидной железе (Holzer et al., 2016). Биоактивность, опосредованная рецепторами тиреоидных гормонов, была прослежена в эволюции доводных форм жизни, которые предшествуют первому появлению гена ТГ (Weber et al., 2017; Plateroti, Samarut, 2018). В частности у морского ежа (Kinjo et al., 2018; Cary et al., 2018) и у амфиоксуса многие ортологи генов, участвующих в синтезе гормонов щитовидной железы, уже присутствуют, хотя у этих видов отсутствует ген, кодирующий ТГ у позвоночных (Citterio et al., 2019). У амфиоксуса, не имеющего фолликулярной структуры щитовидной железы, накопление йодида и продукция гормона происходят в эндостиле глотки (Yu, 2016). Этот орган имеет функциональную эквивалентность щитовидной железе позвоночных, включая экспрессию фактора терминации транскрипции 1, гомеобокса NKX2.1 и парного бокса белка PAX8, которые необходимы для синтеза гормонов щитовидной железы у позвоночных (López-Márquez et al., 2021).

Полный ген ТГ, вероятно, впервые появился в результате внутригенной дупликации и слияния генов (Kouidhi, 2018). Первое неопровержимое свидетельство полного гена ТГ появляется с развитием позвоночных, и однажды появившись, вся структура, кодируемая ТГ после этого сохранялась у позвоночных. Самыми ранними позвоночными, несущими ТГ, являются личинки миноги, которые демонстрируют экзокринную секрецию йодсодержащих белковых гормонов щитовидной железы до метаморфического перехода во взрослую миногу, которая имеет истинную

эндокринную щитовидную железу (Tovo-Neto, 2018). Хотя при сравнении ТГ миноги, рыбок данио, *Xenopus* и человека отмечаются различия, но при этом сохраняются общие модульные структуры, включая наиболее важные остатки цистеина, образующие дисульфидные связи, а также региональная структура ТГ (Weber et al., 2017).

Тиреоглобулин, как предшественник гормонов щитовидной железы, был предложен в качестве маркера патологии щитовидной железы и дефицита йода в популяциях животных и человека (Weber et al., 2017; Trimboli et al., 2017). У людей он измеряется в сыворотке, и концентрация в сыворотке увеличивается с увеличением массы щитовидной железы, при воспалении щитовидной железы и при стимуляции рецепторов тиреотропного гормона (ТТГ). Однако использованию показателей ТГ для диагностических целей препятствуют различия в результатах анализа, проведенного в разных лабораториях (Coscia, 2020). Хотя были предприняты попытки их минимизации с помощью международной стандартизации, остаются значительные различия. Кроме того, неясно, необходима ли одновременное определение антител к ТГ, принимая во внимание возможное влияние наличие популяционной вариабельности в молекулярной структуре ТГ (Holzer et al., 2016).

Цель обзора – систематизация имеющихся данных по структуре, функции ТГ и экспрессии гена ТГ с указанием большинства мутаций, обнаруженных в отношении гена ТГ.

### **Биосинтез тиреоглобулина**

Щитовидная железа имеет везикулярную структуру, т.е. состоит из фолликулов, у которых стенка образована однослойным эпителием, а белковое содержимое (коллоид) синтезируется тиреоцитами (Sawant et al., 2018). Тироглобулин синтезируется в эндоплазматическом ретикулуме тиреоцитов, а затем секретируется в коллоид (Citterio, 2019). Йодид (I<sup>-</sup>) из кровотока активно поглощается тиреоцитами при участии симпортера Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> и транспортируется в коллоид. Обычно йодид окисляется до йода тиреопероксидазой с использованием перекиси водорода, а затем ковалентно включается в остатки тирозина в ТГ коллоида (de La Vieja, Santisteban, 2018; Waugh, 2019). Промежуточные продукты биосинтеза – 3-монойодтирозин и 3,5-дiiодтирозин, связанные с ТГ. Затем 3-монойодтирозин реагирует с 3,5-дiiодтирозином с образованием трийодтиронина, или два 3,5-дiiодтирозина реагируют с образованием Т4, всё ещё связанного с ТГ (Carrasco, 2020)

Когда уровни гормонов щитовидной железы, циркулирующих в крови, снижаются, а уровни тиреотропного гормона (ТТГ) повышаются, ТГ интернализуется в тиреоциты (Foster et al., 2021). Затем ТГ подвергается частичному протеолизу в лизосомах, а свободные Т3 и Т4 поступают в кровоток. Соотношение Т4 и Т3 в норме у человека составляет около 80:20 (Citterio et al., 2019); 3-монойодтирозин и 3,5-дiiодтирозин, образующиеся в результате неполного синтеза тиреоидных гормонов, метаболизируются в тиреоцитах йодтирозиндегидрогеназой с образованием йодида (I<sup>-</sup>) и тирозина, гарантируя, что любой I<sup>-</sup>, не включённый в гормоны, используется повторно.

Посттрансляционный процессинг ТГ сложен и требует множественных молекулярных шаперонов для контроля гликозилирования, соответствующего фолдинга, димеризации и доставки зрелого белка к апикальной мембране, где тиреоидная пероксидаза катализирует йодирование гормоногенных участков. Сравнение ТГ, полученного из папиллярного рака, с нормальной тканью щитовидной железы, выявляет различия по содержанию углеводов, йода, сульфатированию, заряду и иммунологическим свойствам (Foster et al., 2021). Эти различия, вероятно, являются результатом дефектного посттрансляционного процессинга ТГ, полученного из опухоли, что приводит к секреции молекул ТГ с аномальной третичной структурой (Héctor, 2016). Поскольку эпитопы ТГ являются конформационными, любое изменение в третичной структуре молекулы может нарушить иммунологические взаимодействия с реагентами для анализа (Xavier et al., 2016). Период полувыведения ТГ в сыворотке крови составляет около 3 дней и определяется остаточным содержанием сиаловой кислоты в молекуле. Содержание сиаловой кислоты и йода в ТГ, полученном из папиллярных опухолей, обычно ниже нормы, что обуславливает различия в метаболическом клиренсе ТГ, секретлируемого разными опухолями. Ускоренный метаболический клиренс ТГ, полученного из опухоли, может быть причиной того, что сывороточный ТГ может быть

парадоксально низким или даже неопределяемым у некоторых пациентов со значительной опухолевой нагрузкой (Wright et al., 2021).

### Экспрессия гена тиреоглобулина

Гормоны щитовидной железы регулируют различные процессы в организме животных и человека, и эффекты их действия более очевидны при дисфункции щитовидной железы (Delitala et al., 2020). Тиреоглобулин – это многодоменный белок, содержащий различные модули от N до C-концов: сигнальный пептид, четыре повтора ТГ 1, линкерную область, шесть дополнительных повторов ТГ 1, шарнирную область, три повтора ТГ 2, один повтор ТГ 1, пять повторов ТГ 3 и холинэстеразоподобный домен (Freedman et al., 2017; Rittner et al., 2019). Сигнальный пептид направляет вновь синтезированный белок в эндоплазматический ретикулум, где он немедленно удаляется, тогда как повторяющиеся домены определяют структуру белка (Sowers et al., 2018). Домен, подобный холинэстеразе, участвует в конформационном созревании и экспорте вновь синтезированного ТГ через секреторный путь в просвет фолликула щитовидной железы, а также в образовании Т3 *de novo* (Citterio et al., 2021). Во время транспортировки ТГ претерпевает множество посттрансляционных модификаций, критических для его биологической функции (Raposo B. et al., 2018).

У млекопитающих вновь синтезированный ТГ сначала гликозилируется и сворачивается с образованием внутримолекулярных дисульфидных связей (Di Jeso, Arvan, 2016). С учётом расстояний между остатками цистеина были идентифицированы отдельные домены повторов ТГ, контролируемые укладку белка. Затем ТГ перед секрецией образует гомодимер массой 660 кДа, который необходим для гормоногенеза в щитовидной железе (Gnocchi et al., 2016; Yen et al., 2019). Попадая в просвет фолликула, многие тирозины ТГ подвергаются йодированию в результате активности тиродпероксидазы, а определённые пары йодтирозина «соединяются» с образованием гормонов щитовидной железы в белке ТГ (Tušar et al., 2021). В частности, Tyr-5 и Tyr-130 известны как пара акцептор-донор и являются наиболее важным гормоногенным участком, вырабатывая почти половину тироксина, синтезируемого в ТГ (Tušar et al., 2021). Также было идентифицировано несколько других вторичных гормоногенных тирозинов (например, Tyr847, -973, -1291, -1448, -2554, -2568 и -2747), причём последний является наиболее важным участком образования трийодтиронина *de novo*. Многие йодированные молекулы ТГ остаются в течение продолжительного времени в просвете фолликула щитовидной железы, обеспечивая хранение йода в коллоиде фолликулов щитовидной железы (Arrangoiz et al., 2018; Greule et al., 2018). Тиреотропный гормон стимулирует эндоцитарный захват ТГ из просвета фолликула тироцитами с последующей доставкой его в лизосомы для протеолитического расщепления, что приводит к высвобождению тиреоидных гормонов в кровоток (Brix et al., 2020). В целом, синтез гормона щитовидной железы является затратным с точки зрения энергии, поскольку он требует синтеза и эндоцитарного разрушения двух больших мономеров ТГ для образования только одной или двух молекул гормона щитовидной железы (Stern et al., 2022).

Ген ТГ у человека кодируется хромосомой 8q24.2–8q24.3 в кодирующей последовательности 8,5 т.п., охватывающей 48 экзонов; транскрипция мономерного белка ТГ 330 кДа регулируется рядом факторов транскрипции, включая TTF-1, TTF-2 и Pax-8 (Targovnik et al., 2017; Siffo et al. 2018). Специфические факторы транскрипции, такие как белок с парным доменом PAX8, белок гомеодомена NKX2.1, белок E1 домена вилки (FOXE1), гомеобокс-содержащий фактор транскрипции NKX2.5, гематопоетический экспрессируемый гомеобокс HEX (также известный как PRH) и ко-регуляторы транскрипции участвуют в программе дифференцировки фолликулярных клеток щитовидной железы у человека, включая транскрипцию гена ТГ. Среди этих факторов транскрипции PAX8 и NKX2.1 стимулируются коактиватором транскрипции с PDZ-связывающим мотивом (TAZ или WWTR1), что приводит к их биохимической ассоциации и синергическому действию, который играет важную роль в щитовидной железе при дифференцировке клеток и транскрипция генов (Godlewska, Banga, 2019). Напротив, гомеобокс HEX действует как репрессор промотора ТГ. Действие ТТГ обеспечивает положительную индукцию тиреоид-специфических

генов, включая ген ТГ, в основном за счёт модуляции внутриклеточного уровня цАМФ, который может стимулировать функцию усилителя действия ТГ (Citterio et al., 2019).

Ген ТГ человека (однокопийный ген размером ~ 270 т.п., локализованный на хромосоме 8q24.22), экспрессируется на очень высоких уровнях в тироцитах, что является отличительной особенностью щитовидной железы (Citterio et al., 2019). Ген ТГ состоит из 48 экзонов размером в диапазоне 63-1101 нуклеотида и содержащих интроны разного размера, включая один из 64 т.п., который кодирует человеческий SRC-подобный адаптерный белок (Héctor, 2016; Wright et al., 2021). Тиреоглобулин кодируется мРНК, содержащей 5'-нетранслируемую область из 41 нуклеотида, за которой следует единственная открытая рамка считывания из 8307 оснований и 105 п.н. 3'-нетранслируемой последовательности (Brix et al., 2020). В тканях щитовидной железы человека мРНК ТГ очень неоднородна с 12 предсказанными вариантами транскрипта (Morishita et al., 2020).

### Мутации гена ТГ

Мутации гена ТГ вызывают нарушение синтеза гормонов щитовидной железы, что приводит к врожденному гипотиреозу (Mittal et al., 2016; Mohammed et al., 2020). Легкий гипотиреоз или эутиреоз с зобом обычно выявляются в семействе мутаций гена тиреоглобулина (Mizokami et al. 2019). Пациенты также могут иметь зоб и явный или компенсированный гипотиреоз, иногда с высокими уровнями трийодтиронина в сыворотке крови. Зоб часто бывает очень большим и постоянно растёт. В большинстве случаев у пораженных людей родители гомозиготны по инактивации мутаций в гене тиреоглобулина (Belforte et al., 2016). Реже сложные гетерозиготные мутации приводят к потере функции обоих аллелей. Молекулярный анализ показывает, что по крайней мере некоторые из этих изменений приводят к секреторному дефекту и болезни накопления эндоплазматического ретикула (Makretskaya et al., 2018).

Таблица 1. Мутации гена тиреоглобулина

Положение экзона / интрона	Положение нуклеотидов	Положение аминокислот	Ссылки
<i>Миссенс-мутации</i>			
Экзон 2	c.113G>A	p.R19K	Perlmutter et al., 2016
Экзон 5	c.548G>A	p.C164Y	Kim et al., 2008
Экзон 5	c.580T>G	p.C175G	Caputo et al., 2007
Экзон 8	c.986A>C	p.Q310P	Caputo et al., 2007
Экзон 10	c.2610G>T	p.Q851H	Hishinuma et al., 2006, Corral et al., 1993
Экзон 11	c.2969G>A	p.S971I	Caputo et al., 2007
Экзон 12	c.3022C>T	p.R989C	Caputo et al., 2007
Экзон 12	c.3035C>T	p.P993L	Caputo et al., 2007
Экзон 14	c.3229T>C	p.C1058R	Caputo et al., 2007, Pérez-Centeno et al., 1996
Экзон 17	c.3790T>C	p.C1245R	Pérez-Centeno et al., 1996, Baryshe et al. 2004
Экзон 24	c.4820G>T	p.C1588F	Caputo et al., 2007
Экзон 21	c.4397G>A	p.S1447N	Caputo et al., 2007
Экзон 31	c.5690G>A	p.C1878Y	Caputo et al., 2007, Kanou et al. 2007
Экзон 31	c.5791A>G	p.I1912V	Caputo et al., 2007
Экзон 33	c.5986T>A	p.C1977S	Caputo et al., 2007, Pérez-Centeno et al., 1996, Hishinuma et al. 1999
Экзон 33	c.6017G>A	p.C1987Y	Caputo et al., 2007
Экзон 37	c.6461G>A	p.C2135Y	Caputo et al., 2007
Экзон 38	c.6701C>A	p.A2215D	Kim et al., 2008, Targovnik et al. 2010, Pardo et al. 2009
Экзон 38	c.6725G>A	p.R2223H	Pardo et al. 2009, Mac Hiavelli et al. 2011
Экзон 40	c.6956G>A	p.G2300D	Caputo et al., 2007
Экзон 40	c.7007G>A	p.R2317Q	Caputo et al., 2007
Экзон 41	c.7121G>T	p.G2355V	Caputo et al., 2007
Экзон 41	c.7123G>A	p.G2356R	Caputo et al., 2007

*Продолжение таблицы 1. Мутации гена тиреоглобулина*

Положение экзона / интрона	Положение нуклеотидов	Положение аминокислот	Ссылки
<i>Нонсенс-мутации</i>			
Экзон 7	c.886C>T	p.R277X	Kim et al., 2008, Pardo et al. 2008, 2009, Caron et al. 2003, Gutnisky et al. 2004
Экзон 9	c.1351C>T	p.R432X	Rivolta et al., 2005
Экзон 9	c.2131C>T	p.Q692X	Caputo et al., 2007
Экзон 20	c.4310G>A	p.W1418X	Caputo et al., 2007
Экзон 22	c.4588C>T	p.R1511X пропуск экзона 22	Van De Graaf et al. 1999, Niu et al. 2009, Targovnik et al. 1993
Экзон 27	c.5350C>T	p.Q1765X	Rivolta et al. 2005
Экзон 27	c.5386C>T	p.Q1777X	Mendive, Rivolta et al. 2005
Экзон 37	c.6481C>T	p.Q2142X	Pardo et al. 2008
Экзон 40	c.7006C>T	p.R2317X	Pardo et al. 2009
Экзон 46	c.7969C>T	p.Q2638X	Caputo et al., 2007
<i>Мутации акцепторных и донорских сайтов сплайсинга</i>			
Интрон 3	g.IVS3+2T>G	Пропуск экзона 3 и стоп-кодон в экзоне 4	Rivolta et al. 2005
Интрон 3	g.IVS3-3C<G	Пропуск экзона 4	Targovnik et al. 2010
Интрон 5	g.IVS5+1G>A	Пропуск экзона 5 и стоп-кодон в экзоне 6	Ieiri T. 1991
Интрон 10	g.IVS10-1G<A	Пропуск экзона 11	Caputo et al., 2007
Интрон 24	g.IVS24+1G>C	Пропуск экзона 24 и стоп-кодон в экзоне 26	Caputo et al., 2007
Интрон 30	g.IVS30+1G>T	Пропуск экзона 30	Targovnik et al., 2010, Pardo et al. 2008, Alzahrani et al., 2006, Targovnik et al., 2001
Интрон 30	g.IVS30+1G>A	Пропуск экзона 30	Caputo et al., 2007
Интрон 34	g.IVS34-1G<C	Пропуск экзона 35	Van De Graaf et al. 1999
Интрон 45	g.IVS45+2T>A	Пропуск экзона 45	Caputo et al., 2007
Интрон 46	g.IVS46-1G<A	Пропуск экзона 46	Pardo et al., 200
<i>Вставка одного нуклеотида</i>			
Экзон 7	c.759-760insA	p.L234fsX237	Kim et al., 2008
<i>Однонуклеотидные делеции</i>			
Экзон 9	c.1143delC	p.G362fsX382	MacHiavelli et al. 2010
Экзон 9	c.1348delT	p.S431fsX459	Rivolta et al. 2005
Экзон 9	c.1712delT	p.L552fsX576	Rivolta et al. 2005
Экзон 22	c.4537delG	p.D1494fsX1547	Caputo et al., 2007
Экзон 33	c.6047delA	p.Q1997fsX1998	Rivolta C.M. et al. 2005

## Проблемы получения рекомбинантного ТГ

В настоящее время имеется необходимый методологический арсенал для создания рекомбинантного ТГБ, включающий последовательность этапов:

1. *Экстракция РНК и синтез полноразмерной кДНК ТГ.* Выделение полной РНК из клеток щитовидной железы производится в соответствии с рекомендациями производителя набора. Затем следует метод ПЦР для амплификации образца, а метод гель-электрофореза завершается сбором образцов и выполнением оставшихся шагов (Pang et al., 2021).
2. *Молекулярное клонирование.* Полноразмерная кДНК (полученная в результате экстракции РНК и синтеза полноразмерной кДНК тиреоглобулина) направленно клонируется в сайты вектора экспрессии (Lisi, Marinò, 2020).
3. *Амплификация плазмид и анализ секвенирования.* Рекомбинантные плазмиды амплифицируются в компетентных клетках (например, Dh5 $\alpha$ ) и очищаются с помощью специального набора (Citterio et al., 2020).
4. *Культура клеток и трансфекция.* Далее необходимо следовать инструкциям производителя; потому что каждая система отличается от другой, в зависимости от источника первичного материала и накопленного опыта.

Из-за большого размера молекулы и сложности её структуры, возможность получения рекомбинантного ТГ в настоящее время ограничена. Как результат, единственный доступный источник очищенного человеческого ТГ является ткани щитовидной железы. К сожалению, популяция человеческого ТГ гетерогенна и ткани доноров различаются по уровню гликозилирования и йодирования, что создаёт проблемы с его использованием в диагностических целях. Кроме того, наличие различных вариантов ТГ влияет на результаты ИФА, которые используются для скрининга заболеваний щитовидной железы (Haddady et al., 2021).

Если бы существовал универсальный стандарт человеческого ТГ, то это бы помогло устранить существующие проблемы с коммерческим очищенным ТГ, но до настоящего времени не было показано, что традиционная система экспрессии поддерживает рекомбинантную продукцию этого белка. *E. coli*, возможно, является наиболее широко используемой системой для экспрессии рекомбинантных белков, которая могла бы послужить основой для получения коммерчески значимого белка (Gholve et al., 2019). Дрожжи были использованы в качестве системы экспрессии рекомбинантного белка, поскольку они способны к образованию дисульфидных связей и посттрансляционным модификациям; однако вариации в гликозилировании были препятствием у некоторых видов и привели к снижению выхода рекомбинантного белка (Shamriz, Ofoghi, 2019). Бакуловирусные и клеточные системы млекопитающих использовались для производства рекомбинантных белков, поскольку они устраняют ограничения систем кишечной палочки и дрожжей, но и те, и другие создают технические препятствия (например, поддержание клеточных культур) и не дают стоимостного преимущества в сравнении с очисткой ТГ из тканей человека (Gomes et al., 2016; Davison-Kotler, García-Gareta, 2019).

## Заключение

Тиреоглобулин - большой димерный гликопротеин является предшественником гормонов щитовидной железы. Общая структура тиреоглобулина консервативна у всех позвоночных; синтез гормонов щитовидной железы Т3 и Т4 инициируется частичным протеолизом ТГ и опосредован действием ТТГ на активность многих продуктов генов щитовидной железы, участвующих в гормоногенезе. Под влиянием ТТГ индуцируются посттрансляционные изменения структуры ТГ, которые повышают его способность к продукции Т3 и Т4 при дефиците йода у животных и человека. Гормоны щитовидной железы оказывают влияние на многие физиологические процессы в организме животных и человека, в первую очередь, на энергетический обмен. Мутации гена ТГ вызывают нарушение синтеза гормонов щитовидной железы, что приводит к врожденному

гипотиреозу. Легкий гипотиреоз обычно выявляются в семействе мутаций гена ТР. В большинстве случаев у пораженных особей родители гомозиготны по инактивации мутаций в гене ТГ. Реже сложные гетерозиготные мутации приводят к потере функции обоих аллелей. Молекулярный анализ показывает, что некоторые из этих мутаций приводят к секреторному дефекту и болезни накопления эндоплазматического ретикулума. Из-за большого размера и сложности структуры молекулы, возможность получения рекомбинантного тиреоглобулина в настоящее время ограничена.

## References

1. Alzahrani A.E., Baitei Y., Zou M., Shi Y. Metastatic follicular thyroid carcinoma arising from congenital goiter as a result of a novel splice donor site mutation in the thyroglobulin gene. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2006. 91(3): 740-746.
2. Arrangoiz R., Cordera F., Caba D., Muñoz M., Moreno E., de León E.L. Comprehensive review of thyroid embryology, anatomy, histology, and physiology for surgeons. *Int. J. Otolar. Head. Neck Surg.* 2018. 07 (04): 160-188.
3. Baryshe M. et al. Unfolded protein response is involved in the pathology of human congenital hypothyroid goiter and rat non-goitrous congenital hypothyroidism. *J. Mol. Endocr.* 2004. 32(3): 903-920.
4. Belforte F.S. et al. Compound heterozygous DUOX2 gene mutations (c.2335-1G>C/c.3264\_3267delCAGC) associated with congenital hypothyroidism. Characterization of complex cryptic splice sites by minigene analysis. *Mol. Cell. Endocr.* 2016. 419: 172-184.
5. Brix K. et al. Auto-regulation of the thyroid gland beyond classical pathways. *Exper. Clin. Endocr. Diab.* 2020. 128(6-7): 437-445.
6. Caputo M. et al. Genital hypothyroidism with goitre caused by new mutations in the thyroglobulin gene. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2007. 67(3): 351-357.
7. Caron P. et al. Compound heterozygous mutations in the thyroglobulin gene (1143delC and 6725G→A [R2223H]) resulting in fetal goitrous hypothyroidism. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2003. 88(8): 3546-3553.
8. Carrasco N. Molecular architecture of thyroglobulin revealed Metallic glasses that harden under strain. 2020. 578(2): 520-521.
9. Corral J. et al. Thyroglobulin gene point mutation associated with non-endemic simple goitre. *Lancet.* 1993. 341(8843): 462-464.
10. Cary G.A., Cameron R.A., Hinman V.F. EchinoBase: Tools for echinoderm genome analyses. *Methods Mol. Biol.* 2018. 2: 175.
11. Citterio C.E., Targovnik H.M., Arvan P. The role of thyroglobulin in thyroid hormonogenesis. *Nature Rev. Endocr.* 2019. 2: 55-59.
12. Citterio C.E. et al. p.L571P in the linker domain of rat thyroglobulin causes intracellular retention. *Mol. Cell. Endocr.* 2020. 505: 76-83.
13. Citterio C.E., Targovnik H.M., Arvan P. The role of thyroglobulin in thyroid hormonogenesis. *Nature Rev. Endocr.* 2019. 15(6): 323-338.
14. Citterio C.E., Rivolta C.M., Targovnik H.M. Structure and genetic variants of thyroglobulin: Pathophysiological implications. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2021. 528: 111-127.
15. Coscia F. et al. The structure of human thyroglobulin. *Nature.* 2020. 578(7796): 627-630.
16. Davison-Kotler E., Marshall W.S., García-Gareta E. Sources of collagen for biomaterials in skin wound healing. *Bioengineering.* 2019. 6(3): 29-33.
17. De La Vieja A.P. et al. Role of iodide metabolism in physiology and cancer. *Endocr-Rel. Cancer.* 2018. 25(4): 225-245.
18. Delitala A.P., Scuteri A., Maioli M., Casu G., Merella P., Fanciulli G. Effect of rhTSH on lipids. *J. Clin. Med.* 2020. 9(2): 515-521.
19. Di Jeso B., Arvan P. Thyroglobulin from molecular and cellular biology to clinical endocrinology. *Endocr. Rev.* 2016. 19: 15-21.
20. Foster J., Tinwell R.H., Melching-Kollmuss S. A review of species differences in the control of, and response to, chemical-induced thyroid hormone perturbations leading to thyroid cancer. *Arch. Toxic.* 2021. 95(3): 807-836
21. Freedman R.B. et al. Something in the way she moves': The functional significance of flexibility in the multiple roles of protein disulfide isomerase (PDI). *Biochim. Biophys. Acta - Prot. Proteom.* 2017. 1865(11): 1383-1394.
22. Gholve C. et al. Comparison of serum thyroglobulin levels in differentiated thyroid cancer patients using in-house developed radioimmunoassay and immunoradiometric procedures. *Indian J. Clin. Biochem.* 2019. 34(4): 465-471.
23. Gnocchi D.K., Steffensen R., Bruscalupi G., Parini P.. Emerging role of thyroid hormone metabolites. *Acta Physiol.* 2016. 217(3): 184-216.

24. Godlewska M., Banga P.J. Thyroid peroxidase as a dual active site enzyme: Focus on biosynthesis, hormonogenesis and thyroid disorders of autoimmunity and cancer. *Biochimie*. 2019. 160: 34-45.
25. Gomes A.R., Byregowda S.M., Veeregowda B.M. An overview of heterologous expression host systems for the production of recombinant proteins. *Adv. Anim. Veter. Sci.* 2016. 37: 71-83.
26. Greule A., Stok J.E., De Voss J.J., Cryle M.J. Unrivalled diversity: the many roles and reactions of bacterial cytochromes P450 in secondary metabolism. *Natur. Prod. Rep.* 2018. 35(8): 757-791.
27. Gutnisky V.J. et al. Two distinct compound heterozygous constellations (R277X/IVS34-1G) C and R277X/R1511X) in the thyroglobulin (TG) gene in affected individuals of a Brazilian Kindred with congenital goiter and defective TG synthesis. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2004. 89(2): 646-657.
28. Haddady S., Pinjic E., LePrognostic S.L. Value of serum thyroglobulin measured at 48 hours versus 72 hours after second dose of recombinant human thyrotropin in surveillance of well-differentiated thyroid cancer. *Endocr. Pract.* 2021. 27(3): 216-222.
29. Héctor M.T. Advances and perspectives in genetics of congenital thyroid disorders associated with thyroglobulin gene mutations. *Open J. Biol. Sci.* 2016. 12(1), : 062–070.
30. Hishinuma A. et al. Haplotype analysis reveals founder effects of thyroglobulin gene mutations C1058R and C1977S in Japan. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2006. 91(8): 3100-3104.
31. Hishinuma A., Fukata S., Kakudo K., Murata Y., Ieiri T. High incidence of thyroid cancer in long-standing goiters with thyroglobulin mutations. *Thyroid*. 2005. 15(9): 1079-1084.
32. Hishinuma A. et al. Two novel cysteine substitutions (C1263R and C1995S) of thyroglobulin cause a defect in intracellular transport of thyroglobulin in patients with congenital goiter and the variant type of adenomatous goiter1. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1999. 84(4): 1438-1444.
33. Holzer G., Morishita Y. et al. Thyroglobulin represents a novel molecular architecture of vertebrates. *Biol. Chem.* 2016. 291(32): 16553-16566.
34. Ieiri T. A 3' splice site mutation in the thyroglobulin gene responsible for congenital goiter with hypothyroidism. *J. Clin. Invest.* 1991. 88(6): 1901-1905.
35. Kanou Y. et al. Thyroglobulin gene mutations producing defective intracellular transport of thyroglobulin are associated with increased thyroidal type 2 iodothyronine deiodinase activity. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2007. 92(4): 1451-1457.
36. Kim P.S. et al. Defective protein folding and intracellular retention of thyroglobulin-R19K mutant as a cause of human congenital goiter. *Mol. Endocr.* 2008. 22(2): 477-484.
37. Kinjo S., Kiyomoto M., Yamamoto T., Ieko K., Yaguchi S. HpBase: A genome database of a sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Dev. Growth Differ.* 2018. 60(3): 174-182.
38. Kouidhi S., Clerget-Froidevaux M.S.. Integrating thyroid hormone signaling in hypothalamic control of metabolism: Crosstalk between nuclear receptors. *Intern. J. Mol. Sci.* 2018. 19(7): 32-39.
39. López-Márquez A., Carrasco-López C., Fernández-Méndez C., Santisteban P. Unraveling the complex interplay between transcription factors and signaling molecules in thyroid differentiation and function, from embryos to adults. *Front. Endocr. (Lausanne)*. 2021. 12: 11.
40. Lisi S., Marinò M. Prediction of heparin binding of mutated short sequences of rat thyroglobulin. *J. Endocr. Invest.* 2020. 44: 1237–1241.
41. Ma R., Morshed S.A., Latif R., Davies T.F. TAZ induction directs differentiation of thyroid follicular cells from human embryonic stem cells. *Thyroid*. 2017. 27(2): 292-299.
42. MacHiavelli G.A. et al. Molecular analysis of congenital goitres with hypothyroidism caused by defective thyroglobulin synthesis. Identification of a novel mutation and expression of minigenes containing nonsense mutations in exon 7. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2010. 72(1): 112-121.
43. Makretskaya N. et al. High frequency of mutations in dysmorphogenesis genes in severe congenital hypothyroidism. *PLoS One*. 2018. 13(9): 20-33.
44. Mendive F.M., Rivolta C.M. et al. Nonsense-associated alternative splicing of the human thyroglobulin gene. *Mol. Diagn.* 2005. 9(3): 143-149.
45. Mittal K. et al. Mutations in the genes for thyroglobulin and thyroid peroxidase cause thyroid dysmorphogenesis and autosomal-recessive intellectual disability. *J. Hum. Genet.* 2016. 61(10): 867-872.
46. Mizokami T. et al. Congenital primary hypothyroidism with the homozygous nonsense mutation P.K1374 in the thyroglobulin gene and a normal-sized thyroid gland on levothyroxine replacement. *Intern. Med.* 2019. 58(18): 2669-2673.
47. Mohammed E.T., Hashem K.S. et al. Ginger extract ameliorates bisphenol A (BPA)-induced disruption in thyroid hormones synthesis and metabolism: Involvement of Nrf-2/HO-1 pathway. *Sci. Total Environ.* 2020. 703: 134-164.
48. Morishita Y. et al. Thyrocyte cell survival and adaptation to chronic endoplasmic reticulum stress due to misfolded

- thyroglobulin. *J. Biol. Chem.* 2020. 8: 29-38.
49. Niu D.M. et al. Six New mutations of the thyroglobulin gene discovered in taiwanese children presenting with thyroid dysshormonogenesis. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2009. 94(12): 5045-5052.
  50. Pang Y. et al. Characterization and expression analysis of insulin growth factor binding proteins (IGFBPs). in Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. 22(3): 1056.
  51. Pardo V. et al. Phenotypic variation among four family members with congenital hypothyroidism caused by two distinct thyroglobulin gene mutations. *Thyroid.* 2008. 18(7): 783-786.
  52. Pardo V. et al. The p.A2215D thyroglobulin gene mutation leads to deficient synthesis and secretion of the mutated protein and congenital hypothyroidism with wide phenotype variation. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2009. 94(8): 2938-2944.
  53. Pérez-Centeno C., González-Sarmiento R., Mories M.T., Corrales J.J., Miralles-García J.M. Thyroglobulin exon 10 gene point mutation in a patient with endemic goiter *Thyroid.* 1996. 6(5): 423-427.
  54. Perlmutter D.H.  $\alpha$ 1-antitrypsin deficiency: A misfolded secretory protein variant with unique effects on the endoplasmic reticulum. *Endopl. Retic Stress Dis.* 2016. 3(1): 63-72.
  55. Plateroti M., Samarut J. Thyroid hormone nuclear receptor methods and protocols. *Meth. Mol. Biol.* 2018 1801: 111-129.
  56. Raposo B. et al. T cells specific for post-translational modifications escape intrathymic tolerance induction. *Nat. Commun.* 2018. 9(1): 1-11.
  57. Rittner A.K., Paithankar S., Drexler D.J., Himmler A., Grninger M. Probing the modularity of megasynthases by rational engineering of a fatty acid synthase Type I. *Protein Sci.* 2019. 28(2): 414-428.
  58. Rivolta C.M. et al. A new case of congenital goiter with hypothyroidism caused by a homozygous p.R277X mutation in the exon 7 of the thyroglobulin gene: A mutational hot spot could explain the recurrence of this mutation. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2005. 90(6): 3766-3770.
  59. Sawant D.A., Moore A.F., Cashell A.W. Cadaveric case report of dual thyroid: ectopic and normal location thyroid with brief review of literature. *Endocr. Metab. Intern. J.* 2018. 112: 51-59.
  60. Shamriz S., Ofoghi H. Expression of recombinant PfCelTOS Antigen in the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii* and its potential use in detection of malaria. *Mol. Biotechnol.* 2019. 61: 102-110.
  61. Siffo S. et al. Molecular analysis of thyroglobulin mutations found in patients with goiter and hypothyroidism. *Mol. Cell. Endocr.* 2018. 473: 1-16.
  62. Sowers C.R. et al. The protein kinase PERK/EIF2AK3 regulates proinsulin processing not via protein synthesis but by controlling endoplasmic reticulum chaperones. *J. Biol. Chem.* 2018. 293(14): 5134-5149.
  63. Stern E.A. et al. Novel mutation in the thyroglobulin gene resulting in neonatal goiter and congenital hypothyroidism in an eritrean infant. *J. Clin. Res. Pediatr. Endocr.* 2022. 28: 92-98.
  64. Targovnik H.M., Medeiros-Neto G., Varela V., Cochaux P., Wajchenberg, B.L., Vassart G. A nonsense mutation causes human hereditary congenital goiter with preferential production of a 171-nucleotide-deleted thyroglobulin ribonucleic acid messenger. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1993. 77(1): 210-215.
  65. Targovnik H.M. et al. A 138-nucleotide deletion in the thyroglobulin ribonucleic acid messenger in a congenital goiter with defective thyroglobulin synthesis. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1995. 80(11): 3356-3360.
  66. Targovnik H.M., Rivolta C.M. Congenital goiter with hypothyroidism caused by a 5' splice site mutation in the thyroglobulin gene. *Thyroid.* 2001. 11(7): 685-690.
  67. Targovnik H.M. et al. Congenital goitre with hypothyroidism caused by a novel compound heterozygous mutations in the thyroglobulin gene. *Clin Endocr.* 2010. 72(5): 716-718.
  68. Targovnik H.M., Esperante S.A., Rivolta C.M. Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to thyroglobulin mutations. *Mol. Cell. Endocr.* 2010. 322(1-2): 44-55.
  69. Targovnik H.M., Citterio C.E., Rivolta C.M. Iodide handling disorders (NIS, TPO, TG, IYD). *Best Pract. Res.: Clin. Endocr. Metab.* 2017. 31(2): 195-212.
  70. Tovo-Neto A., da Silva Rodrigues M., Habibi H.R., Nóbrega R.H. Thyroid hormone actions on male reproductive system of teleost fish. *Gener. Compar. Endocr.* 2018. 265: 230-236.
  71. Tovo-Neto A., da Silva Rodrigues M., Habibi H.R., Nóbrega R.H. Thyroid hormone actions on male reproductive system of teleost fish. *Gener. Compar. Endocr.* 2018. 265: 230-236.
  72. Tovo-Neto A., da Silva Rodrigues M., Habibi H.R., Nóbrega R.H. Thyroid hormone actions on male reproductive system of teleost fish. *Gener. Compar. Endocr.* 2018. 265: 230-236.
  73. Trimboli P., Aurizio F.D., Tozzoli R., Giovanella L. Measurement of thyroglobulin, calcitonin, and PTH in FNA washout fluids. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2017. 55(7): 914-925.
  74. Tušar L., Usenik A., Turk B., Turk D. Mechanisms applied by protein inhibitors to inhibit cysteine proteases. *Intern. J. Mol. Sci.* 2021. 22(3): 1-32.
  75. Tušar L. et al, Thyroid hormone synthesis continues despite biallelic thyroglobulin mutation with cell death. *JCI*

- Insight*. 2021. 86: 49-54.
76. Van De Graaf S.A.R. et al. A premature stopcodon in thyroglobulin messenger RNA results in familial goiter and moderate hypothyroidism. *J. Clin. Endocr.* 1999. 84(7): 2537-2542.
  77. Waugh T.D. Fluoride exposure induces inhibition of sodium/iodide symporter (NIS) contributing to impaired iodine absorption and iodine deficiency: molecular mechanisms of inhibition and implications for public health. *Envir. Manag. Serv.* 2019. 101(12): 50-66.
  78. Weber J., McInnes J. et al. Interdependence of thyroglobulin processing and thyroid hormone export in the mouse thyroid gland. *Europ. J. Cell Biol.* 2017. 96(5): 440-456.
  79. Wright M.L., Kouba T. Plate Thyroglobulin interactome profiling defines altered proteostasis topology associated with thyroid dyshormonogenesis. *Mol. Cell. Proteom.* 2021. 20: 108.
  80. Xavier A.C., Maciel R.M.B., Vieira J.G.H., Dias-da-Silva M.R., Martins J.R.M. Insights into the posttranslational structural heterogeneity of thyroglobulin and its role in the development, diagnosis, and management of benign and malignant thyroid diseases. *Arch. Endocr. Metab.* 2016. 60(1): 66-75.
  81. Yen T., Lolicato J.M., Thomas-Tran R., Du Bois J., Minor D.L. Structure of the saxiphilin:saxitoxin (STX) complex reveals a convergent molecular recognition strategy for paralytic toxins. *Sci. Adv.* 2019. 5(6): 26-38.
  82. Yu K. Y. The complex of rough elements. *Biol. Rev.* 2016. 11: 22-33.

UDC 636.4.082.265:612.12.128

**Features of molecular structure, functions thyroglobulin and Tg gene expression: a review**

Khreim Wael B.V., Kalinin E.V., Mehrad A.T. Zubkov A.V.

*Peoples Friendship University of Russia (PFUR), Moscow, Russian Federation*

**ABSTRACT.** The aim of the review is to systematize published data on the structure, function of thyroglobulin (Tg), and expression of the Tg gene. The general molecular structure of Tg is conserved in all vertebrates, and the thyroid hormones triiodothyronine and thyroxine are synthesized in the thyroid gland with the participation of Tg. When Tg is delivered from thyrocytes to the lumen of thyroid follicles via the secretory pathway, multiple tyrosine residues can be iodinated to form monoiodotyrosine and/or diiodotyrosine. TSH initiates post-translational changes in TG, which increase its ability to form T3; this process is important in iodine deficiency. Mutations in the Tg gene cause impaired synthesis of thyroid hormones, leading to congenital hypothyroidism. Mild hypothyroidism or euthyroidism with goiter is usually found in the Tg family of mutations. In most cases, in affected individuals, parents are homozygous for inactivation of mutations in the Tg gene. More rarely, complex heterozygous mutations result in loss of function of both alleles. Due to the large size of the molecule, the possibility of obtaining recombinant Tg is currently limited.

*Keywords: thyroglobulin, gene expression, co-regulators of transcription, synthesis of thyroid hormones, gene mutations.*

*Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Productive Animal Biology, 2022, 3: 5-15.*

Поступило в редакцию: 25.08.2022.

Получено после доработки: 13.09.2022.

Сведения об авторах

**Хрейм Уаель Бассам Ваел**, асп.; 8 901 715 40 64; wael.khram@mail.ru

**Калинин Егор Валерьевич**, асп.; 8 916 886 56 59; kalinin.egor@bk.ru

**Мехрад Ахмад Тамим**, асп., ассист. преп.; 8 999 851 92 20; ahmadtam32@gmail.com

**Зубков Александр Владимирович**, к.м.н., доц., зав. лаб.; 8 903 618 02 78; alex\_zubkov@list.ru