

SUR LA DÉSHALOGÉNATION ENZYMATIQUE DES IODOTYROSINES PAR LE CORPS THYROÏDE ET SUR SON RÔLE PHYSIOLOGIQUE

par

JEAN ROCHE, RAYMOND MICHEL,
ODETTE MICHEL ET SERGE LISSITZKY*

Laboratoire de Biochimie générale et Comparée, Collège de France, Paris (France)

I. OBJET DU TRAVAIL

La protéolyse thyroïdienne donne naissance aux mono- et di-iodotyrosine et à la thyroxine^{1,2} à partir de la thyroglobuline, sans libérer préférentiellement la thyroxine à aucun de ses stades. Or, cet acide aminé renferme environ 30 % de l'iode organique total dans le corps thyroïde et de 73 à 93 % de celui-ci dans le plasma sanguin^{3,4}. Aussi l'existence d'un processus physiologique conduisant à une sorte de choix parmi les produits de la protéolyse thyroïdienne a-t-elle été envisagée^{1,2}, sans que l'on ait pu toutefois préciser son mécanisme. Nous avons poursuivi un premier ensemble de recherches pour établir dans quelle mesure celui-ci peut être lié à une désioduration portant sélectivement sur les iodotyrosines et respectant la thyroxine. La formation d'iodures aux dépens des premières en présence de coupes de corps thyroïde une fois établie, nous avons étudié leur réutilisation par ce tissu, espérant mettre ainsi en évidence un aspect nouveau du métabolisme thyroïdien de l'iode.

Aucun travail n'a été, à notre connaissance, entrepris jusqu'ici dans le même but. Il convient néanmoins de résumer les deux groupes d'observations antérieures qui nous ont initialement orienté. La déshalogénation enzymatique de divers dérivés chlorés ou bromés du méthane est opérée par des coupes ou des extraits de foie de Rat⁵; son étude, réalisée dans des conditions techniques satisfaisantes, n'a pas été étendue à des substrats iodés homologues. Par ailleurs, l'ingestion de diiodotyrosine conduit à l'excrétion urinaire d'une faible partie de l'iode de ce corps sous forme d'halogénure⁶, comme tel est également le cas après administration des dérivés halogénés du méthane métabolisés par le foie⁵; aussi l'étude de la désioduration de cet acide aminé par le même organe — et, accessoirement, par d'autres — a-t-elle été abordée par HARTMANN⁷. La répétition sur une assez large échelle du travail auquel elle a donné lieu ne nous a pas permis de retrouver les résultats obtenus dans les conditions expérimentales indiquées par cet auteur, pour lequel des quantités importantes de diiodotyrosine sont deshalogénées au pH optimum 8.0–8.3 par des coupes de foie de divers Mammifères (Chien, Cobaye, Lapin, Rat) ou par des extraits de cet organe, renfermant une désiodase. Il est possible que, comme on le verra plus bas, les résultats de ce travail comportent une autre interprétation pour des raisons d'ordre analytique (voir note p. 162/163).

Nous nous sommes proposés de faire agir des coupes de corps thyroïde immergées dans un liquide isotonique sur des iodotyrosines ou sur de la thyroxine marquées par l'un des isotopes radioactifs de l'iode (¹³¹I), présentes à des concentrations d'ordre physiologique et de suivre la mise en liberté des iodures formés. Des essais de même nature ont,

* Avec la collaboration technique de Mlle RENÉE ZANETTO (C.N.R.S.)

en outre été poursuivis sur d'autres organes. La diiodotyrosine étant déshalogénée en présence du tissu glandulaire, nous avons cherché à étudier le mécanisme de ce processus. Celui-ci peut en effet reposer soit sur l'action d'une desiodase conduisant à la tyrosine par l'intermédiaire du dérivé monoiodé, soit, indirectement, sur celle d'une transaminase donnant naissance à l'acide 3,5-diiodo-4-hydroxyphénylpyruvique, corps qui se desiode spontanément en milieu aqueux⁷. Dans ce dernier cas, la formation de monoiodotyrosine comme produit intermédiaire serait très improbable.

Il convenait de dégager par la suite la signification physiologique de la déshalogénation des iodotyrosines en étudiant les possibilités de réutilisation des halogénures par les coupes de glande au niveau desquelles les acides aminés sont métabolisés. Si les iodures marqués libérés entrent à nouveau dans le cycle de la thyroxinogénèse, on doit trouver des acides aminés radioactifs dans la thyroglobuline de coupes ayant donné naissance aux premiers. La fixation de l'iode sur cette protéine étant en effet un processus indépendant de la protéinogénèse, la présence d'acides aminés marqués ne pourrait pas être due à l'incorporation de ces corps à la molécule de thyroglobuline, mais seulement à leur formation au sein de celle-ci par réaction avec l'iode⁸. Aussi avons-nous extrait l'iodoprotéine de coupes de corps thyroïde ayant au préalable déshalogéné des iodotyrosines radioactives, afin de rechercher si elle renferme ou non des acides aminés marqués.

Par ailleurs le fait qu'une fraction importante de la radioactivité de la thyroxine et de la diiodotyrosine marquées est rapidement retrouvée dans divers organes, en particulier dans le foie et dans l'intestin, après l'administration de ce produit^{9,10,11}, suggère que les acides aminés iodés pourraient être non seulement fixés, mais déshalogénés par ces organes. L'interprétation des résultats obtenus au cours de ces recherches demeure d'ailleurs incertaine, car la radioactivité ainsi localisée serait en partie due à la présence d'iodures dans le cas de l'administration de diiodotyrosine, mais non dans celle de thyroxine¹⁰. Il y avait donc lieu d'étendre à d'autres tissus l'étude que nous nous proposons d'entreprendre sur l'activité désiodante du corps thyroïde.

On décrira successivement: (1) des essais sur la désioduration des iodotyrosines et de la thyroxine par des coupes de corps thyroïde et de divers tissus; (2) la caractérisation des produits marqués de dégradation de la diiodotyrosine radioactive par des coupes de corps thyroïde; (3) la mise en évidence d'acides aminés iodés radioactifs dans la thyroglobuline de celles-ci, témoignant d'une réutilisation de l'iode des acides aminés métabolisés.

II. PARTIE EXPÉRIMENTALE

1. *Matériel d'étude et techniques.* Les mono- et diiodotyrosine marquées ont été préparées par halogénéation directe de la L-tyrosine et séparation chromatographique sur papier¹⁰ et la thyroxine marquée par application de la même technique à l'ioduration de la diiodothyronine. Deux solutions de chacun de ces acides aminés ont été employées: celles de monoiodotyrosine renfermaient respectivement 30 et 110 μg I total par ml (radioactivité: 290,000 et 900,000 impulsions/minute), celles de diiodotyrosine 50 et 70 μg I total (1,200,000 et 700,000 impulsions/minute) et celles de thyroxine 1.0 et 14 μg I total par ml (235,000 et 170,000 impulsions/minute). La thyroglobuline a été préparée par la technique de DERRIEN *et coll.*⁸ et l'identification des acides aminés iodés ou de leurs produits de dégradation réalisée par radiochromatographie⁹. Seul le dosage des iodures a exigé l'élaboration d'une technique particulière que l'on trouvera décrite dans le paragraphe suivant*.

* Le travail d'HARTMANN⁷ résumé plus haut n'a pas été confirmé par le dosage direct des iodures dans des préparations hépatiques additionnées de quantités importantes de diiodotyrosine (15 mg pour 10 g de tissu) et placées dans les conditions indiquées par cet auteur. Il nous paraît probable que l'origine de cette discordance réside dans l'emploi par celui-ci d'une méthode potentiométrique

2. *Action de coupes de corps thyroïdes et d'autres organes sur la monoiodotyrosine, la diiodotyrosine et la thyroxine.* L'action des coupes d'organe sur les acides aminés iodés et la libération des halogénures ont été étudiées sur de très petites quantités de ces acides aminés de manière à demeurer dans des limites physiologiques de concentration en ceux-ci.

1 g d'organe coupé au rasoir en tranches d'épaisseur inférieure à 0.5 mm est placé dans un ballon de 50 ml avec 4 ml de solution de RINGER-KREBS ($\text{pH} = 7.2$ ou 8.0) et 0.2–0.4 ml de solution d'un des trois corps marqués. Un témoin est réalisé en portant 5 minutes au bain-marie bouillant une suspension de coupes d'organe dans le liquide de RINGER-KREBS, à laquelle on ajoute, après refroidissement, la solution du corps marqué. On porte à 38° pendant 6 heures, au bout desquelles la réaction est arrêtée par congélation rapide (neige carbonique). Le dosage des iodures est alors opéré par la technique décrite ci-dessous.

Après décongélation, on introduit dans le ballon des solutions de corps entraîneurs (0.8 ml de solution d'iode de potassium pur à 1% et 0.2 ml de solution renfermant environ $200 \mu\text{g}$ de l'acide aminé étudié). Le tissu est broyé avec un gros agitateur de verre. On défèque avec 1 ml d'acide trichloroacétique à 20 p. 100, on centrifuge après agitation, on lave trois fois le précipité protéique avec 2 ml d'eau distillée et on rassemble les liquides ainsi obtenus. On leur ajoute 1 ml SO_4H_2 2 N, 1 ml de solution saturée de perchlorure de fer et 4 ml de sulfure de carbone pur. On agite pendant 30 minutes (agitation mécanique énergique) et l'on centrifuge. La phase inférieure, constituée par le sulfure de carbone coloré en rose, est siphonnée et filtrée sur papier de manière à éliminer toute trace de phase aqueuse. On prélève 2 ml du filtrat auxquels on ajoute 1.2 ml de thiosulfate de sodium 0.1 N, on agite, on laisse reposer et l'on mesure la radioactivité d'une partie aliquote au compteur Geiger-Müller (compteur cylindrique, type C.E.A.). La radioactivité ainsi déterminée est convertie en I total, connaissant les quantités d'iode présentes et leur radioactivité au début de l'expérience. La validité de cette technique a été contrôlée dans des essais poursuivis sur des solutions pures d'iodures ajoutées à des coupes d'organes. La diiodotyrosine n'est pas déshalogénée dans ces conditions. La précision du dosage est alors de ± 2 à 3 p. 100 dans les conditions réalisées au cours de nos expériences.

Les résultats obtenus ont été rassemblés dans le Tableau I.

Aux concentrations en acides aminés iodés choisies, le corps thyroïde desiode spécifiquement la mono- et la di-iodotyrosine, mais il est sans action sur la thyroxine. Le foie, l'intestin et le rein se comportent de même, avec une intensité beaucoup moindre chez le Mouton, assez voisine chez le Chien; le muscle cardiaque, le poumon et la rate sont à cet égard inefficaces. Dans le cas du foie, il n'a pas été possible de retrouver la déshalogénation de la diiodotyrosine dans les conditions décrites par HARTMANN⁷ (incubation à 37° de 410 g de foie et de 15 mg d'acide aminé pendant 18 heures), tandis qu'elle s'est manifestée très régulièrement sur de petites quantités du même corps marqué. Des extraits de corps thyroïde présentant la même activité que les coupes de cet organe et les propriétés de l'enzyme déshalogénant sont actuellement à l'étude.

3. *Mécanisme de l'action desiodante.* De la diiodotyrosine marquée a été mise en présence de coupes de corps thyroïde et l'on a déterminé par radiochromatographie la nature et le taux des produits iodés prenant naissance au cours de la déshalogénation.

1 g de corps thyroïde de Mouton (coupes de 0.5 mm épaisseur), immergé dans 10 ml de liquide de RINGER-KREBS de $\text{pH} = 7.3$ additionnés de $5 \mu\text{g}$ de diiodotyrosine marquée, est placé pendant 3 heures à 37° . On opère de même avec un essai témoin de composition identique porté à 100° pendant 10 minutes avant l'introduction de l'acide aminé. Après congélation à la neige carbonique et décongélation partielle, le tissu est broyé avec un gros agitateur de verre et abandonné 4 heures à $+4^\circ$. On ajoute $100 \mu\text{g}$ d'iode de sodium, $100 \mu\text{g}$ de monoiodotyrosine et $100 \mu\text{g}$ de diiodotyrosine comme entraîneurs; on amène à $\text{pH} = 1.0$ au moyen d' HCl N et l'on extrait à trois reprises par 20 ml

de dosage des iodures dans des milieux complexes (produit de déprotéinisation de coupes ou d'extraits de foie et de divers organes incubés 18 heures à 37° en présence de toluène). L'autolyse peut en effet libérer des produits susceptibles de donner des combinaisons argentiques dont la formation diminuerait fortement la précision du dosage (titration par une solution M/1000 de NO_3Ag).

Bibliographie p. 169.

TABLEAU I

ACTION DE COUPES DE CORPS THYROÏDE ET DE DIVERS ORGANES SUR LA MONOIODOTYROSINE, LA DIIODOTYROSINE ET LA THYROXINE (6 HEURES À 38°)

Organe et espèce animale d'origine	pH de l'essai	$\mu\text{g I total}$ de l'acide aminé mis en œuvre par g. d'organe (A)	$\mu\text{g I total}$ des iodures après incubation: essai (a)	témoin (b)	p. 100 de désioduration: $\frac{a-b}{A} \times 100$
A. Monoiodotyrosine					
Thyroïde de Mouton	8.0	12.0	4.9	0.2	39.2
Thyroïde de Mouton	7.2	12.0	5.4	0.2	43.3
Thyroïde de Mouton	8.0	12.0	5.7	0.2	45.8
Foie de Chien	8.0	45.0	7.2	0.2	15.6
Rein de Chien	8.0	12.0	2.9	0.1	23.4
Foie de Lapin	8.0	45.0	5.8	0.5	11.8
Coeur de Lapin	8.0	45.0	8.6	0.7	17.5
Poumon de Lapin	8.0	45.0	0.2	0.2	0.0
Poumon de Lapin	8.0	45.0	0.7	0.2	1.1
B. Diiodotyrosine					
Thyroïde de Mouton	8.0	20.0	8.50	0.30	41.0
Thyroïde de Mouton	7.2	20.0	7.30	0.50	34.0
Thyroïde de Mouton	8.0	20.0	8.80	0.35	43.0
Thyroïde de Chien	8.0	28.0	6.25	0.15	21.8
Thyroïde de Chien	8.0	25.0	4.70	0.30	17.5
Foie de Chien	8.0	25.0	3.70	0.45	13.0
Foie de Chien	8.0	28.0	3.70	0.17	12.6
Rein de Chien	8.0	28.0	3.70	0.18	12.5
Coeur de Chien	8.0	28.0	0.32	0.11	0.7
Poumon de Chien	8.0	28.0	0.80	0.56	2.6
Rate de Chien	8.0	28.0	0.80	0.06	2.6
Intestin de Chien	8.0	28.0	6.7	0.25	23.0
Foie de Lapin	8.0	28.0	4.7	0.19	16.1
Foie de Lapin	8.0	28.0	4.7	0.25	15.9
C. Thyroxine					
Thyroïde de Mouton	8.0	6.6	0.2	0.1	0.2
Thyroïde de Mouton	7.2	5.6	0.1	0.1	0
Thyroïde de Mouton	8.0	5.6	0.1	0.1	0
Thyroïde de Mouton	8.0	0.4	0.1	0.1	0
Thyroïde de Mouton	8.0	0.2	0.001	0.001	0
Thyroïde de Chien	8.0	17.5	0.2	0.2	0
Thyroïde de Chien	8.0	0.4	0.02	0.02	0
Foie de Chien	8.0	5.6	0.02	0.02	0
Rein de Chien	8.0	5.6	0.19	0.13	0.1

de butanol saturé d'HCl 0.1 N. Les extraits butanoliques sont rassemblés, concentrés sous vide à une température inférieure à + 40° et leur résidu repris par 0.2 ml de butanol neutre. Une microgoutte (5-10 μl) des solutions obtenues, l'une sur l'essai, l'autre sur le témoin, est soumise à la chromatographie sur papier Whatman No 1 en présence de butanol acétique comme solvant et l'on mesure au compteur de Geiger-Müller la répartition de la radioactivité sur le chromatogramme obtenu. On trouvera dans la Fig. 1 un exemple de nos résultats.

Les radiochromatogrammes obtenus en présence de butanol acétique sur le témoin présentent une tache fortement radioactive dont le R_F est celui de la diiodotyrosine (0.58), une trace d'iodures minéraux y étant à peine perceptible. On trouve sur ceux des

essais réalisés avec l'organe non chauffé trois taches importantes dont les R_F correspondent à la diiodotyrosine (0.58), à la monoiodotyrosine (0.43) et aux iodures minéraux (0.26). La caractérisation de la monoiodotyrosine a été réalisée sur une série de chromatogrammes. Sa présence montre que, pour les raisons indiquées plus haut, la deshalogénéation de la diiodotyrosine doit être attribuée à une désiodase et qu'elle n'est sans doute pas secondaire à l'action de systèmes d'oxydation ou de transamination.

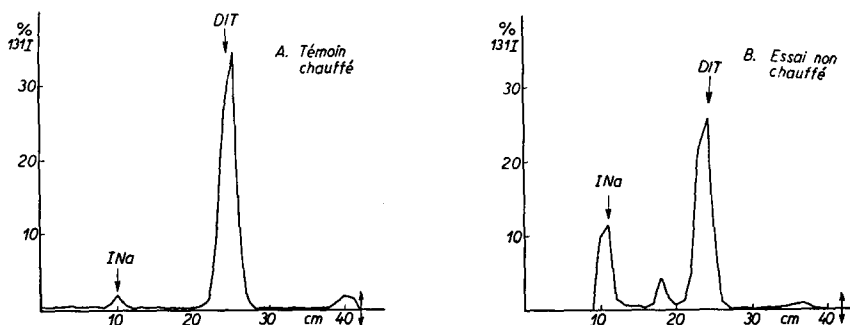


Fig. 1. Radiochromatogramme établi à partir de l'extrait butanolique du liquide de macération de coupes de corps thyroïde dans la solution de RINGER-KREBS additionnée de diiodotyrosine marquée.

A: Témoin chauffé; B: Essai non chauffé (3 h, 37° pH = 7.3)
Abscisses: distance (cm) de l'origine du chromatogramme.
Ordonnées: % I radioactif total.

4. *Réutilisation de l'iode des iodotyrosines par le corps thyroïde.* Les recherches de MORTON ET CHAIKOFF¹⁴ ont précisé les conditions dans lesquelles les coupes de corps thyroïde intègrent les iodures dans le cycle de la thyroxinogénèse. Nous les avons adoptées pour étudier dans quelle mesure la deshalogénéation des iodotyrosines va de pair avec la récupération des iodures qu'elle libère.

15 g de corps thyroïde de Mouton coupés en tranches d'épaisseur inférieure à 0.5 mm et rincés avec une solution de chlorure de sodium à 0.9% ont été immergés dans 150 ml de liquide de RINGER-KREBS bicarbonaté de pH = 7.4 saturés de carbogène ($O_2 = 95\%$, $CO_2 = 5\%$), additionnés de 5 ml de solution de diiodotyrosine marquée (200,000 impulsions/minute/ml, 5 μ g/ml) et placés à 37°. La saturation du milieu en carbogène est répétée toutes les 30 minutes et l'on congèle à la neige carbonique au bout de 4 heures. Après 12 heures de séjour à -1° , on décongèle et les cellules éclatées laissent diffuser la thyroglobuline dans le milieu. On ajoute 3 mg d'iode de sodium, 4 mg de monoiodotyrosine et 3 mg de diiodotyrosine comme entraîneurs, on laisse reposer 12 heures à $+2^\circ$ et l'on centrifuge afin de recueillir l'extrait. La thyroglobuline est ensuite préparée à partir de celui-ci, par la méthode que nous avons décrite avec DERRIEN⁸.

L'extrait tissulaire est additionné de 35 p. 100 en volume d'une solution saturée de sulfate d'ammonium (pH = 6.5). Après centrifugation et élimination du précipité, on amène le liquide surnageant à 50 p. 100 de la saturation en sel. On sépare le précipité par centrifugation après 12 heures de repos à 23°, on le met en suspension dans une solution de sulfate d'ammonium à demi-saturation dont on le sépare ensuite par centrifugation. On le dissout dans la quantité minima d'eau, puis on le dialyse contre de l'eau jusqu'à disparition des ions sulfuriques. La solution obtenue (35 ml) est radioactive (1500 impulsions/ml) et il convenait de préciser si cette propriété est due à la présence d'acides aminés iodés compris dans la thyroglobuline. Nous y sommes parvenus en étudiant les caractères de solubilité de la protéine marquée et la nature de ses constituants radioactifs.

On trouvera dans la figure 2 des courbes traduisant le pourcentage de la protéine dissoute (dosages au spectrophotomètre de Beckmann sur $\lambda = 2750 \text{ \AA}$) et celui de la radioactivité totale qu'elle renferme, en fonction de la concentration en sulfate d'ammonium. La protéine précipite entre 37 et 43 p. 100 de la saturation en celui-ci et le

rapport: I/N ne présente que des variations minimales dans la plus grande partie des fractions successives précipitées au fur et à mesure que la teneur en sel du milieu augmente. Ces données peuvent être interprétées à partir de nos recherches antérieures sur la thyroglobuline marquée^{14*}. La protéine isolée est de la thyroglobuline radioactive souillée d'une petite quantité d'une globuline précipitant à partir d'une teneur en sulfate d'ammonium plus élevée (au delà de 42 p. 100 de la saturation en sel). L'iode provenant de la déshalogénation de l'acide aminé a donc été incorporé à la protéine thyroïdienne. Nous avons cherché à préciser la nature des combinaisons auxquelles il participe en analysant par radiochromatographie les produits de l'hydrolyse protéinique (pancréatique) de celle-ci.

5 ml de la solution protéique radioactive additionnés de 100 μ g d'iodure de sodium, de 100 μ g de monoiodotyrosine et de 100 μ g de diiodotyrosine ont été amenés à pH = 1.0 par HCl N et extraits à trois reprises successives par 10 ml de butanol saturé par HCl 0.1 N. Les extraits butyliques, de radioactivité très faible, sont portés à 35 ml, concentrés sous vide à température inférieure à 40° et repris par 0.2 ml de butanol neutre et soumis à l'analyse radiochromatographique (butanol acétique). Cet essai témoin (temps 0) permet de constater que la préparation est dépourvue d'acides aminés iodés radioactifs libres (Fig. 3). (5 ml de la même solution amenés à pH = 8.5 par addition de NaOH 0.1 N sont soumis pendant 73 heures à 37° à l'action de trypsine Armour brute, mélange de protéinases pancréatiques). Après addition de 100 μ g d'iodure de sodium, de 100 μ g de monoiodotyrosine et de 100 μ g de diiodotyrosine, on amène à pH = 1.0 et l'on procède à la même série d'extractions que sur l'essai témoin, puis à l'analyse chromatographique d'une microgoutte de la solution du résidu sec de celui-ci repris par 0.2 ml de butanol neutre. Le radiochromatogramme obtenu (Fig. 3) présente deux taches radioactives importantes de R_F correspondant respectivement à la monoiodotyrosine (0.44) et à la diiodotyrosine (0.57)**. Il est très voisin de celui provenant d'un hydrolysate pancréatique de thyroglobuline marquée de Chien, de Mouton ou de Rat ayant reçu une injection d'iodures marqués 12 heures avant le prélèvement de l'organe.

Ces observations montrent que des coupes de corps thyroïde déshalogénant la diiodotyrosine utilisent l'iode de cet acide aminé en l'intégrant à nouveau dans le cycle de la thyroxinogénèse.

* Par ailleurs, les limites de solubilité indiquées correspondent à celles d'une préparation de thyroglobuline de Mouton que nous avons obtenue dans les mêmes conditions en mettant des coupes de corps thyroïde de Mouton en présence d'iodures minéraux radioactifs.

** C'est en raison de la brièveté de l'expérience que de la thyroxine ne s'est pas formée en quantité notable à partir de la diiodotyrosine radioactive présente, l'étape terminale de la thyroxinogénèse étant beaucoup plus lente que l'halogénation de la tyrosine.

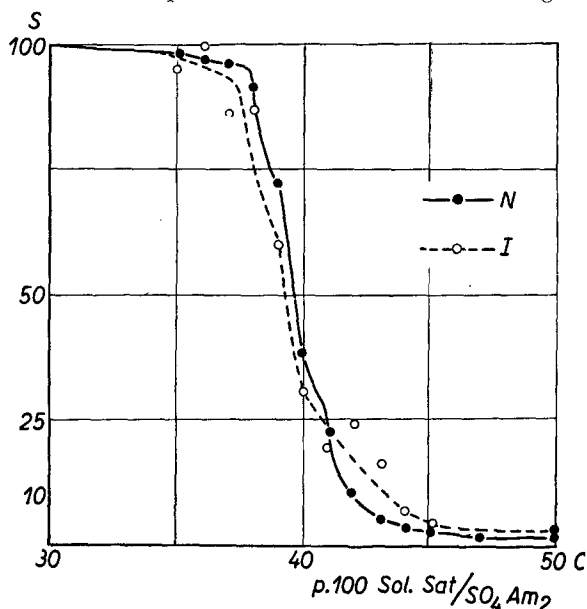


Fig. 2. Solubilité de la thyroglobuline marquée extraite de coupes de corps thyroïde de Mouton ayant métabolisé de la monoiodotyrosine radioactive en fonction de C, concentration en sulfate d'ammonium ($t^\circ = 22^\circ$, pH = 6.5, temps d'équilibre: 18 h).

Courbe en trait continu: S = p. 100 de la radioactivité totale dans la solution, en fonction de C. Courbe en trait discontinu: S = p. 100 de la protéine totale en solution, en fonction de C.

Abscisses = C; Ordonnées = S.

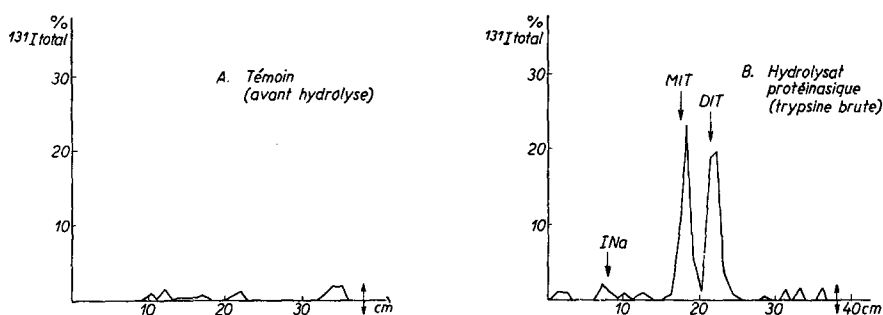


Fig. 3. Radiochromatogramme de l'extrait butanolique à pH = 1.0 de la thyroglobuline de Mouton provenant de coupes du corps thyroïde ayant métabolisé la diiodotyrosine marquée. A: témoin avant hydrolyse; B: après hydrolyse par la trypsine brute (73 heures, 37°, pH = 8.5).

Abscisses: distance (cm) de l'origine du chromatogramme.

Ordonnées: p. 100 de l'iode marqué total de l'échantillon analysé.

III. DISCUSSION DES RÉSULTATS

L'interprétation des faits observés mérite d'être discutée brièvement, afin que leur intérêt et leur signification puissent être dégagés.

La désioduration des dérivés mono- et di-halogéné de la tyrosine par le corps thyroïde, apparaît comme assez étroitement spécifique, puisque la thyroxine ne la subit pas dans les conditions expérimentales adoptées. Ce processus est d'ordre enzymatique; il a lieu dans des extraits acellulaires de glande de Mouton aussi bien qu'au contact de coupes de celle-ci et un chauffage de quelques minutes au bain-marie bouillant l'inactive. Par ailleurs, il comporte la formation de monoiodotyrosine, comme produit intermédiaire, quand il s'exerce sur le dérivé disubstitué. On peut donc admettre qu'il traduit l'activité d'une désiodase, enzyme dont nous poursuivons l'étude.

La désioduration des iodotyrosines n'a pas la même signification physiologique dans le corps thyroïde et dans d'autres organes, tels que le foie, l'intestin, le rein, où elle se manifeste également avec une assez grande intensité. Elle conduit dans ces derniers à la formation d'iodures qui, déversés dans le sang, sont en grande partie éliminés par l'urine et récupérés en faible proportion par le corps thyroïde. Ainsi s'explique que l'administration de diiodotyrosine conduise à une augmentation de l'excrétion urinaire des iodures^{6, 10} beaucoup plus rapide et beaucoup plus forte que l'ingestion de thyroxine, et il en serait probablement de même de celle de monoiodotyrosine. L'évolution de la déshalogénation de ces acides aminés dans le corps thyroïde conduit à des phénomènes plus complexes, étant données l'aptitude de cet organe à concentrer l'iode, d'une part, et sa fonction sécrétoire, d'autre part.

Le fait que les iodotyrosines sont spécifiquement déshalogénées par le corps thyroïde permet d'interpréter des observations dont la coordination demeurerait jusqu'ici difficile. La présence de mono- et de diiodotyrosine et de thyroxine libres dans les extraits de cette glande^{1, 2} est la conséquence de la protéolyse physiologique de la thyroglobuline; celle de la thyroxine seule dans le sang circulant³ peut être expliquée par la destruction *in situ* des deux premières. La sélectivité de la sécrétion thyroïdienne reposerait alors sur la spécificité de la désiodase. Par ailleurs, comme on pouvait le prévoir, nous avons observé que les iodures libérés par celle-ci sont fixés par la glande et entrent à nouveau

dans le cycle de la thyroxinogénèse. Il en découle que la quasi-totalité de l'iode entrant dans le corps thyroïde le quitte à l'état thyroxinien, soit qu'il ait été primitivement incorporé dans une molécule d'hormone, soit qu'il ait dû être récupéré une ou plusieurs fois à partir des iodotyrosines.

Le déterminisme d'une pareille complication apparente est à première vue surprenant. Il est, en fait, facile à saisir à partir de nos connaissances sur l'ioduration des protéines^{16,17}. Une fraction seulement des restes de tyrosine de la thyroglobuline auxquels s'unit l'halogène est susceptible de se condenser pour donner naissance à de la thyroxine, en sorte que le rendement en celle-ci est toujours assez faible (30%) dans les cas les plus favorables. La plus grande partie de l'iode demeure comprise dans des restes de diiodotyrosine au sein de la thyroglobuline; elle serait physiologiquement perdue si le mécanisme de récupération basé sur l'activité de la désiodase n'intervenait pas, pour permettre à la glande de fixer à nouveau l'halogène libéré au niveau même des territoires susceptibles de concentrer et d'oxyder les iodures.

RÉSUMÉ

1. Des coupes de corps thyroïde immergées dans une solution isotonique renfermant de la monoiodyrosine, de la diiodotyrosine ou de la thyroxine marquées par ¹³¹I à très faibles concentrations déshalogènent les deux premiers acides aminés, mais non la thyroxine. Le foie, l'intestin et le rein se comportent de même, en général moins intensément, alors que le muscle cardiaque et la rate sont sans action sur les trois corps étudiés.

2. La deshalogénéation des iodotyrosines est réalisée par une désiodase spécifique. Elle comporte la formation de monoiodyrosine lorsqu'elle a pour substrat le dérivé diodé. L'action de la désiodase n'est pas liée à des structures cellulaires et l'enzyme a pu être extrait du corps thyroïde.

3. Les iodures formés au contact de coupes de glande agissant sur de la diiodotyrosine entrent à nouveau dans le cycle de la thyroxinogénèse et donnent naissance à des acides aminés iodés. Ceux-ci ont été mis en évidence en tant que constituants de la thyroglobuline des coupes de corps thyroïde ayant opéré la réaction de deshalogénéation.

4. La signification physiologique de ces faits est discutée, en ce qui concerne: a. la sécrétion de la thyroxine et l'absence totale ou quasi-totale d'iodotyrosines dans le sang circulant et b. l'éventualité d'une récupération *in situ* des iodures libérés par la deshalogénéation thyroïdienne de ces acides aminés.

SUMMARY

1. Slices of thyroid gland immersed in an isotonic solution of monoiodyrosine, diiodotyrosine, or thyroxine marked with ¹³¹I in very weak concentrations dehalogenize the first two amino acids, but not thyroxine. The liver, intestines and kidney behave in the same way generally less intensely, while cardiac muscle and spleen do not act on the three amino acids.

2. Dehalogenation of the iodotyrosines is realised by a specific deiodase. It carries out the formation of monoiodyrosine when the diiododerivative is the substrate. The action of deiodase is not bound to some cellular structures, and the enzyme has been extracted from the thyroid.

3. The iodides formed in contact with slices of gland acting on diiodotyrosine reenter into the thyroxinogenesis cycle and give birth to some iodoamino acids. These have been observed whilst constituents of thyroglobuline in the slices of thyroid glands operated the dehalogenization.

4. The physiological signification of these facts is discussed, with reference to: a. the secretion of thyroxine and the total or nearly total absence of iodotyrosines in the circulating blood, and b. the eventuality of a recuperation *in situ* of the iodides liberated by thyroid dehalogenization of these amino acids.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Wenn man Schnitte von Schilddrüse in eine isotonische Lösung taucht, welche mit ¹³¹I markiertes Monojodtyrosin, Dijodtyrosin oder Thyroxin in sehr niedrigen Konzentrationen enthält, so werden die zwei erstgenannten Aminosäuren, nicht aber Thyroxin, dehalogeniert. Ebenso, doch

nicht so stark, verhalten sich im allgemeinen Leber, Darm und Niere; der Herzmuskel und die Milz dagegen üben auf die drei untersuchten Verbindungen keine Wirkung aus.

2. Die Dehalogenierung der Jodtyrosine wird durch eine spezifische Desjodase bewirkt. Diese verursacht die Bildung von Monojodtyrosin wenn ihr Substrat das Dijodderivat ist. Die Wirkung der Desjodase ist nicht an die Zellstrukturen gebunden und das Enzym konnte aus der Schilddrüse extrahiert werden.

3. Die Jodide, welche in Gegenwart von auf Dijodtyrosin wirkenden Drüsen Schnitten gebildet werden, treten aufs Neue in den Zyklus der Thyroxinogenese und bewirken die Bildung von jodierten Aminosäuren. Diese wurden als Bestandteile des Thyroglobulins der Schilddrüsenschnitte, welche die Dehalogenierungsreaktion bewirkt hatten, nachgewiesen.

4. Die physiologische Bedeutung dieser Tatsachen wird erörtert in Bezug auf: a. die Thyroxinsekretion und die vollständige oder beinahe vollständige Abwesenheit von Jodtyrosinen im zirkulierenden Blut und b. die Möglichkeit einer Regenerierung der in Freiheit gesetzten Jodide *in situ* durch Dehalogenierung dieser Aminosäuren in der Schilddrüse.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ J. GROSS, C. P. LEBLOND, A. E. FRANKLIN ET J. H. QUASTEL, *Science*, 3 (1950) 605; *Endocrinology*, 48 (1951) 714.
- ² J. ROCHE, G. H. DELTOUR, R. MICHEL ET S. LISSITZKY, *Compt. rend. soc. biol.*, 144 (1950) 1647.
- ³ A. TAUROG ET I. L. CHAIKOFF, *J. biol. Chem.*, 176 (1948) 639.
- ⁴ A. TAUROG, I. L. CHAIKOFF ET W. TONG, *J. Biol. Chem.*, 184 (1950) 99.
- ⁵ L. A. HEPPLE ET V. P. PORTERFIELD, *J. Biol. Chem.*, 176 (1948) 763.
- ⁶ G. L. FOSTER ET A. B. GUTMAN, *J. Biol. Chem.*, 87 (1930) 289.
- ⁷ N. HARTMAN, *Z. physiol. Chem.*, 285 (1950) 1.
- ⁸ Y. DERRIEN, R. MICHEL ET J. ROCHE, *Biochim. Biophys. Acta*, 2 (1948) 454.
- ⁹ C. R. LEBLOND ET J. GROSS, *J. Biol. Chem.*, 171 (1947) 309.
- ¹⁰ H. W. JOHNSON ET A. ALBERT, *Endocrinology*, 48 (1951) 669.
- ¹¹ W. T. SALTER, G. KARANDIKAR, ET P. BLOCK, *Trans. Am. Assoc. Study Goiter*, (1950) 77.
- ¹² J. ROCHE, S. LISSITZKY, O. MICHEL ET R. MICHEL, *Biochim. Biophys. Acta*, 7 (1951) 439.
- ¹³ J. ROCHE, M. JUTISZ, S. LISSITZKY ET R. MICHEL, *Biochim. Biophys. Acta*, 7 (1951) 257.
- ¹⁴ M. E. MORTON ET I. L. CHAIKOFF, *J. Biol. Chem.*, 147 (1943) 1.
- ¹⁵ J. ROCHE, R. MICHEL, O. MICHEL, G. H. DELTOUR ET S. LISSITZKY, *Biochim. Biophys. Acta*, 6 (1951) 572.
- ¹⁶ W. LUDWIG ET P. VON MUTZENBECHER, *Z. physiol. Chem.*, 258 (1939) 195.
- ¹⁷ J. ROCHE, R. MICHEL ET M. LAFON, *Biochim. Biophys. Acta*, 1 (1947) 453.

Reçu le 10 Novembre 1951