
ОБЗОРНЫЕ
И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯТОРНОЙ ФУНКЦИИ
ТРОПОМИОЗИНА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ
НАСЛЕДСТВЕННОЙ МИОПАТИИ

© 2021 г. О. Е. Карпичева*

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

** E-mail: olexiyab@ya.ru*

Поступила в редакцию 19.02.2021 г.

После доработки 23.03.2021 г.

Принята к публикации 04.04.2021 г.

Наследственные миопатии – это группа редких клинически и генетически гетерогенных заболеваний, которые объединены первичным поражением скелетных мышц и характеризуются медленно прогрессирующей мышечной слабостью и гипотонией, а также морфологическими изменениями в мышечной ткани. Спектр вариантов наследственных миопатий довольно широк, а признаки неоднородны, поэтому постановка диагноза часто затруднена. До сих пор не существует эффективной терапии миопатий – применяется лишь симптоматическое лечение, направленное на улучшение метаболизма и микроциркуляции крови в мышцах. Вместе с тем, многие из этих заболеваний существенно снижают качество и продолжительность жизни человека. Накопление знаний, необходимых для ранней и точной диагностики наследственных миопатий и для разработки подходов эффективного лечения заболеваний дисфункции мышечной ткани является одной из актуальных задач биологии и медицины. В самое последнее время появилась серия работ, в которых делается попытка охарактеризовать молекулярные механизмы возникновения и развития ряда миопатий, вызванных генными мутациями мышечных белков тропомиозина, тропонина, небулина, актина и некоторых других. Представляется крайне важным проанализировать опубликованные данные и на основании этого выделить критические изменения структурно-функциональных свойств белков мышечного волокна, которые можно использовать в качестве тестов для дифференциальной диагностики миопатий, и определить молекулярные мишени для терапевтического воздействия. Кроме того, одной из задач обзора является анализ и обобщение литературных и оригинальных, полученных методом поляризационной микрофлуориметрии, данных о молекулярных механизмах регуляции мышечного сокращения мутантными формами тропомиозина, появляющимися в мышечной ткани при нескольких скелетно-мышечных заболеваниях человека.

Ключевые слова: наследственная миопатия, мутации генов тропомиозина, молекулярные механизмы регуляции мышечного сокращения, актин-миозиновое взаимодействие, терапевтические мишени, этиотропное лечение

DOI: 10.31857/S0869813921060054

Известно, что мутации в генах различных мышечных белков инициируют возникновение тяжелых заболеваний скелетно-мышечной ткани человека, характеризующихся мышечной слабостью и гипотонией. Клинические симптомы наследственных миопатий, как правило, проявляются с самого рождения или в раннем

детском возрасте. Осложнения, вызванные дисфункцией скелетных мышц, варьируют от ортопедических деформаций и задержки развития двигательных функций до трудностей в передвижении и дыхательной недостаточности. Для решения респираторных проблем в ряде случаев возникает необходимость в регулярном мониторинге дыхательной недостаточности, назначении неинвазивной и инвазивной вентиляции легких, трахеостомии. Прогрессирование деформаций скелета может вызвать тяжелую сердечную недостаточность. Пациентам со средней и тяжелой формами миопатии может требоваться операция по исправлению сколиоза, а также терапия, направленная на предупреждение сердечной недостаточности. Самыми распространенными причинами смерти пациентов, страдающих наследственными миопатиями, являются сердечно-легочный коллапс, скелетные деформации и злокачественная гипертермия. Отсутствие ранней дифференциальной диагностики миопатий и недостаточность данных о молекулярных механизмах мышечной дисфункции приводят к тому, что эффективной терапии наследственных миопатий пока не существует.

Есть основания полагать, что точная диагностика конкретного патологического варианта наследственной миопатии должна быть основана не только на генетике, гистопатологии и клинических симптомах, но и на информации о молекулярных механизмах нарушения сократительной функции саркомера. Именно наличие такой информации позволит соотнести мутации, возникающие в генах различных мышечных белков, с конкретным вариантом миопатии и выявить единые или, наоборот, отличные друг от друга механизмы мышечной дисфункции. Поскольку мутации в генах различных белков могут приводить к одному клиническому фенотипу, то, по-видимому, существуют определенные молекулярные механизмы для каждого варианта миопатии, вне зависимости от белка, в гене которого произошла мутация. Одной из генетических причин появления мышечной слабости являются мутации в генах *TRPM2* и *TRPM3*, кодирующих скелетный мышечный тропомиозин. На примере мутаций в тропомиозине можно проследить характерные структурно-функциональные особенности белков скелетных мышц при нескольких вариантах скелетно-мышечной патологии, таких как врожденная диспропорция типов мышечных волокон (CFTD), немалиновая миопатия, кэп-миопатия, дистальный артрогрипоз.

В последние годы были опубликованы обзоры, посвященные описанию изменений некоторых структурно-функциональных свойств мутантных форм тропомиозина, связанных с наследственными заболеваниями сердечной и скелетных мышц [1, 2]. Также в литературе представлено несколько обзоров, сфокусированных на обсуждении клинических признаков различных вариантов скелетно-мышечных заболеваний и генетических причин, их вызывающих [3–5]. Целью настоящего обзора является описание последствий мутаций в тропомиозине для функционирования сократительной системы и выявление взаимосвязей между критическими изменениями свойств мутантных тропомиозинов и патологическими процессами, происходящими в мышечном волокне, при нескольких вариантах дисфункции скелетных мышц. Одной из задач обзора является обсуждение молекулярных мишеней для устранения негативных эффектов мутаций, а также описание данных о механизмах действия известных химических соединений, перспективных для коррекции нарушений сократительной функции.

Обзор разделен на 4 основных раздела. Первый раздел посвящен анализу данных литературы о вариантах наследственных заболеваний скелетных мышц и способах их диагностики. Затем рассмотрены результаты исследования влияния ряда мутаций в генах скелетного мышечного тропомиозина на структурно-функцио-

нальные свойства этого регуляторного белка. В третьем разделе приведены обобщенные результаты исследования патогенной роли ряда аминокислотных замен и делеции в тропмиозине, связанных с различными миопатиями, в регуляции актин-миозинового взаимодействия в мышечном волокне, которые были получены с помощью метода поляризационной флуоресцентной микроскопии. В заключительном разделе проведен обзор потенциальных лекарственных препаратов для коррекции сократительной функции при наследственных миопатиях.

1. ВАРИАНТЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ МИОПАТИЙ И ИХ ДИАГНОСТИКА

Наследственные миопатии определяются как клинически и генетически гетерогенные заболевания скелетной мускулатуры, которые обычно проявляются в раннем детском возрасте в виде мышечной слабости и гипотонии, медленно прогрессирующими с течением времени [6]. Как правило, это редкие заболевания (встречаются у одного из 10000–20000 детей [7]), однако в некоторых случаях частота заболевания может достигать 1 : 500 и 1 : 40, как это происходит соответственно в субэтнических группах Амишей с делецией в гене тропонина T1, вызывающей делецию Glu180 [8], и Ашкеназы с делецией экзона 55 в гене небулина [9], приводящих к немалиновой миопатии.

Понятие наследственной миопатии (congenital myopathy) было введено в 1950-е годы для описания группы скелетных мышечных заболеваний, характеризующихся слабостью мышц [10]. Морфологические изменения в мышечных волокнах в виде нерегулярно расположенных нитеобразных фрагментов были впервые обнаружены при описании немалиновой миопатии (“нема” – от греческого слова нить, [11]). Позже выяснилось, что генетической причиной являлась точечная мутация в гене α -актина [12]. В настоящее время известны мутации в 32-х генах, связанные с развитием различных вариантов наследственной миопатии; количество генетических причин стремительно увеличивается (см. обзор [5]). Назрела явная необходимость разработки четких критериев классификации мутаций и диагностики вариантов миопатий.

Согласно современной классификации, выделяют несколько форм наследственной миопатии: немалиновую, центроядерную, CFTD, стержневую и миопатию с накоплением миозина [5]. Де-факто ряд миопатий включает в себя также кэп-миопатию, ядерно-стержневую болезнь, миопатию зебра-тел, болезнь центрального стержня, мультиминистержневую миопатию, миотубулярную миопатию, дистальный артрогрипоз (иногда рассматриваемый именно как миопатия), актиновую миопатию, миопатию внутриядерного стержня, дистальную миопатию, миофибрилярную миопатию и некоторые другие менее известные заболевания, относимые авторами к разным общим патологическим вариантам. Терминология в клинической практике России пока не устоялась, и перевод названий заболеваний с английского языка на русский в разных источниках зачастую является весьма произвольным. Варианты наследственных миопатий (табл. 1) регистрируются в международном реестре больных с мышечными заболеваниями (CMDIR, см. сайт cmdir.org), в котором также можно получить информацию о проходящих клинических исследованиях.

Современные методы диагностики предполагают проведение генетического тестирования сразу после составления истории болезни пациента и первичного диагностического обследования. Знание генетической причины заболевания позволяет в некоторой степени спрогнозировать развитие клинических симптомов, как

Таблица 1. Наследственные заболевания скелетных мышц, зарегистрированные в базе данных Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), и их генетические причины [13]

Вариант наследственной миопатии	Номер MIM	Название гена и белка
Немалиновая миопатия, кэп-миопатия	161800	<i>ACTA1</i> (Актин, α , скелетный мышечный)
	256030	<i>NEB</i> (Небулин)
	605355	<i>TNNT1</i> (Тропонин Т, медленный скелетный мышечный)
	609284	<i>TPM3</i> (Тропомозион-3, γ -цепь)
	609285	<i>TPM2</i> (Тропомозион-2, β -цепь)
	609273	<i>KBVBD13</i> (Белок 13, содержащий Кельч-повтор и ВТВ/POZ-домен)
	610687	<i>CFL2</i> (Кофилин 2, мышечный)
	615348	<i>KLHL40</i> (Кельч-подобный белок 40)
	615731	<i>KLHL41</i> (Кельч-подобный белок 41)
	616165	<i>LMOD3</i> (Лейомодин 3)
617336	<i>MYPN</i> (Миопалладин)	
Врожденная диспропорция типов мышечных волокон (CFTD)	255310	<i>ACTA1</i> (Актин, α , скелетный мышечный) <i>SELENON</i> (Селенопротеин N) <i>TPM3</i> (Тропомозион-3, γ -цепь) <i>RYR1</i> (Рианодиновый рецептор 1) <i>MYH7</i> (Миозин 7, тяжелая цепь, сердечный, медленный скелетный мышечный) <i>MYL2</i> (Миозин, регуляторная легкая цепь 2)
	617760	<i>ZAK</i> (Киназа, содержащая лейциновую застезку и стерильный α -мотив)
Дистальный артрогрипоз	108120	<i>TPM2</i> (Тропомозион-2, β -цепь)
	601680	<i>TNNT2</i> (Тропонин I, быстрый скелетный мышечный)
	108145, 114300	<i>PIEZO2</i> (Компонент 1 механочувствительного ионного канала пьезо-типа)
	618435	<i>TNNT3</i> (Тропонин Т3, быстрый скелетный мышечный)
	618436, 193700	<i>MYH3</i> (Миозин 3, тяжелая цепь, скелетный мышечный, эмбриональный)
	158300	<i>MYPSP1</i> (Миозин-связывающий белок С, медленный скелетный мышечный)
	614335	<i>MYH8</i> (Миозин 8, тяжелая цепь, скелетный мышечный, перинатальный) и др.
Болезнь центрального стержня	117000	<i>RYR1</i> (Рианодиновый рецептор 1)
Миотубулярная миопатия	310400	<i>MTM1</i> (Миотубуларин)
Миофибриллярная миопатия	601419	<i>DES</i> (Десмин)
	608810	<i>CRYAB</i> (γ -В кристаллин)
	182920	<i>MYOT</i> (Миотилин)
	609524	<i>FLNC</i> (Филамин С)
	603689	<i>TTN</i> (Титин)
	617258	<i>PYROXD1</i> (Пиридиннуклеотид-дисульфид оксидоредуктазный домен-содержащий белок 1) и др.

Таблица 1. Окончание

Вариант наследственной миопатии	Номер MIM	Название гена и белка
Центроядерная миопатия	160150	<i>DNM2</i> (Динамин 2)
	255200	<i>BIN1</i> (Мостиковый интегратор 1, амфилизин)
	614807	<i>CCDC78</i> (Кодирующий белок 78, содержащий домен суперспирали)
	615959	<i>SPEG</i> (Белковая киназа, преимущественно экспрессирующаяся в поперечно-полосатых мышцах)
	617760	<i>ZAK</i> (Киназа, содержащая лейциновую застежку и стерильный α -мотив) <i>RYR1</i> (Рианодиновый рецептор 1)
Дистальная миопатия	160500	<i>MYH7</i> (Миозин 7, тяжелая цепь, сердечный, медленный скелетный мышечный)
	614065	<i>FLNC</i> (Филамин С)
	618655	<i>ACTN2</i> (α -Актинин 2)
	600334	<i>TTN</i> (Титин) и др.
Миопатия с накоплением миозина	608358, 255160	<i>MYH7</i> (Миозин 7, тяжелая цепь, сердечный, медленный скелетный мышечный)

это происходит в случае актинопатий, миозинопатий и рианодин-рецептор-связанных миопатий [5]. Однако в основном такой подход оказывается неэффективным, поскольку обнаружено, что генетические причины одного и того же варианта наследственной миопатии неоднородны. Широкий спектр генетических дефектов может являться причиной схожих клинических фенотипов. Например, причиной немалиновой миопатии могут быть мутации в генах скелетного актина, β - и γ -тропомиозинов, тропонина Т, небулина, кофилина-2, и Келч-подобного и ВТВ(POZ)-домен-содержащего белка 13, что предполагает единый патологический механизм нарушения функционирования тонких нитей саркомера. Также одна и та же генетическая мутация может быть связана с несколькими различными заболеваниями скелетных мышц или с неуточненным вариантом миопатии [14–16].

Одним из наиболее информативных способов диагностики является гистологический анализ биоптата мышечной ткани и обнаружение ультраструктурных особенностей. Результаты биопсии скелетных мышц, пораженных при наследственной миопатии, показывают различные гистологические изменения, включая немалиновые тельца, кэп-структуры, различные стержни, волокна с центральными ядрами, гипотрофию волокон с определенным процентом диспропорции, области фокального уменьшения окислительного окрашивания (“cores”), жировую инфльтрацию, и другие аномалии. Внутриклеточные включения отличаются по локализации внутри саркомера и по своему составу. Так, немалиновые тельца представляют собой четкие палочковидные включения в саркоплазме, состоящие из актина, миотилина, небулина, тропомиозина, γ -филамина, кофилина, телетонина и α -актинина [17]. Кэп-структуры – четко очерченные шапочковидные включения непосредственно под сарколеммой мышечного волокна, в состав которых входит актин, миотилин, кластеры небулина и десмина, тропомиозин, тропонин Т и SERCA [18]. В некоторых случаях определение типа внутриклеточных включений в мышечной биопсии вызывает противоречия между авторами [19]. Гистологические критерии пересекаются друг с другом. Признак CFTD – гипотрофия во-

локон 1 типа — часто встречается у пациентов с немалиновой миопатией и кэп-миопатией [17]. Тем не менее, в клинической практике CFTD выделяют в отдельную группу заболеваний. Описаны случаи обнаружения в саркомере как немалиновых телец, так и кэп-структур одновременно [20]. Видимо, по этой причине кэп-миопатию зачастую рассматривают как подтип немалиновой миопатии [3, 5, 17].

Молекулярные механизмы появления аномальных белковых агрегатов в саркомере остаются все еще неизвестными. Есть основания предполагать, что изменения в структуре мышечных волокон вызваны некими компенсаторными процессами в мышечном волокне, которые запускаются вследствие изменения структурных и функциональных свойств мышечных белков. Это предположение подтверждается фактом, что внутриклеточные включения появляются в мышечном волокне после развития других клинических доказательств заболевания. Возможно, мутантные актин-связывающие белки покидают тонкие нити и инициируют образование белковых агрегатов — немалиновых телец, кэп-структур, стержней, а также изменения структуры саркомера. Также высказано предположение, что возникновение немалиновых телец может быть последствием метаболического стресса вследствие истощения запасов АТФ.

Таким образом, границы между различными миопатиями весьма условны, а разработанные критерии недостаточны для точной диагностики варианта миопатии. Классификация мутаций и диагностика варианта миопатии затруднена ввиду неоднородности генетических и клинических критериев заболеваний и перекрывания этих критериев внутри самой группы наследственных миопатий и за ее пределами с нейромышечными заболеваниями, а также противоречивостью гистологического анализа образцов биопсии мышечной ткани пациентов. Вместе с тем, постановка правильного диагноза критически важна для возможности прогнозирования заболевания и для принятия решения о стратегии лечения. По-видимому, идеальная система диагностики должна быть основана не только на генетических, гистопатологических и клинических признаках, но и на информации о первичных нарушениях сократительной функции саркомера вследствие мутаций на молекулярном уровне.

Следует отметить, что до сих пор не выявлены те характерные особенности, которые лежат в основе патогенеза различных вариантов наследственной миопатии. Согласно современным представлениям, сократительная функция скелетных мышц при наследственных миопатиях может нарушаться в результате дисфункции белков саркомера, таких как актин, тропомиозин, небулин, тропонин Т, тропонин И, миозин (тяжелые и легкие цепи), кофилин, миопалладин, лейомодин, динамин и некоторых других, и последующих компенсаторных процессов в мышцах. Действительно, ряд мутантных мышечных белков принимает непосредственное участие в поддержании структуры саркомера и мышечном сокращении. Вследствие мутаций в генах этих белков либо происходит неправильная сборка актиновой нити, либо расстраивается динамическое взаимодействие миозиновых и актиновых нитей друг с другом. Функция других же мутантных белков связана с регуляцией уровня Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме и клеточным ответом на окислительный стресс.

При изучении молекулярных механизмов мышечной дисфункции было обнаружено, что мутации в тропомиозине, тропонине и других компонентах саркомера могут приводить к изменению чувствительности сократительной системы к концентрации ионов Ca^{2+} и развитию первичной миопатии. Некоторые из известных миопатий на ранних стадиях развития демонстрируют ослабление сократительной

способности и уменьшение чувствительности мышечных волокон к ионам Ca^{2+} (гипосократительный фенотип) [21]. Другие миопатии сопровождаются усилением сократимости мышечной ткани и повышением ее чувствительности к ионам Ca^{2+} (гиперсократительный фенотип). Таким образом, одним из критериев классификации мутаций на молекулярном уровне может являться изменение Ca^{2+} -чувствительности тонких нитей саркомера. Причиной увеличения Ca^{2+} -чувствительности тонкой нити может являться либо изменение взаимодействия между миозином и актином, либо нарушение передачи Ca^{2+} -сигнала с тропонин-тропомиозинового комплекса на актин. В обоих случаях миозиновые головки в некоторой степени теряют способность “выключать” актиновые мономеры в условиях деактивации (т.е. переводить мономеры в конформационное состояние, при котором они больше не активируют АТФазу миозина). Очевидно, что нельзя рассматривать изменение Ca^{2+} -чувствительности в качестве единственного критерия для классификации мутаций.

Другими словами, необходимо описать весь патологический механизм действия мутации, что позволит не только классифицировать мутации, но и определить мишени для терапевтического воздействия. В случае, если при изменении Ca^{2+} -чувствительности нарушена функция тропонина, мишенью для восстановления сократимости может служить именно механизм активации тропонина. Так, например, эффективность использования активатора тропонина СК-2066260 в скелетных мышцах была успешно показана в мышечных волокнах модельных мышей с немалиновой миопатией, связанной с мутациями гена небулина [22]. Нецелесообразно будет использовать активатор тропонина, если поломка не затрагивает функцию тропонина активировать актиновые нити, как это происходит при некоторых мутациях гена тропомиозина.

2. МУТАЦИИ В ГЕНАХ ТРОПОМИОЗИНА ПРИ МИОПАТИЯХ

Тропомиозин в комплексе с тропонином играет ключевую роль в регуляции сокращения поперечнополосатых мышц, связанной с тонкими нитями, запуская генерацию силы и, что не менее важно, обеспечивая расслабление мышцы [23]. В основе этой регуляции лежит как стерическое закрытие и открытие сайтов связывания миозина на актине Ca^{2+} -зависимым образом [24], так и аллостерические механизмы – конформационные перестройки актина, тропомиозина и тропонина [25]. Тропонин служит сенсором концентрации Ca^{2+} в саркоплазме, тогда как передачу Ca^{2+} -активирующего сигнала на актиновые нити обеспечивают димеры тропомиозина, которые связываются друг с другом по принципу “голова к хвосту” и обвиваются вокруг Ф-актина с двух сторон в виде длинных тяжей. Динамическое смещение тропомиозина относительно сайтов связывания миозина на актине от внешних к внутренним доменам актиновых мономеров в тонкой нити возможно благодаря электростатической природе взаимодействия и гибкости актина и тропомиозина. Гибкость и персистентная длина актина и тропомиозина изменяются во время генерации силы, вызывая азимутальный сдвиг тяжей тропомиозина [26, 27]. Считается, что тропомиозин может занимать три равновесных позиции на актине – блокирующую, закрытую и открытую [28]. При низких концентрациях Ca^{2+} мономеры актина переходят в выключенное состояние, в котором они не способны активировать АТФазу миозина. Тропомиозин находится у внешних доменов актина в позиции, блокирующей связывание миозина. Блокирующая позиция тропомиози-

на считается энергетически наиболее выгодной, поскольку обусловлена минимальным значением энергии электростатического взаимодействия, что позволяет установлению между тропомиозином и актином наибольшего количества электростатических взаимодействий (около 30, [29]). Повышение концентрации Ca^{2+} в саркоплазме вызывает изменение конформации тропонина и запускает каскад конформационных перестроек, приводящих к уменьшению персистентной длины актина и увеличению персистентной длины тропомиозина, изменению пространственного расположения тропомиозина, “включению” актиновых мономеров (переходу в состояние, при котором актин активирует гидролиз АТФ в миозине) и взаимодействию миозина с актином, сначала слабому, а затем сильному, стереоспецифическому. Тропомиозин смещается при активации нити от внешних доменов актина к внутренним. Включенные мономеры актина стимулируют высвобождение АДФ и неорганического фосфата из активного центра миозина, значительные конформационные перестройки в миозине и генерацию силы. Связывание АТФ с миозином ослабляет взаимодействие миозина с актином, обеспечивая расслабление. Тропомиозин возвращается в блокирующую позицию, ингибирует связывание миозина с актином, и цикл возобновляется.

В разных типах мышц тропомиозин представлен несколькими изоформами. В геноме человека 4 различных гена *TPM1*, *TPM2*, *TPM3* и *TPM4* отвечают за экспрессию тропомиозинов α , β , γ и δ соответственно. Очевидно, что в сердечной мышце доминирует α -изоформа тропомиозина. В медленных скелетных мышцах (типа 1) тропомиозин присутствует в виде $\gamma\beta$ -гетеродимеров и $\gamma\gamma$ -гомодимеров. В быстрых скелетных мышцах (типа 2) экспрессируются α - и β -изоформы, формирующие $\alpha\beta$ -гетеродимеры и $\alpha\alpha$ -гомодимеры. Более высокий уровень экспрессии β -изоформы обнаружен в мышечных волокнах, обладающих высокой окислительной способностью (типа 1 и 2A), по сравнению с гликолитическими мышечными волокнами (типа 2B). Изоформа δ -тропомиозина в мышечной ткани экспрессируется слабо, и, вероятно, не входит в состав тонких нитей саркомера [30].

Структура тропомиозина хорошо изучена. Практически на всем своем протяжении каждая из субъединиц димера этого белка имеет α -спиральную структуру. Две субъединицы тропомиозина закручены в суперспираль благодаря повторяющейся последовательности аминокислотных остатков с неполярными (гидрофобными) и сильно заряженными остатками [31]. Гидрофобные аминокислотные остатки упакованы в гидрофобное ядро. Сильно заряженные поверхностные остатки участвуют в образовании солевых мостиков между двумя субъединицами димера, которые стабилизируют молекулу, а также взаимодействуют с белками-партнерами. Тропомиозин условно разделен на 7 областей псевдо-повторов, которые в свою очередь разделены на α - и β -области [32]. Считается, что 7 α -областей тропомиозина связываются с 7 мономерами актина. Структура тропомиозина, его гибкость и поверхностный заряд могут изменяться при аминокислотных заменах, делециях, дупликациях, обнаруженных при нескольких вариантах миопатии.

Идентифицировано несколько десятков мутаций в генах *TPM2* и *TPM3*, кодирующих скелетный мышечный тропомиозин (табл. 2). Большинство мутаций, обнаруженных при миопатиях, приводит к заменам аминокислотных остатков в α -областях первых пяти псевдо-повторов тропомиозина. Известен целый ряд мутаций в тропомиозине, относимых сразу к нескольким различным мышечным заболеваниям или к не определенному варианту миопатии. Подавляющая часть мутаций тропомиозина все еще недостаточно охарактеризована.

Таблица 2. Разнообразие точечных аминокислотных замен и некоторых других структурных дефектов β- и γ-тропомозинов, связанных с различными вариантами наследственной миопатии

Обозначение псевдоповтора и номера остатка Trp	1α 1–27	1β 28–46	2α 47–66	2β 67–86	3α 87–105	3β 106–125	4α 126–145	4β 146–164	5α 165–184	5β 185–204	6α 205–223	6β 224–243	7α 244–263	7β 264–284
Немалиновая миопатия	β	D2V A3G K7X D14V	E41K	K49X G52dup		E117K	R133W E139X L143P		E181K		Q210Stop			
		γ	M8R	Q31X	S87F			A155T	R167H R167C		N202K			X285S X285N
Кэлл-миопатия	β		E41K	K49X G52dup		S87F			R167H R167C					
		γ						L149I E150A A155V						
CFTD	β			S61P		R90P	K128E R133W R133P E139X L143P	L148P E150G						
		γ	A3V D20H			L99M L99V	E117K		A155V			E240K	R244G R244I	X285S
Дистальный арт-рогрипоз	β	K7X				R91G E97K D100G Q103R R105P	R133W E145K		E181K				Y261C	
		γ												
Неуточненный диатноз	β					Q93H Q93R								
		γ				R90C					E218del	E224del	T252K	

Жирным шрифтом выделены мутации, идентифицированные при двух и более заболеваниях скелетных мышц.

2.1. Влияние мутаций в тропомиозине на белок-белковые взаимодействия

Тропомиозин относится к группе актин-связывающих белков, и основной белок-партнер тропомиозина — актин. Считается, что структура актиновой нити и тяжелой тропомиозина комплементарны [29]. Тропомиозин связывается с актином, а также с тропонином и миозином за счет электростатических взаимодействий. Активирующий Ca^{2+} -сигнал вызывает конформационные перестройки белков саркомера и значительные изменения в электростатических взаимодействиях внутри комплекса актин—тропомиозин—тропонин—миозин [33].

Локальные и глобальные изменения структуры или конформации тропомиозина и его поверхностного заряда вследствие мутаций в той или иной степени могут отразиться на связывании тропомиозина с актином. Замещение гидрофобного остатка (например, Ala155Thr) может повредить гидрофобное ядро, изменить изгиб цепей тропомиозина [34] и его позицию на актине и вызвать нарушение механизмов регуляции тропомиозином актин-миозинового взаимодействия [35]. Мутации, приводящие к замене заряженных аминокислотных остатков на нейтральный или противоположно заряженный остаток (например, Glu41Lys, Arg91Gly, Glu117Lys), могут изменить энергетический ландшафт тропомиозина [33]. При этом может ослабевать или усиливаться электростатическое взаимодействие тропомиозина с актином или тропонином [36] и, возможно, также с миозином. Даже локальные изменения в структуре тропомиозина способны изменить характер белок-белкового взаимодействия в комплексе актин—тропомиозин—тропонин—миозин и нарушить согласованные механизмы функционирования актин-миозинового мотора [37–39]. Помимо нарушения взаимодействия основных сократительных белков, могут происходить нарушения в работе некоторых других белков, которые взаимодействуют с тропомиозином и актином, в частности, тропомодулина, небулина, лейомодина, кофилина [40–43].

Среди мутаций в тропомиозине можно выделить целый ряд мутаций, которые снижают сродство тропомиозина к актину (Lys7del, Met8Arg, Arg90Pro, Arg91Pro, Glu139del, Gln147Pro, Ala155Thr). Поскольку в состав немалиновых телец и кэп-структур входит тропомиозин, то можно предполагать, что именно мутантные белки со сниженным сродством к актину покидают тонкие нити и дают начало образованию аномальных белковых агрегатов. Несомненно, механизмы образования аномальных структур при миопатиях намного более сложные, поскольку состав этих структур не ограничивается мутантным тропомиозином. Несмотря на снижение сродства, показанного при высокоскоростном со-осаждении тропомиозина и актина, вполне вероятно, что мутантные тропомиозины встраиваются в компартмент тонких нитей в мышечных волокнах и могут функционировать там как токсичные белки, приводя к нарушению работы мышц. Полимеризация тропомиозина на актине — процесс высоко кооперативный [44, 45]. На ранних стадиях сборки тонких нитей происходит связывание отдельных молекул тропомиозина с актином, и такая связь достаточно слабая. При созревании нитей и образовании непрерывных тяжей тропомиозина промежутки устраняются, и тропомиозин связывается с актином гораздо сильнее. Показано, что даже несмотря на то, что сродство некоторых мутантных форм тропомиозина к актину резко снижается в растворе, как это происходит в присутствии замены Gln147Pro (в 6–7 раз) и делеции Glu139 (в 5 раз) [37], содержание мутантного тропомиозина, связанного с актином в структурированной системе мышечных волокон отличается от контроля не так существенно — в 1.7 раз для Gln147Pro и только в 1.2 раз для Glu139del-мутантного тропомиозина [46, 47]. По-видимому, во время сборки тонких нитей в мышечном волокне, в от-

личие от раствора белков, мутантный тропомиозин остается связанным с тонкими нитями вследствие многократного оборота непрерывных тяжей вокруг Ф-актина. В случае гетеродимера тропомиозина вторая, неповрежденная субъединица тропомиозина способна компенсировать слабое связывание мутантной формы с актином [48, 49]. Кроме того, миозин и тропонин значительно усиливают сродство тропомиозина к актину.

Ослабление связывания некоторых мутантных тропомиозинов с актином может вызывать изменение позиционирования тропомиозиновых тяжей на актине. Обнаружено, что такие мутантные формы тропомиозина располагаются ближе к внутренним доменам актина (в так называемой открытой позиции), что приводит к преждевременной активации актина и увеличению популяции миозиновых головок в сильной форме связывания с актином [46, 47, 50]. В открытой позиции тропомиозина количество электростатических контактов с актином значительно меньше [29], что создает благоприятные условия для диссоциации от актина молекул тропомиозина с поврежденной структурой, и, следовательно, делает более вероятным образование белковых агрегатов в мышечных волокнах.

Изменения в последовательности тропомиозина могут отражаться на его связывании с тропонином и тем самым ингибировать Ca^{2+} -активацию тонких нитей. Мутации в тропомиозине могут как ингибировать напрямую связывание тропонина с тропомиозином и актином, так и нарушать конформацию областей тропомиозина, примыкающих к тропонин-связывающим сайтам 1 и 2 [51]. Чем ближе расположена мутация в тропомиозине к месту связывания с центральным доменом тропонина, тем существеннее может страдать активация тонких нитей [52].

Следующим важным партнером тропомиозина является тропомодулин — белок, регулирующий длину Ф-актина путем ингибирования удлинения тонких нитей. Мутации в тропомиозине могут влиять на взаимодействие тропомиозина с тропомодулином (например, мутация Arg90Cys, [40]), вызывая изменения в структуре и стабильности актиновых нитей. Известно, что актин входит в состав немалиновых телец и кэп-структур. Нарушение функции тропомодулина, высвобождение мономеров актина и их агрегация могут лежать в основе появления аномальных гистологических включений, обнаруживаемых при миопатиях.

Мутации в тропомиозине способны вызывать нарушение во взаимодействии с гигантским мышечным белком небулином (например, замена Glu41Lys в β -тропомиозине). Небулин играет важную структурную роль, определяя длину тонких нитей, оптимизирует глубину перекрывания тонких и толстых нитей друг относительно друга и модулирует генерацию силы саркомера. Стоит отметить, что генетические дефекты небулина являются частой причиной типичной формы немалиновой миопатии [53]. Нарушение взаимодействия между небулином и мутантным тропомиозином можно также рассматривать как одну из причин возникновения мышечной слабости при наследственных миопатиях. Данных о влиянии мутаций на связывание тропомиозина с лейомодином, кофилином и другими белками в литературе до сих пор не представлено.

2.2. Изменение Ca^{2+} -чувствительности тонких нитей в присутствии мутаций в тропомиозине

Известно, что мутации в тропомиозине, тропонине и других белках саркомера могут приводить к изменению чувствительности сократительной системы к концентрации Ca^{2+} [40]. Большинство известных миопатий на ранних стадиях своего

развития демонстрируют ослабление сократительной способности и уменьшение чувствительности мышечных волокон к Ca^{2+} (гипсосократительный фенотип). Такой фенотип может быть вызван более чем 50-ю мутациями в разных изоформах тропомиозина. Часть мутаций приводит к усилению сократимости мышечной ткани и повышению ее чувствительности к Ca^{2+} (гиперсократительный фенотип). Молекулярные механизмы, лежащие в основе появления гипо- и гиперсократимости мышечной ткани в процессе развития наследственных миопатий практически неизвестны. Была предпринята попытка обобщить результаты изучения влияния разных мутаций в тропомиозине и других белках на чувствительность тропонин-тропомиозинового комплекса к Ca^{2+} [54] и выявить закономерности развития сократительной дисфункции [21]. На основании известных данных предложено рассматривать изменение Ca^{2+} -чувствительности миофиламента как критерий классификации и даже диагностики мутаций. Кроме того, определено максимальное отклонение Ca^{2+} -чувствительности миофиламента в присутствии мутаций в тропомиозине, актине, тропонине, миозине, миозин-связывающем белке С от нормальной величины в пределах $1.5-3.0 \times \text{EC}_{50}$ (где EC_{50} – концентрация Ca^{2+} , обеспечивающая 50% от максимальной активации актином АТФазы миозина). Определенный лимит изменений, вероятно, зависит от возможностей сократительной системы к активации – при выходе за пределы лимита поперечнополосатые мышцы попросту не смогут функционировать [54]. При выявлении значительного влияния мутаций в тропомиозине на Ca^{2+} -чувствительность тропонин-тропомиозиновой системы можно рассматривать возможность использования активаторов или ингибиторов тропонина для восстановления сократительной функции.

Можно выделить и те мутации в тропомиозине, которые незначительно влияют на Ca^{2+} -чувствительность миофиламента и на функцию тропонина (например, мутации Ala155Thr [35, 55], Arg90Pro [56]). Механизм действия таких мутаций, по-видимому, заключается в прямом изменении равновесного состояния сократительной системы в сторону активированного или деактивированного состояния. Мутантный тропомиозин может терять способность активировать (например, замены остатков тропомиозина Arg167 и Lys168 [38]) или ингибировать (замена Arg168Cys) АТФазную активность миозина. В случае появления таких мутантных белков в саркомере с целью реабилитации дисфункции мышцы будет целесообразно применять не эффекторы тропонина, а активаторы или ингибиторы миозина.

3. КОНФОРМАЦИОННЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ БЕЛКОВ МЫШЕЧНОГО ВОЛОКНА, СОДЕРЖАЩИЕ МУТАНТНЫЕ ФОРМЫ ТРОПОМИОЗИНА

Известно, что конформационные перестройки актин-миозинового комплекса играют ключевую роль в мышечном сокращении. С помощью метода поляризационной микрофлуориметрии в мышечном волокне показано, что в цикле гидролиза АТФ прослеживается типичная и повторяющаяся картина конформационных перестроек актина и миозина и изменения локализации тропомиозина. При сильном связывании миозина с актином в молекуле актина происходят характерные изменения конформации, сопровождаемые изменением расположения субдомена I актина и наклоном моторного домена миозина или по крайней мере SH1-спирали. При высокой концентрации Ca^{2+} тропонин-тропомиозиновый комплекс увеличивает количество включенных мономеров актина, таким образом активируя образование сильного связывания головок миозина с актином. В противоположность

этому, при низкой концентрации Ca^{2+} тропонин и тропомиозин ингибируют сильное связывание миозина с актином, выключая мономеры актина. При моделировании ряда последовательных стадий АТФазного цикла оказалось, что изменения в ориентации и подвижности субдомена 1 актина и SH1-спирали миозина коррелируют между собой по характеру и степени выраженности. Согласованность этих изменений, очевидно, определяет эффективность работы актомиозинового мотора. Персистентная длина актина и тропомиозина изменяется во время генерации силы, как правило, противоположным образом [27, 47], что, вероятно, является одной из причин азимутального сдвига тяжей тропомиозина, который происходит при изменении концентрации Ca^{2+} и генерации силы поперечными миозиновыми мостиками. Охарактеризованные конформационные перестройки актина, миозина и тропомиозина в АТФазном цикле свидетельствуют об аллостерической природе регуляторного процесса мышечного сокращения и могут быть использованы в качестве контрольных изменений для выяснения механизмов мышечной дисфункции в присутствии в мышечном волокне тропомиозина с дефектами, обнаруженными при наследственных миопатиях.

Мутантные формы β - и γ -тропомиозина, появляющиеся в мышцах при наследственной миопатии, способны изменять характер актин-миозинового взаимодействия в АТФазном цикле и локализацию тропомиозина на актине и вызывать первичные нарушения сократительной функции. Показано, что мутантные тропомиозины в той или иной мере сохраняют способность встраиваться в мышечное волокно (несмотря на сниженное сродство некоторых тропомиозинов к актину в растворе), ингибировать и активировать АТФазную активность актомиозина и передавать Ca^{2+} -сигнал с комплекса тропонина на актиновые нити. Оказалось, что мутантные формы тропомиозина, вызывающие повышение Ca^{2+} -чувствительности (Arg90Pro, Glu139del, Gln147Pro, Glu150Ala, Glu173Ala, Glu240Lys и Arg244Gly), обладают высокой гибкостью тропомиозинового тяжа. Высокая гибкость, по-видимому, затрудняет блокирование тропомиозином сайтов связывания миозина на актине, поскольку в таких случаях наблюдается “замораживание” тропомиозина ближе к открытой позиции (благоприятной для образования сильного связывания между актином и миозином). Действительно, в присутствии перечисленных замен количество головок миозина, сильно связанных с актином (поперечных миозиновых мостиков в конформациях, соответствующих стадиям АМ и АМ · АDР), существенно увеличивается при моделировании практически всех стадий АТФазного цикла. В присутствии мутантных форм тропомиозина Arg90Pro, Glu139del, Gln147Pro, Glu150Ala и Glu173Ala относительное количество включенных мономеров актина уменьшается при низких концентрациях Ca^{2+} так же, как и для контрольного тропомиозина, т.е. мономеры актина выключаются тропонин-тропомиозиновым комплексом.

Некоторые мутации, которые повышают Ca^{2+} -чувствительность, при высоких концентрациях Ca^{2+} снижают или не изменяют количество головок миозина в сильной форме связывания с актином, а при низких концентрациях Ca^{2+} повышают количество таких головок (Glu139del, Gln147Pro, Ala155Thr, Lys168Glu). Кроме того, в присутствии замен Gln147Pro и Ala155Thr в тропомиозине происходит ингибирование способности тропонина выключать мономеры актина при низких концентрациях Ca^{2+} [35, 50], что также может быть причиной появления высокой Ca^{2+} -чувствительности тонких нитей.

Реже мутантные формы тропомиозина уменьшают Ca^{2+} -чувствительность тонких нитей (замены Glu41Lys, Glu117Lys), или незначительно влияют на нее (замены Arg167His, Arg91Gly). Оказалось, что в присутствии Glu41Lys-мутантной формы β -тропомиозина, ассоциированной с немалиновой миопатией, типичным является увеличение количества сильно связанных с актином головок миозина при низких концентрациях Ca^{2+} без заметного изменения количества таких головок при высоких концентрациях. Мутантный тропомиозин занимает позицию ближе к блокирующей, что приводит к ингибированию включения мономеров актина и образования сильной формы связывания между актином и миозином при высоких концентрациях Ca^{2+} [57]. Замены Glu117Lys в β -тропомиозине и Arg167His в α - и γ -тропомиозинах вызывают похожий эффект [58, 59]. Интересно отметить, что в присутствии замены в соседнем аминокислотном остатке Lys168Glu появляется аномальное количество сильно связанных с актином головок миозина в цикле гидролиза АТФ [60]. Похожие патологические механизмы лежат в основе нарушения сократительной функции в присутствии замены Arg133Trp. Обнаружено, что при высоких концентрациях Ca^{2+} замена Arg133Trp в β -субъединице $\alpha\beta$ -гетеродимера и $\beta\beta$ -гомодимера тропомиозина, идентифицированная при различных вариантах наследственной миопатии – CFTD, немалиновой миопатии и дистальном артрогрипозе – уменьшает относительное количество головок миозина, сильно связанных с Ф-актином, и деактивирует мономеры актина. Эта мутация также препятствует смещению тяжей тропомиозина в открытую позицию в тонких нитях и уменьшает эффективность работы миозиновых поперечных мостиков. При низких концентрациях Ca^{2+} количество головок миозина в сильно связанной с актином конформации также уменьшается по сравнению с контрольным тропомиозином, что может приводить к понижению чувствительности миофиламентов к Ca^{2+} в присутствии замены Arg133Trp.

Учитывая вышеизложенные данные о критических изменениях в структурных перестройках актина, миозина и тропомиозина, можно заключить, что в основе ослабления сократительной способности мышечной ткани, обнаруженной в мышечных волокнах, содержащих мутантные формы тропомиозина, могут лежать различные патологические механизмы. Данные, полученные методом поляризационной микрофлуориметрии, позволяют предположить, что критическое значение для определения характера развития дисфункции мышечной ткани имеет аномальное поведение тропомиозина в цикле гидролиза АТФ: “замораживание” мутантного тропомиозина недалеко от открытой позиции вызывает появление высокой Ca^{2+} -чувствительности тонких нитей, и наоборот, “фиксация” тропомиозина недалеко от выключенной позиции инициирует понижение Ca^{2+} -чувствительности нити. Дальнейший характер развития дисфункции мышечной ткани может зависеть от поведения поперечных миозиновых мостиков в цикле гидролиза АТФ. Например, появление аномально высокого количества поперечных миозиновых мостиков, находящихся в сильной форме связывания с актином, а также появление ригорных мостиков при моделировании расслабленного состояния мышечной ткани, может привести не только к падению сократительной способности мышечной ткани, но и к появлению разрывов миофибрилл и морфологических изменений мышечной ткани. Наоборот, уменьшение количества поперечных миозиновых мостиков будет вызывать ослабление сократительной функции без появления существенных нарушений морфологической картины в мышечной ткани.

Выявленные типичные изменения конформации белков, инициированные точечными мутациями тропомиозина, позволили разделить все исследованные мутации на группы, условно отнесенные к CFTD, немалиновой миопатии, кэп-миопатии и дистальному артрогрипозу [61]. Для CFTD (замены Arg90Pro и Glu173Ala в γ -тропомиозине) и дистального артрогрипоза (замена Arg91Gly в β -тропомиозине) было типичным “замораживание” тропомиозина в открытой позиции и резкое увеличение количества поперечных миозиновых мостиков, сильно связанных с актином и включенных мономеров актина. Немалиновая миопатия (замены Glu41Lys, Glu117Lys, Arg133Trp в β -тропомиозине и Arg167His в γ -тропомиозине) характеризовалась, наоборот, смещением тропомиозина и/или “замораживанием” тропомиозина в блокирующей позиции и резким уменьшением количества включенных мономеров актина и поперечных миозиновых мостиков в сильно-связанной конформации. При этом мутантные формы тропомиозина, ассоциированные с кэп-миопатией (делеция Glu139 и замена Gln147Pro в β -тропомиозине), не вызывали значительного ингибирования образования сильной формы связывания миозина с актином при высоких концентрациях Ca^{2+} . Здесь стоит отметить, что некоторые исследователи считают кэп-миопатию разновидностью немалиновой миопатии (см. обзор [5]) несмотря на то, что кэп-структуры и немалиновые тельца значительно отличаются по составу и локализации в саркомере. Результаты проведенной нами работы указывают на различия в механизмах проявления последствий этих мутаций в мышечной ткани. Действительно, механизмы развития немалиновой и кэп-миопатий близки друг к другу, и, по-видимому, только на молекулярном уровне можно объяснить тонкие различия в этих механизмах. Неудивительно, что в литературе периодически публикуются данные о спорных диагнозах, согласно которым авторы соотносят одну и ту же мутацию с различными вариантами миопатии [19, 62].

Таким образом, относительное количество головок миозина, способных образовывать с актином сильную, существенную для генерации усилия форму связывания можно использовать в качестве одного из важнейших диагностических критериев миопатии на молекулярном уровне. Согласно предложенному нами критерию, замену Glu150Ala в γ -тропомиозине (диагностирована при кэп-миопатии) следует отнести к мутациям, обнаруженным при CFTD, а замену Ala155Thr (диагностирована при немалиновой миопатии) и Lys168Glu (ассоциирована с CFTD) в γ -тропомиозине — к мутациям, обнаруженным при кэп-миопатии [35, 55, 61].

На основании полученных данных можно предложить возможные пути для реабилитации сократительной способности мышечной ткани для некоторых миопатий. Например, если замена Glu41Lys в β -тропомиозине вызывает уменьшение Ca^{2+} -чувствительности, которое, однако, сопровождается увеличением количества включенных мономеров актина при низкой концентрации Ca^{2+} , то использование реагентов, увеличивающих способность тропомина активировать включение мономеров, будет неприемлемым для лечения миопатии, ассоциированной с этой мутацией. Для таких мутаций (Glu41Lys, Glu117Lys, Arg133Trp) представляется целесообразным использовать агенты, активирующие работу миозина. Показано, что замена Arg90Pro в γ -тропомиозине, связанная с CFTD, вызывает увеличение Ca^{2+} -чувствительности тонкой нити, но эта мутация ингибирует способность тропомина включать момеры актина при высоких концентрациях Ca^{2+} . Поэтому использование агентов, которые ингибируют активацию мономеров актина при высоких концентрациях Ca^{2+} , может быть недостаточным для лечения миопатии, связанной с этой

мутацией, и необходимо использовать ингибиторы миозина. Использование ингибиторов тропонина является также неадекватным подходом в лечении тех миопатий, при которых обнаруживается появление высокой Ca^{2+} -чувствительности тонкой нити, если мутация не препятствует способности тропонина выключать мономеры актина при низких концентрациях Ca^{2+} (мутации Glu139del, Lys168Glu).

4. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Если для лечения кардиомиопатий предложен целый ряд лекарственных препаратов, которые уже применяются или находятся на разных стадиях клинических испытаний (исследования Cytokinetics, MyoKardia, Novartis), то для наследственных миопатий до сих пор не существует этиотропного лечения. Не существует никаких терапевтических подходов к устранению мышечной слабости и восстановлению сократительной функции скелетных мышц на молекулярном уровне кроме симптоматической терапии, которой явно недостаточно для поддержания нормального качества жизни пациентов. К настоящему времени опубликовано чрезвычайно мало работ, посвященных молекулярным механизмам восстановления сократительной функции сердечной мышцы, и практически отсутствуют исследования, посвященные молекулярным механизмам действия потенциальных лекарственных препаратов при наследственных миопатиях. Для лечения заболеваний скелетных мышц требуется найти и охарактеризовать такие химические соединения, которые обладают потенциалом восстановления работы сократительной системы и не оказывают существенного влияния на сократимость сердечной мышцы. Обзор литературных данных привел нас к обнаружению двух основных групп потенциальных лекарственных препаратов, нацеленных на этиотропное лечение наследственных миопатий (табл. 3). Это так называемая группа активаторов быстрого скелетного тропонина (FSTA – fast skeletal troponin activators) и группа ингибиторов быстрого скелетного миозина. Яркими перспективными примерами группы FSTA являются релдесемтив (СК-2127107) и тирасемтив (СК-2017357), разрабатываемые компанией Cytokinetics Inc. в сотрудничестве с компанией Astellas, которые проходят клинические испытания для лечения бокового амиотрофического склероза и некоторых других заболеваний, связанных с мышечной слабостью и/или усталостью скелетных мышц [63–65]. Связываясь с тропонином, релдесемтив и тирасемтив замедляют скорость освобождения Ca^{2+} , что повышает чувствительность саркомера к Ca^{2+} и способствует активации миозина и увеличению сократительной способности скелетных мышц. Перспективным ингибитором миозина для лечения миопатий, сопровождающихся мышечными контрактурами и ингибированием мышечного расслабления, является BTS, специфичный к миозину быстрых скелетных мышц [66, 67]. Было показано, что BTS снижает скорость АТФазной активности миозина, скорость освобождения фосфата из активного центра и скорость диссоциации от актина головок миозина, связанных с АДФ. Как результат, это соединение может препятствовать развитию контрактур. Предполагается, что BTS не влияет на связывание ионов кальция к тропонину и последующее за ним смещение тропомиозина на актине.

Некоторые соединения не обладают специфичностью связывания к изоформам скелетных мышечных белков, как, например, аналоги блебистатина и ВДМ, ингибитор тропонина W7, активатор тропонина бепридил, а также активаторы миозина EMD 57033 и омекамтив мекарбила [73, 74, 81], которые способны связываться также с сердечным миозином. В виду перспективности их применения они могут быть

Таблица 3. Перспективные потенциальные лекарственные препараты для нормализации сократительной функции при наследственных миопатиях

Группа активаторов быстрого скелетного тропонина (FSTA)	<ul style="list-style-type: none"> • СК-2066260 [68, 69], преclinical исследования Cytokinetics • СК-2127107 (Релдесемтив) [63], клинические исследования Cytokinetics (фаза I, II лечения спинальной мышечной атрофии, бокового амиотрофического склероза и хронического обструктивного заболевания легких) • СК-2017357 (Тирасемтив) [64, 65], клинические исследования Cytokinetics (фаза IIb лечения бокового амиотрофического склероза и перемежающейся хромоты при болезни периферических артерий) • СК-1909178 [70, 71], начальная стадия исследования Cytokinetics
Группа ингибиторов быстрого скелетного миозина	<ul style="list-style-type: none"> • Аналоги блеббистатина [72, 73], начальная стадия исследования • BDM (2,3-Бутандион моноксим) [74], начальная стадия исследования • BTS (N-Бензил-p-толуол сульфонамид) [66, 67], начальная стадия исследования
Реагенты другого типа действия, обладающие потенциальным терапевтическим эффектом	<ul style="list-style-type: none"> • W7 (n-(6-Аминогексил)5-хлор-1-нафталенсульфонамид) [75, 76] – ингибитор сердечного, медленного и быстрого скелетного тропонина, антагонист кальмодулина, начальная стадия исследования • Бепридил [77, 78] – активатор сердечного, медленного и быстрого скелетного тропонина, антагонист кальмодулина, антиангинальный, антиаритмический препарат, применяется для лечения хронической устойчивой стенокардии • EMD 57033 [71, 79, 80], преclinical исследования Merck • СК-1827452 (Омекамтив мекарбил) [81], клинические исследования Cytokinetics (фаза III лечения сердечной недостаточности, обусловленной левожелудочковой дисфункцией)

Информация о химических соединениях получена из базы данных <https://www.drugbank.ca>, сайта Cytokinetics <https://cytokinetics.com/> и научных публикаций.

усовершенствованы для получения аналогов, специфичных к скелетному мышечному миозину. Бепридил и W7 обратимо связываются с тропонином C в различных сайтах, изменяя его конформацию и чувствительность тонких нитей к ионам кальция [75, 77]. Действие активатора миозина EMD 57033 также реализуется посредством связывания с тропонином C, однако при этом он не влияет на связывание Ca²⁺ с тропонином, а действует, как возможно предположить, путем смещения тропомиозина к внутренним доменам актина, активации сильного связывания миозина с актином и укорочения саркомера [79].

Объем знаний о механизмах действия представленных в табл. 3 соединений различный, однако несомненно, что данных о молекулярных механизмах их действия в сократительной системе саркомера скелетных мышц недостаточно. Опубликовано всего несколько работ, в которых проведено тестирование этих соединений для коррекции сократительной функции. Цель подобных исследований состоит в создании

научной основы для разработки дифференциальных терапевтических подходов, направленных на восстановление сократимости.

Так, проведено исследование влияния активатора тропонина СК-1909178 и активатора миозина EMD 57033 на параметры Ca^{2+} -чувствительности и генерации силы в одиночных демембранизированных мышечных волокнах, полученных путем биопсии у пациентов, несущих мутации *TPM2*-null, *TPM3*-Arg167His или *TPM2*-Glu181Lys, связанных с немалиновой миопатией [71]. Было обнаружено, что активаторы СК-1909178 и EMD 57033 увеличивают Ca^{2+} -чувствительность мышечного сокращения при мутациях *TPM2*-null и *TPM3*-Arg167His. Также в одной работе доктора Д. Ochala было выполнено изучение влияния активатора миозина EMD 57033 на параметры Ca^{2+} -чувствительности и генерации силы при мутации *TPM2*-Glu41Lys [82], также связанной с немалиновой миопатией.

Показана потенциальная эффективность активатора тропонина СК-2066260 для лечения немалиновой миопатии, связанной с мутациями гена небулина [68]. Было обнаружено, что СК-2066260 значительно повышает Ca^{2+} -чувствительность генерации силы, но не влияет на кооперативность активации тонких нитей. Используя в качестве модели немалиновой миопатии мышей с нокаутом гена небулина, приводящим к выраженной скелетной мышечной слабости, было обнаружено, что СК-2066260 сдвигает кривую зависимости мышечной силы от рСа влево, с наибольшим увеличением силы при низких и средних концентрациях Ca^{2+} , увеличивает силу сокращения при рСа 6.0 и значительно увеличивает константу скорости развития силы при быстром укорочении мышцы [22].

Немногочисленность научных групп, изучающих молекулярные механизмы восстановления сократительной функции скелетных мышц, объясняется прежде всего тем, что большинство исследований посвящены изучению действия потенциальных лекарственных препаратов на функцию сердечной мышцы [83–85]. Ряд исследований инициируется Центром преклинических исследований компании Cytokinetics. В перспективе научных исследований необходимо выявить и охарактеризовать неизвестные до настоящего времени конформационные изменения сократительных и регуляторных белков, происходящие при использовании агентов, обладающих потенциальной способностью восстановления сократимости мышечной ткани, ассоциированной с наследственными заболеваниями скелетных мышц человека. В частности, важно получить информацию о конформационных изменениях тропомиозина, актина и миозина, происходящих в присутствии химических соединений (ингибиторов или активаторов работы тропонина и миозина), способных нормализовать Ca^{2+} -чувствительность и АТФазную активность миозина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поскольку наследственная миопатия проявляется, как правило, с самого рождения или в раннем детском возрасте, то своевременно начатое этиотропное лечение заболевания критически важно для предотвращения или замедления прогрессирования мышечной слабости и гипотонии, проявления компенсаторных процессов, в том числе в виде появления внутриклеточных включений, и дальнейших последствий нарушения сократительной функции, таких как дыхательная и сердечная недостаточность. Существует острая необходимость в изучении молекулярных механизмов дисфункции сократимости мышечной ткани, содержащей мутантные белки, и в подборе и тестировании химических агентов для реабилитации наследственных заболеваний скелетных мышц. Особенности функционирования сократительной

системы в присутствии различных мутаций в тропомиозине можно использовать на пути к поиску адекватной классификации мутаций, способствующей ранней и точной диагностике варианта миопатии, и поиску мишеней для нормализации сократительной функции. Имеющиеся данные позволяют предполагать, что, используя в качестве мишени актин-миозиновое взаимодействие и систему тропонин-тропомиозиновой регуляции, можно с помощью активаторов и ингибиторов функции тропонина и миозина скорректировать аномальную работу сократительной системы при скелетно-мышечных патологиях. Содержание современной научной литературы в области миологии отражает стремление научного сообщества восполнить недостаток данных о молекулярных механизмах заболеваний скелетных мышц и их терапии. Дальнейшие исследования молекулярных механизмов мышечной дисфункции позволят получить приоритетные данные о возможностях реабилитации на молекулярном уровне сократительной функции скелетных мышц, нарушенной при наследственных миопатиях, отобрать и протестировать наиболее эффективные фармакологические агенты, способные отменить или частично скомпенсировать негативные последствия мутаций в генах тропомиозина и других белков, ответственных за развитие немалиновой миопатии, кэп-миопатии, CFTD, дистального артрогрипоза и других заболеваний скелетной мускулатуры человека.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-04-00523).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Matyushenko AM, Levitsky DI* (2020) Molecular Mechanisms of Pathologies of Skeletal and Cardiac Muscles Caused by Point Mutations in the Tropomyosin Genes. *Biochemistry (Mosc)* 85(Suppl 1): S20S33.
<https://doi.org/10.1134/S0006297920140023>
2. *Moraczewska J* (2020) Thin filament dysfunctions caused by mutations in tropomyosin Tpm3.12 and Tpm1.1. *J Muscle Res Cell Motil* 41(1): 3953.
<https://doi.org/10.1007/s10974-019-09532-y>
3. *Jungbluth H, Treves S, Zorzato F, Sarkozy A, Ochala J, Sewry C, Phadke R, Gautel M, Muntoni F* (2018) Congenital myopathies: disorders of excitation-contraction coupling and muscle contraction. *Nat Rev Neurol* 14: 151–167.
<https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.191>
4. *Ravenscroft G, Bryson-Richardson RJ, Nowak KJ, Laing NG* (2018) Recent advances in understanding congenital myopathies. *F1000Res* 7: F1000 Faculty Rev-1921.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.16422.1>
5. *Gonorazky HD, Bonnemann CG, Dowling JJ* (2018) The genetics of congenital myopathies. *Handb Clin Neurol* 148: 549–564.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64076-5.00036-3>
6. *Nance JR, Dowling JJ, Gibbs EM, Bonnemann CG* (2012) Congenital myopathies: An update. *Curr Neurol Neurosci Rep* 12: 165–174.
<https://doi.org/10.1007/s11910-012-0255-x>
7. *Amburgey K, McNamara N, Bennett LR, McCormick ME, Acsadi G, Dowling JJ* (2011) Prevalence of congenital myopathies in a Representative pediatric united states population. *Ann Neurol* 2011 70(4): 662–665.
<https://doi.org/10.1002/ana.22510>

8. Johnston JJ, Kelley RI, Crawford TO, Morton DH, Agarwala R, Koch T, Schäffer AA, Francomano CA, Biesecker LG (2000) A novel nemaline myopathy in the Amish caused by a mutation in troponin T1. *Am J Hum Genet* 67(4): 814–821.
<https://doi.org/10.1086/303089>
9. Lehtokari VL, Kiiski K, Sandaradura SA, Laporte J, Repo P, Frey JA, Donner K, Marttila M, Saunders C, Barth PG, den Dunnen JT, Beggs AH, Clarke NF, North KN, Laing NG, Romero NB, Winder TL, Pelin K, Wallgren-Petersson C (2014) Mutation update: the spectra of nebulin variants and associated myopathies. *Hum Mutat* 35(12): 1418–1426.
<https://doi.org/10.1002/humu.22693>
10. Shy GM, Magee KR (1956) A new congenital non-progressive myopathy. *Brain* 79(4): 610–21.
<https://doi.org/10.1093/brain/79.4.610>
11. Adams RD, Denny-Brown D, Pearson CM (1962) Diseases of muscle. A study in pathology, 2nd ed. New York: Harper and Brothers, 268–270.
12. Schnell C, Kan A, North KN (2000) “An artefact gone awry”: identification of the first case of nemaline myopathy by Dr RDK Reye. *Neuromuscul Disord* 10(4–5): 307–312.
[https://doi.org/10.1016/s0960-8966\(99\)00123-6](https://doi.org/10.1016/s0960-8966(99)00123-6)
13. Benarroch L, Bonne G, Rivier F, Hamroun D (2021) The 2021 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome). *Neuromuscul Disord* 30(12): 1008–1048.
<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2020.11.009>
14. Davidson AE, Siddiqui FM, Lopez MA, Lunt P, Carlson HA, Moore BE, Love S, Born DE, Roper H, Majumdar A, Jayadev S, Underhill HR, Smith CO, von der Hagen M, Hubner A, Jardine P, Morrison A, Curtis E, Cullup T, Jungbluth H, Cox MO, Winder TL, Abdel Salam H, Li JZ, Moore SA, Dowling JJ (2013) Novel deletion of lysine 7 expands the clinical, histopathological and genetic spectrum of TPM2-related myopathies. *Brain* 136: 508–521.
<https://doi.org/10.1093/brain/aws344>
15. Tajsharghi H, Ohlsson M, Palm L, Oldfors A (2012) Myopathies associated with β -tropomyosin mutations. *Neuromuscul Disord* 22: 923–933.
<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2012.05.018>
16. Clarke NF, Kolski H, Dye DE, Lim E, Smith RL, Patel R, Fahey MC, Bellance R, Romero NB, Johnson ES, Labarre-Vila A, Monnier N, Laing NG, North KN (2008) Mutations in TPM3 are a common cause of congenital fiber type disproportion. *Ann Neurol* 63: 329–337.
<https://doi.org/10.1002/ana.21308>
17. Sewry CA, Laitila JM, Wallgren-Petersson C (2019) Nemaline myopathies: a current view. *J Muscle Res Cell Motil* 40(2): 111–126.
<https://doi.org/10.1007/s10974-019-09519-9>
18. Lehtokari VL, Ceuterick-de Groote C, de Jonghe P, Marttila M, Laing NG, Pelin K, Wallgren-Petersson C (2007) Cap disease caused by heterozygous deletion of the beta-tropomyosin gene TPM2. *Neuromuscul Disord* 17: 433–442.
<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2007.02.015>
19. Brandis A, Aronica E, Goebel HH (2008) TPM2 mutation. *Neuromuscular disorders: NMD*. *England* 18: 1005.
20. Malfatti E, Schaeffer U, Chapon F, Yang Y, Eymard B, Xu R, Laporte J, Romero NB (2013) Combined cap disease and nemaline myopathy in the same patient caused by an autosomal dominant mutation in the TPM3 gene. *Neuromuscul Disord* 23(12): 992–997.
<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2013.07.003>
21. Marston S, Memo M, Messer A, Papadaki M, Nowak K, McNamara E, Ong R, El-Mezgueldi M, Li X, Lehman W (2013) Mutations in Repeating structural motifs of TM cause gain of function in skeletal muscle myopathy patients. *Hum Mol Genet* 22: 4978–4987.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddt345>
22. Lee E-J, De Winter JM, Buck D, Jasper JR, Malik FI, Labeit S, Ottenheijm CA, Granzier H (2013) Fast skeletal muscle troponin activation increases force of mouse fast skeletal muscle and ameliorates weakness due to nebulin-deficiency. *PLoS One* 8(2): e55861.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055861>
23. Boussof SE, Geeves MA (2007) Tropomyosin and troponin cooperativity on the thin filament. *Adv Exp Med Biol* 592: 99–109.
https://doi.org/10.1007/978-4-431-38453-3_10
24. Geeves MA, Lehrer SS, Lehman W (2019) The mechanism of thin filament regulation: Models in conflict? *J Gen Physiol* 151(11): 1265–1271.
<https://doi.org/10.1085/jgp.201912446>
25. Borovikov YS, Karpicheva OE, Avrova SV, Redwood CS (2009) Modulation of the effects of tropomyosin on actin and myosin conformational changes by troponin and Ca²⁺. *Biochim Biophys Acta* 1794(7): 985–994.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.11.014>

26. *Li XE, Lehman W, Fischer S* (2010) The relationship between curvature, flexibility and persistence length in the tropomyosin coiled-coil. *J Struct Biol* 170: 313–318.
<https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.01.016>
27. *Borovikov YS, Simonyan AO, Avrova SV, Sirenko VV, Redwood CS, Karpicheva OE* (2020) Molecular Mechanisms of Muscle Weakness Associated with E173A Mutation in Tpm3.12. Tropomyosin Ca²⁺ Sensitivity Inhibitor W7 Can Reduce the Damaging Effect of This Mutation. *Int J Mol Sci* 21(12): 4421.
<https://doi.org/10.3390/ijms21124421>
28. *Craig R, Lehman W* (2001) Crossbridge and tropomyosin positions observed in native, interacting thick and thin filaments. *J Mol Biol* 311(5): 1027–1036.
<https://doi.org/10.1006/jmbs.2001.4897>
29. *Lehman W, Orzechowski M, Li XE, Fischer S, Raunser S* (2013) Gestalt-Binding of tropomyosin on actin during thin filament activation. *J Muscle Res Cell Motil* 34: 155–163.
<https://doi.org/10.1007/s10974-013-9342-0>
30. *Gunning P* (Ed) (2008) Tropomyosin. *Advances in Experimental Medicine and Biology*.
<https://doi.org/10.1007/978-0-387-85766-4>
31. *Mason JM, Arndt KM* (2004) Coiled coil domains: stability, specificity, and biological implications. *Chembiochem* 5(2): 170–176.
<https://doi.org/10.1002/cbic.200300781>
32. *McLachlan AD, Stewart M* (1976) The 14-fold periodicity in alpha-tropomyosin and the interaction with actin. *J Mol Biol* 103(2): 271–298.
[https://doi.org/10.1016/0022-2836\(76\)90313-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(76)90313-2)
33. *Orzechowski M, Li XE, Fischer S, Lehman W* (2014) An atomic model of the tropomyosin cable on F-actin. *Biophys J* 107(3): 694–699.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.06.034>
34. *Brown JH, Zhou Z, Reshetnikova L, Robinson H, Yammani RD, Tobacman LS, Cohen C* (2005) Structure of the mid-region of tropomyosin: bending and binding sites for actin. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 18878–18883.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0509269102>
35. *Avrova SV, Karpicheva OE, Simonyan AO, Sirenko VV, Redwood CS, Borovikov YS* (2019) The molecular mechanisms of a high Ca²⁺-sensitivity and muscle weakness associated with the Ala155Thr substitution in Tpm3.12. *Biochem Biophys Res Commun* 515(2): 372–377.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.05.146>
36. *Hitchcock-DeGregori SE, Barua B* (2017) Tropomyosin Structure, Function, and Interactions: A Dynamic Regulator Subcell Biochem 82: 253–284.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0_9
37. *Marttila M, Lemola E, Wallefeld W, Memo M, Donner K, Laing NG, Marston S, Grönholm M, Wallgren-Petersson C* (2012) Abnormal actin binding of aberrant β -tropomyosins is a molecular cause of muscle weakness in *TPM2*-related nemaline and cap myopathy. *Biochem J* 442(1): 231–239.
<https://doi.org/10.1042/BJ20111030>
38. *Robaszkiewicz K, Dudek E, Kasprzak AA, Moraczewska J* (2012) Functional effects of congenital myopathy-related mutations in gamma-tropomyosin gene. *Biochim Biophys Acta* 1822(10): 1562–1569.
<https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2012.06.009>
39. *Zheng W, Hitchcock-DeGregori SE, Barua B* (2016) Investigating the effects of tropomyosin mutations on its flexibility and interactions with filamentous actin using molecular dynamics simulation. *J Muscle Res Cell Motil* 37(4–5): 131–147.
<https://doi.org/10.1007/s10974-016-9447-3>
40. *Moraczewska J, Robaszkiewicz K, Śliwiska M, Czajkowska M, Ly T, Kostyukova A, Wen H, Zheng W* (2019) Congenital myopathy-related mutations in tropomyosin disrupt regulatory function through altered actin affinity and tropomodulin binding. *FEBS J* 286: 1877–1893.
<https://doi.org/10.1111/febs.14787>
41. *Marttila M, Hanif M, Lemola E, Nowak KJ, Laitila J, Grönholm M, Wallgren-Petersson C, Pelin K* (2014) Nebulin interactions with actin and tropomyosin are altered by disease-causing mutations. *Skelet Muscle* 4: 1–5.
<https://doi.org/10.1186/2044-5040-4-15>
42. *Ly T, Moroz N, Pappas CT, Novak SM, Tolkatchev D, Wooldridge D, Mayfield RM, Helms G, Gregorio CC, Kostyukova AS* (2016) The N-terminal tropomyosin- and actin-binding sites are important for leiomodlin 2's function. *Mol Biol Cell* 27: 2565–2575.
<https://doi.org/10.1091/mbc.E16-03-0200>
43. *Robaszkiewicz K, Ostrowska Z, Marchlewicz K, Moraczewska J* (2016) Tropomyosin isoforms differentially modulate the regulation of actin filament polymerization and depolymerization by

- cofilins. *FEBS J* 283: 723–737.
<https://doi.org/10.1111/febs.13626>
44. *Fischer S, Rynkiewicz MJ, Moore JR, Lehman W* (2016) Tropomyosin diffusion over actin subunits facilitates thin filament assembly. *Struct Dyn* 3(1): 012002.
<https://doi.org/10.1063/1.4940223>
45. *Vilfan A* (2001) The binding dynamics of tropomyosin on actin. *Biophys J* 81: 3146–3155.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(01\)75951-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(01)75951-6)
46. *Karpicheva OE, Simonyan AO, Kuleva NV, Redwood CS, Borovikov YS* (2016) Myopathy-causing Q147P *TPM2* mutation shifts tropomyosin strands further towards the open position and increases the proportion of strong-binding cross-bridges during the ATPase cycle. *Biochim Biophys Acta* 1864(3): 260–267.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2015.12.004>
47. *Borovikov YS, Rysev N.A, Karpicheva OE, Sirenko VV, Avrova SV, Piers A, Redwood CS* (2017) Molecular mechanisms of dysfunction of muscle fibres associated with Glu139 deletion in *TPM2* gene. *Sci Rep.* 7(1): 16797.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-17076-9>
48. *Janco M, Kalyva A, Scellini B, Piroddi N, Tesi C, Poggessi C, Geeves MA* (2012) alpha-Tropomyosin with a D175N or E180G mutation in only one chain differs from tropomyosin with mutations in both chains. *Biochemistry* 51(49): 9880–9890.
<https://doi.org/10.1021/bi301323n>
49. *Matyushenko AM, Shchepkin DV, Susorov DS, Nefedova VV, Kopylova GV, Berg VY, Klyemenov SY, Levitsky DI* (2019) Structural and functional properties of $\alpha\beta$ -heterodimers of tropomyosin with myopathic mutations Q147P and K49del in the β -chain. *Biochem Biophys Res Commun* 508(3): 934–939.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.12.019>
50. *Karpicheva OE, Simonyan AO, Rysev NA, Redwood CS, Borovikov YS* (2020) Looking for Targets to Restore the Contractile Function in Congenital Myopathy Caused by Gln147Pro Tropomyosin. *Int J Mol Sci* 21(20): 7590.
<https://doi.org/10.3390/ijms21207590>
51. *Jin JP, Chong SM* (2010) Localization of the two tropomyosin-binding sites of troponin T. *Arch Biochem Biophys* 500: 144–150.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.06.001>
52. *Robaszkiewicz K, Ostrowska Z, Cyranka-Czaja A, Moraczewska J* (2015) Impaired tropomyosin-troponin interactions reduce activation of the actin thin filament. *Biochim Biophys Acta* 1854: 381–390.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2015.01.004>
53. *Lindqvist J, Ma W, Li F, Hernandez Y, Kolb J, Kiss B, Tonino P, van der Pijl R, Karimi E, Gong H, Strom J, Hourani Z, Smith JE 3rd, Ottenheijm C, Irving T, Granzier H* (2020) Triggering typical nemaline myopathy with compound heterozygous nebulin mutations reveals myofilament structural changes as pathomechanism. *Nat Commun* 11(1): 2699.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-16526-9>
54. *Marsion SB* (2016) Why Is there a Limit to the Changes in Myofilament Ca^{2+} -Sensitivity Associated with Myopathy Causing Mutations? *Front Physiol* 7: 415.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00415>
55. *Karpicheva OE, Sirenko VV, Rysev NA, Simonyan AO, Borys D, Moraczewska J, Borovikov YS* (2017) Deviations in conformational rearrangements of thin filaments and myosin caused by the Ala155Thr substitution in hydrophobic core of tropomyosin. *Biochim Biophys Acta – Proteins Proteomics* 1865: 1790–1799.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2017.09.008>
56. *Borovikov YS, Simonyan AO, Karpicheva OE, Avrova SV, Rysev NA, Sirenko VV, Piers A, Redwood CS* (2017) The reason for a high Ca^{2+} -sensitivity associated with Arg91Gly substitution in *TPM2* gene is the abnormal behavior and high flexibility of tropomyosin during the ATPase cycle. *Biochem Biophys Res Commun* 494(3–4): 681–686.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.161>
57. *Avrova SV, Karpicheva OE, Rysev NA, Simonyan AO, Sirenko VV, Redwood CS, Borovikov YS* (2018) The reason for the low Ca^{2+} -sensitivity of thin filaments associated with the Glu41Lys mutation in the *TPM2* gene is “freezing” of tropomyosin near the outer domain of actin and inhibition of actin monomer switching off during the ATPase cycle. *Biochem Biophys Res Commun* 502(2): 209–214.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.145>
58. *Karpicheva OE, Robinson P, Piers A, Borovikov YS, Redwood CS* (2013) The nemaline myopathy-causing E117K mutation in β -tropomyosin reduces thin filament activation. *Arch Biochem*

- Biophys 536(1): 25–30.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.05.001>
59. Borovikov YS, Rysev NA, Avrova SV, Karpicheva OE, Borys D, Moraczewska J (2017) Molecular mechanisms of deregulation of the thin filament associated with the R167H and K168E substitutions in tropomyosin Tpm1.1. Arch Biochem Biophys 614: 28–40.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.12.004>
60. Borovikov YS, Rysev NA, Chernev AA, Avrova SV, Karpicheva OE, Borys D, Śliwińska M, Moraczewska J (2016) Abnormal movement of tropomyosin and response of myosin heads and actin during the ATPase cycle caused by the Arg167His, Arg167Gly and Lys168Glu mutations in *TPM1* gene. Arch Biochem Biophys 606: 157–166.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.07.022>
61. Borovikov YS, Karpicheva OE, Simonyan AO, Avrova SV, Rogozovets EA, Sirenko VV, Redwood CS (2018) The Primary Causes of Muscle Dysfunction Associated with the Point Mutations in Tpm3.12; Conformational Analysis of Mutant Proteins as a Tool for Classification of Myopathies. Int J Mol Sci 19(12): 3975.
<https://doi.org/10.3390/ijms19123975>
62. Donner K, Ollikainen M, Ridanpää M, Christen HJ, Goebel HH, de Visser M, Pelin K, Wallgren-Pettersson C (2002) Mutations in the beta-tropomyosin (*TPM2*) gene—a rare cause of nemaline myopathy. Neuromuscul Disord 12(2): 151–158.
[https://doi.org/10.1016/s0960-8966\(01\)00252-8](https://doi.org/10.1016/s0960-8966(01)00252-8)
63. Andrews JA, Miller TM, Vijayakumar V, Stoltz R, James JK, Meng L, Wolff AA, Malik FI (2018) CK-2127107 amplifies skeletal muscle response to nerve activation in humans. Muscle Nerve 57(5): 729–734.
<https://doi.org/10.1002/mus.26017>
64. Collibee SE, Bergnes G, Muci A, Browne WF 4th, Garard M, Hinken AC, Russell AJ, Suehiro I, Hartman J, Kawas R, Lu PP, Lee KH, Marquez D, Tomlinson M, Xu D, Kennedy A, Hwee D, Schaletzky J, Leung K, Malik FI, Morgans DJ Jr, Morgan BP (2018) Discovery of Tirasemtiv, the First Direct Fast Skeletal Muscle Troponin Activator. ACS Med Chem Lett 9(4): 354–358.
<https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.7b00546>
65. Shefner JM, Cudkowicz ME, Hardiman O, Cockcroft BM, Lee JH, Malik FI, Meng L, Rudnicki SA, Wolff AA, Andrews JA; VITALITY-ALS Study Group (2019) A phase III trial of tirasemtiv as a potential treatment for amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener 0(0): 1–11.
<https://doi.org/10.1080/21678421.2019.1612922>
66. Pinniger GJ, Bruton JD, Westerblad H, Ranatunga KW (2005) Effects of a myosin-II inhibitor (N-benzyl-p-toluene sulphonamide, BTS) on contractile characteristics of intact fast-twitch mammalian muscle fibres. J Muscle Res Cell Motil 26(2–3): 135–141.
<https://doi.org/10.1007/s10974-005-2679-2>
67. Shaw MA, Ostap EM, Goldman YE (2003) Mechanism of inhibition of skeletal muscle actomyosin by N-benzyl-p-toluenesulfonamide. Biochemistry 42(20): 6128–6135.
<https://doi.org/10.1021/bi026964f>
68. de Winter JM, Buck D, Hidalgo C, Jasper JR, Malik FI, Clarke NF, Stienen GJ, Lawlor MW, Beggs AH, Ottenheijm CA, Granzier H (2013) Troponin activator augments muscle force in nemaline myopathy patients with nebulin mutations. J Med Genet 2013; 50(6): 383–92.
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101470>
69. Cheng AJ, Hwee DT, Kim LH, Durham N, Yang HT, Hinken AC, Kennedy AR, Terjung RL, Jasper JR, Malik FI, Westerblad H (2019) Fast skeletal muscle troponin activator CK-2066260 increases fatigue resistance by reducing the energetic cost of muscle contraction. J Physiol 597(17): 4615–4625.
<https://doi.org/10.1113/JP278235>
70. Ochala J (2010) Ca²⁺ sensitizers: An emerging class of agents for counterbalancing weakness in skeletal muscle diseases? Neuromuscul Disord 20(2): 98–101.
<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2009.11.010>
71. Ochala J, Gokhin DS, Pénişon-Besnier I, Quijano-Roy S, Monnier N, Lunardi J, Romero NB, Fowler VM (2012) Congenital myopathy-causing tropomyosin mutations induce thin filament dysfunction via distinct physiological mechanisms. Hum Mol Genet 21(20): 4473–4485.
<https://doi.org/10.1093/hmg/dds289>
72. Limouze J, Straight AF, Mitchison T, Sellers JR (2004) Specificity of blebbistatin, an inhibitor of myosin II. J Muscle Res Cell Motil 25(4–5): 337–341.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M405319200>
73. Rauscher AA, Gyimesi M, Kovacs M, Malnasi-Csizmadia A (2018) Targeting Myosin by Blebbistatin Derivatives: Optimization and Pharmacological Potential. Trends Biochem Sci 43(9): 700–713.
<https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.06.006>

74. *McKillop DF, Fortune NS, Ranatunga KW, Geeves MA* (1994) The influence of 2,3-butanedione 2-monoxime (BDM) on the interaction between actin and myosin in solution and in skinned muscle fibres. *J Muscle Res Cell Motil* 15(3): 309–318.
<https://doi.org/10.1007/BF00123483>
75. *Oleszczuk M, Robertson IM, Li MX, Sykes BD* (2010) Solution structure of the regulatory domain of human cardiac troponin C in complex with the switch region of cardiac troponin I and W7: the basis of W7 as an inhibitor of cardiac muscle contraction. *J Mol Cell Cardiol* 48(5): 925–933.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2010.01.016>
76. *Adhikari BB, Wang K* (2004) Interplay of troponin- and Myosin-based pathways of calcium activation in skeletal and cardiac muscle: the use of W7 as an inhibitor of thin filament activation. *Biophys J* 86(1): 359–370.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(04\)74112-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(04)74112-0)
77. *Kischel P, Bastide B, Potter JD, Mounier Y* (2000) The role of the Ca²⁺ regulatory sites of skeletal troponin C in modulating muscle fibre reactivity to the Ca²⁺ sensitizer bepridil. *Br J Pharmacol* 131(7): 1496–1502.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703727>
78. *Wahr PA, Metzger JM* (1999) Role of Ca²⁺ and cross-bridges in skeletal muscle thin filament activation probed with Ca²⁺ sensitizers. *Biophys J* 76(4): 2166–2176.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)77371-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77371-6)
79. *Lipscomb S, Preston LC, Robinson P, Redwood CS, Mulligan IP, Ashley CC* (2005) Effects of troponin C isoform on the action of the cardiotoxic agent EMD 57033. *Biochem J* 388 (Pt 3): 905–912.
<https://doi.org/10.1042/BJ20041841>
80. *Kraft T, Brenner B* (1997) Force enhancement without changes in cross-bridge turnover kinetics: the effect of EMD 57033. *Biophys J* 72(1): 272–281.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(97\)78666-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(97)78666-1)
81. *Malik FI, Hartman JJ, Elias KA, Morgan BP, Rodriguez H, Brejc K, Anderson RL, Sueoka SH, Lee KH, Finer JT, Sakowicz R, Baliga R, Cox DR, Garard M, Godinez G, Kawas R, Kraynack E, Lenzi D, Lu PP, Muci A, Niu C, Qian X, Pierce DW, Pokrovskii M, Suehiro I, Sylvester S, Tochimoto T, Valdez C, Wang W, Katori T, Kass DA, Shen YT, Vatner SF, Morgans DJ* (2011) Cardiac myosin activation: a potential therapeutic approach for systolic heart failure. *Science* 331(6023): 1439–1443.
<https://doi.org/10.1126/science.1200113>
82. *Ochala J, Li M, Ohlsson M, Oldfors A, Larsson L* (2008) Defective regulation of contractile function in muscle fibres carrying an E41K beta-tropomyosin mutation. *J Physiol* 586 (Pt 12): 2993–3004.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.153650>
83. *Solaro RJ, Gambassi G, Warshaw DM, Keller MR, Spurgeon HA, Beier N, Lakatta EG* (1993) Stereoselective actions of thiazolidinones on canine cardiac myocytes and myofilaments. *Circ Res* 73(6): 981–990.
<https://doi.org/10.1161/01.res.73.6.981>
84. *Kopylova GV, Shchepkin DV, Nabiev SR, Matyushenko AM, Koubassova NA, Levitsky DI, Bershitsky SY* (2019) Cardiomyopathy-associated mutations in tropomyosin differently affect actin-myosin interaction at single-molecule and ensemble levels. *J Muscle Res Cell Motil* 40(3–4): 299–308.
<https://doi.org/10.1007/s10974-019-09560-8>
85. *Shchepkin DV, Nabiev SR, Nikitina LV, Kochurova AM, Berg VY, Bershitsky SY, Kopylova GV* (2020) Myosin from the ventricle is more sensitive to omecamtiv mecarbil than myosin from the atrium. *Biochem Biophys Res Commun* 528(4): 658–663.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.05.108>

Hallmark Features of the Tropomyosin Regulatory Function in Several Variants of Congenital Myopathy

O. E. Karpicheva*

Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

**e-mail: olexiya6@ya.ru*

Congenital myopathies are a group of clinically and genetically heterogeneous diseases, which are united by primary lesions of skeletal muscles and are characterized by progres-

sive muscle weakness and hypotension, as well as morphological changes in muscle tissue. The range of variants of congenital myopathies is quite wide, and the signs are heterogeneous, therefore, the diagnosis is often difficult. Until now, there is no effective therapy for myopathies - only symptomatic treatment is used to improve metabolism and blood microcirculation in the muscles. At the same time, many of these diseases significantly reduce the quality and duration of human life. The accumulation of scientific knowledge necessary for the early diagnosis of congenital myopathies of human and for the development of approaches to effective treatment of diseases of muscle tissue dysfunction is one of the urgent tasks of biology and medicine. Most recently, a series of works has appeared in which an attempt is made to characterize the molecular mechanisms of the onset and development of a number of myopathies caused by gene mutations. It seems extremely important to analyze the published data and, on the basis of this, highlight critical changes in the conformational state of muscle proteins that can be used as tests for the differential diagnosis of myopathies and to identify molecular targets for the therapeutic effects. This review article is devoted to the analysis and generalization of literature and original data obtained by the method of polarized microfluorimetry on the molecular mechanisms of muscle contraction regulation by mutant tropomyosins appearing in muscle tissue in various human musculoskeletal diseases.

Keywords: congenital myopathy, tropomyosin genes mutations, molecular mechanisms of muscle contraction regulation, actin-myosin interaction, polarized fluorescence technique, targets for therapy, ethiotropic treatment