

Структурно-функциональные изменения тропомиозин-тропомиозинового комплекса регуляторных белков кардиомиоцита при развитии сердечных патологий

О. М. Федоркова, Л. Л. Сидорик

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 252143, Украина

Сделан обзор литературных и полученных авторами данных о возможной роли комплекса регуляторных белков миофибриллы кардиомиоцита (тропомиозина и тропомиозина) при развитии сердечных патологий. Рассмотрена возможная роль данных белков в патогенезе дилатационной кардиомиопатии.

В основе мышечного сокращения лежит взаимодействие двух основных сократительных белков — актина и миозина, регулируемое ионами кальция. В сердечной, как и в скелетной мышцах, Ca^{2+} -зависимая регуляция взаимодействия актина с миозином осуществляется специальным белковым комплексом, состоящим из тропомиозина (Тн) и тропомиозина (ТМ). Этот комплекс ассоциирован с тонкой (актиновой) филаментой. В полимеризованной форме так называемый фибриллярный актин (F-актин) представляет собой спирально закрученные филаменты с периодом приблизительно 13 мономеров на виток глобулярного актина (G-актина) [1].

Изучение ТМ из различных объектов позволило разработать структурно-функциональную модель этой молекулы. ТМ состоит из двух α -спиральных полипептидных цепей, закрученных друг относительно друга, и имеет вид стержня длиной около 40 нм [2]. Каждая цепь содержит 284 аминокислотных остатка. Молекулярная масса ТМ около 70 кДа [1]. Каждая молекула ТМ взаимодействует с шестью или семью мономерами актина [3, 4] по принципу «голова-к-хвосту», оборачиваясь вокруг молекулы актина по главному желобку актиновой нити и стабилизируя структуру тонкой филаменты. ТМ кодируется небольшим мультигенным семейством, состоящим из α -, β -, М-30 и ТМ-4

генов [4]. Эти гены и кодируемые ими белки демонстрируют очень высокую степень консервативности от *Drosophila* до человека. Изоформы ТМ образуются путем альтернативного сплайсинга экзонов. Изоформы α - и β -ТМ обнаружены в поперечно-полосатых мышцах. У них идентичны 86 % аминокислотных остатков [4]. Из этих цепей формируются два вида молекул — $\alpha\alpha$ и $\alpha\beta$ [5]. В течение развития сердечной мышцы α - и β -цепи ТМ экспрессируются в разном количестве. В период эмбрионального развития α -ТМ составляет 80 % от общего количества ТМ в сердце, а β -ТМ — 20 %. В сердце взрослой особи соотношение меняется: β -ТМ — 2 %, α -ТМ — 98 % [6]. Мыши, у которых экспериментально удален ген α -ТМ (так называемые α -ТМ-нулевые гомозиготы), умирали в эмбриональном периоде, что свидетельствует о важности данного белка в эмбриогенезе [4]. В мышцах больших и медленно бьющихся сердец (свиньи, овцы) β -субъединица составляет до 20 %. В сердечной мышце крупного рогатого скота и человека ее количество достигает 50 % по отношению к α -субъединице. Между содержанием β -субъединицы ТМ и скоростью сокращения сердца у разных животных на различных стадиях развития существует обратная корреляция: чем быстрее сокращается сердце, тем в нем меньше β -субъединиц ТМ [70].

© О. М. ФЕДОРКОВА, Л. Л. СИДОРИК, 1999

В отличие от ТМ, Тн-комплекс обнаружен только в поперечно-полосатых мышцах, его нет в гладких мышцах и неммышечных тканях. Первоначально считалось, что Тн является одним белком [7]. Позднее авторы работы [8] показали, что в состав Тн входят три белковые субъединицы, названные ТнС, ТнI и ТнТ. Трудность выделения отдельных субъединиц комплекса заключается в их прочной агрегации и сильной подверженности действию протеолитических ферментов. Каждую из трех субъединиц в отдельности можно получить в присутствии денатурантов (например 3 М мочевины) [8, 9]. Выделенные белки способны к самосборке *in vitro* при смешивании в равных молярных долях.

ТнС — Ca^{2+} -связывающая субъединица комплекса. По своей способности связывать Ca^{2+} белок является ближайшим родственником парвальбумина. Молекулярная масса ТнС 18 кДа [1, 10]. Белок состоит из 158—162 аминокислотных остатков (в зависимости от вида объекта). Известна аминокислотная последовательность ТнС, выделенного из разных источников. Изoeлектрическая точка ТнС 4,6 [10], белок имеет в своем составе много кислых аминокислотных остатков — аспарагиновой и глутаминовой кислот. Выделенный из скелетных мышц ТнС обладает четырьмя сайтами связывания двухвалентных катионов [11]. Молекула имеет вид гантели, состоит из двух глобулярных доменов, соединенных центральной α -спиралью [12]. Каждый глобулярный домен ТнС образован двумя EF-hand-мотивами — двумя сайтами связывания двухвалентных ионов [1, 11]. Эти сайты пронумерованы от I до IV в соответствии с их порядком расположения на полипептидной цепи. Сайты I и II в N-концевом глобулярном домене являются низкоаффинными Ca^{2+} -связывающими сайтами, а сайты III и IV в C-концевом домене связывают Ca^{2+} с более высокой аффинностью и способны связывать Mg^{2+} . Сайты III и IV практически всегда находятся в связанном с Mg^{2+} состоянии при физиологических условиях в мышце [1, 11]. Сердечный ТнС из-за некоторых замен в аминокислотной последовательности в сайте I способен связывать только три иона Ca^{2+} на молекулу [10]. Молекула характеризуется высоким содержанием α -спиралей, когда сайты связывания катионов насыщены Ca^{2+} [13, 14].

ТнI — ингибиторная субъединица комплекса. Молекулярная масса скелетного ТнI 21 кДа, молекула содержит около 180 аминокислотных остатков в полипептидной цепи [1]. Белок глобулярный, имеет много основных аминокислотных остатков. Изoeлектрическая точка ТнI 9,3 [15]. Молекула

состоит из трех частей — N- и C-концевого доменов и центрального ингибиторного региона. Центральная часть молекулы, а именно: пептид из 104—115 аминокислотных остатков ТнI содержит минимальную последовательность, необходимую для ингибирования и связывания с актином [16]. Ингибиторной активностью обладает также C-концевой регион ТнI [3]. Предполагается, что взаимодействие ТнI с актином является основой ингибирования актомиозиновой АТР-азы [3]. N-концевая часть ТнI играет структурную роль в комплексе и отвечает за связь с C-концевым доменом ТнС. ТнI и ТнС взаимодействуют в комплексе антипараллельно. C-концевой и ингибиторный регионы ТнI обладают главной регуляторной функцией молекулы и взаимодействуют с N- и C-концевыми регионами ТнС Ca^{2+} -зависимым образом.

Основным отличием ТнI миокарда от скелетного является наличие у первого дополнительно 32 или 33 аминокислотных остатков в N-концевой области, в том числе двух соседних сериновых остатков 22 и 23 или 23 и 24 (в зависимости от объекта) [17, 18]. Фосфорилирование этих сериновых остатков играет уникальную роль в регуляции сократимости сердечной мышцы, увеличивая уровень ее расслабления [18].

ТнТ — тропомиозинсвязывающая субъединица тропонина. Молекулярная масса ТнТ 33 кДа [1]. Молекула содержит большое количество заряженных остатков, тем не менее изoeлектрическая точка ТнТ близка к нейтральной (pI 6,5) [15]. ТнТ опосредует распространение ингибиторного эффекта через ТМ к семи мономерам актина в отсутствие Ca^{2+} . И, наоборот, при появлении Ca^{2+} этот ингибиторный эффект снимается. ТнТ — белок асимметричный. Сердечный ТнТ приблизительно на 2 нм длиннее скелетного, так как имеет удлинение на N-конце [71].

Мышечное сокращение запускается при связывании Ca^{2+} с низкоаффинными регуляторными Ca^{2+} -специфическими сайтами ТнС [19—21]. Ключевым событием процесса сокращения является Ca^{2+} -индуцируемое взаимодействие ТнС и ТнI. Эффективная Ca^{2+} -зависимая регуляция актомиозиновой АТР-азы требует наличия ТнТ и ТМ [8]. Одной из наиболее поразительных особенностей активационного процесса в сердечной мышце является комплексность и протяженность белок-белковых взаимодействий, запускаемых связыванием Ca^{2+} с тонкой филаментой. Уникальные черты сердечных изоформ тропонинов указывают на их специфическую роль в сердце. Сердечные изоформы ТнI и ТнТ не только больше по размерам, но и, возможно, длиннее своих скелетных аналогов. Эти

белки имеют важные сайты фосфорилирования, отсутствующие в скелетных изоформах [67].

Регуляторные белки миофибриллы при развитии сердечных патологий. Поскольку регуляторное звено миофибриллы играет чрезвычайно важную роль в ее функционировании, можно даже *a priori* предположить, что любые, даже незначительные изменения в структуре белкового комплекса, способны привести к серьезным заболеваниям всего организма. Известно, что все белки регуляторного ТМ—Тн-комплекса млекопитающих имеют множественные изоформы, кодируются несколькими генами и характеризуются сложной регуляцией в период эмбрионального развития и у взрослой особи [22—28].

Изоформы ТнС миокарда экспрессируются и в скелетной мышце, а изоформы ТнI и ТнТ сердца являются продуктами отдельных генов, отличных от их скелетно-мышечных аналогов [29—31]. Сердечный ТнI даже не экспрессируется в регенерирующие ткани скелетной мышцы [30]. В литературе имеется много работ по исследованию роли ТМ и субъединиц тропонинового комплекса в развитии сердечно-сосудистых патологий человека [36—39, 45, 52, 65]. Мутации в гене ТнТ человека связывают с патогенезом гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП) [33]. Ген ТнТ картирован в хромосоме 1q человека. У людей, болеющих ГКМП, выявлено несколько мутаций гена ТнТ. Точный механизм действия данных мутаций в развитии заболевания, а именно: в изменении структуры саркомера, ведущем к возникновению ГКМП, неизвестен. В этой же работе [33] приводятся данные о наличии миссенс-мутаций в гене α -ТМ, связанном с хромосомой 15 человека. Вероятно, вследствие данных мутаций происходит изменение стехиометрии миофибриллы и, как результат, — развивается ГКМП. Вывод о возможном вкладе данных мутаций в развитие болезни делается на основании: 1) выявления каждого генетического дефекта у исследованных больных ГКМП лиц; 2) отсутствия таких изменений у здоровых лиц (обследовалось более 100 здоровых людей); 3) наличия связи между ГКМП и изменениями в гене ТнТ в больших семьях, страдающих этой наследственной болезнью; 4) и, наконец, того, что каждое из обнаруженных нарушений в гене ТнТ затрагивает консервативные последовательности белка, что в конечном итоге приводит к значительным структурным и функциональным альтерациям.

Сравнительный анализ показывает, что, как и у лиц с мутациями в гене сердечной изоформы тяжелых цепей миозина, у пациентов с мутациями в гене ТнТ миокарда существует высокий риск

умереть, не дожив до 30 лет [34]. При этом очень высок процент случаев внезапной остановки сердца. Мутации в гене сердечного ТнТ приводят к утолщению стенок левого желудочка [34], как и исследованные ранее шесть различных мутаций в гене тяжелых цепей сердечного миозина [35]. Отмечается, что степень гипертрофии стенки желудочка несколько меньше при наличии мутаций в гене ТнТ, чем при таковых в гене тяжелых цепей миозина. В публикации [36] показано, что миссенс-мутация в гене сердечного ТнТ (Arg92Gln) ослабляет сократимость миокарда человека. Наиболее часто при ГКМП обнаруживаются мутации в генах тяжелых цепей миозина и ТнТ [36]. Согласно [34], приблизительно 30 % ГКМП вызывается мутациями в гене тяжелых цепей миозина, 15 % — мутациями в гене ТнТ и только 3 % — мутациями в гене α -ТМ. Данные японских исследователей, однако, свидетельствуют в пользу более высокого процента случаев ГКМП, связанных с мутациями в гене α -ТМ (около 5 %) [38]. В этой же работе отмечено, что различные мутации в гене α -ТМ имели удивительно сходные клинические проявления. Такое одинаковое действие мутаций может отражать общий внутриклеточный механизм, посредством которого нарушения тонкой филаменты запускают клеточную гипертрофию. С указанными мутациями и, как следствие, возможными изменениями структуры α -ТМ исследователи связывают повышенный уровень антител в сыворотках пациентов с ГКМП.

До сих пор остаются неизвестными механизмы, лежащие в основе мутаций генов, кодирующих саркомерные белки. Кроме мутаций в генах сократительных белков, ГКМП, возможно, возникает как результат нарушений в экспрессии отдельных изоформ ТнТ. Например, у морских свинок имеются четыре изоформы сердечного ТнТ, от ТнТ₁ до ТнТ₄, названные по мере уменьшения молекулярной массы [39]. При искусственной индукции ГКМП у этих животных на электрофореграмме был замечен отчетливый сдвиг ТнТ₁ и ТнТ₂ в сторону более легких ТнТ₃ и ТнТ₄. Относительно сердечного ТнI в этом же эксперименте замечено увеличение интенсивности полосы данного белка на электрофореграмме. У морских свинок известна только одна изоформа ТнI. У людей с врожденным пороком сердца также отмечено нарушение нормальной экспрессии соответствующих изоформ ТнТ в сердечной мышце [28]. Подобно сердцу морской свинки сердце человека экспрессирует четыре изоформы ТнТ (ТнТ₁—ТнТ₄), в которых различия в аминокислотной последовательности являются результатом альтернативного сплайсинга

мРНК. Как и у других млекопитающих, экспрессия изоформ сердечного ТнТ у человека имеет высоко-развитую систему регуляции. ТнТ₁ в основном экспрессируется в эмбриональном периоде развития и в очень незначительной степени — у взрослого человека. Тяжелые нарушения сердечной деятельности могут быть связаны с повышенной экспрессией ТнТ₁ в миокарде [28]. При миокардиальных поражениях у человека возможно частичное разрушение структуры миофибриллы и всего кардиомиоцита. Результатом подобного разрушения является поступление белков миоцита в кровяное русло. Некоторые из них выступают маркерами миокардиального поражения. При ишемической болезни сердца такими маркерами являются миоглобин, изоэнзим креатин-киназы СК-МВ и сердечные ТнТ и ТнI [29, 40]. Миоглобин — белок, который довольно рано выходит в кровоток при остром инфаркте миокарда. Этот маркер некроза миокарда появляется в течение трех часов после начала заболевания [39]. Недостатком его как маркера является наличие белка и в сердечной, и в скелетной мышцах. Изоэнзим креатин-киназы СК-МВ — более приемлемый маркер в определении острого инфаркта миокарда, нежели миоглобин. Он обладает такими свойствами, как высокая специфичность и чувствительность для постановки диагноза [42]. В то же время белок появляется спустя 8—12 ч после проявления симптомов болезни [43] и также не является кардиоспецифическим [44]. Поэтому понятен интерес в получении кардиоспецифических маркеров, таких как ТнI и ТнТ. Против этих белков можно получить моноклональные антитела с очень низкой перекрестной реактивностью с соответствующими изоформами в скелетной мышце [45]. ТнС не может быть кардиоспецифическим маркером поражения сердечной мышцы, поскольку его аминокислотная последовательность идентична в скелетных и сердечной мышцах [46].

ТнТ — высокочувствительный маркер поражения миокарда при остром инфаркте и ишемических поражениях сердца [40]. Показано, что пациенты, страдающие ишемией и имеющие высокий уровень сердечного ТнТ в крови, характеризуются очень плохим прогнозом. Уровень сердечного ТнТ, измеренный в течение 2 ч после появления симптомов заболевания, является мощным независимым маркером для выявления лиц с острым ишемическим синдромом [47]. В кратком обзоре роли ТнТ как маркера миокардиального поражения [48] подчеркнуты особенно ценные свойства белка, такие как кардиоспецифичность и длительность нахождения в кровяном русле. У детей, как и у взрослых,

повышение уровня сердечного ТнТ в крови свидетельствует о тяжелых поражениях миокарда [49]. Имеются данные об освобождении в кровь ТнТ после пересадки сердца [50]. Сердечный ТнТ отделяется от трансплантата в течение первых трех месяцев после пересадки. В работе [29] изучали взаимосвязь между повышением уровня сердечного ТнТ в крови и возможными внезапными нарушениями при болезни коронарных артерий. При повышенном уровне ТнТ в крови увеличивается вероятность внезапных сердечных приступов.

Изложенные выше данные неопровержимо свидетельствуют в пользу того, что сердечный ТнТ является индикатором поражений миокарда при различных патологиях сердца. Кроме ТнТ, информативным маркером сердечных заболеваний является и сердечный ТнI [30, 31, 51—54]. В работе [51] проведено сравнение значений сердечных ТнI и ТнI у одной и той же группы людей, страдающих болезнью коронарных артерий. Обнаружена близкая корреляция между значениями ТнТ и ТнI, что подтверждает предположение об одновременном повышении уровня этих маркеров во время развития патологических процессов в миокарде.

При индуцированной ишемической болезни сердца у крыс в сыворотке крови наблюдалось наличие таких белков, как легкие цепи миозина, α -актинин и сердечный ТнI (а также С-концевой фрагмент ТнI) [53]. Авторы отмечают, что в сердце, пораженном ишемией, затрагиваются как структурные, так и регуляторные белки саркомера, возможно, вследствие их разрушения и/или отделения от миофиламенты. Наличие С-концевого фрагмента ТнI в крови может свидетельствовать именно в пользу разрушения белка в результате ишемического поражения. Разные авторы отмечают корреляцию течения сердечных патологий с поступлением определенных белков в кровоток. α -Актинин теряется миофиламентой даже при легком течении ишемии, тяжелые формы болезни наблюдаются при отделении легких цепей миозина и сердечного ТнI. При разрушении С-конца ТнI и N-конца легких цепей миозина наблюдается изменение Ca^{2+} -чувствительности миофиламенты. Специфичность сердечного ТнI для определения миокардиального поражения может быть даже выше, чем сердечного ТнТ [55]. Повышение уровня сердечного ТнI наблюдается при поражении миокарда и отсутствует у пациентов с острым или хроническим поражением скелетных мышц [30]. Сердечный ТнТ, хотя и является чувствительным маркером миокардиального некроза, проявляет меньшую специфичность [56].

В нашей лаборатории в течение ряда лет изу-

чается возможная роль изменения сократительных белков миокарда в развитии дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) — тяжелой сердечной патологии неясной этиологии, характеризующейся расширением левого желудочка, гибелью кардиомиоцитов и фиброзом миокарда. Из всех известных на сегодня кардиомиопатий ДКМП распространена наиболее широко. Болезнь чаще всего поражает лиц мужского пола в трудоспособном возрасте (20—50 лет). В 75 % случаев болезнь приводит к смерти в течение 5 лет [58]. Предполагается, что ДКМП может быть следствием ряда причин — как на уровне «поломок» генома, так и белков миофибриллы. Факты, накопленные в последнее время, бесспорно свидетельствуют в пользу участия аутоиммунных процессов в развитии данной патологии. Согласно последней классификации ВОЗ, одной из причин возникновения ДКМП являются иммунные нарушения [72]. Наличие аутоантител к сердечному миозину и актину при ДКМП на сегодня не вызывает сомнения [61—63]. Нами также установлено, что в отличие от ГКМП, при которой наблюдаются мутации в гене α -ТМ и, как следствие, повышается уровень анти- α -ТМ-антител, в сыворотках крови больных ДКМП циркулирующих аутоантител к α -ТМ практически не обнаружено. Это может быть результатом отсутствия существенных структурных изменений α -ТМ при ДКМП, способных приводить к изменению его иммуногенности [64].

На сегодня не выявлено никаких мутаций в гене α -ТМ при ДКМП. Тропомиозин — чрезвычайно консервативный белок, его структура и последовательность аминокислотных остатков в полипептидных цепях мало чем отличаются друг от друга у видов, филогенетически далеко отстоящих друг от друга. Вероятнее всего, ТМ не является мишенью для аутоиммунной агрессии при дилатации. Это косвенно подтверждается практически полным отсутствием в литературе данных относительно наличия циркулирующих аутоантител к ТМ при сердечно-сосудистых патологиях. Имеются публикации по обнаружению аутоантител к данному белку при острой ревматоидной лихорадке [65]. Но вопрос о роли ТМ в развитии данного заболевания остается открытым, так как аминокислотная последовательность и α -спиральная структура белка М6 клеточной стенки стрептококка имеет высокую гомологию с ТМ и миозином. К тому же авторы [66] недавно обнаружили множественные эпитопы у антител к М6 белку, перекрестно реагирующие и с ТМ, и с миозином миокарда.

Что происходит с белками тропонинового комплекса при ДКМП, еще предстоит выяснить. При

миокардитах повышается уровень сердечного ТнI в сыворотке крови, причем ТнI является в данном случае лучшим маркером миокардиального поражения, чем креатин-киназа [52]. Повышение уровня ТнI наблюдается в течение первого месяца с момента развития миокардита. Учитывая, что миокардиты часто трансформируются в ДКМП [68], можно предположить, что изменения регуляторных белков сократительного аппарата миокарда играют не последнюю роль в развитии ДКМП. Имеются данные о наличии в сыворотках крови больных высоких уровней сердечного ТнТ [69]. Повышение концентрации этого белка в крови у пациентов с ДКМП свидетельствует о миоцитарном поражении. Малейшие нарушения в структуре и функционировании тропонинового комплекса могут привести к серьезным последствиям в работе миофибриллы и миокарда в целом. Исследование этих белков и выяснение их роли в развитии ДКМП может пролить свет на вопрос о возникновении этой патологии и облегчить поиск антигенов-мишеней при данном заболевании. Это может служить наряду с дальнейшим углубленным изучением миозина как аутоантигена при развитии ДКМП хорошей базой для разработки диагностикума ранней стадии указанной патологии, а также для поиска новых подходов в ее лечении.

О. М. Федоркова, Л. Л. Сидорик

Структурно-функціональні зміни тропоміозин-тропонінового комплексу регуляторних білків кардіоміоциту при розвитку серцевих патологій

Резюме

Зроблено огляд літературних та отриманих авторами даних відносно можливої ролі комплексу регуляторних білків міофібрили кардіоміоциту (тропоміозину та тропонінів) при розвитку серцевих патологій. Розглянуто значення тропоміозину та тропонінів у патогенезі дилатативної кардіоміопатії.

O. M. Fedorkova, L. L. Sidorik

Structural and functional modification of the regulatory tropomyosin-troponin protein complex of cardiac myofilaments during heart diseases development

Summary

The review summarizes literature and authors data about the role of tropomyosin and troponin complex from cardiac myofilaments during heart diseases development. The role of tropomyosin and troponins in dilated cardiomyopathy pathogenesis was discussed.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Farah C. S., Reinach F. C. The troponin complex and regulation of muscle contraction // FASEB J — 1995. — 9. — P. 755—767.
2. Иванов И. И., Коровкин Б. Ф., Пинаев Г. П. Мышечное сокращение. — М.: Медицина, 1977. — 344 с.

3. Ferah C. H., Miyamoto C. A., Ramos C. H. I., Silva C. R., Quaggio R. B., Fujimori K., Smillie L. B., Reinach F. C. Structural and regulatory functions of the NH₂- and COOH-terminal regions of skeletal muscle troponin I // *J. Biol. Chem.*—1994.—269.—P. 5230—5240.
4. Rethinasamy R., Muthuchamy M., Hewett T., Boivin G., Wolska B. M., Evans C., Solero R. J., Weisorek D. F. Molecular and physiological effects of α -tropomyosin ablation in the mouse // *Circ. Res.*—1998.—82.—P. 116—123.
5. Betteridge D. R., Lehrer S. S. Two conformational states of diiodansyl-cystin-labeled rabbit cardiac tropomyosin // *J. Mol. Biol.*—1983.—167.—P. 481—496.
6. Muthuchamy M., Pajak L., Howles P., Doetschman T., Wiczorek D. F. Developmental analysis of tropomyosin gene expression in embryonic stem cells and mouse embryos // *Mol. Cell Biol.*—1993.—13.—P. 3311—3323.
7. Ebashi S., Kodama A. J. // *Biochemistry.*—1965.—58.—P. 107.
8. Greaser M. L., Gergely J. Reconstitution of troponin activity from three protein components // *J. Biol. Chem.*—1971.—246.—P. 4226—4233.
9. Greaser M. L., Gergely J. Purification and properties of the components from troponin // *J. Biol. Chem.*—1973.—248.—P. 2125—2133.
10. Пармяков Е. А. Парвальбумин и родственные кальций-связывающие белки.—М.: Наука, 1985.—192 с.
11. Potter J., Gergely J. The calcium and magnesium sites on troponin and their role in the regulation of myofibrillar adenosine triphosphate // *J. Biol. Chem.*—1975.—250.—P. 4628—4633.
12. Setuskar K. A., Rao S. T., Pylaska D. Refined structure of chicken skeletal muscle troponin C in the two-calcium state at 2 Å resolution // *J. Biol. Chem.*—1988.—263.—P. 1628—1647.
13. Johnson J. D., Potter J. D. Detection of two classes of Ca²⁺-binding sites in troponin C with circular dichroism and tyrosine fluorescence // *J. Biol. Chem.*—1978.—253.—P. 3775—3777.
14. Potter J. D., Johnson J. D., Mandel F. Calcium binding proteins: relationship of binding, structure, conformation and biological functions // *Calcium binding proteins and calcium function.*—New York: North-Holland, 1977.—P. 239—250.
15. Malnic B., Reinach F. C. Assembly of functional skeletal muscle troponin complex in *E. coli* // *Eur. J. Biochem.*—1994.—222.—P. 49—54.
16. Talbot J. A., Hondes R. S. Synthetic studies on the inhibitory region of rabbit skeletal troponin I // *J. Biol. Chem.*—1981.—256.—P. 2798—2802.
17. Murphy A. M., Lawrence J., Sims H. F., Strauss A. W. Molecular cloning of rat cardiac troponin I isoforms expression in developing rat heart // *Biochemistry.*—1991.—30.—P. 707—712.
18. Zeng R., Zhao J., Madveno A., Potter J. D. Cardiac troponin I phosphorylation increases the rate of cardiac muscle relaxation // *Circ. Res.*—1995.—76.—P. 1028—1035.
19. Johnson J. D., Charlton S. C., Potter J. D. A fluorescence stopped flow analysis of Ca²⁺ exchange with troponin C // *J. Biol. Chem.*—1979.—254.—P. 3497—3502.
20. Robertson S. P., Johnson J. D., Potter J. D. The time-course of Ca²⁺ exchange with calmodulin, troponin, parvalbumin and myosin in response of transient increases in Ca²⁺ // *Biophys. J.*—1981.—34.—P. 559—569.
21. Johnson J. D., Nakkula R. J., Vasulka C., Smillie L. B. Modulation of Ca²⁺ exchange with the Ca²⁺-specific regulatory sites of troponin C // *J. Biol. Chem.*—1994.—269.—P. 8919—8923.
22. Mesnard L., Logeart D., Taviaux S., Diriong S., Mercadier J.-J., Samson F. Human cardiac troponin I: cloning and expression of new isoforms in the normal and failing heart // *Circ. Res.*—1995.—76.—P. 687—692.
23. Greig A., Hirschberg Y., Anderson A. W., Hainsworth C., Malouf N. N., Oakeley A. E., Kay B. K. Molecular basis of cardiac troponin T isoform heterogeneity in rabbit heart // *Circ. Res.*—1994.—74.—P. 41—47.
24. Hunkeler N. M., Kullman J., Murphy A. M. Troponin I isoforms expression in human heart // *Circ. Res.*—1991.—69.—P. 1409—1414.
25. Gulati J., Scorditis S., Babu A. Effects of troponin C on the cooperativity in Ca²⁺-activation of cardiac muscle // *FEBS Lett.*—1988.—236.—P. 441—444.
26. Blanchard E. M., Iizuka K., Christe M., Conner D. A., Geisterfer-Lowrance A., Schoe F. J., Maughan D. W., Seidman C. E., Seidman L. J. Targeted ablation of the murine α -tropomyosin gene // *Circ. Res.*—1997.—81.—P. 1005.
27. MacLeod A. R., Gooding C. Human α -TM gene: expression in muscle and nonmuscle tissue // *Mol. and Cell. Biol.*—1998.—8.—P. 433—440.
28. Saba Z., Nasar R., Ungerleider R. M., Oakey A. E., Anderson A. W. Cardiac troponin T isoform expression correlates with pathophysiological descriptors in patients who underwent correlative surgery for congenital heart disease // *Circulation.*—1996.—94.—P. 472—476.
29. Lindahl B., Venge P., Wallentin L. Relation between troponin T and the risk of subsequent cardiac events in unstable coronary artery disease // *Circulation.*—1996.—93.—P. 1651—1657.
30. Galvani M., Ottani F., Ferrini D., Ladenson J. H., Destro A., Baccos D., Rusticali F., Jaffe A. S. Prognostic influence of elevated values of cardiac troponin I in patients with unstable angina // *Circulation.*—1997.—95.—P. 2053—2059.
31. Antman E. M., Tanasijevic M. J., Thompson B. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes // *New Engl. J. Med.*—1996.—335.—P. 1342—1349.
32. Jin J.-P., Huang Q.-Q., Yeh H., Lin J. C. Complete nucleotide sequence and structural organization of rat cardiac troponin T gene // *J. Biol. Chem.*—1992.—267.—P. 1269—1276.
33. Thierfelder L., Watkins H., MacRae C. α -Tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of sarcomere // *Cell.*—1994.—77.—P. 701—712.
34. Watkins H., McKenna W. J., Thierfelder L., Suk H. J., Anan R., Donoghue A., Spirito P., Matsumori A., Moravec C. S., Seidman J. G., Seidman C. Mutations in the genes for cardiac troponin T and α -tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy // *New Engl. J. Med.*—1995.—332.—P. 1058—1063.
35. Solomon S., Wolf S., Watkins H. et al. Left ventricular hypertrophy and morphology in familial hypertrophic cardiomyopathy associated with mutations of the beta-myosin heavy chain gene // *J. Amer. Coll. Cardiol.*—1993.—22.—P. 498—505.
36. Marian A. J., Zhao G., Seta Y., Roberts R., Yu Q. Expression of a mutant (Arg92Gln) human cardiac troponin T, known cause hypertrophic cardiomyopathy, impairs adult cardiac myocyte contractility // *Circ. Res.*—1997.—84.—P. 76—85.
37. Forissier J.-F., Carrier L., Farza H. Codon 102 of the cardiac troponin T gene is a putative hot spot for mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy // *Circulation.*—1996.—94.—P. 3069—3073.
38. Yamauchi-Takahara K., Nakajima-Taniguchi Ch., Matsui H., Fuijio Y., Kunisada K., Nagata S., Kishimoto. Clinical implications of hypertrophic cardiomyopathy associated with mutation in the α -tropomyosin gene // *Heart.*—1996.—76.—P. 63—65.

39. Gulati J., Akella A., Nikolic S., Sart V., Siri F. Shifts in contractile regulatory protein subunits troponin T and troponin I in cardiac hypertrophy // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1994.—202.—P. 384—390.
40. Alonozana L., Christerson R. H. The case for cardiac troponin T: marker for effective risk stratification of patients with acute cardiac ischemia // *Clin. Chem.*—1996.—42.—P. 803—808.
41. Brodgan G. X., Friedman S., McCuskey et al. Evaluation of a new rapid quantitative immunoassay for serum myoglobin versus CK-MB for ruling out acute myocardial infarction in the emergency department // *Ann. Emerg. Med.*—1994.—24.—P. 665—671.
42. Gilber W. B., Runyon J. P., Levy R. S. et al. A rapid diagnostic and treatment center for patients with chest pain in the emergency department // *Ann. Emerg. Med.*—1995.—25.—P. 1—8.
43. Lott L. A., Stang J. M. Differential diagnosis of patients with abnormal serum creatine kinase isoenzymes // *Clin. Lab. Med.*—1989.—9.—P. 627—642.
44. Apple A. F. Acute myocardial infarction and coronary reperfusion. Serum cardiac markers for the 90's // *Amer. J. Clin. Pathol.*—1992.—97.—P. 217—226.
45. Werf F. V. Cardiac troponins in acute coronary syndromes // *New Engl. J. Med.*—1996.—335.—P. 1388—1389.
46. Wu A. H. Cardiac troponin T: biochemical, analytical and clinical aspects // *J. Clin. Immunoassay.*—1994.—17.—P. 45—48.
47. Ohman E. M., Armstrong P. W., Christerson R. H. Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia // *New Engl. J. Med.*—1996.—335.—P. 1333—1341.
48. Katus H. A., Remppis A., Looser S., Hallermeier K., Schefold T., Kubler W. Enzyme linked immunoassay of cardiac troponin T for detection of acute myocardial infarction in patients // *J. Mol. Cell Cardiol.*—1989.—21.—P. 1349—1353.
49. Lipschutz S. E., Rifai N., Sallan S. E., Lipsitz S. R., Dalton V., Sacks D. B., Ottinger M. E. Predictive value of myocardial injury // *Circulation.*—1997.—96.—P. 2641—2648.
50. Zimmermann R., Baki S., Dengler T. J., Ring G. H., Remppis A., Lunge R., Hagl S., Kubler W., Katus H. A. Troponin T release after heart transplantation // *Brit. Heart J.*—1993.—69.—P. 395—398.
51. Luchler M. S., Thygezen K., Ravkilde J., Heickendorf L. Applicability of cardiac troponins T and I for early risk stratification in unstable coronary artery disease // *Circulation.*—1997.—96.—P. 2578—2585.
52. Smith S. C., Laderson J. H., Mason J. W., Jaffe A. S. Elevation of cardiac troponin I associated with myocarditis // *Circulation.*—1997.—95.—P. 163—168.
53. VanEyck J. E., Powers F., Law W., Larue C., Hodges R. S., Solaro R. J. Breakdown and release of myofilament proteins during ischemia and ischemia/reperfusion in rat hearts // *Circ. Res.*—1998.—82.—P. 261—271.
54. Gao W. D., Atar D., Lui Y., Perez N. G., Murphy A. M., Marban E. Role of troponin I proteolysis in the pathogenesis of stunned myocardium // *Circ. Res.*—1997.—80.—P. 393—399.
55. Lofler M., Tahtala R., Harkonen M. et al. Cardiac troponins in severe rhabdomyolysis // *Clin. Chem.*—1996.—42.—P. 1120—1121, letter.
56. Li D., Keffer J., Corry K. et al. Nonspecific elevation of troponin T levels in patients with chronic renal failure // *Clin. Biochem.*—1995.—28.—P. 474—477.
57. Siegel A. J., Sholar M., Yang J., Dhanak E., Levandrovski K. B. Elevated serum cardiac markers in asymptomatic marathon runners after competition // *Cardiology.*—1997.—88.—P. 487—491.
58. Durand J.-B., Bachinski L. L., Bieling L. C. Localization of a gene responsible for dilated cardiomyopathy to chromosome 1q32 // *Circulation.*—1995.—92.—P. 3387—3389.
59. Limas C. J., Goldenberg I. F., Limas C. Autoantibodies against β -adrenoreceptors in human idiopathic dilated cardiomyopathy // *Circ. Res.*—1989.—64.—P. 97—103.
60. Latif N., Baker C. S., Dunn M. J., Rose M. L., Brady P., Yacoub M. N. Frequency and specificity of antiheart antibodies in patients with dilated cardiomyopathy detected using SDS-PAGE and Western blotting // *J. Amer. Coll. Cardiol.*—1993.—22.—P. 1378.
61. Caforio A. L. P., Goldman J. H., Baig M. K., Haven A. J., Libera L. D., Keeling P. J., McKenna W. J. Cardiac autoantibodies in dilated cardiomyopathy become undetectable with disease progression // *Heart.*—1997.—77.—P. 62—67.
62. Caforio A. L. P., Grazzini M., Mann J. M., Keeling P. J., Bottazzo G. F., McKenna W. J. Identification of the α - and β -myosin heavy chain isoforms as major autoantibodies in dilated cardiomyopathy // *Circ.*—1992.—85.—P. 1734—1742.
63. Sidorik L. L., Rodnin N. V., Bobyk V. I., Ryabenko D. V., Veberov A. V., Tkachenko T. Yu., Matsuka G. Kh. Investigation of autoantibodies directed against tissue-specific myocardial antigens in dilated cardiomyopathy // *Биополимеры и клетка.*—1995.—11.—С. 81—86.
64. Сидорик Л. Л., Федоркова О. М., Ковеня Т. В., Бобык В. И., Роднин Н. В., Мацука Г. Х. Структурно-функциональное изучение тропомиозина миокарда как аутоантигена при дилатационной кардиомиопатии // *Биополимеры и клетка.*—1998.—14.—С. 203—209.
65. Khanna A. K., Nomura Y., Fischetti V. A., Za'riskie J. B. Antibodies in the sera of acute rheumatic fever patients bind to human cardiac tropomyosin // *J. Autoim.*—1997.—10.—P. 99—106.
66. Sargent J. S., Beachy E. H., Corbett C. E., Dale J. B. Sequence of protective epitops of streptococcal M protein shared cardiac sarcolemmal membranes // *J. Immunol.*—1987.—139.—P. 1285—1290.
67. Solaro J. R., Rarick H. M. Troponin and tropomyosin. Proteins, that switch on and tune in the activity of cardiac myofilaments // *Circ. Res.*—1998.—83.—P. 471—480.
68. Мусеев В. С. Кардиомиопатии и миокардиты // *Кардиология.*—1996.—36.—С. 74—85.
69. Sato Y., Kataoka K., Matsumori A., Sasayama S., Yamada T., Ito H., Takatsu Y. Measuring serum aminoterminal peptide type III procollagen, 7S domain type IV collagen, and cardiac troponin T in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy and secondary cardiomyopathy // *Heart.*—1997.—78.—P. 505—508.
70. Humphrys J. E., Cummins P. Regulatory proteins of the myocardium atriari and adult bovine and human heart // *J. Mol. Cell Cardiol.*—1984.—16.—P. 643—657.
71. Tobacman L. S. Thin filament-mediated regulation of cardiac contraction // *Annu. Rev. Physiol.*—1996.—58.—P. 447—481.
72. Richardson P., McKenna W., Bristow W., Maisch B., Mautner B., O'Connell J., Olsen E., Thiene G. Report of the 1995 World Health Organization/Int. Soc. and Fed. of Cardiol. Task Force of the definition and classification of cardiomyopathies // *Circulation.*—1996.—93.—P. 841—842.

УДК 577.152

Поступила в редакцию 12.05.99