

РОЛЬ ФИЛАМИНА С В МЫШЕЧНЫХ КЛЕТКАХ

Обзор

© 2024 Д.В. Голиусова^{1,2*}, М.Ю. Шарикова¹, К.А. Лаврентьева¹, О.С. Лебедева¹,
Л.К. Муранова³, Н.Б. Гусев³, А.Н. Богомазова¹, М.А. Лагарькова¹

¹ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
имени академика Ю.М. Лопухина ФМБА России, 119435 Москва, Россия;
электронная почта: daria.goliusova@mail.ru

² Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, 119334 Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 13.06.2024

После доработки 02.07.2024

Принята к публикации 14.08.2024

Филамин С (FLNC) является представителем семейства высокомолекулярных белков, связывающих актиновые филаменты в составе цитоскелета различных типов клеток. В геноме человека FLNC кодируется геном *FLNC*, который расположен на 7-й хромосоме и экспрессируется преимущественно в скелетных и сердечных мышечных клетках. Филамин С участвует в организации и стабилизации трехмерной сети тонких нитей актина в саркомерах и, как предполагается, выполняет роль механосенсора, передающего механические сигналы к различным белковым мишеням. Под действием механического стресса FLNC может утрачивать правильную структуру, что повышает риск его агрегации. Молекулы FLNC с нарушенной нативной структурой могут утилизироваться путем BAG3-опосредованной шаперон-зависимой селективной аутофагии. Мутации гена *FLNC* могут сопровождаться изменениями во взаимодействии FLNC с белками-партнерами и приводить к формированию агрегатов, что перегружает системы аутофагии и протеасомной деградации белков, вследствие чего развиваются различные патологические процессы. Молекулярные механизмы *FLNC*-ассоциированных наследственных заболеваний, называемых филаминопатиями, остаются недостаточно изученными. Данный обзор посвящен анализу структуры и механизмам функционирования филамина С в скелетных и сердечных мышечных клетках в норме и при патологиях, связанных с мутациями гена *FLNC*. Представленные сведения суммируют результаты, полученные на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях, и позволяют наметить перспективные пути дальнейшего изучения патогенетических механизмов филаминопатий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: филамин С, филаминопатия, аутофагия, протеостаз, ИПСК, кардиомиоциты.

DOI: 10.31857/S0320972524090029 EDN: JKCGOZ

ВВЕДЕНИЕ

Филамин С (filamin C, FLNC), наряду со своими гомологами филамином А (FLNA) и филамином В (FLNB), составляют семейство высокомолекулярных белков, связывающих актиновые филаменты в составе цитоскелета различных

клеток млекопитающих [1]. В отличие от паралогичных генов *FLNA* и *FLNB*, которые экспрессируются практически во всех типах соматических клеток, ген *FLNC* экспрессируется у человека преимущественно в скелетных и сердечных мышечных клетках (далее – мышечных клетках), хотя низкий уровень его экспрессии наблюдался

Принятые сокращения: ИПСК – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки; КМ – кардиомиоциты; ИПСК-КМ – кардиомиоциты, дифференцированные из ИПСК; CASA – шаперон-зависимая селективная аутофагия; FLNC, FLNA и FLNB – филамины С, А и В; Hsp – белки теплового шока; LOF и non-LOF – мутации с потерей и без потери функции белка соответственно.

* Адресат для корреспонденции.

и в других типах клеток [2]. В эмбриональном развитии млекопитающих ген *Flnc* экспрессируется, начиная с ранних стадий дифференцировки миоцитов, и играет важную роль в миогенезе и закладке миокарда [3]. Тотальный и кардиомиоцит-специфичный нокауты гена *Flnc* у мышей приводят к внутриутробной гибели эмбрионов из-за нарушения структурной целостности миокарда желудочков. Индуцибельный нокаут гена *Flnc* во взрослом сердце мышей также летален ввиду обширного фиброза миокарда и стремительного развития симптомов дилатационной кардиомиопатии [3, 4]. У пациентов с наследственными филаминопатиями мутации, как правило, находятся в гетерозиготном состоянии. Мутации в гене *FLNC* приводят к развитию разных типов скелетных и сердечных миопатий: миофибриллярной скелетной миопатии [5, 6], дистальной скелетной миопатии [7], гипертрофической [8], дилатационной [9], аритмогенной [10] и рестриктивной кардиомиопатиям [11]. Высокую вариабельность клинической симптоматики филаминопатий связывают с типом и положением мутаций в гене *FLNC*. Однако тонкие молекулярные механизмы, лежащие в основе различных наследственных нарушений функционирования *FLNC*, остаются неизвестными. Аминокислотные замены, локализованные в разных доменах *FLNC*, могут приводить к изменению взаимодействия *FLNC* с разными партнерами, и, таким образом, несмотря на то что все мутации касаются гена одного и того же белка, пути развития заболевания в каждом случае могут быть разными. К сожалению, до сих пор не решены многие вопросы, касающиеся структуры, функции и механизмов белок-белковых взаимодействий *FLNC*. Для понимания механизмов патогенеза филаминопатий и поиска адекватных методов терапии требуется глубокое изучение *FLNC* и его участия в различных процессах. В данной работе мы предполагаем провести обзор данных литературы, касающихся изолированного филамина С, его взаимодействия с белками-партнерами, механизмов его функционирования и механосенсорной роли. В отличие от ранее опубликованных обзоров, мы постараемся сопоставить данные, полученные на изолированных белках, с таковыми, полученными на клеточном и тканевом уровнях, и наметить наиболее перспективные пути анализа молекулярных механизмов, лежащих в основе филаминопатий.

СТРУКТУРА ГЕНА *FLNC* И ЕГО БЕЛКОВОГО ПРОДУКТА

У человека ген *FLNC* (NCBI Gene ID: 2318) расположен на длинном плече 7-й хромосомы

в локусе 7q32-35, состоит из 48 экзонов и занимает ~28,8 т.п.н. геномной ДНК [2]. Примерно на 53,6 т.п.н. ниже функционального гена *FLNC* расположен его псевдоген *pseFLNC* (NCBI Gene ID: 392787) в инвертированной ориентации длиной в 1605 п.н. и на 98% идентичный функциональным экзонам 46, 47, 48 и интронам 45 (частично), 46 и 47 гена *FLNC* [12]. Для гена *FLNC* описаны две полноразмерные белок-кодирующие сплайс-изоформы мРНК: каноническая, состоящая из 48 экзонов (NM_001458.5), и неканоническая, состоящая из 47 экзонов (NM_001127487.2). Эти изоформы различаются наличием или отсутствием кассетного экзона (экзон 31), кодирующего шарнирную область (петлю 1) филамина С [2]. В здоровых мышцах кассетный экзон, как правило, исключается при сплайсинге с образованием неканонической (короткой) изоформы, которая кодирует белок с молекулярной массой 287 281 Да, включающий 2692 а.о. (Uniprot, Q14315-2) и не содержащий петли 1. Каноническая (длинная) изоформа кодирует белок с молекулярной массой 291 022 Да, состоящий из 2725 а.о. (Uniprot, Q14315-1) [2]. Сравнительный анализ сплайсинга мРНК в образцах РНК миокарда левого желудочка пациентов с ишемической кардиомиопатией показал повышенную экспрессию длинной изоформы *FLNC* по сравнению со здоровым контролем [13]. Однако, в целом, роль альтернативного сплайсинга *FLNC* недостаточно изучена.

Филамин С содержит в своем составе N-концевой актин-связывающий участок (ABD, actin-binding domain) с двумя кальпонин-гомологичными доменами (CH, calponin homology domain), 24 иммуноглобулин-подобных (Ig, immunoglobulin domain) повторяющихся домена Ig1–24, которые формируют две стержневые (rod) структуры ROD1 (Ig1–15) и ROD2 (Ig16–23), и C-концевой домен димеризации Ig24 (рис. 1, а) [1].

Мономеры *FLNC* взаимодействуют между собой преимущественно за счет контактов, образуемых иммуноглобулин-подобным доменом 24, формируя димер (рис. 1, б) с молекулярной массой ~582 кДа [14]. Стержневые участки ROD1 и ROD2 и домен димеризации Ig24 *FLNC* разделены между собой двумя шарнирными областями, или петлями: петлей 1 на границе доменов ROD1 (Ig15) и ROD2 (Ig16) и петлей 2 на границе домена ROD2 (Ig23) и домена димеризации (Ig24) (см. рис. 1, а). Петля 1 между Ig15 и Ig16 входит в состав только длинной изоформы *FLNC* и, вероятно, обеспечивает большую гибкость белка в условиях стресса. Хотя предполагается, что между доменами Ig15 и Ig16 короткой изоформы *FLNC* тоже может сохраняться некоторая гибкость за счет предполагаемого нарушения β-складчатой структуры домена Ig16 по сравнению с гомоло-

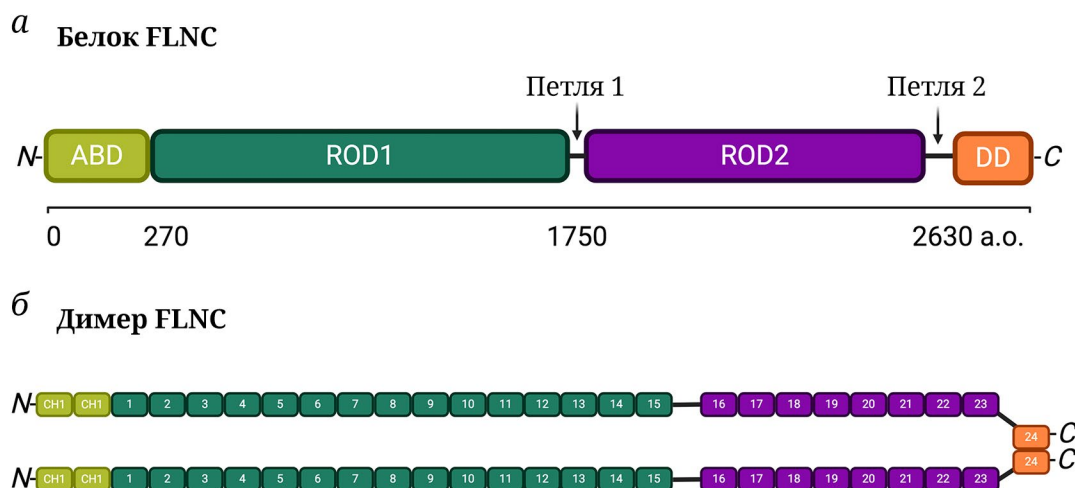


Рис. 1. Структура полипептидной цепи FLNC. *а* – Схема строения мономера FLNC: N-концевой актин-связывающий (ABD) участок (обозначен салатовым цветом), стержневые участки ROD1 (обозначен зеленым цветом) и ROD2 (обозначен фиолетовым цветом), C-концевой домен димеризации (DD, dimerization domain) (обозначен оранжевым цветом), петлевые домены (петля 1, петля 2); а.о. – аминокислотные остатки. *б* – Схема строения димера FLNC: кальпонин-гомологичные домены 1 и 2 (CH1, CH2) в составе ABD-участка; иммуноглобулин-подобные домены 1–15 в составе ROD1-участка; иммуноглобулин-подобные домены 16–23 в составе ROD2-участка; иммуноглобулин-подобный домен 24 в составе домена димеризации. Рисунок создан в BioRender

гичными доменами в составе FLNA и FLNB [15]. Петля 2 между Ig23 и Ig24 позволяет молекулам FLNC изгибаться так, что при гомодимеризации N-концевые домены остаются заякоренными на разных актиновых филаментах и формируется структура, похожая на букву V. Такая форма обеспечивает высокую гибкость димера [16].

ЛОКАЛИЗАЦИЯ И ФУНКЦИИ ФИЛАМИНА С

В зрелых мышечных клетках филамин С локализуется преимущественно в Z-дисках саркомеров, на их периферии, и в меньшем количестве в сарколемме, костамерах и во вставочных дисках вблизи десмосом [17, 18]. В структуре саркомера димеры FLNC связывают два актиновых филамента, участвуют в организации и стабилизации трехмерной сети F-актина и обеспечивают связывание саркомера с сарколеммой [19]. Через свои ROD-домены FLNC взаимодействует с большим числом белковых партнеров. На данный момент в составе интерактома FLNC идентифицировано более 90 белков, среди которых выявлены транскрипционные факторы, рецепторы, внутриклеточные сигнальные молекулы, ионные каналы, цитоскелетные белки с иммуноглобулин-подобными доменами, белки межклеточной адгезии и взаимодействия с внеклеточным матриксом [16, 20]. В составе FLNC большинство сайтов связывания расположены в дистальной части домена ROD2 в иммуноглобулин-подобных доменах Ig16–24 [21]. Интересно, что в составе Ig20 в ROD2-домене FLNC содержится уникальная после-

довательность из 82 а.о., отсутствующая в гомологичных белках FLNA и FLNB. Этот участок может обуславливать взаимодействие с рядом лигандов, специфичных именно для мышечных клеток, например, с миотиллином [22, 23]. Несмотря на внушительный и пополняемый список партнеров FLNC (для более подробной информации см. обзор Mao и Nakamura [16]), структура участков связывания FLNC с белками-партнерами известна только для некоторых его партнеров, например, для интегрин $\beta 2$ [24].

Филамин С играет важнейшую роль в формировании миофибрилл и участвует в восстановлении их повреждений путем стабилизации цитоскелета [23, 25]. В норме FLNC, наряду со своими партнерами, в частности, миотиллином, белками Xin, XIRP2 и шапероном белка теплового шока (heat shock proteins) HspB5, динамично перемещается между Z-дисками, сарколеммой и другими внутриклеточными компартментами в зону повышенной механической нагрузки, участвуя в быстрой репарации микроповреждений миофибрилл [18, 23, 26, 27]. При мутациях гена FLNC, приводящих к укорочению полипептидной цепи, у пациентов наблюдается дезорганизация структуры миофибрилл со значительными изменениями локализации FLNC [28–30]. Предполагается, что значительную роль в поддержании нормальной функции FLNC в мышцах играет один из его партнеров, малый белок теплового шока HspB7, который взаимодействует с доменом димеризации Ig24 FLNC [31, 32]. В регуляции динамического перемещения (мобильности) филамина С важную роль играет его фосфорилирование.

Так, установлено, что филамин гладких мышц может фосфорилироваться под действием Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой протеинкиназы, и такое фосфорилирование ослабляет взаимодействие филамина с актином [33]. Анализ фосфопротеома позволил установить, что при дифференцировке миобластов в миотубы многие белки Z-диска подвергаются фосфорилированию. В их числе находится филамин, фосфорилирование которого под действием протеинкиназы C, затрагивающее остатки серина во втором шарнирном домене (Ser-2626 и -2627), защищает филамин от протеолиза под действием кальпаина-1 [34, 35]. Дифференцировка из миобластов в миотубы сопровождается уменьшением уровня FLNA и одновременно с этим увеличением уровня FLNC [35]. При этом протеинкиназы C и Akt могут фосфорилировать остатки Ser-2233 (2234) и Ser-2236 (2237), расположенные в уникальном участке двадцатого иммуноглобулин-подобного домена (Ig20) FLNC [36]. Фосфорилирование этих остатков уменьшает вероятность взаимодействия FLNC со специальным белком FILIP1 (filamin A interacting protein 1) и защищает филамин от деградации. Активация протеинфосфатаз или ингибирование протеинкиназ приводит к усилению взаимодействия филамина с FILIP1, что увеличивает вероятность убиквитинирования филамина и способствует его деградации путем шаперон-зависимой селективной аутофагии (chaperone-assisted selective autophagy, CASA) [36]. Данные фосфопротеомного анализа свидетельствуют о том, что в структуре FLNC есть как минимум 6 остатков серина (Ser-1528, -2234, -2237, -2621, -2626, -2627), фосфорилируемых различными протеинкиназами и каким-то образом влияющих на структуру и свойства этого белка и, вероятно, на его перемещение в клетке [34].

Филамин C гомологичен филамину A, для которого ранее были показаны механозависимые свойства доменов, расположенных в ROD-участке, а также их способность передавать механический сигнал [22, 37–40]. Поэтому считается, что FLNC также может участвовать в конверсии механических сигналов в биохимические [16, 41]. В 2020 г. в обзорной работе Мао и Nakamura [16] была предложена модель варибельного механохимического связывания белковых партнеров FLNC, основанная на их потенциальном взаимодействии с ROD2-доменами Ig16–21. Эта модель предполагает реорганизацию участков связывания белков-партнеров в ROD2-участке FLNC. Предполагается, что в расслабленном состоянии домены Ig16–21 хорошо организованы и компактны, а механическое воздействие приводит к дестабилизации и разворачиванию структуры этих иммуноглобулин-подобных доменов, что приводит

к смене белковых партнеров, связывающихся с этим участком молекулы FLNC. В недавней работе Deng и Yan [42] были продемонстрированы значительные конформационные изменения ROD2-домена FLNC в ответ на воздействие силы в несколько пиконьютонов (пН). При этом N-концевые домены в составе ROD1 демонстрировали высокую конформационную стабильность [42]. Полученные результаты хорошо согласуются с описанными свойствами стержневых участков FLNA. По данным литературы, для разворачивания доменов, расположенных в ROD2-участке FLNA, достаточно относительно слабых механических сил (~10 пН), а для изменения структуры в области ROD1 необходимы значительно большие усилия величиной от 50 пН [41, 43]. Установлено, что интерфейс димеризации Ig24 поддерживает механическую стабильность молекулы FLNC и обеспечивает реализацию механозависимых конформационных изменений ROD2, необходимых для взаимодействия FLNC с белковыми партнерами и внутриклеточной сигнализации [42]. Таким образом, в настоящее время считается, что в зрелых мышечных клетках FLNC выполняет функцию динамического интегрирующего центра или сигнального адаптера в передаче механических сигналов [18, 19, 24, 44, 45].

КОНТРОЛЬ ЗА СОХРАНЕНИЕМ СТРУКТУРЫ ФИЛАМИНА C

В свете механозависимой сигнальной роли филамина C особо важной представляется проблема поддержания его нативной структуры при механических воздействиях. Различные виды стресса могут влиять на правильное сворачивание (фолдинг) саркомерных белков и приводить к накоплению дефектных конформеров, склонных к образованию нерастворимых агрегатов [46, 47]. Это обуславливает высокую потребность мышечных клеток в поддержании протеостаза, которое реализуется за счет функционирования специальной системы «контроля качества» и деградации денатурированных белков. Эти механизмы включают убиквитин-протеасомную систему деградации и аутофагию, посредством которых клетка удаляет необратимо поврежденные белки и нерастворимые агрегаты. Кроме того, в процессе «контроля качества» важная роль принадлежит молекулярным шаперонам, или белкам теплового шока, которые обеспечивают рефолдинг частично денатурированных белков и/или участвуют в регуляции их избирательной деградации [48].

Молекулы филамина, поврежденные в ходе механических воздействий, являются мишенью для CASA, проходящей с участием ко-шаперона

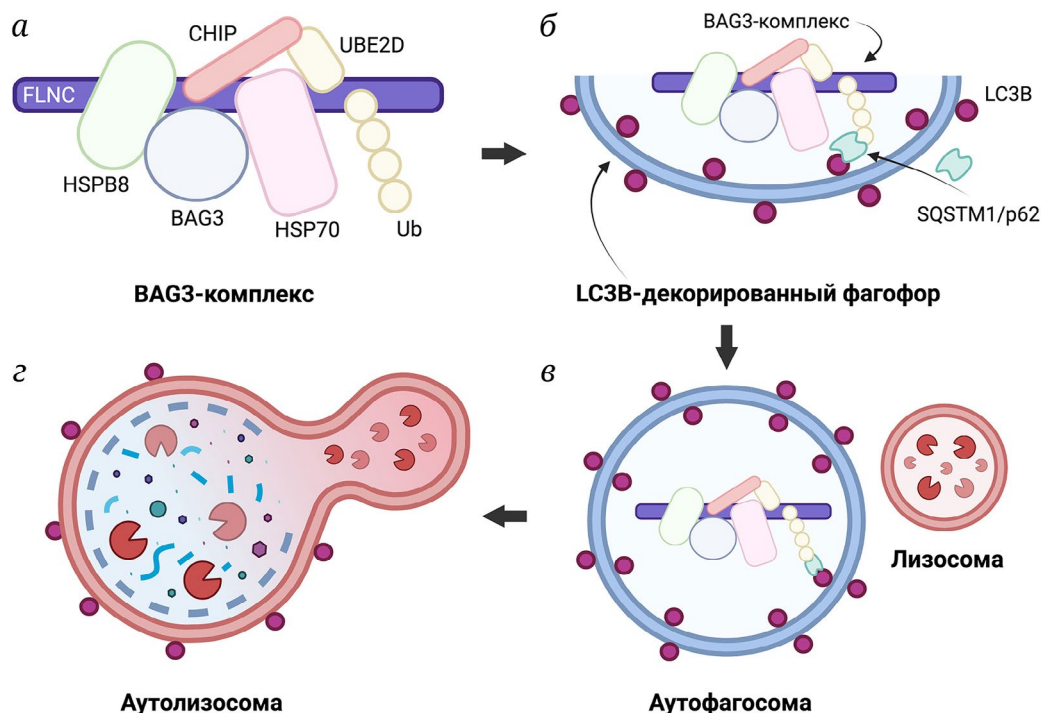


Рис. 2. Деградация поврежденных молекул FLNC в мышечных клетках путем BAG3-опосредованной шаперон-зависимой селективной аутофагии. а – Белковый комплекс BAG3–Hsp70–HspB8–CHIP–p62 (BAG3-комплекс) с убиквитинированным (Ub, ubiquitin) FLNC; BAG3 (BCL2 associated athanogene 3) – атаноген, ассоциированный с BCL2; UBE2D (ubiquitin conjugation enzyme E2D) – убиквитин-конъюгирующий фермент E2D; CHIP (carboxy-terminal Hsp70-interacting protein) – белок, взаимодействующий с С-концом Hsp70, или убиквитин-лигаза E3. б – Связывание BAG3-комплекса с LC3B-декорируемым фагофором; LC3B (microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta) – легкая цепь 3 бета ассоциированного с микротрубочками белка 1; SQSTM1/p62 (sequestosome-1/ubiquitin-binding protein p62) – секвестасома-1/убиквитин-связывающий белок p62. в – Аутофагосома с BAG3-комплексом (слева) и лизосома, содержащая гидролитические ферменты (справа). г – Аутолизосома, образованная слиянием аутофагосомы и лизосомы, с лизированным содержимым. Рисунок создан в BioRender на основе работы Höhfeld et al. [47]

BAG3 [47, 49, 50]. На платформе BAG3 происходит сборка мультикомпонентного белкового комплекса BAG3–Hsp70–HspB8–CHIP–p62 (рис. 2, а), который может располагаться вблизи Z-диска миофибрилл [49]. Мышечные сокращения могут приводить к деформации и частичному изменению структуры механочувствительных доменов Ig18–21 FLNC. Возникшие нарушения узнаются белками теплового шока Hsp70 и HspB8, которые обеспечивают связывание филамина и его встраивание в большой белковый комплекс, собирающийся на платформе BAG3 (рис. 2, а). Сборка такого комплекса позволяет осуществлять либо АТФ-зависимый рефолдинг, обеспечиваемый шаперонами семейства Hsp70 [51–55], либо осуществлять шаперон-зависимый избирательный аутолиз (CASA), если белок-субстрат невозможно ренатурировать. В последнем случае убиквитинлигаза E3 (CHIP), связанная с Hsp70, убиквитинирует белок-субстрат (филамин) при участии убиквитин-конъюгирующего фермента E2D (UBE2D) (рис. 2, а). Далее, происходит рекрутирование адаптера убиквитина SQSTM1/p62, который связывает белковый комплекс, собранный на BAG3, с белком LC3B, рас-

положенным на поверхности фагофоров – предшественников аутофагосом (рис. 2, б) [49]. После формирования аутофагосом (рис. 2, в) происходит их слияние с лизосомами и образование аутолизосом (рис. 2, г).

В мышечных клетках BAG3 вовлечен в регуляцию YAP/TAZ-опосредованной транскрипции филамина. BAG3 способен связывать протеинкиназы LATS1/2 и адаптерный белок AMOTL. Пока эти белки остаются в комплексе с BAG3, протеинкиназы фосфорилируют коактиваторы транскрипции YAP и TAZ, и в силу этого коактиваторы транскрипции остаются в цитозоле и/или подвергаются протеолизу. Поэтому они не попадают в ядро и не влияют на транскрипцию. Накопление денатурированных и убиквитинированных белков приводит к вытеснению AMOTL и LATS1/2 из комплекса с BAG3. Нефосфорилированные YAP и TAZ переходят в ядро и стимулируют транскрипцию филамина, что компенсирует потери филамина за счет его протеолиза и поддерживает необходимый уровень его экспрессии [50, 56].

Деградация филамина С может тонко регулироваться его фосфорилированием, которое,

как правило, защищает филамин от протеолиза (см. выше). Как уже упоминалось, установлено [36], что в зрелых мышечных клетках белок FILIP1 способен связываться с доменом Ig20 FLNC и помогает инициировать систему CASA для деградации дефосфорилированного FLNC. Активация протеинфосфатаз в условиях стресса и вызванное этим дефосфорилирование FLNC может способствовать механизму распознавания частично денатурированных молекул FLNC с участием FILIP1, что обеспечивает дальнейшую селективную деградацию путем аутофагии [36].

В литературе есть довольно разрозненные сведения о том, какие ферменты и адаптерные белки принимают участие в убиквитин-протеасомной деградации филамина. Так, установлено, что филамин может быть субстратом для убиквитинлигазы E3 Ring finger (muscle-specific RING-finger protein-3, MuRF3). При этом нокаут гена *MuRF3*, кодирующего убиквитинлигазу MuRF3, приводит к избыточному накоплению филамина в сердце, что приводит к дегенерации кардиомиоцитов [57]. Вспомогательные белки, относящиеся к семействам KELCH и FBXL22, участвуют в узнавании белков-мишеней убиквитинлигаз и правильной ориентации куллинов и убиквитинлигаз относительно убиквитинируемого белка-мишени. Любопытно, что богатый лейцином адаптерный белок FBXL22 и один из представителей семейства KELCH (KLHL31) узнают FLNC и взаимодействуют с ним, участвуя, таким образом, в направленном убиквитинировании, а значит и в протеасомной деградации этого белка [58, 59].

Установлено связывание механочувствительных доменов Ig18–21 (ROD2) FLNC с малым белком теплового шока HspB1, что может защищать FLNC от чрезмерного разворачивания во время механического стресса [60]. Высказывается предположение [61] о том, что другой малый белок теплового шока, HspB5, также может участвовать в рефолдинге FLNC. Разнообразие механизмов защиты FLNC от чрезмерного растяжения и нарушения конформации под действием механического стресса свидетельствует в пользу важности поддержания его структуры для нормального функционирования. Генетические нарушения, изменяющие нативную структуру филамина C, могут приводить к нарушению протеостаза и изменению работы систем внутриклеточного «контроля качества» и деградации белков.

МУТАЦИИ ГЕНА *FLNC* И ИХ ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ

Ген *FLNC* – один из немногих генов, который сопряжен с развитием как патологий скелет-

ных мышц, так и всех основных типов кардиомиопатий [62]. Зачастую степень тяжести *FLNC*-ассоциированных миопатий зависит от возраста пациентов. Так, педиатрические кардиомиопатии, проявляющиеся в раннем детстве (примерно до 5 лет), протекают, как правило, значительно тяжелее и сопряжены с более неблагоприятным прогнозом по сравнению с кардиомиопатиями взрослых [63–66]. Высокую вариабельность клинических фенотипов филаминопатии связывают с различиями в проявлении мутаций в гене *FLNC* в зависимости от их типа и положения в структуре гена [16, 67–69]. Существенную роль в развитии молекулярного фенотипа филаминопатии может играть изменение характера связывания мутантного FLNC с его белковыми партнерами. Изменения в связывании конкретных партнеров FLNC с последующими молекулярными эффектами может также объяснять разнообразие клинических фенотипов миопатий, наблюдаемых у пациентов [67]. Однако на сегодняшний день в рамках *FLNC*-ассоциированных миопатий не установлены жесткие корреляции «генотип–фенотип». К сожалению, до сих пор слабо изучено влияние мутаций в гене *FLNC* на взаимодействие филамина C с его белковыми партнерами.

Большинство *FLNC*-ассоциированных миопатий вызваны патогенными гетерозиготными нарушениями гена *FLNC* и наследуются по аутосомно-доминантному типу. Чаще всего у пациентов детектируют миссенс-мутации и инделы без потери функции белка (non-loss-of-function, non-LOF). Такие мутации, предположительно, приводят к изменению конформации FLNC, его агрегации и нарушению протеостаза с развитием гипертрофической или рестриктивной кардиомиопатии или скелетной миофибриллярной миопатии [11, 67, 70, 71]. Реже у пациентов детектируют сдвиги рамки считывания и нонсенс-мутации по типу потери функции. Такие LOF-мутации в гене *FLNC* приводят к гаплонедостаточности и развитию дилатационной или аритмогенной кардиомиопатии или дистальной скелетной миопатии с нарушением структуры миофибрилл и атрофией мышц без явной агрегации белков [7, 10, 25, 30]. Хотя, по последним данным, в случае гаплонедостаточности по *FLNC* не исключена возможность агрегации белков и нарушения протеостаза миоцитов [72]. Клинически схоже с LOF-мутациями проявляются мутации актин-связывающего домена FLNC, которые приводят к изменению стехиометрии связывания и увеличению сродства N-концевого домена FLNC к F-актину и сопровождаются развитием дистальной миопатии с атрофией мышц [73].

В редких случаях у пациентов с мутациями *FLNC* диагностируют сочетанные симптомы

сердечно-мышечной патологии [6, 64, 74]. Недавно был описан случай смешанного клинического фенотипа тяжелой гипертрофической кардиомиопатии и рестриктивной кардиомиопатии внутри одной семьи с миссенс-мутацией с.5810T>A:p.Le1937Asn (Ig17, ROD2) в *FLNC* [75]. Помимо этого, на сегодня описаны три тяжелых случая аутосомно-рецессивного наследования филаминопатии типа С. Эти случаи касаются: 1) врожденной миофибриллярной миопатии, вызванной рецессивной гомозиготной мутацией с.1325C>G:p.Pro442Arg (Ig2, ROD1) гена *FLNC* [76]; 2) врожденной дилатационной кардиомиопатии, вызванной компаунд-гетерозиготной мутацией с.318C>G:p.F106L (CH1, ABD) и с.2971C>T:p.R991* (Ig8, ROD1) гена *FLNC* [77] и 3) дилатационной кардиомиопатии, вызванной гомозиготным вариантом с.2122-1G>C сайта сплайсинга гена *FLNC* с проявлением в детском возрасте [78].

Установление корреляции между генотипом и фенотипом для *FLNC*-ассоциированных миопатий ограничено как недостаточностью данных о структуре, функции и конкретных белок-белковых взаимодействиях *FLNC*, так и трудностями моделирования эффектов мутаций *in silico*. Для преодоления последнего ограничения совсем недавно была разработана первая нейронная сеть на основе машинного обучения (AMIVA-F), которая предсказывает влияние миссенс-мутаций на структуру и функции *FLNC* с определением патогенности и фенотипического проявления мутации [79]. Нейросеть опирается на совокупность накопленных клинических и экспериментальных данных по *FLNC*-ассоциированным миопатиям, обладает точностью прогнозирования около 80% и доступна для использования на онлайн-сервере (<https://amiva.msp.univie.ac.at/>). На момент подготовки данного обзора была опубликована одна работа, в которой был использован инструментальный AMIVA-F. Это исследование специалистов из НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова, посвященное анализу клинического и генетического ландшафта российских пациентов с гипертрофической кардиомиопатией [80]. Без сомнения, подобные подходы с использованием современных технологий будут способствовать раскрытию молекулярных механизмов патогенеза филаминопатий.

МУТАЦИИ ГЕНА *FLNC* И ПРОТЕОСТАЗ МЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК

Учитывая высокую представленность филамина С в мышечных клетках, мутации non-LOF в гене *FLNC*, потенциально приводящие к нарушению нативной конформации белка, могут давать

существенную нагрузку на систему поддержания протеостаза из-за накопления агрегатов денатурированного *FLNC* [12, 19, 71, 72]. Агрегаты *FLNC* в комплексе с другими белками детектируют в биопсиях скелетных мышц [12, 81] и миокарда [11] пациентов с non-LOF-вариантами *FLNC*. По-видимому, внутриклеточные механизмы поддержания протеостаза могут какое-то время компенсировать негативное влияние мутаций *FLNC* на оборот белков в Z-диске и поддержание его функции [82]. Считается, что окислительный стресс и изменения в митохондриях постепенно снижают активность систем поддержания протеостаза и ослабляют защиту от накопления агрегатов. В результате происходит накопление мутантного *FLNC* и его партнеров, что приводит к нарушению белкового гомеостаза и негативно влияет на функционирование мышц [82]. В случае гипертрофической кардиомиопатии наблюдают увеличение толщины стенок желудочков, направленное на компенсацию недостаточности функции миокарда, и нарушение расслабления желудочков (диастолическая дисфункция) [83]. В случае рестриктивной кардиомиопатии отмечают повышение жесткости и снижение пластичности стенок желудочков с ограничением (рестрикцией) их кровенаполнения в фазе диастолы, однако, в отличие от гипертрофической кардиомиопатии, явного изменения толщины (гипертрофии) миокарда желудочков сердца не наблюдается [11, 84]. Момент перенасыщения систем белковой деградации в кардиомиоцитах на клеточном уровне может коррелировать с появлением первых симптомов заболевания. Однако такие изменения непросто детектировать как *in vitro*, так и *in vivo*, особенно в сердце. В связи с этим экспериментальные работы в данной области немногочисленны.

На модели миофибриллярной миопатии рыбы *Danio rerio* с мутацией p.W2710X в домене димеризации Ig24 *FLNC* было показано, что в скелетных мышцах мутантный *FLNC* формирует агрегаты, с которыми связывается ко-шаперон BAG3. Эти агрегаты не могут разбираться ни системой CASA, ни какими-то иными путями деградации [85]. Удаление этих агрегатов удалось осуществить либо путем уменьшения экспрессии BAG3, либо путем стимуляции аутофагии рапамицином или карбамазепином [85]. На клеточной модели мышечных миобластов (клеточная линия C2C12) с внесенными миссенс-вариантами p.Pro2298Leu в Ig20 (ROD2) или p.Tyr2563Cys в Ig23 (ROD2) *FLNC*, сопряженными с развитием педиатрической рестриктивной кардиомиопатии, было продемонстрировано нарушение конформации *FLNC* с формированием нерастворимых агрегатов в дифференцированных миобластах [86]. На клеточной модели кардиомиоцитов (КМ),

дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (ИПСК-КМ), было показано, что делеция семи аминокислот в положении p.1668-1674 в Ig15 (ROD1) FLNC приводит к агрегации FLNC, снижению активности процессов аутофагии, перенасыщению аутолизом и стрессу эндоплазматического ретикулаума с признаками гипертрофической кардиомиопатии [87]. В этой же работе был выявлен менее тяжелый клеточный фенотип с проявлениями дилатационной кардиомиопатии в ИПСК-КМ с миссенс-мутацией p.G1674S в Ig15 (ROD1) FLNC без явной агрегации FLNC, но с признаками нарушения протеостаза [87]. Описанные экспериментальные модели подчеркивают роль типа и положения мутации гена *FLNC* в проявлении мутации на молекулярном уровне и демонстрируют пока неясную вариабельность механизмов патогенеза филаминопатий у пациентов с non-LOF-вариантами гена *FLNC*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Филамин С играет важнейшую роль в ранней дифференцировке миоцитов, закладке сердца и работе мышечных клеток млекопитающих. Чаще всего мутации в гене *FLNC*, кодирующем филамин С, приводят к нарушению протеостаза мышечных клеток. Однако в рамках наследственных кардиомиопатий, вызванных non-LOF-мутациями гена *FLNC*, нельзя с уверенностью утверждать, что именно агрегация мутантного FLNC является ключом к разгадке молекулярных механизмов филаминопатии. В будущем таким ключом может стать расшифровка интерактома FLNC и его механозависимых белок-белковых взаимодействий. Отсутствие данных в этой области значительно ограничивает возможности установления корреляции «генотип–фенотип» в филаминопатиях. Удобной экспериментальной моделью для дальнейшего изучения роли FLNC в сердце в норме и патологии являются клеточные 2D- и 3D-культуры кардиомиоцитов, дифференцированных из ИПСК человека. С одной стороны, такие конструкторы моделируют *in vitro* эмбриональное развитие сердца и могут отражать ранние молекулярные события,

лежащие в основе патогенеза заболевания. С другой стороны, при условии успешной разработки способов созревания ИПСК-КМ и органоидов сердца такие клеточные системы могут быть использованы для моделирования филаминопатий с «умеренным» фенотипом и более поздним проявлением патологических изменений. Перспективным представляется комплексный подход, сочетающий в себе как *in vivo* и *in vitro* моделирование патологий сердца, так и изучение структуры и взаимодействий мутантного FLNC *in silico* и *in vitro*. Для реализации подобного синтетического исследования необходимо выявить связи в системе «генотип–фенотип» для каждого конкретного случая *FLNC*-ассоциированной миопатии, в том числе с использованием возможностей современного моделирования *in silico*, и определить с использованием биохимических методов белковые партнеры мутантного филамина С. Для подтверждения обнаруженных закономерностей *in vitro* необходимо усовершенствование клеточных моделей на основе ИПСК. Эти усовершенствования должны коснуться применения изогенных систем и улучшения и совершенствования протоколов созревания кардиомиоцитов. Все это позволит исключить влияние генетического фона доноров клеточного материала и ярче проявить влияние мутации на функционирование кардиомиоцита.

Вклад авторов. Д.В. Голиусова – сбор и анализ литературных источников, написание текста статьи, подготовка иллюстраций; М.Ю. Шарикова, К.А. Лаврентьева – сбор литературных источников, оформление списка литературы; О.С. Лебедева, Л.К. Муранова – редактирование текста статьи; Н.Б. Гусев, А.Н. Богомазова, М.А. Лагарькова – финальное редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-25-00456).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Van der Flier, A., and Sonnenberg, A. (2001) Structural and functional aspects of filamins, *Biochim. Biophys. Acta*, **1538**, 99-117, [https://doi.org/10.1016/S0167-4889\(01\)00072-6](https://doi.org/10.1016/S0167-4889(01)00072-6).
2. Xie, Z., Xu, W., Davie, E. W., and Chung, D. W. (1998) Molecular cloning of human ABPL, an actin-binding protein homologue, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **251**, 914-919, <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9506>.
3. Wu, T., Xu, Y., Zhang, L., Liang, Z., Zhou, X., Evans, S. M., and Chen, J. (2023) Filamin C is essential for mammalian myocardial integrity, *PLoS Genet.*, **19**, e1010630, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010630>.

4. Zhou, Y., Chen, Z., Zhang, L., Zhu, M., Tan, C., Zhou, X., Evans, S. M., Fang, X., Feng, W., and Chen, J. (2020) Loss of filamin C is catastrophic for heart function, *Circ.*, **141**, 869-871, <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044061>.
5. Vorgerd, M., van der Ven, P. F., Bruchertseifer, V., Löwe, T., Kley, R. A., Schröder, R., Lochmüller, H., Himmel, M., Koehler, K., Fürst, D. O., and Huebner, A. (2005) A mutation in the dimerization domain of filamin c causes a novel type of autosomal dominant myofibrillar myopathy, *Am. J. Hum. Genet.*, **77**, 297-304, <https://doi.org/10.1086/431959>.
6. Kley, R. A., Hellenbroich, Y., van der Ven, P. F., Fürst, D. O., Huebner, A., Bruchertseifer, V., Peters, S. A., Heyer, C. M., Kirschner, J., Schröder, R., Fischer, D., Müller, K., Tolksdorf, K., Eger, K., Gerding, A., Brodherr, T., Reum, C., Walter, M. C., Lochmüller, H., Ketelsen, U.-P., and Vorgerd, M. (2007) Clinical and morphological phenotype of the filamin myopathy: a study of 31 German patients: a study of 31 German Patients, *Brain*, **130**, 3250-3264, <https://doi.org/10.1093/brain/awm271>.
7. Guergueltcheva, V., Peeters, K., Baets, J., Ceuterick-de Groote, C., Martin, J. J., Suls, A., De Vriendt, E., Mihaylova, V., Chamova, T., Almeida-Souza, L., Ydens, E., Tzekov, C., Hadjidekov, G., Gospodinova, M., Storm, K., Reyniers, E., Bichev, S., van der Ven, P. F., Fürst, D. O., Mitev, V., Lochmüller, H., Timmerman, V., Tournev, I., De Jonghe, P., and Jordanova, A. (2011) Distal myopathy with upper limb predominance caused by filamin C haploinsufficiency, *Neurology*, **77**, 2105-2114, <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31823dc51e>.
8. Valdés-Mas, R., Gutiérrez-Fernández, A., Gómez, J., Coto, E., Astudillo, A., Puente, D. A., Reguero, J. R., Álvarez, V., Moris, C., León, D., Martín, M., Puente, X. S., and López-Otín, C. (2014) Mutations in filamin C cause a new form of familial hypertrophic cardiomyopathy, *Nat. Commun.*, **5**, 5326, <https://doi.org/10.1038/ncomms6326>.
9. Begay, R. L., Tharp, C. A., Martin, A., Graw, S. L., Sinagra, G., Miani, D., Sweet, M. E., Slavov, D. B., Stafford, N., Zeller, M. J., Alnafaie, R., Rowland, T. J., Brun, F., Jones, K. L., Gowan, K., Mestroni, L., Garrity, D. M., and Taylor, M. R. G. (2016) FLNC Gene Splice Mutations Cause Dilated Cardiomyopathy, *JACC Basic Trans. Sci.*, **1**, 344-359, <https://doi.org/10.1016/j.jacbs.2016.05.004>.
10. Ortiz-Genga, M. F., Cuenca, S., Dal Ferro, M., Zorio, E., Salgado-Aranda, R., Climent, V., Padrón-Barthe, L., Duro-Aguado, I., Jiménez-Jáimez, J., Hidalgo-Olivares, V. M., García-Campo, E., Lanzillo, C., Suárez-Mier, M. P., Yonath, H., Marcos-Alonso, S., Ochoa, J. P., Santomé, J. L., García-Giustiniani, D., Rodríguez-Garrido, J. L., Domínguez, F., Merlo, M., Palomino, J., Peña, M. L., Trujillo, J. P., Martín-Vila, A., Stolfo, D., Molina, P., Lara-Pezzi, E., Calvo-Iglesias, F. E., Nof, E., Calò, L., Barriales-Villa, R., Gimeno-Blanes, J. R., Arad, M., García-Pavía, P., and Monserrat, L. (2016) Truncating FLNC mutations are associated with high-risk dilated and arrhythmogenic cardiomyopathies, *JACC*, **68**, 2440-2451, <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.09.927>.
11. Brodehl, A., Ferrier, R. A., Hamilton, S. J., Greenway, S. C., Brundler, M. A., Yu, W., Gibson, W. T., McKinnon, M. L., McGillivray, B., Alvarez, N., Giuffre, M., Schwartzentruber, J., FORGE Canada Consortium, and Gerull, B. (2016) Mutations in FLNC are associated with familial restrictive cardiomyopathy, *Hum. Mutat.*, **37**, 269-279, <https://doi.org/10.1002/humu.22942>.
12. Fürst, D. O., Goldfarb, L. G., Kley, R. A., Vorgerd, M., Olivé, M., and van der Ven, P. F. (2013) Filamin C-related myopathies: pathology and mechanisms, *Acta Neuropathol.*, **125**, 33-46, <https://doi.org/10.1007/s00401-012-1054-9>.
13. Kong, S. W., Hu, Y. W., Ho, J. W., Ikeda, S., Polster, S., John, R., Hall, J. L., Bisping, E., Pieske, B., dos Remedios, C. G., and Pu, W. T. (2010) Heart failure-associated changes in RNA splicing of sarcomere genes, *Circ. Cardiovasc. Genet.*, **3**, 138-146, <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.109.904698>.
14. Pudas, R., Kiema, T. R., Butler, P. J. G., Stewart, M., and Ylänné, J. (2005) Structural basis for vertebrate filamin dimerization, *Structure*, **13**, 111-119, <https://doi.org/10.1016/j.str.2004.10.014>.
15. Van der Flier, A., Kuikman, I., Kramer, D., Geerts, D., Kreft, M., Takafuta, T., Shapiro, S. S., and Sonnenberg, A. (2002) Different splice variants of filamin-B affect myogenesis, subcellular distribution, and determine binding to integrin [beta] subunits, *J. Cell Biol.*, **156**, 361-376, <https://doi.org/10.1083/jcb.200103037>.
16. Mao, Z., and Nakamura, F. (2020) Structure and function of filamin C in the muscle Z-disc, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 2696, <https://doi.org/10.3390/ijms21082696>.
17. Chiang, W., and Greaser, M. L. (2000) Binding of filamin isoforms to myofibrils, *J. Muscle Res. Cell Motil.*, **21**, 321-333, <https://doi.org/10.1023/a:1005650706464>.
18. Thompson, T. G., Chan, Y. M., Hack, A. A., Brosius, M., Rajala, M., Lidov, H. G. W., McNally, E. M., Watkins, S., and Kunkel, L. M. (2000) Filamin 2 (FLN2): A muscle-specific sarcoglycan interacting protein, *J. Cell Biol.*, **148**, 115-126, <https://doi.org/10.1083/jcb.148.1.115>.
19. Song, S., Shi, A., Lian, H., Hu, S., and Nie, Y. (2022) Filamin C in cardiomyopathy: from physiological roles to DNA variants, *Heart Fail. Rev.*, **27**, 1373-1385, <https://doi.org/10.1007/s10741-021-10172-z>.
20. Nakamura, F., Stossel, T. P., and Hartwig, J. H. (2011) The filamins: organizers of cell structure and function, *Cell Adhes. Migr.*, **5**, 160-169, <https://doi.org/10.4161/cam.5.2.14401>.

21. Razinia, Z., Mäkelä, T., Ylännä, J., and Calderwood, D. A. (2012) Filamins in mechanosensing and signaling, *Annu. Rev. Biophys.*, **41**, 227-246, <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-050511-102252>.
22. Gontier, Y., Taivainen, A., Fontao, L., Sonnenberg, A., van der Flier, A., Carpen, O., Faulkner, G., and Borradori, L. (2005) The Z-disc proteins myotilin and FATZ-1 interact with each other and are connected to the sarcolemma via muscle-specific filamins, *J. Cell Sci.*, **118**, 3739-3749, <https://doi.org/10.1242/jcs.02484>.
23. Leber, Y., Ruparelia, A. A., Kirfel, G., van der Ven, P. F., Hoffmann, B., Merkel, R., Bryson-Richardson, R. J., and Fürst, D. O. (2016) Filamin C is a highly dynamic protein associated with fast repair of myofibrillar microdamage, *Hum. Mol. Genet.*, **25**, 2776-2788, <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw135>.
24. Bhattacharjya, S. (2022) The structural basis of $\beta 2$ integrin intra-cellular multi-protein complexes, *Biophys. Rev.*, **14**, 1183-1195, <https://doi.org/10.1007/s12551-022-00995-x>.
25. Dalkilic, I., Schienda, J., Thompson, T. G., and Kunkel, L. M. (2006) Loss of filamin C (FLNc) results in severe defects in myogenesis and myotube structure, *Mol. Cell. Biol.*, **26**, 6522-6534, <https://doi.org/10.1128/MCB.00243-06>.
26. Paranaivitane, V., Coadwell, W. J., Eguinoa, A., Hawkins, P. T., and Stephens, L. (2003) LL5beta is a phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate sensor that can bind the cytoskeletal adaptor, gamma-filamin, *J. Biol. Chem.*, **278**, 1328-1335, <https://doi.org/10.1074/jbc.M208352200>.
27. Molt, S., Bührdel, J. B., Yakovlev, S., Schein, P., Orfanos, Z., Kirfel, G., Winter, L., Wiche, G., van der Ven, P. F., Rottbauer, W., Just, S., Belkin, A. M., and Fürst, D. O. (2014) Aciculin interacts with filamin C and Xin and is essential for myofibril assembly, remodeling and maintenance, *J. Cell Sci.*, **127**, 3578-3592, <https://doi.org/10.1242/jcs.152157>.
28. Bönnemann, C. G., Thompson, T. G., van der Ven, P. F. M., Goebel, H. H., Warlo, I., Vollmers, B., Reimann, J., Herms, J., Gautel, M., Takada, F., Beggs, A. H., Fürst, D. O., Kunkel, L. M., Hanefeld, F., and Schröder, R. (2003) Filamin C accumulation is a strong but nonspecific immunohistochemical marker of core formation in muscle, *J. Neurol. Sci.*, **206**, 71-78, [https://doi.org/10.1016/s0022-510x\(02\)00341-6](https://doi.org/10.1016/s0022-510x(02)00341-6).
29. Claeys, K. G., van der Ven, P. F. M., Behin, A., Stojkovic, T., Eymard, D., Dubourg, O., Laforêt, P., Faulkner, G., Richard, P., Vicart, P., Romero, N. B., Stoltenburg, G., Udd, B., Fardeau, M., Voit, T., and Fürst, D. O. (2009) Differential involvement of sarcomeric proteins in myofibrillar myopathies: a morphological and immunohistochemical study, *Acta Neuropathol.*, **117**, 293-307, <https://doi.org/10.1007/s00401-008-0479-7>.
30. Begay, R. L., Graw, S. L., Sinagra, G., Asimaki, A., Rowland, T. J., Slavov, D. B., Gowan, K., Jones, K. L., Brun, F., Merlo, M., Miani, D., Sweet, M., Devaraj, K., Wartchow, E. P., Gigli, M., Puggia, I., Salcedo, E. E., Garrity, D. M., Ambardekar, A. V., Buttrick, P., Reece, T. B., Bristow, M. R., Saffitz, J. E., Mestroni, L., and Taylor, M. R. G. (2018) Filamin C truncation mutations are associated with arrhythmogenic dilated cardiomyopathy and changes in the cell-cell adhesion structures, *JACC. Clin. Electrophysiol.*, **4**, 504-514, <https://doi.org/10.1016/j.jacep.2017.12.003>.
31. Juo, L. Y., Liao, W. C., Shih, Y. L., Yang, B. Y., Liu, A. B., and Yan, Y. T. (2016) HSPB7 interacts with dimerized FLNC and its absence results in progressive myopathy in skeletal muscles, *J. Cell Sci.*, **129**, 1661-1670, <https://doi.org/10.1242/jcs.179887>.
32. Muranova, L. K., Vostrikova, V. M., Shatov, V. M., Sluchanko, N. N., and Gusev, N. B. (2024) Interaction of the C-terminal immunoglobulin-like domains (Ig 22-24) of filamin C with human small heat shock proteins, *Biochimie*, **219**, 146-154, <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.11.010>.
33. Ohta, Y., and Hartwig, J. H. (1995) Actin filament cross-linking by chicken gizzard filamin is regulated by phosphorylation *in vitro*, *Biochemistry*, **34**, 6745-6754, <https://doi.org/10.1021/bi00020a020>.
34. Reimann, L., Wiese, H., Leber, Y., Schwäble, A. N., Fricke, A. L., Rohland, A., Knapp, B., Peikert, C. D., Drepper, F., van der Ven, P. F., Radziwill, G., Fürst, D. O., and Warscheid, B. (2017) Myofibrillar Z-discs are a protein phosphorylation hot spot with protein kinase C (PKC α) modulating protein dynamics, *Mol. Cell. Proteomics*, **16**, 346-367, <https://doi.org/10.1074/mcp.M116.065425>.
35. Raynaud, F., Jond-Necand, C., Marcilhac, A., Fürst, D. O., and Benyamin, Y. (2006) Calpain 1-gamma filamin interaction in muscle cells: a possible *in situ* regulation by PKC- α , *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **38**, 404-413, <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.09.020>.
36. Reimann, L., Schwäble, A. N., Fricke, A. L., Mühlhäuser, W. W. D., Leber, Y., Lohanadan, K., Puchinger, M. G., Schäuble, S., Faessler, E., Wiese, H., Reichenbach, C., Knapp, B., Peikert, C. D., Drepper, F., Hahn, U., Kreutz, C., van der Ven, P. F. M., Radziwill, G., Djinić-Carugo, K., Fürst, D. O., and Warscheid, B. (2020) Phosphoproteomics identifies dual-site phosphorylation in an extended basophilic motif regulating FILIP1-mediated degradation of filamin-C, *Commun. Biol.*, **3**, 1-19, <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0982-5>.
37. Chen, H., Zhu, X., Cong, P., Sheetz, M. P., Nakamura, F., and Yan, J. (2011) Differential mechanical stability of filamin A rod segments, *Biophys. J.*, **101**, 1231-1237, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.07.028>.

38. Ehrlicher, A. J., Nakamura, F., Hartwig, J. H., Weitz, D. A., and Stossel, T. P. (2011) Mechanical strain in actin networks regulates FilGAP and integrin binding to filamin A, *Nature*, **478**, 260-263, <https://doi.org/10.1038/nature10430>.
39. Rognoni, L., Stigler, J., Pelz, B., Ylanne, J., and Rief, M. (2012) Dynamic force sensing of filamin revealed in single-molecule experiments, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 19679-19684, <https://doi.org/10.1073/pnas.1211274109>.
40. Xu, T., Lannon, H., Wolf, S., Nakamura, F., and Brujic, J. (2013) Domain-domain interactions in filamin A (16-23) impose a hierarchy of unfolding forces, *Biophys. J.*, **104**, 2022-2030, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.03.034>.
41. Knoll, R., Buyandelger, B., and Lab, M. (2011) The sarcomeric Z-disc and Z-discopathies, *J. Biomed. Biotechnol.*, **2011**, 569628, <https://doi.org/10.1155/2011/569628>.
42. Deng, Y., and Yan, J. (2023) Force-dependent structural changes of filamin C rod domains regulated by filamin C dimer, *J. Am. Chem. Soc.*, **145**, 14670-14678, <https://doi.org/10.1021/jacs.3c02303>.
43. Chen, H., Chandrasekar, S., Sheetz, M. P., Stossel, T. P., Nakamura, F., and Yan, J. (2013) Mechanical perturbation of filamin A immunoglobulin repeats 20-21 reveals potential non-equilibrium mechanochemical partner binding function, *Sci. Rep.*, **3**, 1642, <https://doi.org/10.1038/srep01642>.
44. Van der Ven, P. F., Wiesner, S., Salmikangas, S., Auerbach, D., Himmel, M., Kempa, S., Hayess, K., Pacholsky, D., Taivainen, A., Schröder, R., Carpén, O., and Fürst, D. O. (2000) Indications for a novel muscular dystrophy pathway. gamma-filamin, the muscle-specific filamin isoform, interacts with myotilin, *J. Cell Biol.*, **151**, 235-248, <https://doi.org/10.1083/jcb.151.2.235>.
45. Kesner, B. A., Ding, F., Temple, B. R., and Dokholyan, N. V. (2010) N-terminal strands of filamin Ig domains act as a conformational switch under biological forces, *Proteins*, **78**, 12-24, <https://doi.org/10.1002/prot.22479>.
46. Martin, T. G., and Kirk, J. A. (2020) Under construction: the dynamic assembly, maintenance, and degradation of the cardiac sarcomere, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **148**, 89-102, <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2020.08.018>.
47. Höhfeld, J., Benzing, T., Bloch, W., Fürst, D. O., Gehlert, S., Hesse, M., Hoffmann, B., Hoppe, T., Huesgen, P. F., Köhn, M., Kolanus, W., Merkel, R., Niessen, C. M., Pokrzywa, W., Rinschen, M. M., Wachten, D., and Warscheid, B. (2021) Maintaining proteostasis under mechanical stress, *EMBO Rep.*, **22**, e52507, <https://doi.org/10.15252/embr.202152507>.
48. Balchin, D., Hayer-Hartl, M., and Hartl, F. U. (2016) *In vivo* aspects of protein folding and quality control, *Science*, **353**, aac4354, <https://doi.org/10.1126/science.aac4354>.
49. Arndt, V., Dick, N., Tawo, R., Dreiseidler, M., Wenzel, D., Hesse, M., Fürst, D. O., Saftig, P., Saint, R., Fleischmann, B. K., Hoch, M., and Höhfeld, J. (2010) Chaperone-assisted selective autophagy is essential for muscle maintenance, *Curr. Biol.*, **20**, 143-148, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.11.022>.
50. Ulbricht, A., Eppler, F. J., Tapia, V. E., van der Ven, P. F., Hampe, N., Hersch, N., Vakeel, P., Stadel, D., Haas, A., Saftig, P., Behrends, C., Fürst, D. O., Volkmer, R., Hoffmann, B., Kolanus, W., and Höhfeld, J. (2013) Cellular mechanotransduction relies on tension-induced and chaperone-assisted autophagy, *Curr. Biol.*, **23**, 430-435, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.01.064>.
51. Ulbricht, A., and Höhfeld, J. (2013) Tension-induced autophagy, *Autophagy*, **9**, 920-922, <https://doi.org/10.4161/auto.24213>.
52. Ulbricht, A., Arndt, V., and Höhfeld, J. (2013) Chaperone-assisted proteostasis is essential for mechanotransduction in mammalian cells, *Commun. Integr. Biol.*, **6**, e24925, <https://doi.org/10.4161/cib.24925>.
53. Klimek, C., Kathage, B., Wördehoff, J., and Höhfeld, J. (2017) BAG3-mediated proteostasis at a glance, *J. Cell Sci.*, **130**, 2781-2788, <https://doi.org/10.1242/jcs.203679>.
54. Rauch, J. N., Tse, E., Freilich, R., Mok, S. A., Makley, L. N., Southworth, D. R., and Gestwicki, J. E. (2017) BAG3 is a modular, scaffolding protein that physically links heat shock protein 70 (Hsp70) to the small heat shock proteins, *J. Mol. Biol.*, **429**, 128-141, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.11.013>.
55. Pathak, P., Blech-Hermoni, Y., Subedi, K., Mpamugo, J., Obeng-Nyarko, C., Ohman, R., Molloy, I., Kates, M., Hale, J., Stauffer, S., Sharan, S. K., and Mankodi, A. (2021) Myopathy associated LDB3 mutation causes Z-disc disassembly and protein aggregation through PKCa and TSC2-mTOR downregulation, *Commun. Biol.*, **4**, 355, <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01864-1>.
56. Kathage, B., Gehlert, S., Ulbricht, A., Lüdecke, L., Tapia, V. E., Orfanos, Z., Wenzel, D., Bloch, W., Volkmer, R., Fleischmann, B. K., Fürst, D. O., and Höhfeld, J. (2017) The cochaperone BAG3 coordinates protein synthesis and autophagy under mechanical strain through spatial regulation of mTORC1, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.*, **1864**, 62-75, <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.10.007>.
57. Fielitz, J., van Rooij, E., Spencer, J. A., Shelton, J. M., Latif, S., van der Nagel, R., Bezprozvannaya, S., de Windt, L., Richardson, J. A., Bassel-Duby, R., and Olson, E. N. (2007) Loss of muscle-specific RING-finger 3 predisposes the heart to cardiac rupture after myocardial infarction, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 4377-4382, <https://doi.org/10.1073/pnas.0611726104>.

58. Spaich, S., Will, R. D., Just, S., Spaich, S., Kuhn, C., Frank, D., Berger, I. M., Wiemann, S., Korn, B., Koegl, M., Backs, J., Katus, H. A., Rottbauer, W., and Frey, N. (2012) F-box and leucine-rich repeat protein 22 is a cardiac-enriched F-box protein that regulates sarcomeric protein turnover and is essential for maintenance of contractile function *in vivo*, *Circ. Res.*, **111**, 1504-1516, <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.271007>.
59. Papizan, J. B., Garry, G. A., Brezprozvannaya, S., McAnally, J. R., Bassel-Duby, R., Liu, N., and Olson, E. N. (2017) Deficiency in Kelch protein Khlh31 causes congenital myopathy in mice, *J. Clin. Invest.*, **127**, 3730-3740, <https://doi.org/10.1172/JCI93445>.
60. Collier, M. P., Alderson, T. R., de Villiers, C. P., Nicholls, D., Gastall, H. Y., Allison, T. M., Degiacomi, M. T., Jiang, H., Mlynek, G., Fürst, D. O., van der Ven, P. F. M., Djinoivic-Carugo, K., Baldwin, A. J., Watkins, H., Gehmlich, K., and Benesch, J. L. P. (2019) HspB1 phosphorylation regulates its intramolecular dynamics and mechanosensitive molecular chaperone interaction with filamin C, *Sci. Adv.*, **5**, eaav8421, <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav8421>.
61. Muranova, L. K., Shatov, V. M., and Gusev, N. B. (2022) Role of small heat shock proteins in the remodeling of actin microfilaments, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 800-811, <https://doi.org/10.1134/S0006297922080119>.
62. Muravyev, A., Vershinina, T., Tesner, P., Sjöberg, G., Fomicheva, Y., Čajbiková, N. N., Kozyreva, A., Zhuk, S., Mamaeva, E., Tarnovskaya, S., Jorholt, J., Sokolnikova, P., Pervunina, T., Vasichkina, E., Sejersen, T., and Kostareva, A. (2022) Rare clinical phenotype of filaminopathy presenting as restrictive cardiomyopathy and myopathy in childhood, *Orphanet J. Rare Dis.*, **17**, 358, <https://doi.org/10.1186/s13023-022-02477-5>.
63. Kiselev, A., Vaz, R., Knyazeva, A., Khudiakov, A., Tarnovskaya, S., Liu, J., Sergushichev, A., Kazakov, S., Frishman, D., Smolina, N., Pervunina, T., Jorholt, J., Sjöberg, G., Vershinina, T., Rudenko, D., Arner, A., Sejersen, T., Lindstrand, A., and Kostareva, A. (2018) *De novo* mutations in FLNC leading to early-onset restrictive cardiomyopathy and congenital myopathy, *Hum. Mutat.*, **39**, 1161-1172, <https://doi.org/10.1002/humu.23559>.
64. Савостьянов К. В., Басаргина Е. Н., Рябова Е. Е., Пушков А. А., Жанин И. С., Басаргина Е. Ю., Алексеева А. Ю., Муравьева Л. В., Гандаева Л. А., Фисенко А. П. (2021) Молекулярно-генетические особенности формирования рестриктивной кардиомиопатии у российских детей, *Росс. Кардиол. Журн.*, **26**, 4590, <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4590>.
65. Ditaranto, R., Caponetti, A. G., Ferrara, V., Parisi, V., Minnucci, M., Chiti, C., Baldassarre, R., Di Nicola, F., Bonetti, S., Hasan, T., Potena, L., Galiè, N., Ragni, L., and Biagini, E. (2022) Pediatric restrictive cardiomyopathies, *Front. Pediatr.*, **9**, 745365, <https://doi.org/10.3389/fped.2021.745365>.
66. Akinrinade, O., Lesurf, R., Genomics England Research Consortium, Loughheed, J., Mondal, T., Smythe, J., Altamirano-Diaz, L., Oechslin, E., and Mital, S. (2023) Age and sex differences in the genetics of cardiomyopathy, *J. Cardiovasc. Trans. Res.*, **16**, 1287-1302, <https://doi.org/10.1007/s12265-023-10411-8>.
67. Verdonshot, J. A. J., Vanhoutte, E. K., Claes, G. R. F., Helderma-van den Enden, A., Hoeijmakers, J. G. J., Hellebrekers, D., de Haan, A., Christiaans, I., Lekanne Deprez, R. H., Boen, H. M., van Craenenbroeck, E. M., Loeys, B. L., Hoedemaekers, Y. M., Marcelis, C., Kempers, M., Brusse, E., van Waning, J. I., Baas, A. F., Dooijes, D., Asselbergs, F. W., Barge-Schaapveld, D. Q. C. M., Koopman, P., van den Wijngaard, A., Heymans, S. R. B., Krapels, I. P. C., and Brunner, H. G. (2020) A mutation update for the FLNC gene in myopathies and cardiomyopathies, *Hum. Mutat.*, **41**, 1091-1111, <https://doi.org/10.1002/humu.24004>.
68. Eden, M., and Frey, N. (2021) Cardiac Filaminopathies: illuminating the divergent role of filamin C mutations in human cardiomyopathy, *J. Clin. Med.*, **10**, 577, <https://doi.org/10.3390/jcm10040577>.
69. Brodehl, A., and Gerull, B. (2022) Genetic insights into primary restrictive cardiomyopathy, *J. Clin. Med.*, **11**, 2094, <https://doi.org/10.3390/jcm11082094>.
70. Schänzer, A., Schumann, E., Zengeler, D., Gulatz, L., Maroli, G., Ahting, U., Sprengel, A., Gräf, S., Hahn, A., Jux, C., Acker, T., Fürst, D. O., Rupp, S., Schuld, J., and van der Ven, P. F. M. (2021) The p.Ala2430Val mutation in filamin C causes a “hypertrophic myofibrillar cardiomyopathy”, *J. Muscle Res. Cell Motil.*, **42**, 381-397, <https://doi.org/10.1007/s10974-021-09601-1>.
71. Park, Y. E., Kim, D. S., and Shin, J. H. (2022) A novel nonsense mutation in the dimerization domain of FLNC causing mild myofibrillar myopathy, *Clin. Neurol. Neurosurg.*, **221**, 107386, <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2022.107386>.
72. Sellung, D., Heil, L., Daya, N., Jacobsen, F., Mertens-Rill, J., Zhuge, H., Döring, K., Piran, M., Milting, H., Unger, A., Linke, W. A., Kley, R., Preusse, C., Roos, A., Fürst, D. O., Ven, P. F. M. V., and Vorgerd, M. (2023) Novel filamin C myofibrillar myopathy variants cause different pathomechanisms and alterations in protein quality systems, *Cells*, **12**, 1321, <https://doi.org/10.3390/cells12091321>.
73. Duff, R. M., Tay, V., Hackman, P., Ravenscroft, G., McLean, C., Kennedy, P., Steinbach, A., Schöffler, W., van der Ven, P. F. M., Fürst, D. O., Song, J., Djinoivic-Carugo, K., Penttilä, S., Raheem, O., Reardon, K., Malandrini, A., Gambelli, S., Villanova, M., Nowak, K. J., Williams, D. R., Landers, J. E., Brown, R. H., Udd, B., and Laing, N. G.

- (2011) Mutations in the N-terminal actin-binding domain of filamin C cause a distal myopathy, *Am. J. Hum. Genet.*, **88**, 729-740, <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.04.021>.
74. Avila-Smirnow, D., Gueneau, L., Batonnet-Pichon, S., Delort, F., Bécane, H. M., Claeys, K., Beuvin, M., Goudeau, B., Jais, J. P., Nelson, I., Richard, P., Ben Yaou, R., Romero, N. B., Wahbi, K., Mathis, S., Voit, T., Furst, D., van der Ven, P., Gil, R., Vicart, P., Fardeau, M., Bonne, G., and Behin, A. (2016) Cardiac arrhythmia and late-onset muscle weakness caused by a myofibrillar myopathy with unusual histopathological features due to a novel missense mutation in FLNC, *Rev. Neurol.*, **172**, 594-606, <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2016.07.017>.
 75. Gaudreault, N., Ruel, L. J., Henry, C., Schleit, J., Lagüe, P., Champagne, J., Sénéchal, M., Sarrazin, J. F., Philippon, F., Bossé, Y., and Steinberg, C. (2023) Novel filamin C (FLNC) variant causes a severe form of familial mixed hypertrophic-restrictive cardiomyopathy, *Am. J. Med. Genet. A*, **191**, 1508-1517, <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63169>.
 76. Kölbel, H., Roos, A., van der Ven, P. F. M., Evangelista, T., Nolte, K., Johnson, K., Töpf, A., Wilson, M., Kress, W., Sickmann, A., Straub, V., Kollipara, L., Weis, J., Fürst, D. O., and Schara, U. (2020) First clinical and myopathological description of a myofibrillar myopathy with congenital onset and homozygous mutation in FLNC, *Hum. Mutat.*, **41**, 1600-1614, <https://doi.org/10.1002/humu.24062>.
 77. Reinstein, E., Gutierrez-Fernandez, A., Tzur, S., Bormans, C., Marcu, S., Tayeb-Fligelman, E., Vinkler, C., Raas-Rothschild, A., Irge, D., Landau, M., Shohat, M., Puente, X. S., Behar, D. M., and Lopez-Otin, C. (2016) Congenital dilated cardiomyopathy caused by biallelic mutations in filamin C, *Eur. J. Hum. Genet.*, **24**, 1792-1796, <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.110>.
 78. Alsubhi, A., Aldarwish, M., Agrawal, P. B., Al Tala, S. M., Eldadah, O., Alghamdi, A. A., Silmi, A., and Almannai, M. (2024) A child with dilated cardiomyopathy and homozygous splice site variant in FLNC gene, *Mol. Genet. Metab. Rep.*, **38**, 101027, <https://doi.org/10.1016/j.jymgmr.2023.101027>.
 79. Nagy, M., Mlynek, G., Kostan, J., Smith, L., Pühringer, D., Charron, P., Rasmussen, T. B., Bilinska, Z., Akhtar, M. M., Syrris, P., Lopes, L. R., Elliott, P. M., Gautel, M., Carugo, O., and Djinić-Carugo, K. (2023) Unlocking predictive power: a machine learning tool derived from in-depth analysis to forecast the impact of missense variants in human filamin C, *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2023.08.05.552086>.
 80. Chumakova, O. S., Baklanova, T. N., Milovanova, N. V., and Zateyshchikov, D. A. (2023) Hypertrophic cardiomyopathy in underrepresented populations: clinical and genetic landscape based on a russian single-center cohort study, *Genes*, **14**, 2042, <https://doi.org/10.3390/genes14112042>.
 81. Kley, R. A., Maerkens, A., Leber, Y., Theis, V., Schreiner, A., van der Ven, P. F., Uszkoreit, J., Stephan, C., Eulitz, S., Euler, N., Kirschner, J., Müller, K., Meyer, H. E., Tegenthoff, M., Fürst, D. O., Vorgerd, M., Müller, T., and Marcus, K. (2013) A combined laser microdissection and mass spectrometry approach reveals new disease relevant proteins accumulating in aggregates of filaminopathy patients, *Mol. Cell. Proteomics*, **12**, 215-227, <https://doi.org/10.1074/mcp.M112.023176>.
 82. Kley, R. A., Serdaroglu-Ofilazer, P., Leber, Y., Odgerel, Z., van der Ven, P. F., Olivé, M., Ferrer, I., Onipe, A., Mihaylov, M., Bilbao, J. M., Lee, H. S., Höfeld, J., Djinić-Carugo, K., Kong, K., Tegenthoff, M., Peters, S. A., Stenzel, W., Vorgerd, M., Goldfarb, L. G., and Fürst, D. O. (2012) Pathophysiology of protein aggregation and extended phenotyping in filaminopathy, *Brain*, **135**, 2642-2660, <https://doi.org/10.1093/brain/aws200>.
 83. Elliott, P., Andersson, B., Arbustini, E., Bilinska, Z., Cecchi, F., Charron, P., Dubourg, O., Kühl, U., Maisch, B., McKenna, W. J., Monserrat, L., Pankuweit, S., Rapezzi, C., Seferovic, P., Tavazzi, L., and Keren, A. (2008) Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the european society of cardiology working group on myocardial and pericardial diseases, *Eur. Heart J.*, **29**, 270-276, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehm342>.
 84. Muchtar, E., Blauwet, L. A., and Gertz, M. A. (2017) Restrictive cardiomyopathy: genetics, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and therapy, *Circ. Res.*, **121**, 819-837, <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.310982>.
 85. Ruparel, A. A., Oorschot, V., Ramm, G., and Bryson-Richardson, R. J. (2016) FLNC myofibrillar myopathy results from impaired autophagy and protein insufficiency, *Hum. Mol. Genet.*, **25**, 2131-2142, <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw080>.
 86. Schubert, J., Tariq, M., Geddes, G., Kindel, S., Miller, E. M., and Ware, S. M. (2018) Novel pathogenic variants in filamin C identified in pediatric restrictive cardiomyopathy, *Hum. Mutat.*, **39**, 2083-2096, <https://doi.org/10.1002/humu.23661>.
 87. Agarwal, R., Paulo, J. A., Toepfer, C. N., Ewoldt, J. K., Sundaram, S., Chopra, A., Zhang, Q., Gorham, J., DePalma, S. R., Chen, C. S., Gygi, S. P., Seidman, C. E., and Seidman, J. G. (2021) Filamin C cardiomyopathy variants cause protein and lysosome accumulation, *Circ. Res.*, **129**, 751-766, <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317076>.

THE ROLE OF FILAMIN C IN MUSCLE CELLS

Review

**D. V. Goliusova^{1,2*}, M. Y. Sharikova¹, K. A. Lavrenteva¹, O. S. Lebedeva¹,
L. K. Muranova³, N. B. Gusev³, A. N. Bogomazova¹, and M. A. Lagarkova¹**

¹ *Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine
of Federal Medical Biological Agency, 119435 Moscow, Russia; e-mail: daria.goliusova@mail.ru*

² *Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, 119334 Moscow, Russia*

³ *Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia*

Filamin C (FLNC) is a member of a high-molecular weight protein family, which bind actin filaments in the cytoskeleton of various cells. In human genome FLNC is encoded by the *FLNC* gene located on chromosome 7 and is expressed predominantly in striated skeletal and cardiac muscle cells. Filamin C is involved in organization and stabilization of thin actin filaments three-dimensional network in sarcomeres, and is supposed to play a role of mechanosensor transferring mechanical signals to different protein targets. Under mechanical stress FLNC can undergo unfolding, that increases the risk of its aggregation. FLNC molecules with an impaired native structure can be eliminated by BAG3-mediated chaperone-assisted selective autophagy. Mutations of the *FLNC* gene can be accompanied by changes in FLNC interaction with its protein partners and can lead to the formation of aggregates, which overload autophagy and proteasome protein degradation systems, thus resulting in the development of various pathological processes. The molecular mechanisms of *FLNC*-associated congenital disorders, called filaminopathies, remain poorly understood. This review is devoted to the analysis of structure and mechanisms of filamin C function in muscle and heart cells in normal state and in *FLNC*-associated pathologies. The presented data summarize the results of research at the molecular, cellular and tissue levels and allow us to outline promising ways for further investigation of filaminopathies pathogenetic mechanisms.

Keywords: filamin C, filaminopathy, autophagy, proteostasis, iPSCs, cardiomyocytes