

УДК 577+616.1

ЗНАЧЕННЯ Wnt/ β -КАТЕНІНОВОГО СИГНАЛІНГУ В ЕМБРІОНАЛЬНОМУ КАРДІОГЕНЕЗІ, ПІСЛЯНАТАЛЬНОМУ ФОРМУВАННІ ТА РЕКОНСТРУКЦІЇ МІОКАРДА

О.О. ПІВЕНЬ, О.Л. ПАЛЬЧЕВСЬКА, Л.Л. ЛУКАШ

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ
E-mail: o.o.piven@imbg.org.ua

Wnt/ β -катеніновий сигналінг відіграє важливу і різноманітну роль при закладанні, розвитку та життєдіяльності багатьох тканин хребетних, зокрема тканин серця. Роль Wnt/ β -катенінового сигналіngu та β -катеніну в процесах кардіогенезу і функціонуванні до-рослого міокарда остаточно не з'ясовано. Огляд є спробою узагальнити сучасні літературні дані про участь цього сигнального шляху в ембріогенезі та післянатальному розвитку серця, а також у функціонуванні дорослого міокарда як у нормі, так і при адаптації до стресів, старіння, що виражається в гіпертрофії та перебудові серцевого м'яза. На ґрунті експериментальних та оглядових робіт висунуто припущення, що Wnt/ β -катеніновий сигнальний шлях залучений не лише до контролю процесів кардіогенезу, а й до процесів адаптації та реконструкції дорослого органу. Цей контроль має складний та багатостадійний характер, а β -катенін є перспективним кандидатом на роль мішені для розвитку нових підходів до терапії патологій дорослого міокарда.

Ключові слова: кардіогенез, диференціювання, міокард, сигнальна регуляція, β -катенін, Wnt-сигналінг, патології міокарда, гіпертрофія, регенерація.

Вступ. Доросле серце — унікальний високоорганізований та динамічний орган, здатний адаптуватися до зміни функції, пов'язаної зі стресом, навантаженнями або травмами, переважно за рахунок значних реконструкцій та гіпертрофічного росту. Безліч стресових чинників (гемодинамічний стрес, нейроендокринна сигнальна регуляція, гіпертонічна хвороба, аортальний стеноз і дисфункція клапанів та ін.) спричиняють істотні реконструкції міокарда активацією внутрішньоклітинних сигнально-

регуляторних шляхів та кофакторів транскрипції у кардіоміоцитах.

Вочевидь, розуміння як молекулярно-генетичних процесів розвитку міокарда, так і його адаптації до стресових чинників надзвичайно важливе для розробки нових підходів до лікування хвороб серця. Саме тому у своїй експериментальній роботі ми зосередились на дослідженні ролі одного з основних сигнально-регуляторних шляхів, залучених до контролю клітинного циклу, проліферації, апоптозу та диференціювання багатьох тканин та органів, включаючи і серце. Wnt-сигнальна регуляція клітини та роль β -катеніну у зазначених процесах активно вивчається [1,2], але ціла низка питань щодо функції Wnt/ β -катенінової регуляції у процесах кардіогенезу і функціонування, адаптації до стресу та реконструкції дорослого міокарда лишаються без однозначної відповіді. Структурній функції β -катеніну у процесах ембріогенезу і, зокрема, у кардіогенезі присвячено цілий ряд експериментальних та оглядових статей [3–7]. У даному огляді на прикладі низки оригінальних робіт буде розглянуто роль Wnt/ β -катенінового сигналіngu у кардіогенезі, післянатальному функціонуванні міокарда, розвитку патологій серця та його реконструкції, а також проведено порівняння експериментальних даних, отриманих *in vivo* та *in vitro*.

Wnt сигнально-регуляторний шлях — еволюційно консервативний механізм контролю клітинної проліферації та диференціації. Завдяки цьому Wnt-сигналінг має критичне значення не лише в ембріогенезі та канцерогенезі, а й при розвитку і формуванні міокарда: від стовбурової клітини до функціонуючого органу [1, 2, 8–10].

Варто зауважити, що молекулярні компоненти, організації та функціонування Wnt сигнально-регуляторного шляху активно та широко досліджуються багатьма групами вчених [8–10]. На сьогодні на-

© О.О. ПІВЕНЬ, О.Л. ПАЛЬЧЕВСЬКА, Л.Л. ЛУКАШ,
2014

копичено цілу низку даних щодо організації та реалізації Wnt-сигналіну в клітині, тому ми не будемо розглядати питання стосовно кількості молекул Wnt, рецепторів та модуляторів сигналіну, а лише коротко нагадаємо, що за механізмом дії викремлюють канонічний (β -катенін залежний) та неканонічний Wnt-сигналіни (рис. 1).

Канонічний Wnt-сигнальний шлях є найдослідженішим. Відомо, що важливим його компонентом є багатофункціональний білок β -катенін. За відсутності Wnt-лігандів цитозольний β -катенін зв'язується з деградувальним комплексом, який складається із Axin, APC та GSK3 β , де відбувається його фосфорилування та подальша деградація у протеосомах. При активації Wnt-сигналіну відбувається дисоціація деградувального комплексу, внаслідок чого β -катенін стабілізується, проникає у ядро та регулює транскрипцію генів-мішеней, зв'язуючись із транскрипційним фактором TCF/LEF. Відомо, що понад 80 генів перебувають під безпосереднім контролем канонічного Wnt-сигналіну, серед яких виявлено гени, що контролюють клітинний цикл, проліферацію, диференціювання та багато інших процесів [10]. Неканонічний Wnt-сигнальний шлях на протигагу канонічному не залежить від статусу β -катеніну.

Wnt/ Ca^{2+} -залежний сигналінг регулюється через рецептор Fzd, активація останнього спричиняє вивільнення іонів кальцію, що призводить до подальшої активації «кальцій-чутливих» ензимів, таких як протеїнкіназа (PKC), кальцій/кальмодулін-залежна кіназа (CaMKII) або кальціунерін (CaCN). Включення генів-мішеней Wnt/JNK-сигналіну відбувається внаслідок активації jun-N-термінальної кінази (JNK) ГТФазами родини rho (рис. 1).

Відомо, що неканонічний Wnt-сигнальний шлях перш за все залучений до регуляції полярності та міграції клітини в результаті реорганізації цитоскелету. Варто також зауважити, що неканонічний Wnt-сигнальний шлях бере участь у регуляції активності канонічного Wnt-сигналіну, а саме інгібує його.

Окрім неканонічного Wnt-сигналіну, антагоністами Wnt/ β -катенінової сигнальної регуляції можуть бути й інші сигнально-регуляторні шляхи. Відомо, що Ніпро-сигналінг здатен регулювати активність останнього, підвищуючи взаємодію між Taz та Dvl у цитоплазмі, що призводить до інгібування Wnt/ β -катенінового сигналіну [11, 12]. Встановлено також складний взаємний вплив і регуляторні відносини між Wnt- та канонічним Wnt-сигналінами [13].

Існує припущення про можливу взаємодію FGF- та Wnt-сигнальних шляхів. Відомо, що FGF-сигналінг відбувається за участі PI3K-АКТ, MAPK та PLC γ сигнальних шляхів, а серин/треонінова кіназа GSK3 β є центральним компонентом FGF-залежного PI3K-АКТ-сигналіну [14]. У свою чергу GSK3 β є компонентом канонічного Wnt-сигналіну (рис. 1)

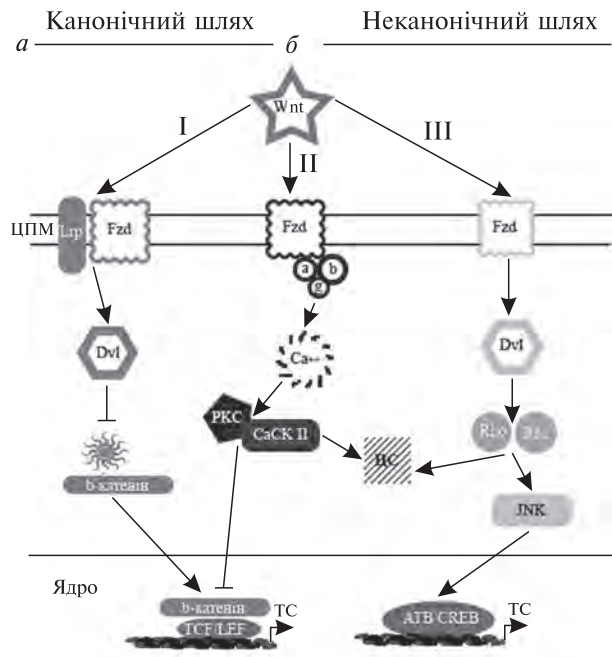


Рис. 1. Схематичне зображення Wnt сигнального шляху: *a* – канонічний Wnt сигнальний шлях (I); *б* – неканонічний Wnt сигнальний шлях, включає в себе принаймні дві гілки: Ca^{2+} /протеїнкіназа–С-залежний (II) та RhoA/JNK-залежний шляхи (III): Wnt – секреторні Wnt-ліганди; ЦС – цитоскелет; ЦПМ – цитоплазматична мембрана; ТС – транскрипція; Fzd – білки, споріднені з білками Frizzled; Lrp – білки, споріднені з рецепторами до ліпопротеїдів низької щільності; Dvl – внутрішньоклітинний ефекторний білок dishevelled, активація останнього при взаємодії з комплексом Fzd/Lrp призводить до стабілізації β -катеніну; PKC – протеїнкіназа С; CaMKII – кальмодулін-залежна протеїнкіназа другого типу; Rho/Rac, JNK – кінази, які активуються в RhoA/JNK сигнальному [1, 11]

тому зміна статусу GSK3 β , опосередкована активацією FGF-сигналіну, вірогідно, впливатиме і на регуляцію Wnt-сигналіну. Варто зауважити, що даун-регуляція GSK3 β під дією FGF-залежного PI3K-АКТ-сигналіну прямим чином активує сигнальний каскад SNAIL, а даун-регуляція цієї кінази під дією канонічного Wnt-сигналіну опосередковано впливає на активацію того ж каскаду через транскрипцію білків родини FGF [14], хоча безпосередній зв'язок між Wnt- та SNAIL-сигналіном остаточно не виявлений.

Отже, регуляція активності Wnt-сигналіну та молекулярні механізми взаємодії його з іншими сигнальними шляхами клітини, залученими до регуляції проліферації, диференціації та інших процесів, є

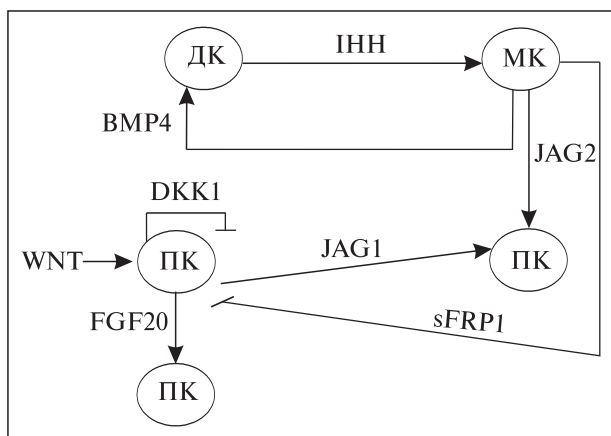


Рис. 2. Взаємодія основних сигнальних шляхів у СК через відповідні ліганди: BMP4 – член родини білків BMP (bone morphogenic protein), яка належить до суперродини білків FGFβ [18, 20]; ІНН (Indian hedgehog protein) – член родини білків hedgehog, основних медіаторів сигнального шляху Hedgehog; JAG1 (proteinjagged-1), JAG2 (proteinjagged-2) – ліганди Notch-рецепторів, компонентів сигнального шляху Notch [21–23]; DKK1 (dickkopf-related protein) – член родини білків dickkopf, яка відома своїм інгібувальним впливом на сигнальний шлях Wnt [24]; WNT – ліганди сигнального шляху Wnt [24, 20]; sFRP1 (Secreted frizzled-related protein 1) – модулятори сигнального шляху Wnt [24]; FGF20 (Fibroblast growth factor 20) – член родини FGFβ; скорочення: ДК – диференційовані клітини; МК – мезенхімальні клітини; ПК – прогеніторні клітини [14, 20]. Зокрема, для підтримання популяції прогеніторних СК необхідно є активація таких сигнальних шляхів, як Wnt, Notch, та шляхів, в яких задіяні білки родини FGFβ. Відомими антагоністами цього процесу є сигнальні шляхи Hedgehog та BMP, причому останній є антагоністом Wnt-шляху поряд з дією й інших модюляторів (таких як білки sFRP та DKK). Варто також зазначити, що BMP-шлях є надзвичайно важливим для регуляції диференціації прогеніторних СК

надзвичайно важливим, але недостатньо висвітленим питанням у сучасній науковій літературі.

Роль Wnt/β-катенінової сигнальної регуляції у диференціюванні стовбурової клітини. Стовбурові клітини (СК) інтенсивно досліджують протягом останнього десятиліття. У даному розділі огляду ми зупинимося лише на питаннях регуляції диференціювання стовбурових клітин у напрямку кардіоцитів як протягом ембріогенезу, так і при реконструкції міокарда ссавців.

У сучасних дослідженнях значна увага приділяється з'ясуванню особливостей фенотипу СК сер-

ця та сигнальним шляхам, які забезпечують їхню проліферацію та диференціацію. На сьогодні відомо, що життєдіяльність СК "іЕСК" перебуває під контролем таких сигнально-регуляторних шляхів, як TGF-β1/BMP, Wnt, SMAD, Nadal, Notch, Hedgehog, FGF та активін опосередкованого сигнального шляху (рис. 2), а також сигнальних шляхів, в яких задіяна тирозин-кіназа та такі невеликі молекули, як ретиноєва кислота [16–20]. Для підтримання популяції прогеніторних СК необхідно є активація таких сигнальних шляхів, як Wnt і Notch, та шляхів, в яких задіяні білки родини FGFβ. Сигнальні шляхи Hedgehog та BMP – відомі антагоністи цього процесу, причому останній є антагоністом Wnt-шляху поряд з дією інших модюляторів (білки sFRP та DKK). Слід зауважити, що BMP-шлях є надзвичайно важливим для регуляції диференціації прогеніторних СК.

Усі зазначені сигнальні шляхи безпосередньо залучені до регулювання долі СК (підтримання популяції СК, проліферації та диференціації СК), і їхня діяльність залежить від багатьох чинників. Доля СК визначається не лише активацією чи пригніченням того чи іншого сигналіну, а й залежить від складної взаємодії між зазначеними сигнально-регуляторними шляхами. Останній темі можна присвятити окремий огляд літератури, але в даній роботі ми зосередимось на ролі Wnt-сигналіну в процесах підтримання популяції СК та їхнього диференціювання в кардіоцити.

Існує концепція, згідно з якою вплив Wnt-сигналіну на ЕСК людини (ЕСКл) є багатовекторним та залежить від додаткових зовнішніх та внутрішніх сигналів. *In vivo* ці сигнали та мікрооточення забезпечують формування ніші, де ЕСКл конкурують за молекули ростових факторів, кількість яких обмежена, що в свою чергу забезпечує збереження балансу між підтриманням і самовідновленням популяції та диференціюванням СК [25, 26].

Експериментально встановлено, що Wnt-сигналінг необхідний для самовідновлення популяції СК та ЕСК [26]. Так, активація його забезпечує розмноження зрілих гематопоетичних прогеніторних клітин *in vitro* за умови присутності інших стимулів [26, 27]. В експериментах *in vivo* показано, що активація Wnt/β-катенінового сигналіну спостерігається в СК, що диференціюються, і забезпечує короткострокове розмноження популяції прогеніторних клітин. Проте детальніші дослідження показали, що активація Wnt/β-катенінового сигналіну є тимчасовою, і існують механізми для її репресії в СК. Отримані експериментальні дані логічно пояснюють механізм підтримання пулу СК *in vivo* [28]. Іншими авторами встановлено, що за відсутності антидиференціальних стимулів або при індукції процесів регенерації саме активація Wnt-сигналіну позитивно впливає на процес специфікації СК, зокрема забезпечує диференціацію в певному напрямку. Wnt-

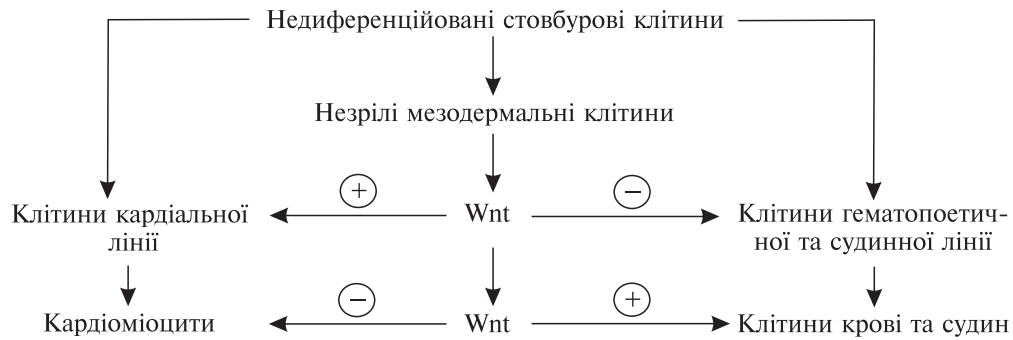


Рис. 3. Роль Wnt/ β -катенінового сигналіну у процесі диференціювання СК у кардіоміоцити та гематопоетичні клітини/клітини судин [29]

сигналінг стимулює проліферацію та ріст клітин, при цьому показано, що β -катенін стимулює експресію теломерази опосередковано через експресію гена *c-myc* [28].

Ряд досліджень присвячено вивченню молекулярного контролю кардіогенезу з використанням ЕСК миші *in vitro*. В одній з цих робіт [29] авторам вдалося показати всю складність ролі Wnt/ β -катенінового сигналіну протягом диференціювання СК у кардіоміоцити чи гематопоетичні клітини/клітини судин, а також залежність цієї ролі від стадії розвитку та деяких інших чинників (рис. 3).

Дослідження, проведені *in vitro* на ЕСК миші, продемонстрували, що активація канонічного Wnt-сигнального шляху призводила до диференціювання останніх у клітини мезодерми та забезпечувала ефективнішу диференціацію в кардіоміоцити, однак тоді запускався і механізм репресії цього сигнального шляху [30]. Напротивагу цьому показано, що активація Wnt-сигналіну на пізніших стадіях (6–9-та доба гестації) призводила до зниження ефективності диференціації ЕСК у кардіоміоцити [30]. Аналіз та екстраполяція результатів цих досліджень власне і дали змогу виявити роль Wnt-сигналіну в кардіогенезі залежно від стадії розвитку *in vivo* [14, 29].

Розглядаючи значення Wnt-сигналіну для процесу диференціювання СК у кардіоміоцити, необхідно зазначити, що надзвичайно важливу роль у кардіогенезі *in vivo* відіграє взаємодія між BMP- та Wnt-сигнальними шляхами [14, 17, 25, 29, 30]. Аналіз низки експериментальних робіт свідчить про те, що ця взаємодія має антагоністичний характер і здійснюється в суворих часових межах. Регуляція цих сигналів загалом необхідна на всіх стадіях формування серця: при закладанні мезодерми на стадії гастрюляції (активація Wnt-сигналіну), для преспецифікації примітивних прогеніторних клітин у межах кардіогенної мезодерми (активація Wnt-сигналіну), на етапі специфікації клітин-попередників первинного та вторинного кардіогенних полів у кардіогенній мезодермі (інгібування Wnt-сигналіну), при подальшій диференціації цих клітин у кардіоміоцити первинного поля (інгібування Wnt-сигналіну), для підтримання клітин-попередників вторинного поля (активація Wnt-сигналіну), для диференціювання клітин вторинного кардіогенного поля в кардіоміоцити (інгібування Wnt-сигналіну), для формування виносного тракту серця, передсердь та шлуночків, а також септ серця.

Отже, тонка взаємодія – взаєморегуляція між BMP- та Wnt-сигнальними шляхами необхідна для специфікації кардіальних клітин-попередників, підтримання та диференціювання популяції кардіоміоцитів та клітин гладеньких м'язів у ембріональному розвитку серця [14]. Зважаючи на поодинокі експериментальні дані щодо ролі й інших сигнально-регуляторних шляхів у функціонуванні ЕСК [17, 18, 21, 23, 26, 27, 31, 32], припускаємо, що існує взаємодія – взаєморегуляція не лише між BMP- та Wnt-сигнальними шляхами, а й між іншими сигнально-регуляторними шляхами у процесах кардіогенезу. На користь такого припущення свідчать поодинокі експериментальні роботи, зокрема показано, що активіна-А-залежний сигнально-регуляторний шлях залучений у підтримання плюрипотентності ЕСКл *in vitro*, але не *in vivo* [33].

Аналізуючи експериментальні дані, можна висловити припущення, що FGF, Wnt та Hedgehog принципово важливі для відновлення та підтримання популяції ЕСКл, тоді як активація BMP- та Notch-сигналінів призводить до диференціювання останніх.

Незважаючи на те, що тривалий час загально-визнаною була думка, ніби доросле серце є органом, який досягнув своєї термінальної диференціації, а кардіоміоцити не здатні до розмноження, накопичується все більше даних про здатність серцевого м'язу до відновлення і в тому числі завдяки саме стовбуровим клітинам [34–36]. Не існує єдиної думки щодо походження цих СК. За літературними даними це можуть бути власні стовбурові клітини серцевої тканини, малодиференційовані кардіоміоцити або

СК, які мігрували в серце з інших органів та тканин [37]. Дослідникам вдалось виявити популяцію кардіальних прогеніторних клітин, які експресують β MHC-промотор та транскрипційні фактори GATA4 і Tbx5, що характерно для прогеніторних клітин першого кардіального поля, які у свою чергу залучені у закладання лівого шлуночка в ембріональному кардіогенезі [37].

Отже, літературні дані, що стосуються участі Wnt-сигналіну в життєдіяльності СК, численні та різноманітні, але суперечливі, що пояснюється різними умовами експериментів та критеріями оцінки отриманих даних. З певністю можна підсумувати, що процеси самовідновлення та диференціювання СК перебувають під тонко налаштованою регуляцією ключовими сигнально-регуляторними шляхами: Wnt,

Hedgehog, TGF- β /Bmp, Notch та рецептором тирозинової кінази. На прикладі даних, отриманих у дослідах *in vitro*, з'ясовано, що як кардіоміогенна індукція, так і розвиток клітин крові та судин перебувають під контролем Wnt-сигналіну, і цей контроль здійснюється залежно від стадії розвитку стовбурових або прогеніторних клітин. Не варто забувати і про роль останніх у процесах репарації міокарда, які вочевидь перебувають під контролем не лише Wnt-сигналіну, а й інших сигнальних шляхів.

Роль Wnt/ β -катенінового сигналіну у кардіогенезі. Структурну та сигнальну функції β -катеніну під час ембріонального розвитку досліджували із використанням нокаутних та трансгенних мишей. У результаті таких робіт встановлено, що делеція β -катеніну на стадії зиготи спричиняла серйозні дефекти гаст-

Індуковані тканинспецифічні мутації, що призводять до втрати або активації сигнальної функції β -катеніну у мишей під час кардіогенезу

Cre-лінія	Локалізація експресії бактеріальної Cre-рекомбінази	Вплив на активність β -катеніну	Фенотип	Посилання
Mesp1 cre *	В усьому серці	LOF GOF	Дефекти проліферації клітин – похідних ВКП Порушене закладання серцевої трубки	[7, 25, 42–44]
Nkx2.5 cre	У клітинах-попередниках усіх кардіальних клітин	LOF	Порушене закладання серцевої трубки	[25, 45]
Sm22 β cre **	Кардіоміоцити та клітини ендотелію	GOF	Дефекти виносного тракту серця та правого шлуночка	[46]
Isl1 cre	Клітини вторинного кардіогенного поля	GOF	Збільшені розміри структур – похідних вторинного кардіального поля завдяки підвищенню рівня проліферації клітин цього поля	[45, 47–49]
Mef2c-ANF Cre ***	Клітини другого серцевого поля	LOF GOF	Дефекти виносного тракту серця та правого шлуночка Вкорочений правий шлуночок, ущільнений виносний тракт та міокард	[50]
Wnt1 cre	Клітини нервового гребеня, що містяться в серці (neural crest)	LOF	Порушення перебудов виносного тракту	[51]
Tie2 cre	Клітини ендотелію	LOF	Порушення закладання ендокардіальних структур	[52, 53]
GATA5 cre	Епікард	LOF	Порушення закладання коронарних артерій	[46]
K19 cre	Ембріональна ендодерма	LOF	Закладання множинних сердець	[40]

Примітки. LOF – втрата функції; GOF – активація сигнальної функції. * Клітини пізньої мезодерми. ** Клітини, що експресують маркерний білок гладеньких м'язів 22 β . *** Клітини, що експресують енхансерний фактор міоцитів 2С (Myocyte enhancer factor 2С), який забезпечує нормальний розвиток похідних попередників обох кардіогенних полів.

руляції, порушення розвитку структур голови і серця ембріона та призводила до смертності [8, 38–40].

При умовному видаленні гена β -катеніну у ендодермі ембріона миші відбувалось перепрограмування клітин ендодерми у серцеву мезодерму, внаслідок чого розвивались ембріони з кількома серцями [40]. На думку авторів, усі ці вади ембріогенезу спричинені не порушеннями міжклітинної адгезії, оскільки плакоглобін компенсував відсутність β -катеніну та був залучений до формування та підтримання адгеринних з'єднань, а порушеннями сигнальної регуляції проліферації та диференціювання клітини у ранній ендодермі. Загалом таке спостереження дало змогу висунути припущення про важливу функцію канонічного Wnt-сигналіну та зокрема β -катеніну не лише у ембріогенезі, а й у кардіогенезі ссавців.

Як відомо, серце є першим органом, який закладається у процесі ембріогенезу хребетних [14, 15, 41]. Воно виникає з прогеніторних клітин, які є частиною популяції мезодермальних клітин ембріона. Ці клітини забезпечують закладання першого та другого серцевих полів. Важливу роль у закладанні ембріонального серця також відіграє популяція прогеніторних клітин, які походять з нервового валіка і забезпечують розвиток «пейсмейкерних» нервових клітин. Загалом дослідженню кардіогенезу присвячено надзвичайно багато робіт [14], тому в даному розділі ми не будемо торкатися загальних питань ембріології серця, а детальніше зосередимося на дослідженні сигнальної регуляції цього процесу як *in vivo*, так і *in vitro*.

Створення та використання тварин із умовними мутаціями, що призводять до втрати або підвищення функції гена β -катеніну, дали змогу детальніше дослідити розвиток та гомеостаз серця, а також значення Wnt/ β -катенінового сигналіну у цих процесах (таблиця). І хоча роль Wnt/ β -катенінової сигнальної регуляції у розвитку серця постулювалась і раніше на основі профілю експресії генів – учасників Wnt-сигнального шляху, низка експериментальних робіт із використанням модельних тварин переконливо свідчить на користь такого припущення та розширює наші уявлення про значення Wnt-сигнальної регуляції у кардіогенезі.

Klaus et al. [25] встановлено, що індукована делеція гена β -катеніну у клітинах – попередниках мезодерми (використовували Cre-рекомбіназу під контролем раннього мезодермального промотора CMesP1) першого та другого серцевих полів під час кардіогенезу не впливала на формування першого серцевого поля, але призводила до виражених вад розвитку другого серцевого поля. Виявлено також, що за умов нокауту β -катеніну у клітинах – попередниках мезодерми відбувалось формування серцевої трубки, але формування серцевої петлі, виносного тракту та правого шлуночка не спостерігали [25]. Взагалі, експерименти з використанням індукованих мутацій,

що спричиняють кардіоспецифічну втрату або активацію сигнальної функції β -катеніну у мишей, свідчать про те, що генерація першого серцевого поля відбувається без участі Wnt/ β -катенінового сигналіну, тоді як генерація та розвиток другого серцевого поля залежить від правильної та своєчасної активації останнього [25].

Таку думку підтверджують й інші експериментальні роботи, в яких індуковано подібний фенотип завдяки порушенню здатності клітин відповідати на активацію Wnt-сигналіну на більш пізніх стадіях розвитку міокарда. Так, із використанням Cre-рекомбінази під контролем промотора Nkx2.5 β -катенін делетовано у клітинах – попередниках кардіоміоцитів, а з використанням промоторів Islet1 або Mef2c-AHF авторам вдалось видалити ген β -катеніну вибірково у клітинах другого серцевого поля (таблиця). Отриманий внаслідок таких генетичних маніпуляцій фенотип характеризувався дефектами розвитку та формування другого серцевого поля, частково за рахунок порушення правильної експансії Islet1-позитивних прогеніторних клітин. І навпаки, активація сигнальної функції β -катеніну у клітинних популяціях другого серцевого поля спричиняла посилене самовідновлення клітин другого серцевого поля та їхню активну експансію [45, 48–50].

У нашій роботі із використанням Cre-рекомбінази під контролем кардіоспецифічного промотора (β MHC) встановлено, що делеція гена β -катеніну після закладання першого і другого серцевих полів та формування ембріонального серця (6,5 дб гестації) не спричиняла виражених вад розвитку серця, але призводила до ембріональної летальності на пізніх термінах розвитку (після 16,5 дб ембріогенезу) та одразу після народження [54]. Ці дані також підтверджують думку про важливість своєчасної активації та репресії Wnt/ β -катенінового сигналіну для правильного формування і розвитку ембріонального міокарда.

Отже, цілком очевидно, що сигнальна функція β -катеніну є надзвичайно важливою в процесі кардіогенезу – у формуванні першого та другого серцевих полів, серцевої трубки, серцевої петлі та шлуночків. Експериментальні роботи останнього десятиріччя продемонстрували значення Wnt-сигнальної регуляції не лише у розвитку міокарда, а й судин серця, виносного тракту та клітин – похідних нервового гребеня (таблиця). Так, Kioussi et al. [51] з'ясували, що індукована втрата β -катеніну у клітинах нервового гребеня серця впливає на формування виносного тракту, вірогідно, за рахунок порушення регуляції транскрипції та активації гена *Pitx2*, який регулює проліферацію клітин нервового гребеня.

Тканиноспецифічна втрата сигнальної функції β -катеніну в ендотеліальних клітинах призводить до порушення ендотеліально-мезенхімальної міграції під час формування ендокарда [52]. Важливу роль Wnt-

сигнального шляху у формуванні судинної системи міокарда продемонстровано із використанням Cre-рекомбінази під контролем промотора Gata5. Zamoга et al. [46] вдалося видалити ген β -катеніну у клітинах, що походять з епікарда. У мутантних ембріонів, отриманих внаслідок таких генетичних маніпуляцій, спостерігали не тільки порушення розвитку коронарних артерій, а й неправильне диференціювання клітин гладеньких м'язів.

Отже, експериментальні роботи із використанням моделей індукованих тканиноспецифічних делецій або активацій гена β -катеніну на різних стадіях кардіогенезу дають змогу з'ясувати участь Wnt/ β -катенінового сигналіну під час специфікації, відновлення та диференціації різних популяцій прогеніторних клітин серця. Нині цілком зрозуміло, що Wnt/ β -катеніновий сигналінг необхідний для підтримання та експансії ліній попередників кардіоміоцитів, але для диференціювання цих клітин у кардіоміоцити або клітини гладеньких м'язів необхідна репресія сигнальної активності β -катеніну. Складні молекулярно-біологічні взаємодії канонічного та неканонічного Wnt-сигнального шляхів, а також їхня взаємодія з іншими сигнально-регуляторними шляхами та контроль транскрипції під час кардіогенезу — ось ті питання, які є надзвичайно важливими та неповністю висвітленими, а отже потребують подальших досліджень.

Сигнальна функція β -катеніну у реконструкції міокарда. У розвитку серця Wnt/ β -катенінова сигнальна регуляція має як мінімум двофазне значення залежно від стадії розвитку ембріона, у дорослому ж серці, згідно з існуючими нині уявленнями, сигнальна функція Wnt інгібується або перебуває на базальному рівні. Таке припущення ґрунтується на результатах кількох експериментальних робіт, в яких автори намагались визначити у дорослому здоровому міокарді або сигнальну активність β -катеніну, або експресію маркерних генів ембріонального серця [55, 56].

Так, при аналізі фракції клітин, виділених із дорослого серця, що не належать до кардіоміоцитів, автори не виявляли прогеніторних клітин, що є MesP1-позитивними. Цей факт свідчить про те, що у дорослому серці відсутня фракція кардіальних стовбурових клітин. Авторам вдалось виявити незначну популяцію кардіальних прогеніторних клітин, що експресують маркер другого серцевого поля, а саме Islet1. Отже, можна припустити, що у дорослому серці сигнальна активність β -катеніну перебуває на базальному рівні [55]. Варто зауважити, що у даній роботі автори не аналізували рівень сигнальної активності останнього, при цьому їм вдалось виділити із тканини лівого шлуночка дорослого серця фракцію клітин, що експресують кілька генетичних маркерів першого серцевого поля — Tbx5, β MHC та eHand. Кількісно остання

була чисельнішою порівняно із популяцією Islet1⁺ кардіальних прогеніторних клітин [55]. Вірогідно, модуляція проліферації та диференціації саме кардіальних прогеніторних клітин першого серцевого поля є одним із механізмів ендогенної регенерації та реконструкції дорослого серця ссавців.

Іншою групою вчених проаналізовано локалізацію β -катеніну в кардіоміоцитах на різних стадіях диференціювання. У результаті цих досліджень Nirsch et al. [56] з'ясували, що ядерна локалізація β -катеніну притаманна лише раннім ембріональним кардіоміоцитам та лінії клітин кардіоміоцитів HL-1. І навпаки, ядерну локалізацію β -катеніну у дорослому здоровому серці не спостерігали ані у дикотипних тварин, ані у тварин із генетично модифікованою стабілізованою формою β -катеніну. Автори припускають, що класичний Wnt-сигнальний шлях за участі β -катеніну не відіграє або майже не відіграє суттєвої ролі у дорослому здоровому серці.

Активация Wnt/ β -катенінового сигнального шляху при розвитку деяких патологій дорослого серця також активно вивчалась протягом останніх десяти років. Інфаркт міокарда та гіпертрофія є одними з найдосліджуваніших патологічних станів міокарда, але питання щодо участі Wnt/ β -катенінового сигнального шляху у згаданих процесах лишається без однозначної відповіді, оскільки отримані різними групами авторів дані досить суперечливі.

Із використанням трансгенних тварин, що надекспресують FrzA, який у свою чергу є антагоністом Wnt/ β -катенінового сигнального шляху, показано, що пригнічення останнього призводить до зменшення зони ушкодження міокарда після індукованого інфаркту [57]. Автори спостерігали акумуляцію β -катеніну у цитоплазмі, що свідчить про активацію і Wnt/ β -катенінового сигнального шляху одразу після інфаркту міокарда (ІМ). У трансгенних тварин із надекспресією FrzA цитоплазматична локалізація β -катеніну істотно зменшувалась, разом із тим зменшувалась зона пошкодження ІМ та покращувалось функціонування міокарда.

Дані, що свідчать на користь думки про негативну роль сигнальної активності β -катеніну у процесах регенерації ІМ, отримані й іншою групою вчених [37]. Із використанням індукованих генетичних моделей делеції та, навпаки, стабілізації β -катеніну винятково у кардіоміоцитах (Cre-рекомбіназа під контролем β MHC-промотора) показано, що у тварин із делетованим геном β -катеніну спостерігається покращення функції лівого шлуночка після ІМ вже через 4 тижні, також у цієї групи тварин була підвищена і виживаність. І навпаки, тварини з індукованою стабілізованою формою β -катеніну відрізнялись зниженням виживаності та погіршеними функціональними показниками лівого шлуночка після ІМ. У обох трансгенних ліній тварин Zelarayan et al. [37] не спостерігали статистично

вірогідного підвищення рівня апоптозу чи гіпертрофії кардіоміоцитів після ІМ. На думку авторів, ендогенна регенерація серця при реконструкції лівого шлуночка відбувається за рахунок власних прогеніторних клітин. Пригнічення сигнальної функції β -катеніну є необхідною умовою для диференціювання останніх. Автори пропонують розглядати інгібування Wnt/ β -катенінового сигнального шляху як механізм запобігання вторинної експансії інфаркту та покращення функції міокарда [37].

Протилежні дані отримані кількома іншими групами дослідників [58–62]. Так, із використанням аденовірусного вектора, що містить ген конститутивно активного β -катеніну (Ad-катенін), Hahn et al. [58] дослідили роль останнього у кардіоміоцитах та кардіальних фіброблестах після ІМ. Виявилось, що при введенні Ad-катеніну у неонатальні кардіоміоцити щура *in vitro* спостерігається зниження рівня апоптозу в обох типах клітин та відбувається підвищення експресії Bcl-2. В кардіоміоцитах та кардіальних фіброблестах після введення конститутивно активної форми β -катеніну відбувалось підвищення відсотка клітин у фазі S клітинного циклу та експресії генів *cyclinD1* і *E2*, але статистично вірогідне збільшення кількості клітин спостерігалось лише у разі кардіальних фіброблестів. Цікаво, що при введенні Ad-катеніну щурам з ІМ безпосередньо у граничну зону інфаркту спостерігали статистично вірогідне зменшення розміру ІМ разом з антиапоптичним ефектом та активацією клітинного циклу в кардіоміоцитах та кардіальних фіброблестах. Такі дані свідчать про позитивний вклад активації β -катеніну в процеси регенерації серцевої тканини після ІМ за рахунок сприяння виживанню клітин та активації клітинного циклу не лише в кардіоміоцитах, а й в кардіальних фіброблестах [58].

Функція «швидкої допомоги» епікарда та кардіальних фіброблестів при репарації ІМ показана й іншими дослідниками [59]. Із використанням репортерних мишей TOPGAL встановлено, що саме активація Wnt/ β -катенінового сигналіну в клітинах епікарда та серцевих фіброблестів необхідна для реконструкції лівого шлуночка після ІМ. Підвищення експресії Wnt1 після індукції патології у дослідних тварин спостерігали в зоні хірургічного втручання, хоча у нормальному стані Wnt1 експресується лише в епікарді та фіброблестах серця. При порушенні або пригніченні Wnt-сигнального шляху у клітинах епікарда відбувається критичне зниження експансії епікардіальних клітин, що в свою чергу призводить до погіршення функції міокарда та дилатації шлуночка [59].

Oerlemans et al. [60] досліджували роль Wnt/ β -катенінового сигналіну при регенерації ІМ із використанням Axin2-LacZ трансгенних мишей. Ці тварини експресують бактеріальну β -галактозидазу ли-

ше при активації експресії гена *Axin2*, який у свою чергу є одним із багатьох генів-мішеней β -катеніну та безпосереднім інгібітором останнього. Автори спостерігали підвищення сигнальної активності Wnt після ІМ у мишей, але цікаво, що ця активність не обмежувалась певною зоною міокарда. Крім цього встановлено, що у відповідь на хірургічне втручання (експериментальний ІМ) Wnt/ β -катеніновий сигналінг запускає експансію багатьох типів клітин, включаючи $Sca^+/CD31^-$ прогеніторні, $Sca^-/CD31^+$ ендотеліальні клітини, а також $skit^+$ та $CD31^+$ популяцій клітин. Ці дані свідчать про залучення Wnt-сигналіну в процес диференціювання у відповідь на індукований ІМ [60]. Результати, отримані іншою групою вчених, також опосередковано свідчать про покращення функції серця та зменшення зони ІМ після стабілізації β -катеніну [61].

Слід зауважити, що однозначної думки в сучасній літературі не існує і стосовно ролі Wnt/ β -катенінового сигналіну у розвитку гіпертрофії серця [55, 62, 63]. Відомо, що кардіоміоцити — це термінально диференційовані клітини, які здатні збільшуватись у процесі росту всього організму (еутрофія), а також у відповідь на дію відповідних стимулів (гіпертрофія). *In vivo* гіпертрофічний ріст кардіоміоцитів є важливим механізмом адаптації як до фізіологічних навантажень (фізіологічна гіпертрофія), так і до патологічних стимулів, таких як гіпертензія, ІМ (патологічна гіпертрофія) [55].

Низка експериментальних робіт свідчить про критичне значення GSK3 β та β -катеніну у розвитку гіпертрофічної відповіді. Підвищення активності GSK3 β стримує розвиток гіпертрофії [64]. Експериментально встановлено, що фенілефрин, ендотелін 1 та хлорид літію — речовини, які спричиняють розвиток гіпертрофії, призводять до стабілізації β -катеніну опосередковано через інгібування GSK3 β [65, 66]. Отримані результати свідчать не лише на користь думки про необхідність стабілізації β -катеніну при гіпертрофічній відповіді, а й про те, що активація сигнальної функції останнього може бути як Wnt-залежною, так і Wnt-незалежною.

Припущення про необхідність активації сигнальної функції у процесі розвитку гіпертрофії міокарда підтверджують і результати отримані Malekar et al. [63]. Так, із використанням трансгенних тварин, що надекспресують ген *Dvl-1* винятково у кардіоміоцитах, встановлено, що активація Wnt-сигналіну спричиняє розвиток гіпертрофії та призводить до смертності тварин. Цікаво, що автори спостерігали активацію обох гілок Wnt-сигналіну та реєстрували підвищення рівня експресії β -катеніну і деяких генів-мішеней сигнальної регуляції останнього — *Cyckin D1* та *c-мус*. Активацію неканонічного Wnt-сигналіну реєстрували через 3 місяці після індукції гіпертрофії у тварин із розвиненою патологією. Отримані дані автори підтвердили і в дослідях *in vitro*

із використанням культури кардіоміоцитів мишей [63]. Іншою групою дослідників також встановлено, що надекспресія конститутивно активної форми β-катеніну в культурі клітин спричиняє спонтанну гіпертрофію кардіоміоцитів *in vitro* [58]. Chen et al. [42], використовуючи нокаутних тварин, встановили, що активація β-катеніну/TCF/LEF сигналіну необхідна при розвитку стресіндукованої та фізіологічної гіпертрофії. Делеція β-катеніну в дорослому міокарді у ранні строки спостережень не призводила до смертності тварин. Здебільшого нокаутні тварини мали нормальний фенотип, і лише у віддалені після делеції строки (32 тижні) автори фіксували морфологічні зміни тканини міокарда: витончення стінок серця, що призводило до розвитку кардіоміопатії. Тож можна припустити, що дефіцит білка β-катеніну в тканині дорослого міокарда спричиняє розвиток патологічних реконструкцій серця із віком тварин. Але проблема вікових адаптацій міокарда та β-катенінового сигналіну недостатньо висвітлена у сучасній літературі і потребує детального вивчення.

В результаті досліджень Qu et al. [44] із використанням умовної кардіоспецифічної делеції β-катеніну встановлено, що делеція одного алеля гена β-катеніну стримувала розвиток гіпертрофії у мутантних тварин після операбельного звуження аорти порівняно із контролем, тобто гіпертрофія не розвивалась у тварин із дефіцитом β-катеніну в тканині міокарда за умов хронічного підвищеного кров'яного тиску, але вчені спостерігали підвищення експресії фетальних генів у таких тварин порівняно із контролем.

На протипагу згаданим роботам Vaugand et al. [43] з'ясували, що делеція β-катеніну у тканині дорослого міокарда призводить до спонтанного розвитку гіпертрофії. Із використанням мишей з конститутивно стабілізованою формою β-катеніну автори спостерігали відсутність гіпертрофічної відповіді після ін'єкцій ангіотензину II. Варто зауважити, що у цьому дослідженні автори аналізували лише розмір кардіоміоцитів та рівень експресії одного з генів маркерів гіпертрофії – *ANF*, в той час як інші автори використовували комплексніший підхід, а саме: індекс співвідношення маси серця до маси тіла, рівень експресії інших маркерних генів гіпертрофії (*BNF*, *αMHC*, *βMHC*) або генів мішеней β-катеніну (*Cyckin DI*, *c-myc*, *c-fos*).

На нашу думку, існуючі у літературі протиріччя можна пояснити різними підходами до проведення експериментів та різними строками спостережень. Вірогідно, сигнальна функція β-катеніну та Wnt/β-катенінового сигналіну необхідна на початкових стадіях розвитку гіпертрофії, про що переконливо свідчать експериментальні роботи із використанням різних гіпертрофічних стимулів. При подальшому перебігу патології сигнальна функція β-катеніну,

репресується за участі негативного «фідбеку» чи інших сигнально-регуляторних механізмів, які контролюють або взаємодіють із Wnt-сигналіном. Дійсно, один із генів-мішеней β-катеніну – *Axin2* є важливим компонентом деградувального комплексу останнього. Описано й інші молекули, що взаємодіють або безпосередньо із стабілізованим β-катеніном, або з комплексом β-катенін/TCF/LEF та у такий спосіб здійснюють негативний фізіологічний «фідбек» Wnt/β-катенінового сигналіну [67].

Отже, роль β-катеніну та Wnt/β-катенінового сигналіну у розвитку гіпертрофії серця має набагато складніший характер та, можливо, залежить від стадії розвитку цієї патології.

Загалом, складається враження, що Wnt/β-катеніновий сигналінг не лише «запускає» процеси диференціювання та проліферації, але й регулює і координує ці процеси залежно від типу та стану клітини. І хоча на сьогодні не існує одностайної думки щодо значення активації Wnt/β-катенінового сигналіну при ремодельованні дорослого міокарда, очевидно, що β-катенін має надзвичайно великий потенціал як мішень для розвитку нових підходів до терапії патологій (ІМ, гіпертрофія та ін.) дорослого міокарда.

THE Wnt/β-CATENIN SIGNALING IN EMBRYONIC CARDIOGENESIS, POSTNATAL FORMATION AND RECONSTRUCTION OF MYOCARDIUM

O.O. Piven, O.L. Palchevska, L.L. Lukash

Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Kyiv
E-mail: o.o.piven@imbg.org.ua

Wnt/β-catenin signaling exerts great and diverse influence on the formation, development and vital activity of a great number of vertebrate tissues, including heart tissue. The role of Wnt/β-catenin signaling and β-catenin itself in the processes of cardiogenesis and adult myocardium functioning is not fully elucidated to date. In the current review we made the attempt to generalize data from up-to-date literature dealing with participation of this signaling pathway in embryogenesis and postnatal heart development as well as in adult myocardium functioning in normal conditions and during stress adaptation, aging, resulting in hypertrophy and heart remodeling. Based on the experimental articles and reviews we can assume that Wnt/β-catenin signaling pathway is involved not only in controlling the cardiogenesis but in processes of adaptation and remodeling of adult organ, too. This control can be characterized as complicated and multi-step and β-catenin appears to be a perspective candidate for new approaches development for the adult myocardium pathologies therapy.

ЗНАЧЕНИЕ Wnt/ β -КАТЕНИНОВОГО СИГНАЛИНГА В ЭМБРИОНАЛЬНОМ КАРДИОГЕНЕЗЕ, ПОСЛЕНАТАЛЬНОМ ФОРМИРОВАНИИ И РЕКОНСТРУКЦИИ МИОКАРДА

О.А. Пивень, О.Л. Пальчевская, Л.Л. Лукаш

Wnt/ β -катениновый сигналинг играет важную и разноплановую роль в закладке, развитии и жизнедеятельности многих тканей позвоночных, в том числе и ткани сердца. Роль Wnt/ β -катенинового сигналинга и β -катенина в процессах кардиогенеза и функционирования взрослого миокарда до конца не выяснена. В обзоре предпринята попытка обобщить данные современной литературы об участии этого сигнального пути в эмбриогенезе и посленатальном развитии сердца, а также в функционировании взрослого миокарда как в норме, так и при адаптации к стрессам, а также старении, что выражается в гипертрофии и перестройке сердечной мышцы. На основании экспериментальных и обзорных работ выдвинуто предположение о том, что Wnt/ β -катениновый сигнальный путь задействован не только в контроле кардиогенеза, но и в процессах адаптации и реконструкции взрослого органа. Этот контроль имеет сложный и многоэтапный характер, а β -катенин — перспективный кандидат на роль мишени для разработки новых подходов к терапии патологий взрослого миокарда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rao T., Kuhl M. An updated on Wnt signaling pathways : A prelude for more // *Circ Res.* — 2010. — **106**, № 12. — P. 1798–1806.
2. Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling in development and disease // *Cell.* — 2006. — **127**, № 3. — P. 470–480.
3. Cavey M., Lecuit T. Molecular bases of cell–cell junctions stability and dynamics // *Cold Spring Harbor Persp. Biol.* — 2009. — **1**, № 5. — P. a002998.
4. Stepniak E., Radice G., Vasioukhin V. Adhesive and signaling functions of cadherins and catenins in vertebrate development // *Cold Spring Harbor Persp. Biol.* — 2009. — **1**, № 5. — P. 002949.
5. Piven O. Perturbations of adhesive complexes in a myocardium tissue as one of mechanisms of heart function disorders // *Ukr. J. Cardiology.* — 2010. — № 6. — P. 110–117.
6. Swope D., Cheng L., Gao E. et al. Loss of cadherin-binding proteins, β -catenin and plakoglobin, in the heart leads to gap junction remodelling and arrhythmogenesis // *Mol. Cell. Biol.* — 2012. — **32**, № 6. — P. 1056–1067.
7. Zhou J., Qu J., Yi X.P. et al. Upregulation of γ -catenin compensates for the loss of β -catenin in adult cardiomyocytes // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2007. — **292**. — H270–276.
8. Grigoryan T., Wend P., Klaus A., Birchmeier W. Deciphering the function of canonical Wnt signals in development and disease: conditional loss- and gain-of-function mutations of β -catenin in mice // *Genes Dev.* — 2008. — **22**, № 17. — P. 2308–2341.
9. Gordon M.D., Nusse R. Wnt signaling : Multiple pathways, multiple receptors, and multiple transcription factors // *J. Biol. Chem.* — 2006. — **281**, № 32. — P. 22429–22433.
10. Archbold H.C., Yang Y.X., Chen L., Cadigan K.M. Wnt/ β -catenin pathway: regulation of transcription by the Wnt. How do they do? // *Acta Physiol.* — 2012. — **204**. — P. 74–109.
11. Интернет ресурс «The Wnt Home page» http://www.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/target_genes
12. Varelas X., Miller B.W., Sopko R. et al. The Hippo pathway regulates Wnt/ β -catenin signaling // *Dev. Cell.* — 2010. — **18**, № 4. — P. 579–591.
13. Itasaki N., Hoppler S. Crosstalk between Wnt and bone morphogenic protein signaling : A turbulent relationship // *Dev. Dyn.* — 2010. — **239**, № 1. — P. 16–33.
14. Klaus A., Birchmeier W. Developmental signaling in myocardial progenitor cells: A comprehensive view of Bmp- and Wnt/ β -catenin signaling // *Pediatr. Cardiol.* — 2009. — **30**. — P. 609–616
15. Katoh M., Katoh M. Cross-talk of WNT and FGF signaling pathways at GSK3beta to regulate beta-catenin and SNAIL signaling cascades // *Cancer Biol. Ther.* — 2006. — **5**, № 9. — P. 1059–1064.
16. Holland J.D., Klaus A., Garratt A.N., Birchmeier W. Wnt signaling in stem and cancer stem cells // *Curr. Opin. Cell Biol.* — 2013. — **25**, № 2. — P. 254–264.
17. Klaus A., Muller M., Schulz H. et al. Wnt/ β -catenin and Bmp signals control distinct sets of transcription factors in cardiac progenitor cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2012. — **109**, № 27. — P. 10921–10926.
18. Zhanga J., Li L. BMP signaling and stem cell regulation // *Dev. Biol.* — 2005. — **284**, № 1. — P. 1–11.
19. Nusse R. Wnt signaling and stem cell control // *Cell. Res.* — 2008. — **18**, № 5. — P. 523–527.
20. Varga A.C., Wrana J.L. The disparate role of BMP in stem cell biology // *Oncogene.* — 2005. — **24**, № 337. — P. 5712–5721.
21. Sahlgren C., Lendahl U. Notch signaling and its integration with other signaling mechanisms // *Regen. Med.* — 2006. — **1**, № 2. — P. 195–205.
22. Bray S.J. Notch signaling: a simple pathway becomes complex // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* — 2006. — **7**, № 9. — P. 678–689.
23. Carlson M.E., Conboy I.M. Regulating the Notch pathway in embryonic, adult and old stem cells // *Curr. Opin. Pharm.* — 2007. — **7**, № 3. — P. 303–309.
24. Gessert S., Kuhl M. The multiple phases and faces

- of Wnt signaling during cardiac differentiation and development // *Circ. Res.* – 2010. – **107**, № 2. – P. 186–199.
25. Klaus A., Saga Y., Taketo M.M. et al. Distinct roles of Wnt/beta-catenin and Bmp signaling during early cardiogenesis // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**, № 47. – P. 18531–18536.
 26. Blank U., Karlsson G., Karlsson S. Signaling pathways governing stem-cell fate // *Blood.* – 2008. – **111**, № 2. – P. 492–503.
 27. Watabe T., Miyazono K. Roles of TGF- β family signaling in stem cell renewal and differentiation // *Cell Res.* – 2009. – **19**, № 1. – P. 103–115.
 28. David G., Ye Z., Hammond H. et al. Defining the role of Wnt/ β -catenin signaling in the survival, proliferation, and self-renewal of human embryonic stem cells // *Stem Cells.* – 2005. – **23**, № 10. – P. 1489–1501.
 29. Naito A.T., Shiojima I., Akazawa H. et al. Developmental stage-specific biphasic roles of Wnt/ β -catenin signaling in cardiomyogenesis and hematopoiesis // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2006. – **103**, № 52. – P. 19812–19817.
 30. Ueno S., Weidinger G., Osugi T. et al. Biphasic role for Wnt/ β -catenin signaling in cardiac specification in zebrafish and embryonic stem cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**, № 23. – P. 9685–9690.
 31. Lanier M., Schade D., Willems E. et al. Wnt inhibition correlates with human embryonic stem cell cardiomyogenesis: a structure-activity relationship study based on inhibitors for the Wnt response // *J. Med. Chem.* – 2012. – **55**, № 2. – P. 697–708.
 32. Katoh M. Networking of WNT, FGF, Notch, BMP, and Hedgehog signaling pathways during carcinogenesis // *Stem Cell Rev.* – 2007. – **3**, № 1. – P. 30–38.
 33. Xiao L., Yuan X., Sharkis S.J. Activin A maintains self-renewal and regulates fibroblast growth factor, Wnt, and bone morphogenic protein pathways in human embryonic stem cells // *Stem Cells.* – 2006. – **24**, № 6. – P. 1476–1486.
 34. Steinhilber M.L., Lee R.T. Regeneration of the heart // *EMBO Mol. Med.* – 2011. – **3**, № 12. – P. 701–712.
 35. Barnett P., Hoff M.J. van den. Cardiac regeneration: different cells same goal // *Med. Biol. Eng. Comput.* – 2011. – **49**, № 7. – P. 723–732.
 36. Nadal-Ginard B., Kajtsura J., Leri A., Anversa P. Myocyte death, growth, and regeneration in cardiac hypertrophy and failure // *Circ. Res.* – 2003. – **92**, № 2. – P. 139–150.
 37. Zelarayan L.C., Noack C., Sekkali B. et al. β -Catenin downregulation attenuates ischemic cardiac remodeling through enhanced resident precursor cell differentiation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2008. – **105**, № 50. – P. 19762–19767.
 38. Haegel H., Larue L., Ohsugi M. et al. Lack of β -catenin affects mouse development at gastrulation // *Development.* – 1995. – **121**, № 11. – P. 3529–3537.
 39. Huelsken J., Vogel R., Brinkmann V. et al. Requirement for β -catenin in anterior-posterior axis formation in mice // *J. Cell Biol.* – 2000. – **148**, № 3. – P. 567–578.
 40. Lickert H., Kutsch S., Kanzler B. et al. Formation of multiple hearts in mice following deletion of β -catenin in the embryonic endoderm // *Dev. Cell.* – 2002. – **3**, № 2. – P. 171–181.
 41. Altaba A.R. Pattern formation in the vertebrate neural plate // *Trends Neurosci.* – 1994. – **17**, № 6. – P. 233–243.
 42. Chen X., Shevtsov S.P., Hsieh E. et al. The β -catenin/T-cell factor/lymphocyte enhancer factor signaling pathway is required for normal and stress induced cardiac hypertrophy // *Mol. Cell. Biol.* – 2006. – **26**, № 12. – P. 4462–4473.
 43. Baurand A., Zelarayan L., Betney R. et al. β -Catenin downregulation is required for adaptive cardiac remodeling // *Circ. Res.* – 2007. – **100**, № 9. – P. 1353–1362.
 44. Qu J., Zhou J., Yi X.P. et al. Cardiac-specific haploinsufficiency of β -catenin attenuates cardiac hypertrophy but enhances fetal gene expression in response to aortic constriction // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2007. – **43**, № 3. – P. 319–326.
 45. Kwon C., Arnold J., Hsiao E.C. et al. Canonical Wnt signaling is a positive regulator of mammalian cardiac progenitors // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**, № 26. – P. 10894–10899.
 46. Zamora M., Manner J., Ruiz-Lozano P. Epicardium-derived progenitor cells require β -catenin for coronary artery formation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**, № 46. – P. 18109–18114.
 47. Cohen E.D., Wang Z., Lepore J.J. et al. Wnt/ β -catenin signaling promotes expansion of Isl-1-positive cardiac progenitor cells through regulation of FGF signaling // *J. Clin. Invest.* – 2007. – **117**, № 7. – P. 1794–1804.
 48. Lin L., Cui L., Zhou W. et al. β -Catenin directly regulates Islet1 expression in cardiovascular progenitors and is required for multiple aspects of cardiogenesis // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**, № 22. – P. 9313–9318.
 49. Qyang Y., Martin-Puig S., Chiravuri M. et al. The renewal and differentiation of Isl1+ cardiovascular progenitors are controlled by a Wnt/ β -catenin pathway // *Cell. Stem Cell.* – 2007. – **1**, № 2. – P. 165–179.
 50. Ai D., Fu X., Wang J. et al. Canonical Wnt signaling functions in second heart field to promote right ventricular growth // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**, № 22. – P. 9319–9324.
 51. Kioussi C., Briata P., Baek S.H. et al. Identification

- of a Wnt/Dvl/ β -Catenin \rightarrow Pitx2 pathway mediating cell-type-specific proliferation during development // *Cell*. – 2002. – **111**, № 5. – P. 673–685.
52. Liebner S., Cattelino A., Gallini R. et al. β -Catenin is required for endothelial-mesenchymal transformation during heart cushion development in the mouse // *J. Cell Biol.* – 2004. – **166**, № 3. – P. 359–367.
 53. Cattelino A., Liebner S., Gallini R. et al. The conditional inactivation of the β -catenin gene in endothelial cells causes a defective vascular pattern and increased vascular fragility // *J. Cell Biol.* – 2003. – **162**, № 6. – P. 1111–1122.
 54. Piven O.O., Kostetskii I.E., Macewicz L.L. et al. Requirement for N-cadherin-catenin complex in heart development // *Exp. Biol. Med.* – 2011. – № 6. – P. 1–7.
 55. Bergmann M.W. WNT signaling in adult hypertrophy and remodeling: lessons learned from cardiac development // *Circ. Res.* – 2010. – **107**, № 10. – P. 1198–1208.
 56. Hirschy A., Croquelois A., Perriard E. et al. Stabilised β -catenin in postnatal ventricular myocardium leads to dilated cardiomyopathy and premature death // *Basic Res. Cardiol.* – 2010. – **105**, № 5. – P. 597–608.
 57. Barandon L., Couffinhal T., Ezan J. et al. Reduction of infarct size and prevention of cardiac rupture in transgenic mice overexpressing FrzA // *Circulation*. – 2003. – **108**, № 18. – P. 2282–2289.
 58. Hahn J.Y., Cho H.J., Bae J.W. et al. β -Catenin overexpression reduces myocardial infarct size through differential effects on cardiomyocytes and cardiac fibroblasts // *J. Bio. Chem.* – 2006. – **281**, № 41. – P. 30979–30989.
 59. Duan J., Gherghe C., Liu D. et al. Wnt1/ β catenin injury response activates the epicardium and cardiac fibroblasts to promote cardiac repair // *EMBO J.* – 2011. – **31**, № 2. – P. 429–442.
 60. Oerlemans M.I., Goumans J.J., van Middelaar B. et al. Active Wnt signaling in response to cardiac injury // *Basic. Res. Cardiol.* – 2010. – **105**, № 5. – P. 631–641.
 61. Kaga S., Zhan L., Altaf E., Maulik N. Glycogen synthase kinase-3 β / β -catenin promotes angiogenic and anti-apoptotic signaling through the induction of VEGF, Bcl-2 and survivin expression in rat ischemic preconditioned myocardium // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2006. – **40**, № 1. – P. 138–147.
 62. Brade T., Manner J., Kuhl M. The role of Wnt signaling in cardiac development and tissue remodelling in the mature heart // *Cardiovasc. Res.* – 2006. – **72**, № 2. – P. 198–209.
 63. Malekar P., Hagenmueller M., Anyanwu A. et al. Wnt signaling is critical for maladaptive cardiac hypertrophy and accelerates myocardial remodeling // *Hypertension*. – 2010. – № 55. – P. 939–945.
 64. Hardt S.E., Sadoshima J. Glycogen synthase kinase-3 β a novel regulator of cardiac hypertrophy and development // *Circ. Res.* – 2002. – **90**, № 10. – P. 1055–1063.
 65. Hag S., Ashour M., Andreucci M. et al. Stabilization of β -catenin by a Wnt-independent mechanism regulates cardiomyocytes growth // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 2003. – **100**, № 8. – P. 4610–4615.
 66. Sugden P.H., Fuller S.J., Weiss S.C., Clerk A. Glycogen synthase kinase 3 (GSK3) in the heart: a point of integration in hypertrophic signaling and a therapeutic target? A critical analysis // *Brit. J. Pharm.* – 2008. – № 153. – P. 137–153.
 67. Filipovich A., Gehrke I., Poll-Wolbeck S.J., Kreuzer K.A. Physiological inhibitors of Wnt signaling // *Eur. J. Haematol.* – 2011. – **86**, № 6. – P. 453–465.

Надійшла 30.10.12