УДК 576.52

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ КАНОНІЧНОГО Wnt-СИГНАЛІНГУ У ТВАРИН РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ КАРДІОСПЕЦИФІЧНОЇ ДЕЛЕЦІЇ β-КАТЕНІНУ

О.Л. ПАЛЬЧЕВСЬКА [1, 2], В.В. БАЛАЦЬКИЙ [2], А.О. АНДРЕЄВА [2], Л.Л. МАЦЕВИЧ [1], О.О. ПІВЕНЬ [1], Л.Л. ЛУКАШ [1]

[1] Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ
[2] Навчально-науковий центр «Інститут біології», Київський національний університет імені Тараса Шевченка
E-mail: o.o.piven@imbg.org.ua

Використовуючи умовно нокаутних тварин, дослідили експресію генів, залучених до канонічного Wnt-сигналінгу (TCF-4, Axin2), та генів, що перебувають під контролем цього сигнального шляху (c-fos, cyclin D1, c-myc, Cx43), у міокарді мишей за умови ембріональної кардіоспецифічної делеції одного алеля гена β-катеніну. Пригнічення канонічного Wnt-сигналінгу спостерігали в усіх досліджуваних вікових групах (1, 3 та 6 місяців). Аналіз генів, що перебувають під контролем канонічного Wnt-шляху, дозволив виявити зміни їхнього рівня експресії в тканинах тварин з кардіоспецифічною недостатністю β-катеніну. Обговорюється важливе значення нормального функціонування канонічного Wnt-сигналінгу для росту та розвитку дорослого серця.

***Ключові слова**: розвиток серця, β-катенін, канонічний Wnt-сигналінг, міокард, делеція гена.*

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 спричиняють істотні реконструкції міокарда загалом за рахунок активації внутрішньоклітинних сигнально-регуляторних шляхів та кофакторів транскрипції у кардіоміоцитах. Канонічний Wnt-сигналінг є одним із основних сигнально-регуляторних шляхів, залучених до контролю клітинного циклу, проліферації, апоптозу та диференціювання багатьох тканин та органів, включаючи і серце. Тож, Wnt-сигнальна регуляція клітини та роль β-катеніну у зазначених процесах активно вивчаються [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 недослідженими. 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 на сьогодні уявленнями сигнальна функція Wnt інгібується або перебуває на базальному рівні. Таке припущення ґрунтується на результатах кількох експериментальних робіт, в яких автори намагались виявити у дорослому здоровому міокарді або сигнальну активність β-катеніну, або експресію маркерних генів ембріонального серця [3, 4]. Іншою групою вчених проаналізовано локалізацію β-катеніну в кардіоміоцитах на різних стадіях диференціювання. У результаті цих досліджень встановлено, що ядерна локалізація β-катеніну притаманна лише раннім неонатальним кардіоміоцитам та лінії клітин кардіоміоцитів HL-1 [4]. Автори припускають, що класичний Wnt-сигнальний шлях не відіграє або майже не відіграє суттєвої ролі у дорослому здоровому серці [4]. Однак існує низка експериментальних робіт, що свідчать про важливість активації Wnt/β-катенінового сигнального шляху при розвитку деяких патологій дорослого серця та при адаптації міокарда до стресових факторів [5, 6]. Так, із використанням нокаутних та трансгенних тварин як моделей встановлено, що активація Wnt/β-катенінового сигнального шляху необхідна для регенерації міокарда після інфаркту [6–10], а також при адаптації дорослого серця до гемодинамічного стресу [5, 6, 11–14]. Але питання щодо участі цього сигнального шляху у вказаних процесах залишається без однозначної відповіді, оскільки дані, отримані різними групами авторів, є досить суперечливими. Так, авторами

© О.Л. ПАЛЬЧЕВСЬКА, В.В. БАЛАЦЬКИЙ, А.О. АНДРЕЄВА, Л.Л. МАЦЕВИЧ, О.О. ПІВЕНЬ, Л.Л. ЛУКАШ, 2015

було показано, що саме пригнічення сигнальної функції β-катеніну сприяє покращенню регенерації міокарда та виживанню тварин [15, 16]. Не існує одностайної думки і стосовно ролі сигнальної функції β-катеніну під час адаптації міокарда до гемодинамічного стресу, тобто у розвитку патологічної гіпертрофії. Вважається, що саме інгібування цього сигналінгу спричиняє розвиток патології [17].

Таким чином, сигнальна функція канонічного Wnt-шляху загалом та β-катеніну зокрема і їхня роль у розвитку післянатального серця та реконструкціях дорослого міокарда потребує більш детального вивчення. Саме тому у своїй роботі ми зосередились на дослідженні динаміки активності канонічного Wnt-шляху та β-катеніну у розвитку та формуванні дорослого міокарда за умов індукованого дефіциту гена β-катеніну. Раніше нами встановлено, що повна втрата гена β-катеніну під час кардіогенезу призводить до смертності таких ембріонів у пізньому ембріогенезі або одразу після народження [18]. Наші дослідження показали, що індукований дефіцит гена β-катеніну у кардіогенезі призводив до затримки росту післянатального міокарда та активації фетального або гіпертрофічного патерну генів [19]. У згаданій роботі досліджували вплив саме індукованого дефіциту гена β-катеніну на активність канонічного Wnt-шляху у дорослому міокарді. Для досягнення мети індукували ембріональну кардіоспецифічну делецію одного алеля гена β-катеніну з використанням умовно нокаутних та трансгенних тварин.

Матеріали і методи. Для отримання кардіоспецифічної делеції гена-мішені (β-катеніну) схрещували мишей, що експресують бактеріальну Cre-рекомбіназу під контролем промотора важкого ланцюга α-міозину ((αMHC)-Cre) і гетерозиготних за умовним нокаутом β-катеніну ((αMHC)-Cre; β-cat$^{flox/wt}$) з тваринами, гомозиготними за умовним нокаутом β-катеніну (β-cat$^{flox/flox}$). Новонароджених тварин генотипували у віці 5–6 діб згідно зі стандартними протоколами. Дослідження експресії генів, залучених до реалізації транскрипційної активності, та генів-мішеней канонічного Wnt-сигнального шляху проводили з використанням тварин віком 1, 3 та 6 місяців. Варто зауважити, що Cre-рекомбіназа у нашій моделі активна під контролем тканиноспецифічного промотора виключно в кардіоміоцитах, починаючи приблизно з 6-го дня ембріонального розвитку, тобто після закладання ділянки ембріонального серця [19]. Тож використання Cre-рекомбінази під контролем промотора важкого ланцюга α-міозину дало змогу видалити ген β-катеніну виключно у тканині міокарда після закладки першого та другого серцевих полів. Трансгенні тварини люб'язно надані доктором Міхаелєм Шнайдером (Медичний коледж, Байлор, США). Тварини, гомозиготні за умовним нокаутом β-катеніну (β-catenin$^{flox/flox}$), отримані із Джексон лабораторії (Jackson Laboratories, США).

Генотипування, виділення ДНК. Всі молекулярно-біологічні процедури (виділення ДНК, ланцюгова полімеразна реакція) проводили згідно зі стандартними протоколами [10]. Для генотипування тварин використовували наступні пари праймерів: β-катенін, forward, AGGTAGAGTGATGAAAGTTGTT-3′ та reverse, 5′-CACCATGTCCTCTGTCTATTC-3′; (αMHC)-Cre, forward, 5′-CAGAACCTGAAGATGTTCGC-3′ та reverse, 5′-TACACCTCGGTGCTAACCAG-3′ [29].

Виділення тотальної РНК, синтез кДНК, полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі. Для аналізу експресії генів із тканини ізольованого міокарда без передсердь виділяли тотальну РНК за допомогою UltraClean® Tissue&Cells RNAIsolationKit (MOBIO) згідно з рекомендаціями виробника. Отриману РНК обробляли ДНКазою I та використовували для синтезу кДНК, який здійснювали за допомогою First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific) згідно з рекомендаціями виробника. Реакцію ПЛР в реальному часі проводили із використанням суміші Maxima SYBR Green/Fluorescein qPCR MasterMix (ThermoScientific) на приладі iCycler single-color real-time PCR detection system (IQ5, BioRad). Рівень експресії генів, залучених до канонічного Wnt-сигналінгу, визначали із використанням праймерів *TCF-4* (forward, 5′-AACGGAACAGACAGTATAATGG-3′; reverse, 5′-ACAGGAGTTGAAGGATTGG-3′), *Axin2* (forward, 5′-GAGTAGCGCCGTGTTAGTGACT-3′; reverse, 5′-CCGAAAGTCCGGAAGAGGTATG-3′), *c-fos* (forward, 5′-CCGACTCCTTCTCCAGCAT-3′; reverse, 5′-TCACCGTGGGGATAAAGTTG-3′), *cyclin D1* (forward, 5′-CCACAGATGTGAAGTTCATTTCCA-3′; reverse, 5′-GCAG-

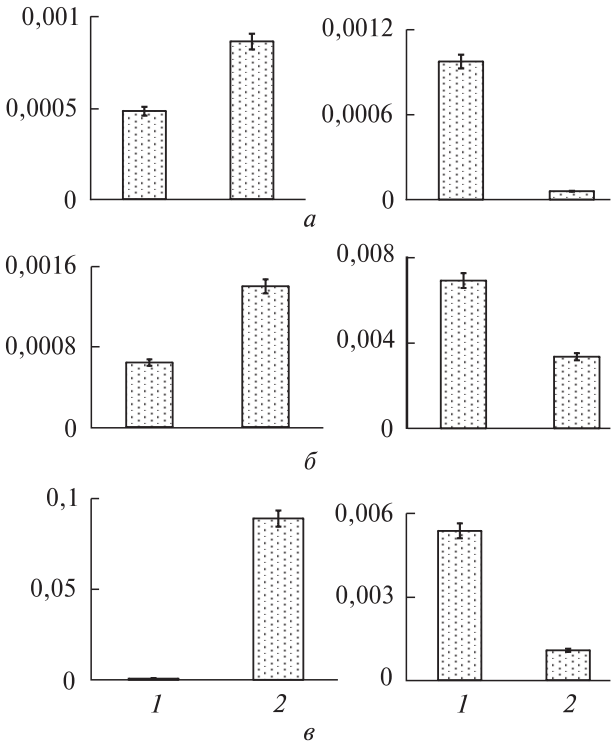

Рис. 1. Динаміка активності канонічного Wnt-сигнального шляху у контрольних тварин (*1*) та тварин із ембріональною кардіоспецифічною делецією одного алеля гена β-катеніну (*2*) віком 1 (*а*), 3 (*б*) та 6 (*в*) місяців. По вертикалі – рівень експресії РНК/GAPDH, ум. од.; по горизонталі – *1* – контроль, 2 – дослід. Зліва – *Axin2*, справа – *TCF-4*. Кількість тварин у кожній групі – 3

TCCGGGTCACACTTG-3′), *c-myc* (forward, 5′-GCCCCTAGTGCTGCATGAG-3′; reverse, 5′-CCACAGACACCACATCAATTTCTT-3′), *Cx43* (forward, 5′-TGGCCTGCTGAGAACCTACA-3′; reverse, 5′-CTCAGGCTGAACCCATAGATG-3′) та *GAPDH* (forward, 5′-CCACTCTTCCACCTTCGATG-3′; reverse, 5′-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3′) [28].

Експресію генів представляли як ΔC_T, нормалізовану відносно референтного гена GAPDH. C_T кожного цільового гена вираховували з середнього значення ΔC_T контрольної групи. Різницю в кількості розраховували, використовуючи формулу $2^{-\Delta CT}$. Дані від 2–4 сердець аналізували в дуплікатах.

Результати досліджень та їх обговорення. Wnt-сигналінг є одним із сигнальних шляхів, які регулюють відновлення серця, підтримання популяції та диференціацію кардіальних стовбурових клітин. Проте експериментальні дані щодо ролі канонічного Wnt-сигналінгу та β-катеніну, зокрема у гомеостазі дорослого міокарда, досить суперечливі [3, 5, 6]. Тож у своїй роботі ми зосередились на дослідженні динаміки сигнальної активності β-катеніну у тварин із ембріональною кардіоспецифічною делецією одного алеля цього гена. За допомогою ПЛР у реальному часі проаналізували відносний рівень експресії транскрипційного ко-активатора *TCF-4* та гена *Axin2* у тварин віком 1, 3 і 6 місяців. У тварин із делецією одного алеля β-катеніну спостерігали значне зниження рівня експресії гена транскрипційного ко-активатора TCF-4. Це свідчить про те, що сигнальна активність канонічного Wnt-сигналінгу у мутантних тварин була нижчою в усіх проаналізованих вікових групах [29]. Цікаво також, що певні вікові зміни динаміки сигнальної активності зафіксовано як у контрольних, так і у мутантних тварин, а саме активність канонічного Wnt-сигналінгу була вищою у тварин віком 3 місяці і зменшувалась в наступній віковій групі (6 місяців) (рис. 1). Такі дані свідчать про важливість канонічного Wnt-сигналінгу та β-катеніну, зокрема для росту та формування саме дорослого міокарда.

Спостерігали також підвищення рівня експресії гена *Axin-2*, основного «скафолдного» білка деградувального комплексу β-катеніну, у тварин усіх вікових груп (рис. 1). Це пояснює зменшення транскрипційної активності β-катеніну у мутантних тварин при підвищеному рівні експресії останнього.

Отже, нами встановлено, що кардіоспецифічна делеція одного алеля гена β-катеніну призводить до зменшення транскрипційної активності останнього. Припустимо, що така мутація позначиться і на експресії деяких генів – мішеней канонічної Wnt сигнальної регуляції, а саме на рівні експресії генів, залучених до контролю клітинного циклу та росту. Для перевірки проаналізували рівень експресії генів-мішеней Wnt/β-катенінової сигнальної регуляції (*c-myc, c-fos, cyclin D1* та *Cx43*) у тварин різних вікових груп (1, 3 та 6 місяців) за допомогою ПЛР в реальному часі. Варто зауважити, що гени *c-myc*, *c-fos*, *cyclin D1* залучені до контролю поділу та росту клітини, а *c-myc* та *c-fos* функціонують і як протоонко-

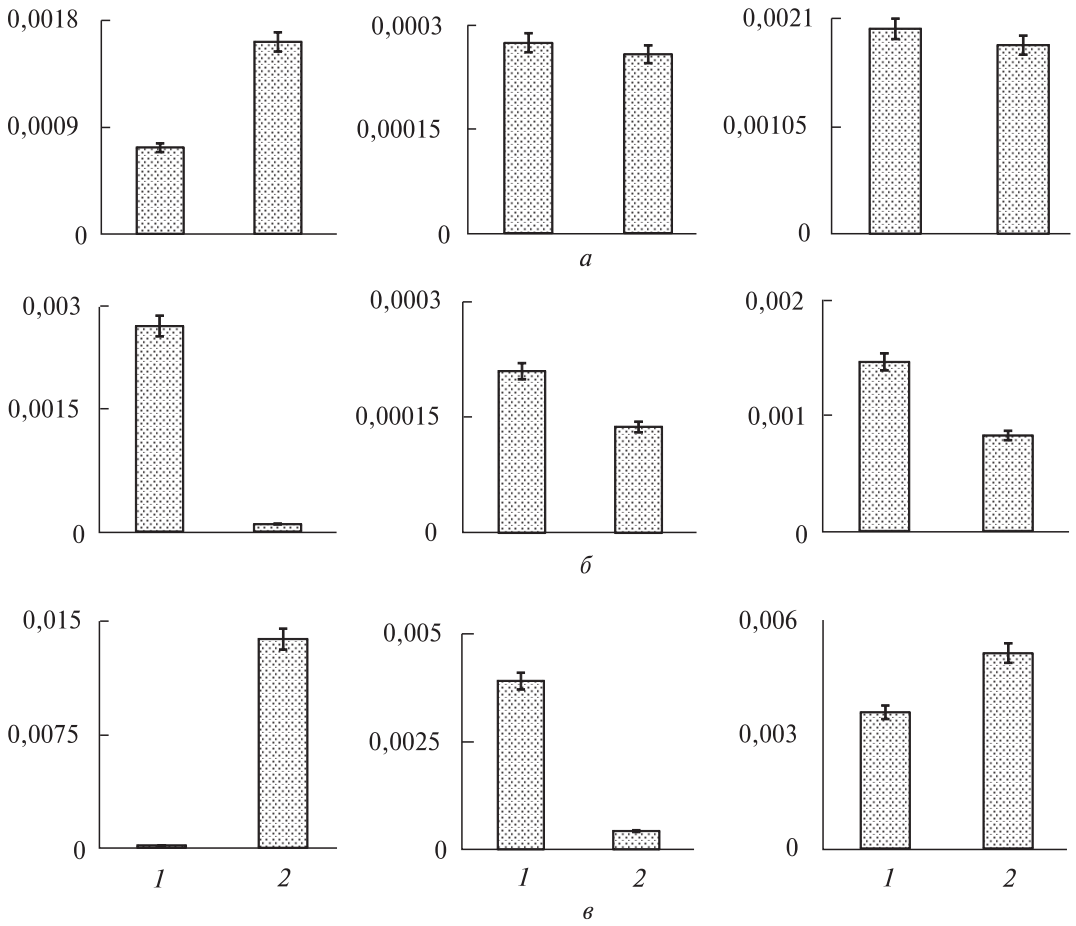

Рис. 2. Динаміка експресії генів-мішеней Wnt/β-катенінового шляху (зліва направо *c-myc*, *c-fos*, *cyclin D1*), що залучені до регуляції клітинного циклу у тварин із кардіоспецифічною делецією одного алеля гена β-катеніну: *а* – тварини віком 1 місяць, *б* – 3 місяці, *в* – 6 місяців. По вертикалі – рівень експресії РНК/*GAPDH*, ум. од.; по горизонталі – *1* – контроль, *2* – дослід. Кількість тварин у кожній групі – 3

гени. Білок c-Myc – важливий регулятор ембріонального розвитку та клітинного циклу, під його контролем перебуває близько 15 % усіх генів. Його рівень зростає під час поділу та швидко знижується в дочірніх клітинах [20]. Білок c-Fos також є транскрипційним фактором, який утворює із c-Jun комплекс AP-1 [21] і здатний регулювати експресію великої кількості генів у відповідь на дію цитокінів, ростових факторів, стресових чинників [22]. Тож очевидно, що порушення експресії цих генів матимуть критичне значення для росту та формування післянатального серця та можуть спричиняти розвиток деяких серцевих патологій.

Окрім генів, що контролюють клітинний цикл та ріст, досліджували також рівень експресії ще одного гена, який перебуває під контролем канонічного Wnt-сигналінгу, а саме *Cx43*. Відомо, що продукт цього гена є основним компонентом порових з'єднань міокарда, і порушення його локалізації та експресії в інтеркалярних дисках асоційоване із розвитком аритмії серця.

При аналізі рівня експресії генів *c-myc, c-fos* та *cyclin D1* виявлено, що у мутантних тварин віком 1 місяць рівень експресії генів *c-fos, cyclin D1* статистично не відрізнявся від аналогічного показника у контролі (рис. 2).

Рівень експресії гена *c-myc* у тварин із ембріональною кардіоспецифічною делецією одного алеля β-катеніну був вищий порівняно із контрольною групою тварин віком 1 місяць.

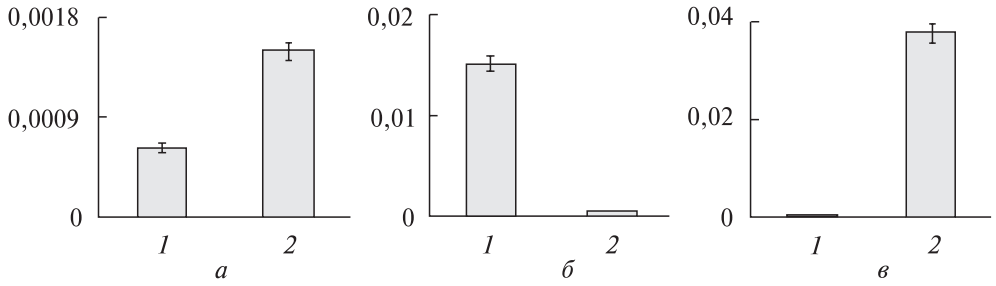

Рис. 3. Динаміка експресії гена *Cx43*, що перебуває під контролем Wnt/β-катенінового шляху і утворює порові з'єднання, у тварин із кардіоспецифічною делецією одного алеля гена β-катеніну: *а* – тварини віком 1 місяць, *б* – 3 місяці, *в* – 6 місяців. По вертикалі – рівень експресії РНК/*GAPDH*, ум. од.; по горизонталі – *1* – контроль, *2* – дослід. Кількість тварин у кожній групі – 3

Дослідження тварин віком 3 місяці показало, що у дорослому серці за умови ембріонально-індукованого кардіоспецифічного дефіциту гена β-катеніну рівень експресії генів *c-myc, c-fos, cyclin D1* статистично достовірно нижчий порівняно із контрольною групою тварин того ж віку. При аналізі старших тварин (6 місяців) виявлено підвищення рівня експресії генів *c-myc* та *cyclin D1* у тварин з дефіцитом β-катеніну порівняно із контролем. У той же час рівень експресії гена *c-fos* у мутантних тварин віком 6 місяців був нижчим порівняно із контролем (рис. 2).

Дослідження динаміки експресії гена *Cx43* показало, що він експресувався на значно вищому рівні у тварин із дефіцитом β-катеніну порівняно із контролем у тварин віком 1 та 6 місяців. Однак у тварин віком 3 місяці рівень експресії гена *Cx43* був значно нижчим у мутантних мишей порівняно із контролем (рис. 3).

В результаті проведених досліджень нами виявлено порушення експресії генів, що контролюють клітинний цикл, у тварин із кардіоспецифічною делецією одного алеля гена β-катеніну порівняно із контролями. Цікаво, що лише рівень експресії гена *c-fos* був значно нижчим у тварин із дефіцитом β-катеніну порівняно із контролем в усіх досліджених нами вікових групах мишей. Що стосується генів *c-myc*, *cyclin D1* та *Cx43,* їхня експресія змінювалась із віком, що, на нашу думку, пояснюється участю й інших сигнально-регуляторних шляхів у контролі експресії останніх.

Гени *c-myc* та *Cx43* експресувалися на вищому рівні у тварин віком 1 місяць із кардіоспецифічним дефіцитом гена β-катеніну. Також спостерігалась активація їхньої експресії та експресії гена *cyclin D1* у мутантних тварин віком 6 місяців. Це наводить на думку, що саме у віці 1 та 6 місяців відбувається активація й інших сигнально-регуляторних каскадів, можливо, за рахунок пригнічення сигнальної активності β-катеніну.

Відомо, що окрім Wnt/β-катенінового сигнального каскаду, експресію гена *c-myc* регулюють сигнально-регуляторні шляхи Hedgehog, Notch та JAK/STAT [23]. Високий рівень експресії гена *c-myc* спостерігається в ембріональних кардіоміоцитах, які активно проліферують, а одразу після народження відбувається значне зниження рівня його експресії. Той факт, що рівень експресії гена *c-myc* у мутантних тварин віком 1 місяць був вищим, ніж у контрольних тварин того ж віку, може свідчити про порушення термінальної диференціації ембріональних кардіоміоцитів та/або про затримки розвитку міокарда за умов дефіциту β-катеніну. Разом з тим підвищення рівня експресії *c-myc* у тварин віком 1 та 6 місяців, на нашу думку, може пояснюватись також і розвитком патологічного стану міокарда [20]. Як зазначалось раніше, ген *c-myc* є важливим транскрипційним регулятором ембріонального розвитку та клітинного циклу і здатен регулювати експресію багатьох генів, зокрема гена *Cx43* [24]. Дійсно, у своїй роботі ми спостерігали підвищення рівня експресії останнього у тварин віком 1 та 6 місяців із кардіоспецифічною делецією одного алеля гена β-катеніну, саме тоді, коли відбувалось підвищення експресії гена *c-myc* (рис. 2 та 3).

Проте, варто зауважити, що зменшення експресії гена *Cx43* у дорослих тварин (3 місяці) з кардіоспецифічною делецією одного алеля гена β-катеніну може свідчити і про порушення комунікації між кардіоміоцитами та, як наслідок, функції міокарда, але таке припущення потребує подальших фізіологічних досліджень. У свою чергу пригнічення експресії гена *cyclin D1* у тварин віком 1 та 3 місяці із дефіцитом β-катеніну свідчить про пригнічення синтезу ДНК та білка таких кардіоміоцитів, а значить і їхнього росту [25, 26]. Ця знахідка разом із іншими даними може свідчити про те, що пригнічення канонічного Wnt-сигналінгу у тварин із дефіцитом гена β-катеніну призводить і до пригнічення росту післянатального міокарда, і до порушення взаємодії з іншими сигнально-регуляторними шляхами.

За літературними даними експресія гена *cyclin D1* контролюється двома сигнально-регуляторними шляхами – канонічним Wnt/β-катеніновим та Hedgehog [27, 28]. За умов пригнічення активності канонічного Wnt-сигналінгу у тварин із дефіцитом гена β-катеніну, вірогідно, відбувається активація сигнального шляху Hedgehog при старінні, оскільки саме у них ми спостерігали підвищення рівня експресії гена *cyclin D1*. Це свідчить на користь нашого припущення про порушення балансу між іншими сигнально-регуляторними шляхами, залученими до контролю гомеостазу міокарда за умов інгібування канонічного Wnt-сигналінгу. Отже, нами показано, що ембріональна кардіоспецифічна делеція одного алеля гена β-катеніну призводить до зменшення транскрипційної активності β-катеніну і порушення експресії генів, які контролюють клітинний цикл (*c-myc, c-fos, cyclin D1),* та гена порових з'єднань (*Cx43*) у дорослому серці. Змодульований нами кардіоспецифічний дефіцит β-катеніну в ембріогенезі спричиняє порушення функціонування інших сигнальних шляхів (BMP, неканонічного Wnt-сигналінгу, Hedgehog, JAK/STAT та Notch), які контролюють спеціалізацію серцевих прогеніторих клітин та ріст кардіоміоцитів і перебувають під взаємною негативною регуляцією із канонічним Wnt-сигналінгом. На користь такого припущення свідчать і результати аналізу експресії деяких генів, що перебувають під одночасним контролем β-катенінової сигнальної регуляції та інших сигнальних шляхів.

На основі отриманих даних можна припустити, що канонічний Wnt-сигналінг є необхідним для нормального розвитку міокарда у фазі активного росту дорослого органу миші (1–3 місяці). Окрім того, сигнальна активність β-катеніну у дорослому міокарді на базальному рівні, очевидно, необхідна для контролю функціонування інших сигнальних каскадів, залучених до регуляції росту/розвитку серця та реконструкції дорослого органу. Вірогідно, пригнічення сигнальної активності β-катеніну внаслідок делеції одного алеля гена може спричиняти затримки розвитку міокарда, погіршення адаптації міокарда до впливу стресових чинників та призводити до розвитку деяких патологій, що потребує подальших досліджень.

STUDYING OF CANONICAL Wnt-SIGNALING IN ANIMALS OF DIFFERENT AGEING GROUPS UNDER CARDIOSPECIFIC EMBRYONIC ABLATION OF β-CATENIN

O.L. Palchevska, V.V. Balatskii, A.O. Andrejeva, L.L. Macewicz, O.O. Piven L.L. Lukash

Institute of Molecular Biology and Genetic, Kyiv
E-mail: o.o.piven@imbg.org.ua
Taras Shevchenko Kyiv National University

Using conditional knockout approach we have studied the expression level of genes-members of canonical WNT-pathway (*TCF-4*, *Axin2*) and genes under control of the pathway (*c-fos*, *cyclin D1*, *c-myc*, *Cx43*) in the myocardium of animals under β-catenin haplo-insufficiency conditions. We observed the inhibition of canonical Wnt-signaling at all studied age groups (1, 3 and 6 months). Analysis of genes controlled by the canonical Wnt-pathway showed the alteration of gene expression level in the tissues of animals with cardiospecific β-catenin haploinsufficiency. The importance of normal canonical Wnt-signaling functioning for the growth and development of adult heart is discussed.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ КАНОНИЧЕСКОГО Wnt-СИГНАЛИНГА У ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ КАРДИОСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ДЕЛЕЦИИ β-КАТЕНИНА

О.Л. Пальчевская, В.В. Балацкий, А.А. Андреева, Л.Л. Мацевич, О.А. Пивень, Л.Л. Лукаш

С использованием условно нокаутных животных исследовали экспрессию генов, задействованных в ка-

ноническом Wnt-сигналинге (*TCF-4*, *Axin2*), и генов, находящихся под контролем этого сигнального пути (*c-fos*, *cyclin D1*, *c-myc*, *Cx43*), в миокарде животных при эмбриональной кардиоспецифической делеции одного аллеля гена β-катенина. Наблюдали угнетение канонического Wnt-сигналинга во всех исследованных возрастных группах (1, 3 и 6 месяцев). Анализ генов, контролируемых каноническим Wnt-путем, позволил выявить изменения их уровня экспрессии в тканях животных с кардиоспецифической недостаточностью β-катенина. Обсуждается важность нормального функционирования канонического Wnt-сигналинга для роста и развития взрослого сердца.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Rao T.P., Kuhl M.* An updated overview 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. *Bergmann M.W.* WNT signaling in adult hypertrophy and remodeling: lessons learned from cardiac development // Circ. Res. – 2010. – **107**, № 10. – P. 1198–1208.
4. *Hirschy A., Croquelois A., Perriard E. et al.* Stabilised beta-catenin in postnatal ventricular myocardium leads to dilated cardiomyopathy and premature death // Basic Res. Cardiol. – 2010. – **105**, № 5. – P. 597–608.
5. *Malekar P., Hagenmueller M., Anyanwu A. et al.* Wnt signaling is critical for maladaptive cardiac hypertrophy and accelerates myocardial remodeling // Hypertension. – 2010. – **55**, № 46. – P. 939–945.
6. *Brade T., Manner J., Kuhl M.* The role of Wnt signalling in cardiac development and tissue remodeling un the mature heart // Cardiovasc. Res. – 2006. – **72**, № 2. – P. 198–209.
7. *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.
8. *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. Biol. Chem. – 2006. – **281**, № 41. – P. 30979–30989**.**
9. *Duan J., Gherghe C., Liu D. et al.* Wnt1/βcatenin injury response activates the epicardium and cardiac fibroblasts to promote cardiac repair // EMBO J. – 2011. – **31**, № 2. – P. 429–442.
10. *Oerlemans M.I., Goumans J., van Middelaar B. et al.* Active Wnt signaling in response to cardiac injury // Basic. Res. Cardiol. – 2010. – **105**, № 5. – P. 631–641.
11. *Kaga S., Zhan L., Altaf E., Maulik N.* Glycogen synthase kinase-3beta/beta-catenin promotes angiogenic and anti-apoptotic signaling through the induction of VEGF, Bcl-2 and surviving expression in rat ischemic preconditioned myocardium // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2006. – **40**, № 1. – P. 138–147.
12. *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.
13. *Chen X., Shevtsov S.P., Hsich 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.
14. *Qu J., Zhou J., Yi X.P., Dong B. 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.
15. *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.
16. *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.
17. *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.
18. *Piven O.O., Kostetskii I.E., Macewicz L.L. et al.* Requirement for N-cadherin-catenin complex in heart development // Exp. Biol Med. (Maywood). – 2011. – **236**, № 7. – P. 816–822.
19. *Palchevska L.L., Andrejeva A.O., Macewicz L.L. et al.* Embryonically induced β-catenin haploinsufficiency attenuated postnatal heart development and caused the violation of foetal genes program expression // Biopolym. Cell. – 2013. – **29**, № 1. – P. 124–130 .
20. *Gardner L., Lee L., Dang C.* The c-Myc oncogenic transcription factor // Encyclopedia of Cancer. / Ed. J. Bertino. – San Diego : Acad. press, 2002. – P. 555–561.
21. *Halazonetis T.D., Georgopoulos K., Greenberg M.E., Leder P.* c-Jun dimerizes with itself and with c-Fos,

forming complexes of different DNA binding affinities // Cell. – 1988. – **55,** № 5. – P. 917–924.

22. *Hess J., Angel P., Schorpp-Kistner M.* AP-1 subunits: quarrel and harmony among siblings // J. Cell. Sci. – 2004. – **117**, № 25. – P. 5965–5973
23. *He T.C., Sparks A.B., Rago C. et al.* Identification of c-MYC as a target of the APC pathway // Science. – 1998. – **281**, № 5382. – P. 1509–1512.
24. *Carystinos G.D., Kandouz M., Alaoni-Jamali M.A., Batist G.* Unexpected induction of the human connexin 43 promoter by the ras signaling pathway is mediated by a novel putative promoter sequence // Mol. Pharmacol. – 2003. – **63**, № 4. – P. 821–831.
25. *Busk P.K., Bartkova J., Strøm C.C. et al.* Involvement of cyclin D activity in left ventricle hypertrophy in vivo and in vitro // Cardiovasc. Res. – 2002. – **56**, № 1. – P. 64–75.
26. *Tamamori-Adachi M., Ito H., Sumrejkonchanakij P. et al.* Critical role of cyclin D1 nuclear import in cardiomyocyte proliferation // Circ. Res. – 2003. – **92**, № 1. – e12-e19.
27. *Shtutman M., Zhurinsky J., Simcha I. et al.* The cyclin D1 gene is a target of the beta-catenin LEF-1 pathway // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1991. – **96** – P. 5522–5527.
28. *Kenney A.M., Rowitch D.H.* Sonic hedgehog promotes G(1) cyclin expression and sustained cell cycle progression in mammalian neuronal precursors // Mol. Cell Biol. – 2000. – **20**, № 23. – P. 9055–9067.
29. *Cadigan K.M., Waterman M.L.* TCF/LEFs and Wnt signaling in the nucleus // Cold Spring Harb. Perspect Biol. – 2012. – **4**, № 11. – a007906.

Надійшла 13.06.13