

УДК 576.52

α -Е-КАТЕНІН ПОТЕНЦІЙНИЙ РЕГУЛЯТОР КАНОНІЧНОГО WNT ТА HIPPO-СИГНАЛІНГІВ У МІОКАРДІ

В. В. БАЛАЦЬКИЙ, О. Л. ПАЛЬЧЕВСЬКА, Л. Л. МАЦЕВИЧ, О. О. ПІВЕНЬ

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Україна, 03680, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150
e-mail: o.o.piven@imbg.org.ua

Структурна цілісність міокарду є необхідною умовою для підтримання його функціонування і забезпечується інтеркалярними дисками. Альфа-Е-катенін — важливий компонент адгеринових з'єднань дорослого міокарду, крім того протягом останніх років отримані поодинокі експериментальні данні про його можливу сигнально-регуляторну роль. Метою нашої роботи було дослідити участь α -Е-катеніну у регуляції канонічного Wnt та HIPPO сигналінеів у дорослому серці. Матеріали і методи. Дослідження проводили із використанням мишей із умовним нокаутом α -Е-катеніну та трансгенних aMHC-Cre тварин. Зміни рівня експресії генів залучених до канонічного Wnt та HIPPO сигналінеів аналізували за допомогою зворотньо-полімеразної ПЛР у реальному часі. Сигнальну активність канонічного Wnt досліджували за допомогою Вестерн-блот аналізу. Результати. Нами було показано що як гетерозиготна, так і гомозиготна делеція гену α -Е-катеніну у ембріональному серці призводить до активації WNT/ β -катенінового сигналінеу, а саме підвищення рівня експресії генів c-Fos, c-Myc та Ctnnb1 та вмісту фосфорильованого білка GSK3 β у дорослому серці. Окрім того ми спостерігали і активацію HIPPO-сигнального шляху за умови втрати гену α -Е-катеніну, а саме підвищення експресії генів Ctgf, Il1r1, Tnfrsf1b, Aurka. Висновки. Ген α -Е-катеніну має важливу сигнально-регуляторну функцію у кардіоміоцитах дорослого серця, а саме α -Е-катенін — регулює цитоплазматичний рівень основних транскрипційних активаторів канонічного Wnt- та HIPPO — сигнальних каскадів: β -катеніну та Yap обмежуючи їхню сигнальну активність.

Ключові слова: α -Е-катенін, β -катенін, HIPPO, Wnt-сигналіне, експресія генів, міокард.

Вступ. Структурна цілісність міокарду та його функціональність забезпечується перш за все міжклітинною адгезією. У дорослому серці, міцний контакт між кардіоміоцитами формують інтеркалярні диски. До складу інтракалярних дисків входять адгеринові з'єднання, десмосоми, гібридні з'єднання та щилинні контакти. Кожне із цих з'єднань — макромолекулярний комплекс, який регулює функціонування міокарду як синцитію. Однак із розвитком наших уявлень про молекулярну біологію та генетику міокарду, стало зрозуміло, що білки, залучені до утворення інтракалярних дисків, мають не лише структурну функцію а й сигнально-регуляторну. Так, наприклад відомо, що білок β -катенін не лише приймає участь у утворенні та підтриманні адгеринових з'єднань [1] а й є важливим регулятором канонічного Wnt сигналінеу. Значення останнього активно досліджується протягом останніх років. І нині відомо, що канонічний Wnt сигналіне та β -катенін є критичним регулятором кардіогенезу і перебудов дорослого міокарду [2].

Інший білок, α -катенін, також залучений до підтримання міжклітинної адгезії, а саме, поєднує адгериновий комплекс із актиновим цитоскелетом [1]. Як було показано, у серці експресується дві ізоформи α -катеніну: α -Е- та α -Т-катеніни, і класично їхню роль досліджували саме у контексті міжклітинної адгезії та підтриманні адгеринових з'єднань [3, 4]. Проте, роботи останніх років свідчать, що біологічна роль α -катеніну значно ширша і не обмежується лише адгезією. Зокрема було показано, що делеція α -Е-катеніну у шкірі призводить до розвитку плоскоклітинної карциноми, що не пов'язано із порушеннями міжклітинної адгезії [5]. При подальшому дослідженні було виявлено, що така делеція призводить до інгібування HIPPO-сигнального каскаду та активації його транскрипційного ко-активатора Yap.

Зокрема було встановлено, що α-катенін взаємодіє із білком 14-3-3 та секвеструє Yар у цитоплазмі [6] а його втрата призводить до ініціації транскрипційної активності Yар та активації експресії генів-мішеней. Низка інших експериментальних робіт виявила, що окрім цього, α-катенін залучений і до модуляції активності канонічного WNT-сигналіngu. Цікаво, що отримані дані дещо суперечливі оскільки авторами було показано, що α-катенін може як активувати [7], так і інгібувати активність Wnt/β-катенінового сигналіngu [8]. Однак, сигнальна функція α-катеніну у післянатальному серці лишається не з'ясованою. Раніше нами було показано, що ембріональна кардіоспецифічна делеція *α-E-катеніну* не призводить до порушень кардіогенезу та ембріональної летальності [9]. Однак при подальших спостереженнях ми виявили, що як гетерозиготна так і гомозиготна делеція гена *α-E-катеніну* призводять до передчасної загибелі мишей, можливо, внаслідок серцевої недостатності. Оскільки у таких тварин ми спостерігали зростання маси серця та значний фіброз у тканині міокарда [10]. Відомо, що функціонування дорослого міокарду як і його адаптації до дії певних стресових чинників контролюється чисельними сигнально-регуляторними каскадами клітини. До таких відносять G-білок пов'язаний рецептор, кальцінеурін/NFAT, MAPK, PI3K/AKT/mTOR сигнальний шлях [11], канонічний WNT сигналінг [2] та HIPPO-сигналінг [12]. Порушення активності зазначених сигнальних каскадів, та/або балансу між ними може призводити і до виникнення і розвитку тих чи інших серцевих патологій.

Зважаючи на наші власні та літературні дані, ми припустили, що делеція *α-E-катеніну* у ембріональному серці призводить до передчасної летальності дорослих тварин саме через порушення функціонування певних сигнальних систем у кардіоміоцитах. А сам α-E-катенін має принципово важливу функцію для розвитку післянатального серця не лише як структурний білок а й як медіатор сигнальних каскадів.

Отже метою нашої роботи було проаналізувати сигнальну функцію *α-E-катеніну* у дорослому міокарді. Для цього ми дослідили активність HIPPO- та WNT/β-катенінового сигнальних шляхів у тварин при старінні за умови делеції гена *α-E-катеніну*.

Матеріали і методи

Генерація мишей із гетерозиготною та гомозиготною делецією гена *α-E-катеніну*. Гомозиготних мишей у яких 2 екзон гена *α-E-катеніну*

фланкований LoxP-сайтами (Flox/Flox; аМНС-Cre⁺) схрещували із мишами, які експресують Cre-рекомбіназу під контролем промотора гена важкого ланцюга міозина α (WT/WT; аМНС-Cre⁺). Потомство F1, що мало генотип: Flox/WT; аМНС-Cre⁺ зворотно схрещували із тваринами із генотипом: Flox/Flox; аМНС-Cre⁻. Отримане у результаті таких схрещувань потомство мишей F2 використовували в подальших дослідженнях, а саме: Flox/WT; аМНС-Cre⁺ — миші із гетерозиготною делецією *α-E-катеніну*, Flox/Flox; аМНС-Cre⁺ — миші із гомозиготною делецією *α-E-катеніну*, Flox/WT; аМНС-Cre⁻ та Flox/Flox; аМНС-Cre⁻ — слугували у якості контрольної групи тарин. Варто зауважити, що аМНС-Cre експресується винятково в кардіоміоцитах починаючи із 10,5 дня ембріонального розвитку [9]. У своїх дослідженнях ми використовували лише самців віком 10 місяців.

Генотипування мишей. ДНК із кінчика хвоста використовувалась для генотипування. Виділення ДНК та полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) здійснювали за стандартними протоколами [13]. Для виявлення фланкованих LoxP-сайтами алелів гена *α-E-катеніну* використовували наступну пару праймерів:

5'CATTTCTGTCACCCCAAGACAC3' і
5'GCAAATGATCCAGCGTCCTGGG3'
(Flox-алель — 350 п.н., WT-алель — 100 п.н.). аМНС-Cre-трансген виявля за допомогою наступних праймерів: 5'GAACCTGAAGATGTTCCG-3' та 5'TACACCTCGGTGCTAACCCAG3' (430 п.н.).

Дослідження рівня експресії генів-мішеней HIPPO- та WNT/β-катенінового сигнальних шляхів. Тотальну РНК виділяли із тканини лівого шлуночка за допомогою innuSOLV RNA Reagent (Analytikjena) згідно рекомендацій виробника. Отриману РНК обробляли ДНКазою I та використовували для синтезу кДНК. Синтез кДНК здійснювали за допомогою First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific) згідно рекомендацій виробника. Реакцію ПЛР у реальному часі проводили із використанням суміші Maxima SYBR Green/Fluorescein qPCR Master-Mix (Thermo Scientific) на приладі iCycler single-color real-timePCR detection system (IQ5, BioRad). Аналізували зміну рівня експресії наступних генів: гени-мішені HIPPO-сигнального шляху (*Aurka*, *CTGF*, *Il1r1*, *Tnfrsf1b*) та гени-мішені WNT/β-катенінового сигнального шляху і β-катеніну (*Cttnb1*, *c-Myc*, *c-Fos*). В якості референсного гена використовували *Gapdh*. Праймери, які використовували для ПЛР в реальному часі наведені в таблиці 1.

Таблиця 1. Праймери для ПЛР в реальному часі

Ген	Праймер прямий	Праймер зворотній
<i>CTGF</i>	5'CAAGGACCGCACAGCAGTT3'	5'AGAACAGGCGCTCCACTCTG3'
<i>Il1rl1</i>	5'TGGGCTTTGGCAATTCTGACAC3'	5'TAAGTCGAGCGTCCCTTTGGG3'
<i>Tnfrsf1b</i>	5'CGCCTGCACTAAACAGCAGAAC3'	5'TTGCTCAGCCTCATGCACTGTC3'
<i>Aurka</i>	5'GGGTGGTCGGTGCATGCTCCA3'	5'GCCTCGAAAGGAGGCATCCTA3'
<i>Ctnnb1</i>	5'TGAATGGGAGCAAGGCTTTT3'	5'CATTGCATACTGCCCGTCAA3'
<i>c-Myc</i>	5'GCCCTAGTGCTGCATGAG3'	5'CCACAGACACCACATCAATCTT3'
<i>c-Fos</i>	5'CCGACTCCTTCTCCAGCAT3'	5'TCACCGTGGGGATAAAGTTG3'
<i>Gadph</i>	5'CAACTCTCCACCTTCGATG3'	5'TCCACCACCCTGTTGCTGTA3'

Примітки: Дані зміни рівня експресії представляли за допомогою формули $2^{-\Delta\Delta Ct}$, де Ct — граничне значення циклу, $\Delta Ct = Ct_{\text{(досліджуваного гена)}} - Ct_{\text{(Gadph)}}$, а $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{(експеримент)}} - \Delta Ct_{\text{(контроль)}}$.

Виділення білка та Вестерн-блот аналіз. Тканина шлуночків гомогенізували у 50 мМ HEPES (рН 7,4) буфері, що містить 2 мМ етилендіамінтетраацетат, 1 % Nonidet P-40, 10 % гліцерол, інгібітори протеаз (10 мкг/мкл лейпептину, 5 мкг/мкл пепстатину А, 2 мкг/мкл апротиніну, 1 мМ фенілметилсульфоніл флуорид) та інгібітори фосфатаз (1 мМ натрій ортованадат та 10 мМ натрій флуорид). Після чого центрифугували при 10500g протягом 20 хв. Концентрацію білка визначали за допомогою Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, Hercules, CA, USA), як стандарт використовували BSA. Визначали рівень фосфорильованої (8566, Cell Signaling) та тотальної GSK-3 (5676, Cell Signaling) у 50 мкг білкових лізатів за допомогою специфічних антитіл. Розділення білків проводили 10 % поліакриламідному гелі в денатуруючих умовах. Потім білок переносили на PVDF мембрану (Millipore, Billerica, MA, USA). Візуалізацію здійснювали за допомогою хемілюмінесцентного субстрату HR Substrate reagent (Millipore). Рівень фосфорильованої форми ділили на рівень тотальної GSK-3.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою теста Манна-Уїтні з використанням пакету STATISTICS 8.0. $p < 0,05$ вважали статистично достовірним. Усі значення представлені у вигляді середнього \pm стандартне відхилення.

Результати та обговорення

Альфа-катенін є важливим компонентом адгеринового комплексу, де він взаємодіючи із β -катеніном забезпечує міцний зв'язок N-кадгерину та актинового цитоскелету [1]. Однак, як було з'ясовано протягом останніх років, функція цього білку значно ширша. Так було показано, що α -катенін здатен модулювати сигнальну активність HIPPO- та WNT/ β -катенінового

каскадів у клітинах епітелію та фібробластах [8, 12]. Тобто α -катенін може регулювати зміни рівня експресії генів залучених до проліферації та росту клітин, синтезу білка, ДНК та інших. Раніше ми показали, що як гетерозиготна, так і гомозиготна делеція α -E-катеніну у ембріональному серці призводить до передчасної загибелі мишей та значних фіброзних заміщень кардіоміоцитів [10]. Окрім того, ми спостерігали гіпертрофічну відповідь у таких тварин віком 10 місяців порівняно із контрольними мишами того ж віку. Тож, зважаючи на останні повідомлення про можливу участь білку α -E-катеніну у регуляції активності таких важливих для післянатального міокарду сигнальних каскадів як HIPPO та канонічний WNT, ми вирішили проаналізувати зміни активності цих каскадів за умов повної та часткової втрати гену α -E-катеніну.

При аналізі змін рівнів експресії гену β -катеніну (*Ctnnb1*) та генів мішеней канонічного WNT сигналіну (*c-Myc* та *c-Fos*) із застосуванням ПЛР у реальному часі ми спостерігали підвищений рівень експресії усіх проаналізованих генів (Рис. 1). Нами було виявлено десятикратне зростання рівня експресії гену *Ctnnb1* як у тварин із гетерозиготною делецією, так із гомозиготною делецією гену α -E-катеніну. Рівень експресії генів-мішеней канонічного WNT сигналіну: *c-Myc* та *c-Fos* також зростав за умов експерименту, але лише підвищення експресії гену *c-Myc* було статистично достовірним (Рис. 1). Варто також зауважити, що рівень експресії гену *c-Myc* у гомозигот із делецією α -E-катеніну був статистично достовірно вищий ніж у гетерозигот із делецією α -E-катеніну. Отримані дані свідчать про активацію транскрипційної активності β -катеніну і канонічного WNT сигналіну.

Результат аналізу зміни рівня експресії генів узгоджується із результатами Western-

blot аналізу (Рис. 2), де нами було показано, що за умов повної і часткової втрати гену *α -E-катеніну* у дорослому серці відбувається підвищення вмісту фосфорильованої неактивної форми білка GSK3 β . Останній, як відомо є головним компонентом деградувального комплексу для β -катеніну і фосфоритування GSK3 β призводить до вивільнення та реалізації сигнальної активності β -катеніну, що узгоджується із підвищеним рівнем експресії генів-мішеней *c-Myc* та *c-Fos* [14].

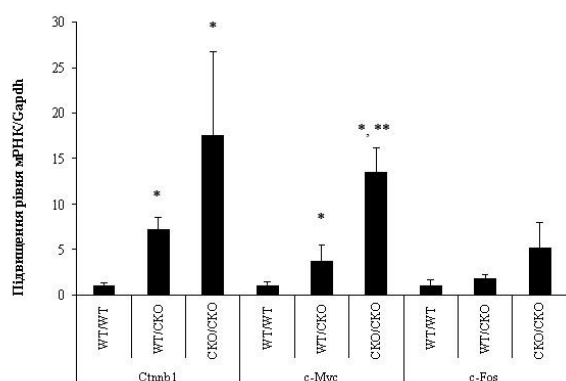


Рис. 1. Зміна рівня експресії генів-мішеней канонічного Wnt-сигнального шляху та його головного транскрипційного активатора β -катеніну у тварин із кардіоспецифічною гетерозиготною та гомозиготною делецією гену *α -E-катеніну*.
Примітки: WT/WT — тварини контрольної групи; WT/CKO — тварини із гетерозиготною делецією *α -E-катеніну*, CKO/CKO тварини із гомозиготною делецією гену *α -E-катеніну*. Рівень експресії в контролі представлений 1. * — $p < 0,05$ відносно контролю, ** — відносно тварин із гетерозиготною делецією *α -E-катеніну*. Кількість тварин у кожній групі — 3.

Відомо, що WNT/ β -катеніновий сигнальний шлях відіграє надзвичайно важливу роль в кардіогенезі, окрім того, його активація відбувається і при розвитку патологічних станів дорослого серця, а саме при гіпертрофії [1]. Тож, ймовірно, розвиток гіпертрофії у тварин із гомо- та гетерозиготною делецією гену *α -E-катеніну* у нашому експерименті [10], є наслідком активації канонічного WNT. Дійсно, було показано, що α -катенін утворює комплекс із β -катеніном у ядрі інгібуючи утворення транскрипційно активного комплексу останнього із TCF/LEF [8]. Крім того α -катенін рекрутує β -катенін до деградувального комплексу, де відбувається його фосфорилування та подальший протеасомний протеоліз [8]. Тож делеція гену *α -E-катеніну* у кардіоміоцитах призводить до зменшення контролю рівня цитоплазматичного білка β -катеніну та підвищення його ядерної локалізації. Варто також зауважити, що іншими авторами було показано, що α -катенін, за певних умов, сприяє ядерній транслокації β -катеніну та активує β -катенін — залежну транскрипцію [7]. Ймовірно, характер взаємодії α -катеніну та β -катеніну при регулюванні канонічного WNT сигналіngu може залежати від цілої низки факторів, а саме, від типу і стану клітини, та від того які саме ростові чи сигнальні молекули/фактори впливають на клітину. Однак, цілком очевидно, що α -катенін здатен впливати на активність канонічного WNT сигналіngu у кардіоміоцитах, а відтак і на цілу низку біологічних процесів у дорослому серці, і це потребує більш детального аналізу. Окрім генів мішеней канонічного WNT-сигналіngu ми проаналізували і стан HIPPO-сигнального каскаду, а саме зміни рівня експресії його генів-мішеней: *CTGF*, *Il1r1*, *Tnfrsf1b*, *Aurka* у тварин із гетеро- та гомозиготною делецією гену *α -E-катеніну*.

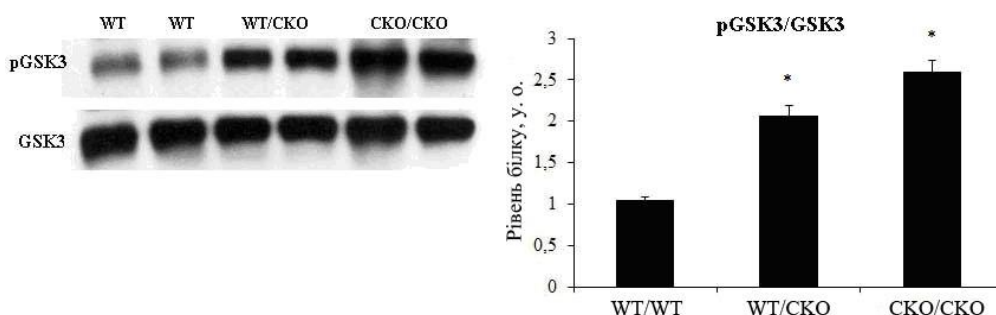


Рис. 2. Вестерн-блот аналіз змін вмісту фосфорильованої неактивної GSK3 у серцях тварин із повною та частковою делецією гену *α -E-катеніну*.
Примітки: WT/WT — тварини контрольної групи; *a-cat* WT/CKO — тварини із гетерозиготною делецією *α -E-катеніну*; *a-cat* CKO/CKO — тварини із гомозиготною делецією гену *α -E-катеніну*. у. о. — умовні одиниці, 1 у. о. — рівень у контрольних тварин. Кількість тварин у кожній групі — 3. * — $p < 0,05$ відносно контролю.

У результаті, нами було показано підвищення експресії усіх досліджуваних генів, як у тварин із гетерозиготною делецією, так із гомозиготною делецією гена α -Е-катеніну (Рис. 3). Варто зауважити, що зростання експресії гену *Il1rl1*, є маркером розвитку патології серця [15]. Окрім того, відомо, що HIPPO-сигнальний каскад регулює розмір кардіоміоцитів і серця [12], і активація рівня експресії його генів призводить до збільшення розмірів міоцитів серця та міокарда в цілому і зазвичай відбувається при розвитку гіпертрофії і аритмогенної кардіоміопатії правого шлуночка [16]. Експериментально було показано, що α -Е-катенін взаємодіє із основним транскрипційним фактором HIPPO-сигналіну, білком Yap, у цитоплазмі і перешкоджає його транслокації у ядро [6]. Отже делеція гену α -Е-катеніну не лише призводить до зниження контролю цитоплазматичного рівня β -катеніну, а й Yap. Усе разом це спричиняє підвищення транскрипційної активності останніх та рівня експресії їхніх генів — мішеней.

Загалом, отримані нами дані, з одного боку пояснюють наявність гіпертрофічної відповіді у тварин з частковою та повною тратою гену α -Е-катеніну, а з іншого — пояснюють появу масивних фіброзів та летальності у таких мишей [10]. Саме втрата α -Е-катеніну спричиняє підвищення сигнальної активності канонічного WNT та Yap, що є причиною розвитку гіпертрофії, фіброзів та погіршення функції дорослого серця, що врешті респі і спричиняє летальність тварин із делецією гену α -Е-катеніну.

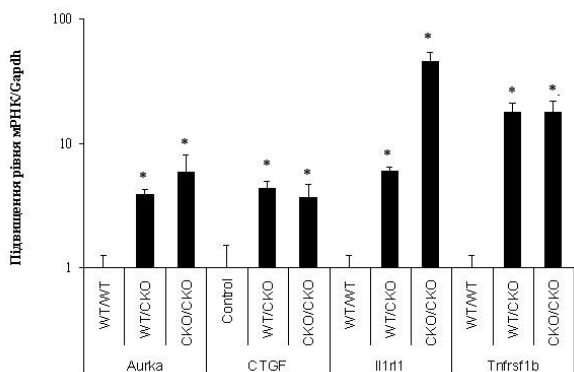


Рис. 3. Зміна рівня експресії генів-мішеней HIPPO-сигнального шляху у тварин із кардіоспецифічною гетерозиготною та гомозиготною делецією гена α -Е-катеніну.

Примітки: WT/WT — тварини контрольної групи; WT/CKO — тварини із гетерозиготною делецією α -Е-катеніну; CKO/CKO — тварини із гомозиготною делецією гена α -Е-катеніну. Рівень експресії в контролі представлений 1.* — $p < 0,05$ відносно контролю. Кількість тварин у кожній групі — 3.

Висновки

Делеція (як гетерозиготна, так і гомозиготна) α -Е-катеніну призводить до активації експресії генів-мішеней WNT/ β -катенінового та HIPPO-сигнальних шляхів. Це може свідчити про важливу сигнальну функцію α -Е-катеніну у кардіоміоцитах дорослого серця, а саме α -Е-катенін — регулює цитоплазматичний рівень основних транскрипційних активаторів зазначених сигнальних каскадів: β -катеніну та Yap, об'єднуючи їхню сигнальну активність.

Перелік літератури

1. Півень О. О. Зміни адгезивних комплексів у тканині міокарда як один із механізмів порушень функції серця // Український кардіологічний журнал. — 2010. — № 6. — С. 110–117.
2. Brade T., Männer J., Kühl M. The role of Wnt signalling in cardiac development and tissue remodelling in the mature heart // Cardiovascular research. — 2006. — Vol. 72. — P. 198–209.
3. Sheikh F., Chen Y., Liang X., Hirschy A., Stenbit A. E., Gu Y., Dalton N. D., Yajima T., Lu Y., Knowlton K. U., Peterson K. L., Perriard J., Chen J. α -E-Catenin inactivation disrupts the cardiomyocyte adherens junction, resulting in cardiomyopathy and susceptibility to wall rupture // Circulation. — 2006. — 114. — P. 1046–1055.
4. Li J., Goossens S., Henge J., Gao E., Cheng L., Tyberghein K., Shang X., Rycke R. D., Roy F., Radice G. L. Loss of α -T-catenin alters the hybrid adhering junctions in the heart and leads to dilated cardiomyopathy and ventricular arrhythmia following acute ischemia // J Cell Sci — 2012. — № 125. — P. 1058–1067.
5. Silvis M. T., Kreger B. T., Lien W., Klezovitch O., Rudakova G. M., Camargo F. D., Lantz D., Seykora J. T., Vasioukhin V. α -Catenin is a tumor suppressor that controls cell accumulation by regulating the localization and activity of the transcriptional coactivator Yap1 // Sci Signal. — 2012. — Vol. 4, № 174.
6. Schlegelmilch K., Mohseni M., Kirak O., Pruszk J., Rodriguez J. R., Zhou D., Kreger B. T., Vasioukhin V., Avruch J., Brummelkamp T. R., Camargo F. D. Yap1 Acts Downstream of α -Catenin to Control Epidermal Proliferation // Cell. — 2011. — Vol. 144. — P. 782–795.
7. Neumann S., Schneider M., Daugherty R. L., Gottardi C. J., Eming S. A., Beijer A., Noegel A. A., Karakesisoglou I. Nesprin-2 Interacts with α -Catenin and Regulates Wnt Signaling at the Nuclear Envelope // J. Biol. Chem. — 2010. — Vol. 285, № 45. — P. 34932–34938.
8. Choi S. H., Estaras C., Moresco J. J., Yates III J. Y., Jones K. A. α -Catenin interacts with APC to regulate β -catenin proteolysis and transcriptional repression of Wnt target genes // Gen & Dev. — 2013. — Vol. 27. — P. 2473–2488.
9. Piven O., Kostetskii I., Macewicz L., Kolomijec Y., Radice G., Lukash L. Requirement for N-cadherin-catenin complex in heart development // Exp. Biol. Med. — 2011. — №. 6. — P. 1–7.
10. Балацький В. В., Акименко І., Мацевич Л. Л., Півень О. О., Лукаш Л. Л. Альфа-Е-катенін у гістологічних перебудовах

- вах міокарда // Фактори експериментальної еволюції живого. — 2016. — Том. 18. — С. 219–220.
11. Dennis V. Cokkinos. Introduction to Translational Cardiovascular Research. — Springer International Publishing. — 2015. — 610 p.
 12. Gise A., Lin Z., Schlegelmilch K., Honor L. B., Pan G. M. Buck J. N., Ma Q., Ishiwata T., Zhou B., Camargo F. D., Pu W. T. YAP1, the nuclear target of Hippo signaling, stimulates heart growth through cardiomyocyte proliferation but not hypertrophy // PNAS. — 2011. — Vol. 109, № 7. — P. 2394–2399.
 13. Nagy A., Gertsenstein M., Vintersten K., Behringer R. Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual. 3rd edn. — Cold Spring Harbor Laboratory Press. — 2003. — 764 p.
 14. Archbold H. C., Yang Y. X., Chen L., Cadigan K. M. Wnt/b-catenin pathway: regulation of transcription by the Wnt. How do they do? // ActaPhysiol. — 2012. — Vol. 204, № 1. — P. 74–109.
 15. Broch K., Ueland T., Yndestad A., Aukrust P., Gullestad L. Heart failure biomarkers: focus on interleukin-1 receptor-like 1-based blood tests // Drugs Today (Barc). — 2012. — Vol. 48, № 7. — P. 479–491.
 16. Chen S. N., Gurha P., Lombardi R., Ruggiero A., Willerson J. T., Marian A. J. The Hippo Pathway Is Activated and Is a Causal Mechanism for Adipogenesis in Arrhythmogenic Cardiomyopathy // Circulation Research. — 2014. — Vol. 114, № 3. — P. 454–468.

Представлена Телегєєвим Г. Д.
Надійшла 20.10.2016

**α-E-CATENIN IS A POTENTIAL
REGULATOR OF CANONICAL WNT
AND HIPPO-SIGNALINGS IN MYOCARDIUM**

B. V. Balatskyi, O. L. Palchevska, L. L. Macewicz,
O. O. Piven

Institute of Molecular Biology and Genetics,
NAS of Ukraine
Ukraine, 03680, m. Kyiv, vul. Acad. Zabolotnogo, 150
e-mail: o.o.piven@imbg.org.ua

The structural integrity of the myocardium is necessary for heart function and maintains by intercalated disks. Alpha-E-catenin — is important component of adherens junction in adult myocardium. In addition, during last time the possible signalling function of *α-E-catenin* was described. **The aim** of our work was to investigate the *α-E-catenin* regulatory function in canonical Wnt and HIPPO signalling in adult heart. **Materials and methods.** Our work was done with *α-E-catenin* conditional knockout mice and aMHC-Cre — transgenic animals using. Expression of genes involved in the canonical Wnt- and HIPPO signalings were analysed with rtPCR using. Canonical Wnt signalling activity was investigated by Western blot analysis. **Result.** We have shown that both heterozygous and homozygous deletion of *α-E-catenin* gene in the embryonic heart leads to activation of WNT/β-catenin signalling, namely we registered the higher level of *c-Fos*, *c-Myc* and *Ctnnb1* genes expression and increasing of phosphorylated GSK3β in adult heart. In addition, we observed the HIPPO-signaling pathway activation after *α-E-catenin* gene ablation, namely we observed increasing of *Ctgf*, *Il1rl1*, *Tnfrsf1b*, *Aurka* genes expression. **Conclusions.** *α-E-catenin* has an important signalling function in adult heart, namely *α-E-catenin* regulates cytoplasmic level of main transcriptional activators of the canonical Wnt- and HIPPO-signalling cascades: β-catenin and Yap what leads to limiting their signalling activity.

Keywords: *α-E-catenin*, β-catenin, HIPPO, Wnt-signalling, gene expression, myocardium.