

УДК 001.1+575+576.52

**БІЛКИ-КОМПОНЕНТИ КОМПЛЕКСІВ  
МІЖКЛІТИННОЇ АДГЕЗІЇ ЗАЛУЧЕНІ ДО КОНТРОЛЮ  
ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА РОЗМІРУ НЕОНАТАЛЬНИХ  
КАРДІОМІОЦИТІВ *MUS MUSCULUS***

В. В. БАЛАЦЬКИЙ, Л. Л. МАЦЕВИЧ, Т. П. РУБАН, О. О. ПІВЕНЬ

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,  
Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 150,  
e-mail: o.o.piven@imbg.org.ua

**Мета** нашої роботи дослідити вплив білків-компонентів комплексів міжклітинної адгезії — катенінів на проліферацію неонатальних кардіоміоцитів за умови їхньої кардіоспецифічної делеції. **Матеріали і методи.** Дослідження проводили із використанням мишей що мають умовний нокаут гену  $\beta$ -катеніну ( $\beta$ -cat<sup>flx/flx</sup>);  $\alpha$ E-катеніну ( $\alpha$ E-cat<sup>flx/flx</sup>) та трансгенних тварин що експресують Cre-рекомбіназу під контролем промотора важкого ланцюга  $\alpha$ -міозину (( $\alpha$ MHC)-Cre). **Результати.** Кардіоспецифічна втрата гену  $\beta$ -катеніну спричиняє пригнічення проліферативної активності кардіоміоцитів та зменшення розмірів серця, тоді як нокаут  $\alpha$ E-катеніну навпаки — підвищення рівня проліферації і збільшення розмірів новонародженого серця. **Висновки.** Гени, що кодують білки-компоненти комплексів міжклітинної адгезії —  $\beta$ -катенін та  $\alpha$ E-катенін мають не лише важливу структурну функцію у підтриманні цілісності тканини міокарду, а й залучені до контролю проліферації та розмірів неонатальних кардіоміоцитів

**Ключові слова:**  $\beta$ -катенін,  $\alpha$ E-катенін, кардіоміоцити, проліферація.

**Вступ.** Доросле серце ссавців, як відомо, майже не має або має дуже обмежену здатність до регенерації. Причиною тому вважають пригнічену здатність дорослих кардіоміоцитів (КМ) до поділу. Однак, дослідження останніх років демонструють, що залежно від стану організму, кардіоміоцити здатні активно ділитись і рости. Так, наприклад, у ембріогенезі без коми, в усіх біологічних видів кардіоміоцити активно проліферують. Серця деяких нижчих хребетних, тритонів та рибок даніо, здатні до регенерації після ураження протягом усього життя [1, 2]. Вивчення особливостей та динаміки росту КМ у гризунів протягом неонатального періоду виявило, що кількість міоцитів серця сягає максимуму на 4-ту добу постнатального розвитку [3, 4]. У подальшому ж, кількість КМ залишається незмінною, а ріст серця, або збільшення його маси, забезпечується за рахунок гіпертрофічного росту міоцитів, тобто збільшення об'єму КМ та утворення двоядерних клітин. Окрім того, нещодавні дослідження показали, що у мишей, проліферативна активність кардіоміоцитів поступово пригнічується протягом першого тижня життя; так серця новонароджених мишей (1 постнатальний день розвитку — P1) здатні повністю регенерувати після резекції верхівки без утворення фіброзної тканини, але така регенеративна здатність зникає після 7-го дня життя (P7) [5, 6]. Молекулярні механізми, що залучені до пригнічення проліферативної активності КМ та втрати здатності до регенерації міокарду у гризунів наразі лишаються не зрозумілими.

Однак, очевидно, що існує зв'язок між проліферацією, організацією цитоскелету та комплексами міжклітинної адгезії. Так, протягом ембріонального розвитку та одразу після народження КМ мають видовжену форму з рівномірним розподілом міофібрил. «Визрівання» КМ відбувається після народження, коли серце починає отримувати фізичні навантаження та коли фракція серцевого викиду збільшується.

Цікаво, що такі морфологічні метаморфози супроводжуються структуризацією адгезивних комплексів, а саме, N-кадгерин/катенінового комплексу.

Спочатку, білки цього комплексу рівномірно локалізовані вздовж клітинної мембрани, але при «визріванні» міокарду і термінальному диференціюванні КМ локалізація білків N-кадгерин/катенінового комплексу обмежується біполярними кінцями клітини. Це призводить до утворення спеціалізованих та чітко організованих структур — інтеркалярних дисків (ІД) [7].

Цікаво, що біполярна локалізація адгезивних білків та формування ІД корелює з різким зниженням проліферативної активності КМ у новонародженому серці. Це вказує на те, що міжклітинна адгезія як така, та білки що залучені до утворення та підтримання адгезивних комплексів відіграють важливу роль у контролі проліферативної активності КМ, рості міокарда та його здатності до регенерації.

Відомо, що у міокарді адгеринові з'єднання представлені виключно N-кадгерин/катеніновим білковим комплексом [8]. Раніше нами було показано, що делеція N-кадгерину у ембріональному серці спричиняє ранню ембріональну летальність, на противагу цьому генетичний нокаут цитоплазматичних партнерів N-кадгерину не призводив до порушень розвитку серця чи/та ембріону [9]. А летальність спостерігали виключно у тварин із гомозиготним нокаутом  $\beta$ -катеніну у пізньому ембріогенезі та одразу після народження [9]. Цікаво, що у дорослих тварин гетерозиготних за нокаутом  $\beta$ -катеніну спостерігали затримку розвитку міокарду, тоді як у тварин із делецією  $\alpha E$ -катеніну — гіпертрофічні зміни та розвиток серцевої недостатності у віці 10 місяців [10]. Ці дані також свідчать на користь того, що білки, що залучені до міжклітинної адгезії, а саме  $\beta$ -катенін та  $\alpha E$ -катенін залучені до контролю росту та проліферації КМ.

Тож метою нашої роботи було дослідити та порівняти вплив кардіоспецифічної делеції гену  $\beta$ -катеніну та  $\alpha E$ -катеніну та неонатальне серце та проліферативну активність кардіоміоцитів.

### Матеріали і методи

*Генерація тварин із делецією гену  $\alpha E$ -катеніну або  $\beta$ -катеніну у ембріональному серці.* Для генерації дослідних груп тварин із кардіоспецифічною делецією гену  $\alpha E$ -катеніну або  $\beta$ -катеніну схрещували мишей, що експресують Cre-рекоміназу під контролем промотора

важкого ланцюга  $\alpha$ -міозину (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\alpha$ -cat<sup>wt/wt</sup>), із мишами із умовним нокаутом гену  $\alpha E$ -катеніну (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\alpha$ -cat<sup>flox/flox</sup>) або гену  $\beta$ -катеніну (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>-</sup>;  $\beta$ -cat<sup>flox/flox</sup>). Потомство F1 із генотипом (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\alpha$ -cat<sup>flox/wt</sup>) або (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\beta$ -cat<sup>flox/wt</sup>) схрещували із (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>-</sup>;  $\alpha$ -cat<sup>flox/flox</sup>) або із (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>-</sup>;  $\beta$ -cat<sup>flox/flox</sup>) мишами відповідно. Потомство F2 використовували у дослідженні: (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\alpha$ -cat<sup>flox/wt</sup>) — миші із гетерозиготною делецією  $\alpha E$ -катеніну, (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\alpha$ -cat<sup>flox/flox</sup>) — миші із гомозиготною делецією  $\alpha E$ -катеніну, (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>-</sup>;  $\alpha$ -cat<sup>flox/wt</sup>) та (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\alpha$ -cat<sup>flox/flox</sup>) — контрольні миші; (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\beta$ -cat<sup>flox/flox</sup>) — миші із гомозиготною делецією  $\beta$ -катеніну; (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\beta$ -cat<sup>flox/wt</sup>) — миші із гетерозиготною делецією  $\beta$ -катеніну; (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>-</sup>;  $\beta$ -cat<sup>flox/wt</sup>) та (( $\alpha$ МНС)-Cre<sup>+</sup>;  $\beta$ -cat<sup>flox/flox</sup>) — контрольні миші. У застосованій нами моделі Cre-рекоміназа експресується починаючи із 7,5–8 дня ембріонального розвитку і видаляє фланкований loxP сайтами фрагмент геному з високою ефективністю [11]. Новонароджених тварин генотипували у віці 1 доба згідно зі стандартними протоколами. Мутантні та алелі дикого типу  $\alpha E$ -катеніну визначали за допомогою наступних праймерів — прямий: 5'-CATTCTGTCCACCCCAAGAC-3' та зворотній: 5'-GCAAAATGATCCAGCGTCCTGGG-3',  $\beta$ -катеніну — 5'-AGGTAGAGTGATGAAAGTTGTT-3' та 5'-CACCATGTCCTCTGTCTATTC-3';  $\alpha$ МНС-Cre трансген — прямий 5'-CAGAACCTGAAGATGTTCCGC-3' та зворотній 5'-TACACCTCGGTGCTAACCAG-3'.

Генотипування, виділення ДНК, проводили згідно зі стандартними протоколами.

Трансгенні тварини були люб'язно надані доктором Міхаелем Шнайдером, Медичний коледж, Байлор, США. Тварини, гомозиготні за умовним нокаутом  $\beta$ -катеніну ( $\beta$ -catenin<sup>flox/flox</sup>) та  $\alpha E$ -катеніну ( $\alpha$ -catenin<sup>flox/flox</sup>), були отримані із Джексон лабораторії (Jackson Laboratories, США).

*Морфометричний аналіз новонароджених сердець.* Новонароджених тварини віком 1 день (P1) забивали і проводили зважування тіла (МТ, г) та ізольованого серця (МС, мг). Дані використовували для розрахунку співвідношення МС/МТ. Для оцінки розвитку серця новонароджених тварин використовували індекс співвідношення маси серця/маси тіла (МС/МТ) [12].

Виділення і культивування неонатальних кардіоміоцитів. Серця новонароджених тварин для отримання первинних культур кардіоміоцитів лізували методом холодної трипсинізації у комбінації із механічною дезінтеграцією [13]. Первинні культури кардіоміоцитів висівали на 12-лункові планшети, вирощували протягом 4–6 днів у середовищі DMEM із 10 % ембріональної сироватки ВРХ за стандартних умов (5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C), після чого отримані культури використовували на 1 пасажі для дослідження проліферативної активності КМ із застосуванням МТТ — тесту як описано [14]. Клітини аналізували за допомогою світлового мікроскопу Primo Star (Carl Zeiss, Геттінген, Німеччина) та AxioVision Software (Carl Zeiss, Геттінген, Німеччина). Визначали наступні параметри: довжина (найдовша вісь клітини) і ширина (перпендикуляр до довжини на рівні ядер) кардіоміоцитів.

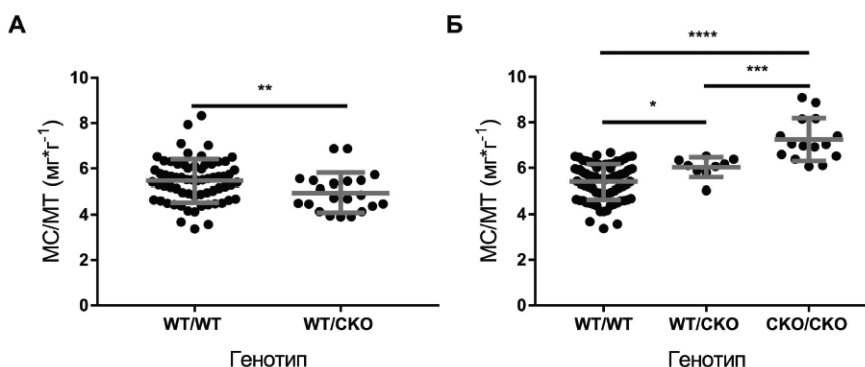
Аналіз розподілу на нормальність здійснювали за допомогою тесту Д'Агостіно-Пірсона. Статистичну обробку даних проводили за допомогою t-тесту або однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) із *post hoc* тестом Холма-Сідака із використанням програмного забезпечення GraphPad Prism7.  $p < 0,05$  вважали статистично достовірним.

### Результати та обговорення

Проліферація та термінальне диференціювання КМ має безпосередній зв'язок з обмеженою здатністю дорослого серця ссавців до регенерації, проте, молекулярні механізми що залучені до контролю зазначених процесів вивчені

не достатньо [7]. Однак, очевидно, що існує зв'язок між формуванням адгезивних комплексів та ІД і проліферативною активністю КМ [5, 7]. Тож, білки, що залучені до підтримання міжклітинних контактів можуть приймати участь і у регулюванні проліферації КМ. На користь такого припущення свідчать і дані про участь білків міжклітинної адгезії у регулюванні деяких сигнально-регуляторних каскадів клітини, а саме,  $\beta$ -катенін є транскрипційним ко-активатором канонічного Wnt-сигналіngu,  $\alpha E$ -катенін — здатен модулювати активність канонічного Wnt- та HIPPO-сигналінгів [15].

У своїй роботі, із застосуванням моделі умовного генетичного нокауту ми дослідили як кардіоспецифічний нокаут гену  $\beta$ -катеніну або  $\alpha E$ -катеніну впливає на проліферативну активність неонатальних кардіоміоцитів. Перш за все, ми виявили, що гетерозиготна делеція гену  $\beta$ -катеніну у ембріональному серці спричиняє затримку росту неонатального міокарду (Рис. 1А). Варто зауважити, що при гомозиготній делеції індекс співвідношення маси серця до маси тіла (МС/МТ) також був нижчим порівняно із контрольними тваринами, однак дані не наведено на Рис. 1, оскільки ми спостерігали летальність таких мишей вже у пізньому ембріонезі і їхня кількість у віці P1 не є достатньою для статистичного аналізу. На противагу цим даним, як гетеро- так і гомозиготна делеція гену  $\alpha E$ -катеніну спричиняла підвищення маси серця новонароджених мишей віком P1 порівняно із контролем (Рис. 1Б).

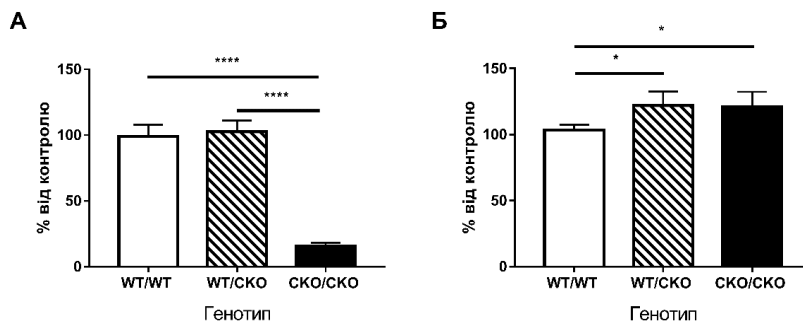


**Рис 1.** Аналіз співвідношення маси серця до маси тіла тварин віком P1 з кардіоспецифічною делецією гену  $\beta$ -катеніну (А) та гену  $\alpha E$ -катеніну (Б); WT/WT — контрольні тварини; WT/CKO — тварини з гетерозиготним нокаутом досліджуваного гену; CKO/CKO — тварини з гомозиготним нокаутом досліджуваного гену. Кількість тварин у кожній групі:  $\beta$ -катенін WT/WT — 66,  $\beta$ -катенін WT/CKO — 21;  $\alpha$ -катенін WT/WT — 81,  $\alpha$ -катенін WT/CKO — 9 та  $\alpha$ -катенін CKO/CKO — 15. \*\* —  $p < 0,01$  за допомогою t-тесту; \* —  $p < 0,05$ , \*\*\* —  $p < 0,005$ , \*\*\*\* —  $p < 0,001$  за допомогою ANOVA із *post hoc* тестом Холма-Сідака.

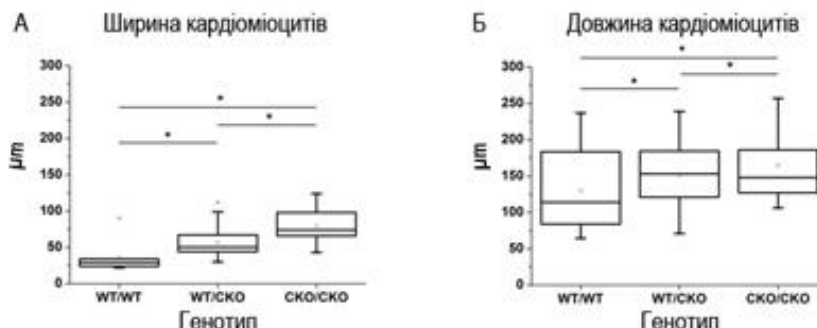
Аналіз проліферативної активності ізолюваних неонатальних кардіоміоцитів також виявив певну різницю між КМ з нокаутом  $\beta$ -катеніну та  $\alpha E$ -катеніну (Рис. 2). Хоча ми й не спостерігали статистично достовірної різниці між КМ контрольної групи та клітинами із гетерозиготною делецією  $\beta$ -катеніну, гомозиготний нокаут досліджуваного гену спричиняв статистично достовірне зниження проліферативної активності КМ майже у 4 рази порівняно із клітинами двох інших груп (Рис. 2А). Ймовірно саме таке порушення проліферації КМ з гомозиготним нокаутом  $\beta$ -катеніну є причиною летальності мутантних тварин у пізньому ембріогенезі та одразу після народження [9]. Цікаво, що і гетеро- і гомозиготна делеція  $\alpha E$ -катеніну призводила до статистично достовірного підвищення проліферативної активності КМ порівняно із клітинами контрольної групи (Рис. 2Б). Можливо це пояснює і підвищення значення індексу МС/МТ у новонароджених тварин з

гетеро- та гомозиготною делецією гену  $\alpha E$ -катеніну (Рис. 1Б).

Аналіз розмірів ізолюваних кардіоміоцитів виявив що як гетеро- так і гомозиготна делеція гену  $\beta$ -катеніну спричиняє збільшення довжини (Рис. 3А) та ширини (Рис. 3Б) неонатальних клітин серця. Однак варто зауважити, що зміни параметру ширини ізолюваних клітин були більш вираженими порівняно із параметром — довжини (Рис. 3). При делеції гену  $\alpha E$ -катеніну обидва параметри зменшувались у клітин із гетеро- та гомозиготним нокаутом досліджуваного гену (Рис. 4). Причому, значення параметру ширини для клітин із гетерозиготною делецією гену  $\alpha E$ -катеніну (Рис. 4А) не займало проміжного значення між таким для клітин дикого типу та з гомозиготним нокаутом гену як при аналізі впливу делеції гену  $\beta$ -катеніну (Рис. 3), а було статистично достовірно нижчим порівняно із іншими досліджуваними групами клітин.



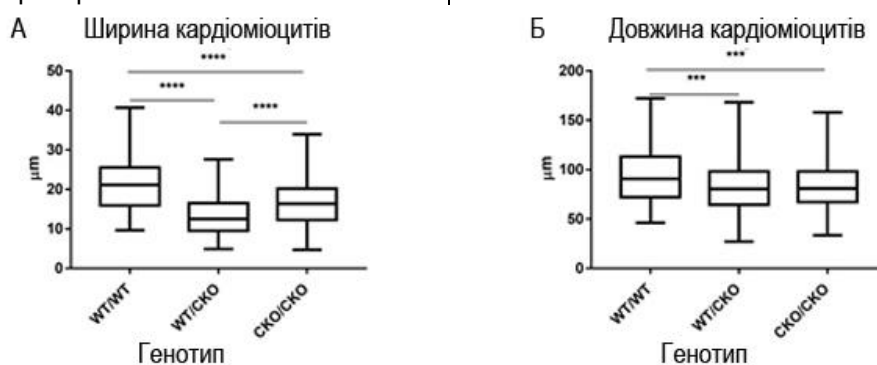
**Рис 2.** Аналіз проліферативної активності ізолюваних КМ з кардіоспецифічною делецією гену  $\beta$ -катеніну (А) та гену  $\alpha E$ -катеніну (Б); WT/WT — контроль, WT/SKO — гетерозиготи, SKO/SKO — гомозиготи.  $n = 3$  (за винятком кардіоміоцитів із гомозиготним нокаутом  $\beta$ -катеніну (кардіоміоцити виділені із 2 сердець)). \* —  $p < 0,05$ , \*\*\*\* —  $p < 0,001$  за допомогою ANOVA із *post hoc* тестом Холма-Сідака.



**Рис 3.** Аналіз впливу делеції гену  $\beta$ -катеніну на розміри ізолюваних кардіоміоцитів: А — ширина клітин; Б — довжина клітин; WT/WT — контроль; WT/SKO — гетерозиготи за нокаутом  $\beta$ -катеніну; SKO/SKO — гомозиготи за нокаутом  $\beta$ -катеніну. Аналізували не менше 50 кардіоміоцитів ізолюваних із 3 сердець кожного генотипу, за винятком кардіоміоцитів із гомозиготним нокаутом  $\beta$ -катеніну (кардіоміоцити виділені із 2 сердець). \* —  $p < 0.05$  за допомогою ANOVA із *post hoc* тестом Холма-Сідака.

Вочевидь,  $\beta$ -катенін та  $\alpha E$ -катенін мають важливе значення у контролюванні проліферації та розмірів неонатальних кардіоміоцитів. Ймовірно делеція гену  $\beta$ -катеніну спричиняє затримку проліферації клітин у новонародженому серці, що хоч і супроводжується збільшенням ширини та довжини таких клітин, все одно асоційовано із зменшенням розмірів новонародженого серця як у гетеро- так і гомозигот за нокаутом досліджуваного гену, ці спостереження узгоджуються із нашими даними дослідження дорослих тварин із гетерозиготною делецією гену  $\beta$ -катеніну [12]. Такий ефект може бути наслідком порушення/пригнічення сигнальної активності канонічного Wnt-сигналіngu, котрий як відомо залучений до контролю проліферації клітин. Це припущення підтверджують і дані отримані при аналізі сердець та клітин із делецією гену  $\alpha E$ -катеніну, останній, на відміну від  $\beta$ -катеніну, є супресором сигнальної активності

як канонічного Wnt- так і HIPPO-сигналіngu. Дійсно, втрата цього гену спричиняє збільшення маси серця у новонароджених мишей, підвищення рівня проліферації у ізолюваних неонатальних кардіоміоцитах та зменшення їхніх розмірів. Цікаво, що збільшення маси серця та активацію канонічного Wnt- і HIPPO-сигналінгів ми спостерігали і у дорослих тварин із такими генотипами [10, 15]. Вочевидь, клітини із частковою та повною втратою гену  $\alpha E$ -катеніну, за рахунок втрати супресорної функції останнього, проліферують активніше що спричиняє гіперплазію та збільшення розмірів серця. Наші дані не лише демонструють важливу роль білків, що залучені до підтримання міжклітинної адгезії, у контролюванні проліферації неонатальних кардіоміоцитів та розвитку серця, а й їхню можливу участь при регенерації серця, що викликає інтерес та потребує більш детального аналізу.



**Рис 4.** Аналіз впливу делеції гену  $\alpha E$ -катеніну на розміри ізолюваних кардіоміоцитів: А — ширина клітин; Б — довжина клітин; WT/WT — контроль; WT/CKO — гетерозиготи за нокаутом  $\beta$ -катеніну; CKO/CKO — гомозиготи за нокаутом  $\beta$ -катеніну. Аналізували не менше 50 кардіоміоцитів ізолюваних із 3 сердець кожного генотипу, за винятком кардіоміоцитів із гомозиготним нокаутом  $\beta$ -катеніну (кардіоміоцити виділені із 2 сердець). \*\*\* —  $p < 0.005$ , \*\*\*\* —  $p < 0.001$  за допомогою ANOVA із *post hoc* тестом Холма-Сідака.

## Висновки

Гени, що кодують білки міжклітинної адгезії —  $\beta$ -катенін та  $\alpha E$ -катенін мають не лише важливу структурну функцію у підтриманні цілісності серця, а й залучені до контролю проліферації та розмірів неонатальних кардіоміоцитів. Кардіоспецифічна втрата гену  $\beta$ -катеніну спричиняє затримку проліферативної активності клітин та зменшення розмірів серця, тоді як нокаут  $\alpha E$ -катеніну навпаки — підвищення проліферації і збільшення розмірів новонародженого серця.

## Перелік літератури

1. Poss K. D., Wilson L. G., Keating M. T. Heart regeneration in zebrafish. *Science*. 2002. Vol. 298, P. 2188–2190. doi: 10.1126/science.1077857.
2. Oberpriller J. O., Oberpriller J. C. Response of the adult newt ventricle to injury. *J. Exp. Zool.* 1974. Vol. 187, P. 249–253. doi:10.1002/jez.1401870208.
3. Soonpaa M. H., Kim K. K., Pajak L., Franklin M., Field L. J. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development. *Am. J. Physiol.* 1996. Vol. 271, P. H2183–H2189. doi:10.1152/ajpheart.1996.271.5.H2183.
4. Li F., Wang X., Capasso J. M., Gerdes A. M. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *Journal*

- of molecular and cellular cardiology. 1996. Vol. 28, P. 1737–1746. doi:10.1006/jmcc.1996.0163.
5. Porrello E. R., Mahmoud A. I., Simpson E., Hill J. A., Richardson J. A., Olson E. N., Sadek, H. A. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science*. 2011. Vol. 331, P. 1078–1080. doi: 10.1126/science.1200708.
  6. Porrello E. R., Mahmoud A. I., Simpson E., Johnson B. A., Grinsfelder D., Canseco D., Mammen P. P., Rothermel B. A., Olson E. N., Sadek, H. A. Regulation of neonatal and adult mammalian heart regeneration by the miR-15 family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013. Vol. 110, P. 187–192. doi:10.1126/science.1200708.
  7. Hirschy A., Schatzmann F., Ehler E., Perriard, J. C. Establishment of cardiac cytoarchitecture in the developing mouse heart. *Developmental biology*. 2006. Vol. 289, P. 430–441. doi:10.1016/j.ydbio.2005.10.046
  8. Takeichi M. Morphogenetic roles of classic cadherins. *Curr Opin Cell Biol* 1995. Vol. 7. P. 619–627. doi: 10.1016/0955-0674(95)80102-2.
  9. Piven O. O., Kostetskii I. E., Macewicz L. L., Kolomiets Y. M., Radice G. L., Lukash L. L. Requirement for N-cadherin-catenin complex in heart development. *Exp Biol Med* (Maywood). 2011. Vol. 236. P. 816–822. doi: 10.1258/ebm.2011.010362.
  10. Балацький В. В., Акименко І., Мацевич Л. Л., Півень О. О., Лукаш Л. Л. Альфа-Е-катенін у гістологічних перебудовах міокарда при старінні. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2016. Т. 18. С. 219–222.
  11. Agah R., Frenkel P. A., French B. A. et al. Gene recombination in postmitotic cells targeted expression of cre recombinase provokes cardiac-restricted, site-specific rearrangement in adult ventricular muscle *in vivo*. *The Journal of chemical physics*. 1997. Vol. 100, No. 1. P. 169–179. doi:10.1172/JCI119509.
  12. Palchevska O. L., Balatskii V. V., Andrejeva A. O., Macewicz L. L., Piven O. O., Lukash L. L. Embryonically induced  $\beta$ -catenin haploinsufficiency attenuates postnatal heart development and causes violation of foetal genes program. *Biopolym. Cell*. 2013. Vol. 29, No. 2. P. 124–130. doi: 10.7124/bc.00080F.
  13. Лукаш, Л. Л., Патон Е. Б., Сухорада Е. М. Оценки цитотоксичности препаратов с антиканцерогенным действием в культурах клеток человека. *Цитология и генетика*. 1997. Т. 31, N. 6. С. 26–34.
  14. Twentymen P. R., Luscombe M. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. *Br. J. Cancer*. 1987. Vol. 56. P. 279–285.
  15. Балацький В. В., Пальчевська О. Л., Мацевич Л. Л., Півень О. О.  $\alpha$ -Е-катенін потенційний регулятор канонічного Wnt та HIPPO- сигналінгів у міокарді. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2016. Т. 14., № 2. С. 168–173.

## References

1. Poss K. D., Wilson L. G., Keating M. T. Heart regeneration in zebrafish. *Science*. 2002. Vol. 298, P. 2188–2190. doi: 10.1126/science.1077857.
2. Oberpriller J. O., Oberpriller J. C. Response of the adult newt ventricle to injury. *J. Exp. Zool*. 1974. Vol. 187, P. 249–253. doi:10.1002/jez.1401870208.
3. Soonpaa M. H., Kim K. K., Pajak L., Franklin M., Field L. J. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development. *Am. J. Physiol*. 1996. Vol. 271, P. H2183–H2189. doi:10.1152/ajpheart.1996.271.5.H2183.
4. Li F., Wang X., Capasso J. M., Gerdes, A. M. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1996. Vol. 28, P. 1737–1746. doi:10.1006/jmcc.1996.0163.
5. Porrello E. R., Mahmoud A. I., Simpson E., Hill J. A., Richardson J. A., Olson E. N., Sadek H. A. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science*. 2011. Vol. 331, P. 1078–1080. doi: 10.1126/science.1200708.
6. Porrello E. R., Mahmoud A. I., Simpson E., Johnson B. A., Grinsfelder D., Canseco D., Mammen P. P., Rothermel B. A., Olson E. N., Sadek H. A. Regulation of neonatal and adult mammalian heart regeneration by the miR-15 family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013. Vol. 110, P. 187–192. doi:10.1126/science.1200708.
7. Hirschy A., Schatzmann F., Ehler E., Perriard, J. C. Establishment of cardiac cytoarchitecture in the developing mouse heart. *Developmental biology*. 2006. Vol. 289, P. 430–441. doi:10.1016/j.ydbio.2005.10.046
8. Takeichi M. Morphogenetic roles of classic cadherins. *Curr Opin Cell Biol* 1995. Vol. 7. P. 619–627. doi: 10.1016/0955-0674(95)80102-2.
9. Piven O. O., Kostetskii I. E., Macewicz L. L., Kolomiets Y. M., Radice G. L., Lukash L. L. Requirement for N-cadherin-catenin complex in heart development. *Exp Biol Med* (Maywood). 2011. Vol. 236. P. 816–822. doi: 10.1258/ebm.2011.010362.
10. Balatskyi V. V., Akymenko I., Matsevych L. L., Piven O. O., Lukash L. L. Alfa-E-катенін у гістологічних перебудовах міокарда при старінні. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2016. Т. 18. С. 219–222.
11. Agah R., Frenkel P. A., French B. A. et al. Gene recombination in postmitotic cells targeted expression of cre recombinase provokes cardiac-restricted, site-specific rearrangement in adult ventricular muscle *in vivo*. *The Journal of chemical physics*. 1997. Vol. 100, No. 1. P. 169–179. doi:10.1172/JCI119509.
12. Palchevska O. L., Balatskii V. V., Andrejeva A. O., Macewicz L. L., Piven O. O., Lukash L. L. Embryonically induced  $\beta$ -catenin haploinsufficiency attenuates postnatal heart development and causes violation of foetal genes program. *Biopolym. Cell*. 2013. Vol. 29, No. 2. P. 124–130. doi: 10.7124/bc.00080F.

13. Lukash L. L., Paton E. B., Sukhorada E. M. Otsenky tsytotoksychnosty preparatov s antykantserohennum deistvyem v kulturakh kletok cheloveka. *Tsitologia i genetika*. 1997. T. 31, N. 6. P. 26–34.
14. Twentyman P. R., Luscombe M. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. *Br. J. Cancer*. 1987. Vol. 56. P. 279–285.
15. Balatskyi V. V., Palchevska O. L., Matsevych L. L., Piven O. O.  $\alpha$ E-catenin potentsiinyi rehuliator kanonichnoho Wnt ta HIPPO- syhnalinhiv u miokardi. *Visn. Ukr. tov-va henetykiv i selektsioneriv*. 2016. T. 14., № 2. P. 168–173.

Представлено Г. Д. Телегєєвим  
Надійшла 15.04.2018

#### ADHESION PROTEINS ARE ABLE TO CONTROL THE PROLIFERATION AND SIZE OF NEONATAL CARDIOMYOCTES IN *MUS MUSCULUS*

V. V. Balatskyi, L. L. Macewicz,  
T. P. Ruban, O. O. Piven

Institute of Molecular Biology and Genetics  
of Natl. Acad. Sci. of Ukraine,  
Ukraine, 03143, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 150,  
e-mail: o.o.piven@imbg.org.ua

**Aim.** In our present work, we have analyzed the influence of adhesion proteins — catenins on the proliferation of neonatal cardiomyocytes, under there cardiac-specific knockout. **Methods.** The studies were conducted using mice with a conditional knockout of the  $\beta$ -catenin gene ( $\beta$ -cat<sup>flox/flox</sup>);  $\alpha$ E-catenin ( $\alpha$ E-cat<sup>flox/flox</sup>) and transgenic animals which express the Cre-recombinase under the control of the heavy chain promoter of  $\alpha$ -myosin (( $\alpha$ MHC) -Cre). **Results.** The cardiac ablation of the  $\beta$ -catenin gene results in lower cell proliferation and decreased myocardial size, whereas the knockout of  $\alpha$ E-catenin, increased proliferation as well as the size of the newborn heart. **Conclusions.** Intercellular adhesion genes —  $\beta$ -catenin and  $\alpha$ E-catenins have not only an important structural function in maintaining of the myocardium tissue structure, but also involved in controlling of the proliferation, size of neonatal cardiomyocytes and newborn heart.

**Keywords:**  $\beta$ -catenin,  $\alpha$ E-catenin, cardiomyocytes, proliferation.