

## БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ ГОРМОНА РОСТА И ЕГО ПРОЯВЛЕНИЯ В КЛЕТКАХ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

©2010 г. С. С. ШИШКИН, К. В. ЛИСИЦКАЯ,  
И. Н. КРАХМАЛЕВА

*Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва*

I. Введение. II. Основные молекулярные механизмы формирования полиморфизма белков. III. Общие характеристики белков системы гормона роста человека и проявления их биохимического полиморфизма. IV. Изоформы белков системы гормона роста в клетках предстательной железы при росте, развитии и канцерогенезе. V. Заключение.

### I. ВВЕДЕНИЕ

Исследования биохимического полиморфизма белков, имеющие почти пятидесятилетнюю историю, в начальном периоде были связаны с открытием изоферментов и их активным изучением в рамках биохимической генетики [1, 2]. В последние два десятилетия XX века появились убедительные данные, свидетельствующие о существовании выраженного биохимического полиморфизма не только у ферментов, но и белков с другими функциями, в частности – с гормональными [2–4]. В 1991 г. Г.Бауманн [4], уделивший особое внимание полиморфизму гормона роста (ГР), а также некоторым белкам, обеспечивающим его функционирование, предложил даже

*Принятые сокращения:* ГР – гормон роста, РГР – рецептор гормона роста, ИФР – инсулиноподобные факторы роста, ИФРСБ – белки, связывающие инсулиноподобные факторы роста, MAP - митоген-активируемые протеинкиназы, ПЖ – предстательная железа, РПЖ – рак предстательной железы, IRS – белки-субстраты рецептора инсулина, SNP's – однонуклеотидные замены в ДНК, STAT – семейство белков, обеспечивающих реализацию сигнала от факторов транскрипции (Signal Transducers and Activators of Transcription).

*Адрес для корреспонденции:* shishkin@inbi.ras.ru

Работа выполнена при финансовой поддержке госконтрактов № 373н-08 и № 375н-08 Департамента науки и промышленной политики Правительства города Москвы, 2008–2009.

специальный термин для обозначения полиморфных форм гормональных белков – изогормоны.

С началом 21-го века, которое рассматривается многими исследователями как переход всей биологии в особую постгеномную эру развития [5–7], изучение полиморфизма приобрело качественно новый характер. Этому способствовало успешное завершение международного проекта «Геном человека» [8, 9] и формирование целого спектра новых научных дисциплин, так называемых «-омика» (геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика и др.) [7, 10, 11], а также биоинформатики. Были созданы постоянно растущие базы данных о биополимерах человека и множества других организмов например, в National Center of Biotechnological Information (далее NCBI, [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) и в The Swiss Institute of Bioinformatics (далее *Swiss-Prot*, [www.expasy.org](http://www.expasy.org)). Всё это дало начало для беспрецедентного расширения исследований биохимического полиморфизма белковых гормонов у человека, а также других белков, обеспечивающих гормональные функции. Убедительной иллюстрацией этого могут служить результаты поиска в базе данных «PubMed» NCBI работ по комбинации из ключевых слов – «polymorphism human hormone», которые выявляют более 1700 ссылок на публикации только трех последних лет. Ряд исследователей начали определенную переоценку значения полиморфизма белков для нормального развития организма и его роли в патологии, включая рак предстательной железы (РПЖ) [10, 12–14].

Известно, что ГР и целый ряд других белков, обеспечивающих его функционирование, играют ключевую роль в обеспечении контроля за клеточной пролиферацией, а при его нарушениях вовлекаются в процессы канцерогенеза [4, 13, 14]. Эти белки и их гены привлекают особое внимание в связи с выраженной тенденцией к увеличению частоты встречаемости РПЖ [13, 14]. Учитывая большую значимость системы ГР человека для решения различных биомедицинских проблем, нам представляется весьма актуальным рассмотреть и обобщить основные результаты исследований по полиморфизму белков этой системы.

## **II. ОСНОВНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОЛИМОРФИЗМА БЕЛКОВ**

Результаты исследований биохимического полиморфизма белков обеспечили создание ряда общих представлений о молекулярных механизмах данного явления и выявили его важность для формирования здоровых особей, а также для возникновения различных патологий, включая канцерогенез. Не вызывает сомнения то, что во многих случаях биохимический полиморфизм белков человека обусловлен генетическими причинами [по 1–3, 15]. Ещё на ранних стадиях изучения изоферментов выяснилось, что их формирование происходит из продуктов экспрессии разных, но близко родственных генов. Затем существование подобных родственных генов было показано для гемоглобинов и для многих других неферментных белков. С накоплением экспериментальных данных стало очевидным: множественность генов или полилокусность представляет собой один из наиболее общих механизмов формирования биохимического полиморфизма белков [2–4]. В ходе работы по проекту «Геном человека» и после его завершения было установлено, что у человека за счёт феномена дупликации генов сформировались тысячи групп близкородственных генов, которые кодируют белки, имеющие значительное структурное сходство (например, сходные или идентичные домены) [8, 9]. Считается, что указанное сходство отражает общность эволюционного происхождения; такие гены объединяют в особые генные семейства, а их продукты – в соответствующие белковые семейства [9, 16–18].

С развитием ДНК-технологий появился целый поток работ, направленных на изучение различных видов ДНК-полиморфизма в генах и, в частности, однонуклеотидных замен (SNP's, single nucleotide polymorphisms). В геноме человека их число уже превысило десять миллионов [19, 20]. Установлено, что определенные (так называемые несинонимичные) SNP's в экзонах генов, и некоторые другие виды ДНК-полиморфизма также являются прямой генетической причиной биохимического полиморфизма белков (полиаллелизм). В самом общем виде генетическая изменчивость (вариабельность ДНК – последовательностей) может проявляться как в образовании качественно разных изоформ, так и в изменениях их количественных соотношений вплоть до полного отсутствия отдельных изоформ [2, 21, 22]. Подобная изменчивость часто становится причиной патологии или возникновения предрасположенности к определенным заболеваниям [19, 22]. Однако известны и такие случаи ДНК-полиморфизма, когда полное блокирование образования отдельного белка не ведёт к разви-

тию какого-либо заболевания (например, отсутствие  $\alpha$ -актина 3, обусловленного появлением преждевременного стоп-кодона [23]).

Изучение второй группы механизмов биохимического полиморфизма белков было связано с так называемой биологической миниреволюцией восьмидесятых годов, которая ознаменовалась открытием экзон-интронного строения генов у эукариотв. В этот период и далее, с началом работ по геномным проектам были выявлены феномены сплайсинга транскриптов, а также альтернативного сплайсинга и ряда других неканонических механизмов реализации генетической информации [2, 3, 24]. В 80–ых годах XX века было убедительно показано, что при экспрессии отдельных генов происходит образование не одного, а целого ряда белковых продуктов, имеющих сходные функции, но существенно различающихся по строению [25, 26]. Альтернативный сплайсинг стал рассматриваться в качестве одного из важнейших механизмов, функционирующих на уровне транскриптов и обеспечивающего формирование определенных наборов белков – продуктов экспрессии отдельных генов, т.е. белковый полиморфизм.

Было предпринято несколько попыток оценить в общем виде значение альтернативного сплайсинга при реализации геномной информации человека. Так, Миронов, Файкетт и Гельфанд в 1999 г. сообщили, что около 35% всех идентифицированных генов могут экспрессироваться с альтернативным сплайсингом [27]. В 2001 г. появились сведения, позволяющие предполагать альтернативный сплайсинг у 42 % генов человека [28]. В 2005 г. Ли и Ванг [29] отметили вероятность альтернативного сплайсинга уже у 80% всех генов. Параллельно с этим было установлено, что многие альтернативные транскрипты быстро разрушаются и не используются в качестве матриц для белкового синтеза [30], и наконец, результаты опубликованного в 2009 г. сравнительного изучения структур геномов пяти эукариотических организмов показали, что с альтернативным сплайсингом осуществляется экспрессия, как минимум, у 15% генов человека [31].

Значительную роль в формировании белкового полиморфизма играют также альтернативные промоторы, которые были обнаружены у 58% так называемых транскрипционных единиц, кодирующих белки [32] (например, имеется сообщение о существовании альтернативных промоторов в гене ГР [33]). Обеспечивая образование нескольких разных транскриптов при экспрессии единичных генов, данный молекулярный механизм вносит существенный вклад в обеспечение не только процессов нормального развития, но и в некоторые формы

патологии. Так, установлено, что по два промотора имеют гены, кодирующие белки p63 и p73, которые известны как важные участники процессов апоптоза и канцерогенеза, и относящиеся к семейству белка p53 – основного супрессора опухолевого роста [34].

Ещё одним механизмом, реализующимся на уровне транскриптов, является феномен, известный под названием – «редактирование мРНК» [2, 35, 36]. В конце XX века накопилось уже достаточно много данных о том, что «редактирование мРНК» распространено у различных простейших, дрожжей, червей, насекомых и в митохондриях высших эукариот [36]. В частности, у человека этот феномен детально изучен на примере экспрессии гена аполипопротеина В100 (апо-В100). Основным продуктом данного гена является один из весьма крупных белков – апо-В100 с Мм 549 кДа. Было обнаружено также, что в липопротеинах крови содержится и другой иммунологически родственный белок, получивший название «апо-В48» с Мм 264 кДа. Причиной синтеза укороченной цепи апо-В48 оказалась единичная замена нуклеотида в 2153 кодоне, превращающая кодон глутамина в сигнал терминации [37]. Образование преждевременного стоп-кодона стало результатом дезаминирования цитидинового основания в позиции 6666 мРНК апоВ, после чего в указанной позиции появляется уридиновое основание [38, 39]. Параллельно с этим удалось обнаружить фермент, катализирующий данную реакцию, который получил название сайт-специфическая цитидиндезаминаза. Этот фермент проявлял свою активность, вызывающую редактирование мРНК апоВ, находясь в составе особого мультиферментного комплекса – Ц/У эдитосомы [39].

В редактировании мРНК принимают также участие сайт-специфические аденозиндезаминазы, обеспечивающие превращение определенных остатков аденина в инозин («A-to-I») [40]. В «постгеномный период» анализ транскриптома человека привел некоторых авторов к заключению о том, что у большинства образующихся РНК имеются сайты, предназначенные для того, чтобы соответствующие транскрипты могли подвергаться редактированию сайт-специфическими аденозиндезаминазами [41]. Важно отметить, что уже имеются данные, указывающие на то, что с помощью механизма редактирования РНК могут появляться инвазивность и другие признаки злокачественного роста у некоторых опухолевых клеток, в частности РПЖ [42, 43]. Так, Мартинец и др. [43] показали, что в клетках культивируемых линий РПЖ повышены уровни ферментов редактирования «A-to-I». Кроме того, они выявили сайты редактирования в транскрипте гена рецептора андрогенов и обнаружили присутствие РНК с соответствующими нуклеотидными заменами.

В целом, результаты транскриптомных исследований свидетельствуют о существовании ряда механизмов, которые функционируют на уровне РНК и обеспечивают выраженный полиморфизм белков. Убедительные доводы в пользу этого заключения приведены Карнини и др. [44]. Эти авторы показали, что из имеющихся в геноме человека 32129 так называемых открытых рамок считывания для кодирования белков только 8365 (т.е. 26%) обеспечивают образование двух или более родственных белков.

В формировании биохимического полиморфизма белков весьма значительный вклад вносит заключительная (постсинтетическая) стадия в реализации генетической информации. Эта стадия включает ряд процессов, происходящих с синтезированными полипептидными цепями, в результате чего образуются функционально активные белковые продукты [1, 2, 25]. Выявлено множество механизмов, с помощью которых на данной стадии изменяется структура вновь синтезированных полипептидных цепей. Эти механизмы, связанные или с разрушением пептидных связей или с образованием новых ковалентных связей, определяют как посттрансляционные или постсинтетические модификации. Кроме того, на постсинтетической стадии известны механизмы, реализуемые и без изменений ковалентных связей, но необходимые для формирования адекватной функциональной активности у вновь синтезированных белковых продуктов. Например, уже достаточно давно известно, что у ряда ферментов важной или даже необходимой стадией для функционирования (и адекватного регулирования функциональной активности) становится образование гомо- или гетероолигомеров [1, 2, 45, 46]. Аналогичные данные получены и для неферментных белков [47]. В частности, у некоторых участников системы ГР человека также выявлены и активно изучаются механизмы, приводящие к димеризации (и другим формам олигомеризации) [4]. Обсуждается и вероятность образования структурно-функционального биохимического полиморфизма у отдельных белков за счет различий при прохождении фолдинга [48, 49].

Механизмам формирования изоформ белков человека за счет различных посттрансляционных модификаций посвящены уже тысячи экспериментальных работ и сотни обзоров. Среди них, в первую очередь, следует отметить несколько типов модификаций N-концевых аминокислотных последовательностей, идентифицированных у множества белков человека [50]. К ним относят удаление N-концевого метионина с помощью специальных аминопептидаз, N- $\alpha$ -ацетилирование, присоединение некоторых других жирных кислот (миристиновой, пальмитиновой и др.) и т.п. Ацилирование жирными кис-

лотами встречается и у других аминокислотных остатков. Совместное использование данных протеомных исследований и биоинформатики позволило разработать специальные программы для выявления (предсказания) указанных модификаций в самых разных белках, информация о которых включена в геномные базы данных [51].

Особенно широкое распространение среди модификаций белков имеют различные типы ограниченного и сайт-специфичного протеолиза, для чего в геноме человека имеются гены, кодирующие около 600 соответствующих ферментов [52]. Были получены и продолжают накапливаться данные, свидетельствующие о многообразии функций этих модификаций в различных физиологических и патологических процессах, например при апоптозе и канцерогенезе [52, 53].

Обнаружение в первичной структуре некоторых белковых продуктов трансляции особых участков, удаляемых затем посттрансляционным сайт-специфичным протеолизом, предоставило ещё один интересный пример «неменделевской» белковой изменчивости и определило новый фронт исследований механизмов белкового полиморфизма [54]. Важной особенностью этого механизма оказалось то, что после протеолитического вырезания удаляемого участка происходит сшивание между собой оставшихся фрагментов. По аналогии со сплайсингом транскриптов данный механизм был назван белковым сплайсингом, удаляемые участки – интронами (от protein «introns»), а сшиваемые фрагменты – экстеинами [54, 55].

Таким образом, биохимический полиморфизм белков проявляется, во-первых, в существовании (у разных индивидов или у одного и того же индивида) родственных белков, различающихся по структуре, но предназначенных для выполнения сходных молекулярных функций (структурный или качественный полиморфизм). Во-вторых, к проявлениям такого полиморфизма можно отнести стойкие изменения у разных индивидов как в количественном содержании определенных белков (вплоть до полного их отсутствия), так и в их функциональной активности (вплоть до полного отсутствия таковой). Количественный полиморфизм так же может быть обусловлен разными причинами, включая генетические изменения как, например, SNP's в соответствующих генах. В-третьих: поскольку многие белки осуществляют свои функции в виде олигомеров с характерной четвертичной структурой, а также в составе различных надмолекулярных комплексов, то биохимический полиморфизм может быть обусловлен и тем, что у разных особей одного вида для выполнения одной и той же молекулярной функции образуются различающиеся по строению белковые олигомеры или



Рис. 1. Основные механизмы, обеспечивающие биохимический полиморфизм белков.

иные комплексы. Причём эффективность функционирования таких полиморфных белковых структур может быть практически одинаковой, а может и различаться – вплоть до полной потери функциональной активности.

В целом, формирование биохимического полиморфизма белков обеспечивается существенно отличающимися механизмами, которые проявляются на трех основных уровнях (рис. 1): на уровне структур генома и генов; при транскрипции и созревании транскриптов; при постсинтетическом формировании функционально активных белковых продуктов генной экспрессии. Результатом этих сложных процессов является создание функционально связанных, но разных по строению белковых ансамблей, работающих в специализированных тканях и органах многоклеточных организмов.



### III. ОБЩИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ ГОРМОНА РОСТА ЧЕЛОВЕКА И ПРОЯВЛЕНИЯ ИХ БИОХИМИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА

Известно, что ГР и целый ряд других белков (прямо или косвенно необходимых для его функционирования) обеспечивают разнообразные молекулярные и клеточные эффекты, приводящие, в конечном счёте, к развитию и росту организма [22, 56, 57]. Эти белки составляют своеобразную ось («axis») или систему, которая запускает и контролирует совокупность метаболических процессов, ведущих к росту и связанных с клеточной дифференцировкой [56–58]. Система ГР распространяет своё действие, как на стволовые клетки [59], так и на клетки с самыми разными типами дифференцировки [60], в частности, на клетки тканей простаты [61]. Нарушения работы системы ГР нередко становятся причинами тяжелой наследственной патологии [22, 56] или вовлекаются в патогенез многих заболеваний, включая онкологические [58, 61, 62].

Функционирование системы ГР представляется в виде целого ряда последовательных молекулярных процессов, в которых принимают участие десятки других белков/пептидов. Компоненты этой системы участвуют в запуске секреции ГР, его транспорте в кровотоке, в передаче гормонального сигнала в клетке – мишени (внутриклеточный сигналинг) и, наконец, в целенаправленных изменениях генной экспрессии в клетках – мишенях [22, 56, 63, 64] (рис. 2).

В целом, как видно из рис. 2, в системе ГР выделяют две ветви – «основную» и «боковую» или «дополнительную», а также три специальных регуляторных звена, обусловленных действием: (1) соматолиберина (гипоталамический релизинг-фактор ГР или соматокрин, GHRH); (2) соматостатина (SST, SRIF); (3) грелина («ghrelin», GHRL). Важно отметить, что каждое из этих регуляторных звеньев представляет собой целую цепь молекулярных событий, влияющих на секрецию ГР [64, 65].

Боковая ветвь является одним из результатов воздействия ГР на многие клетки – мишени, ответ которых приводит к синтезу и секреции гормоноподобного белка, получившего название инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) [22, 56, 67]. Ряд авторов, подчеркивая данное обстоятельство, включают в название системы указание на участие в ней ИФР-1 – система или ось ГР/ИФР (GH/IGF axis). Вместе с тем не исключается возможность и независимой от ГР продукции ИФР-1, который может играть самостоятельную роль в регуляции клеточной пролиферации [56, 67, 68]. В частности, имеются

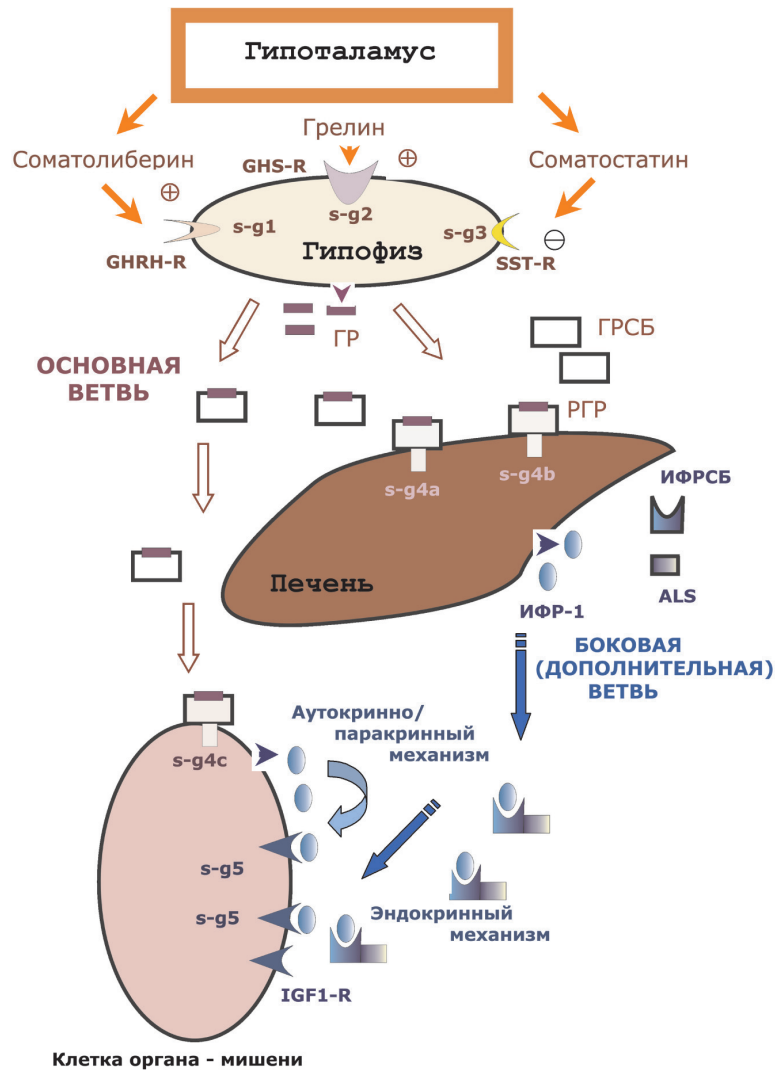


Рис. 2. Схема функционирования системы ГР/ИФР (по Ле Ройс и др. [56] и Холт, Сёнксен [64]).

Обозначения: ГР – гормон роста; ГРСБ – гормон роста связывающий белок; РГР – рецептор гормона роста; ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста 1; ИФРСБ – белки, связывающие инсулиноподобный фактор роста; GHRH-R – рецептор соматолиберина; GHS-R – рецептор грелина; SST-R – рецепторы соматостатина; ALS – кислото-лабильная субъединица; IGF1-R – рецептор ИФР-1; s-g1-5 – механизмы сигналинга, запускаемые различными видами активированных рецепторов (1–5).

публикации о пациентах с таким дефицитом ГР, что определить его присутствие в сыворотке крови не удавалось даже после применения различных способов стимуляции, тогда как ИФР-1 регистрировался на достаточно высоком уровне, также как и несколько других участников системы ГР/ИФР [69].

#### БЕЛКИ ОСНОВНОЙ ВЕТВИ

Центральной фигурой в системе ГР/ИФР, естественно, считают сам ГР, который продуцируют высокодифференцированные соматотрофные клетки гипофиза. Синтез ГР обеспечивает ген *GH* (или *GHI*, единственный в гапloidном наборе) Указанный ген локализован на хромосоме 17. При этом установлено, что он входит в кластер из 5 родственных генов, располагающийся на сравнительно коротком участке полинуклеотидной последовательности [70]. Среди генов данного кластера наиболее близок по строению к *GHI* ген *GHV* [4, 22], который иногда даже обозначают как *GH2* (например, запись 139240 в OMIM NCBI). В прошлом веке считалось, что у здоровых людей экспрессия гена *GHV* и трех остальных генов данного кластера (*CSL*, *CSA*, *CSB*) осуществляется практически только в клетках плаценты [70]. Однако к настоящему времени появились данные о том, что, по крайней мере, некоторые из отмеченных четырех генов могут экспрессироваться в раковых клетках [71]. Таким образом, полилокусность может вносить свой вклад в биохимический полиморфизм ГР.

О роли полиаллелизма свидетельствует то, что в гене *GHI* обнаружено 130 SNP's, из которых 18 располагаются в кодирующих областях, а среди последних – 11 SNP's являются несинонимичными (SNP NCBI). Исследования ряда популяций на встречаемость SNP's в гене *GHI*, ведутся во многих странах. В частности, недавно группой испанских авторов [72] были детально изучены 25 таких SNP's (редкий аллель которых характеризовался частотой встречаемости более 1%) на представительной выборке здоровых взрослых лиц обоего пола с нормальными ростовыми характеристиками (n = 307). Однако при этом оказалось, что у лиц с некоторыми генотипами регистрируется достоверное снижение роста, а у других – увеличение.

Экспрессия гена *GHI* происходит с альтернативным сплайсингом, в результате которого образуются два – четыре, различающихся по длине транскрипта [13, 73, 74]. Имеются также сообщения ещё об одном резко укороченном транскрипте (изоформа или вариант 5), в котором отсутствует большая часть последовательности ГР (участки, соответствующие экзонам 2, 3 и 4) [75, NP\_072056 NCBI]. В обобщенном виде на рис. 3 представлена схема пяти транскриптов гена *GHI* человека по материалам базы данных Gene NCBI.

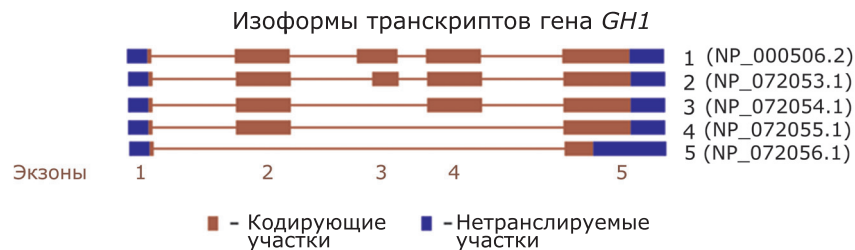


Рис. 3. Пять транскриптов гена *GHI* человека по материалам базы данных Gene

Результатом альтернативного сплайсинга и ряда других механизмов (включая различные виды постсинтетических модификаций) становится существование множественности белковых продуктов гена *GHI*, обнаруженных ещё в 80-ых годах XX века и активно изучающихся в последующие годы вплоть до настоящего времени [4, 13, 22, 75, 76]. По данным иммуноферментного анализа среди изоформ ГР, выявляемых в кровотоке, около 70–75% приходится на белок с Мм 22 кДа и эту изоформу считают основной; 5–10% представлено белком с Мм 20 кДа, который является продуктом трансляции одного из альтернативных транскриптов гена *GHI* [4, 64, 76]. Остальной материал распределяется в основном между димерной и олигомерной фракциями, в составе которых имеются соответствующие агрегаты, образованные как за счет ковалентных связей, так и за счет слабых (нековалентных) взаимодействий. В небольших количествах были обнаружены изоформы с отдельными дезамидированными а.о. (Q137→E, 152N→D), а также гликозилированные изоформы [77, 78] и белковые продукты других альтернативных транскриптов. Интересно, что был выявлен даже белковый продукт резко укороченного транскрипта (изоформа или вариант 5). Этот продукт (с Мм 5 кДа) состоит из 43 а.о., соответствующих N-концевому фрагменту основной изоформы ГР и проявляет инсулиноподобную функциональную активность [74]. Аминокислотные последовательности белковых продуктов, получаемых при трансляции пяти транскриптов гена *GHI*, приведены в записи P01241 Swiss-Prot.

Основная изоформа ГР, состоящая из 191 а.о., образуется из более крупного белка-предшественника (217 а.о.), т.е. является результатом ограниченного протеолиза. К важным видам постсинтетических модификаций основной изоформы ГР помимо отмеченных выше относят также образование двух дисульфидных связей и фосфорилирование по двум остаткам серина [P01241 Swiss-Prot].

Количественная вариабельность в содержании различных изоформ ГР в крови имеет важное значение для проявлений биологической активности и играет значительную роль при старении и разных формах патологии, включая злокачественные опухоли [79, 80]. Для основной изоформы ГР определен период полужизни в крови – около 13 мин [81]. При таком быстром выведении гормона принципиальное значение для функционирования всей системы ГР/ИФР приобретает регуляция секреции ГР.

Одним из стимуляторов секреции ГР является соматолиберин (рис. 2). Он состоит из 44 а.о. [65, 82] и кодируется в виде препропептида геном *GHRH*, в котором обнаружено 73 SNP's (SNP NCBI) Экспрессия гена *GHRH* идет с альтернативным сплайсингом, благодаря чему образуются две изоформы препропептида. Однако последующий процессинг, включающий удаление N-концевых и C-концевой последовательностей, приводит к образованию одного и того же функционально активного фактора [P01286 Swiss-Prot]. Основное место продукции соматолиберина – гипоталамус, хотя имеются данные и об экспрессии гена *GHRH* в клетках тонкого кишечника, иммунной системы и плаценте, а также некоторых опухолей [65, 83, 84]. Эктопическая продукция соматолиберина может привести к повышению его уровня в крови и развитию акромегалии [84].

Биологические эффекты соматолиберина (усиление анаболических процессов, синтез ГР, усиление секреции ГР и др.) достигаются благодаря взаимодействию этого пептида со специфичным мембранным рецептором (GHRH-R), который кодируется геном *GHRHR* [85, Q02643 Swiss-Prot]. В гене *GHRHR* обнаружено 242 SNP's, из них 10 в экзонах и 6 несинонимичных [SNP NCBI]; известно также не менее 7 мутаций в этом гене, которые приводят к различным видам дефицита ГР [139191 OMIM NCBI]. Экспрессия гена *GHRHR* происходит с альтернативным сплайсингом, что обеспечивает появление как минимум двух транскриптов в соматотрофных клетках гипофиза – основных мишенях для соматолиберина [86 и по Gene NCBI]. Белковый продукт гена *GHRHR* сначала синтезируется в виде предшественника из 423 а.о., у которого в ходе постсинтетических модификаций удаляется N-концевой сигнальный пептид из 22 а.о. и происходит N-гликозилирование. В структуре зрелого GHRH-R выделяют 7 трансмембранных доменов и участок для взаимодействия с G-белками [Q02643 Swiss-Prot]. Предполагается, что также возможно образование укороченной изоформы GHRH-R (изоформа b), которая синтезируется при трансляции альтернативного сплайсинг-варианта транскрипта, способного кодировать полипептидную цепь из 337 а.о. [86, NP\_001009824 NCBI].

Связывание соматолиберина с GHRH-R ведет к активации в клетках – мишенях аденилатциклазы и повышению уровня цАМФ [85, 87, 88]. Важную роль в этом механизме придают С-концевой части молекулы GHRH-R и её взаимодействию с G-белками. Установлено, что для регуляции процесса сигналинга, запускаемого через цАМФ, важное значение имеют фосфодиэстеразы, которые, осуществляя гидролиз этого вторичного мессенджера, способны выступать в роли факторов, блокирующих такой сигналинг. Обнаружен уже целый ряд изоформ фосфодиэстераз (сгруппированных в 11 семейств), причем установлено, что их появление обусловлено полилокусностью, альтернативным сплайсингом, альтернативными промоторами и другими механизмами, формирующими биохимический полиморфизм белков [89]. Подробнее данные о полиморфизме фосфодиэстераз, присутствующих в клетках простаты и связанных с сигналингом гормонов системы ГР/ИФР, будут рассмотрены в разделе V.

Другой природный пептидный активатор секреции ГР был обнаружен в 1999 г. Коджима и др. [90], которые изучали механизм действия малых синтетических молекул (названных «growth-hormone secretagogues», GHSs), способных стимулировать выход ГР из самототрофных клеток и взаимодействующих со специальным мембранным рецептором, обозначенным GHS-R (отличным от GHRHR). Проводя поиск естественного лиганда для GHS-R, эти авторы выделили из желудка крыс и идентифицировали, как природный гормон регулятор секреции ГР, полипептид, состоящий из 28 а.о. Обнаруженный пептид получил название «грелин» («ghrelin»), как указывают авторы от корневого слова – «ghre» с учетом его способности к высвобождению ГР – **g**rowth **h**ormone **r**elease) [90, 91].

Грелин человека синтезируется сначала в составе препробелка, который кодируется геном *GHRL* [605353 OMIM NCBI]. Последующий сайт-специфичный и ограниченный протеолиз приводят к образованию из этого белка двух продуктов – грелина и обестатина (obestatin), функционирование последнего, по-видимому, не связано с ГР/ИФР системой [92]. В гене *GHRL* найдено 74 SNP's, из которых только один (несинонимичный) оказался в экзонной последовательности. При экспрессии гена *GHRL* используются альтернативные промоторы и происходит альтернативный сплайсинг. При этом образуется несколько транскриптов, часть из которых, по-видимому, не транслируется [по GENE NCBI].

Способность к синтезу грелина выявлена не только у клеток желудка, но и у клеток разных отделов мозга, а также некоторых других органов и у многих опухолевых клеток, включая РПЖ [91,

93–95]. Для приобретения функциональной активности грелина необходимы постсинтетические модификации [91, 95]. В частности, к таким модификациям относят ацелирование остатка Ser3 октановой кислотой, которое происходит в тканях желудка. Установлено, что в крови присутствует несколько изоформ грелина и, что этот гормон влияет на клеточную пролиферацию [91, 94, 95].

При функционировании грелин взаимодействует с особым рецептором (GHS-R), в результате чего (при участии G-белков) стимулируется фосфолипаза C и повышается содержание внутриклеточного  $Ca^{+2}$  [по 91]. Рецептор грелина кодируется геном *GHSR* (локализованном на участке 3q26.31). При его экспрессии за счет альтернативного сплайсинга образуется, как минимум, два транскрипта. Один из них (изоформа 1a) обеспечивает синтез полипептидной цепи из 366 а.о., выполняющей рецепторную функцию [GENE NCBI; Q92847 Swiss-Prot]. Известно также, что располагающийся экстраклеточно N-концевой участок рецептора гликозилируется. GHS-R обнаружен не только в соматотрофных клетках гипофиза, но и в клетках гипоталамуса, гипокампа и некоторых других отделах мозга, а также в клетках желудка, тонкого кишечника, почек, плаценты и некоторых опухолей [по 91, 94, 95].

С 70-ых годов XX века известно, что в гипоталамусе синтезируется полипептидный гормон соматостатин (Growth hormone release-inhibiting factor, SST, SRIF) способный тормозить секрецию ГР и, соответственно, являющийся антагонистом соматолиберина и грелина [по 96]. Ген соматостатина *SST* кодирует полипептидную цепь из 116 а.о., представляющую собой препробелок, который подвергается постсинтетическим модификациям, в результате чего из его C-концевой части альтернативно образуются два функционально активных пептида, состоящие или из 28 а.о. (соматостатин-28) или из 14 а.о. (соматостатин-14) [97, P61278 Swiss-Prot]. Активные изоформы соматостатина циркулируют в кровотоке [96, 97]. Работами многих авторов показано, что соматостатин не только ингибирует секрецию ГР, но выполняет и ряд других функций как в нервной системе, так и в периферических тканях, в частности, влияя на клеточную пролиферацию в норме и при раке [96, 98].

Рецепторы соматостатина объединены в особое семейство белков, насчитывающее шесть членов. Эти мембранные белки, присутствующие в клетках с разными типами дифференцировки [96, 98, 99], кодируются пятью генами *SSTR1* – *SSTR5* с разным экзон-интронным строением и расположенными на разных хромосомах [GENE NCBI]. Среди них наиболее изученным является ген *SSTR2*, в

котором обнаружено 130 SNP's, из них только четыре в экзонах (три – несинонимичные, по SNP NCBI). Экспрессия *SSTR2* идет с альтернативным сплайсингом и образованием двух изоформ – *SSTR2A* (369 а.о.) и *SSTR2B* (356 а.о.), которые подвергаются постсинтетическим модификациям, включающим гликозилирование N-концевого экстраклеточного домена и ацилирование пальмитиновой кислотой C-концевого цитоплазматического домена [99, P30874 Swiss-Prot]. Функционирование рецепторов соматостатина происходит при взаимодействии с G-белками и приводит к образованию цАМФ, а также к запуску других видов сигналинга [96, 98]. Соответственно, биохимический полиморфизм всех участников процессов сигналинга вносит дополнительный вклад в разнообразие проявлений биологических эффектов соматостатина и, как следствие, всей ГР/ИФР системы.

При реализации биологических эффектов ГР по основной ветви особое значение принадлежит нескольким белковым продуктам одного гена, получившего название – ген рецептора гормона роста (ген *GHR*). Этот ген и его продукты к настоящему времени достаточно хорошо изучены [22, 56, 100, 101].

Во-первых, установлено, что ген *GHR*, направляет синтез трансмембранного белка и именно этот полноразмерный продукт (зрелый белок – 620 а.о.; предшественник – 638 а.о.), образуя функционально активный димер, выполняет роль рецептора ГР (РГР) [22, 100].

Во-вторых, известно, что при экспрессии гена *GHR* за счет альтернативного сплайсинга может удаляться 26 нуклеотидов в экзоне 9, вследствие чего в позиции 280 появляется стоп-кодон. В результате образуется укороченный белок РГР (*GHRtr* или *GHR1-279*), у которого отсутствует 97,5% внутриклеточного домена [101]. Известны ещё два продукта альтернативного сплайсинга гена *GHR*, один из которых возникает при вырезании экзона 3 (*GHRd3*), а другой (*GHR1-277*) – из-за использования альтернативного акцепторного сайта у экзона 9 [102]. Физиологическое значение этих продуктов пока остается предметом дискуссии.

В-третьих, показано, что у человека и из основного *GHR*, и из *GHRtr* в результате ограниченного протеолиза после удаления сигнального пептида отщепляется большой фрагмент последовательности (экстраклеточный домен), который поступает в кровоток и функционирует как специальный транспортер и стабилизатор ГР. Данный продукт получил название «ГРСБ» – белок, связывающий ГР [22, 56]. Имеются данные, что *GHRtr* наиболее эффективно процессируется в ГРСБ [103].



Кроме того, известно, что в ходе постсинтетических модификаций происходит выраженное гликозилирование GHR (по пяти аминокислотным остаткам – в N-концевом экстраклеточном участке) и образование трех внутримолекулярных дисульфидных связей [P10912 Swiss-Prot].

Присутствие РГР (при разной выраженности синтеза и с разным содержанием отдельных изоформ) зарегистрировано в большинстве обследованных клеток человека, благодаря чему мишенями для гормона роста являются различные ткани внутренних органов, включая ПЖ [22, 56].

РГР, выступая в качестве посредника при передаче сигнала от ГР внутрь клеток, активирует в первую очередь тирозиновую протеинкиназу JAK2 [22, 56]. Этот фермент относят к протеинкиназному семейству JAK (family **J**anus **K**inase), члены которого имеют в своей структуре по два очень похожих домена, причем один из них обладает каталитической активностью, а другой – является псевдокаталитическим. Указанная особенность послужила основанием для использования имени двуликого бога Януса в названии этих ферментов [104]. В гене *JAK2* обнаружено 942 SNP's, включая 23 в экзонах, из которых 12 SNP's, являются несинонимичными, т.е. приводят к аминокислотным заменам, обеспечивая биохимический полиморфизм белкового продукта за счет полиаллелизма [SNP NCBI]. До настоящего времени нет никаких данных об альтернативном сплайсинге при экспрессии гена *JAK2*. Однако известно, что белковый продукт JAK2, состоящий из 1132 а.о., постсинтетически фосфорилируется и, более того, способен к автофосфорилированию [O60674 Swiss-Prot].

Фосфорилирование JAK2 сопровождается появлением у этого белка ферментативной активности, благодаря которой он инициирует несколько механизмов сигналинга. Во-первых, к механизмам сигналинга, запускаемым JAK2, относят фосфорилирование белков, принадлежащих семейству STAT и каскадные процессы, возникающие после этого [104, 105]. Семейство STAT человека представлено семью белками, имеющими высокую степень гомологии первичных структур и играющих важную роль в регуляции клеточной пролиферации [106]. Фосфорилированные STAT-белки (в частности, 1, 3, 5a и 5b) формируют димеры, способные проникать в клеточное ядро и взаимодействовать со специфичными последовательностями в ДНК, что приводит к активации транскрипции ряда определенных генов. Следствием этого становится усиление различных анаболических процессов в клетке. Наиболее важным для постнатального роста считают механизм, реализуемый с участием белков STAT5a/b [105].

Во-вторых, наряду с фосфорилированием STAT было обнаружено, что сигнал ГР, переданный в клетку через GHR, реализуется за счет фосфорилирования белков, известных как субстратные белки рецептора инсулина – IRS (insulin receptor substrate) [56, 107]. Эти белки (в частности, IRS-1 и IRS-2) способны ассоциировать с фосфатидилинозитол-3'-фосфат киназой, что приводит к запуску цепи событий, инициируемых не только ГР, но и ИФР-1 (см. ниже), а также рядом других регуляторных факторов [56, 108].

В-третьих, установлено, что к механизмам сигналинга, запускаемым через РГР и JAK2, относится активация митоген-активируемых протеинкиназ (MAP-киназ), которые, в свою очередь, обеспечивают ряд анаболических эффектов [56, 107, 109]. Охарактеризовано уже четыре вида каскадных реакций, инициируемых с помощью MAP-киназ, причём часть из них вовлечена в патогенез опухолевых и других распространенных заболеваний [109–111]. Известно ещё несколько важных проявлений действия РГР на клетку-мишень, в частности, усиление поступления в нее ионов  $Ca^{+2}$  из межклеточного пространства через специальный трансмембранный канал (voltage-dependent L-type) с последующим каскадом  $Ca$ -активируемых событий, а также активация фосфопротеинкиназы С (PKC) [56, 112].

В результате этих процессов сигналинга обеспечивается индукция целого спектра генов [56, 111], к которым относится и отмеченный выше ген, кодирующий ИФР-1, и ряд генов, связанных с канцерогенезом (в частности, *c-fos*, ингибитор сериновых протеиназ 2.1 (Spi2.1) и др.).

Таким образом, ГР через свою основную ветвь реализует весьма широкий спектр воздействий на клетки с самыми разными типами дифференцировки. Биохимический полиморфизм белков – участников этой ветви (обусловленный полилокусностью, полиаллелизмом, альтернативным сплайсингом, разнообразными постсинтеическими модификациями и др.) оказывает существенное влияние на итоговые биологические эффекты, создавая выраженное разнообразие протекающих физиологических и патологических процессов.

#### БЕЛКИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ВЕТВИ

Индукцируемый ГР синтез ИФР-1 был обнаружен в клетках печени, в мышцах и в ряде других тканей, включая ПЖ [13, 22, 56, 62, 63]. Согласно современным представлениям ИФР-1 функционирует в организме человека не только как ростовой фактор, но выступает и в качестве эндокринного агента, секретлируемого в кровотоки и участвующего в нормальных и патологических процессах многих клеток –

мишеней [13, 56, 57, 58]. Так, Ларон [113] предлагает рассматривать ИФР-1 как гормон, регулирующий рост. Имеются данные, что уровень сывороточного ИФР-1 коррелирует с росто-весовыми характеристиками у человека и некоторых других млекопитающих. Функционирование ИФР-1 обеспечивается целым рядом различных белков, которые многими авторами объединяются в отдельную ось («IGF-1 axis») или дополнительную ветвь в системе ГР/ИФР [56, 57, 58, 13].

Ген ИФР-1 (*IGF1*) изучается уже около 25 лет. В нем обнаружено 890 SNP's, из которых только 5 в экзонах, включая три несинонимичных, при этом только один SNP приводит к аминокислотной замене в конечном белковом продукте (67Ala → Thr в последовательности из 70 а.о.) [SNP NCBI, P01343–1 Swiss-Prot]. В гене *IGF1* найдено три вида мутаций, которые могут вызывать очень тяжелые врожденные пороки развития или протекать относительно мягко [147440 OMIM NCBI]. Работы в данном направлении продолжаются, и в 2009 г. описан ещё один вид мутаций [114], который резко нарушает у ИФР-1 способность связываться со своим рецептором IGF1–R (см. ниже).

Сравнение нуклеотидных последовательностей гена *IGF1* с генами двух родственных белков – инсулино-подобного фактора роста 2 (ИФР-2) и инсулина, а также данные о ряде общих черт в молекулярных механизмах функционирования этих белков [115] и биологических эффектах, включая влияние на метаболизм глюкозы [57], дали основание для заключения об их общем эволюционном происхождении [56, 115].

В 1989 г. Ротвейн и др. [116] описали структуру гена *IGF1*, в которой выделили пять экзонов. Однако позднее появились уточнения – был выявлен альтернативный промотор и ещё один экзон [117, 118]. На рис. 4 схематически показаны общие представления о структуре гена *IGF1* и его экспрессии с использованием альтернативных промоторов и проходящем альтернативном сплайсинге, что приводит к образованию нескольких изоформ транскриптов [по 117, 118 и GENE NCBI].

Считывание информации с изоформ ИФР-1–а и ИФР-1–b, приводит к образованию двух белков предшественников (препробелков), содержащих 153 а.о. и 195 а.о., которые подвергаются посттрансляционному процессингу (включающему протеолиз и образование трех дисульфидных связей), в результате чего образуется и секретируется в кровоток один и тот же конечный продукт из 70 а.о. [P01343 Swiss-Prot].

Изоформа мРНК ИФР-1–с дает иной конечный продукт, который состоит из 110 а.о. [по CAR81472 Protein NCBI] и содержит в своей

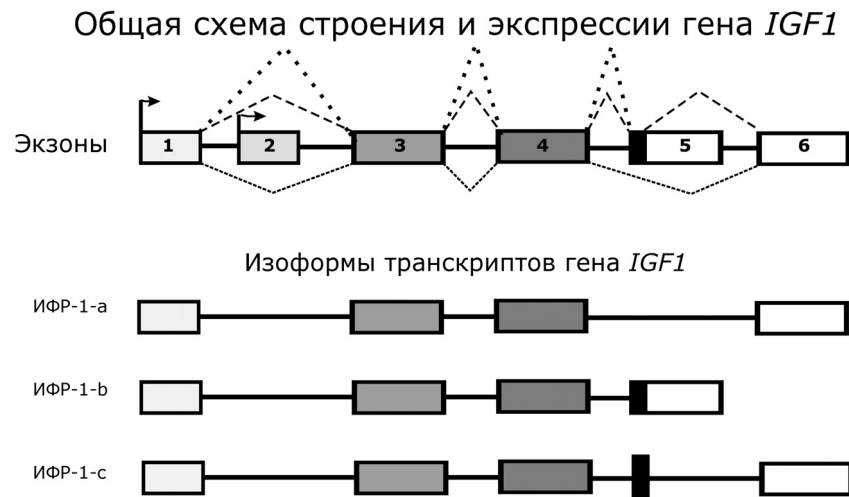


Рис. 4. Общая схема строения гена *IGF1* и продукты его экспрессии с использованием альтернативных промоторов и проходящем альтернативном сплайсинге (по Смит и др. [117], Хамид и др. [118] и GENE NCBI).

последовательности особый С-концевой участок, частично кодируемый альтернативно сплайсированным фрагментом интрона [118]. Указанный белковый продукт получил название «МGF» (mechanogrowth factor), поскольку было отмечено значительное усиление его синтеза в мышцах после интенсивных упражнений [118]. Физиологическое значение MGF, по-видимому, не ограничивается мышечными тканями, так, например, имеются данные о его защитном действии при ишемии клеток мозга [119].

Функционирование основной изоформы ИФР-1 (70 а.о.) происходит как по эндокринному так и по аутокринно/паракринному механизмам (рис. 2) [56, 113]. При этом значительная часть ИФР-1 секретируется в кровотоки и циркулирует в основном в комплексе со специфическими связывающими белками (ИФРСБ, insulin-like growth factor-binding proteins, IGFBP's) [120, 121]. У человека выявлено 6 ИФРСБ и показано, что эти белки обладают существенным структурным и функциональным сходством, составляя особое белковое семейство [120, 122], для всех членов этого семейства характерно наличие в первичной структуре двух консервативных доменов (N-концевого и С-концевого) с цистеин- и пролин-богатыми консенсусными последовательностями и относительно вариабельной средней области, а также способность с высокой аффинностью связывать

ИФР-1. При синтезе каждого из ИФРСБ сначала образуется белок – предшественник, затем происходит удаление сигнальных пептидов и конечный продукт попадает в кровоток. У четырех из 6 ИФРСБ выявлено постсинтетическое гликозилирование, а у трех – фосфорилирование [120, 123].

Основная часть циркулирующего ИФР-1 (~75–80%) обнаруживается в комплексе с ИФРСБ-3 и с так называемой кислото-лабильной субъединицей – «ALS» [122, 123]. Соответствующий ген (*IGFALS*) содержит 2 экзона; в его последовательности обнаружено 109 SNP's и несколько мутаций, приводящих к наследственной патологии. ALS представляет собой лейцин-богатый гликопротеин с Мм около 85 кДа. Комплекс ИФР-1 с ИФРСБ-3 и ALS характеризуется Мм 150 кДа и относительно большим для белков системы ГР/ИФР периодом жизни в кровотоке – около 12–16 часов. Уровень данного комплекса зависит от ГР и снижается при дефиците эндогенного ГР. При этом считается, что почти вся оставшаяся часть ИФР-1 находится в комплексе с другими белками и лишь ~1% ИФР-1 циркулирует в плазме в свободном состоянии [124].

Известно ещё девять белков у человека, обладающих отдаленным структурным сходством с ИФРСБ и способных связывать ИФР-1, но с существенно меньшей аффинностью [120]. Такие белки называют подобными ИФРСБ (*IGFBP-related proteins, IGFBP-rP's*). Разнообразие ИФРСБ и *IGFBP-rP's*, объединенных в одно суперсемейство, наглядно демонстрирует значимость белкового полиморфизма для системы ГР/ИФР.

ИФРСБ играют важную роль в физиологических процессах, связанных с клеточной пролиферацией и участвуют в патогенезе многих заболеваний, включая онкологические [119, 125]. Дальнейшее изучение полиморфизма белков, транспортирующих ИФР-1, позволит, очевидно, получить более детальные представления о регуляции многих анаболических процессов в организме человека.

Весьма разнообразные проявления биохимического полиморфизма обнаружены у мембранных рецепторов, способных узнавать ИФР-1 и осуществлять передачу в клетки-мишени сигнал от данного ростового фактора. Установлено, что главную рецепторную функцию в отношении ИФР-1 выполняет белковый продукт гена *IGF1R* [56, 113, 115, 123]. Этот ген рассматривается как представитель генного семейства, члены которого кодируют мембранные рецепторы, обладающие цитоплазматическим доменом с тирозинкиназной активностью [P08069 Swiss-Prot]. В гене *IGF1R* уже найдено более 3400 SNP's, из которых 86 оказалось в области экзонов, а среди них – 25

несинонимичных [SNP NCBI]. Последние, приводя к аминокислотным заменам, обеспечивают существенный вклад полиаллелизма в биохимический полиморфизм рецептора ИФР-1.

Экспрессия гена *IGF1R* регистрируется в клетках с самыми разными типами дифференцировки – от мышечных и печёночных до клеток плаценты [147370 OMIM NCBI]. Показана также экспрессия гена *IGF1R* в клетках простаты и в различных опухолях, при этом многие авторы отмечают непосредственную вовлечённость рецептора ИФР-1 в канцерогенез и некоторые другие виды патологии [126, 127].

Экспрессия гена *IGF1R* приводит к образованию белка-предшественника рецептора из 1367 а.о., который подвергается целому ряду постсинтетических модификаций [P08069 Swiss-Prot]. Во-первых, с помощью ограниченного и сайт-специфичного протеолиза белок-предшественник теряет сигнальный пептид (30 а.о.) и разрезается на две полипептидные цепи, которые превращаются затем в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы зрелого рецептора (706 и 627 а.о.). Во-вторых, происходит образование нескольких дисульфидных связей, обеспечивающих, в частности, соединение  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц между собой и формирование функционально активного рецептора как тетрамерного комплекса. В-третьих, многократное гликозилирование выявлено у экстраклеточных участков и  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц. Наконец, в процессе функционирования во внутриклеточном участке  $\beta$ -субъединицы зрелого рецептора ИФР-1 четыре остатка тирозина подвергаются автокаталитическому фосфорилированию; отмечено также фосфорилирование ещё одного остатка серина и одного – треонина. За последние десять лет построено несколько моделей доменной и трехмерной структурной организации рецептора ИФР-1 [126, 128, 129].

Наряду с перечисленным необходимо отметить, что существенную роль в биохимическом полиморфизме рецептора ИФР-1 играет его способность к образованию гетеротетрамеров весьма близких по строению к инсулиновым рецепторам [129, 130]. Такие гетеротетрамеры отличаются от гомотетрамеров по способности к связыванию ИФР-1. По некоторым данным они способны даже более эффективно связывать инсулин и родственный ИФР-2 [129, 130]. При этом наличие гетеротетрамеров (в разных количествах по отношению к гомотетрамерам) зарегистрировано в клетках разных органов и тканей [129, 130].

Процессы сигналинга, запускаемые активированным рецептором ИФР-1, изучаются уже не одно десятилетие. В результате многочисленных исследований выявлен целый ряд белков, вовлеченных в эти процессы и характеризующихся выраженным биохимическим полиморфизмом [56, 131]. Основными субстратами для ИФР-1Р считаются уже упоминавшиеся IRS белки [56, 112]. Обнаружено, как

минимум, четыре представителя этого белкового семейства, которые участвуют в реализации сигнала от ИФР-1, обеспечивая вклад полилокусности в биохимический полиморфизм этого процесса. Наиболее изученным участником среди них является IRS-1 [131], в гене которого, локализованного на участке q36 хромосомы 2, обнаружено только два экзона и 372 SNP's (38 cSNP's, из них 14 несинонимичных) [GENE SNP NCBI]. Кроме того, известны мутации в гене IRS1, вызывающие аминокислотные замены, которые ассоциированы с диабетом 2-го типа и/или с риском ранней атеросклеротической сердечно-сосудистой патологии [132, 147545 OMIM NCBI].

IRS-1 представляет собой полипептидную цепь из 1242 а.о., в структуре которой выделяют несколько доменов и особых мотивов с высоким содержанием остатков серина, глицина и пролина [P35568 Swiss-Prot]. Постсинтетическое фосфорилирование IRS-1, сопровождающееся связыванием со специальными адапторными белками (например, GRB2), можно рассматривать как одну из наиболее важных стадий в сигналинге, индуцированном ИФР-1 через ИФР-1Р. В результате этого возникает, в частности, цепь реакций, ведущих к образованию инозитол-3,4,5-трифосфата, одного из известных вторичных мессенджеров, который, в свою очередь, активирует особые серин/треонин киназы (RAC serine/threonine-protein kinase), обозначаемые в англоязычной литературе аббревиатурой АКТ по названию одного из онкогенов [112].

АКТ фосфорилируют ряд субстратов, включая белки, участвующие в синтезе белков и в транскрипции генов, что в итоге усиливает пролиферацию и жизнеспособность клеток [112, 133]. Наряду с этим, в результате действия АКТ отмечено также повышение транспорта глюкозы в клетки и ингибирование внутриклеточных протеиназ [133, 134]. У млекопитающих АКТ представлены тремя изоформами, которые детерминируются, соответственно, тремя разными генами. Среди них особо следует отметить АКТ1 – серин/треонин киназу (RAC-alpha serine/threonine-protein kinase), активно изучаемую в связи с проблемами рака [133], поскольку, по крайней мере, одну из аминокислотных замен в ней (17E→K) связывают с возникновением раковых опухолей различной локализации [135, 136].

Наряду с IRS белками активированный ИФР-1Р фосфорилирует и другую группу белков, известных как трансформирующие белки семейства SHC (Мм 46, 52 и 66 кДа). Структурной особенностью этих белков является наличие в С-концевом участке SH2-домена и глицин-, пролин-богатой области [56,137]. Указанные три белка рассматриваются как изоформы, поскольку они образуются за счёт альтернативного сплайсинга при экспрессии одного и того же гена

*SHC1*. Их присутствие зарегистрировано в клетках с самыми разными типами дифференцировки в цитоплазме и митохондриальном матриксе [137, P29353 Swiss-Prot]. Установлено, что после фосфорилирования, индуцированного ИФР-1Р, белки семейства SHC запускают каскад реакций, приводящих к активации клеточной пролиферации. Показана также их вовлечённость в процессы опухолевой трансформации клеток.

Несколько неожиданным по сравнению с отмеченными выше данными о механизмах сигналинга ИФР-1, реализующихся через фосфорилирование различных белков, явилось обнаружение активации этим фактором кальций-зависимой серин/треонин протеин фосфатазы 3, называемой также кальцинейрином (*calcineurin*) [112, 138, 139]. Этот фермент представляет собой гетеродимер, содержащий каталитическую субъединицу (А) с Мм около 60 кДа и регуляторную субъединицу (В или Са-связывающий белок) с Мм 19 кДа. В геноме человека обнаружено три гена, кодирующие субъединицу А (*PPP3CA, PPP3CB, PPP3CC* – 114105, 114106, 114107 OMIM NCBI, соответственно), которые содержат по несколько сотен SNP's. Полилокусность и полиаллелизм, а также с альтернативный сплайсинг при экспрессии этих генов обеспечивают выраженный биохимический полиморфизм кальцинейрина. Свой вклад в данное явление вносит и субъединица В, для которой хотя и имеется один ген, но в нём обнаружено более 500 SNP's и показан альтернативный сплайсинг при экспрессии (601302 OMIM NCBI).

Кальцинейрин гидролизует фосфоэфирные связи в молекулах транскрипционных факторов, известных под названием ядерные факторы активации Т клеток (NF-AT, nuclear factor of activated T cells). После этого NF-AT диффундируют в ядро клетки, взаимодействуют с определенными сайтами в ДНК и запускают экспрессию ряда генов. Реакции сигналинга, индуцируемые кальцинейрином, могут иметь отношение к развитию гипертрофий [138] и к патогенезу некоторых воспалительных заболеваний. В тоже время показано, что ингибиторы кальцинейрина стимулируют пролиферацию некоторых опухолевых клеток [139].

Таким образом, результаты многочисленных исследований белков, составляющих боковую ветвь системы ГР/ИФР человека, показали, что для них характерен биохимический полиморфизм (обусловленный самыми разными молекулярными механизмами), который непосредственно влияет на функционирование клеточных структур и клеточную пролиферацию.

Проявления биохимического полиморфизма у 10 важнейших участников системы ГР/ИФР человека обобщены в таблице.



Таблица.  
**Проявления биохимического полиморфизма у 10 участников системы гормона роста (ГР) / инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) человека по материалам баз данных NCBI и Swiss-prot [www.ncbi.nlm.nih.gov/ и www.exrasy.org]**

Основные изоформы белков или пептидов (синонимы)	Символы гена и номера в базах данных*	Некоторые родственные белки (кодирующие их гены) или принадлежность к семействам	Полиаллелизм, вызванный аминокислотными заменами**	Продукты (транскрипты) альтернативного сплайсинга	Полиморфизм, обусловленный постсинтетическими изменениями
1	2	3	4	5	6
Гормон роста, ГР (соматотропин)	<i>GHI</i> , AA98618, 139250, P01241	Плацентарный вариант гормона роста ( <i>GH2</i> или <i>GHV</i> )	11	5	О.П***, гликозилирование, фосфорилирование, образование агрегатов и др.
Соматоллиберин, (Growth hormone-releasing factor) активная форма из 44 а.о.	<i>GHRH</i> , AAH99727, 139190, P01286	Семейство глюкогона	3	2	О.П., амидирование лейци- на 75
Репептор соматоллиберина	<i>GHRHR</i> , NP 000814 (изоформа а), 139191, Q02643	Семейство рецепторов 2, взаимодействующих с G-белками	10	2	О.П., гликозилирование
Соматостатин, активные пептиды из 14 и 28 а.о.	<i>SST</i> , 182450, P61278	Семейство соматостатинов	2	Не найдено	О.П. с образованием альтернативных продуктов
Репептор соматостатина, изоформа 2	<i>SSTR2</i> , P30874	Репептор соматостатина, изоформа 1 ( <i>SSTR1</i> ) и ещё 4 члена семейства рецепторов соматоста- тина	3	2	Гликозилирование N-конце- вого экстраклеточного домена и ацилирование пальмитиновой кислотой C-концевого домена

Окончание табл. см. сл. стр.

Окончание табл.

1	2	3	4	5	6
Рецептор гормона роста – основная и укороченные изоформы, ГР-связывающий белок	<i>GHR</i> , EAW56023, 600946, P10912	Суперсемейство цитоклиновых рецепторов	21	4	О.П., включая образование ГР-связывающего белка у человека в результате отщепления экстраклеточного домена мембранного рецептора, гликозилирование, димеризация
Инсулиноподобный фактора роста 1 (соматомедин С)	<i>IGF1</i> , CAG46659, 147440, P01343	Инсулиноподобный фактор роста 2 и другие члены семейства инсулина	1	3	О.П.
Белок 3, связывающий инсулиноподобные факторы роста	<i>IGFBP3</i> , AA52706, 146732, P17936	Семейство белков, связывающих инсулиноподобные факторы	6	2	О.П., гликозилирование, фосфорилирование, олигомеризация с кислотолабильной субъединицей (ALS)
Рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 ( $\alpha$ и $\beta$ субъединицы)	<i>IGF1R</i> , P08069	Семейство тирозиновых протеинкиназ	25	Не найдено	О.П., гликозилирование, фосфорилирование, олигомеризация
Белок-субстрат рецептора инсулина 1	<i>IRS1</i> , NP_005535, 147545, P35568	Семейство белков – субстратов рецептора инсулина	11	Не найдено	Фосфорилирование

\* Номера даны в следующем порядке - NCBI Protein, OMIM и Swiss-Prot.

\*\* По базам данных SNP NCBI и Swiss-prot.

\*\* О.П. – ограниченный и/или сайт-специфичный протеолиз.

#### IV. ИЗОФОРМЫ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ ГОРМОНА РОСТА В КЛЕТКАХ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ РОСТЕ, РАЗВИТИИ И КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Предстательная железа, играющая важную роль в обеспечении репродуктивной функции, обладает сложной гистологической структурой. В ней сосуществуют клетки с разными типами дифференцировки, а также стволовые клетки, при чём и развитие ПЖ в онтогенезе, и её функционирование происходят под контролем многих эндокринных факторов [22, 56, 140]. Естественно, что среди эндокринных факторов, как в норме, так и при опухолевой патологии особое внимание уделяется андрогенным гормонам и их рецепторам [140, 141]. Однако, как отмечалось ранее, ряд авторов регистрировали в клетках простаты синтез многих белков, являющихся участниками системы ГР/ИФР. По-видимому, начало этому положили в 1987 г. Прието и Кармена [142], которые показали, что эпителиальные клетки простаты крысы способны эффективно связывать ГР, после чего было отмечено интенсивное поглощение лейцина этими клетками. Эти и ряд других результатов позволили авторам придти к заключению о присутствии рецептора ГР на мембранах эпителиальных клеток ПЖ. Из полученных данных следовал ещё один вывод о том, что ГР, непосредственно через РГР, регулирует анаболические процессы в клетках простаты. Все эти выводы нашли подтверждение во многих исследованиях, включая и выполненные на клетках ПЖ человека. Одной из самых обстоятельных работ по данному вопросу является статья Баллестерос и др. [143]. Авторы не только выявили в ПЖ три транскрипта гена *GHR* (известные изоформы мРНК), но и провели сопоставление их уровней в ПЖ с содержанием в целом ряде других тканей и в некоторых культивируемых клетках человека (печень, мышцы, жировая ткань, почки, фибробласты, лимфоциты и др.). Было показано, что наряду с основным, полноразмерным транскриптом гена *GHR* (*GHRf1*) в ПЖ образуются изоформы *GHR1–279* и *GHR1–277*, которые являются продуктами альтернативного сплайсинга и, по-видимому, играют особую роль в системе ГР/ИФР, как отмечалось выше. Более того, по данным Баллестерос и др. [143] соотношение изоформ этих транскриптов достаточно специфично варьирует в исследованных тканях и, вероятно, связано с клеточной дифференцировкой.

Экспрессия гена *GHR* была выявлена несколькими группами исследователей в различных клетках злокачественных опухолей ПЖ человека и модельных животных. [145]. К настоящему времени экспрессия гена *GHR* у человека убедительно доказана как в

биоптатах злокачественных и доброкачественных опухолей ПЖ, так и в клетках всех исследованных линий РПЖ [146, 147]. Так, в 2004 г. Вейсс-Мессер и др. [146] исследовали мРНК РГР в клетках доброкачественной гиперплазии ПЖ (ДГПЖ) и РПЖ (аденокарцинома), а также культурах клеток LNCaP, PC3 и DU145. Оказалось, что эта мРНК присутствует и в образцах тканей, и в культивируемых клетках, причём её уровень в тканях карциномы оказался на 80% выше чем в ДГПЖ. В 2009 г. появилось сообщение о том, что в клетках LNCaP ГР, этрадиол и трийодтиронин стимулируют образование разных изоформ транскриптов гена *GHR* [147]. Причём, если под действием ГР усиливается образование и *GHRf1*, и укороченной изоформы *GHR1–279*, то этрадиол и трийодтиронин стимулировали преимущественно синтез укороченной изоформы. Сделанные оценки уровня экспрессии гена *GHR* и наблюдающийся полиморфизм продуктов послужили основанием для заключения о том, что они могут стать мишенями для терапевтических агентов, направленных на уменьшение и/или предупреждение роста опухолей ПЖ человека

О несколько неожиданном результате изучения транскриптов некоторых генов, относящихся к системе ГР/ИФР в клеточных линиях PC3, DU145, LNCaP и ALVA41, сообщили Чопин и др. [148]. С помощью ПЦР в реальном времени они продемонстрировали наличие в этих клетках не только изоформ транскриптов гена *GHR*, но и мРНК ГР. Проведенное секвенирование показало, что последняя представлена продуктами экспрессии и гена *GHI* (гипофизарная изоформа) и гена *GH2* (или *GHV*, плацентарная изоформа). Важно отметить, что образование соответствующих белковых продуктов (ГР и РГР) было выявлено также и иммунохимическими методами. Эти данные позволяют предположить, что, по крайней мере, в раковых клетках ПЖ наряду с эндокринным возможно функционирование системы ГР/ИФР по аутокринно/паракринному механизму [148].

Высказанная гипотеза нашла подтверждение в другой работе той же группы австралийских исследователей, которым удалось детектировать мРНК для *GHRH* и *GHRH-R* в нескольких клеточных линиях РПЖ человека (DU145, LNCaP, PC3) [149]. При этом отмечалось, что антагонисты *GHRH* способны ингибировать рост опухолевых клеток ПЖ, по-видимому, путем блокирования *GHRH-R* и торможения функционирования системы ГР/ИФР по аутокринно/паракринному механизму. В 2005 г. основные выводы австралийских исследователей были подтверждены американскими авторами [150], которые выявили в клетках ПЖ не только основной транскрипт гена *GHRHR*, но и его изоформу (продукт альтернативного сплайсинга). Поскольку экспрессия гена *GHRHR* была также зарегистрирована в клетках рака легкого, Хавт и др. [150] пришли к заключению о том, что *GHRH* и *GHRH-R*

играют важную роль в патофизиологии злокачественных опухолей человека.

Ещё одним доводом, свидетельствующим о наличии у системы ГР/ИФР аутокринно/паракринного механизма при раке простаты, стали сведения цитированной выше группы австралийских исследователей о присутствии в четырёх клеточных линиях РПЖ транскриптов, кодирующих грелин и две изоформы рецептора грелина (1a, 1b) [151]. При этом для всех четырёх клеточных линий были получены положительные результаты иммунохимического анализа на грелин и изоформу 1a рецептора. Культивируемые клетки РС3 показали 33% усиление пролиферации в ответ на грелин. Параллельно с этим, при анализе кДНК библиотеки, полученной из нормальных клеток ПЖ человека, авторы обнаружили, что в нормальных клетках имеются только транскрипты *GHS-R1a*, а транскрипты грелина и изоформы 1b рецептора не выявлены. Таким образом, не исключено, что аутокринно/паракринный механизм у системы ГР/ИФР при раке простаты является достаточно специфичным следствием изменений генной экспрессии при канцерогенезе.

Близкие результаты, но детализирующие отдельные аспекты экспрессии генов *GHRL* и *GHSR* в культивируемых клетках РПЖ, а также в образцах тканей злокачественных и доброкачественных опухолей простаты, были опубликованы Кассони и др. [152]. Во всех образцах тканей с РПЖ и в половине образцов с ДГПЖ им удалось обнаружить транскрипты гена *GHRL*, хотя иммунохимический анализ нигде не показал образования белкового продукта. Далее, в клетках РС3 было подтверждено образование транскрипта грелина и его белкового продукта, однако в клетках DU145 и LNCaP ни соответствующих транскриптов, ни самого грелина найти не удалось. Одним из результатов изучения рецепторов грелина стало обнаружение мРНК изоформы *GHS-R1b* в 50% образцов с ДГПЖ, однако транскрипты гена *GHSR* не были выявлены в образцах тканей с РПЖ. В то же время в клетках DU145 были обнаружены транскрипты обеих изоформ рецептора грелина (1a, 1b), а поиск транскриптов гена *GHSR* в клетках РС3 и LNCaP не дал положительных результатов. При всём этом специфическое связывание меченого грелина регистрировалось как в образцах злокачественных и доброкачественных опухолей ПЖ, так и на мембранах культивируемых клеток, и не только DU145, но и РС3. Соответственно, авторы предположили, что при раке простаты возможно появление таких изоформ рецепторов для грелина, которые отличаются от известных *GHS-R1a* и 1b.

В 2008 г. отмеченные выше работы и целый ряд других публикаций были проанализированы в обзоре Ланфранко и др. [94]. Авторы пришли к заключению о важной роли при раке простаты (а также

и при других формах рака) грелина и его рецепторов, способных обеспечить аутокринно/паракринный механизм у системы ГР/ИФР. Более того, в 2009 г. было отмечено повышенное содержание грелина в сыворотке крови пациентов с РПЖ, что послужило основанием для предположения о вовлечённости этого гормона в процесс пролиферации опухолевых клеток [153].

Удивительно, но синтез и секреция соматостатина – третьего регуляторного гормона, влияющего на запуск системы ГР/ИФР, также были обнаружены в клетках РПЖ человека. В частности, в клетках линий РС-3 и LNCaP регистрируется транскрипт гена *SST*, а также и наблюдается секреция соматостатина в культуральную среду [154]. При этом, между уровнем секреции соматостатина и пролиферативной активностью, наблюдалась обратная пропорциональная зависимость. Сведения о присутствии в клетках РПЖ рецепторов соматостатина появились ещё в конце XX века [155], и в последующие годы изоформы этих белков активно изучались многими авторами. Иммунохимическими методами недавно было показано, что все пять известных изоформ рецепторов соматостатина определяются в клетках РПЖ, но их представленность существенно различается в отдельных клеточных субпопуляциях [156]. Сведения о присутствии соматостатина и его рецепторов в клетках РПЖ можно рассматривать как дополнительный довод о существовании как эндокринного, так и аутокринно/паракринного механизма у этих клеток для системы ГР/ИФР, а также и как подтверждение важного значения биохимического полиморфизма белков, обеспечивающих данный механизм.

Как отмечалось выше, в сигналинге положительных индукторов ГР – GHRH и грелина, а также при реализации тормозящего эффекта от соматостатина, имеется стадия образования цАМФ. В контроле же за уровнем этого вторичного мессенджера принимают участие фосфодиэстеразы, причём в клетках ПЖ человека присутствует более десятка изоформ фосфодиэстераз [89]. Соответственно, биохимический полиморфизм указанных ферментов также вносит свой вклад в функционирование системы ГР/ИФР.

Ряд белков, участвующих в боковой ветви системы ГР/ИФР, также был обнаружен в различных клетках ПЖ. Так, в 1993 г. Пиетржовски и др. [157] сообщили о том, что клеточные линии РС-3, DU 145 и LNCaP способны секретировать ИФР-1, а также синтезировать рецептор ИФР-1. Вскоре Кимура и др. [158] подтвердили, что в этих клеточных линиях присутствует рецептор ИФР-1, но имеются только следовые количества мРНК ИФР-1. Вместе с тем они показали образование ИФР-2 (фактора, родственного ИФР-1) и рецептора ИФР-2. Параллельно, в данной работе удалось выявить синтез нескольких

представителей семейства ИФРСБ. В итоге было сделано заключение о том, что изоформы различных участников боковой ветви системы ГР/ИФР могут играть важную роль при канцерогенезе в ПЖ. Позднее были представлены доказательства того, что различные клетки простаты продуцируют ИФР-1 [159, 160]. Это дало основание предполагать, что при опухолевом росте клеток ПЖ существуют как эндокринный, так и аутокринно/паракринный механизмы действия ИФР-1 (и/или ИФР-2) [160, 161].

Возможное эндокринное влияние ИФР-1 (и/или ИФР-2) на прогрессию РПЖ обсуждается уже много лет [162]. Важным доводом в пользу такого механизма считаются данные целого ряда авторов о повышении содержания ИФР-1 в крови больных РПЖ, однако известны и противоречащие этому выводу факты. В обзоре 2009 г. Роуландс и др. [121], проанализировав результаты более двух тысяч публикаций по этой проблеме за период от 1966 по 2007 г., пришли к заключению о существовании выраженной связи рака простаты с ИФР-1, и его слабой связи с ИФРСБЗ. Авторы отметили также, что лишь в сравнительно небольшом числе исследований при изучении риска РПЖ отмечалась значимость и других представителей семейства ИФРСБ (-1 и -2), а также ИФР-2.

Многие исследователи эндокринного механизма у ИФР-1 при опухолевом росте клеток ПЖ были сосредоточены на изучении изоформ рецепторов ИФР-1 и белков, обеспечивающих механизмы его сигналинга [159, 161, 162]. В целом, сформировалась точка зрения, согласно которой при раке простаты и других онкологических заболеваниях происходит дисрегуляция всей оси ИФР-1 [162].

К особому направлению исследований роли полиморфизма различных белков системы ГР/ИФР в клетках предстательной железы при росте, развитии и канцерогенезе относятся работы, направленные на изучение ассоциаций различных SNP's и других видов ДНК-полиморфизма в соответствующих генах. В частности, обнадеживающие результаты были недавно получены при изучении SNP's в гене *GHR* и в генах, кодирующих отдельных представителей семейства ИФРСБ [163, 164]. Существенную ассоциацию с риском РПЖ удалось выявить у одного SNP в гене *IRSI*, который приводит к аминокислотной замене (G972R), сопровождающейся изменением заряда белка [165]. Сходный результат был недавно получен для другого SNP в гене *IRSI*, вызывающего похожую аминокислотную замену (E917R) [166]. Интересные данные по изучению SNP's в генах рецепторов соматостатина опубликовали в 2009 г. Джоанссон и др. [167]. Хотя авторам и не удалось выявить ассоциации этих SNP's с риском РПЖ, но некоторые SNP's в гене *SSTR5* (особенно rs4988483)

оказались ассоциированы с повышенным уровнем ИФР-1 в крови больных, что, возможно, имеет отношение к развитию канцерогенеза. Среди многочисленных работ, посвященных изучению других видов ДНК-полиморфизма, следует отметить обстоятельную статью Чен и др. [168], которые показали, что гетерозиготы по повтору (AGG)<sub>7</sub> в гене *IGF-1R* характеризовались повышенным риском РПЖ.

## V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты многочисленных исследований показывают, что проявления биохимического полиморфизма гормона роста, других белковых и пептидных гормонов, а также транспортных белков, рецепторов и участников механизмов сигналинга представляют собой важную закономерность в функционировании системы ГР/ИФР у человека. Этот полиморфизм формируется на трех основных уровнях – на уровне структур генома и генов; при транскрипции и созревании транскриптов; в процессе постсинтетического образования функционально активных белковых комплексов. Как следствие, полиморфные белки, составляющие систему гормона роста, обеспечивают выраженное межиндивидуальное разнообразие соответствующих молекулярных структур – многокомпонентных транспортных комплексов, олигомерных мембранных рецепторов и внутриклеточных белковых ансамблей, вовлеченных в регуляцию генной экспрессии. В свою очередь, такой структурный полиморфизм оказывает существенное влияние на реализацию биологических эффектов в различных звеньях системы ГР/ИФР, использующих как эндокринный, так и аутокринно/паракринный механизмы, при физиологических процессах и при онкологических заболеваниях. Особое внимание к роли полиморфизма отдельных белков системы ГР/ИФР уделяется при возникновении рака простаты. В частности, в этом отношении, специально рассматривалось семейство белков, связывающих ИФР-1, и различные олигомерные рецепторы, способные с ним взаимодействовать [126, 162, 169, 170]. Недавно даже было предложено рассматривать ген рецептора ИФР-1 как онкоген [170].

Наконец, следует отметить, что накопленные к настоящему времени результаты исследований полиморфизма участников системы ГР/ИФР человека свидетельствуют о том, что использование постгеномных технологий представляется весьма перспективным для решения ряда связанных с этим актуальных биомедицинских проблем, в частности, для определения предрасположенности к раку предстательной железы.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Вудс Р. Биохимическая генетика. (1983) М.: Мир. 127 с.
2. Beaudet, A.L., Scriver, C.R., Sly, W.S., Cooper, D.N., Mekusick, V.A., Schmidke, J. «Genetics and biochemistry of variant human phenotypes» in: «The Metabolic basis of inherited disease». By ed. C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle. 6-th ed. Mc Graw-Hill Inf. Ser. Chem. (1989), v. 1, 3–163.
3. Льюин Б. Гены. (1987) М.: Мир. 544 с.
4. Baumann, G. (1991) *Endocrine Reviews*, **12**, 424–449.
5. Woyschik, R.P., Klebig, M.L., Justice, M.J., Magnuson, T.R., Avner, E.D. (1998) *Mutat. Res.*, **400**, 3–14.
6. Anderson N.G. Matheson A., Anderson L. (2001) *Proteomics*, **1**, 3–12.
7. Шишкин С.С. (2002) Вест. ПАМН, № 4, 11–16.
8. *International Human Genome Sequencing Consortium*. (2001) *Nature*, **409**, 860–921.
9. Venter, C.J., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P.W., Mural, R.J., Sutton, G.G., Smith, H.O., Yandell, M., Evans, C.A., Holt, R.A., Gocayne, J.D., Amanatides, P., Ballew, R.M., Huson, D.H., Wortman, J.R., Zhang, Q., Korida, C.D., Zheng, X.H., Chen, L., Skupski, M. et al. (2001) *Science*, **291**, 1304–1351.
10. Hernandez-Boussard, T., Woon, M., Klein, T.E., Altman, R.B. (2006) *OMICS*, **10**, 545–554.
11. Ghosh, D., Poisson, L.M. (2009) *Genomics*, **93**, 13–16.
12. D'Amico, F., Biancolella, M., Margiotti, K., Reichardt, J.K., Novelli, G. (2007) *Pharmacogenomics*, **8**, 645–661.
13. Baumann, G.P. (2009) *Growth Horm. IGF Res.*, **19**, P.333–340.
14. Mononen, N., Schleutker, J. (2009) *J. Urol.*, **181**, 1541–1549.
15. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. (1993) М.: Мир, том 2, 170–185.
16. Orengo, C.A., Thornton, J.M. (2005) *Annu. Rev. Biochem.*, **74**, 867–900.
17. Buljan, M., Bateman, A. (2009) *Biochem. Soc. Trans.*, **37**, 751–755.
18. Zhang, F., Gu, W., Hurler, M.E., Lupski, J.R. (2009) *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, **10**, 451–481.
19. Примроуз С., Тваймен Р. Геномика. Роль в медицине. (2008). М.: Из-во БИНОМ. Лаборатория знаний, 38–84.
20. Раменский В.Е., Сюняев Ш.Р. (2007) Молекулярный полиморфизм человека. / Ред. С.Д. Варфоломеев. М., Изд-во РУДН, Т.1. 83–107.
21. Zhang, F., Gu W., Hurler, M.E., Lupski, J.R. (2009) *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, **10**, 451–481.
22. Phillips, J.A. III Inherited defects in growth hormone synthesis and action. In: *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. Ed. by C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle. 7-th Edition. McGraw-Hill Health Professions Division. (1995). Vol. II. P.3023-3044.
23. Yang, N., Garton, F., North, K. (2009) *Med. Sport Sci.*, **54**, 88–101.
24. Шишкин С.С., Калинин В.Н. Медицинские аспекты биохимической и молекулярной генетики. (1992) М.: Из-во ВИНТИ, 216 с.
25. Frezal, J. Munnich, A., Mitchell, G. (1983) *Hum. Genet.*, **64**, 311–314.
26. Breitbart, R.E., Andreadis, A., Nadal-Ginard, B. (1987) *Ann. Rev. Biochem.*, **56**, 467–495.
27. Mironov, A.A., Fickett, J.W., Gelfand, M.S. (1999) *Genome Res.*, **9**, 1288–1293.
28. Modrek, B., Resch, A., Grasso, C., Lee, C. (2001) *Nucleic Acids Res.*, **29**, 2850–2859.
29. Lee, C., Wang, Q. (2005) *Brief Bioinform.*, **6**, 23–33.
30. Lewis, B.P., Green, R.E., Brenner, S.E. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 189–192.

31. Eilbeck, K., Moore, B., Holt, C., Yandell, M. (2009) BMC Bioinformatics, Feb 23;10:67. P. 1–15.
32. Gustincich, S., Sandelin, A., Plessy, C., Katayama, S., Simone, R., Lazarevic, D., Hayashizaki, Y., Carninci, P. (2006) J. Physiol., **575**, 321–332.
33. Courtois, S.J., Lafontaine, D.A., Rousseau, G.G. (1992) Characterization of an alternative promoter in the human growth hormone gene. J. Biol. Chem., **267**, 19736–19743.
34. Moll, U.M., Slade, N. (2004) Mol. Cancer Res., **2**, 371–386.
35. Chen, S.-H., Habib, G., Yang, C.Y., Gu, Z.W., Lee, B.R., Wang, S.A. Silberman, S.R., Cai, S.-J., Deslypere, J.P., Rosseneu, M., Gotto, A.M., Li, W.H., Chan, L. (1987) Science, **238**, 363–366.
36. Дейчман А.М. Редактирование РНК. (2001) М.: Из-во Русаки. 131 с.
37. Kane, J.P., Havel, R.J. Disorders of the biogenesis and secretion of lipoproteins containing the B apolipoproteins in: «The metabolic basis of inherited disease». By ed. C.R.Scriver, A.L.Beaudet, W.S.Sly, D.Walle. 6-th ed. Mc Graw-Hill Inf. Ser. Cem., 1989, v. 1, 1139–1164.
38. Hersberger, M., Patarroyo-White, S., Arnold, K.S., Innerarity, T.L. (1999) J. Biol. Chem., **274**, 34590–34597.
39. Siddiqui, J.F., Van Mater, D., Sowden, M.P., Smith, H.C. (1999) Exp. Cell Res., **252**, 154–164.
40. Bass, B.L. (2002) Annu Rev Biochem., **71**, 817–846.
41. DeCervo, J., Carmichael, G.G. (2005) Genome Biol., **6**, 216 (P1–4).
42. Paz, N., Levanon, E.Y., Amariglio, N., Heimberger, A.B., Ram, Z., Constantini, S., Barbash, Z.S., Adamsky, K., Safran, M., Hirschberg, A., Krupsky, M., Ben-Dov, I., Cazacu, S., Mikkelsen, T., Brodie, C., Eisenberg, E., Rechavi, G. (2007) Genome Res., **17**, 1586–1595.
43. Martinez, H.D., Jasavala, R.J., Hinkson, I., Fitzgerald, L.D., Trimmer, J.S., Kung, H.J., Wright, M.E. (2008) J Biol. Chem., **283**, 29938–29949.
44. Carninci, P., Kasukawa, T., Katayama, S., Gough, J., Frith, M.C., Maeda, N., et al.; FANTOM Consortium; RIKEN Genome Exploration Research Group and Genome Science Group (Genome Network Project Core Group) (2005) Science, **309**, 1559–1563.
45. Честков В.В., Ковалев Л.И., Шишкин С.С., Анненков Г.А. (1985) Вопр. мед. химии, **31**, 60–65.
46. Carafoli, E. (1994) FASEB J., **8**, 993–1002.
47. Tzu, J., Marinkovich, M.P. (2008) Int. J. Biochem. Cell Biol., **40**, 199–214.
48. Sangster, T.A., Lindquist, S., Queitsch, C. (2004) Bioessays, **26**, 348–362.
49. Fung, K.L., Gottesman, M.M. (2009) Biochim. Biophys. Acta, **1794**, 860–871.
50. Martinez, A., Traverso, J.A., Valot, B., Ferro, M., Espagne, C., Ephritikhine, G., Zivy, M., Giglione, C., Meinel, T. (2008) Proteomics, **8**, 2809–2831.
51. Meinel T., Giglione C. (2008) Proteomics, **8**, 626–649.
52. Mahrus, S., Trinidad, J.C., Barkan, D.T., Sali, A., Burlingame, A.L., Wells, J.A. (2008) Cell, **134**, 866–876.
53. Xu, G., Shin, S.B., Jaffrey, S.R. (2009) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **106**, 19310–19315.
54. Perler, F.B., Davis, E.O., Dean, G.E., Gimble, F.S., Jack, W.E., Neff, N., Noren, C.J., Thorner, J., Belfort, M. (1994) Nucleic Acids Res., **22**, 1125–1127.
55. Sun, W., Yang, J., Liu, X.Q. (2004) J. Biol. Chem., **279**, 35281–35286.
56. Le Roith, D., Bondy, K., Yakar, S., Liu, J.-L., Butler, A. (2001) Endocrine Reviews, **22**, 53–74.
57. Holt, R.I., Simpson, H.L., Sonksen, P.H. (2003) Diabet Med. **20**, 3–15.
58. Rodriguez, S., Gaunt, T.R., Day, I.N. (2007) Hum. Genet., **122**, 1–21.
59. LaMarca, H.L., Rosen, J.M. (2008) Endocrinology, **149**, 4317–4321.
60. Thorey, I.S., Hinz, B., Hoeflich, A., Kaesler, S., Bugnon, P., Elmlinger, M.,

- Wanke, R., Wolf, E., Werner, S. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 26674–26684.
61. Wong, Y.C., Wang, X.H., Ling, M.T. (2003) *Int. Rev. Cytol.*, **227**, 65–130.
62. Creighton, C.J., Casa, A., Lazard, Z., Huang, S., Tsimelzon, A., Hilsenbeck, S.G., Osborne, C.K., Lee, A.V. (2008) *J. Clin. Oncol.*, **26**, 4078–4085.
63. Léger, J., Mercat, I., Alberti, C., Chevenne, D., Armoogum, P., Tichet, J., Czernichow, P. (2007) *Eur. J. Endocrinol.*, **157**, 685–692.
64. Holt, R.I., Sönksen, P.H. (2008) *Br. J. Pharmacol.*, **154**, 542–556.
65. Anderson, L.L., Jefinija, S., Scanes, C.G. (2004) *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, **229**, 291–302.
67. Velloso, C.P. (2008) *Br. J. Pharmacol.*, **154**, 557–568.
68. Li, G., Del Rincon, J.P., Jahn, L.A., Wu, Y., Gaylinn, B., Thorner, M.O., Liu, Z. (2008) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **93**, 1379–1385.
69. Hathout, E.H., Baylink, D.J., Mohan, S. (1999) *Growth Horm. IGF Res.*, **9**, 272–277.
70. Chen, E.Y., Liao, Y.C., Smith, D.H., Barrera-Saldana, H.A., Gelinis, R.E., Seeburg, P.H. (1989) *Genomics*, **4**, 479–497.
71. Yamaguchi, N., Oyama, T., Ito, E., Satoh, H., Azuma, S., Hayashi, M., Shimizu, K., Honma, R., Yanagisawa, Y., Nishikawa, A., Kawamura, M., Imai, J., Ohwada, S., Tatsuta, K., Inoue, J., Semba, K., Watanabe, S. (2008) *Cancer Res.*, **68**, 1881–1888.
72. Esteban, C., Audi, L., Carrascosa, A., Fernandez-Cancio, M., Perez-Arroyo, A., Ulled, A., Andaluz, P., Arjona, R., Albusu, M., Clemente, M., Gussinye, M., Yeste, D. (2007) *Clin. Endocrinol. (Oxf)* **66**, 258–268.
73. Estes, P.A., Cooke, N.E., Liebhaber, S.A. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**, 14902–14908.
74. Ryther, R.C., Flynt, A.S., Harris, B.D., Phillips, J.A. 3rd, Patton, J.G. (2004) *Endocrinology*, **145**, 2988–2996.
75. Such-Sanmartín, G., Bosch, J., Segura, J., Wu, M., Du, H., Chen, G., Wang, S., Vila-Perelló, M., Andreu, D., Gutiérrez-Gallego, R. (2008) *Growth Factors*, **26**, 152–162.
76. Jansson, C., Boguszewski, C., Rosberg, S., Carlsson, L., Albertsson-Wikland, K. (1997) *Clin. Chem.*, **43**, 950–956.
77. Haro, L.S., Lewis, U.J., Garcia, M., Bustamante, J., Martinez, A.O., Ling, N.C. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **228**, 549–556.
78. Bustamante, J.J., Gonzalez, L., Carroll, C.A., Weintraub, S.T., Aguilar, R.M., Muñoz, J., Martinez, A.O., Haro, L.S. (2009) *Proteomics*, **9**, 3474–3488.
79. Lamberts, S.W., van den Beld, A.W., van der Lely, A.J. (1997) *Science*, **278**, 419–424.
80. Borst, S.E. (2004) *Age Ageing*, **33**, 548–555.
81. Sohmiya, M., Kato, Y. (1992) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **75**, 1487–1490.
82. Hersch, E.C., Merriam, G.R. (2008) *Clin. Interv. Aging*, **3**, 121–129.
83. Zeitler, P., Siriwardana, G. (2002) *Endocrine*, **18**, 85–90.
84. Thorner, M.O., Perryman, R.L., Cronin, M.J., Rogol, A.D., Draznin, M., Johanson, A., Vale, W., Horvath, E., Kovacs, K. (1982) *J. Clin. Invest.*, **70**, 965–977.
85. Mayo, K.E. (1992) *Mol. Endocrinol.*, **6**, 1734–1744.
86. Hashimoto, K., Koga, M., Motomura, T., Kasayama, S., Kouhara, H., Ohnishi, T., Arita, N., Hayakawa, T., Sato, B., Kishimoto, T. (1995) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **80**, 2933–2939.
87. Zeitler, P., Stevens, P., Siriwardana, G. (1998) *J. Mol. Endocrinol.*, **21**, 363–371.
88. Mayo, K.E., Miller, T., DeAlmeida, V., Godfrey, P., Zheng, J., Cunha, S.R. (2000) *Recent Prog. Horm. Res.*, **55**, 237–266.
89. Wheeler, M.A., Ayyagari, R.R., Wheeler, G.L., Weiss, R.M. (2005) *J. Smooth Muscle Res.* **41**, 1–21.

90. Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K. (1999) *Nature*, **402**, 656–660.
91. Kojima, M., Kangawa, K. (2005) *Physiol Rev.*, **85**, 495–522.
92. Zhang, J.V., Ren, P.G., Avsian-Kretchmer, O., Luo, C.W., Rauch, R., Klein, C., Hsueh, A.J. (2005) *Science*, **310**, 996–999.
93. Olszewski, P.K., Schiuph, H.B., Levine, A.S. (2008) *Brain Res. Rev.*, **58**, 160–170.
94. Lanfranco, F., Baldi, M., Cassoni, P., Bosco, M., Ghé, C., Muccioli, G. (2008) *Vitam. Horm.*, **77**, 301–324.
95. Yin, X., Li, Y., Xu, G., An, W., Zhang, W. (2009) *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*, **41**, 188–197.
96. Llona, I., Eugenh, J. (2005) *Biol. Res.*, **38**, 347–352.
97. D'Alessio, D.A., Sieber, C., Beglinger, C., Ensinn, J.W.J. (1989) *Clin. Invest.* **84**, 857–862.
98. Ferone, D., Gatto, F., Arvigo, M., Resmini, E., Boschetti, M., Teti, C., Esposito, D., Minuto, F. (2009) *J. Mol. Endocrinol.*, **42**, 361–370.
99. Tulipano, G., Schulz, S. (2007) *Eur. J. Endocrinol.*, **156**, Suppl 1, S3–11.
100. Leung, D.W., Spencer, S.A., Cachianes, G., Hammonds, R.G., Collins, C., Henzel, W.J., Barnard, R., Waters, M.J., Wood, W.I. (1987) *Nature*. **330**. 537–543.
101. Fisker, S., Kristensen, K., Rosenfalck, A.M., Pedersen, S.B., Ebdrup, L., Richelsen, B., Hilsted, J., Christiansen, J.S., Jorgensen, J.O. (2001) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **86**. 792–796.
102. Stallings-Mann, M.L., Ludwiczak, R.L., Klinger, K.W., Rottman, F. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **93**. 12394–12399.
103. Ross, R.J., Esposito, N., Shen, X.Y., Von Laue, S.L., Chew, P.R., Dobson, M., Postel-Vinay, M.-C., Finidori, J. (1997) *Mol. Endocrinol.* **11**. 265–273.
104. Scott, M.J., Godshall, C.J., Cheadle, W.G. (2002) *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **9**, 1153–1159.
105. Waters, M.J., Hoang, H.N., Fairlie, D.P., Pelekanos, R.A., Brown, R.J. (2006) *J. Mol. Endocrinol.* **36**, 1–7.
106. Yang, J., Stark, G.R. (2008) *Cell Res.*, **18**, 443–451.
107. Carter-Su, C., Rui, L., Stofega, M.R. (2000) *Recent Prog. Horm. Res.*, **55**, 293–311.
108. Pilecka, I., Patrignani, C., Pescini, R., Curchod, M.L., Perrin, D., Xue, Y., Yasenchak, J., Clark, A., Magnone, M.C., Zaratini, P., Valenzuela, D., Rommel, C., Hoofst van Huijsduijnen, R. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 35405–35415.
109. Katz, M., Amit, I., Yarden, Y. (2007) *Biochim. Biophys. Acta*, **1773**, 1161–1176.
110. Muslin, A.J. (2008) *Clin. Sci. (Lond)*, **115**, 203–218.
111. Ceseña, T.I., Cui, T.X., Piwien-Pilipuk, G., Kaplani, J., Calinescu, A.A., Huo, J.S., Iñiguez-Lluhu, J.A., Kwok, R., Schwartz, J. (2007) *Mol. Genet. Metab.*, **90**, 126–133.
112. Glass, D.J. (2003) *Nature Cell Biology*, **5**, 87–90.
113. Laron, Z. (2001) *Mol Pathol.*, **54**, 311–316.
114. Netchine, I., Azzi, S., Houang, M., Seurin, D., Perin, L., Ricort, J.M., Daubas, C., Legay, C., Mester, J., Herich, R., Godeau, F., Le Bouc, Y. (2009) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **94**, 3913–3921.
115. Barbieri, M., Bonafu, M., Franceschi, C., Paolisso, G. (2003) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **285**, E1064–1071.
116. Rotwein, P., Pollock, K.M., Didier, D.K., Krivis, G.G. (1986) *J. Biol. Chem.* **261**. 4828–4832.
117. Smith, P.J., Spurrell, E.L., Coakley, J., Hinds, C.J., Ross, R.J., Krainer, A.R., Chew, S.L. (2002) *Endocrinology*, **143**, 146–154.
118. Hameed, M., Orrell, R.W., Cobbold, M., Goldspink, G., Harridge, S.D. (2003) *J. Physiol.*, **547**, 247–254.
119. Dłuzniewska, J., Sarnowska, A., Beresewicz, M., Johnson, I., Srai, S.K., Ramesh, B., Goldspink, G.,

- Gyrecki, D.C., Zablocka, B. (2000) *FASEB J.*, **19**, 1896–1898.
120. Hwa, V., Oh, Y., Rosenfeld, R.G. (1999) *Endocr. Rev.*, **20**, 761–787.
121. Rowlands, M.A., Gunnell, D., Harris, R., Vatten, L.J., Holly, J.M., Martin, R.M. (2009) *Int. J. Cancer*, **124**, 2416–2429.
122. Rosen, C.J., Pollak, M. (1999) *Trends Endocrinol. Metab.*, **10**, 136–141.
123. Firth, S.M., Baxter, R.C. (2002) *Endocr. Rev.*, **23**, 824–854.
124. Guler, H-P., Zapf, J., Schmid, C., Froesch, E.R. (1989) *Acta Endocrinol. (Copenh)*, **121**, 753–758.
125. Mu, L., Katsaros, D., Wiley, A., Lu, L., de la Longrais, I.A., Smith, S., Khubchandani, S., Sochirca, O., Arisio, R., Yu, H. (2009) *Breast Cancer Res. Treat.*, **115**, 151–162.
126. Chitnis, M.M., Yuen, J.S., Protheroe, A.S., Pollak, M., Macaulay, V.M. (2008) *Clin. Cancer Res.*, **14**, 6364–6370.
127. Delafontaine, P., Song, Y.H., Li, Y. (2004) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24**, 435–444.
128. Dupont, J., Dunn, S.E., Barrett, J.C., LeRoith, D. (2003) *Recent Prog. Horm. Res.*, **58**, 325–342.
129. Hernández-Sánchez, C., Mansilla, A., de Pablo, F., Zardoya, R. (2008) *Mol. Biol. Evol.*, **25**, 1043–1053.
130. Nakae, J., Kido, Y., Accili, D. (2001) *Endocr. Rev.*, **22**, 818–835.
131. Le Roith, D. (2003) *Exp Diabetes Res.*, **4**, 205–212.
132. Jansson, P.A., Pellmé, F., Hammarstedt, A., Sandqvist, M., Brekke, H., Caidahl, K., Forsberg, M., Volkmann, R., Carvalho, E., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., Wiklund, O., Yang, X., Taskinen, M.R., Smith, U. (2003) *FASEB J.*, **17**, 1434–1440.
133. Vivanco, I., Sawyers, C.L. (2002) *Nature Rev. Cancer*, **2**, 489–501.
134. Hajdуч, E., Litherland, G.J., Hundal, H.S. (2001) *FEBS Lett.*, **492**, 199–203.
135. Carpten, J.D., Faber, A.L., Horn, C., Donoho, G.P., Briggs, S.L., Robbins, C.M., Hostetter, G., Boguslawski, S., Moses, T.Y., Savage, S., Uhlik, M., Lin, A., Du, J., Qian, Y.W., Zeckner, D.J., Tucker-Kellogg, G., Touchman, J., Patel, K., Mousses, S., Bittner, M., Schevitz, R., Lai, M.H., Blanchard, K.L., Thomas, J.E. (2007) *Nature*, **448**, 439–444.
136. Viglietto, G. (2009) *Cell Cycle*, **8**, 2869–2870.
137. Alam, S.M., Rajendran, M., Ouyang, S., Veeramani, S., Zhang, L., Lin, M.F. (2009) *Endocr. Relat. Cancer*, **16**, 1–16.
138. Molken J.D., Lu J.R., Antos C.L., Markham B., Richardson J., Robbins J., Grant S.R., Olson E.N. (1998) *Cell*, **93**, 215–228.
139. Datta, D., Contreras, A.G., Grimm, M., Waaga-Gasser, A.M., Briscoe, D.M., Pal, S. (2008) *J. Am. Soc. Nephrol.*, **19**, 2437–2446.
140. Thomson, A.A. (2008) *Differentiation*, **76**, 587–598.
141. Sun, Y., Niu, J., Huang, J. (2009) *Am. J. Transl. Res.*, **1**, 148–162.
142. Prieto, J.C., Carmena, M.J. (1987) *Cell Biochem. Funct.*, **5**, 63–68.
143. Ballesteros, M., Leung, K.C., Ross, R.J., Iismaa, T.P., Ho, K.K. (2000) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **85**, 2865–2871.
144. Sinowatz, F., Breipohl, W., Waters, M.I., Lincoln, D., Lobie, P.E., Amselgruber, W. (1991) *Prostate*, **19**, 273–278.
145. Reiter, E., Kecha, O., Hennuy, B., Lardinois, S., Klug, M., Bruyninx, M., Closset, J., Hennen, G. (1995) *Endocrinology*, **136**, 3338–3345.
146. Weiss-Messer, E., Merom, O., Adi, A., Karry, R., Bidosee, M., Ber, R., Kaploun, A., Stein, A., Barkey, R.J. (2004) *Mol. Cell Endocrinol.*, **220**, 109–123.
147. Bidosee, M., Karry, R., Weiss-Messer, E., Barkey, R.J. (2009) *Mol. Cell Endocrinol.*, **309**, 82–92.

148. *Chopin, L.K., Veveris-Lowe, T.L., Philipps, A.F., Herington, A.C.* (2002) *Growth Horm. IGF Res.*, **12**, 126–136.
149. *Chopin, L.K., Herington, A.C.* (2001) *Prostate*, **49**, 116–121.
150. *Havt, A., Schally, A.V., Halmos, G., Varga, J.L., Toller, G.L., Horvath, J.E., Szepeshazi, K., Köster, F., Kovitz, K., Groot, K., Zarandi, M., Kanashiro, C.A.* (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 17424–17429.
151. *Jeffery, P.L., Herington, A.C., Chopin, L.K.* (2002) *J. Endocrinol.*, **172**, R7–11.
152. *Cassoni, P., Ghé, C., Marrocco, T., Tarabra, E., Allia, E., Catapano, F., Deghenghi, R., Ghigo, E., Papotti, M., Muccioli, G.* (2004) *Eur. J. Endocrinol.*, **150**, 173–184.
153. *Malendowicz, W., Ziolkowska, A., Szyszka, M., Kwias, Z.* (2009) *Urol. Int.*, **83**, 471–475.
154. *Zapata, P.D., Roper, R.M., Valencia, A.M., Buscail, L., López, J.I., Martín-Orozco, R.M., Prieto, J.C., Angulo, J., Susini, C., López-Ruiz, P., Colás, B.* (2002) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**, 915–926.
155. *Reubi, J.C., Maurer, R., von Werder, K., Torhorst, J., Klijn, J.G., Lamberts, S.W.* (1987) *Cancer Res.*, **47**, 551–558.
156. *Montironi, R., Cheng, L., Mazzucchelli, R., Morichetti, D., Stramazzotti, D., Santinelli, A., Moroncini, G., Galosi, A.B., Muzzonigro, G., Comeri, G., Lovisolo, J., Cosciani-Cunico, S., Bono, A.V.* (2008) *Cell Oncol.*, **30**, 473–482.
157. *Pietrzkowski, Z., Mulholland, G., Gomella, L., Jameson, B.A., Wernicke, D., Baserga, R.* (1993) *Cancer Res.*, **53**, 1102–1106.
158. *Kimura, G., Kasuya, J., Giannini, S., Honda, Y., Mohan, S., Kawachi, M., Akimoto, M., Fujita-Yamaguchi, Y.* (1996) *Int. J. Urol.*, **3**, 39–46.
159. *Kawada, M., Inoue, H., Masuda, T., Ikeda, D.* (2006) *Cancer Res.*, **66**, 4419–4425.
160. *Garcia, F.U., Urbanska, K., Koltowski, L., Reiss, K., Sell, C.* (2007) *Clin. Cancer Res.*, **13**, 3140–3146.
161. *Powolny, A.A., Wang, S., Carlton, P.S., Hoot, D.R., Clinton, S.K.* (2008) *Mol. Carcinog.*, **47**, 458–465.
162. *Jerome, L., Shiry, L., Leyland-Jones, B.* (2003) *Endocr. Relat. Cancer*, **10**, 561–578.
163. *McKay, J.D., Kaaks, R., Johansson, M., Biessy, C., Wiklund, F., Bälter, K., Adami, H.O., Boillot, C., Gioia-Patricola, L., Canzian, F., Stattin, P., Grönberg, H.* (2007) *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **16**, 169–173.
164. *Johansson, M., McKay, J.D., Rinaldi, S., Wiklund, F., Adami, H.O., Grönberg, H., Kaaks, R., Stattin, P.* (2009) *Prostate*, **69**, 1281–1291.
165. *Neuhausen, S.L., Slattery, M.L., Garner, C.P., Ding, Y.C., Hoffman, M., Brothman, A.R.* (2005) *Prostate*, **64**, 168–174.
166. *Лисицкая К.В., Крахмалева И.Н., Шишкин С.С.* (2010) *Мол. генетика, микробиол. вирусология*. №2, 32–36.
167. *Johansson, M., McKay, J.D., Wiklund, F., Rinaldi, S., Hallmans, G., Bälter, K., Adami, H.O., Grönberg, H., Stattin, P., Kaaks, R.* (2009) *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **18**, 1644–1650.
168. *Chen, C., Freeman, R., Voigt, L.F., Fitzpatrick, A., Plymate, S.R., Weiss, N.S.* (2006) *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **15**, 2461–2466.
169. *Pavelić, J., Matijević, T., Knezević, J.* (2007) *Indian J. Med. Res.*, **125**, 511–522.
170. *Werner, H., Bruchim, I.* (2009) *Arch. Physiol. Biochem.*, **115**, 58–71.