

Роль рецепторного аппарата калликреин-кининовой системы в пролиферативных процессах предстательной железы

М.Б. Чибичян¹, А.Э. Мационис², П.Э. Повилайтите², М.И. Коган¹

¹НИИ урологии и нефрологии Ростовского ГМУ;

²Ростовское патологоанатомическое бюро, Ростов-на-Дону

Контакты: Михаил Иосифович Коган dept_kogan@mail.ru

Изменения основных клеточных функций при гиперплазии и раке предстательной железы (РПЖ) выражаются в нарушении уровня экспрессии генов и их продуктов, механизмов передачи и др. Известно, что регуляторные компоненты ренин-ангиотензиновой и калликреин-кининовой систем играют важную роль в обеспечении тканевого гомеостаза, в том числе ткани предстательной железы (ПЖ). Выяснение особенностей данных процессов в диагностике РПЖ представляется перспективным. Исследован материал полифокальных пункционных биопсий ПЖ 15 мужчин с РПЖ и 15 — с доброкачественной гиперплазией ПЖ (ДГПЖ). Иммуногистохимические (ИГХ) реакции проводили в автоматическом роботизированном аппарате для постановки ИГХ-реакций. Выявлено, что у пациентов с ДГПЖ экспрессия В1 полностью отсутствовала. Специфическая реакция с анти-В1-антителами в железистом эпителии имела место в малигнизированных ацинусах и фокусах простатической интраэпителиальной неоплазии. Экспрессия В2 отмечалась в строме как при ДГПЖ, так и при РПЖ независимо от стадии и суммы баллов по шкале Глисона. Обнаруженные данные о характере экспрессии В1 свидетельствуют о потенциальной возможности использовать его как маркер РПЖ.

Ключевые слова: рак предстательной железы, доброкачественная гиперплазия предстательной железы, простатспецифический антиген, ренин-ангиотензиновая и калликреин-кининовая системы, экспрессия рецепторов

Role of the kallikrein-kinin receptor system in prostatic proliferative processes

M.B. Chibichyan¹, A.E. Matsionis², P.E. Povilaitite², M.I. Kogan¹

¹Research Institute of Urology and Nephrology, Rostov State Medical University;

²Rostov Postmortem Bureau, Rostov-on-Don

In prostatic hyperplasia (PH) and prostate cancer (PC), changes in major cell functions are manifested by impairments in the expression levels of genes and their products, in transmissions, etc. The regulatory components of the renin-angiotensin and kallikrein-kinin systems are known to play a vital role in ensuring the homeostasis of tissue, including that of prostatic tissue. It is promising to elucidate the specific features of these processes in the diagnosis of PC. Polyfocal prostate puncture biopsy specimens were examined in 15 males with PC and 15 with benign PH (BPH). Immunohistochemical reactions were made in an automatic robotic apparatus. B1 expression was ascertained to be fully absent in patients with BPH. Malignant acini and prostatic intraepithelial neoplastic foci showed a specific reaction with anti-B1 antibodies in the glandular epithelium. B2 expression was seen in the stroma in both BPH and PC irrespective of their stage and total Gleason scores. The findings of the pattern of B1 expression suggest that it may be used as a marker for PC.

Key words: prostate cancer, benign prostatic hyperplasia, prostate-specific antigen, renin-angiotensin and kallikrein-kinin systems, receptor expression

Введение

Проблема ранней диагностики рака предстательной железы (РПЖ), занимающего 2-е место в России по смертности среди мужчин, остается в онкоурологии основной [1, 2]. Все попытки обнаружить то единственное соединение, которое могло бы стать предиктором и маркером опухолевого процесса, пока оказывались безуспешными. Простатспецифический антиген (ПСА) — один из самых исследованных и широко применяемых биомаркеров при ранней диагностике РПЖ — имеет ряд серьезных недостатков, таких как низкая специфичность и высокий процент ложноотрицательных результатов (в 20–40 % случаев РПЖ уровень ПСА не превышает принятой в настоящее время нормы 4 нг/мл). Скорее, если мы говорим об оптимизации ранней диагностики, возможности про-

гнозировать дальнейшее течение РПЖ и выявлении потенциально агрессивных его форм, нужно рассматривать не один маркер, а «портрет» опухоли в целом. Его идентифицируют с помощью геномных или протеомных технологий, что позволяет судить об инициации и прогрессировании РПЖ на основании количественного и качественного изменения целого спектра различных соединений. Так, J. Pang и соавт. (2010) установили, что метастазирование РПЖ сопряжено с изменениями тканевой экспрессии не менее 58 белков. В исследовании L.H. Cazares и соавт. (2002) протеомный профиль лизатов, полученных из тканей доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ), отличался от такового при РПЖ разных стадий по 197 белкам и пептидам. Особое внимание среди них привлекают компоненты ренин-ангиотен-

зиновой и кинин-калликреиновой регуляторных систем организма. Активация данных систем наблюдается при неопластической трансформации во многих органах и тканях, включая головной мозг, молочную и поджелудочную железу, шейку матки и прямую кишку [3]. Показано, что основные компоненты ренин-ангиотензиновой системы (РАС), такие как ангиотензин II и рецепторы, опосредующие его действие, влияют на уровень клеточной пролиферации, адгезии, неоваскуляризации и дегенерации соединительнотканых структур при метастазировании опухолей [4]. Подобным образом и калликреин, один из главных медиаторов кинин-калликреиновой системы (ККС), обладает свойством стимулировать пролиферацию, а также путем повышения сосудистой проницаемости приводит к метастазированию опухолей [5]. Таким образом, экспрессия отдельных компонентов РАС и ККС непосредственно обуславливает определенные патологические характеристики различных органов и тканей, и это делает дальнейшее изучение данных регуляторных систем важной фундаментальной и прикладной задачей.

Материалы и методы

В работе использован материал полифокальных пункционных биопсий 10 больных с ДГПЖ и 10 больных с РПЖ.

Для светооптического и иммуногистохимического (ИГХ) исследования биоптаты фиксировали в 10 % забуференном (нейтральном) формалине в течение 24 ч. После стандартной проводки и заливки в парафин изготавливали серийные срезы толщиной 4 мкм, срезы монтировали на заряженные или покрытые неиммунным адгезивом (poly-L-lysine) предметные стекла. Для светооптического исследования срезы окрашивали гематоксилин-эозином, трихромом по Массону для выявления коллагена и ставили ШИК-реакцию.

Для ИГХ-исследования срезы, изготовленные с парафиновых блоков, помещали в термостат на 30 мин при температуре 56 °С. Парафин удаляли с неостывших срезов инкубацией в 5 сменах ксилола. Длительность 1 инкубации составляла от 5 до 10 мин, затем срезы выдерживали в 3 сменах абсолютного этанола по 3 мин и помещали в дистиллированную воду. При необходимости высокотемпературной демаскировки антигенов в соответствии с протоколом срезы обрабатывали в соответствующем рекомендованном производителем первичных антител буферном растворе с определенным pH в водяной бане Pascal (Dako-Cytomation, Германия) в течение 20 мин при 95 °С, затем промывали в буфере. Эндогенную пероксидазную активность подавляли специальным блокирующим раствором на основе перекиси водорода в течение 5–7 мин при комнатной температуре. ИГХ-реакции проводили в автоматическом роботизирован-

ном аппарате для постановки ИГХ-реакций Dako-AutostainerPlus (Германия) по следующему протоколу: обработка первичными антителами (15–30 мин, в соответствии с инструкцией к антителам), обработка вторичными антителами (30 мин), обработка субстрат-хромогеном (8 мин), окраска ядер гематоксилином Майера (5 мин). Использовали систему визуализации DakoEnVisionSystem + Peroxidase (antirabbit, antimouse). В промежутках срезы промывали промывочным буфером трис-HCl, содержащим Triton-X, что снижает фоновое окрашивание и способствует проникновению растворов в ткань. В каждой постановке для каждого исследуемого антигена имелся отрицательный контроль, когда вместо первичных антител на срезы наносили буфер, а также положительный контроль — ткань, заведомо содержащую этот антиген.

Использовали следующий набор первичных антител:

1. PSA (prostate spec. antigen), clone ER-PR8, mouse, 2:100 (Dako).
2. Cytokeratin, clone 34BE12, mouse, 2:100 (Dako).
3. P63, clone 4A4, mouse, 3:100 (Dako).
4. Androgen Receptor (AR), clone AR441, mouse, 2:100 (Dako).
5. Angiotensin II Type 2 Receptor (AT2), rabbit polyclonal, 1:100 (Abcam).
6. Bradykinin B1 Receptor (BDKRB1), rabbit polyclonal, 1:100 (Abcam).
7. Bradykinin B2 Receptor (BDKRB2), rabbit polyclonal, 1:1000 (Abcam).

В работе использованы системы визуализации, промывочные и демаскировочные растворы производства Dako (Германия). Постановку ИГХ-реакций, интерпретацию полученных результатов осуществляли в соответствии с общепринятыми правилами (Dabbs, 2006). Исследованы 2 группы больных (см. таблицу).

Распределение больных с заболеваниями ПЖ по возрасту, объему ПЖ, уровню ПСА

Группа пациентов	Число больных	Средний возраст, лет	Средний объем ПЖ, см ³	Средний уровень ПСА, нг/мл
ДГПЖ	10	66,7±8,53	58,67±26,9	7,38±3,1
РПЖ	10	69,7±7,52	41,7±24,5	23,97±9,6

В 1-ю группу было включено 10 мужчин с ДГПЖ, верифицированной на основании трансректальной мультифокальной биопсии предстательной железы (ПЖ), не проходившие лечения ранее. Вторую группу составили 10 пациентов с РПЖ. При формировании данной группы пациенты были подобраны таким образом, чтобы сравнительные данные (средние значения возраста, объема ПЖ) были сопоставимы с характеристиками больных 1-й группы. Поскольку су-

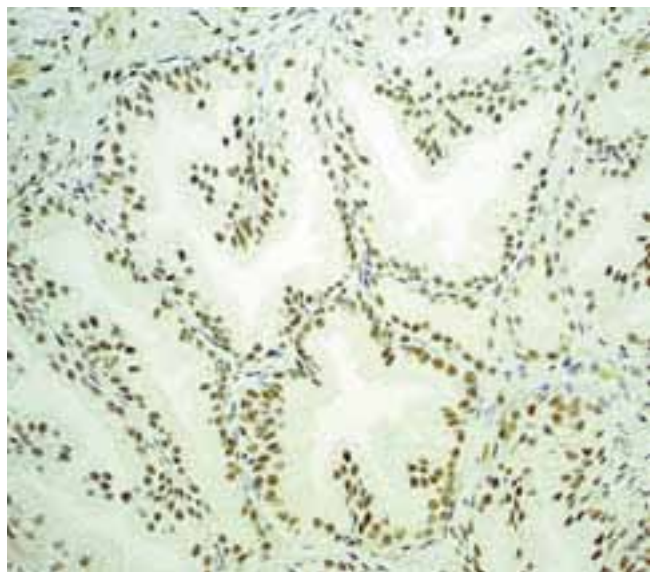


Рис. 1. Экспрессия AT2 в ткани ПЖ при ДГПЖ. ИГХ-окрашивание с помощью анти-AT2-антител (EnVision), $\times 200$

существует множество различных морфологических вариантов РПЖ (протоковый, плоскоклеточный, базально-клеточный и др.), мы, стремясь сделать исследуемые группы как можно более однородными, включили в исследование лишь самый распространенный тип — ацинарную аденокарциному. Целью создания этих групп явилось изучение функциональной активности РАС и ККС при данных состояниях.

Результаты

Мы оценили характер распределения рецепторов AT2 в ткани ПЖ при ДГПЖ (рис.1) и РПЖ различной степени дифференцировки (рис.2). Во всех без исключения исследованных образцах ДГПЖ нами выявлена ядерная экспрессия AT2 в клетках эпителия ПЖ (см. рис.1). Иммуноокрашивание с анти-AT2-антителами присутствует и в ядрах клеток эпителия ПЖ при неопластических процессах, причем интенсивность окрашивания не изменяется по мере дедифференцировки опухоли (рис. 3—5). С целью исключения субъ-

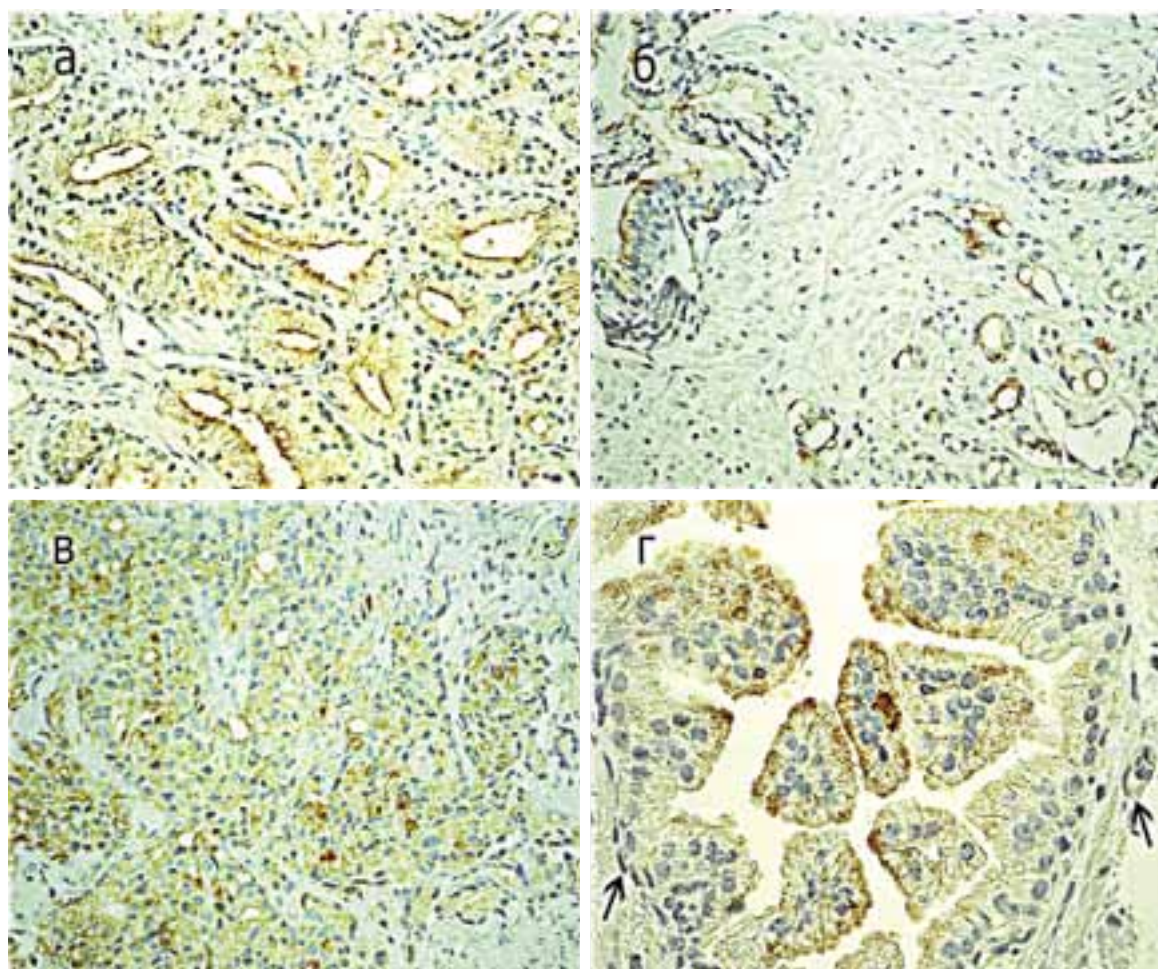


Рис. 2. ИГХ-окрашивание анти-V1-антителами в различных случаях РПЖ: высокодифференцированного (а), среднедифференцированного (б), низкодифференцированного (в), $\times 200$; фокус ПИН, ассоциированный с РПЖ (г), $\times 400$. Стрелками указаны базальные и эндотелиальные клетки, отрицательные при окраске анти-V1-антителами

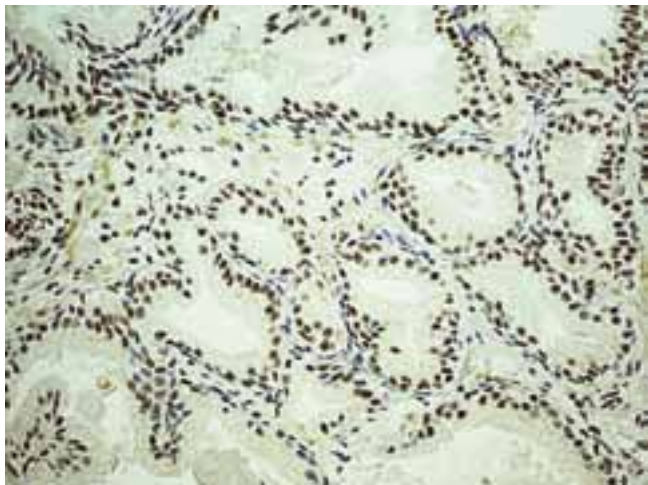


Рис. 3. Экспрессия AT2 в ткани ПЖ при умеренно-дифференцированном РПЖ. ИГХ-окрашивание анти-AT2-антителами (EnVision), $\times 200$

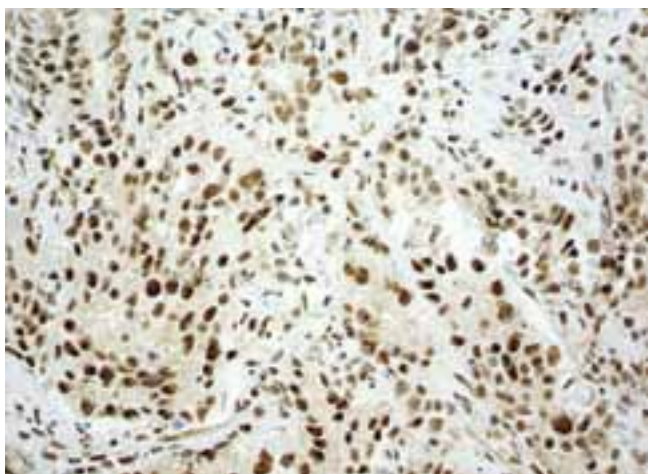


Рис. 4. Экспрессия AT2 в ткани ПЖ при низкодифференцированном РПЖ. ИГХ-окрашивание с помощью анти-AT2-антител, $\times 200$

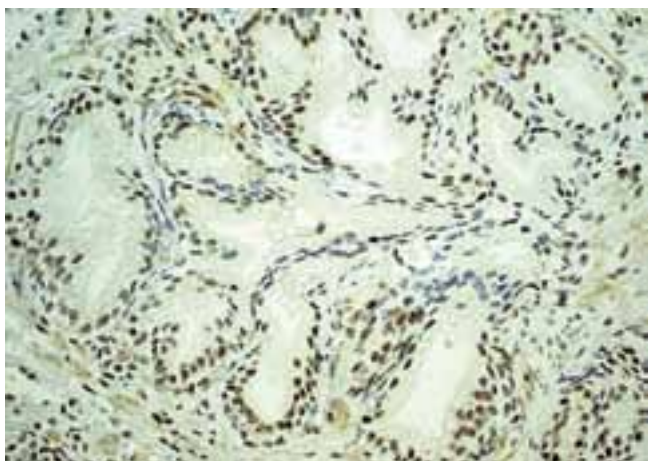


Рис. 5. ДГПЖ. Экспрессия AT2 в ткани ПЖ при умеренно-дифференцированном РПЖ. Окрашивание анти-AT2-антителами наблюдается, помимо ядер опухолевых клеток, в строме (внизу и справа), $\times 200$

ективности оценки мы провели сравнительный анализ уровня экспрессии AT2, выраженной в баллах по Allred, и степени дифференцировки по шкале Глисона, установленной при гистологическом исследовании биопсийных образцов. Статистически достоверной корреляции отмечено не было (ранговый коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,502$, $p > 0,05$). Кроме четкой и специфичной реакции в ядрах клеток железистого эпителия, окрашивание с анти-AT2-антителами наблюдается в строме как в образцах ДГПЖ, так и в случаях РПЖ (рис. 5). В слое базальных клеток при ДГПЖ окрашивание не визуализируется. Таким образом, нами продемонстрировано наличие рецепторов AT2 в ядрах эпителиальных и стромальных клеток ПЖ как при доброкачественной гиперплазии, так и при РПЖ.

В группе пациентов с ДГПЖ экспрессия B1 практически полностью отсутствовала, лишь в 1 случае нами была выявлена слабоположительная специфическая реакция с анти-B1-антителами в цитоплазме единичных клеток железистого эпителия.

Результаты ИГХ-окрашивания при РПЖ различной степени дифференцировки, а также фокусов простатической интраэпителиальной неоплазии (ПИН), ассоциированных с РПЖ, оказались прямо противоположными.

На рис. 2 хорошо видна четкая и специфическая реакция с анти-B1-антителами в железистом эпителии малигнизированных ацинусов и фокусах ПИН. Локализация окрашивания — цитоплазматическая, преимущественно в апикальной части клеток, что особенно хорошо заметно при большом увеличении (см. рис. 2г). Иммуноокрашивание с анти-B2-антителами в группе РПЖ выявило экспрессию их преимущественно в строме ткани ПЖ. При большем увеличении было хорошо заметно полное отсутствие окрашивания в эпителии малигнизированных желез. Нами не обнаружено какого-либо изменения экспрессии B2 в строме низкодифференцированных карцином, в опухолях с наличием сосудистой инвазии. Окрашивание выявлялось во всех без исключения случаях РПЖ, и его интенсивность была примерно одинаковой.

Таким образом, нами показано, что рецепторы B1 являются доминирующими на мембране эпителиальных клеток при их малигнизации, а рецепторы B2 обнаруживаются преимущественно в строме. Данный факт указывает на наличие функционально активной ККС в ткани ПЖ, эффекторное воздействие которой на строму и эпителий оказывается, однако, через разные типы рецепторов при ДГПЖ и РПЖ. Нами отмечен диаметрально противоположный характер экспрессии рецепторов B1 и B2: в малигнизированном или диспластическом эпителии наблюдается экспрессия B1, тогда как B2 локализован преимущественно в строме и выявляется в обеих исследованных груп-

пах — ДГПЖ и РПЖ. Рецептор АТ2 также выявлен нами и в той, и в другой группе, причем локализация его везде была ядерной, что необычно и не описано ранее для ткани ПЖ относительно рецепторов, ассоциированных с G-белками.

Обсуждение

Результаты проведенных нами ИГХ-исследований образцов ДГПЖ и РПЖ убедительно показали локализацию АТ2 в ядрах гиперпластических и малигнизированных клеток железистого эпителия. Интенсивность ИГХ-реакции с анти-АТ2-антителами была одинаковой во всех изученных образцах. Таким образом, необычный, ядерный характер экспрессии рецепторов, сопряженных с G-белками и локализующихся в норме на мембране клеток, установлен для образцов тканей пациентов и с ДГПЖ, и с РПЖ. Очевидно, что ядерная локализация АТ2 может свидетельствовать о нарушении функций ПЖ в целом, но недостаточно информативна для дифференциальной диагностики РПЖ и ДГПЖ. Более интересна сама причина возникновения ядерной экспрессии АТ2. Нарушение работы рецепторов, связанных с G-белками, приводит к возникновению множества различных заболеваний. Показана в том числе важная их роль в инициации и прогрессировании РПЖ [6]. Активация G-белков при связывании рецепторов АТ2 с лигандом, а именно ангиотензином II, приводит к формированию клеточного ответа, причем его регуляция осуществляется аутокринным и паракринным путем. В последние годы в литературе появился ряд сообщений об участии ангиотензина II и в интракринной регуляции [7]. Это особый и очень интересный механизм: белок или полипептид, синтезируемый непосредственно в клетке, взаимодействует с рецептором внутриклеточно и транслоцируется в ядро. До сих пор считается, что подобный феномен характерен только для тирозинкиназных рецепторов, теперь же показано, что и для рецепторов, ассоциированных с G-белками [8]. В отношении ангиотензина II, уровень которого в ткани ПЖ при доброкачественной гиперплазии и РПЖ повышается, вероятно вследствие внутриклеточного синтеза, уже показано воздействие на транскрипцию генов путем активации ядерного транскрипционного фактора κB [9]. Кроме того, ангиотензин II во многом контролирует клеточный рост и пролиферацию, а также ремоделирование хроматина [10]. Рецепторы ангиотензина II АТ1, помимо ожидаемой их локализации на плазматических мембранах в различных органах и тканях человека, иногда обнаруживаются и в ядрах, в частности, в ядрах клеток почечного эпителия [11]. Недавно ядерная локализация в кардиомиоцитах установлена и для АТ2 [12]. Нами же впервые показано, что АТ2 локализуется и в ядрах клеток железистого эпителия ткани ПЖ при ДГПЖ и РПЖ, что, веро-

ятно, свидетельствует о переходе на интракринный путь регуляции при данных состояниях. Это в конечном счете может приводить к усилению пролиферации, усугублению дисфункций клеток ПЖ и другим негативным эффектам. Естественно, что существенное воздействие на эти патологические процессы оказывает ангиотензинпревращающий фермент (АПФ). Что любопытно, АПФ, также как и рецепторы ангиотензина II, может обнаруживаться в ядре: в работе Н.А. Лусега и соавт. (2010) подобная локализация отмечена в гладкомышечных клетках и клетках эндотелия. Это позволяет предполагать, что помимо функций, выполняемых АПФ на внеклеточном уровне, данный фермент может действовать и внутриклеточно, в том числе активируя те или иные транскрипционные факторы в ядрах клеток [13].

Субстратом АПФ, как известно, является не только ангиотензин I, но и брадикинин — ключевой эффектор ККС, осуществляющий свое действие через рецепторы В1 и В2. Нами обнаружено, что характер экспрессии последних прямо противоположен АТ2. Экспрессия В2 отмечалась в стромах как при ДГПЖ, так и при РПЖ. Это согласуется с данными литературы, свидетельствующими о том, что В2 присутствует конститутивно во многих органах и тканях, тогда как экспрессия В1 индуцируется при стрессе, травмах и воспалении [14]. Известно, что рецепторы В2 во многом контролируют процесс ангиогенеза (Y. Ikeda и соавт., 2004), поэтому неудивительно, что мы обнаружили экспрессию В2 и в эндотелии сосудов. В отличие от В2 экспрессия В1 обнаруживалась исключительно в опухолевой ткани, и локализовались эти рецепторы на мембране клеток малигнизированного железистого эпителия. Далеко не при всех опухолях обнаруживается подобный характер экспрессии: например, при раке пищевода, плоскоклеточном раке головы и шеи и глиобластомах ведущим типом рецепторов ККС является В2 [15]. Таким образом, характер экспрессии рецепторов В1 и В2 при РПЖ существенно отличается от описанного в литературе для опухолей других локализаций. Любопытен тот факт, что и в клеточных линиях, используемых в качестве моделей при изучении тех или иных молекулярно-генетических аспектов РПЖ, он оказался отличным от наблюдаемого нами. Так, например, линия РС3 характеризуется, по данным литературы, наличием экспрессии и В1, и В2 [16]. Это свидетельствует о том, что результаты исследований, выполненных с использованием клеточных линий, могут оказаться нехарактерными для опухолей ПЖ в целом.

Нами не обнаружено корреляций между интенсивностью ИГХ-окрашивания и степенью дифференцировки опухоли, хотя, как показано в литературе, для опухолей других локализаций такая тенденция прослеживалась [17]. Общеизвестно, что развитие злока-

чественной опухоли — процесс мультифакторный, сопряженный с нарушением или перестройкой большей части внутриклеточных механизмов. Мы полагаем, что в первую очередь от них, а не от V1 — компонента ККС, экспрессирующегося исключительно при неопластической трансформации клеток ПЖ, — зависит в конечном итоге степень дедифференцировки опухоли.

Несколько исследований показали, что клетки стромы ПЖ в культуре характеризуются наличием экспрессии AT1, причем количество рецепторов возрастает при обработке клеток ангиотензином II [18]. Более того, как отмечают J.A. Tuxhom и соавт. (2002), коинкубация стромальных клеток с культурой LNCaP приводит к усилению роста опухоли за счет стимуляции ангиогенеза. Можно было бы думать, что экспрессия V2 клетками стромы при РПЖ также так или иначе влияет на малигнизацию, если бы не обнаруженный нами факт наличия экспрессии V2 у пациентов с ДГПЖ, причем такой же интенсивности, как и при РПЖ (см. рис. 5).

Нельзя, однако, утверждать, что только рецептор V1 вовлечен в процесс канцерогенеза при РПЖ. Хорошо известно, что стромально-эпителиальные взаимодействия играют особую роль в этом процессе. Возможно, под воздействием V2 клетки стромы начинают секретировать повышенное количество провоспалительных цитокинов или других медиаторов, влияющих в конечном счете на железистый эпителий и ведущих к его малигнизации. Однако, поскольку V2 детектируется также и в доброкачественном эпителии ПЖ, лишь таргетное ингибирование рецептора V1 потенциально может иметь клиническое значение в терапии пациентов с РПЖ.

Отдельно хотелось бы остановиться на локализации V1 в клетках РПЖ. Иммуноокрашивание с анти-V1-антителами обнаруживалось в тех же самых клетках малигнизированного железистого эпителия, в которых нами была отмечена ядерная экспрессия AT2, однако V1 локализовался не в ядре, а интрамембранозно. Это вполне закономерно для рецепторов, ассоциированных с G-белками, а именно к данному типу рецепторов вместе с AT2 относятся и V1, и V2.

Таким образом, можно говорить о коэкспрессии AT2 и V1 при РПЖ. В литературе имеются данные о том, что ангиотензин II и АПФ *in vivo* и *in vitro* стимулируют избирательную экспрессию множества генов, включая V1 и V2. Нам представляется, что РАС, таким образом, является системой, во многом определяющей функционирование ККС. Различные изменения в тонко настроенном механизме функционирования РАС наблюдаются задолго до возникновения неопластической трансформации клеток; так, например, происходит в случае с AT2, ядерная локализация которого обнаруживается при ДГПЖ, а не только при РПЖ и в фокусах ПИН. Вероятно, такая локализация свидетельствует об интернализации комплекса лиганд — рецептор в ядро, лигандом же при этом может быть ангиотензин II либо АПФ. Оба эти соединения могут не только поступать в клетку извне, но и синтезироваться внутриклеточно [19]. В последнем случае они действуют интракринно, модулируя функционирование транскрипционных факторов, что приводит к увеличению пула пролиферирующих клеток и другим изменениям, например усилению экспрессии гена рецептора V1. Следствием этого в ткани ПЖ в конечном итоге являются изменения отдельных регуляторных звеньев ККС, в частности отмеченный нами переход с функционирования посредством рецептора V2 на V1-регуляторный путь.

Выводы

Рецепторы V1 доминируют на мембране эпителиоцитов при РПЖ, а V2 обнаруживаются в строме. Это указывает на наличие в ткани РПЖ функционально активной ККС, эффекторное воздействие которой на строму и эпителий осуществляется через разные типы рецепторов. При ДГПЖ в железистом эпителии отсутствует экспрессия V1, тогда как рецептор V2 локализован в строме и хорошо выявляется. Данные о характере экспрессии V1 свидетельствуют о возможности использовать его в качестве маркера РПЖ.

Поскольку V2 детектируется также и в доброкачественном эпителии ПЖ, таргетное ингибирование рецептора V1 может иметь клиническое значение в различных стратегиях терапии пациентов с РПЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В.П., Карелин М.И. Рак предстательной железы. СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2004. 148 с.
2. Злокачественные новообразования в России в 2008 г. (заболеваемость и смертность). Под ред. В.И. Чисова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена». 2010. 256 с.
3. Wright J.K., Botha J.H., Naidoo S. Influence of the kallikrein-kinin system on prostate and breast tumour angiogenesis. *Tumour Biol* 2008;29(2):130–6.
4. Puddefoot J.R., Udeozo U.K., Barker S., Vinson G.P. The role of angiotensin II in the regulation of breast cancer cell adhesion and invasion. *Endocr Relat Cancer* 2006;13:895–903.
5. Costa-Neto C.M., Dillenburg-Pilla P., Heinrich T.A. et al. Participation of kallikrein-kinin system in different pathologies. *Int Immunopharmacol* 2008;8(2):135–42.
6. Lyons-Darden T., Daaka Y. Requirement for G proteins in insulin-like growth factor-I-induced growth of prostate cells. *J Mol Endocrinol* 2004;33(1):165–73.

7. Baker K.M., Kumar R. Intracellular angiotensin II induces cell proliferation independent of AT1 receptor. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006;291(5):995–1001.
8. Cook J.L., Mills S.J., Naquin R.T. et al. Cleavage of the angiotensin AT1 receptor and nuclear accumulation of the cytoplasmic carboxy-terminal fragment. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007;292:1313–22.
9. Wolf G., Wenzel U., Burns K.D. et al. Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kappaB through AT1 and AT2 receptors. *Kidney Int* 2002;61:1986–95.
10. Jagannathan R., Kaveti S., Desnoyer R.W. et al. AT1 receptor induced alterations in histone H2A reveal novel insights into GPCR control of chromatin remodeling. *PLoS One* 2010;5(9):12552–6.
11. Pendergrass K.D., Gwathmey T.M., Michalek R.D. et al. The Angiotensin II – AT1 Receptor stimulates reactive oxygen species within the cell nucleus. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;384(2):149–14.
12. Tadevosyan A., Maguy A., Villeneuve L.R. et al. Nuclear-delimited angiotensin receptor-mediated signaling regulates cardiomyocyte gene expression. *J Biol Chem* 2010;285(29):22338–49.
13. Ignjacev-Lazich I., Kintsurashvili E., Conrado J. et al. Angiotensin-converting enzyme regulates bradykinin receptor gene expression. *Am J Physiol* 2005;289:1814–20.
14. Leeb-Lundberg L.M., Marceau F., Muller-Esterl W. et al. International union of pharmacology. XLV. Classification of the kinin receptor family: from molecular mechanisms to pathophysiological consequences. *Pharmacol Rev* 2005;57:27–77.
15. Zhang W., Bhola N., Kalyankrishna S. et al. Kinin B2 receptor mediates induction of cyclooxygenase-2 and Is overexpressed in head and neck squamous cell carcinomas. *Mol Cancer Res* 2008;6:1946–56.
16. Taub J.S., Guo R., Leeb-Lundberg L.M.F. et al. Bradykinin receptor subtype 1 expression and function in prostate cancer. *Cancer Res* 2003;63:2037–41.
17. Bernier S.G., Halder S., Michel T. Bradykinin-regulated interactions of the mitogen-activated protein kinase pathway with the endothelial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem* 2000; 275:30707–15.
18. Lin J., Freeman M.R. Transactivation of ErbB1 and ErbB2 receptors by angiotensin II in normal human prostate stromal cells. *Prostate* 2003;54:1–7.
19. Re R.N. Intracellular renin-angiotensin system: the tip of the intracrine physiology iceberg. *Am J Physiol* 2007;293:295–6.