

Особенности экспрессии лептина и его рецептора при метастатической меланоме кожи

А.А. Лушникова, А.В. Балбуцкий, Д.А. Понкратова, Т.П. Казубская
ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Анна Александровна Лушникова LAN21@yandex.ru

Лептин — многофункциональный гормон с активностью цитокинов, который регулирует важнейшие сигнальные пути и может индуцировать клеточную пролиферацию, инвазию, ангиогенез и опухолевый рост. Лептин играет важную роль в регуляции метаболизма, энергетического обмена и функций нейроэндокринной системы, включая гипофиз, гипоталамус и надпочечники, а также в функционировании иммунной системы. В последнее время появились данные о роли лептина в индукции хронических воспалительных процессов, аутоиммунных патологий, диабета 2-го типа и рака. Повышенный уровень гормона в крови рассматривается как фактор риска различных новообразований.

Цель исследования — анализ уровня экспрессии гормона лептина (*Lep*), длинной и короткой изоформ его рецептора (*LepR1* и *LepR2*) в крови, опухолевых клетках и нормальных фибробластах кожи у больных метастатической меланомой кожи (МК) с различными клинико-патологическими характеристиками для прогностической оценки.

Материалы и методы. Исследовано 15 больных метастатической МК (10 женщин и 5 мужчин, в возрасте 22–67 лет с различными индексами массы тела (ИМТ): от нормы до ожирения). Экспрессию *Lep/LepR* в сыворотке крови, опухоли и нормальных фибробластах кожи и донорской крови определяли с помощью иммуноферментного анализа (ELISA) и метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией на матрице тотальной РНК, выделенной из пар образцов опухолевой и нормальной ткани.

Результаты. В среднем содержание лептина в крови больных МК и в опухолевых клетках превышает эти показатели в норме, а его концентрация у женщин с МК была выше, чем у мужчин. Уровень экспрессии гена *Lep*, а также *LepR1* (но не *LepR2*) в опухолевых клетках оказался сравнительно выше, чем в нормальных фибробластах кожи этих же пациентов, и выше уровня экспрессии гена *GAPDH* в клетках. У больных с избыточной массой тела (ИМТ = 25,00–29,99 кг/м²) отмечена тенденция к повышению концентрации лептина в крови, причем у женщин с МК этот показатель превышал уровень лептина в сыворотке крови больных мужчин. Подтверждена ранее обнаруженная нами взаимосвязь между концентрацией лептина в крови и уровнем экспрессии длинной изоформы его рецептора в опухолевых клетках.

Ключевые слова: метастатическая меланома кожи, лептин, рецептор лептина, экспрессия, сигнальная трансдукция, канцерогенез

DOI: 10.17 650/2313-805X. 2015.2.2.63–67

The features of leptin and its receptor expression in metastatic cutaneous melanoma

A.A. Lushnikova, A.V. Balbutsky, D.A. Ponkratova, T.P. Kazubskaya

N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashirskoye Shosse, Moscow, 115478, Russia

Leptin is a multifunctional hormone with the activity of cytokines, which regulates critical signaling pathways that can induce cell proliferation, invasion, angiogenesis and tumor growth. Leptin plays an important role in the regulation of metabolism, energy exchange, functions of the neuro-endocrine system, including the pituitary, hypothalamus, adrenals, and immune system functions. Recently, some evidences have been appeared concerning the role of leptin in induction of chronic inflammatory processes, autoimmune pathologies, type 2 diabetes and cancer. An elevated blood level of the hormone is considered as a risk factor for different neoplasm development

Objective. Analysis of the hormone leptin (*Lep*), the long and short isoforms of its receptor (*LepR1* and *LepR2*) expression in blood, tumor cells and normal skin fibroblasts in the patients with metastatic cutaneous melanoma (CM) with various clinico-pathological characteristics for prognostic assessment.

Materials and methods. 15 patients with metastatic CM (10 women and 5 men, aged 22 to 67 years with body mass from normal to obese) have been studied. The expression of *Lep/LepR* in the patient and donor blood sera, tumor and normal skin fibroblasts were determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and RT PCR using total RNAs isolated from pairs of tumor samples and normal tissue.

Results. Average level of leptin in the blood of CM patients and in tumor cells exceeds the normal one. Concentration of lepin in female CM patients was higher than in male patients. The expression level of *Lep* and *LepR1* genes (but not *LepR2*) in tumor cells was relatively higher than in normal skin fibroblasts of these patients, and above the level of *GAPDH* gene expression. In the female patients with overweight (body mass index = 25,00–29,99 kg/m²) there was a trend to higher concentrations of leptin in the blood in comparison of the patients with normal body mass and leptin level in the sera of male CM patients. Earlier revealed relationship between the concentration of leptin in blood and the level of expression of the long isoform of its receptor in tumor cells is confirmed.

Key words: metastatic cutaneous melanoma, leptin, leptin receptor, expression, signal transduction, carcinogenesis

Введение

Меланома кожи (МК) относится к наиболее агрессивным опухолям с высокой вероятностью метастазирования. Около 75 % первичных МК распространяются в регионарные лимфатические узлы (ЛУ), при этом 10-летняя выживаемость пациентов падает с 70–80 % (нераспространенная МК I–II стадий) до 8–10 % (III стадия). Метастатическая МК представлена гетерогенной группой быстро прогрессирующих опухолей с плохим прогнозом.

Сравнение на кДНК-микрочипах профилей экспрессии 96 воспалительных цитокинов в 13 непораженных, 10 метастатических сигнальных ЛУ с микрометастазами < 2 мм и в 11 негативных ЛУ выявило в позитивных сигнальных узлах повышенный уровень экспрессии интерлейкина-13 (IL-13), лептина и его рецептора, LTbR и M1P1b. Эти и другие данные указывают на ключевую роль микроокружения метастатических ЛУ в прогрессии ранней МК. Кроме того, сами клетки первичной и метастатической меланомы продуцируют цитокины и хемокины, которые регулируют клеточную пролиферацию, ангиогенез, лимфангиогенез, усиливая злокачественность опухоли [1].

Гормон лептин, кодируемый геном *Lep (Ob)*, в основном секретируется в клетках гипоталамуса, адипоцитах белой и бурой жировой ткани, а также клетках скелетных мышц, желудка и плаценты. Он регулирует тонус симпатической нервной системы, функции щитовидной железы, иммунный ответ, синтез половых гормонов и гормонов роста, массу тела путем модуляции чувства голода или насыщения и ряд других процессов в организме. Лептин участвует в поддержании энергетического баланса и метаболизма, в частности играет важную роль в развитии ожирения и диабета 2-го типа – независимых факторов риска развития опухолей. Недавно выяснилось, что лептин может стимулировать опухолевый рост и метастазирование рака поджелудочной железы, усиливая экспрессию матричной металлопротеиназы-13 (MMP-13) с последующей активацией важнейших сигнальных путей, включая JAK2/STAT3, MAPK/ERK и PI3K/AKT. Установлено, что высокий уровень экспрессии рецептора лептина LepR (Ob-Rb) на мембране опухолевых клеток при раке поджелудочной железы коррелирует с инвазивным ростом и метастазированием этих опухолей [2]. В клетках рака эндометрия также наблюдалась индуцированная лептином гиперактивация указанных сигнальных каскадов и циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) [3]. Сходные механизмы индукции гормонозависимого опухолевого роста (рис. 1) показаны при раке молочной железы (РМЖ), простаты, глиобластоме, раке легкого, плоскоклеточном раке пищевода и при некоторых других неоплазиях [4, 5].

Как показывают эпидемиологические исследования и метаанализ факторов риска развития рака, включая МК, существенный вклад в канцерогенез вносят

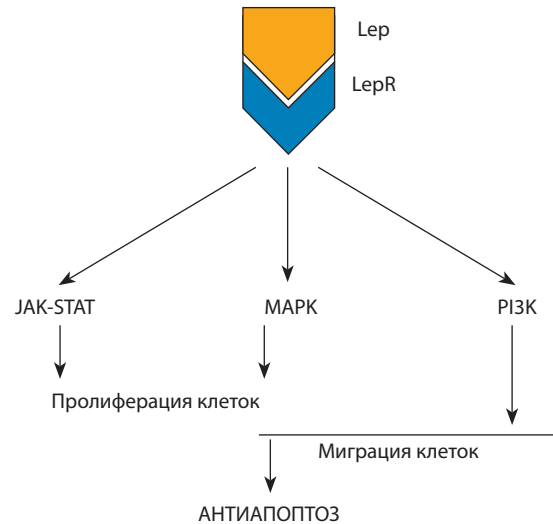


Рис. 1. Высокий уровень лептина, который взаимодействует с соответствующим клеточным рецептором, приводит к активации ключевых сигнальных путей, регулирующих пролиферацию и миграцию клеток. Lep – молекула лептина, LepR – длинная изоформа лептинового рецептора LepR1

ожирение и диабет 2-го типа. В частности, выявлена корреляция между избыточной массой тела (индекс массы тела (ИМТ) > 25–30 кг/м²) и возникновением колоректального рака, РМЖ и/или рака яичников в постменопаузе, рака почек, простаты и меланомы. На мышинных моделях удалось обнаружить, что секреция адипоцитами воспалительных цитокинов рекрутирует макрофаги, которые продуцируют макрофагальный маннозный рецептор, стимулируя ангиогенез и нарушая структуру внеклеточного матрикса. Сходство процессов ангиогенеза при ожирении и раке подтверждает роль лептина в индукции опухолевого роста и в появлении воспалительного инфильтрата [6, 7]. Одной из предпосылок возникновения меланомы при нарушениях липидного обмена ряд авторов считает aberrantные процессы меланогенеза и репарации ДНК в меланоцитах, связанные с резистентностью к лептину, несмотря на высокий уровень этого гормона в сыворотке крови, и гиперэкспрессию в клетках длинной изоформы LepR – основной из 6 изоформ этого рецептора [8]. Оказалось, что инкубация клеток меланомы в среде после культивирования в ней адипоцитов повышает уровень клеточной пролиферации и резистентность меланомы к ДНК-повреждающему препарату цисплатину, а также к доцетакселу и к ингибитору гистоновой деацетилазы SANA посредством активации сигнальных каскадов PI3K/AKT и MEK/ERK, ослабляющих действие ингибиторов PI3K или MEK. Ингибирование взаимодействия Lep–LepR, избирательно активированного в клетках меланомы, может повысить терапевтическое действие препаратов, нацеленных на перечисленные сигнальные пути [9].

Иммуноферментный анализ (ИФА) (ELISA) образцов сыворотки, полученных от 71 пациента со злокачественной меланомой, выявил повышенную

секрецию Lep/LepR на ранних стадиях развития опухоли и постепенное ее снижение к IV стадии. Таким образом, аномально экспрессируемый в клетках меланомы лептин и/или его рецептор может рассматриваться как один из предикторов и возможных опухолевых маркеров [10].

Мы впервые проанализировали особенности экспрессии Lep/LepR у российских больных МК с различными клинико-патологическими характеристиками для предварительной оценки их прогностического значения.

Материалы и методы

Исследовали выборку из 15 больных (5 мужчин и 10 женщин) метастатической МК с уровнем инвазии от II до IV, средний возраст $55,3 \pm 17,4$ года (22–67 лет). Первичная опухоль локализовалась на голени ($n = 3$), бедре ($n = 5$), в височной ($n = 1$) и ягодичной ($n = 1$) областях, на плече ($n = 1$), в брюшной стенке ($n = 2$) и на спине ($n = 2$). У всех пациентов выявлены множественные метастазы в регионарных ЛУ (подмышечных и паховых), а также в печени ($n = 2$), легких ($n = 1$), молочной железе ($n = 1$) и в подкожной жировой клетчатке мягких тканей спины ($n = 3$). В 6 из 15 случаев отмечено изъязвление опухоли, а в 5 из 15 – воспалительный лимфоцитарный инфильтрат. Образцы периферической крови и сыворотки были получены при сдаче клинических анализов натощак. ИМТ пациентов определяли по формуле Кетле–Брока: $I = m/h^2$, где m – масса тела, кг; h – рост, м. Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, нормальная масса тела соответствует индексу 18,50–24,99. В исследуемой выборке у 7 из 15 пациентов была избыточная масса тела (ИМТ = 25,00–29,99 кг/м²), у 2 пациенток – ожирение I степени (ИМТ = 30,00–34,99 кг/м²), у 6 – масса тела в пределах нормы. Для контроля использовали образцы крови, полученной от 10 доноров без онкологической отягощенности.

Тотальную РНК выделяли с помощью набора NucleoSpin RNA kit (Macherey–Nagel Gmb, Германия) из свежего биопсийного материала в присутствии ингибитора РНКазы с последующей патологоанатомиче-

ской верификацией гистологических срезов. Для полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) на матрице опухолевых РНК использовали пары праймеров, подобранные к последовательностям генов *Lep*, *LepR1* (длинная изоформа), *LepR2* (короткая изоформа). Для контроля качества РНК и ОТ-ПЦР использовали праймеры к гену *GAPDH*, для положительного контроля – 18S РНК (табл. 1).

В ОТ-ПЦР использовали по 20 мкг тотальной свежее выделенной РНК, 5 мкл препарата инкубировали с 50 нг рэндом-прайма (RT-PCR kit, Silex, Москва) 2 мин при 90 °С (отжиг) в 10 мМ HEPES (N-2-гидроксиэтилпиперазин- N'-2-этансульфоновая кислота), рН 7,0, 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты в объеме 10 мкл, затем охлаждали во льду и добавляли MMLV-RT-полимеразу (Silex) 20 Ед, инкубируя 90 мин в объеме 20 мкл при 37 °С. ПЦР с указанными праймерами проводили в режиме 25 циклов: 30 с при 94 °С, 45 с при 56 °С, 30 с при 72 °С с терминацией 5 мин при 72 °С, используя амплификатор Терцик (ДНК-технология, Россия). Результаты анализировали в 2 % агарозном геле.

Уровень лептина в сыворотках (нг/мл) в лизатах опухоли и нормальных фибробластах (попарно у 5 пациентов) определяли путем ИФА с набором реагентов и коммерческих моноклональных антител по инструкции производителя (ELISA, DRG Diagnostics, США) с последующей регистрацией интенсивности окрашивания на оптическом ридере.

Результаты и обсуждение

Лептин – многофункциональный гормон с активностью цитокинов, который регулирует важнейшие сигнальные пути и может индуцировать клеточную пролиферацию, инвазию, ангиогенез и опухолевый рост. Повышенный уровень гормона в крови служит фактором риска РМЖ и, возможно, других гормоночувствительных опухолей [11]. Как показывает анализ предварительных данных, средний уровень гормона в крови и в лизатах меланомы у больных МК женщин оказался выше, чем у мужчин. Такое же соотношение наблюдалось в нормальных клетках кожи и донорской крови (табл. 2). В среднем содержание лептина в кро-

Таблица 1. Список использованных для ОТ-ПЦР праймеров и длина соответствующих ампликонов

Ген	Последовательность праймеров	Длина ампликонов
<i>Lep</i>	Pr1: 5'–ACCCTGTGCGGATTCTTGTGG–3' Pr2: 5'–CTCTGTGGAGTAGCCTGAAGC–3'	415 п. н.
<i>LepR1</i>	Pr1: 5'–TGTTGTGAATGTCTTGTGCC–3' Pr2: 5'–TGCTCCAGTCACTCCAGATTCC–3'	395 п. н.
<i>LepR2</i>	Pr1: 5'–ATAGTTCAGTCACCAAGTGC–3' Pr2: 5'–GTCCTGGAGAAGTCTGATGTCC–3'	340 п. н.
<i>GAPDH</i>	Pr1: 5'–TGAAGGTCGGAGTCAACGG–3' Pr2: 5'–TGGAAGATGGTGTATGGGAT	223 п. н.

ви больных МК и опухолевых клетках превышает эти показатели в норме. Индивидуальные различия по уровню экспрессии генов *Lep/LepR* в опухолевых клетках сравнительно невелики, но существенно отличаются от уровня их экспрессии в нормальных клетках. Однако содержание гормона в крови и опухолевых клетках пациентов с МК варьировало более широко (см. табл. 2). Уровень лептина, по-видимому, зависит также от стадии опухолевого процесса. Отмечается тенденция к увеличению уровня лептина в МК с множественными метастазами в отдаленные очаги и в опухолях без изъязвления поверхности (некроза).

У 2 пациентов с избыточной массой тела (ИМТ = 25,00–29,99) отмечена тенденция к повышению концентрации лептина в крови, что согласуется с данными, полученными другими авторами [6, 11]. Повышение уровня этого адипокина при ожирении играет важную роль в модуляции клеточного фенотипа при РМЖ вследствие перекреста лептинзависимых сигнальных путей в клетке, включая активацию STAT3 и Hsp90. Оказалось, что у женщин с повышенной массой тела или ожирением в момент постановки диагноза РМЖ общая смертность от заболевания и повторных рецидивов достигает 54 % [12]. По-видимому, этот механизм, включающий гиперэкспрессию лептина с последующей активацией специфических сигнальных молекул, реализуется и при прогрессии МК.

Вторая заслуживающая внимания особенность обнаружена нами в результате анализа данных ОТ-ПЦР на матрице опухолевой РНК и РНК, параллельно выделенной из нормальной ткани (фибробластов кожи) 5 пациентов. Уровень экспрессии гена *Lep*, а также *LepR1* (но не *LepR2*) в опухолевых клетках оказался сравнительно выше, чем в нормальных фибробластах кожи этих же пациентов, и выше уровня экспрессии гена *GAPDH* (рис. 2). В молекуле лептина 146 аминокислот, кодируемых уникальным геном, содержащим 167 кодонов. Однако лептиновый рецептор представлен не менее чем 6 изоформами, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга транскрипта гена *LepR/Ob-R*. Так называемая длинная изоформа *LepR1* содержит протяженный цитоплазматический домен, необходимый для эффективной сигнальной

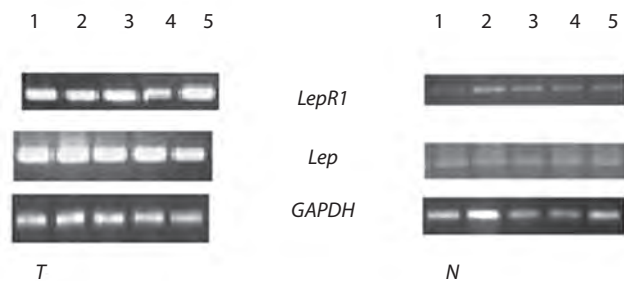


Рис. 2. Результаты ОТ-ПЦР с праймерами к генам *Lep*, *LepR1* и *GAPDH* в опухолевых (Т) и нормальных клетках кожи (N) у 5 больных МК (цифры 1–5 сверху)

трансдукции. В молекулах других изоформ функционально важные домены укорочены и частично утрачивают свою активность. Действительно, результаты ОТ-ПЦР не выявили существенного уровня экспрессии короткой изоформы *LepR2* ни в опухолях, ни в нормальных клетках. Однако укороченные изоформы рецептора, включая *LepR2*, могут служить транспортерами молекул лептина через гематоэнцефалический барьер. Таким образом, подтверждается ранее обнаруженная нами взаимосвязь между концентрацией лептина в крови и уровнем экспрессии длинной изоформы его рецептора в опухолевых клетках [11].

В последнее время предложено несколько подходов, направленных на подавление взаимодействия молекул лептина с длинной изоформой его рецептора, которое приводит к драматической активации сигнальных каскадов и неконтролируемой клеточной пролиферации. В молекуле лептина идентифицировано 3 сайта связывания, которые отвечают за формирование активного комплекса *Lep–LepR*, в частности, аминокислотная последовательность Leu-Asp-Phe-Пе-сайт LDFI. В модельных экспериментах *in vitro* (культуры клеток РМЖ) и *in vivo* (ксенографты РМЖ) с использованием низкомолекулярного пептида, несущего сайт LDFI, удалось снизить уровень активации лептинзависимых сигнальных каскадов JAK2/STAT3/MAPK/ERK/AKT, а также пролиферативную активность клеток и их миграцию. Этот и подобные ему антагонисты лептина и/или блокаторы лептинового рецептора, например нейтрализующие антитела, представляют интерес для молекулярно-нацеленной терапии опухолей [13, 14].

Другой терапевтический подход предусматривает снижение уровня синтазы жирных кислот (FASN), адипокинов лептина и резистина, активирующих протеиназу AKT и модулирующих активности FASN/Cav-1, а также гормональный контроль за массой тела [15]. Еще один экспериментальный подход — подавление окислительного фосфорилирования и биогенеза митохондрий в опухолевых клетках, т.е. контроль энергетического обмена и метаболизма. Он основан на результатах опытов с культурой клеток РМЖ линии MCF-7. При добавлении в культуральную среду лептина (50 нг/мл) значительно повышался уровень про-

Таблица 2. Концентрации лептина у больных МК и в контрольных образцах

Группа	Средняя концентрация лептина в крови/в лизате опухоли больных МК (n = 15), нг/мл (p < 0,05)	Средняя концентрация лептина в нормальных фибробластах (n = 5)/в донорской крови (n = 10), нг/мл (p < 0,05)
Женщины	29,2 ± 3,4/33,3 ± 4,6	11,9 ± 3,6/8,5 ± 1,8
Мужчины	9,5 ± 1,3/11,8 ± 3,1	3,6 ± 0,3/2,2 ± 0,8

лиферации, количество и функциональность митохондрий, устойчивость клеток к оксидативному стрессу, а следовательно, их выживаемость [16].

Другой механизм индукции опухолевого роста лептином связан с аутофагией и повышением экспрессии вовлеченных в этот процесс генов *Atg5*, *LC3 II* и др. Лептин активирует p53/FoxO3A-зависимую аутофагию и опосредует ингибирование апоптоза в клетках гепатомы HepG2 и РМЖ MCF-7 [17].

Несмотря на множество экспериментальных данных, остается много неясных вопросов, касающихся роли и механизмов действия Lep/LepR. Сложность проблемы объясняется плюрипотентностью лептина, регулирующего в организме энергетический баланс, метаболизм, синтез половых гормонов и гормонов роста, функции щитовидной железы, иммунный ответ, воспалительные и другие процессы. Лептин рассматривается как провоспалительный цитокин с широким спектром действия на процесс опухолевого роста и метастазирования по аутокринному или эндокринному пути. Например, один из регуляторных механизмов связан с индукцией секреции опухолью тиреотропного и тиреотропинвысвобождающего гормонов, активирующих MAPK-киназный каскад в клетках ме-

ланомы. Аутокринная регуляция лептином синтеза NO (оксида азота), защищающего клетки меланомы от апоптоза на продвинутых стадиях заболевания, – еще один пример многофункциональности этого гормона, подтверждающий предположение о нейрогормональной природе меланомы [18].

Дальнейший анализ большего количества клинически охарактеризованных образцов МК позволит точнее оценить эти параметры, а также значение экспрессии лептина и его рецептора в прогрессии МК.

Заключение

Многофункциональный гормон лептин представляет большой интерес в качестве регулятора ключевых сигнальных путей, активация которых стимулирует пролиферацию, инвазию и миграцию опухолевых клеток. Лептин и/или его рецептор могут быть потенциальными мишенями для таргетной терапии меланомы. ИФА экспрессии Lep/LepR и ОТ-ПЦР выявил повышенный уровень лептина и его рецептора в опухолях пациентов с МК и в соответствующих сыворотках крови по сравнению с нормой, что указывает на возможную ассоциацию экспрессии Lep/LepR с развитием меланомы, особенно на ранних стадиях канцерогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

- Toritsu-Itakura H., Lee J.H., Scheri R.P. et al. Molecular characterization of inflammatory genes in sentinel and nonsentinel nodes in melanoma. *Clin Cancer Res* 2007;13(11):3125–32.
- Fan Y., Gan Y., Shen Y. et al. Leptin signaling enhances cell invasion and promotes the metastasis of human pancreatic cancer via increasing MMP-13 production. *Oncotarget* 2015; PMID 25948792.
- Gao J., Tian J., Lv Y. et al. Leptin induces functional activation of through JAK2/STAT3, MAPK/ERK and PI3K/AKT pathways in human endometrial cancer cells. *Cancer Sci* 2009;100(3):389–95.
- Cirillo D., Rachiglio A.M., Montagna R. et al. Leptin signaling in breast cancer. An overview. *J Cell Biochem* 2008;105(4):956–64.
- Lawrence J.E., Cook N.J., Rovin R.A., Winn R.J. Leptin promotes glioblastoma. *Review Neurol Res Int* 2012;2012:870807.
- Gogas H., Trakatelli M., Dessypris N. et al. Melanoma risk in association with serum leptin levels and lifestyle parameters: a case-control study. *Ann Oncol* 2008;19(2):384–9.
- Brandon E.L., Gu J.-W., Cantwell L. et al. Obesity promotes melanoma tumor growth: role of leptin. *Cancer Biol Ther* 2009;8(19):1871–9.
- Morpurgo G., Fioretti B., Catacuzzeno I. The increased incidence of malignant melanoma in obese individuals is due to impaired melanogenesis and melanocyte DNA repair. *Med Hypothesis* 2012;78(4):533–5.
- Chi M., Chen J., Ye Y. et al. Adipocytes contribute to resistance of human melanoma cells to chemotherapy and targeted therapy. *Curr Med Chem* 2014;21(10):1255–67.
- Mizutani H., Fukushima S., Masuguchi S. et al. Serum levels of leptin receptor in patients with malignant melanoma as a new tumor marker. *Exp Dermatol* 2013;22(11):748–9.
- Передерева Е.В., Лушникова А.А., Фрыкин А.Д., Пароконная А.А. Гормон лептин и проблемы репродукции. Злокачественные опухоли 2012;(1):35–9. [Peredereeva E.V., Lushnikova A.A., Frykin A.D., Parokonnaya A.A. Hormone leptin and reproduction problems. *Zlokachestvennyye opukholy = Malignant Tumors* 2012;(1):35–9. (In Russ.).]
- Giordano C., Vizza D., Panza S. et al. Leptin increases HER2 protein levels through a STAT3-mediated up-regulation of Hsp 90 in breast cancer cells. *Mol Oncol* 2013;7(3):379–91.
- Catalano S., Leggio A., Barone I. et al. A novel leptin antagonist peptide inhibits breast cancer growth *in vitro* and *in vivo*. *J Cancer Mol Med* 2015;19(5):1122–32.
- McMurphy T., Xiao R., Magee D. et al. The anti-tumor activity of neutralizing nanobody targeting leptin receptor in a mouse model for melanoma. *PLoS One* 2014;9(2):e89895.
- Malvi P., Chaube B., Pandey V. et al. Obesity induced rapid melanoma progression is reversed by orlistat treatment and dietary intervention: role of adipokines. *Mol Oncol* 2015;9(3):689–703.
- Blanquer-Rossello M.D., Santandreu F.M., Oliver J. et al. Leptin modulates mitochondrial function, dynamics and biogenesis in MCF-7 cells. *J Cell Biochem* 2015;doi 10.1002/jcb.25158.
- Nepal S., Kim M.J., Hong J.T. et al. Autophagy induction by leptin contributes to suppression of apoptosis in cancer cells and xenograft model: involvement of p53/FoxO3A axis. *Oncotarget* 2015;6(9):7166–81.
- Ellerhorst J.A., Diwan A.H., Ulfort S.M. Promotion of melanoma growth by the metabolic hormone leptin. *Oncol Rep* 2010;23(4):901–7.