

ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКА УВ-1 В РАКОВЫХ ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

(НАУЧНЫЕ И ЧЕЛОВЕЧЕСКИЕ
ВСТРЕЧИ С АКАДЕМИКОМ ОВЧИННИКОВЫМ)

©2022 г.

Г. П. ГЕНС

*Кафедра онкологии и лучевой терапии,
Московский государственный медико-стоматологический
университет, Москва*

I. Введение. II. Участие УВ-1 в основных процессах опухолевых клеток. III. История исследования значимости УВ-1 в раке молочной железы на российских пациентах. IV. Постскрипtum.

I. ВВЕДЕНИЕ

История знакомства с академиком Львом Павловичем Овчинниковым началась через несколько лет общения с Аллой Александровной Ставровской, профессором, заведующей лабораторией генетики опухолевых клеток НИИ Канцерогенеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина (в настоящее время НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина). В ту пору, в начале 2000-х годов, будучи молодым врачом-онкологом, я живо интересовалась фундаментальной наукой, посещая в качестве вольного слушателя субботние лекции по онкоиммунологии академика Гарри Израилевича Абелева на биологическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова. Гарри Израилевич, видя мою увлечённость вопросами лекарственной устойчивости злокачественных опухолей, познакомил меня с профессором Ставровской, которая заинтересовала меня своими исследованиями в области лекарственной резистентности опухолевых клеток. Так, благодаря Алле Александровне и состоялась через несколько лет знаменательная встреча со Львом Павловичем, о

Принятые сокращения: БВ – безрецидивная выживаемость; ИГХ – иммуногистохимический методом; ЛА – люминальный А; ЛВ – люминальный В; МЛУ – множественная лекарственная устойчивость; ОВ – общая выживаемость; РМЖ – рак молочной железы; РЭ – рецептор-эстроген; ТНР – тройной негативный РМЖ.

Адрес для корреспонденции: Генс Гелена Петровна – gelena974@gmail.com

котором я к тому времени много слышала и читала его труды. Встреча состоялась в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, в одной из лабораторий этого легендарного Института, где мы обсуждали один из совместных проектов. Живо помню обратный путь пешком по улице Вавилова в компании Аллы Александровны и Льва Павловича, это, как мне сейчас вспоминается, был короткий отрезок счастливого живого свободного общения на отвлечённые темы. Вскоре мы начали сотрудничество в рамках проекта по изучению экспрессии гена *YBX1* (*YB-1*) в опухолях молочной железы у пациенток, которые у меня в клинике проходили лечение по поводу злокачественных опухолей. Этот ген и белок и сейчас привлекает многих учёных, исследующих прогнозирование течения болезней, в частности рака молочной железы.

II. УЧАСТИЕ YB-1 В ОСНОВНЫХ ПРОЦЕССАХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Белок YB-1 является мультифункциональным ДНК/РНК-связывающим белком, который участвует во многих процессах в клетке, происходящих как в ядре, так и в цитоплазме. YB-1 регулирует экспрессию многих генов, связанных с пролиферацией клеток, ответом клеток на стресс; генов, связанных с лекарственной устойчивостью и подвижностью клеток. В норме в человеческом организме белок YB-1 участвует в эмбриогенезе, обеспечивает пролиферацию клеток и их защиту от различных агрессивных воздействий окружающей среды. В популяциях же малигнизированных клеток его протективные функции защищают опухоль от химиотерапии и лучевой терапии [1].

Очень интересным и важным оказалось то, что мультифункциональный белок YB-1 регулирует сигнальные пути, связанные с каждой из отличительных особенностей опухолей, описанных в знаменитой классической работе 2000 года Дугласа Ханахана и Роберта Вайнберга «Отличительные признаки рака», где авторы обобщают все известные особенности развития опухоли [2]. В 2000 году этот список состоял из 6 признаков:

1. Неконтролируемая пролиферация клеток;
2. Потеря чувствительности к сигналам, сдерживающим процесс пролиферации;
3. Замедление процессов программируемой клеточной гибели;
4. Неограниченный репликативный потенциал;
5. Активация неоангиогенеза (формирование новых капилляров);
6. Инвазия и метастазирование.

В 2011 году вышло продолжение этой исторической работы [3], где авторы дополнили перечень характеристик опухолевого фенотипа и включили еще четыре признака:

7. Аэробный гликолиз и адаптация стромы опухоли к потребностям роста;
8. Ускользание от иммунного надзора;
9. Геномная нестабильность;
10. Воспаление.

В нескольких работах было показано, что YB-1 регулирует пролиферацию клеток, участвует в преодолении контрольных точек клеточного цикла, способствует репликативному бессмертию и геномной нестабильности, регулирует ангиогенез, играет роль в инвазии клеток и метастазировании опухоли, способствует процессу воспаления [1, 4–9].

На рисунке представлены процессы в опухолевой клетке, в которых принимает участие белок YB-1.

Мы понимали, что этот белок может являться молекулярным маркером опухолевой прогрессии и может быть использован в клинике не только как фактор прогноза, но и как мишень для противоопухолевой терапии.

Принимая во внимание тот факт, что YB-1 участвует во всех «отличительных признаках рака» становится неудивительным, что этот белок имеет сильную связь с различными клиническими параметрами [1, 10–14]. Иммуногистохимические и геномные исследования показали, что увеличение уровня белка YB-1 часто определяется при распространенном раке молочной железы (РМЖ), имеет корреляцию с экспрессией гормональных рецепторов и ассоциировано с плохим клиническим исходом [10, 15–18]. Многолетние исследования проводились разными группами ученых и врачей в разных странах – исследовали глиобластому [19], меланому [20], множественную миелому [21], остеосаркому [22], синовиальную саркому [23], рак предстательной железы [24], колоректальный рак [25], рак яичников [26, 27] и рак легкого [28].

Во многих из этих исследованиях была продемонстрирована роль YB-1 как мощного прогностического фактора. Однако, несмотря на это, клиническая важность YB-1 оставалась недооцененной. Именно это обстоятельство послужило началом нашего проспективного клинико-фундаментального исследования прогностической значимости как локализации белка YB-1, так и экспрессии мРНК *YB-1* у больных РМЖ.

Учитывая множество неоспоримых данных о том, что YB-1 находится на пересечении важнейших молекулярных сигнальных путей,

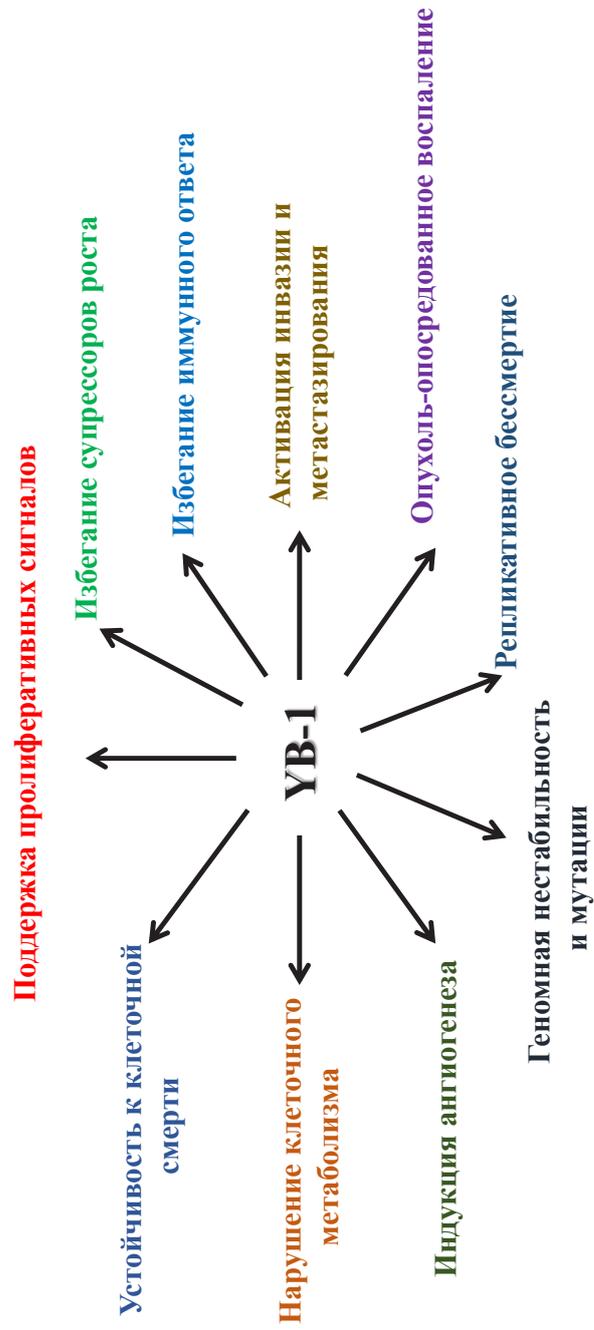


Рис. Участие белка YB-1 в основных процессах, характерных для раковой опухоли.

вовлеченных во все «отличительные признаки рака», становится понятным, что этот онкобелок является очень привлекательной терапевтической мишенью. Повышенный уровень этого белка имеет высокую степень корреляции с плохим клиническим исходом и может быть полезным маркером опухолевой прогрессии и служить новой терапевтической мишенью. Например, принимая во внимание связь YB-1 с агрессивным подтипом РМЖ – тройным негативным (базальноподобным) – избирательное «таргетное» его подавление может иметь дополнительную терапевтическую ценность для подобных, пока трудно поддающихся лечению подтипов РМЖ. Учёные разных стран изучают несколько подходов к избирательному ингибированию YB-1 в опухолевой клетке, среди них как прямое воздействие на белок, так и опосредованное влияние на него через различные регуляторные механизмы.

Один из первых подходов, одновременная активация опухолевого супрессора p53 и подавление экспрессии YB-1 с помощью антисенс-олигонуклеотидов, демонстрировал неплохие результаты ингибирования роста опухолевых клеток [29, 30]. Этот подход имеет существенное ограничение, так как используемые в качестве терапевтического средства нуклеиновые кислоты трудно доставить в раковую клетку. Хотя работы с применением наночастиц показали существенный прогресс в этом направлении [31].

Другой терапевтический подход прямого воздействия на YB-1 – это использование малых интерферирующих РНК (siРНК) [32]. Анти-YB-1 siРНК угнетают способность раковых клеток к инвазии, пролиферации, повышают чувствительность к химиотерапии и приводят к апоптозу [33–35]. Основная трудность этого подхода – это доставка малых РНК в опухоль. При этом сложности возникают не только с биодоступностью, но и с невысокой стабильностью siРНК, как в пробирке (при хранении), так и в клетках и тканях. Технологии доставки малых РНК улучшаются с применением нанотехнологий [32].

Ещё одним подходом регуляции количества YB-1 является непосредственное влияние на синтез его мРНК (транскрипцию) или синтез белка (трансляцию). Активно исследуется влияние ингибиторов сигнальных путей mTOR и ILK, под контролем которых находится транскрипция и трансляция мРНК YB-1 [36, 37].

Другой подход к ингибированию YB-1 в опухолях молочной железы и предстательной железы заключается в так называемой «молекулярной приманке». Получен пептид – CPP, который служит «приманкой» и конкурирует с YB-1 за связывание с киназами RSK и Akt, которые фосфорилируют YB-1 [38]. В этом случае происходит не снижение количества YB-1, а уменьшение его фосфорилирования

и ядерного накопления. Очень важно, что исследованный пептид не оказывает никакого влияния на нормальную ткань желез, вероятно, потому что YB-1 в норме локализован преимущественно в цитоплазме и слабо фосфорилирован.

Использование ингибиторов передачи сигнала также является подходом, который привлекает исследователей и широко апробируется в испытаниях для подавления активности YB-1, в первую очередь его фосфорилирования [39–47].

Учитывая все прибавляющиеся факты, свидетельствующие о вовлечении YB-1 в опухолевую прогрессию, и возрастающий интерес к терапии на основе ингибирования этого белка, мы уверены в том, что необходимо продолжать работы в этом направлении. Мы, как клиницисты, открыты для организации совместных коллабораций с фундаментальными учёными. И, конечно, вспоминая Льва Павловича, на этих страницах мне хотелось бы рассказать о результатах нашей совместной большой работы, которая проводилась в течении десятилетия.

III. ИСТОРИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЗНАЧИМОСТИ YB-1 В РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТАХ

Целью нашего первого этапа сотрудничества мы видели прежде всего доказательство значимости локализации белка YB-1 и экспрессии мРНК *YB-1* в опухоли молочной железы для прогноза течения РМЖ, и возможность создания теста на основе анализа локализации YB-1/экспрессии мРНК *YB-1* для применения в клинической практике.

К началу нашей работы было показано, что в различных злокачественных опухолях (опухолях молочной железы, легкого, яичников, остеосаркомах и некоторых других) может быть повышено количество клеток, в которых YB-1 локализован в ядрах. Было обнаружено, что такое повышение коррелирует с резистентностью опухолей к химиотерапии и с неблагоприятным течением заболевания [48–53]. Локализацию YB-1 в ядрах малигнизированных клеток было предложено рассматривать в качестве маркера множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) злокачественных новообразований [51]. В связи с этим мы запланировали исследования, ставящие своей задачей изучить внутриклеточную локализацию YB-1 в опухолях молочной железы. Поскольку другим критерием, позволявшем судить о статусе YB-1 в опухоли могло быть количество белка YB-1 или количество мРНК YB-1, мы начали проводить работу в этом направлении. Прежде всего, мы отработали методы

исследования. Во-первых, с целью определения степени экспрессии мРНК YB-1 мы применили метод полуколичественной ОТ-ПЦР, и сравнили полученные с помощью этого метода результаты с данными, полученными методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Оба метода дали сходные результаты, что позволило нам рекомендовать более простой и дешевый метод полуколичественной ОТ-ПЦР для анализа экспрессии мРНК YB-1 в опухолевом материале. Важно подчеркнуть, что до нас никто не определял количество мРНК YB-1 в опухолях. Во-вторых, мы ввели сочетание окраски препаратов опухолей антителами против YB-1 с окраской ядер клеток красителем Хехст 33258. Это позволяло более строго судить о внутриклеточной локализации исследуемого белка [18].

Исследование срезов операционного материала опухолей молочной железы показало, что белок YB-1 в 25% случаев локализуется в ядрах клеток. Нам удалось выявить значимое количество больных с ядерной локализацией YB-1 в опухоли, при этом количество клеток с YB-1 в ядрах колебалось в разных случаях от 10% до 100%. Мы выявили, что локализация YB-1 не ассоциирована ни с размером опухоли, ни с поражением лимфатических узлов, ни с экспрессией гормональных рецепторов, ни с молекулярно-биологическим подтипом РМЖ [18]. Таким образом, на данном этапе исследования локализация YB-1 была признана нами независимым прогностическим фактором неблагоприятного клинического исхода.

Мы впервые показали, что опухоли малых размеров у больных, не получавших химиотерапию, нередко характеризуются повышенным количеством мРНК сразу нескольких генов МЛУ. При этом белок YB-1 в этих опухолях чаще всего имеет цитоплазматическую локализацию. Таким образом, в нашей работе [18] именно цитоплазматическая, а не ядерная локализация YB-1 оказалась нередко ассоциирована с гиперэкспрессией генов МЛУ в опухолях молочной железы малых размеров. Этот результат стал для нас довольно неожиданным. Хотя, надо подчеркнуть, что, несмотря на достаточно многочисленные исследования, опубликованные к началу наших исследований, ядерная локализация YB-1 пока не стала принятым маркером МЛУ опухолей. Мы это объяснили следующим образом: оказалось, что в некоторых выборках больных ядерная локализация YB-1 обнаруживалась значительно реже [20, 23], чем в нашем исследовании, поэтому не всегда можно было достоверно оценить искомые корреляции. Наши результаты свидетельствуют в пользу того, что и цитоплазматическая локализация YB-1 может влиять на экспрессию генов лекарственной устойчивости, вероятно, стабилизируя мРНК этих генов в цитоплазме опухолевых клеток.

В ходе своей работы мы увидели, что внутриклеточная локализация YB-1 – это непостоянный признак, и он меняется под влиянием факторов внешней среды. Мы обнаружили, что перемещению YB-1 в ядра клеток способствует неoadьювантная терапия, и подтвердили этот факт в опытах с клеточными культурами. Ранее было показано, что лечение 27-ми больных РМЖ таксолом примерно в одной трети случаев привело к перемещению YB-1 в ядра опухолевых клеток, это сопровождалось повышением экспрессии Р-гликопротеина [52]. Наши соавторы продемонстрировали, что изменение количества сыворотки в культуральной среде приводят к изменениям внутриклеточной локализации YB-1 [53], что совпадает с данными японских исследователей [12]. Изменчивость внутриклеточного распределения YB-1 под влиянием факторов внешней среды позволила нам сформулировать следующую гипотезу: переход YB-1 в ядра опухолевых клеток необходим для адаптации популяции клеток к изменившимся условиям существования. Это позволяет опухолевой популяции временно приспособляться к новым неблагоприятным для неё условиям, воздействию внешних факторов, а именно – лечению рака цитостатиками.

Изучение связи ядерной локализации YB-1 и безрецидивной выживаемости (БВ) больных РМЖ показало, что различия между группами «ядерная локализация YB-1» и «цитоплазматическая локализация YB-1» были статистически не значимы. Важно подчеркнуть, однако, что в группе больных, у которых YB-1 не детектировался иммуногистохимическим методом (ИГХ), за весь период наблюдения (80 месяцев) не было выявлено ни одного случая прогрессирования заболевания или смерти больного [54]. Это свидетельствует в пользу того, что выявление экспрессии YB-1 в любом компартменте клетки является неблагоприятным признаком – худшей выживаемостью больных РМЖ по сравнению с группой больных, в опухолях которых YB-1 не экспрессируется.

Отдельной проблемой при использовании ядерной локализации YB-1 или тотальной экспрессии этого белка в клетке как прогностического маркера являются различия в методиках проведения ИГХ, принятые в разных лабораториях. Так, например, в ряде исследований только очень малая часть – от 1 до 3% опухолевых клеток однозначно демонстрируют ядерную локализацию этого онкобелка [23, 29]. И большинство последних исследований показывают, что общий уровень YB-1, а это, преимущественно, цитоплазматическая его локализация, является достаточным индикатором для прогнозирования исхода болезни [4, 7, 55, 56].

В ходе нашей совместной работы мы показали, что воздействие агрессивных факторов внешней среды (проведение химиотерапии) способствует перемещению белка YB-1 в ядро опухолевой клетки. Ранее это считалось признаком развития МЛУ и более раннего метастазирования опухоли, однако, в ряде работ [16] и в нашей работе [54] мы не выявили связи ядерной локализации YB-1 и ухудшения выживаемости пациентов. Следовательно, мы не рекомендовали определение локализации YB-1 в опухолевой клетке в качестве прогностического теста. Более того, мы показали в опытах *in vitro*, что ядерная локализация YB-1 в большинстве случаев – это временное состояние, необходимое для адаптации клетки к изменившимся внешним условиям [57].

Далее мы задались вопросом – имеет ли прогностическую значимость такой показатель, как экспрессия мРНК YB-1 в ткани РМЖ. До нашего исследования работы по изучению прогностической значимости количества мРНК YB-1 в опухолях молочной железы отсутствовали. Мы провели сравнительное изучение значимости внутриклеточной локализации YB-1 и количества мРНК YB-1. Прежде всего, мы впервые показали, что эти два параметра являются независимо варьирующими признаками клетки: в опухолях наблюдаются различные сочетания изучаемых параметров [54, 58, 59]. Это позволяет рассматривать внутриклеточную локализацию YB-1 и количество мРНК YB-1 как дискретные признаки РМЖ.

Мы выявили, что количество мРНК YB-1 в опухоли не коррелирует с такими клиническими признаками, как размеры опухоли, наличие метастазов в регионарные лимфоузлы и экспрессия рецепторов стероидных гормонов [54, 58, 59].

Клиническая онкология сегодня меняется стремительно и клиницистам теперь хорошо известно, что в современной онкологии, такого «общего» диагноза как «рак молочной железы» более не существует, есть 4 разные болезни под общим названием «рак молочной железы» и различаются они по своим молекулярно-биологическим характеристикам на люминальный А (ЛА), люминальный В (ЛВ), Her-2/neu позитивный и тройной негативный (ТНР) рак молочной железы. Эти 4 формы болезни имеют не только разное течение болезни и прогноз, но и требуют разной тактики лечения. Поэтому мы были уверены в том, что необходим анализ мРНК YB-1 в подгруппах больных с разным молекулярно-биологическим подтипом опухоли.

При кластеризации генов Sorlie и соавторы отнесли YB-1 в уникальную группу генов, которая не совпадает с уже выделенными молекулярно-биологическими подтипами РМЖ и значение которой требует дальнейшего изучения [60]. S. Dunn и соавторы также пока-

зали, что прогностическое значение *YB-1* не связано с биологическим типом РМЖ [20]. Эти данные и наши собственные наблюдения свидетельствуют в пользу универсального значения *YB-1* для прогноза течения РМЖ.

Мы проанализировали ассоциацию степени экспрессии мРНК *YB-1* с подтипом опухоли и выявили, что высокая экспрессия мРНК *YB-1* встречается при ЛА, ЛБ и ТНР в 74%, 73% и 58% случаев, соответственно. Сочетание подтипа HER2 и *YB-1* не анализировали в связи с малой выборкой больных. Статистически значимых отличий по распределению экспрессии *YB-1* среди подтипов опухолей не выявлено [54, 58, 59]. Таким образом, экспрессия мРНК *YB-1* может являться независимым прогностическим признаком и может быть маркером при любом биологическом подтипе.

Мы обнаружили четкую корреляцию между количеством мРНК *YB-1* и активностью пролиферации опухолевых клеток [57]. Действительно, есть немало данных, показывающих, что *YB-1* – один из важных регуляторов пролиферации клеток. Приведем ряд примеров: было показано, что повышенная экспрессия белка *YB-1* коррелирует с экспрессией ДНК-топоизомеразы II и PCNA (proliferating cell nuclear antigen) при опухолях легкого, раке толстого кишечника [25]. О том, что *YB-1* – позитивный модулятор пролиферации клеток свидетельствуют исследования РМЖ [48], рака простаты [24], рака толстой кишки [25]. *YB-1* вовлечен в регуляцию активности нескольких путей трансдукции пролиферативного сигнала [61–63]. Инактивация *YB-1* приводила к нарушению фазы G2/M [64]. Таким образом, наши результаты, впервые показавшие, что количество мРНК *YB-1* коррелирует с показателями пролиферативной активности клеток РМЖ, дополняют существующие представления о связи *YB-1* и пролиферации клеток опухолей различного гистогенеза.

Мы проанализировали безрецидивную и общую выживаемость (БВ и ОВ, соответственно) у больных раком молочной железы с различной экспрессией мРНК *YB-1* на сроках наблюдения от 6 до 103 месяцев (средний срок наблюдения 60 месяцев). Нами обнаружены в однофакторном анализе статистически значимые различия по БВ в зависимости от степени экспрессии мРНК *YB-1* в ткани опухоли молочной железы. Далее мы провели многофакторный анализ, который выявил, что экспрессия мРНК *YB-1* является лучшим прогностическим фактором по сравнению с параметрами Т (размер опухоли), N (количество поражённых метастатических лимфоузлов), менопаузальным статусом пациентки и её возрастом [54]. Таким образом, высокую экспрессию мРНК *YB-1* можно рассматривать как фактор неблагоприятного прогноза течения РМЖ. Интересно, что

высокая экспрессия мРНК *YB-1* была надежным показателем худшей БВ больных в выделенной благоприятной группе с малыми размерами опухоли (T1–2). Кроме того, мы показали, что в группе больных с рецептор-эстроген (РЭ) позитивными опухолями определение высокой экспрессии мРНК *YB-1* также позволяет выделить группу повышенного риска [54, 58, 65].

Ещё в 1989 году Carter et al. в одном из ранних крупных исследований на 24 750 пациентках [66] показали, что в группе больных с малыми опухолями существует небольшая часть, в которой пятилетняя выживаемость значительно ниже (54% против 94%) по сравнению с общей массой таких больных. Теперь известно, что не только размер опухоли предопределяет исход заболевания, но и молекулярно-биологические маркеры, к которым можно отнести экспрессию *YB-1*. Мы считаем, что очень важным результатом работы явилось то, что наши данные позволили выделить группу больных РМЖ с малыми опухолями и с высоким содержанием мРНК *YB-1* в группу повышенного риска возникновения рецидивов и отдаленных метастазов.

Высокая частота и раннее прогрессирование рака могут быть связаны с различными механизмами влияния *YB-1* на неопластическую ткань [4]. На сегодняшний день есть немало доказательств того, что *YB-1* участвует в проявлении каждой отличительной особенности опухолевой клетки (см. раздел II. Участие *YB-1* в основных процессах опухолевых клеток), в том числе в пролиферации клеток, репликативном бессмертии, геномной нестабильности, ангиогенезе, инвазии клеток и метастазировании опухоли. Таким образом, *YB-1* участвует в регуляции нескольких глобальных сигнальных путей, отвечающих за злокачественный потенциал опухолевых клеток, что в клинической практике означает более короткую БВ больных РМЖ.

Как международные, так и российские клинические рекомендации последних лет по лечению РМЖ предлагают генетическое исследование опухоли (21-генная панель) для выявления той группы больных, кому необходимо проведение химиотерапии на ранних стадиях болезни. Это исследование выявляет экспрессию генов, ответственных за агрессивное биологическое поведение опухоли.

Прогностический тест, который мы предложили, также основан на определении биологии опухоли с помощью маркера – многофункционального белка *YB-1*, принимающего участие в развитии всех признаков злокачественной клетки и стоящего на пересечении многих сигнальных путей, направленных на поддержание пролиферации и выживаемости опухолевых клеток. Для оценки достоверности прогностического теста «Экспрессия мРНК *YB-1*»

мы применили комплекс критериев оценки результатов тестов, принятых в биомедицинском анализе: чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов. Чувствительность нашего теста составила 85%, специфичность – 41%, предсказательная ценность положительного результата (ПЦПР) – 36,2%, предсказательная ценности отрицательного результата (ПЦОР) – 87,5% [67].

Такие высокочувствительные и низкоспецифичные тесты, прежде всего, нужны для выделения группы низкого риска прогрессирования заболевания, которым не требуется дополнительная химиотерапия. Как правило, молекулярные тесты применяются для того, чтобы выявить больных, которым нужна терапия. Однако не стоит забывать о том, что тест может использоваться для обнаружения той популяции больных, которым проведение системной терапии не принесет дополнительной выгоды [68]. Действительно, в нашем исследовании в группе пациентов с низкой экспрессией мРНК *YB-1* за все время наблюдения было выявлено только три случая прогрессирования РМЖ из 24 больных [59]. Подобные тесты с низкой специфичностью подразумевают, что высоко количество ложноположительных случаев. Применительно к нашему тесту, это означало, что в группе с высокой экспрессией мРНК *YB-1* в опухолевой ткани пациенток прогрессирование заболевания случится не у всех больных. В нашем исследовании среди больных с высокой экспрессией прогрессирование наблюдалось у 36% больных. Таким образом, эти данные могли свидетельствовать о том, что предлагаемый нами тест имеет отрицательную прогностическую ценность. Для подтверждения этого мы рассчитали ПЦОР, которая составила 87,5% [59]. Следовательно, мы постулировали, что больные с низкой экспрессией мРНК *YB-1* не нуждаются в проведении дополнительного/агрессивного лечения, даже если присутствуют другие неблагоприятные факторы прогноза, например, «продвинутая» стадия заболевания. Это подтверждается в однофакторном анализе, который показал независимость экспрессии гена *YB-1* от размеров опухоли, количества метастатических лимфоузлов, рецепторов эстрогена и прогестерона, а многофакторный анализ показал большую прогностическую значимость экспрессии *YB-1* для БВ среди этих показателей [54, 59].

Таким образом, мы показали, что экспрессия мРНК *YB-1* по результатам как однофакторного, так и многофакторного анализов является независимым прогностическим признаком для больных РМЖ, его повышенная экспрессия статистически значимо ассоциирована с худшей БВ, при этом для больных как с большими, так и с малыми

размерами опухоли, независимо от биологического подтипа опухоли. Мы рекомендовали определение уровня экспрессии мРНК YB-1 в качестве прогностического теста для больных РМЖ. Выявление повышенного уровня мРНК YB-1 позволило нам отнести больных в группу риска по раннему прогрессированию опухоли, независимо от стадии заболевания, и проводить более агрессивные режимы химиотерапии данным больным.

IV. ПОСТСКРИПТУМ

Как вероятно заметил уважаемый читатель этих строк, мы получили интересные для науки и важные для пациентов результаты. Но в ходе работы, на этом длинном пути, были не только взлёты, но и падения, когда казалось, что работа заходит в тупик...

В этих случаях Алла Александровна Ставровская говорила – надо позвонить Льву Павловичу, посоветоваться.

Лев Павлович Овчинников был всегда открыт для человеческого общения и обсуждения научных проблем, для терпеливого объяснения непонятных фундаментальных феноменов клиницистам, при этом с неизменным удовольствием воспринимал всё новое из клинической онкологии.

В моей памяти он навсегда останется светлым человеком, прекрасным учёным и образцом для подражания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alkrekshi, A., Wang, W., Rana, P.S., Markovic, V., Sossey-Alaoui, K. (2021) A comprehensive review of the functions of YB-1 in cancer stemness, metastasis and drug resistance, *Cellular Signalling*, **85**, 110073.
2. Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2000) The hallmarks of cancer, *Cell*, **100**, 57–70.
3. Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2011) Hallmarks of cancer: the next generation, *Cell*, **144**, 646–674.
4. Генс Г.П., Ставровская А.А. (2010) Белок YB-1 как фактор прогноза при раке молочной железы, *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*, **21**, 3–10.
5. Елисеева И.А., Ким Е.Р., Гурьянов С.Г., Овчинников Л.П., Лябин Д.Н. (2011) Y-бокс-связывающий белок 1 (YB-1) и его функции, *Успехи биологической химии*, **51**, 65–132.
6. Lee, C., Dhillon, J., Wang, M.Y., Gao, Y., Hu, K., Park, E., Astanehe, A., Hung, M.C., Eirew, P., Eaves, C.J., Dunn, S.E. (2008) Targeting YB-1 in HER-2 overexpressing breast cancer induces apoptosis via the mTOR/STAT3 pathway and suppresses tumor growth in mice, *Cancer Research*, **68**, 8661–8666.
7. Homer, C., Knight, D.A., Hananeia, L., Sheard, P., Risk, J., Lasham, A., Royds, J.A., Braithwaite, A.W.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

- (2005) Y-box factor YB-1 controls p53 apoptotic function, *Oncogene*, **24**, 8314–8325.
8. Kosnopfel, C., Sinnberg, T., Sauer, B., Niessner, H., Muenchow, A., Fehrenbacher, B., Schaller, M., Mertens, P.R., Garbe, C., Thakur, B.K., Schitteck, B. (2020) Tumor progression stage-dependent secretion of yb-1 stimulates melanoma cell migration and invasion, *Cancers (Basel)*, **12**, 1–17.
 9. Takahashi, M., Shimajiri, S., Izumi, H., Hirano, G., Kashiwagi, E., Yasuniwa, Y., Wu, Y., Han, B., Akiyama, M., Nishizawa, S., Sasaguri, Y., Kohno, K. (2010) Y-box binding protein-1 is a novel molecular target for tumor vessels, *Cancer science*, **101**, 1367–1373.
 10. Huang, J., Tan, P., Li, K., Matsumoto, K., Tsujimoto, M., Bay, B.H. (2005) Y-box binding protein, YB-1, as a marker of tumor aggressiveness and response to adjuvant chemotherapy in breast cancer, *International Journal Oncology*, **26**, 607–613.
 11. Saji, H., Toi, M., Saji, S., Koike, M., Kohno, K., Kuwano, M. (2003) Nuclear expression of YB-1 protein correlates with P-glycoprotein expression in human breast carcinoma, *Cancer Letters*, **190**, 191–197.
 12. Генс Г.П., Стромская Т.П., Калита О.В., Вайман А.В., Рыбалкина Е.Ю., Овчинников Л.П., Сорокин А.В., Коробкова Л.И., Астраханцев А.Ф., Муха С.Ф., Моисеева Н.И., Ставровская А.А. (2009) Исследование белка YB-1 в опухолях молочной железы, *Клиническая и лабораторная диагностика*, **4**, 21–24.
 13. Генс Г.П., Моисеева Н.И., Рыбалкина Е.Ю., Стромская Т.П., Вайман А.В., Овчинников Л.П., Ставровская А.А. (2010) Внутриклеточная локализация белка YB-1 и химиотерапия опухолей молочной железы, *Российский биотерапевтический журнал*, **4**, 77–84.
 14. Evdokimova, V., Tognon, C., Ng, T., Ruzanov, P., Melnyk, N., Fink, D., Sorokin, A., Ovchinnikov, L.P., Davicioni, E., Triche, T.J., Sorensen, P.H. (2009) Translational activation of snail1 and other developmentally regulated transcription factors by YB-1 promotes an epithelial-mesenchymal transition, *Cancer Cell*, **15**, 402–415.
 15. Dahl, E., En-Nia, A., Wiesmann, F., Krings, R., Djudjaj, S., Breuer, E., Fuchs, T., Wild, P.J., Hartmann, A., Dunn, S.E., Mertens, P.R. (2009) Nuclear detection of Y-box protein-1 (YB-1) closely associates with progesterone receptor negativity and is a strong adverse survival factor in human breast cancer, *BMC Cancer*, **9**, 410.
 16. Habibi, G., Leung, S., Law, J.H., Gelmon, K., Masoudi, H., Turbin, D., Pollak, M., Nielsen, T.O., Huntsman, D., Dunn, S.E. (2008) Redefining prognostic factors for breast cancer: YB-1 is a stronger predictor of relapse and disease-specific survival than estrogen receptor or HER-2 across all tumor subtypes, *Breast Cancer Research*, **10**, R86.
 17. Lasham, A., Samuel, W., Cao, H., Patel, R., Mehta, R., Stern, J.L., Reid, G., Woolley, A.G., Miller, L.D., Black, M.A., Shelling, A.N., Print, C.G., Braithwaite, A.W. (2012) YB-1, the E2F pathway, and regulation of tumor cell growth, *Journal of the National Cancer Institute*, **104**, 133–146.
 18. Woolley, A.G., Algie, M., Samuel, W., Harfoot, R., Wiles, A., Hung, N.A., Tan, P.H., Hains, P., Valova, V.A., Huschtscha, L., Royds, J.A., Perez, D., Yoon, H.S., Cohen, S.B., Robinson, P.J., Bay, B.H., Lasham, A., Braithwaite, A.W. (2011) Prognostic association of YB-1 expression in breast cancers: a matter of antibody, *PLoS One*, **6(6)**:e20603.
 19. Faury, D., Nantel, A., Dunn, S.E., Guiot, M.C., Haque, T., Hauser, P.,

- Garami, M., Bognár, L., Hanzély, Z., Liberski, P.P., Lopez-Aguilar, E., Valera, E.T., Tone, L.G., Carret, A.S., Del Maestro, R.F., Gleave, M., Montes, J.L., Pietsch, T., Albrecht, S., Jabado, N. (2007) Molecular profiling identifies prognostic subgroups of pediatric glioblastoma and shows increased YB-1 expression in tumors, *Journal of clinical oncology*, **25**, 1196–1208.
20. Schittek, B., Psenner, K., Sauer, B., Meier, F., Iftner, T., Garbe, C. (2007) The increased expression of Y box-binding protein 1 in melanoma stimulates proliferation and tumor invasion, antagonizes apoptosis and enhances chemoresistance, *International journal of cancer*, **120**, 2110–2118.
21. Chatterjee, M., Rancso, C., Stühmer, T., Eckstein, N., Andrulis, M., Gercke, C., Lorentz, H., Royer, H.D., Bargou, R.C. (2008) The Y-box binding protein YB-1 is associated with progressive disease and mediates survival and drug resistance in multiple myeloma, *Blood*, **111**, 3714–3722.
22. Oda, Y., Sakamoto, A., Shinohara, N., Ohga, T., Uchiumi, T., Kohno, K., Tsuneyoshi, M., Kuwano, M., Iwamoto, Y. (1998) Nuclear expression of YB-1 protein correlates with P-glycoprotein expression in human osteosarcoma, *Clinical cancer research*, **4**, 2273–2277.
23. Oda, Y., Ohishi, Y., Saito, T., Hinoshita, E., Uchiumi, T., Kinukawa, N., Iwamoto, Y., Kohno, K., Kuwano, M., Tsuneyoshi, M. (2003) Nuclear expression of Y-box-binding protein-1 correlates with P-glycoprotein and topoisomerase II alpha expression, and with poor prognosis in synovial sarcoma, *The Journal of pathology*, **199**, 251–258.
24. Giménez-Bonafé, P., Fedoruk, M.N., Whitmore, T.G., Akbari, M., Ralph, J.L., Ettinger, S., Gleave, M.E., Nelson, C.C. (2004) YB-1 is upregulated during prostate cancer tumor progression and increases P-glycoprotein activity, *Prostate*, **59**, 337–349.
25. Shibao, K., Takano, H., Nakayama, Y., Okazaki, K., Nagata, N., Izumi, H., Uchiumi, T., Kuwano, M., Kohno, K., Itoh, H. (1999) Enhanced coexpression of YB-1 and DNA topoisomerase II alpha genes in human colorectal carcinomas, *International journal of cancer*, **83**, 732–737.
26. Basaki, Y., Hosoi, F., Oda, Y., Fotovati, A., Maruyama, Y., Oie, S., Ono, M., Izumi, H., Kohno, K., Sakai, K., Shimoyama, T., Nishio, K., Kuwano, M. (2007) Akt-dependent nuclear localization of Y-box-binding protein 1 in acquisition of malignant characteristics by human ovarian cancer cells, *Oncogene*, **26**, 2736–2746.
27. Kamura, T., Yahata, H., Amada, S., Ogawa, S., Sonoda, T., Kobayashi, H., Mitsumoto, M., Kohno, K., Kuwano, M., Nakano, H. (1999) Is nuclear expression of Y box-binding protein-1 a new prognostic factor in ovarian serous adenocarcinoma? *Cancer*, **85**, 2450–2454.
28. Shibahara, K., Sugio, K., Osaki, T., Uchiumi, T., Maehara, Y., Kohno, K., Yasumoto, K., Sugimachi, K., Kuwano, M. (2001) Nuclear expression of the Y-box binding protein, YB-1, as a novel marker of disease progression in non-small cell lung cancer, *Clinical cancer research*, **7**, 3151–3155.
29. Homer, C., Knight, D.A., Hananeia, L., Sheard, P., Risk, J., Lasham, A., Royds, J.A., Braithwaite, A.W. (2005) Y-box factor YB1 controls p53 apoptotic function, *Oncogene*, **24**, 8314–8325.
30. Lasham, A., Moloney, S., Hale, T., Homer, C., Zhang, Y.F., Murison, J.G., Braithwaite, A.W., Watson, J. (2003) The Y-box-binding protein, YB1, is a potential negative regulator of the p53 tumor suppressor, *The Journal of biological chemistry*, **278**, 35516–35523.

31. Huschka, R., Barhoumi, A., Liu, Q., Roth, J.A., Ji, L., Halas, N.J. (2012) Gene silencing by gold nanoshell-mediated delivery and laser-triggered release of antisense oligonucleotide and siRNA, *American Chemical Society nano*, **6**, 7681–7691.
32. Seton-Rogers, S. (2012) Therapeutics: siRNAs jump the hurdle, *Nature reviews. Cancer*, **12**, 376–377.
33. Fotovati, A., Abu-Ali, S., Wang, P.S., Deleyrolle, L.P., Lee, C., Triscott, J., Chen, J.Y., Franciosi, S., Nakamura, Y., Sugita, Y., Uchiumi, T., Kuwano, M., Leavitt, B.R., Singh, S.K., Jury, A., Jones, C., Wakimoto, H., Reynolds, B.A., Pallen, C.J., Dunn, S.E. (2011) YB-1 bridges neural stem cells and brain tumor-initiating cells via its roles in differentiation and cell growth, *Cancer Research*, **71**, 5569–5578.
34. Gao, Y., Fotovati, A., Lee, C., Wang, M., Cote, G., Guns, E., Toyota, B., Faury, D., Jabado, N., Dunn, S.E. (2009) Inhibition of Y-box binding protein-1 slows the growth of glioblastoma multiforme and sensitizes to temozolomide independent O6-methylguanine-DNA methyltransferase, *Molecular cancer therapeutics*, **8**, 3276–3284.
35. Lee, C., Dhillon, J., Wang, M.Y., Gao, Y., Hu, K., Park, E., Astanehe, A., Hung, M.C., Eirew, P., Eaves, C.J., Dunn, S.E. (2008) Targeting YB-1 in HER-2 overexpressing breast cancer cells induces apoptosis via the mTOR/STAT3 pathway and suppresses tumor growth in mice, *Cancer Research*, **68**, 8661–8666.
36. Hsieh, A.C., Liu, Y., Edlind, M.P., Ingolia, N.T., Janes, M.R., Sher, A., Shi, E.Y., Stumpf, C.R., Christensen, C., Bonham, M.J., Wang, S., Ren, P., Martin, M., Jessen, K., Feldman, M.E., Weissman, J.S., Shokat, K.M., Rommel, C., Ruggero, D. (2012) The translational landscape of mTOR signalling steers cancer initiation and metastasis, *Nature*, **485**, 55–61.
37. Kalra, J., Sutherland, B.W., Stratford, A.L., Dragowska, W., Gelmon, K.A., Dedhar, S., Dunn, S.E., Bally, M.B. (2010) Suppression of Her2/neu expression through ALK inhibition is regulated by a pathway involving TWIST and YB-1, *Oncogene*, **29**, 6343–6356.
38. Law, J.H., Li, Y., To, K., Wang, M., Astanehe, A., Lambie, K., Dhillon, J., Jones, S.J., Gleave, M.E., Eaves, C.J., Dunn, S.E. (2010) Molecular decoy to the Y-box binding protein-1 suppresses the growth of breast and prostate cancer cells whilst sparing normal cell viability, *PLoS One*, **5**, 12661.
39. Carriere, A., Romeo, Y., Acosta-Jaquez, H.A., Moreau, J., Bonneil, E., Thibault, P., Fingar, D.C., Roux, P.P. (2011) ERK1/2 phosphorylate Raptor to promote Ras-dependent activation of mTOR complex 1 (mTORC1), *The Journal of biological chemistry*, **286**, 567–577.
40. Evdokimova, V., Ruzanov, P., Anglesio, M.S., Sorokin, A.V., Ovchinnikov, L.P., Buckley, J., Triche, T.J., Sonenberg, N., Sorensen, P.H. (2006) Akt-mediated YB-1 phosphorylation activates translation of silent mRNA species, *Molecular and cellular biology*, **26**, 277–292.
41. Kang, S., Chen, J. (2011) Targeting RSK2 in human malignancies, *Expert opinion on therapeutic targets*, **15**, 11–20.
42. Romeo, Y., Zhang, X., Roux, P.P. (2012) Regulation and function of the RSK family of protein kinases, *The Biochemical journal*, **441**, 553–569.
43. Shen, H., Xu, W., Luo, W., Zhou, L., Yong, W., Chen, F., Wu, C., Chen, Q., Han, X. (2011) Upregulation of *mdr1* gene is related to activation of the MAPK/ERK signal transduction pathway and YB-1 nuclear translocation in B-cell lymphoma, *Experimental hematology*, **39**, 558–569.
44. Stratford, A.L., Dunn, S.E. (2011) The promise and challenges of tar-

- getting RSK for the treatment of cancer, *Expert opinion on therapeutic targets*, **15**, 1–4.
45. Stratford, A.L., Fry, C.J., Desilets, C., Davies, A.H., Cho, Y.Y., Li, Y., Dong, Z., Berquin, I.M., Roux, P.P., Dunn, S.E. (2008) Y-box binding protein-1 serine 102 is a downstream target of p90 ribosomal S6 kinase in basal-like breast cancer cells, *Breast Cancer Research*, **10**, R99.
46. Sutherland, B.W., Kucab, J., Wu, J., Lee, C., Cheang, M.C., Yorida, E., Turbin, D., Dedhar, S., Nelson, C., Pollak, M., Leighton Grimes H., Miller, K., Badve, S., Huntsman, D., Blake-Gilks, C., Chen, M., Palen, C.J., Dunn, S.E. (2005) Akt phosphorylates the Y-box binding protein 1 at Ser102 located in the cold shock domain and affects the anchorage-independent growth of breast cancer cells, *Oncogene*, **24**, 4281–4292.
47. To, K., Zhao, Y., Jiang, H., Hu, K., Wang, M., Wu, J., Lee, C., Yokom, D.W., Stratford, A.L., Klinge, U., Mertens, P.R., Chen, C.S., Bally, M., Yapp, D., Dunn, S.E. (2007) The phosphoinositide-dependent kinase-1 inhibitor 2-amino-N-[4-[5-(2-phenanthrenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]phenyl]-acetamide (OSU-03012) prevents Y-box binding protein-1 from inducing epidermal growth factor receptor, *Molecular pharmacology*, **72**, 641–652.
48. Bargou, R.C., Jürchott, K., Wagener, C., Bergmann, S., Metzner, S., Bommer, K., Mapara, M.Y., Winzer, K.J., Dietel, M., Dörken, B., Royer, H.D. (1997) Nuclear localization and increased levels of transcription factor YB-1 in primary human breast cancers are associated with intrinsic MDR1 gene expression, *Nature medicine*, **3**, 447–450.
49. Gessner, C., Woischwill, C., Schumacher, A., Liebers, U., Kuhn, H., Stiehl, P., Jürchott, K., Royer, H.D., Witt, C., Wolff, G. (2004) Nuclear YB-1 expression as a negative prognostic marker in nonsmall cell lung cancer, *The European respiratory journal*, V. **23**, 14–19.
50. Kohno, K., Izumi, H., Uchiumi, T., Ashizuka, M., Kuwano, M. (2003) The pleiotropic functions of the Y-box-binding protein, YB-1, *Bioessays*, **25**, 691–698.
51. Kuwano, M., Oda, Y., Izumi, H., Yang, S.J., Uchiumi, T., Iwamoto, Y., Toi, M., Fujii, T., Yamana, H., Kinoshita, H., Kamura, T., Tsuneyoshi, M., Yasumoto, K., Kohno, K. (2004) The role of nuclear Y-box binding protein 1 as a global marker in drug resistance, *Molecular cancer therapeutics*, **3**, 1485–1492.
52. Fujita, T., Ito, K., Izumi, H., Kimura, M., Sano, M., Nakagomi, H., Maeno, K., Hama, Y., Shingu, K., Tsuchiya, S., Kohno, K., Fujimori, M. (2005) Increased nuclear localization of transcription factor Y-box binding protein 1 accompanied by up-regulation of P-glycoprotein in breast cancer pretreated with paclitaxel, *Clinical cancer research*, **11**, 8837–8844.
53. Рыбалкина Е.Ю., Стромская Т.П., Овчинников Л.П., Ставровская А.А. (2013) Связь внутриклеточной локализации белка YB-1 в культурах клеток опухолей человека с множественной лекарственной устойчивостью, *Вопросы онкологии*, **5**, 623–628.
54. Генс, Г. П., Моисеева Н.И., Овсий О.Г., Коробкова Л.И., Бяхов М.Ю., Рыбалкина Е.Ю., Ставровская А.А. (2014) Проблемы индивидуализации лекарственного лечения у больных раком молочной железы, *Вестник Российского Научного Центра рентгено радиологии*, **14**, 3.
55. Janz, M., Harbeck, N., Dettmar, P., Berger, U., Schmidt, A., Jürchott, K., Schmitt, M., Royer, H. (2002) Y-box factor YB-1 predicts drug resistance and patient outcome in breast cancer independent of clinically relevant

- tumor biologic factors HER2, uPA and PAI-1, *International journal of cancer*, **97**, 278–282.
56. Yoshimatsu, T., Uramoto, H., Oyama, T., Yashima, Y., Gu, C., Morita, M., Sugio, K., Kohno, K., Yasumoto, K. (2005) Y-box-binding protein-1 expression is not correlated with p53 expression but with proliferating cell nuclear antigen expression in non-small cell lung cancer, *Anticancer Research*, **25**, 3437–3443.
 57. Вайман А.В., Генс Г.П., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Сорокин А.В., Гурьянов С.Г., Овчинников Л.П., Ставровская А.А. (2007) Исследование роли белка YB-1 в лекарственной устойчивости опухолей молочной железы, *Молекулярная медицина*, **1**, 31–37.
 58. Генс, Г.П., Моисеева Н.И., Рыбалкина Е.Ю., Стромская Т.П., Вайман А.В., Овчинников Л.П., Ставровская А.А. (2013) Белок YB-1 и прогнозирование течения рака молочной железы, *Вопросы онкологии*, **59**, 271–272.
 59. Guens, G.P., Moiseeva, N.I., Ovsii, O.G., Rybalkina, E.Y., Stavrovskaya, A.A. (2014) Marker-adjusted personalized chemotherapy of breast cancer, *Global journal of breast cancer research*, **2**, 19–26.
 60. Sorlie, T., Perou, C.M., Tibshirani, R., Aas, T., Geisler, S., Johnsen, H., Hastie, T., Eisen, M.B., van de Rijn, M., Jeffrey, S.S., Thorsen, T., Quist, H., Matese, J.C., Brown, P.O., Botstein, D., Lonning, P.E., Borresen-Dale, A.L. (2001) Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**, 10869–10874.
 61. Berquin, I.M., Pang, B., Dziubinski, M.L., Scott, L.M., Chen, Y.Q., Nolan, G.P., Ethier, S.P. (2005) Y-boxbinding protein 1 confers EGF independence to human mammary epithelial cells, *Oncogene*, **24**, 3177–3186.
 62. Imada, K. Shiota, M., Kohashi, K., Kuroiwa, K., Song, Y., Sugimoto, M., Naito, S., Oda, Y. (2013) Mutual regulation between Raf/MEK/ERK signaling and Y-box-binding protein-1 promotes prostate cancer progression, *Clinical Cancer Research*, **19**, 4638–4650.
 63. Sinnberg, T., Sauer, B., Holm, P., Spangler, B., Kuphal, S., Bosserhoff, A., Schitteck, B. (2012) MAPK and PI3K/AKT mediated YB-1 activation promotes melanoma cell proliferation which is counteracted by an autoregulatory loop, *Experimental dermatology*, **21**, 265–270.
 64. Swamynathan, S.K., Varma, B.R., Weber, K.T., Guntaka, R.V. (2002) Targeted disruption of one allele of the Y-box protein gene, Chk-YB-1b, in DT40 cells results in major defects in cell cycle, *Biochemical and biophysical research communications*, **296**, 451–457.
 65. Stavrovskaya, A.A., Stromskaya, T.P., Rybalkina, E.Yu., Moiseeva, N.I., Vaiman, A.V., Gurjanov, S.G., Ovchinnikov, L.P., Guens G.P. (2012) YB-1 protein and multidrug resistance of tumor cells, *Current signal transduction therapy*, **7**, 237–246.
 66. Carter, C.L., Allen, C., Henson, D.E. (1989) Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases, *Cancer*, **63**, 181–187.
 67. Генс Г.П., Моисеева Н.И., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Вайман А.В., Ставровская А.А. (2010) Определение количества мРНК гена YB-1 в тканях опухолей молочной железы с целью прогнозирования течения заболевания, *Клиническая лабораторная диагностика*, **2**, 29–32.
 68. Hayes, D. (2015) Lessons for tumor biomarker trials: vicious cycles, scientific method & developing guidelines, *Expert review of molecular diagnostics*, **15**, 165–169.