

Основные характеристики и особенности молекулярно-генетических тест-систем, предназначенных для неинвазивной диагностики и оценки прогноза рака предстательной железы и рака мочевого пузыря

Д.С. Михайленко^{1, 2, 3}, С.А. Сергиенко², Б.Я. Алексеев², А.Д. Каприн², М.В. Немцова^{1, 3}

¹ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

²Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 105425 Москва, 3-я Парковая ул., 51;

³ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1

Контакты: Дмитрий Сергеевич Михайленко dimserg@mail.ru

Совершенствование лабораторной диагностики рака предстательной железы и рака мочевого пузыря остается актуальной проблемой современной онкоурологии. В последние годы активно разрабатываются тест-системы, где в качестве биомаркеров выступают изменения ДНК или РНК, которые происходят при канцерогенезе и могут отражать наличие опухоли и прогноз заболевания. В настоящей работе рассмотрены опубликованные преимущественно в последние 5 лет данные о молекулярно-генетических тест-системах для диагностики (ProgenSA, SelectMDx, ExoDx Prostate Test, Проста-Тест, Confirm MDx) и оценки прогноза (Prolaris, Decipher, Oncotype DX) рака предстательной железы с обсуждением их чувствительности и специфичности. Систематизированы данные об аналогичных тест-системах для рака мочевого пузыря (UroVysion, CertNDx Bladder Cancer Assay, UroSEEK, панели с мутациями генов FGFR3 и TERT, пакет тестов Cxbladder Monitor/Detect/Triage). Особое внимание акцентировано на характеристике тех групп пациентов, в отношении которых рассматриваемые тесты обладают большей диагностической точностью, описаны их основные ограничения как методического, так и регистрационного характера, применение в сочетании с другими онкомаркерами. Обзор ориентирован на онкологов, урологов, лабораторных генетиков и специалистов смежных профессий.

Ключевые слова: тест-система, рак предстательной железы, соматическая мутация, рак мочевого пузыря, метилирование ДНК, экспрессия генов, полимеразная цепная реакция, прогностический классификатор

Для цитирования: Михайленко Д.С., Сергиенко С.А., Алексеев Б.Я. и др. Основные характеристики и особенности молекулярно-генетических тест-систем, предназначенных для неинвазивной диагностики и оценки прогноза рака предстательной железы и рака мочевого пузыря. Онкоурология 2019;15(4):18–29.

DOI: 10.17650/1726-9776-2019-15-4-18-29

Basic characteristics and features of the molecular genetic test systems designed for non-invasive diagnostics and prognosis of prostate cancer and bladder cancer

D.S. Mikhaylenko^{1, 2, 3}, S.A. Sergienko², B. Ya. Alekseev², A.D. Kaprin², M.V. Nemtsova^{1, 3}

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia; Build. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia;

²N.A. Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 51 3rd Parkovaya St., Moscow 105425, Russia;

³N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow 115522 Russia

Improving the laboratory diagnosis of prostate cancer and bladder cancer are still an actual problem in modern urologic oncology. Test systems for DNA or RNA alterations that occurred during carcinogenesis and associated with the malignant tumor and the prognosis of disease have been actively developed in recent years. Here we reviewed the data published mainly in the last 5 years about the molecular genetic kits for diagnosis (ProgenSA, SelectMDx, ExoDx Prostate Test, Prosta-Test, Confirm MDx) and assessment of prognosis (Prolaris, Decipher, Oncotype DX) in patients with prostate cancer, discussed their sensitivity and specificity. The characteristics of analogous kits and panels for bladder cancer (UroVysion, CertNDx Bladder Cancer Assay, UroSEEK, mutations in the FGFR3 and TERT genes, and the Cxbladder Monitor/Detect/Triage kit's line) were systematized. Particularly we focused on the description of the patient cohorts for whom kits mentioned above have greater diagnostic accuracy, described limitations of these test systems in consequence both a methodological and registration aspects, and their use in combination with other tumor markers. This review is aimed at oncologists, urologists, laboratory geneticists and specialists in related professions.

Key words: test system, prostate cancer, somatic mutation, bladder cancer, DNA methylation, gene expression, polymerase chain reaction, prognostic classifier

For citation: Mikhaylenko D.S., Sergienko S.A., Alekseev B.Ya. et al. Basic characteristics and features of the molecular genetic test systems designed for non-invasive diagnostics and prognosis of prostate cancer and bladder cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2019;15(4):18–29. (In Russ.).

Введение

Обобщение и анализ статистических данных, предоставленных онкологическими учреждениями за 2012–2017 гг., показали, что заболеваемость раком предстательной железы (РПЖ) и раком мочевого пузыря (РМП) продолжает расти в России и некоторых странах СНГ [1]. В связи с этим своевременная диагностика указанных выше онкоурологических заболеваний остается актуальной проблемой.

В настоящее время диагностика первичных РПЖ и РМП основывается в основном на данных инструментальных методов исследования (ультразвуковое исследование (УЗИ), компьютерная томография, магнитно-резонансная томография (МРТ)), а также на использовании относительно низкоспецифичных лабораторных тестов (анализ общего простатического специфического антигена (ПСА), цитологический анализ мочи). Прогноз этих заболеваний оценивают по клиническим шкалам, учитывающим стадию заболевания и соматический статус пациента [2]. Более специфичные биохимические лабораторные тесты, например анализ -2-про-ПСА при РПЖ или NMP22 при РМП, пока не получили широкого распространения в клинической практике. При этом кроме продукции белковых онкомаркеров злокачественные клетки характеризуются комплексом изменений на уровне ДНК и РНК, которые могут быть выявлены молекулярно-генетическими методами как в ткани опухоли, так и в биологических жидкостях организма (плазме крови, моче) [3]. Созданию тест-систем для детекции этих изменений долгое время препятствовали объективные факторы: методические сложности выявления соматических мутаций или повышения экспрессии генов при анализе малого количества частично деградированной опухолевой ДНК (РНК) в моче или биоптатах, существенно различающиеся частоты aberrантного гиперметилирования одних и тех же генов при разном дизайне праймеров и зондов для метилспецифической полимеразной цепной реакции (ПЦР), отличающиеся комбинации маркеров у разных авторов в комплексных системах, относительно высокая себестоимость тестов на основе анализа группы локусов с помощью ПЦР в реальном времени или секвенирования и ряд других обстоятельств [4, 5].

Однако в последние годы вследствие унификации молекулярно-генетических методов выделения ДНК и РНК из различного клинического материала,

подходов к разработке тест-систем на основе аллель-специфичной ПЦР, более интенсивному взаимодействию онкологических медицинских учреждений с молекулярно-генетическими диагностическими лабораториями и научно-производственными компаниями сложились условия для более широкого внедрения генетического тестирования в практическую онкологию. В настоящее время в России и, главным образом, за рубежом на различных стадиях разработки от лабораторного образца до полученного разрешения Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) или регистрационного удостоверения Росздравнадзора находятся генетические тест-системы для диагностики онкоурологических заболеваний.

Цель обзора – систематизация и сравнительный анализ данных о существующих тест-системах для молекулярно-генетической диагностики РПЖ и РМП.

Неинвазивная диагностика рака предстательной железы

Неинвазивная молекулярно-генетическая диагностика онкоурологических заболеваний основана на анализе экспрессии генов, точковых мутаций и/или aberrантного метилирования нуклеиновых кислот опухолевого происхождения, которые можно выделить из мочи пациента. Наиболее известный анализ, который раньше других стал применяться в клинических лабораториях при диагностике РПЖ и сейчас выполняется с помощью зарегистрированных тест-систем, – это определение экспрессии гена *PCAZ*.

Ген *PCAZ* был открыт в 1999 г., он локализован в локусе 9q21–22, его продуктом является некодирующая РНК 2,4 тыс. нуклеотидов длиной. Гиперэкспрессию *PCAZ* наблюдают в 95 % случаев РПЖ, но не при доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) или простатите. Для измерения экспрессии *PCAZ* в образцах мочи компанией Gene-Probe был разработан набор ProgenSA. В первоначальной версии набора анализировали собранную после массажа предстательной железы мочу с помощью ПЦР в реальном времени. В последующей модификации набора, которую сейчас реализует компания Hologic, стали использовать метод обогащения образца РНК с помощью магнитных шариков с иммобилизованными на них локуспецифичными зондами и последующей транскрипционно-опосредованной

амплификации (ТМА) для повышения диагностической точности теста. Анализируют экспрессию *PCAZ* относительно внутреннего контроля — *KLK3* (ген, кодирующий ПСА и обладающий простатспецифичной экспрессией), вычисляя показатель *PCAZ*-score. Этот показатель равен отношению количества копий матричных РНК (мРНК) *PCAZ* к количеству копий мРНК *KLK3* в 1 мл, умноженному на 1000. В качестве порогового уровня *PCAZ*-score производитель рекомендует принимать 25, хотя для повышения специфичности теста ряд исследователей выбирают уровень 35. ProgenSA был одобрен FDA в 2012 г. как тест для решения вопроса о целесообразности повторной биопсии при повышенном уровне ПСА и отрицательном результате первой биопсии [6–8]. Опубликованы также данные исследования 516 мужчин о том, что в серой зоне значений ПСА 2,5–10 нг/мл гиперэкспрессия *PCAZ* обладает большей диагностической точностью, чем общий или отношение свободного к общему ПСА при скрининге до первой биопсии (площадь под ROC-кривой (AUC) 0,787, специфичность 76 %) [9]. Однако выбранный пороговый уровень *PCAZ*-score 35 позволил достичь чувствительности лишь 64 %. Результаты последующих исследований показали, что чувствительность теста *PCAZ*, сопоставимая с уровнем ПСА, достигается при пороговом уровне 10–25, однако при этом несколько снижается диагностическая точность теста. В этой ситуации альтернативой тесту *PCAZ* у мужчин с ПСА 2–10 нг/мл служит определение индекса здоровья предстательной железы (PHI) — биохимического теста, основанного на детекции общего и свободного ПСА, и изоформы -2проПСА, который все чаще применяют при диагностике первичного РПЖ [6, 10]. Вместе с тем, поскольку тест *PCAZ* является независимым предиктором РПЖ как при повторных, так и при первой биопсиях, и для определенных групп пациентов его диагностическая точность существенно превосходит ПСА (см. таблицу), гиперэкспрессия *PCAZ* вошла в номограммы и комплексные калькуляторы риска первичного РПЖ наряду с данными МРТ, УЗИ и другими лабораторными тестами, такими как PHI или 4Kscore (биохимическая панель из 4 каллекринов) [11–13].

Прогностическое значение теста *PCAZ* также исследовали в ряде работ. Так, проанализировав данные об уровне экспрессии *PCAZ*, определенного с помощью набора ProgenSA при пороговом уровне 35 баллов у 814 пациентов с подозрением на РПЖ, авторы показали ассоциацию экспрессии этого гена с вероятностью обнаружения РПЖ в биоптате, а также с суммой баллов по шкале Глисона (индекс Глисона) и степенью злокачественности опухоли по Grade Group ISUP (International Society of Urological Pathology) ($p = 0,001$ и $0,008$ соответственно) [14]. Вместе с тем опубликованы данные об исследовании 12 тыс. пациентов,

в которых низкий уровень экспрессии *PCAZ* наблюдался, наоборот, в более злокачественных опухолях [15]. Показано, что в 109 случаях РПЖ различных стадий уровень экспрессии *PCAZ* не может служить прогностическим фактором эффективности радикальной простатэктомии и безрецидивной выживаемости [16]. В целом ассоциации экспрессии *PCAZ* со стадией РПЖ или злокачественностью опухоли носят противоречивый характер [6]. С точки зрения оценки прогноза интересны результаты последовательных измерений экспрессии *PCAZ* на протяжении нескольких лет. Так, с помощью тест-системы ProgenSA исследовали 90 пациентов, в отношении которых после первой биопсии было принято решение об активном наблюдении и назначении ингибиторов 5-альфа-редуктазы. Экспрессия *PCAZ* коррелировала с вероятностью пересмотра индекса Глисона в сторону увеличения [17]. Пятилетнее наблюдение 260 мужчин с изначально клинически незначимым РПЖ продемонстрировало экспрессию *PCAZ* как независимый предиктор РПЖ и пересмотра индекса Глисона в сторону увеличения [18].

В цитированных ранее работах для анализа экспрессии *PCAZ* авторы использовали зарегистрированный FDA набор ProgenSA. Параллельно публиковались и результаты с альтернативными методиками определения экспрессии этого гена в моче при диагностике РПЖ, например анализ экспрессии *PCAZ* методом обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с SYBR Green. AUC составила 0,734 (95 % доверительный интервал 0,641–0,828), также была продемонстрирована более высокая диагностическая точность анализа *PCAZ* по сравнению с уровнем общего ПСА [19]. В этом исследовании наибольшая предиктивная ценность *PCAZ* наблюдалась у пациентов с концентрацией ПСА 4–10 нг/мл. Именно серая зона с концентрацией ПСА до 10 нг/мл является одним из основных показаний для назначения теста *PCAZ* в любом формате, в ней наблюдают его максимальную информативность [20].

Тест-система ProgenSA пока не зарегистрирована в России. Анализ экспрессии *PCAZ* в нашей стране до недавнего времени проводили лишь в ходе прикладных научно-исследовательских работ (НИР). Так, в НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина было проведено исследование 53 биоптатов от пациентов с РПЖ, ДГПЖ и циститом, показана достоверная гиперэкспрессия *PCAZ* в РПЖ относительно любой из подгрупп контроля ($p < 0,001$). В этой же выборке была исследована экспрессия *TMPRSS2:ERG*, которая была выявлена только у больных РПЖ в 40 % случаев [21]. В работе был применен метод обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с TaqMan-зондами к генам *PCAZ*, *TMPRSS2:ERG* и *KLK3* (контроль). Рассчитывали показатель ΔCt (*PCAZ*-*KLK3*), который находился в обратной

Исследования экспрессии *PCSA3* как маркера рака предстательной железы до первой биопсии
*Studies of the *PCSA3* expression as a prostate cancer marker prior the first biopsy*

Объем выборки, <i>n</i> Samples, <i>n</i>	Характеристика пациентов с подозрением на рак предстательной железы Characteristics of the patients suspicious for prostate cancer	Площадь под ROC-кривой Area under curve (AUC)	Корреляция с суммой баллов по шкале Глисона Correlation with Gleason score	Ссылка Reference
516	Уровень ПСА в диапазоне 2–10 нг/мл PSA level in the range 2–10 µg/L	0,787	Да Yes	[9]
1962	Уровень ПСА >2,5 нг/мл PSA level more than 2.5 µg/L	0,706	Да Yes	[10]
734	Гетерогенная выборка Heterogeneous cohort	0,775	Нет No	[11]
122	Уровень ПСА в диапазоне 4–10 нг/мл PSA level in the range 4–10 µg/L	0,734	Нет No	
3073	Гетерогенная выборка Heterogeneous cohort	0,697	Нет No	[12]
77	Гетерогенная выборка Heterogeneous cohort	0,900	Нет No	[23]
100	Уровень ПСА в диапазоне 4–10 нг/мл PSA level in the range 4–10 µg/L	0,698	Нет No	[20]
56	Гетерогенная выборка Heterogeneous cohort	0,768	Нет No	[22]

зависимости к экспрессии *PCSA3*. Затем этот же подход был применен при исследовании РНК из осадков постмассажной мочи и также показал, что гиперэкспрессия *PCSA3* является независимым диагностическим критерием РПЖ [22]. Тем не менее рассчитываемый показатель ΔCt в этих работах является относительной величиной и зависит от условий эксперимента. Похожие алгоритмы были использованы в других НИР зарубежными исследователями. Например, достоверное увеличение экспрессии *PCSA3* при РПЖ относительно контрольных групп ДГПЖ и мочекаменной болезни было показано при расчете показателя, равного $2^{-\Delta Ct} \times 10^4$, где $\Delta Ct = Ct(PCSA3) - Ct(ACTB - \text{референсного гена})$ [23]. Другие авторы в своей тест-системе также использовали метод обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с TaqMan-зондами на ген *PCSA3* и контроль *KLK3*, но в качестве показателя теста рассчитывали отношение копий *PCSA3/KLK3* [24].

Первый лабораторный образец тест-системы для анализа экспрессии *PCSA3*, являющийся аналогом ProgenSA, разработали в компании Синтол совместно с МГМСУ им. А.И. Евдокимова. В качестве контролей в ней использовали серийные разведения плазмиды с амплифицируемыми участками генов *PCSA3* и *KLK3*, проводили обратную транскрипцию и ПЦР в реальном времени образцов РНК, выделенных из осадков мочи после массажа предстательной железы. Затем рассчитывали тот же *PCSA3*-score с учетом *Ct* контролей

и тестируемого образца, однако его пороговое значение было принято равным 50. По информации разработчиков тест-система имела чувствительность и специфичность 75 и 87 % соответственно при специфичности общего ПСА в той же когорте пациентов лишь 68 % [25]. Однако впоследствии она так и не была зарегистрирована и пущена в серийное производство. Позднее сотрудниками Ульяновского инновационного кластера, компании ТестГен и теми же клиническими партнерами была разработана другая тест-система для оценки экспрессии *PCSA3*. В ней результаты ПЦР в реальном времени оценивали не по *Ct*, а по точкам *Sr* (средним пороговым циклам), затем вычисляли относительный показатель экспрессии *PCSA3*, равный $1000 \times 1,92^{(SrKLK3 - SrPCSA3)}$, пороговый уровень был равен 35. Чувствительность и специфичность этой тест-системы (Проста-Тест) составили 68 и 73 % соответственно [26]. В декабре 2017 г. на нее получено регистрационное удостоверение Росздравнадзора. На дату написания обзора Проста-Тест является пока единственной зарегистрированной тест-системой для медицинского применения в России.

Из представленных данных видно, что анализ экспрессии *PCSA3* в образцах постмассажной мочи актуален для определенных когорт пациентов и вряд ли может на данном этапе полностью вытеснить ПСА или инструментальные методы из диагностики РПЖ. Для того чтобы увеличить точность лабораторной

диагностики этого заболевания различные исследователи комбинировали тест *PCAZ* с другими диагностическими методами. Так, результаты фьюжн-биопсии 187 пациентов показали, что комбинированный анализ экспрессии *PCAZ* с помощью системы Progenza при пороговом уровне 35 и условных баллов по МРТ имеет более высокую информативность, чем только МРТ-/УЗИ-диагностика: AUC 0,83 против 0,79 при $p = 0,04$ [27]. Также более информативным подходом является комбинация анализа *PCAZ* и ПСА. При пороговом уровне 30 баллов системы Progenza была показана наибольшая диагностическая точность теста *PCAZ* при диагностике 271 случая с подозрением на РПЖ. Логистический регрессионный анализ и применение соответствующего уравнения для дифференциальной диагностики РПЖ позволили увеличить AUC с 0,571 до 0,729 ($p < 0,001$), избежать ненужных повторных биопсий в 57 % случаев для всей выборки и в 70 % для пациентов в серой зоне ПСА 4–10 нг/мл [28].

Специфичность теста *PCAZ* может быть увеличена за счет его комбинации с анализом экспрессии химерного гена *TMPRSS2:ERG*, высокоспецифичного для РПЖ. Он образуется вследствие внутренней делеции, которая приводит к слиянию андрогензависимого гена трансмембранной сериновой протеазы 2 *TMPRSS2* и протоонкогена киназы из семейства ETS – гена *ERG*. Поскольку эта перестройка встречается лишь в 50 % случаев РПЖ, она не может сама по себе рассматриваться как маркер РПЖ. Однако *TMPRSS2:ERG* не наблюдали в других типах опухолей и в норме, он встречается только в трансформированных клетках РПЖ и, по данным исследования ERSPC (Randomised study of Screening for Prostate Cancer), в комбинации с *PCAZ* повышает диагностическую точность теста [29]. По итогам исследования 854 случаев с подозрением на РПЖ было рекомендовано включить сочетанное определение экспрессии *PCAZ* и *TMPRSS2:ERG* в предиктивный калькулятор Prostate Cancer Prevention Trial Risk Calculator (PCPTRC), хотя убедительные данные о повышении предиктивной ценности калькулятора были получены только для *PCAZ*, в отношении химерного гена был высказан вывод о необходимости дальнейшей валидации [30]. К таким же выводам привело мультицентровое исследование Canary Prostate Active Surveillance Study (PASS) 782 мужчин с подозрением на РПЖ: гиперэкспрессия *PCAZ*, но не *TMPRSS2:ERG* в моче повышает вероятность диагноза РПЖ при биопсии [31]. С учетом этих данных следует признать, что при высокой специфичности образования *TMPRSS2:ERG* в РПЖ остается неоднозначной его роль как диагностического маркера, который повышает точность диагностики вместе с тестом *PCAZ*.

Сотрудники Мичиганского университета разработали диагностический калькулятор, в котором анализ

экспрессии *PCAZ* (Progenza) и *TMPRSS2:ERG* комбинируется с ПСА, после чего рассчитывают показатель Mi-Prostate Score. Разработчики заявили о чувствительности и специфичности этого анализа 80 и 90 % соответственно, AUC 0,88 при диагностике первичного РПЖ. Последующая валидация на выборке 1225 пациентов показала более скромную диагностическую точность – AUC 0,75 для всей выборки и 0,77 для диагностики РПЖ с индексом Глисона более 7. Эти значения были выше, чем у общего ПСА, но незначительно отличались от теста на экспрессию одного лишь *PCAZ*, что говорит о Mi-Prostate Score только как еще об одной схожей альтернативе исходного теста Progenza [32].

Разработаны и вышли на рынок тест-системы, в которых определяют экспрессию других генов в образце мочи, их можно рассматривать как альтернативы Progenza для определенных категорий пациентов. В частности, компания MDxHealth реализует разработанную ранее Leyten et al. тест-систему SelectMDx. В ней анализируют экспрессию генов *HOXC6* и *DLX1* относительно того же контроля с простатспецифичной экспрессией – гена *KLK3*. В мультицентровых исследованиях показано, что SelectMDx превосходит по диагностической точности общий ПСА и тест на гиперэкспрессию *PCAZ* при диагностике РПЖ с индексом Глисона ≥ 7 , в остальных категориях пациентов ее преимущество над тестом *PCAZ* неочевидно. В настоящее время эта тест-система оптимизирована для неинвазивной диагностики именно низкодифференцированного РПЖ (high-grade, индекс Глисона ≥ 7). Вместе с тем исследование 1955 образцов постмассажной мочи от пациентов с уровнем ПСА < 10 нг/мл, II степени по новой классификации ISUP в Нидерландах, Франции и Германии продемонстрировало AUC 0,85 при неинвазивной диагностике первичного РПЖ, что превышало диагностическую точность PCPTRC v 2.0. (AUC 0,76) [33, 34]. Иными словами, SelectMDx можно рассматривать как одну из альтернатив Progenza при диагностике РПЖ до первой биопсии (скрининговых исследованиях).

Кроме свободных нуклеиновых кислот и ДНК (РНК) в слущенных клетках предстательной железы, в осадке мочи присутствуют также экзосомы – мембранные везикулы 30–200 нм в диаметре, внутри которых более продолжительное время сохраняется РНК, чем в цельной моче. На основе анализа экспрессии генов с помощью обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени в образцах экзосом мочи была разработана тест-система ExoDx Prostate Test. В ней анализируют экспрессию генов *PCAZ* и *ERG* (в том числе в составе химерного транскрипта *TMPRSS2:ERG*) относительно экспрессии референсного гена *SPDEF*. Диагностическая точность ExoDx Prostate Test для пациентов перед первой биопсией была близка к ПСА

и *PCAZ* (AUC 0,73), что позволяет рассматривать его как очередную альтернативу Progenesa для пациентов с первичным РПЖ, но не имеющую существенных преимуществ перед этой тест-системой или скринингом с определением общего ПСА [35].

Список мишеней, которые можно исследовать как потенциальные маркеры РПЖ, постоянно пополняется. Так, кроме *PCAZ* в последние годы с помощью различных методов, в том числе высокопроизводительного секвенирования (next generation sequencing, NGS) охарактеризованы десятки других длинных некодирующих РНК, которые изучаются как возможные биомаркеры РПЖ. В частности, *PCAT1* (гиперэкспрессируется в РПЖ и его метастазах), *PCGEM1* с простатспецифичной экспрессией, ассоциированный с эпителиально-мезенхимальной транзицией *lncRNA-ATB*, ассоциированный с неблагоприятным прогнозом *LOC400891*, *MALAT1*, *PCAT14/18* и др. [36]. Некоторые мРНК ассоциированы с прогнозом РПЖ.

Прогностические тест-системы для рака предстательной железы

После первой биопсии в распоряжении лаборатории оказывается образец ткани предстательной железы. Генетические изменения, которые содержит биоптат, можно выявить и использовать как для диагностики, так и для оценки прогноза заболевания. В частности, для диагностики РПЖ, не выявленного при первой биопсии, ряд авторов анализировали aberrантное метилирование ДНК. У человека метильная группа присоединяется к пиримидиновому кольцу цитозина в составе динуклеотида CG. Скопления CG-динуклеотидов в 5'-регуляторных областях генов образуют CpG-островки. Метилирование такого CpG-островка приводит к формированию компактной структуры хроматина и подавлению экспрессии гена. В процессе канцерогенеза локально гиперметируются CpG-островки в генах-супрессорах, что способствует их сайленсингу и стимулированию деления опухолевых клеток. На основе панели метилированных генов, включающую *GSTPI*, гены-супрессоры *APC* и *RASSF1*, была разработана тест-система Confirm MDx. Прогностическая ценность отрицательного результата (NPV) для этой панели достигала 80–90 %, что говорит о тест-системе Confirm MDx как о возможном дополнительном тесте при решении вопроса о целесообразности повторной биопсии [32, 37]. Вместе с тем эта тест-система не нашла широкого применения: для решения вопроса о повторной биопсии можно с той же целью воспользоваться неинвазивным тестом на экспрессию *PCAZ*, а для оценки прогноза уже диагностированного РПЖ вместо Confirm MDx можно использовать более информативные клинические номограммы (калькуляторы) или экспрессионные тест-системы, о которых идет речь далее.

Благодаря исследованию транскриптомов опухолей на разных стадиях РПЖ удалось выделить относительно небольшие профили экспрессии генов с прогностическим значением и разработать на их основе молекулярно-генетические тест-системы для оценки прогноза РПЖ. Методический подход, реализованный в этих прогностических тест-системах, заключается в анализе нескольких целевых и контрольных генов с помощью широкодоступной технологии, например ПЦР в реальном времени, и расчета условного интегративного показателя, отражающего злокачественность опухоли. В настоящее время разработаны тест-системы Prolaris (компанией Myriad Genetics в США, тестируют 31 целевой ген и 15 эндогенных контролей), Oncotype DX (компанией Genomic Health в США, анализируют 12 целевых и 5 контрольных генов) и Decipher (компанией GenomeDX в Канаде, исследуют 22 гена), предназначенные для оценки экспрессионного профиля первичной опухоли и определения риска метастазирования и прогрессирования РПЖ на основании подсчета условных баллов по специальным номограммам [32].

Prolaris (другое название – ССР-тест (Cell Cycle Progression), в нем рассчитывают варьирующий от 0 до 10 показатель ССР-Score, ассоциированный с прогрессированием РПЖ) была разработана несколько ранее двух других и в отношении нее имеется больше результатов клинических испытаний на протяжении уже более 10 лет. Например, данные исследования 294 пациентов с РПЖ стадий T1–T3bN0M0 показали, что 55 % больных по результатам теста Prolaris имеют прогноз, отличный от того, который соответствует клиническим шкалам. Отчасти это согласуется с тем, что у 32 % пациентов приходится корректировать последующее наблюдение и лечение, переводя их в другую прогностическую группу [38]. В другом исследовании наблюдали 305 пациентов с РПЖ, соотнося прогностические характеристики и выбранную тактику лечения до и после проведения ССР-теста. На заключительном этапе показано, что конкордантность рекомендуемого на основе ССР-теста лечения и проведенного впоследствии актуального лечения превышает 80 %. При этом ССР-тест позволяет на 50 % снизить частоту применения хирургического лечения и на 30 % – лучевой терапии без ухудшения прогноза РПЖ [39]. ССР-тест демонстрирует высокую прогностическую ценность не только при анализе РНК из удаленных участков первичной опухоли, но и при исследовании биоптатов. Так, анализ 761 биоптата РПЖ показал большую предиктивную ценность Prolaris, чем баллов по клинической шкале CAPRA (при расчете этого показателя учитывают индекс Глисона, уровень ПСА, возраст, стадию РПЖ) при решении вопроса о выборе консервативной терапии или хирургического лечения, а также об оценке прогноза

при консервативной терапии [40, 41]. В целом про- и ретроспективные исследования более 1500 пациентов показывают целесообразность внедрения оценки вероятности рецидива и метастазирования РПЖ с помощью ССР-теста при хирургическом, дистанционном лучевом и консервативном лечении [32, 42].

Тест-система Decipher принципиально не отличается от Prolaris, но включает меньшее количество генов (22 анализируемых транскрипта). Согласно данным производителя тест-система предназначена для оценки риска метастазирования в течение первых 5 лет после радикальной простатэктомии у мужчин группы высокого риска (выход опухоли за пределы органа, инвазия в семенные пузырьки, положительные края или биохимический рецидив). Анализ относит пациентов к одной из 3 групп в зависимости от условного показателя, который варьирует от 0 до 1, а именно: до 0,45 баллов – низкий (1:42), 0,45–0,6 – промежуточный и более 0,6 – высокий (1:5) риск метастазирования при анализе биоптатов опухолей [43, 44]. Показано, что при увеличении показателя на каждые 10 % риск метастазирования возрастает в 1,7 раза в 10-летнем периоде. При анализе удаленных первичных опухолей предстательной железы Decipher показал большую предиктивную ценность, чем у шкалы CAPRA (отношение правдоподобия 2,4 против 11,2 соответственно), позволяя переклассифицировать до 60 % пациентов в группы меньшего риска прогрессирования. При анализе 5-летней выживаемости также наблюдают более выраженную ассоциацию показателя Decipher с исходом заболевания, чем у калькуляторов, основанных на клинических данных. Вместе с тем на дату написания обзора эта тест-система содержится в рекомендациях только National Comprehensive Cancer Network (NCCN) США, в методических рекомендациях профильных европейских ассоциаций и других стран (в отличие от одобренной FDA Prolaris) Decipher пока не фигурирует [45].

Третья из рассматриваемых экспрессионных тест-систем, Oncotype DX, включает 12 целевых генов, выбранных в результате многоэтапного прикладного исследования, которые условно отнесли к 4 классам по их биологической функции: сигнальный путь андрогенового рецептора, регуляция пролиферации, организация клеточной структуры, реакция стромального компонента опухоли. Нормализация и количественное определение их экспрессии осуществляется по 5 референсным генам, затем рассчитывают удельный вес каждого гена и каждой группы, в итоге вычисляют показатель GPS (Genomic Prostate Score), варьирующий от 0 до 100. Чем больше GPS, тем больше вероятность неблагоприятного прогноза РПЖ. Основная ниша применения показателя GPS – определение вероятности биохимического рецидива и метастазирования у пациентов, отнесенных к группам низкого

и промежуточного риска прогрессирования РПЖ согласно клиническим оценочным шкалам [46, 47]. В недавнем исследовании 140 мужчин в этой целевой когорте (уровень ПСА не более 20 нг/мл, стадия РПЖ T1/2, индекс Глисона 6) была подтверждена предиктивная ценность показателя GPS, сопоставимая с данными программы PI-RADS, которая предназначена для визуализации изображений мультипараметрической МРТ при стратификации групп риска при новообразованиях предстательной железы [48].

Таким образом, на рынке присутствуют как минимум 3 тест-системы, предназначенные для оценки прогноза РПЖ методом определения экспрессии генов в биоптатах с помощью относительно недорогих молекулярно-генетических технологий, прогностическая ценность которых сопоставима с таковой или выше, чем у алгоритмов, основанных на комбинации клинических данных. В совокупности с клиническими прогностическими шкалами и биохимическими тестами описанные выше молекулярно-генетические маркеры уже представляют серьезный арсенал методов для оценки риска прогрессирования местно-распространенных форм РПЖ и выбора тактики наблюдения и лечения после удаления первичной опухоли. Однако следует отметить, что ни одна из них пока не имеет регистрационного удостоверения на территории России, и эти тесты могут быть доступны в рамках НИР или в специализированных зарубежных лабораториях.

Тест-системы для диагностики и прогноза рака мочевого пузыря

В качестве первой генетической диагностической тест-системы для РМП можно признать UroVysion – разработку компании Abbot Molecular. Это FISH-анализ осадка мочи с зондами к центромерам хромосом 3, 7, 17 и локусу 9p21. Анализируют первые 25 атипичных клеток, если как минимум 4 из них показывают аберрации 2 и более исследуемых хромосом или 12 и более несут гомозиготную делецию 9p21, то результат теста считают положительным. Клиническая чувствительность и специфичность UroVysion, по данным разработчика, составляют 71 и 66 % соответственно (суммарно для всех подгрупп РМП). UroVysion одобрен FDA как диагностический тест у пациентов с гематурией при подозрении на РМП. Вместе с тем UroVysion имеет ряд ограничений: необходимость валидации результатов теста вторым морфологом при пограничном уровне хромосомных аберраций, некорректность результатов при бактериурии, недостаточное для анализа количество атипичных клеток в осадке мочи при опухоли размером <5 мм, возможность ложноположительного результата у пациентов с опухолями мочеполовой системы других локализаций, также несущими множественные хромосомные аберрации [49]. В связи с этим и относительно высокой себестоимостью

исследования тест-система в России пока не нашла широкого применения, к тому же это в большей мере цитогенетический анализ, чем молекулярно-генетический. Среди диагностических молекулярно-генетических тест-систем можно отметить следующие.

Тест-система CertNDx Bladder Cancer Assay, апробированная в клинике Майо, представляет собой комбинацию анализов мутаций гена *FGFR3*, метилирования генов *TWIST1* и *NID2*, экспрессию белка MMP2 [50]. Однако, несмотря на высокую (>90 %) чувствительность и специфичность, она требует одновременного использования принципиально разных трудоемких методик для выполнения анализа и, возможно, поэтому не получила дальнейшего широкого распространения. Другой пример лабораторного образца тест-системы включал определение в моче мутаций R248C, S249C, G372C и Y375C в гене *FGFR3* вместе с aberrантным метилированием генов *HS3ST2*, *SLIT2* и *SEPTIN9* [51]. Несмотря на то что чувствительность теста составила 90–94 % в зависимости от стадии заболевания, он также не вышел в серийное производство. Здесь необходимо дать следующее пояснение.

Классификация РМП на немышечно-инвазивный (ранее большинство этих опухолей относили к поверхностному типу) и мышечно-инвазивный обусловлена не только морфологическими характеристиками, но и молекулярно-генетическими нарушениями, лежащими в основе развития этих опухолей. Для немышечно-инвазивных опухолей (80 % случаев РМП) характерны точечные мутации в онкогенах *FGFR3*, *PIK3CA*, *TERT*, *HRAS* и некоторых других, тогда как для мышечно-инвазивных (20 % случаев РМП) — отсутствие этих мутаций и множественные хромосомные перестройки в результате хромотрепсиса, точечные мутации и делеции генов *TP53*, *RBI*. В первом случае речь идет об очень локальных изменениях ДНК, которые можно выявить с помощью основанных на ПЦР методов, во втором случае разработать простую и дешевую тест-систему для анализа множества протяженных делеций и перестроек значительно сложнее [52]. Поэтому в данном обзоре речь идет о тестах для выявления немышечно-инвазивных опухолей и их рецидивах, на которые приходится подавляющее большинство случаев РМП.

На протяжении 2000-х годов были опубликованы работы различных авторов, которые в качестве основной мишени определяли точечные мутации *FGFR3* — основного онкогена, в котором локализируются активирующие миссенс-мутации при немышечно-инвазивном РМП. В этом случае возникала определенная проблема: суммарная частота таких мутаций варьировала от 40 до 70 % случаев, поэтому необходимо было определять дополнительные аналиты (например, мутации в других генах); кроме этого, даже перечень самых частых мутаций *FGFR3* включает не менее

двух мутаций в экзоне 7 и трех — в экзоне 10. Если определять эти соматические мутации в гетерогенном материале осадка мочи с помощью ПЦР в реальном времени или SNaPshot, себестоимость такого теста будет на уровне, например, тестирования мутаций *KRAS/NRAS* в опухолях и не позволит использовать его на этапе скрининга [53]. В этом контексте некоторые разработчики фокусируются не на мутациях *FGFR3*, а на 2 мажорных мутациях в промоторе *TERT*, которые встречаются при РМП с не меньшей частотой, чем мутации *FGFR3*. Так, исследование 348 пациентов, перенесших трансуретральную резекцию, показало довольно высокие чувствительность (80 %) и специфичность (89 %) мутаций *TERT* как предикторов рецидива РМП и аргументов в пользу проведения цистоскопии [54]. Анализ метилирования отдельных генов-супрессоров в моче также лежал в основе ряда лабораторных диагностических панелей, но не привел к разработке серийно производящихся тест-систем [5]. Что же касается диагностики первичной опухоли, то «золотым стандартом» сейчас и в обозримом будущем остается цистоскопия с биопсией, цитологический метод тоже совершенствуется с течением времени. В связи с этим молекулярно-генетические тесты могут быть востребованы для тех категорий пациентов, у которых применение этих основных диагностических методов не дает надежного результата или имеет противопоказания. Например, у пациентов с гематурией и подозрением на РМП или у больных, перенесших трансуретральную резекцию, в отношении которых решается вопрос о целесообразности и частоте повторных цистоскопий для мониторинга возможного рецидива.

В 2019 г. была разработана тест-система UroSEEK, с помощью которой проводят анализ анеуплоидий и точечных мутаций в 11 генах. Она предназначена для диагностики РМП у пациентов с гематурией и сомнительными результатами цитологического анализа, разработчики приводят значения чувствительности и специфичности при первичном РМП 96 и 88 %, при диагностике рецидивов — 74 и 72 % соответственно [55].

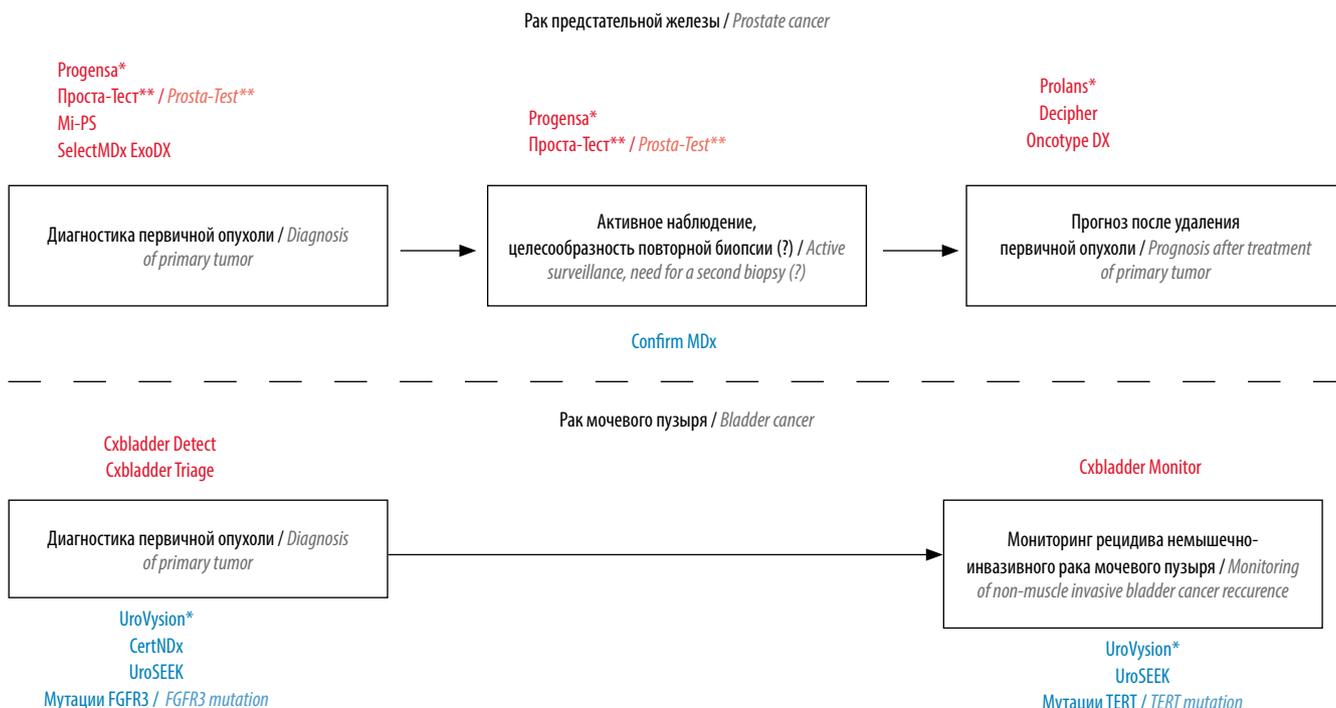
Анализ экспрессии генов в материале осадка мочи лежит в основе семейства тестов Cxbladder: Cxbladder Detect (диагностика первичного РМП в дополнение к цистоскопии), Cxbladder Triage (диагностика РМП у пациентов с гематурией) и Cxbladder Monitor (выявление рецидива РМП). Анализируют экспрессии генов *MDK*, *HOXA13*, *CDC2*, *IGFBP5* и *CXCR2*, затем умножают их на определенные коэффициенты, то же делают с клиническими параметрами, суммируют полученные значения и в итоге рассчитывают условный интегративный показатель, отражающий вероятность наличия РМП. Тесты Cxbladder, как и большинство перечисленных в этом обзоре, имеют статус тест-систем для

применения только в специализированной лаборатории производителя – Laboratory Developed Test (LDT) и пока не зарегистрированы FDA [56]. Несмотря на локализацию выполнения тестов, в последние годы опубликованы исследования различных клинических центров, показывающие целесообразность использования Cxbladder у пациентов с гематурией или для решения вопроса о цистоскопии для диагностики возможного рецидива. В частности, Cxbladder Monitor был применен у 763 пациентов в мультицентровом исследовании для мониторинга рецидива и показал предиктивную ценность отрицательного результата 97 % [57]. В другой работе, выполненной на образцах мочи 571 пациента с гематурией различного генеза, была показана предиктивная ценность отрицательного результата 99 %, что говорило об избыточности цистоскопии почти у трети пациентов из этой когорты [58]. При этом чувствительность теста существенно превышает таковую и цитологического анализа мочи у пациентов с гематурией и небольшими опухолями: доля ложноотрицательных результатов у Cxbladder составила 9 % против 60 % у цитологического анализа в этой группе пациентов [59]. Таким образом, молекулярно-генетические тесты при РМП, как и при РПЖ, эффективны в отношении определенных групп пациентов на различных

этапах развития заболевания, когда они могут дать новую информацию и быть использованы при обосновании тактики дальнейшей диагностики или лечения (см. рисунок).

Заключение

Рассмотренные в обзоре тест-системы представляют лишь часть диагностических панелей для диагностики РПЖ и РМП, в которых используют молекулярно-генетические маркеры. Вместе с тем из них только Progenza, Prolaris и UroVysion одобрены FDA, Проста-Тест – Росздравнадзором, а все остальные представлены в формате LDT и могут выполняться только в ассоциированных с разработчиком лабораториях, что сдерживает их распространение; другие панели описаны как результаты прикладных НИР в открытых публикациях. Однако разработка неинвазивных (анализ мочи) и малоинвазивных (плазма крови, или жидкостная биопсия) генетических методов диагностики онкоурологических заболеваний в последние годы развивается все более ускоряющимися темпами. Становятся актуальными вопросы о NGS в практической ДНК-диагностике, например тест на мутационную нагрузку при планировании таргетной терапии местно-распространенного и метастатического



Области применения молекулярно-генетических тест-систем при раке предстательной железы и раке мочевого пузыря. Красным — анализируют РНК (или РНК + белки); синим — анализируют ДНК (или ДНК + РНК/белки).*Одобрено Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов. **Имеет Регистрационное удостоверение в России
Areas of implementation of the molecular genetic tests in diagnostics of prostate cancer and bladder cancer. Red – analysis of RNA (or RNA + proteins); blue – analysis of DNA (or DNA + RNA/proteins).*Food and Drug Administration approved. **Approved by Roszdravnadzor in Russia

РМП ингибиторами иммунных контрольных точек. Для того чтобы извлекать наибольшую пользу от применения этих тестов, важно назначать их только определенной когорте пациентов и соответствующим образом интерпретировать. Например, тесты на *PCA3* — пациентам с повышенным уровнем ПСА и отрицательным результатом первой биопсии, если же использовать его на этапе первичной диагностики, то у пациентов с уровнем ПСА в диапазоне 2–10 нг/мл, при этом взяв

другой пороговый уровень *PCA3*-Score; *Cxbladder* — у пациентов с гематурией, когда результат цитологического анализа не может быть достоверно оценен и т.д. Таким образом, молекулярно-генетические тесты могут занять значимую нишу в диагностике и расчете прогноза при РПЖ и РМП, дать существенную информацию для выбора тактики лечения, когда их применение обосновано в составе комплексного диагностического алгоритма у конкретного пациента.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Аксель Е.М., Матвеев В.Б. Статистика злокачественных новообразований мочевых и мужских половых органов в России и странах бывшего СССР. Онкоурология 2019;15(2):15–24. DOI: 10.17650/1726-9776-2019-15-2-15-24. [Axel E.M., Matveev V.B. Statistics of malignant tumors of urinary and male urogenital organs in Russia and the countries of the former USSR. *Oncourologiya* = *Cancer Urology* 2019;15(2):15–24. (In Russ.)].
2. Чиссов В.И., Алексеев Б.Я., Русаков И.Г. Онкоурология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012, 688 с. [Chissov V.I., Alekseev B.Ya., Rusakov I.G. Moscow: GEOTAR-Media, 2012, 688 p. (In Russ.)].
3. Михайленко Д.С., Ефремов Г.Д., Алексеев Б.Я. Молекулярно-генетические методы диагностики при наследственных и спорадических опухолях в урологии. Справочник заведующего КДЛ 2016;2:38–46. [Mikhaylenko D.S., Efremov G.D., Alekseev B.Ya. Molecular genetic methods in diagnostics of hereditary and sporadic urological tumors. *Spravochnik zaveduyushego KDL* = *Handbook of the Head of Clinical Laboratory* 2016;2:38–46. (In Russ.)].
4. Wu D., Ni J., Beretov J. et al. Urinary biomarkers in prostate cancer detection and monitoring progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2017;118:15–26. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2017.08.002.
5. Михайленко Д.С., Кушлинский Н.Е. Соматические мутации и aberrантное метилирование — потенциальные генетические маркеры рака мочевого пузыря. Клиническая лабораторная диагностика 2016;61(2):78–83. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-2-78-83. [Mikhaylenko D.S., Kushlinskii N.E. The somatic mutations and aberrant methylation as potential genetic markers of urinary bladder cancer. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* = *Clinical Laboratory Diagnostics* 2016;61(2):78–83. (In Russ.)].
6. Ploussard G., de la Taille A. The role of prostate cancer antigen 3 (PCA3) in prostate cancer detection. *Expert Rev Anticancer Ther* 2018;18(10):1013–20. DOI: 10.1080/14737140.2018.1502086.
7. Hologic. ProgenSA PCA3 Assay 502083 rev. 003. User Guide, USA, 47 p. Available at: https://www.hologic.com/sites/default/files/2019-05/502083-IFU-PI_003_01.pdf.
8. Михайленко Д.С., Перепечин Д.В., Аполихин О.И. и др. Маркеры для неинвазивной молекулярно-генетической диагностики онкоурологических заболеваний. Урология 2014;5:116–20. [Mikhaylenko D.S., Perepechin D.V., Apolikhin O.I. et al. Markers for non-invasive molecular genetic diagnosis of oncurological diseases. *Urologiya* = *Urology* 2014;5:116–20. (In Russ.)].
9. de la Taille A., Irani J., Graefen M. et al. Clinical evaluation of the PCA3 assay in guiding initial biopsy decisions. *J Urol* 2011;185(6):2119–25. DOI: 10.1016/j.juro.2011.01.075.
10. Crawford E.D., Rove K.O., Trabulsi E.J. et al. Diagnostic performance of PCA3 to detect prostate cancer in men with increased prostate specific antigen: a prospective study of 1,962 cases. *J Urol* 2012;188:1726–31. DOI: 10.1016/j.juro.2012.07.023.
11. Filella X., Foj L. Novel biomarkers for prostate cancer detection and prognosis. *Adv Exp Med Biol* 2018;1095:15–39. DOI: 10.1007/978-3-319-95693-0_2.
12. Chevli K.K., Duff M., Walter P. et al. Urinary PCA3 as a predictor of prostate cancer in a cohort of 3,073 men undergoing initial prostate biopsy. *J Urol* 2014;191(6):1743–8. DOI: 10.1016/j.juro.2013.12.005.
13. Osses D.F., Roobol M.J., Schoots I.G. Prediction medicine: biomarkers, risk calculators and magnetic resonance imaging as risk stratification tools in prostate cancer diagnosis. *Int J Mol Sci* 2019;20(7). DOI: 10.3390/ijms20071637.
14. Rodon N., Trias I., Verdu M. et al. Correlation of mRNA-PCA3 urine levels with the new grading system in prostate cancer. *Rev Esp Patol* 2019;52(1):20–6. DOI: 10.1016/j.patol.2018.04.003.
15. Alshalfalfa M., Verhaegh G.W., Gibb E.A. et al. Low PCA3 expression is a marker of poor differentiation in localized prostate tumors: exploratory analysis from 12,076 patients. *Oncotarget* 2017;8(31):50804–13. DOI: 10.18632/oncotarget.15133.
16. Hegde J.V., Veruttipong D., Said J.W. et al. Prostate cancer antigen 3 score does not predict for adverse pathologic features at radical prostatectomy or for progression-free survival in clinically localized, intermediate- and high-risk prostate cancer. *Urology* 2017;107:171–7. DOI: 10.1016/j.urology.2017.05.028.
17. Fradet V., Toren P., Nguile-Makao M. et al. Prognostic value of urinary prostate cancer antigen 3 (PCA3) during active surveillance of patients with low-risk prostate cancer receiving 5-reductase inhibitors. *BJU Int* 2018;121(3):399–404. DOI: 10.1111/bju.14041.
18. Tosoian J.J., Patel H.D., Mamawala M. et al. Longitudinal assessment of urinary PCA3 for predicting prostate cancer grade reclassification in favorable-risk men during active surveillance. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2017;20(3):339–42. DOI: 10.1038/pcan.2017.16.
19. Zhou Y., Li Y., Li X., Jiang M. Urinary biomarker panel to improve accuracy in predicting prostate biopsy result in Chinese men with PSA 4–10 ng/mL. *Biomed Res Int* 2017;2512536. DOI: 10.1155/2017/2512536.
20. Mao Z., Ji A., Yang K. et al. Diagnostic performance of PCA3 and hK2 in combination with serum PSA for prostate cancer. *Medicine (Baltimore)* 2018;97(42):e12806. DOI: 10.1097/MD.00000000000012806.
21. Михайленко Д.С., Перепечин Д.В., Григорьева М.В. и др. Экспрессия генов *PCA3* и *TMPRSS2:ERG* в биоптатах при доброкачественной гиперплазии, интраэпителиальной неоплазии и раке предстательной железы. Урология 2015;5:46–50. [Mikhaylenko D.S., Perepechin D.V.,

- Grigoryeva M.V. et al. [*PCA3* and *TMPRSS2-ERG* genes expression in biopsies of benign prostate hyperplasia, intraepithelial neoplasia, and prostate cancer. *Urologiya = Urology* 2015;(5):46–50. (In Russ.)].
22. Аполихин О.И., Сивков А.В., Ефремов Г.Д. и др. *PCA3* и *TMPRSS2-ERG* в диагностике рака предстательной железы: первый опыт применения комбинации маркеров в России. Экспериментальная и клиническая урология 2015;2:30–6. [Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Efremov G.D. et al. The first Russian experience of using *PCA3* and *TMPRSS2-ERG* for prostate cancer diagnosis. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya urologiya = Clinical and Experimental Urology* 2015;2:30–6. (In Russ.)].
 23. Li M., Zhou D., Zhang W. et al. Urine *PCA3* mRNA level in diagnostic of prostate cancer. *J Cancer Res Ther* 2018;14(4):864–6. DOI: 10.4103/jcrt.JCRT_734_17.
 24. Wang T., Qu X., Jiang J. et al. Diagnostic significance of urinary long non-coding *PCA3* RNA in prostate cancer. *Oncotarget* 2017;8(35):58577–86. DOI: 10.18632/oncotarget.17272.
 25. Павлов К.А., Шкопоров А.Н., Хохлова Е.В. и др. Разработка диагностической тест-системы для ранней неинвазивной диагностики рака простаты, основанной на количественной детекции мРНК гена *PCA3* в осадке мочи методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. *Вестник РАМН* 2013;5:45–51. [Pavlov K.A., Shkoporov A.N., Khokhlova E.V. et al. Development of a diagnostic test system for early non-invasive detection of prostate cancer based on *PCA3* mRNA levels in urine sediment using quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). *Vestnik RAMN = Bulletin of RAMS* 2013;(5):45–51. (In Russ.)].
 26. Тороповский А.Н., Никитин А.Г., Гордиев М.Г. и др. Результаты испытания набора реагентов для выявления мРНК гена *PCA3* и определения уровня его экспрессии методом двустадийной ОТ-ПЦР-РВ (Проста-Тест) для диагностики рака предстательной железы *in vitro* в клинической практике. *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»* 2018;1:126–36. [Tropovskiy A.N., Nikitin A.G., Gordiev M.G. et al. Results of validation of the Prosta-Test kit designed for mRNA *PCA3* detection using two-steps RT-real time PCR in clinical diagnostics of prostate cancer. *Vestnik meditsinskogo instituta REAVIZ = Journal of the REAVIZ Medical Institution* 2018;1:126–36. (In Russ.)].
 27. Fenstermaker M., Mendhiratta N., Bjurlin M.A. et al. Risk stratification by urinary prostate cancer gene 3 testing before magnetic resonance imaging-ultrasound fusion-targeted prostate biopsy among men with no history of biopsy. *Urology* 2017;99:174–9. DOI: 10.1016/j.urology.2016.08.022.
 28. Cao L., Lee C.H., Ning J. et al. Combination of prostate cancer antigen 3 and prostate-specific antigen improves diagnostic accuracy in men at risk of prostate cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2018;142(9):1106–12. DOI: 10.5858/arpa.2017-0185-OA.
 29. Yang Z., Yu L., Wang Z. *PCA3* and *TMPRSS2-ERG* gene fusions as diagnostic biomarkers for prostate cancer. *Chin J Cancer Res* 2016;28(1):65–71. DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2016.01.05.
 30. Ankerst D.P., Goros M., Tomlins S.A. et al. Incorporation of urinary prostate cancer antigen 3 and *TMPRSS2:ERG* into prostate cancer prevention trial risk calculator. *Eur Urol Focus* 2019;5(1):54–61. DOI: 10.1016/j.euf.2018.01.010.
 31. Newcomb L.F., Zheng Y., Faino A.V. et al. Performance of *PCA3* and *TMPRSS2:ERG* urinary biomarkers in prediction of biopsy outcome in the Canary Prostate Active Surveillance Study (PASS). *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2019;22(3):438–45. DOI: 10.1038/s41391-018-0124-z.
 32. Kornberg Z., Cooperberg M.R., Spratt D.E., Feng F.Y. Genomic biomarkers in prostate cancer. *Transl Androl Urol* 2018;7(3):459–71. DOI: 10.21037/tau.2018.06.02.
 33. Govers T.M., Caba L., Resnick M.J. Cost-effectiveness of urinary biomarker panel in prostate cancer risk assessment. *J Urol* 2018;200(6):1221–6. DOI: 10.1016/j.juro.2018.07.034.
 34. Haese A., Trooskens G., Steyaert S. et al. Multicenter optimization and validation of a 2-gene mRNA urine test for detection of clinically significant prostate cancer before initial prostate biopsy. *J Urol* 2019;202(2):256–63. DOI: 10.1097/JU.0000000000000293.
 35. Fujita K., Nonomura N. Urinary biomarkers of prostate cancer. *Int J Urol* 2018;25(9):770–9. DOI: 10.1111/iju.13734.
 36. Arriaga-Canon C., Rosa-Velazquez I.A., Gonzalez-Barrios R. et al. The use of long non-coding RNAs as prognostic biomarkers and therapeutic targets in prostate cancer. *Oncotarget* 2018;9(29):20872–90. DOI: 10.18632/oncotarget.25038.
 37. Loeb S. Biomarkers for prostate biopsy and risk stratification of newly diagnosed prostate cancer patients. *Urol Pract* 2017;4(4):315–21. DOI: 10.1016/j.urpr.2016.08.001.
 38. Shore N., Concepcion R., Saltzstein D. et al. Clinical utility of a biopsy-based cell cycle gene expression assay in localized prostate cancer. *Curr Med Res Opin* 2014;30(4):547–53. DOI: 10.1185/03007995.2013.873398.
 39. Crawford E.D., Scholz M.C., Kar A.J. et al. Cell cycle progression score and treatment decisions in prostate cancer: results from an ongoing registry. *Curr Med Res Opin* 2014;30(6):1025–31. DOI: 10.1185/03007995.2014.899208.
 40. Cuzick J., Stone S., Fisher G. et al. Validation of an RNA cell cycle progression score for predicting death from prostate cancer in a conservatively managed needle biopsy cohort. *Br J Cancer* 2015;113:382–9. DOI: 10.1038/bjc.2015.223.
 41. Cuzick J., Berney D.M., Fisher G. et al. Prognostic value of a cell cycle progression signature for prostate cancer death in a conservatively managed needle biopsy cohort. *Br J Cancer* 2012;106:1095–9. DOI: 10.1038/bjc.2012.39.
 42. Alford A.V., Brito J.M., Yadav K.K. et al. The use of biomarkers in prostate cancer screening and treatment. *Rev Urol* 2017;19(4):221–34. DOI: 10.3909/riu0772.
 43. Klein E.A., Haddad Z., Yousefi K. et al. Decipher genomic classifier measured on prostate biopsy predicts metastasis risk. *Urology* 2016;90:148–52. DOI: 10.1016/j.urology.2016.01.012.
 44. Marrone M., Potosky A.L., Penson D., Freedman A.N. A 22 gene-expression assay, Decipher® (GenomeDx Biosciences) to predict five-year risk of metastatic prostate cancer in men treated with radical prostatectomy. *PLoS Curr* 2015;7. DOI: 10.1371/currents.eogt.761b81608129ed61b0b48d42c04f92a4.
 45. Carneiro A., Priante Kayano P., Gomes Barbosa A.R. et al. Are localized prostate cancer biomarkers useful in the clinical practice? *Tumour Biol* 2018;40(9):1010428318799255. DOI: 10.1177/1010428318799255.
 46. Knezevic D., Goddard A.D., Natraj N. et al. Analytical validation of the Oncotype DX prostate cancer assay – a clinical RT-PCR assay optimized for prostate needle biopsies. *BMC Genomics* 2013;14:690. DOI: 10.1186/1471-2164-14-690.
 47. Cullen J., Rosner I.L., Brand T.C. et al. A biopsy-based 17-gene genomic prostate score predicts recurrence after radical prostatectomy and adverse surgical pathology in a racially diverse population of men with clinically low- and intermediate-risk prostate cancer. *Eur Urol* 2015;68(1):123–31. DOI: 10.1016/j.eururo.2014.11.030.
 48. Kornberg Z., Cowan J.E., Westphalen A.C. et al. Genomic prostate score, PI-RADS™ version 2 and progression in men with prostate cancer on active surveillance. *J Urol* 2019;201(2):300–7. DOI: 10.1016/j.juro.2018.08.047.
 49. UroVysion Bladder Cancer Kit. Available at: <https://www.molecular.abbott/sal/en-us/staticAssets/UroVysion-package-insert-R6---watermark.pdf>.

50. Karnes R.J., Fernandez C.A., Shuber A.P. A noninvasive multianalyte urine-based diagnostic assay for urothelial cancer of the bladder in the evaluation of hematuria. *Mayo Clin Proc* 2012;87(9):835–42. DOI: 10.1016/j.mayocp.2012.04.013.
51. Roperch J.P., Grandchamp B., Desgrandchamps F. et al. Promoter hypermethylation of HS3ST2, SEPTIN9 and SLIT2 combined with FGFR3 mutations as a sensitive/specific urinary assay for diagnosis and surveillance in patients with low or high-risk non-muscle-invasive bladder cancer. *BMC Cancer* 2016;16:704. DOI: 10.1186/s12885-016-2748-5.
52. Zhu F., Zhang Y., Shi L. et al. Gene mutation detection of urinary sediment cells for NMIBC early diagnose and prediction of NMIBC relapse after surgery. *Medicine (Baltimore)* 2019;98(32):e16451. DOI: 10.1097/MD.00000000000016451.
53. Михайленко Д.С., Немцова М.В. Точковые соматические мутации в развитии рака мочевого пузыря: ключевые события канцерогенеза, диагностические маркеры и мишени для терапии. *Урология* 2016;1:100–5. [Mikhailenko D.S., Nemtsova M.V. Point somatic mutations in bladder cancer: key carcinogenesis events, diagnostic markers and therapeutic targets. *Urologiya = Urology* 2016;1:100–5. (In Russ.)].
54. Descotes F., Kara N., Decaussin-Petrucci M. et al. Non-invasive prediction of recurrence in bladder cancer by detecting somatic TERT promoter mutations in urine. *Br J Cancer* 2017;117(4):583–7. DOI: 10.1038/bjc.2017.210.
55. Rodriguez Pena M.D., Springer S.U., Taheri D. et al. Performance of novel non-invasive urine assay UroSEEK in cohorts of equivocal urine cytology. *Virchows Arch* 2019 [Epub ahead pr.]. DOI: 10.1007/s00428-019-02654-1.
56. Cxbladder Kits. Available at: <https://www.cxbladder.com/>.
57. Kavalieris L., Sullivan P., Frampton C. et al. Performance characteristics of a multigene urine biomarker test for monitoring for recurrent urothelial carcinoma in a multicenter study. *J Urol* 2017;197(6):1419–26. DOI: 10.1016/j.juro.2016.12.010.
58. Davidson P.J., McGeoch G., Shand B. Inclusion of a molecular marker of bladder cancer in a clinical pathway for investigation of haematuria may reduce the need for cystoscopy. *N Z Med J* 2019;132(1497): 55–64.
59. Konety B., Shore N., Kader A.K. et al. Evaluation of Cxbladder and adjudication of atypical cytology and equivocal cystoscopy. *Eur Urol* 2019;76(2):238–43. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.04.035.

Вклад авторов

Д.С. Михайленко: сбор и анализ данных, написание большинства разделов статьи;
С.А. Сергиенко: сбор данных о маркерах рака мочевого пузыря, подготовка иллюстраций;
Б.Я. Алексеев, А.Д. Каприн: разработка дизайна исследования, определение структуры статьи;
М.В. Немцова: общее руководство исследованием, написание части раздела про маркеры рака мочевого пузыря и заключения.

Authors' contributions

D.S. Mikhailenko: collecting and analyzing data, authoring much of the article;
S.A. Sergienko: collecting data on bladder cancer markers, image processing;
B.Ya. Alekseev, A.D. Kaprin: developing the study design, as well as the article structure;
M.V. Nemtsova: heading the research, authoring the part on bladder cancer markers and conclusion.

ORCID авторов/ORCID of authors

Д.С. Михайленко/D.S. Mikhailenko: <https://orcid.org/0000-0001-9780-8708>
Б.Я. Алексеев/B.Ya. Alekseev: <https://orcid.org/0000-0002-3398-4128>
А.Д. Каприн/A.D. Kaprin: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>
М.В. Немцова/M.V. Nemtsova: <https://orcid.org/0000-0002-2835-5992>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Статья поступила: 09.09.2019. **Принята к публикации:** 07.10.2019.
Article submitted: 09.09.2019. **Accepted for publication:** 07.10.2019.