

Сравнение экспрессии гена *PCA3* в осадках и экзосомах мочи при раке предстательной железы

Д.С. Михайленко¹⁻³, А.А. Новиков¹, М.В. Григорьева¹, Г.Д. Ефремов¹, А.В. Сивков¹, Н.Ю. Сафронова¹, К.С. Сорокин⁴, М.Ю. Земскова^{4,5}, М.В. Немцова², Б.Я. Алексеев¹, А.Д. Каприн¹

¹Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 105425 Москва, ул. 3-я Парковая, 51, корп. 4;

²Институт молекулярной медицины ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России; Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

³ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; Россия, 115478 Москва, ул. Москворечье, 1;

⁴ООО «Простагност»; Россия, 143026 Москва, ИЦ Сколково, ул. Нобеля, 7;

⁵ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина» РАН; Россия, 142290 Московская обл., Пушкино, просп. Науки, 5

Контакты: Дмитрий Сергеевич Михайленко dimserg@mail.ru

Введение. Рак предстательной железы (РПЖ) является одним из наиболее частых онкологических заболеваний у мужчин. В качестве молекулярно-генетического маркера РПЖ в настоящее время используют определение экспрессии гена *PCA3* в моче.

Цель работы – сравнительный анализ экспрессии гена *PCA3* в осадках и в экзосомах мочи для определения биоматериала, позволяющего более эффективно проводить определение экспрессии этого гена.

Материалы и методы. Были исследованы данные 12 пациентов с различными стадиями РПЖ и 8 контрольных образцов.

Результаты. Диагностическая точность анализа экспрессии *PCA3* в этой выборке превысила 90 %. Не выявлено достоверных различий чувствительности и специфичности гиперэкспрессии *PCA3* при анализе осадков по сравнению с экзосомами мочи. Это указывает на целесообразность использования осадков мочи для анализа *PCA3* как биоматериала с менее трудоемкой пробоподготовкой, однако возможные преимущества экзосом для анализа панелей экспрессионных маркеров требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: *PCA3*, экспрессия, экзосома, неинвазивная диагностика

DOI: 10.17650/1726-9776-2017-13-3-54-60

Comparative analysis of the *PCA3* gene expression in sediments and exosomes isolated from urine

D.S. Mikhaylenko¹⁻³, A.A. Novikov¹, M.V. Grigor'eva¹, G.D. Efremov¹, A.V. Sivkov¹, N.Yu. Safronova¹, K.S. Sorokin⁴, M.Yu. Zemskova^{4,5}, M.V. Nemtsova², B.Ya. Alekseev¹, A.D. Kaprin¹

¹N.A. Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; Build. 4, 51 3rd Parkovaya St., Moscow 105425, Russia;

²Institute of Molecular Medicine, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia; Build. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia;

³Research Center for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow 115478, Russia;

⁴Prostagnot Company; 7 Nobelya St., Skolkovo district, Moscow 143026, Russia;

⁵G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms; 5 Prospekt Nauki, Pushchino, Moscow region 142290, Russia

Introduction. Prostate cancer (PCa) is one of the common oncological diseases in men. Expression of the *PCA3* gene in urine is currently used as a molecular genetic marker of PCa.

Objective: to comparative analysis of the *PCA3* expression in urine sediments and exosomes for the determination of the biomaterial, which allows detecting the *PCA3* expression in more efficient manner.

Materials and methods. The 12 patients with different stages of PCa and 8 control samples were examined.

Results. The diagnostic accuracy of the *PCA3* gene expression analysis in this cohort exceeded 90 %. We had not obtained significant differences in the sensitivity and specificity of the *PCA3* hyperexpression in the urine sediments compared with exosomes. This result indicates in favor to using urine sediment for the *PCA3* analysis as a biomaterial with less time-consuming sample preparation, although the possible advantage of exosomes for the analysis of the expression marker panels requires further studies.

Key words: *PCA3*, gene expression, exosome, non-invasive diagnostics

Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) является одним из наиболее частых онкологических заболеваний у мужчин и представляет собой актуальную проблему современной онкоурологии. В России заболеваемость РПЖ за последние 10 лет выросла с 25,61 до 57,22 на 100 тыс. населения [1]. Измерение концентрации простатического специфического антигена (ПСА) в крови – основной лабораторный тест в диагностике РПЖ, положительный результат которого может служить одним из показаний к проведению биопсии. Морфологическое исследование вследствие гетерогенности и мультифокальности опухолей не всегда позволяет выявить РПЖ в биоптатах предстательной железы (ПЖ) и требует высокой квалификации патолога [2]. Остается актуальным поиск новых молекулярных маркеров РПЖ, имеющих диагностическое значение и определяемых неинвазивными методами, например в моче. В качестве такого молекулярно-генетического маркера РПЖ в настоящее время используют определение экспрессии гена *PCSA3* относительно гена с простатспецифической экспрессией – *KLK3*. Ген *PCSA3* кодирует регуляторную РНК и гиперэкспрессируется в РПЖ относительно нормы или других патологических изменений – простатита, доброкачественной гиперплазии ПЖ (ДГПЖ) [3]. Анализ экспрессии *PCSA3* в моче одобрен Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (Food and Drug Administration, FDA) для решения вопроса о целесообразности проведения повторной биопсии у пациентов с повышающимся уровнем ПСА и отрицательным результатом 1-й биопсии [4]. Чувствительность и специфичность теста *PCSA3* варьируют в широких пределах по данным разных авторов – от 60 до 95 % – со средними значениями этих показателей около 80 %, по данным метаанализа [5–7]. На диагностическую точность метода может влиять, во-первых, метод анализа экспрессии генов: в оригинальной тест-системе анализа экспрессии *PCSA3* ProgenSA (Hologic) используется транскрипционноопосредованная амплификация, другие авторы применяют обратную транскрипцию и полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР-РВ) [8, 9]. Во-вторых, немаловажным фактором является этап пробоподготовки, т. е. способ получения того биоматериала, из которого непосредственно выделяют РНК. Набор ProgenSA предполагает анализ мочи без предварительной подготовки, ее забирают в среду, где проводят лизис клеток и сорбцию исследуемых матричных РНК (мРНК) со специфичными олигонуклеотидами, иммобилизованными на магнитных шариках [8]. При другом подходе РНК выделяют из осадка мочи после центрифугирования [9], ряд авторов перед взятием мочи проводят массаж ПЖ в целях увеличения доли клеток из ПЖ в осадке мочи [10, 11].

В последние годы в качестве объекта исследования при канцерогенезе часто выступают экзосомы – мембранные структуры, секретируемые из клеток посредством слияния мультивезикулярных эндосом с плазматической мембраной. Экзосомы участвуют в межклеточной коммуникации, причем злокачественные клетки продуцируют больше экзосом, чем нормальные, показана их роль в ремоделировании опухолевого микроокружения, формировании премеастатических ниш [12]. При РПЖ в моче обнаруживают экзосомы, содержащие РНК опухолевых клеток, причем сохранность РНК внутри этих мембранных везикул выше, чем непосредственно в моче. Ряд авторов высказывают предположение о том, что выделение и концентрирование экзосом из мочи у больных РПЖ позволяют получить препарат, анализ экспрессии генов в котором даст более воспроизводимые результаты за счет обогащения полученной тотальной РНК молекулами мРНК опухолевого происхождения. Сравнение уровней экспрессии *PCSA3* в цельной моче, осадке и экзосомах у разных авторов показывает противоречивые результаты: в одних диагностическая точность выявления РПЖ выше при анализе мочи, в других – при анализе экзосом, полученных из мочи [11, 13, 14].

Цель работы – сравнительный анализ экспрессии *PCSA3* в осадке и в экзосомах мочи у пациентов с РПЖ и группы контроля для определения биоматериала, позволяющего более эффективно проводить неинвазивную диагностику РПЖ.

Материалы и методы

Выборка пациентов. В исследование вошли 12 больных РПЖ, 5 пациентов с мочекаменной болезнью (МКБ) и 3 – с ДГПЖ. В дальнейшем пациенты с МКБ и ДГПЖ были объединены в группу контроля. Возраст пациентов составил 53–80 лет (средний возраст 63,8 года). Всем пациентам с РПЖ и ДГПЖ был выполнен необходимый объем диагностических тестов, включая ультразвуковое исследование нижних мочевыводящих путей, урофлоуметрию, общий анализ мочи (в том числе постмассажной порции), определение креатинина в плазме, а также измерение концентрации общего ПСА в крови.

Осадок мочи получали центрифугированием со скоростью 3000 об/мин в течение 15 мин из объема 15–30 мл мочи, взятой после массажа ПЖ.

Экзосомы выделяли из того же образца мочи, что и осадок методом последовательного центрифугирования: сначала 50 мл постмассажной мочи с ускорением 10 тыс. g в течение 15 мин, затем – супернатанта с ускорением 100 тыс. g в течение 3 ч. Полученный осадок промывали 3 мл PBS (phosphate-buffered saline), осаждавая кратковременным центрифугированием, после этого экзосомы ресуспендировали в 200 мкл PBS.

Выделение тотальной РНК из осадков мочи проводили с помощью набора «АмплиПрайм РИБО-сорб» (НекстБио, Россия) по протоколу фирмы-производителя. Полученный препарат РНК затем обрабатывали 6 ед. активности ДНКазы для удаления примеси геномной ДНК.

Обратную транскрипцию для получения комплементарной ДНК на 10 мкл выделенного из осадка мочи на предыдущем этапе препарата тотальной РНК осуществляли с применением набора РЕВЕРТА-Л (Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора).

ПЦР-РВ проводили для сравнительной оценки экспрессии генов. В качестве эндогенного контроля использовали ген *GAPDH*, присутствие транскриптов из клеток ПЖ и относительную экспрессию целевого гена *PCAZ* определяли по гену *KLK3*. Реакцию осуществляли с применением 2,5-кратной реакционной смеси для проведения ПЦР-РВ в присутствии референсного красителя ROX (Синтол, Россия) на детектирующем термоциклере StepOnePlus (Applied Biosystems, США) с комбинацией праймеров и зондов собственного дизайна. Температурные параметры ПЦР-РВ: начальная денатурация 95 °С 5 мин, затем 45 циклов: 95 °С – 15 с, 60 °С – 50 с (детекция). Алгоритм относительного определения экспрессии *PCAZ* и расчет показателя $\Delta\Delta Ct$ ($PCAZ-KLK3$) – далее $\Delta\Delta Ct$ – опубликованы нами ранее [15].

Статистическая обработка результатов включала сравнительный анализ $\Delta\Delta Ct$ в группах РПЖ и контроля, построение ROC-кривых, определение оптимальных пороговых уровней этого показателя, вычисление чувствительности и специфичности теста. Уровень значимости α был принят равным 0,05. Использовали программы Microsoft Excel и GraphPad Prism (<https://www.graphpad.com/scientific-software/prism>).

Результаты и обсуждение

В настоящей работе определяли показатель $\Delta\Delta Ct$, отражающий экспрессию гена *PCAZ*, в 12 случаях РПЖ и 8 контрольных (ДГПЖ и МКБ) методом ПЦР-РВ в парных аликвотах осадка и экзосом, выделенных из одного и того же исходного образца мочи. Средние значения и стандартные отклонения $\Delta\Delta Ct$ у пациентов с РПЖ, ДГПЖ и МКБ при анализе осадка мочи составили $0,68 \pm 0,96$; $4,22 \pm 1,98$ и $5,82 \pm 2,17$; при анализе экзосом эти показатели были равны $-0,31 \pm 1,25$; $3,38 \pm 0,99$ и $2,24 \pm 2,01$ соответственно. Отметим, что меньшее значение $\Delta\Delta Ct$ соответствует более высокому уровню мРНК анализируемого гена *PCAZ* по сравнению с калибровочным геном *KLK3* в образце [15]. С помощью двустороннего критерия Манна–Уитни показано, что различия $\Delta\Delta Ct$ между РПЖ и контролем были достоверными как при анализе осадков, так и при анализе экзосом мочи: $p = 0,0003/$

медиана 0,81 (РПЖ) против 5,50 (контроль) при анализе осадков и $p = 0,001/$ медиана $-0,36$ (РПЖ) против 2,88 (контроль) при анализе экзосом мочи (см. таблицу).

Основной целью работы было сравнение экспрессии гена *PCAZ* в осадках и экзосомах мочи. На 1-м этапе с помощью критерия Вилкоксона было проведено попарное сравнение осадков и экзосом, полученных от одного пациента. Показано, что $\Delta\Delta Ct$ коррелирует при анализе экспрессии *PCAZ* в этих 2 типах биоматериала (коэффициент Спирмена $r = 0,83$) и достоверно смещен в сторону более низких значений ($p < 0,0001$) при анализе экзосом относительно осадков мочи. На 2-м этапе были построены ROC-кривые и определены параметры теста *PCAZ* для 2 типов биоматериала (см. рисунок, а). При анализе осадков мочи различия экспрессии *PCAZ* между РПЖ и контролем были достоверны ($p = 0,0002$). Пороговый уровень 1,86 позволил корректно отнести все случаи к клиническим группам РПЖ и контроля (чувствительность и специфичность равны 1,00; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,63–1,00 и 0,74–1,00 соответственно). При анализе экзосом мочи различия экспрессии *PCAZ* между РПЖ и контролем также были достоверны ($p = 0,002$), площадь под ROC-кривой составила 0,92 (95 % ДИ 0,76–1,08). При оптимальном пороговом уровне 1,48 чувствительность составила 0,88, специфичность – 1,00; 95 % ДИ 0,48–0,99 и 0,74–1,00 соответственно. С учетом доли пациентов с РПЖ в исследуемой выборке диагностическая точность, прогностическая ценность отрицательного и положительного результатов для осадков мочи были близки к 1,00, аналогичные показатели для экзосом составили 0,95; 1,00 и 0,97. Не обнаружено достоверных различий в указанных выше диагностических характеристиках анализа экспрессии *PCAZ* между осадками и экзосомами мочи ($p > 0,05$). В предшествующих работах по анализу экспрессии *PCAZ* с помощью $\Delta\Delta Ct$ в биоптатах ПЖ и осадках мочи были предложены пороговые уровни этого показателя 3,22 и 1,23 соответственно, а также обсуждено наличие серой зоны $\Delta\Delta Ct$ [15, 16]. С учетом полученных данных можно предложить пороговый уровень $\Delta\Delta Ct$ для осадков мочи равным 2,00, что не изменит достоверно диагностической точности при исследовании экспрессии гена *PCAZ* в когорте из настоящей выборки 20 образцов и ранее сформированной выборки 56 осадков мочи [15]. Вместе с тем этот уровень представляет собой целочисленное значение, более удобное для рутинной интерпретации анализа относительного уровня экспрессии *PCAZ*.

Наибольший интерес вызывают диагностические характеристики новых маркеров РПЖ в «серой» зоне уровня ПСА 2–10 нг/мл. На основе данных мультицентровых исследований в настоящее время пороговое значение уровня ПСА определено Европейской ассоциацией урологов как 2,5 нг/мл со скоростью прироста

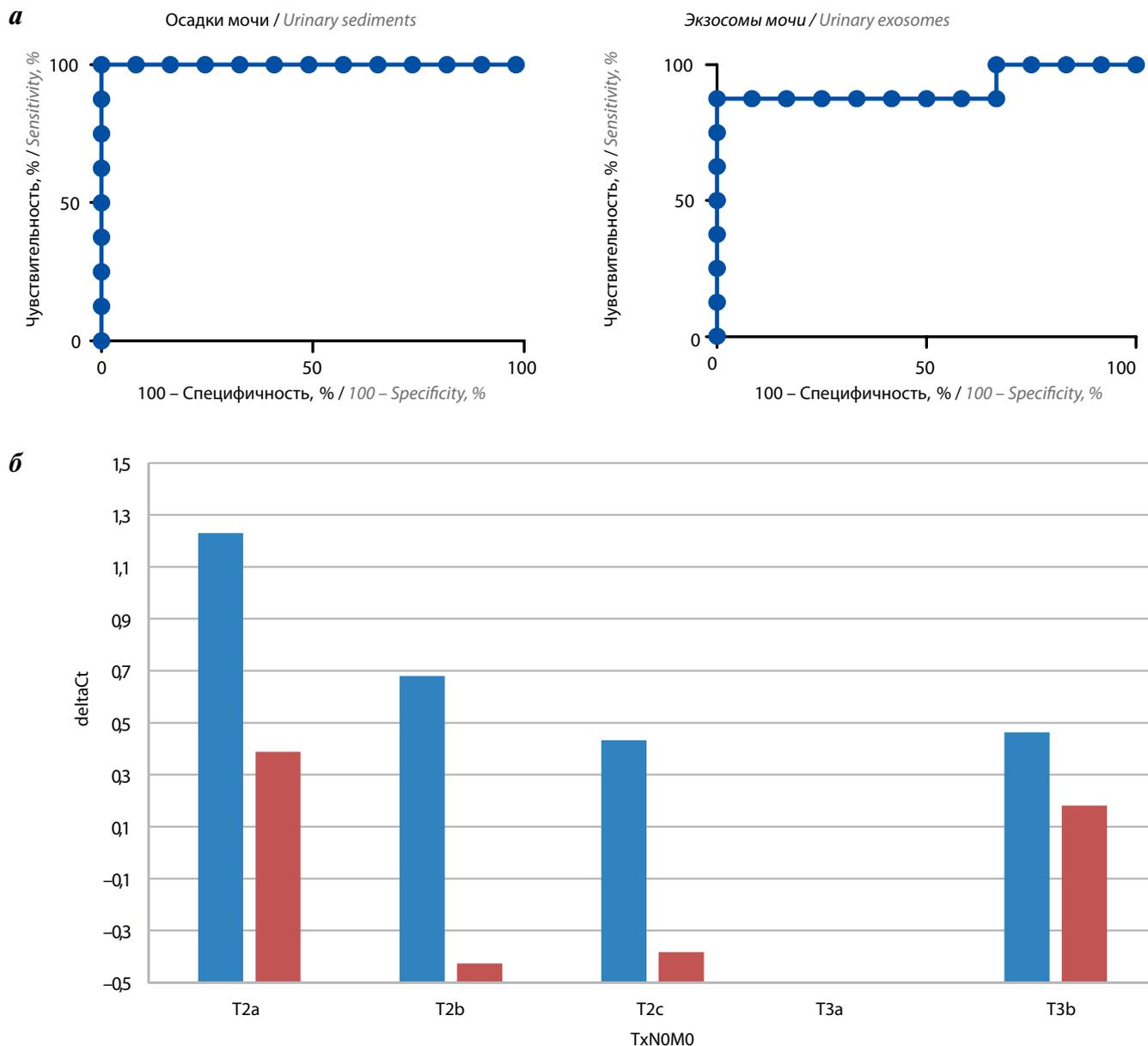
Характеристика пациентов и результаты анализа PCA3

Characteristics of patients and results of PCA3 tests

№ пациента Patient	Диагноз Diagnosis	Стадия РПЖ PC stage	Общий ПСА, нг/мл Total PSA, ng/ml	deltaCt (PCA3–KLK3)	
				Осадок мочи Urinary sediment	Экзосомы Exosomes
1	МКБ UL	–	1,6	5,19	2,35
2	МКБ UL	–	0,85	2,51	–0,86
3	МКБ UL	–	1,04	6,45	1,69
4	МКБ UL	–	1,19	8,37	4,19
5	МКБ UL	–	<i>2,33</i>	<i>6,60</i>	<i>3,81</i>
6	ДГПЖ BPH	–	1,57	4,87	3,35
7	ДГПЖ BPH	–	1,47	5,80	4,38
8	ДГПЖ BPH	–	2,93	<i>2,00</i>	<i>2,41</i>
9	РПЖ PC	T3bN0M0	23,00	0,04	–0,79
10	РПЖ PC	T2cN0M0	11,00	–1,17	–2,22
11	РПЖ PC	T2cN0M0	48,40	1,72	0,03
12	РПЖ PC	T2bN0M0	<i>9,00</i>	<i>1,61</i>	<i>–0,50</i>
13	РПЖ PC	T2aN0M0	0,90	0,45	–1,71
14	РПЖ PC	T2aN0M0	20,00	1,53	0,86
15	РПЖ PC	T2cN0M0	<i>9,47</i>	<i>–0,19</i>	<i>–1,43</i>
16	РПЖ PC	T2bN0M0	15,6	–0,25	–1,46
17	РПЖ PC	T3bN0M0	20,65	0,18	–0,21
18	РПЖ PC	T2aN0M0	<i>8,60</i>	<i>1,71</i>	<i>1,17</i>
19	РПЖ PC	T3bN0M0	56,60	1,17	1,26
20	РПЖ PC	T2cN0M0	1,49	1,37	1,27

Примечание. Полужирным шрифтом отмечены ложноположительные и ложноотрицательные случаи, курсивом – образцы в «серой» зоне ПСА. РПЖ – рак предстательной железы; ПСА – простатический специфический антиген; МКБ – мочекаменная болезнь; ДГПЖ – доброкачественная гиперплазия предстательной железы.

Note. False-positive and false-negative cases are shown in bold; samples within the gray zone of PSA are in italics. PC – prostate cancer; PSA – prostatic specific antigen; UL – urolithiasis; BPH – benign prostatic hyperplasia.



Сравнительный анализ экспрессии гена *PCA3*: а – ROC-анализ экспрессии в осадках мочи и экзосомах; б – средние значения показателя *deltaCt* у пациентов с разной стадией РПЖ (синие – для осадков мочи, красные – для экзосом)
 Comparative analysis of *PCA3* gene expression: а – ROC analysis of the expression in urinary sediments and exosomes; б – average *deltaCt* values in patients with different stages of prostate cancer (urinary sediments (blue), exosomes (red))

0,6 нг/мл в год. При этом сложно интерпретировать повышение уровня ПСА в диапазоне 2–10 нг/мл, называемом «серой зоной», так как эти концентрации равновероятно могут соответствовать РПЖ, ДГПЖ, простатиту; результаты около 70 % биопсий у мужчин в данной группе показывают отсутствие РПЖ [2]. В исследованной выборке было 5 образцов в «серой зоне» ПСА они были корректно классифицированы при установленных на предыдущем этапе ROC-анализа оптимальных пороговых уровнях 1,86 и 1,48 для осадков и экзосом мочи соответственно (за исключением

1 ложноположительного случая при анализе экзосом). Это согласуется с тем, что *PCA3* охарактеризован рядом авторов как маркер с диагностической точностью выше, чем у общего и отношения свободного к общему ПСА, особенно в «серой зоне» 2–10 нг/мл [17, 18], в том числе и при первичной диагностике РПЖ [19, 20]. Вместе с тем необходимо иметь в виду малый объем выборки и наличие «серой зоны» *deltaCt*, описанной нами ранее при анализе экспрессии *PCA3* в РПЖ [16].

Ранее было показано, что высокие значения уровня ПСА коррелируют со стадией РПЖ, что связано

с увеличением размера опухоли, продуцирующей ПСА, деструктивными изменениями в ПЖ и повышением сосудистой проницаемости. Увеличение концентрации ПСА >50 нг/мл ассоциировано с прорастанием капсулы и инвазией в семенные пузырьки, >100 нг/мл — с регионарным и отдаленным метастазированием [2]. Нами было проведено сравнение показателя deltaCt у пациентов с различными TNM-параметрами (см. рисунок, б). Не выявлено достоверных различий в ряду T2a–T3b, как и ассоциации deltaCt с увеличением стадии РПЖ ($p > 0,05$); однако при анализе этого результата следует иметь в виду малый ($n = 20$) объем выборки. Другие авторы показали ассоциацию уровня *PCSA3* со стадией РПЖ [13, 21], а также противоречивые ассоциации гиперэкспрессии *PCSA3* с суммой баллов по шкале Глисона [22, 23].

Полученные результаты согласуются с данными других авторов, которые анализировали экспрессию гена *PCSA3* наряду с другими генами с простатспецифичной экспрессией и не обнаружили различий частоты гиперэкспрессии *PCSA3* в экзосомах по сравнению с цельной мочой или осадком мочи, указывая лишь на увеличение чувствительности анализа при использовании постмассажной мочи [11, 13, 24]. Можно предположить, что более дешевый и менее трудоемкий способ получения осадка мочи по сравнению с экзосомами является наиболее предпочтительным для анализа экспрессионных маркеров при неинвазивной диагностике РПЖ. Вместе с тем целесообразно проведение более масштабных исследований для решения вопроса о существовании преимущества экзосом

как источника не только анализируемых опухолеспецифичных мРНК или микроРНК, но и белковых онкомаркеров [14, 25]. Следует отметить, что в последние годы опубликованы работы, в которых для определения РПЖ по РНК-маркерам в моче используют анализ экспрессии не одного *PCSA3*, а панели генов, гиперэкспрессия которых ассоциирована с РПЖ. Одна из них включала гены *PCSA3*, *ELF3*, *SPP1* и *HIST1H2BG*, другая — *PCSA3* и *TMPRSS2: ERG* с использованием ProgenSA и новой тест-системы T2ERG (Hologic), еще в одной работе анализировали экспрессию 12 генов [26–28]. Опубликованы панели экспрессионных маркеров без *PCSA3*, также направленные на диагностику РПЖ по осадку мочи, которые включают гены *DLX1* и *HOXC6* [29–31].

Заключение

Таким образом, нами проведено исследование экспрессии гена *PCSA3* в парных образцах осадка мочи и выделенных из нее экзосом, полученных от 12 пациентов с различными стадиями РПЖ, и 8 контрольных образцах. Диагностическая точность анализа экспрессии *PCSA3* в этой выборке превысила 90 %. Не выявлено достоверных различий чувствительности и специфичности гиперэкспрессии *PCSA3* при анализе осадков по сравнению с экзосомами мочи, хотя эти результаты целесообразно валидировать на большей выборке пациентов. Полученные данные способствуют более оптимальному выбору биоматериала для последующего анализа экспрессии генов при неинвазивной молекулярно-генетической диагностике РПЖ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. Authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2015 (morbidity and fatality). Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMIRTS” Minzdrava Rossii, 2017. 250 p. (In Russ.)].
2. Онкоурология: национальное руководство. Под ред. В.И. Чиссова, Б.Я. Алексеева, И.Г. Русакова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 688 с. [Oncourology: National Guideline. Eds.: V.I. Chissov, B.Ya. Alekseev, I.G. Rusakov. Moscow: GEOTAR-Media, 2012. 688 p. (In Russ.)].
3. 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.)].
4. Tombal B., Andriole G.L., de la Taille A. et al. Clinical judgment versus biomarker prostate cancer gene 3: which is best when determining the need for repeat prostate biopsy? Urology 2013;81(5):998–1004. DOI: 10.1016/j.urology.2012.11.069. PMID: 23523291.
5. Cui Y., Cao W., Li Q. et al. Evaluation of prostate cancer antigen 3 for detecting prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. Sci Rep 2016;6:25776. DOI: 10.1038/srep25776. PMID: 27161545.
6. Bradley L.A., Palomaki G.E., Gutman S. et al. Comparative effectiveness review: prostate cancer antigen 3 testing for the diagnosis and management of prostate cancer. J Urol 2013;190(2):389–98. DOI: 10.1016/j.juro.2013.02.005. PMID: 23545099.
7. Ramos C.G., Valdevenito R., Vergara I. et al. *PCSA3* sensitivity and specificity for prostate cancer detection in patients with abnormal PSA and/or suspicious digital rectal examination. First Latin American experience. Urol Oncol 2013;31(8):1522–6.

- DOI: 10.1016/j.urolonc.2012.05.002.
PMID: 22687565.
8. Durand X., Moutereau S., Xylinas E., de la Taille A. Progenesa™ *PCA3* test for prostate cancer. *Expert Rev Mol Diagn* 2011;11(2):137–44. DOI: 10.1586/erm.10.122. PMID: 21405964.
 9. Wang T., Qu X., Jiang J. et al. Diagnostic significance of urinary long non-coding *PCA3* RNA in prostate cancer. *Oncotarget* 2017. DOI: 10.18632/oncotarget.17272. PMID: 28489592.
 10. Quek S.I., Wong O.M., Chen A. et al. Processing of voided urine for prostate cancer RNA biomarker analysis. *Prostate* 2015;75(16):1886–95. DOI: 10.1002/pros.23066. PMID: 26306723.
 11. Hendriks R.J., Dijkstra S., Jannink S.A. et al. Comparative analysis of prostate cancer specific biomarkers *PCA3* and *ERG* in whole urine, urinary sediments and exosomes. *Clin Chem Lab Med* 2016;54(3):483–92. DOI: 10.1515/ccm-2015–0599.
 12. Молекулярный канцерогенез. Под ред. М.А. Красильникова, И.Б. Зборовской. М.: ООО ИД «АБВ-пресс», 2016. 418 с. [Molecular carcinogenesis. Eds.: M.A. Krasil'nikov, I.B. Zborovskaya. Moscow: ООО ИД «АБВ-пресс», 2016. 418 p. (In Russ.)].
 13. Donovan M.J., Noerholm M., Bentink S. et al. A molecular signature of *PCA3* and *ERG* exosomal RNA from non-DRE urine is predictive of initial prostate biopsy result. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2015;18(4):370–5. DOI: 10.1038/pcan.2015.40.
 14. Filella X., Foj L. Prostate cancer detection and prognosis: from prostate specific antigen (PSA) to exosomal biomarkers. *Int J Mol Sci* 2016;17(11):E1784. DOI: 10.3390/ijms17111784. PMID: 27792187.
 15. 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 клиническая урология* 2015;(2):30–5. [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. *Experimental'naya klinicheskaya urologiya = Experimental Clinical Urology* 2015;(2):30–5. (In Russ.)].
 16. 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., Grigor'eva 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.)].
 17. Goode R.R., Marshall S.J., Duff M. et al. Use of *PCA3* in detecting prostate cancer in initial and repeat prostate biopsy patients. *Prostate* 2013;73(1):48–53. DOI: 10.1002/pros.22538. PMID: 22585386.
 18. Ferro M., Bruzzese D., Perdoni S. et al. Prostate health index (Phi) and prostate cancer antigen 3 (*PCA3*) significantly improve prostate cancer detection at initial biopsy in a total PSA range of 2–10 ng/ml. *PLoS One* 2013;8(7):e67687. DOI: 10.1371/journal.pone.0067687.
 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. PMID: 28293631.
 20. 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. PMID: 24333241.
 21. Vlaeminck-Guillem V., Devonec M., Champetier D. et al. Urinary *PCA3* to predict prostate cancer in a cohort of 1015 patients. *Prog Urol* 2015;25(16):1160–8. DOI: 10.1016/j.purol.2015.08.005. PMID: 26376283.
 22. Wei W., Leng J., Shao H., Wang W. High *PCA3* scores in urine correlate with poor-prognosis factors in prostate cancer patients. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(9):16606–12. PMID: 26629191.
 23. 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. DOI: 10.1038/pcan.2017.16. PMID: 28417979.
 24. Alshalalfa 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. DOI: 10.18632/oncotarget.15133. PMID: 28187449.
 25. Motamedinia P., Scott A.N., Bate K.L. et al. Urine exosomes for non-invasive assessment of gene expression and mutations of prostate cancer. *PLoS One* 2016;11(5):e0154507. DOI: 10.1371/journal.pone.0154507. PMID: 27144529.
 26. Dijkstra S., Birker I.L., Smit F.P. et al. Prostate cancer biomarker profiles in urinary sediments and exosomes. *J Urol* 2014;191(4):1132–8. DOI: 10.1016/j.juro.2013.11.001. PMID: 24211598.
 27. Mengual L., Lozano J.J., Ingelmo-Torres M. et al. Using gene expression from urine sediment to diagnose prostate cancer: development of a new multiplex mRNA urine test and validation of current biomarkers. *BMC Cancer* 2016;16:76. DOI: 10.1186/s12885-016-2127-2.
 28. O'Malley P.G., Nguyen D.P., Al Hussein Al Awamlh B. et al. Racial variation in the utility of urinary biomarkers *PCA3* and *T2ERG* in a large multicenter study. *J Urol* 2017;198(1):42–9. DOI: 10.1016/j.juro.2017.01.058. PMID: 28115190.
 29. Albitar M., Ma W., Lund L. et al. Predicting prostate biopsy results using a panel of plasma and urine biomarkers combined in a scoring system. *J Cancer* 2016;7(3):297–303. DOI: 10.7150/jca.12771. PMID: 26918043.
 30. Leyten G.H., Hessels D., Smit F.P. et al. Identification of a candidate gene panel for the early diagnosis of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2015;21(13):3061–70. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14–3334. PMID: 25788493.
 31. Van Neste L., Hendriks R.J., Dijkstra S. et al. Detection of high-grade prostate cancer using a urinary molecular biomarker-based risk score. *Eur Urol* 2016;70(5):740–8. DOI: 10.1016/j.euro.2016.04.012. PMID: 27108162.

Статья поступила: 15.06.2017. Принята в печать: 05.07.2017.

Article received: 15.06.2017. Accepted for publication: 05.07.2017.