



УДК 616.65-002-006:616.65-002-007.61
 «Журнал НАМН України» | 2021 | т. 27 | № 4 | С. 233–240
<https://doi.org/10.37621/JNAMSU-2021-4-1>

Визначення критичних порогових значень індексу АРП-3 у хворих з патологією передміхурової залози

С. О. Возіанов, Р. О. Данилець, В. М. Григоренко, Є. І. Афанас'єв, А. П. Нестерчук, А. А. Самек

Державна установа «Інститут урології імені академіка О. Ф. Возіанова НАМН України», вул. Володимира Винниченка, 9а, Київ 04053, Україна

Вступ. Антиген раку простати-3 (АРП-3) – генетичний маркер, який набув широкого застосування та продемонстрував високий діагностичний потенціал. Його ген експресується лише в тканині передміхурової залози (ПЗ), причому при злоякісній неопластичній трансформації його експресія зростає в 70–100 разів. Функціональним продуктом гена АРП-3 є поліаденільована матрична РНК (мРНК), яка не транскрибується у білок. Сам ген містить чотири екзони та три інтрони. Продукт гена АРП-3 визначається в осаді постмасажної сечі за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в поєднанні зі зворотною транскрипцією, що може бути використано як прогностичний біомаркер у хворих з першою негативною біопсією або взагалі до її виконання. Крім того індекс АРП-3 можна застосувати задля визначення агресивності пухлин і вирішення питання щодо тактики лікування. З огляду на це, у хворих з підвищеною концентрацією ПСА у крові вдається суттєво зменшити кількість непотрібних біопсій.

Мета – визначення порогових критичних меж індексу АРП-3 як прогностичного біомаркера розвитку РПЗ.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на основі даних обстеження 243 чоловіків на базі ДУ «Інститут урології НАМН України» в період 2015–2020 рр. Екстракцію РНК із зразків постмасажної сечі отримували за допомогою набору RNeasy (Qiagen). Статистичний аналіз результатів виконували за допомогою пакету програм SPSS Statistics 19.0 (IBM SPSS Statistics 19.0) та SAS 12.0 (IBM Statistical Analysis System 12.0). Визначення критичної межі біомаркера здійснювали за

Determination of critical cut-off values of PCA3 index in patients with prostate gland pathology

S. O. Voizianov, R. O. Danylets, V. M. Grygorenko, Y. I. Afanasiev, A. P. Nesterchuk, A. A. Samek

Institute of Urology named of academic A. F. Voizianov of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, 9a, Volodymyra Vynnychenka Str., Kyiv 04053, Ukraine

Introduction. Prostate cancer antigen-3 (PCA3) is a genetic biomarker, which got widespread and demonstrated high diagnostic potential. This gene expresses only in prostate gland tissue, furthermore, malignant prostate neoplastic transformation leads to 70–100 time overexpression of it. Polyadenylated matrix RNA (mRNA) is a functional product of this gene, which do not translating into protein. Gene contains of four introns and three exon. Product of PCA's gene detecting in post massage urine using polymerase chain reaction (PCR) in combination with reverse transcription. It could use as prognostic biomarker in patients with first negative biopsy or before it performing. Moreover, index of PCA3 can be useful in detecting tumor aggressiveness and decisions about further treatment options. Taking into account these facts, patients with high initial PSA level can avoid unnecessary biopsies.

Objective – to determine critical cut-off value of PCA3 index as prognostic biomarker of PCa development.

Materials and methods. Research based on routine and special test's data of 243 men in Institute of Urology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine in period of 2015–2020 year. RNA extraction from postmassage urine samples performed using RNeasy (Qiagen) kit. Statistical analysis performed using SPSS Statistics 19.0 (IBM SPSS Statistics 19.0) та SAS 12.0 (IBM Statistical Analysis System 12.0). Critical cut-off values deter-

допомогою трьох методів: середнього значення всієї вибірки (X_{cp}) та її стандартної похибки (SD), індексу Гейнера та індексу Юдена. Оцінку оптимальності визначених порогових значень проводили на підставі порівняльного аналізу індексу позитивного прогнозу (ІПП), індексу негативного прогнозу (ІНП), діагностичної точності методу (ДТМ), S_p та S_e кожного із застосованих методів.

Результати. Застосування першого методу продемонструвало, що до 97,5 % всіх результатів, які визначали відсутність хвороби, знаходилися нижче критичної межі біомаркера, що обумовлено наявністю статистичних відхилень і чітко вказує на те, що у випадку асиметрії або мультимодального розподілу такий підхід виявляється незадовільним. При цьому ІПП становив 95 %, ІНП – 72 %, ДТМ – 78 %, S_p – 97,5 %, а S_e – 52 %.

Підрахунок площі під ROC-кривою індексу АРП-3 продемонстрував, що її значення дорівнювало 0,81 (0,771–0,849). За методом Гейнера, критичною межею біомаркера АРП-3 визначено показник в 14 у. о., при цьому ІПП становив 75 %, ІНП – 82 %, ДТМ – 78 %, S_p – 78 %, а S_e – 78 %. При критичній межі АРП-3 в 33,4 у. о., визначеній за допомогою індексу Юдена, ІПП становив 98 %, ІНП – 73 %, ДТМ – 80 %, S_p – 99 %, а S_e – 57 %.

Висновки. Максимально оптимальні критичні порогові значення для індексу АРП-3 визначені з використанням індексу Юдена та дорівнюють 33,4 у. о.

Ключові слова: рак передміхурової залози, РПЗ, антиген раку простати-3, АРП-3, індекс антигена раку простати-3, індекс АРП-3, критичні порогові значення індексу АРП-3.

Для цитування: Возіанов СО, Данилець РО, Григоренко ВМ, Афанас'єв ЄІ, Нестерчук АП, Самек АА. Визначення критичних порогових значень індексу АРП-3 у хворих з патологією передміхурової залози. Журнал Національної академії медичних наук України. 2021; 27(4):233–240. DOI: 10.37621/JNAMSU-2021-4-1.

Стаття надійшла до редакції 13.09.2021 року
Направлена на рецензування 23.10.2021 року
Прийнята до друку 26.11.2021 року

mined using three methods: calculating of average value and (X_{ave}) and standard deviation (SD) of it, Heiner index, and Youden's index. Evaluation of optimality of determined critical cut-off values performed by comparative analysis using index of positive prognosis (IPP), index of negative prognosis (INP), diagnostic accuracy of method (DAM), S_p and S_e for each of used methods.

Results and discussion. First method demonstrated that 97.5 % of all results, which means absent of disease, was below critical cut-off values, due to statistical deviations and accurate demonstrate than in case of asymmetry or multimodal distribution this method was unsatisfied. Wherein IPP was 95 %, INP – 72 %, DAM – 78 %, S_p – 97.5 % and S_e – 52 %. Calculation of PCA3 index area under ROC-curve was 0,810 (0,771–0,849). Using Heiner's method critical cut-off value of PCA3 index was 14,0 c. u., where in IPP was 75 %, INP – 82 %, DAM – 78 %, S_p – 78 % and S_e – 78 %. Critical cut-off values of PCA3 index 33,4 c. u. which calculated by Youden's index demonstrated IPP – 98 %, INP – 73 %, DAM – 80 %, S_p – 99 % and S_e – 57 %.

Conclusions. The most optimal critical cut-off value for PCA3 index was determined using Youden's index and was 33,4 c. u.

Key words: prostate cancer, PCA , prostate cancer antigen-3, PCA3, prostate cancer antigen-3 index, PCA3 index, critical cut-off values of PCA3 index.

For citation: Vozianov SO, Danylets RO, Grygorenko VM, Afanasiev YI, Nesterchuk AP, Samek AA. Determination of critical cut-off values of PCA3 index in patients with prostate gland pathology. Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. 2021; 27(4):233–240. DOI: 10.37621/JNAMSU-2021-4-1.

The article was received 13.09.2021
For review, 23.10.2021
Accepted for publication on 26.11.2021



ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Возіанов Сергій Олександрович – д. м. н., проф., чл.-кор. НАМН України, директор та завідувач відділу ендоскопічної урології та літотрипсії ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ, Україна, ORCID: 0000-0003-3782-0902;

Данилець Ростислав Олегович – д. м. н., старший науковий співробітник відділу відновної урології та новітніх технологій ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ, Україна, ORCID: 0000-0001-5381-4495;

Григоренко В'ячеслав Миколайович – д. м. н., завідувач відділу відновної урології та новітніх технологій ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ, Україна, ORCID: 0000-0003-3282-3709;

Афанас'єв Євгеній Ігоревич – лікар-уролог, лаборант першої категорії відділу відновної урології та новітніх технологій ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ, Україна, ORCID: 0000-0003-1103-8971;

Нестерчук Андрій Петрович – лікар-уролог III урологічного відділення ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ, Україна;

Самек Аліна Андріївна – лікар-уролог III урологічного відділення ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ, Україна.



INFORMATION ABOUT AUTHORS

Sergiy O. Vozianov – Dr. Sci. (Medicine), Prof., Cor. Member of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Director and Head of Department of endourology and lithotripsy of Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0003-3782-0902;

Rostyslav O. Danylets – Dr. Sci. (Medicine), senior researcher of Department of reconstructive urology and new technologies of Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0001-5381-4495;

Viacheslav M. Grygorenko – Dr. Sci. (Medicine), head of Department of reconstructive urology and new technologies of Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0003-3282-3709;

Yevhenii I. Afanasiev – urologist, laboratory assistant of Department of reconstructive urology and new technologies of Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0003-1103-8971;

Andrii P. Nesterchuk – urologist of third urology department of Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

Alina A. Samek – urologist of third urology department of of Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine Kyiv, Ukraine.

Yevhenii I. Afanasiev 
ORCID: 0000-0003-1103-8971
evhenii.afanasev@gmail.com

ВСТУП

Антиген раку простати-3 (АРП-3) – генетичний маркер, який набув широкого застосування та продемонстрував високий діагностичний потенціал. Його ген експресується лише в тканині передміхурової залози (ПЗ), причому при злоякісній неопластичній трансформації його експресія зростає в 70–100 разів. Функціональним продуктом гена АРП-3 є поліаденільована матрична РНК (мРНК), яка не транслюється у білок. Продукт гена АРП-3 визначається в осаді постмасажної сечі за допомогою полімеразно ланцюгової реакції (ПЛР) в поєднанні зі зворотною транскрипцією [1]. У когортних дослідженнях, проведених в Канаді та Австрії, протестовано потенційні можливості АРП-3 в якості діагностичного біомаркера [2–4]. У більш ніж 700 чоловіків дослідження постмасажної сечі з одночасним виконанням біопсії ПЗ показало існування кореляції між концентрацією АРП-3 в сечі і стадією онкозахворювання та його агресивністю відповідно до індексу Глісона. У першому дослідженні чутливість (S_c) тесту становила 66 %, а специфічність (S_p) – 82 %, тоді як в другому – 76 % та 89 %, відповідно. За результатами роботи запропоновано специфічний індекс АРП-3, який визначався як співвідношення ідентифікованих копій мРНК індукцибельного гена АРП-3 до ідентифікованих копій мРНК гена простатспецифічного антигена (ПСА). Були отримані значущі відмінності експресії гена АРП-3 в раковій тканині порівняно з нормальною та при доброякісній гіперплазії. До того ж, встановлена чітка кореляція між величиною індексу АРП-3 і ризиком виникнення раку передміхурової залози (РПЗ). Так, коли індекс АРП-3 становив менше 5, ймовірність РПЗ дорівнювала 14 %. У разі збільшення індексу АРП-3 до 100 ризик РПЗ зростав до 69 %, що своєю чергою продемонструвало доцільність використання індексу АРП-3 як прогностичного біомаркера у хворих з першою негативною біопсією або взагалі до її виконання [5, 6]. Крім того, індекс АРП-3 можна застосувати задля визначення агресивності пухлин і визначення подальшої тактики лікування: тривалого спостереження за хворим чи проведення радикальної простатектомії [7]. З огляду на це, у проспективному дослідженні показано, що завдяки застосуванню індексу АРП-3 у пацієнтів з підвищеною концентрацією ПСА в крові вдається суттєво зменшити кількість непотрібних біопсій [8]. Однак деякі об'єктивні причини обмежують застосування і поширення цього тесту в рутинній клінічній практиці: по-перше, достатньо високою є його вартість; по-друге, відсутня чітка порогова межа для індексу АРП-3; по-третє, наявні окремі випадки, коли у агресивних пухлин визначається малий індекс АРП-3, а не високий, як це мало би бути [9].

Метою дослідження було визначення порогових критичних меж індексу АРП-3 як прогностичного біомаркера розвитку РПЗ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведене на основі даних аналізу традиційних і спеціальних методів обстеження 243 чоловіків на

базі ДУ «Інститут урології НАМН України» в період 2015–2020 рр.

Середній вік пацієнтів становив $(64,2 \pm 4,1)$ років, діапазон склав 54–84 роки). Дані аналізу були використані для опрацювання властивостей індексу АРП-3.

Для визначення вмісту АРП-3 в сечі досліджувалась перша порція сечі (30–50 мл) після масажу вздовж латеральної лінії кожної частки передміхурової залози тричі зверху вниз при однаковому натиску. Вона розподілялась у пластиковий контейнер з 5 мл спеціально розробленого транспортного реагенту для зразків (10 мМ NaH_2PO_4 , 10 мМ Na_2HPO_4 , 1 мМ EDTA, 1 мМ EGTA, pH 6,7) для виділення РНК. Біоматеріал зберігали при 0–4 °С не більше ніж 48 годин і центрифугували при 2000 g 30 хвилин. Отриманий осад промивали кілька разів холодним фосфатним буфером на фізіологічному розчині за допомогою ресуспендування, після чого центрифугували. РНК у зібраних зразках залишалася стабільною за умов збереження при –20 °С не більше шести місяців.

Екстракцію РНК зі зразків отримували за допомогою набору RNeasy (Qiagen, Китай). Екстраговану РНК використовували для синтезу комплементарної ДНК (кДНК) при залученні набору для зворотної транскрипції QuantiTect (Qiagen). Експресію АРП-3, калікреїн-пов'язаної пептидази-3 (KLK3) і контрольно-диспетчерського гена (*housekeeping gene*) β -актину проводили з використанням прямих і зворотних праймерів цих генів, а також відповідних проб з флуоресцентними зондами на 5'-кінці та гасниками флуоресценції на 3'-кінці.

Сіквенс праймерів для АРП-3 був таким:

прямий –

GGATCCTAATACGACTCACTATAGGGACAGAGGGGA
GATTTG;

зворотний –

TCTAGATGAGGGTTAGAAATATGAAATGATT.

Сіквенс праймерів для KLK3 виглядав таким чином:

прямий –

GGATCCTAATACGACTCACTATAGGGAGACCAAGTT
CATGCT;

зворотний –

TCTAGAGTGCTTCATGGACAGTGTCCAGCACA.

Послідовність флуоресцентного зонду АРП-3 (461–486 нуклеотидів) становила

5'-FAM-GCACAGAGATCCCTGGGAGAGAAATGCC-MGB 3';

флуоресцентного зонду для KLK3 (554–579 нуклеотидів) складала

5'-FAM-GGGCCCACTTGTCTGTAATGGTGTGC-MGB 3'.

Ген β -актину використовувався для кількісного контролю РНК екстракції та кДНК синтезу. Однокрокову qRT-ПЛР проводили в загальному об'ємі 50 мкл реакційного розчину, що містить 1×буферу ПЛР, 2,5 мМ MgCl_2 , 0,25 мМ dNTP, 2 одиниці зворотної транскриптази, 2 одиниці інгібітора РНКаз, 0,25 мМ кожного праймера, зонд 0,2 мМ, 1 одиницю УДГ (NEB), 4 одиниці ДНК-полімерази HS Taq та 5 мкл стандарту РНК з тканини або 24 мкл зразка сечі. Зразок інкубували при 37 °С впродовж 5 хв для UDG-опосередкованої дезактивації ДНК, при 50 °С – 15 хв для зворотної транскрипції, потім 94 °С – 5 хв, далі – 94 °С – 10 с і 60 °С – 30 с протягом загальних 50 циклів, закінчували реакцію при 50 °С – 30 с.

Визначення сили експресії генів проводили за допомогою кРЧ-ПЛР на приладі «RotorGene 6000», а індекс АРП-3 підраховували за формулою:

$R_{PCA3} = \text{кількість молекулярних копій мРНК}_{PCA3} / \text{кількість молекулярних копій мРНК}_{KLK3} \times 10^3$.

З метою визначення прогностичних властивостей індексу АРП-3 як біомаркера РПЗ та з метою подальшого їх порівняльного аналізу з визначенням перспектив для клінічної практики, в роботі застосовували ROC-аналіз.

Ефективність біомаркера вважається задовільною, якщо AUC знаходиться в межах $0,5 < AUC \leq 0,6$, доброю вона є при $0,6 \leq AUC < 0,8$, а при $0,8 \leq AUC \leq 1,0$ – дуже високою. Підрахунок AUC здійснювали за найбільш поширеним методом трапецій.

Для визначення математичної залежності між ймовірністю появи злоякісної пухлини у ПЗ та значенням величини біомаркера створено і використано пакет програм SPSS Statistics 19.0 (IBM SPSS Statistics 19.0) та SAS 12.0 (IBM Statistical Analysis System 12.0).

Визначення критичної межі біомаркерів здійснювали за допомогою трьох методів:

- шляхом тестування контрольної групи умовно здорових за даною патологічною ознакою пацієнтів. В результаті розраховували середнє значення всієї вибірки отриманих даних (X_{cp}) та її стандартну похибку (SD). При цьому критичну межу біомаркера знаходили з наступного рівняння: $X_{кр} = X_{cp} + 2SD$;
- другий метод в своїй основі базувався на ROC-аналізі. При цьому критерій оптимальності S для величини критичної межі біомаркера визначали за методом Гейнера – нахилом ROC-кривої в точці, яка визначала параметри S_e та S_p і дорівнювала тангенсу кута нахилу дотичної до цієї точки ROC-кривої [12, 13];
- третім методом був обраний індекс Юдена, за яким шукана величина також дорівнювала величині: $I = S_e + S_p - 1$. Оскільки відрізок між ROC-кривими активного та інертного біомаркерів дорівнював

$S_e - (1 - S_p) = S_e + S_p - 1$, то в даному випадку критична межа визначалась за критерієм еквівалентності S_p та S_e ($S_p = S_e$).

Визначені критичні межі індексу АРП-3 як біомаркера РПЗ за допомогою трьох методично обґрунтованих методів аналізували з використанням індексу позитивного прогнозу (ППП), індексу негативного прогнозу (ІНП), діагностичної точності методу (ДТМ), їх специфічності та чутливості у порівняльному аспекті.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

За допомогою першого методу було визначено, що середні арифметичні значення показника двох вибірок (умовно здорові та хворі на РПЗ), що склали основу дослідження, дорівнювали 11,9 та 56,9 відповідно з різницею в 45 одиниць, що продемонстровано в *табл. 1*. При цьому звертає на себе увагу суттєва величина їх стандартних похибок. Визначено, що 97,5 % всіх результатів, які явили відсутність хвороби, знаходились нижче критичної межі біомаркера, і лише 2,5 % вище цієї межі. Появу останніх відносили на частку потенціальних статистичних помилок при аналізі. Проте використання такого підходу при визначенні критичної межі біомаркера є задовільним лише у разі нормального розподілу даних лабораторного аналізу здорових і хворих пацієнтів. У випадку асиметрії або мультимодальності розподілу такий підхід виявився незадовільним. Більш того, він враховував лише специфічність біомаркера і зовсім не брав до уваги його чутливість.

Основні розрахункові вихідні параметри для побудови та аналізу ROC-кривих для визначення прогностичних властивостей індексу АРП-3 як біомаркера РПЗ постмасажної простатичної сечі представлені в *табл. 1*. ROC-діаграма індексу АРП-3, як маркера РПЗ, подана на *рис. 1*, а результати отриманих даних, за якими їх безпосередньо аналізували в порівняльному аспекті – в *табл. 2*.

ТАБЛИЦЯ 1 / TABLE 1

ДАНІ ПАРАМЕТРІВ ROC-КРИВИХ ІНДЕКСУ АРП-3 В ПОСТМАСАЖНІЙ СЕЧІ / ROC-CURVES PARAMETERS OF PCA3 INDEX IN POSTMESSAGE URINE

| Біомаркер / Biomarker | A | B | d' | d _a | $\bar{X}_{зд} / \bar{X}_{hi}$ | $\bar{X}_{xb} / \bar{X}_{Pca}$ | SD _{hi} | SD _{Pca} |
|---------------------------|------|------|------|----------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------|-------------------|
| Індекс АРП-3 / PCA3 index | 0,01 | 0,10 | 5,00 | 0,72 | 11,9 | 56,9 | 9,0 | 88,4 |

Примітка / Note: A – фактор роз'єднання розділення ($A = \frac{\bar{X}_{xb} - \bar{X}_{зд}}{SD_{xb}}$); B – фактор симетрії ($B = \frac{SD_{зд}}{SD_{xb}}$); d' – фактор перекриття ($d' = \frac{\bar{X}_{xb} - \bar{X}_{зд}}{SD_{зд}}$);

d_a – фактор диференціації ($d_a = \frac{\bar{X}_{xb} - \bar{X}_{зд}}{\sqrt{\frac{1}{2}(SD_{xb}^2 - SD_{зд}^2)}}$); $\bar{X}_{зд}$ – середнє арифметичне значення показників біомаркера групи умовно здорових пацієнтів; \bar{X}_{xb} –

середнє арифметичне значення показників біомаркера групи хворих на РПЗ пацієнтів; SD_{зд} – стандартна похибка для групи умовно здорових пацієнтів, SD_{xb} – стандартна похибка для групи хворих на РПЗ пацієнтів / A – rose factor ($A = \frac{\bar{X}_{Pca} - \bar{X}_{hi}}{p}$), B – symmetry factor ($B = \frac{SD_{hi}}{SD_{Pca}}$); d' – re-

scaling factor ($d' = \frac{\bar{X}_{Pca} - \bar{X}_{hi}}{SD_{hi}}$); d_a – differentiation factor ($d_a = \frac{\bar{X}_{Pca} - \bar{X}_{hi}}{\sqrt{\frac{1}{2}(SD_{Pca}^2 - SD_{hi}^2)}}$); \bar{X}_{hi} – arithmetic mean of indicators in the biomarker of a group of

mentally healthy individuals; \bar{X}_{Pca} – the arithmetic mean of the indicator in the biomarker of a group of patients with Pca; SD_{hi} – standard for a group of mentally healthy individuals; SD_{Pca} – standard deviation for Pca patients group.

ТАБЛИЦЯ 2 / TABLE 2

ДАНИ ПРОГНОСТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІНДЕКСУ АРП-3 ЩОДО ВИЗНАЧЕННЯ РПЗ У ПАЦІЄНТІВ / DATA OF THE PCA3 INDEX PROGNOSTIC PARAMETERS FOR THE DETERMINATION OF PCA

| Біомаркер / Biomarker | Площа під ROC-кривою / Area under ROC-curve (AUC) | Діапазон зміни середнього значення AUC / Range in change mean AUC | Стандартна помилка вимірювання AUC / Standard AUC measurement error | Довірчі інтервали середнього значення AUC при $p = 0,05$ / Confidence intervals of the mean AUC at $p = 0,05$ |
|---------------------------|---|---|---|---|
| Індекс АРП-3 / PCA3 index | 0,810 | 0,771–0,849 | 0,020 | $\pm 0,039$ |

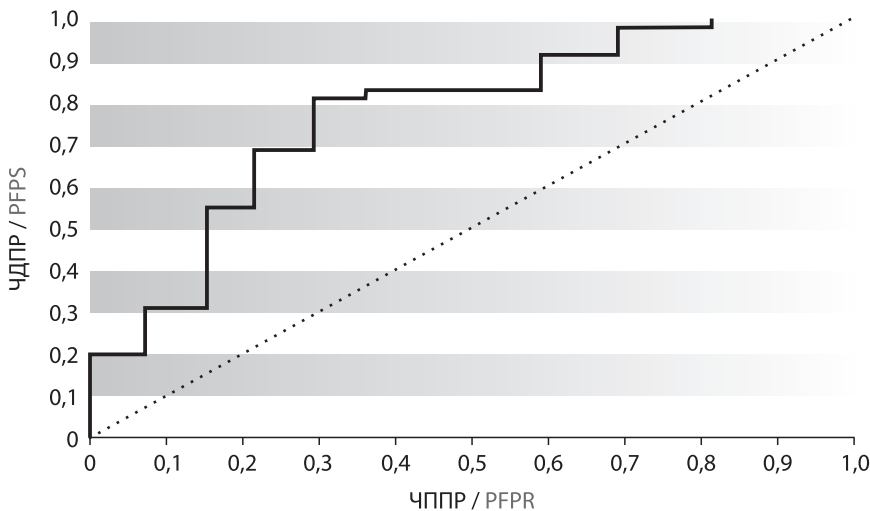


Рис. 1 / Fig. 1. Візуалізація прогностичного біомаркера сечі індексу АРП-3 щодо визначення РПЗ / Visualization of PCA3 index as prognostic biomarker of PCa determination.

Примітка / Note: ЧДП – частка дійсно позитивних результатів; ЧППР – частка помилково позитивних результатів / PRPS – part of really positive results; PFPR – part of false positive results.

Підрахунок площі під ROC-кривою індексу АРП-3 становив 0,81 (0,771–0,849). Діаграма побудована на основі 12 порогових значень показника, а саме від 4 до 800 умовних одиниць. Інформація стосовно ефективності

та надійності індексу АРП-3 подана в табл. 3. Величина відношення (ймовірність шансів) свідчить, скільки разів результат був позитивним у випадках захворювання, порівняно з пацієнтами без нього. При величині > 10 перед-

ТАБЛИЦЯ 3 / TABLE 3

ДАНИ ПРОГНОСТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІНДЕКСУ АРП-3 В ПОСТАМАСАЖНІЙ СЕЧІ ЩОДО ВИЗНАЧЕННЯ РПЗ У ПАЦІЄНТІВ / DATA OF THE PCA3 INDEX PROGNOSTIC PARAMETERS FOR THE DETERMINATION OF PCA

| Порогове значення РСА3 в сечі, у. о. / PCA3 cut-off value in urine c. u. | Чутливість, % / Sensitivity, % | Специфічність, % / Specificity, % | Імовірність появи помилково негативних результатів, у. о. / Probability of false negative results, c. u. | Імовірність появи помилково позитивних результатів, у. о. / Probability of false positive results, c. u. | Імовірність шансів / Probability chances |
|--|--------------------------------|-----------------------------------|--|--|--|
| 4 | 100 | 17 | 0 | 0,83 | 1,2 |
| 8 | 100 | 43 | 0 | 0,57 | 1,7 |
| 12 | 81 | 71 | 0,19 | 0,29 | 2,8 |
| 20 | 64 | 86 | 0,36 | 0,14 | 4,6 |
| 24 | 60 | 91 | 0,40 | 0,09 | 6,7 |
| 30 | 57 | 97 | 0,43 | 0,03 | 19,0 |
| 40 | 49 | 99 | 0,51 | 0,01 | 49,0 |
| 60 | 37 | 99 | 0,63 | 0,01 | 37,0 |
| 80 | 19 | 100 | 0,81 | 0 | 19,0 |
| 160 | 3 | 100 | 0,97 | 0 | 3,0 |
| 240 | 2 | 100 | 0,98 | 0 | 2,0 |
| 800 | 1 | 100 | 0,99 | 0 | 1,0 |

бачається переконливе збільшення ймовірності (підтвердження) діагнозу, 5–10 – середнє його збільшення, 2–5 – незначне та 1–2 – мінімальне. За таких умов порогові значення індексу АРП-3 від 30 до 80 у. о. є оптимальними щодо забезпечення чутливості та специфічності в клінічній практиці.

Залежність змін специфічності та чутливості від значень біомаркера індексу АРП-3 представлена на рис. 2А.

При значенні індексу АРП-3 рівному 80 у. о. крива досягає свого максимуму (100 %) і залишається на цьому рівні. На відміну від цього, крива чутливості при малих значеннях індексу АРП-3 на ділянці 0–8 у. о. досягає максимального свого значення (100 %), а потім починає різко знижуватися до точки з координатами 20 у. о., при якій становить 64 %, швидкість зміни чутливості уповільнюється одночасно зі збільшенням величини індексу АРП-3. В результаті крива досягає свого нульового значення при величинах індексу АРП-3 більших за 800 у. о. Обидві криві перетинаються в точці з абсцисою в 14 у. о., при цьому $S_e = S_p = 78\%$. Таким чином, показник 14 у. о. РСА3 є критичною межею біомаркера індексу АРП-3 за методом Гейнера (рис. 2А).

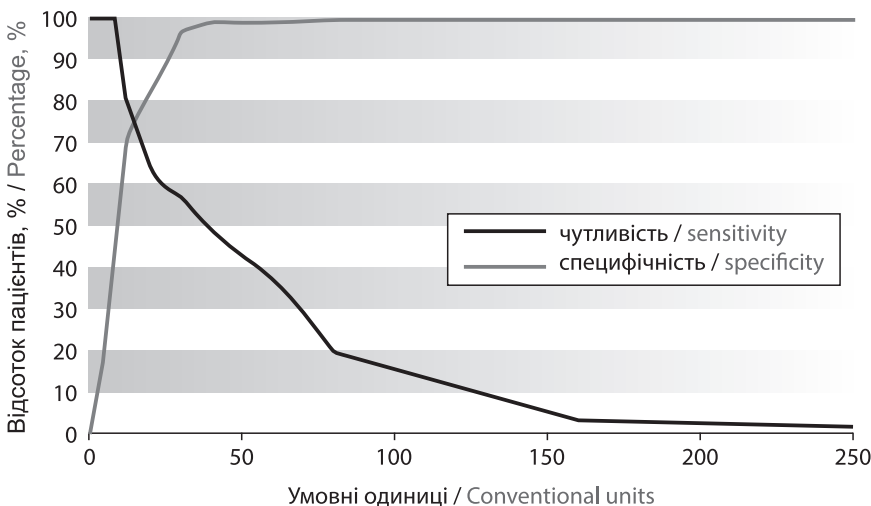
Використовуючи індекс Юдена (рис. 2В) критична межа біомаркера становила 33 у. о. Ця величина відповідає

піковому підйому куполоподібної кривої, при якому індекс Юдена дорівнює 0,56.

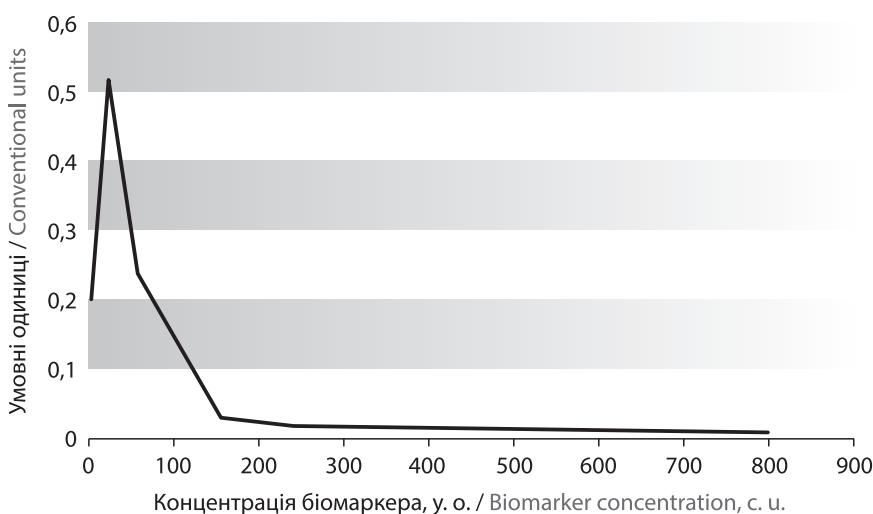
При критичній межі індексу АРП-3 в 33,4 у. о. ІПП становить 98 %, ІНП – 73 %, ДТМ – 80 %. При критичній межі біомаркера 14 у. о. мало місце зменшення ІПП до 75 %, при збільшенні індексу негативного прогнозу ІНП до 82 %, ДТМ також зменшилася до 78 %. За умов критичної межі індексу АРП-3 29,9 у. о. спостерігалось збільшення ІПП до 95 %, при найменшому ІНП рівному 72 %, а величина ДТМ була такою ж, як у попередньому випадку (78 %). В таких випадках специфічність дорівнювала 97,5 % чутливість – 56 %.

За таких умов отримуємо статистичне підтвердження реальної ідентифікації РПЗ при об'єктивізованому мінімізованому значенні критичної величини індексу АРП-3 у постмасажній сечі.

Залежність ефективності застосування індексу АРП-3 як біомаркера розвитку РПЗ від величин його вмісту представлені на рис. 3. Лінійна підпорядкованість критичного порогового значення індексу АРП-3 в 33,4 у. о. є мінімальною при максимально кращих показниках ймовірності визначення РПЗ. Так, його величина становила 73 % при коливаннях від 59 % до 80 %. Для додаткового підтвердження доцільності вибору вказаного критичного значення відмітимо, що при меншому вмісту біомаркера ймовірність знижується до 60 %, а діапазон змін знаходиться в межах 50–70 %.



A



B

Рис. 2 / Fig. 2. Визначення критичної межі індексу АРП-3 в постмасажній сечі за індексом Гейнера (А) та індексом Юдена (В) / Determination of PCA3 index in post massage urine using Heiner's index (A) and Youden's index (B).

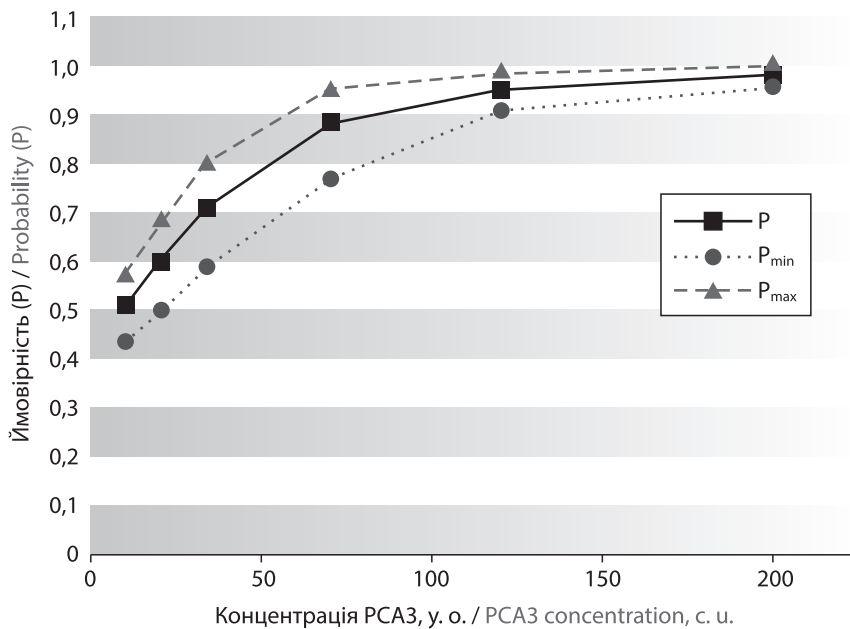


Рис. 3 / Fig. 3. Ймовірність визначення РПЗ залежно від величини індексу АРП-3 в постмасажній сечі пацієнтів / Probability of determination of PCA3 depends of PCA3 index in postmassage urine

ВИСНОВКИ

Використання індексу Юдена дозволяє провести визначення максимально оптимальних критичних межових

значень індексу АРП-3, що дорівнює 33,4 у. о., що підтверджено на підставі порівняльного аналізу ІПП – 98 %, ІНП – 73 %, ДТМ – 80 %, S_e – 57 % та S_p – 99 %.



СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ / REFERENCES

- Hessels D, Klein Gunnewiek JM, van Qoort I, Karthaus HF, van Leenders GJ, van Balken B et al. DDR3^{PCA3}-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol.* 2012;44(1):8-16. DOI: 10.1016/s0302-2838(03)00201-x.
- Frader Y, Saad F, Aprikian A, Dessureault J, Elhilali M, Trudel C et al. uPM3, a new molecular urine test for the detection of prostate cancer. *Urology.* 2004;64(2):311-315. DOI: 10.1016/j.urology.2004.03.052.
- Nygard Y, Haukaas SA, Eide GE, Halvorsen OJ, Gravdal K, Frugård J et al. Prostate cancer antigen-3 (PCA3) and PSA3-based nomograms in the diagnosis of prostate cancer: an external validation of Hansen's nomogram on a Norwegian cohort. *Scand J Urol.* 2015;49(1):8-15. DOI: 10.3109/21681805.2014.949841.
- Tinzi M, Marberger M, Horvath S, Chypre C. DD3PCA3 RNA analysis in urine – a new perspective for detecting prostate cancer. *Eur Urol.* 2004;46(2):182-186. DOI: 10.1016/j.eururo.2004.06.004.
- Deras IL, Aubin SM, Blasé A, Day JR, Koo S, Partin AW et al. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol.* 2008;179(4):1587-92. DOI: 10.1016/j.juro.2010.06.098.
- Rubio-Briones J, Borque A, Esteban LM, Casanove J, Fernandez-Serra A, Rubio L et al. Optimizing the clinical utility of PCA3 to diagnose prostate cancer in initial prostate biopsy. *BMC Cancer.* 2015;15:633. DOI: 10.1186/s12885-015-1623-0.
- Nakanishi H, Groskopt J, Fritsche HA, Bhadkamkar V, Blase A, Kumar SV et al. PCA3 molecular urine assay correlated with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. *J Urol.* 2008;179(5):1804-1809. DOI:10.1016/j.juro.2008.01.013.
- Crawford ED, Rove KO, Trabulsi EJ, Qian J, Drewnowska KP, Kaminetsky JC et al. Diagnostic performance of PCA3 to detect prostate cancer in man with increased prostate specific antigen: a prospective study of 1,962 cases. *J. Urol.* 2012;188(5):1726-1731. DOI: 10.1016/j.juro.2012.07.023.
- Qu M, Ren Sh-Ch, Sun Y. Current early diagnostic biomarkers of prostate cancer. *Asian J Androl.* 2014;16(4):549-554. DOI: 10.4103/1008-682X.129211.
- Fierz W. Likelihood ratios of quantitative laboratory results in medical diagnosis: The application of Bezier curves in ROC analysis *PLoS One.* 2018;13(2):e0192420. DOI: 10.1371/journal.pone.0192420.
- Hilden J. The area under the ROC curve and its competitors. *Med Decis Making.* 1991;11(2):95-101. DOI: 10.1177/0272989X9101100204.
- Mets ChE. ROC analysis in medical imaging: a tutorial review of the literature. *Radiol Phys Technol.* 2008;1(1):2-12. DOI:10.1007/s12194-007-0002-1.
- Nakas ChT. Developments in ROC surface analysis and assessment of diagnostic markers in three-class classification problems. *REVSTAT – Statistical J.* 2014;12(1):43-65.



РЕЗЮМЕ

Определение критических пороговых значений индекса АРП-3 у больных с патологией предстательной железы**С. А. Возианов, Р. О. Данилец, В. Н. Григоренко, Е. И. Афанасьев, А. П. Нестерчук, А. А. Самек***Государственное учреждение «Институт урологии имени академика А. Ф. Возианова НАМН Украины», ул. Владимира Винниченко, 9а, Киев 04053, Украина*

Введение. Антиген рака простаты-3 (АРП-3) генетический маркер, который получил широкое распространение в применении и продемонстрировал высокий диагностический потенциал. Его ген экспрессируется только в ткани предстательной железы (ПЖ), при этом злокачественная неопластическая трансформация последней способствует повышению его экспрессии в 70–100 раз. Функциональный продукт гена АРП-3 – полиаденилированная матричная РНК (мРНК), которая не транскрибируется в белок. Сам ген содержит четыре экзона и три интрона. Продукт гена АРП-3 определяется в осадке постмассажной мочи с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в комбинации с обратной транскрипцией, что может использоваться в качестве прогностического биомаркера у больных с первой отрицательной биопсией или вовсе до её выполнения. Более того, индекс АРП-3 можно применять для определения агрессивности опухолей и принятия решения касательно тактики лечения. С учетом этого, у больных с повышенной концентрацией ПСА в крови удается значительно уменьшить количество ненужных биопсий.

Цель – определение пороговых критических значений индекса АРП-3 в качестве прогностического биомаркера развития РПЖ.

Материалы и методы. Исследование проведено на основе данных обследования 243 мужчин на базе ГУ «Институт урологии НАМН Украины» в период 2015–2020 гг. Экстракцию РНК из образцов постмассажной мочи получали с помощью набора RNeasy (Qiagen). Статистический анализ данных производили с помощью пакета программ SPSS Statistics 19.0 (IBM SPSS Statistics 19.0) и SAS 12.0 (IBM Statistical Analysis System 12.0).

Определение критической границы биомаркера осуществлялось с помощью трех методов: среднего значения всей выборки (ХСР) и ее стандартного отклонения (SD), индекса Гейнера и индекса Юдена. Оценку оптимальности определенных пороговых значений проводили на основании сравнительного анализа индекса положительного прогноза (ИПП), индекса отрицательного прогноза (ИНП), диагностической точности метода (ДТМ), S_p и S_e каждого из применяемых методов.

Результаты. Применение первого метода продемонстрировало, что до 97,5 % всех результатов, определявших отсутствие болезни, находились ниже критического предела биомаркера, что обусловлено наличием статистических отклонений, и четко указывает на то, что в случае асимметрии или мультимодального распределения такой подход оказывается неудовлетворительным. При этом ИПП составил 95 %, ИНП – 72 %, ДТМ – 78 %, S_p – 97,5 %, а S_e – 52 %. Подсчет площади под ROC-кривой индекса АРП-3 продемонстрировал, что ее значение равнялось 0,81 (0,771–0,849). По методу Гейнера, критическим пределом биомаркера АРП-3 определен показатель в 14 у. е., при этом ИПП составил 75 %, ИНП – 82 %, ДТМ – 78 %, S_p – 78 %, а S_e – 78 %. При критическом пределе АРП-3 в 33,4 у. е. определенной с помощью индекса Юдена ИПП составил 98 %, ИНП – 73 %, ДТМ – 80 %, S_p – 99 %, а S_e – 57 %.

Выводы. Максимально оптимальные критические пороговые значения для индекса АРП-3 определены с использованием индекса Юдена и равняются 33,4 у. е.

Ключові слова: рак предстательної залізи, РПЖ, антиген рака простати-3, АРП-3, індекс антигена рака простати-3, індекс АРП-3, критичні порогові значення індекса АРП-3.

Для цитування: Возианов СА, Данилец РО, Григоренко ВН, Афанасьев ЕИ, Нестерчук АП, Самек АА. Определение критических пороговых значений индекса АРП-3 у больных с патологией предстательной железы. Журнал Национальной академии медицинских наук Украины. 2021; 27(4):233–240. DOI: 10.37621/JNAMSU-2021-4-1.

Статья поступила в редакцию 13.09.2021 | Направлена на рецензирование 23.10.2021 | Принята в печать 26.11.2021