

У здорових осіб зв'язування термінальної сіалової кислоти ПСА із залишком галактози відбувається за допомогою α -2,6-глікозидних зв'язків, у осіб з РПЗ – за допомогою α -2,3-глікозидних зв'язків; крім того, в осіб з РПЗ спостерігається зменшений вміст сіалової кислоти та підвищений вміст фукози й N-ацетилгалактозаміну [40, 42, 43]. Це дало змогу розробити новий спосіб магнітного імунологічного аналізу та глюкометричного аналізу для виявлення α -2,3-сіалізованих ізомерів ПСА [42, 44].

ПСА синтезується ланцюжками з 17 амінокислот (препроПСА), які відщеплюються для генерування неактивного білка-попередника (проПСА), що містить додаткові 24 амінокислоти [10, 12, 40]. Відділення N-термінальної послідовності (7 амінокислот) від проПСА в ендоплазматичному ретикулумі генерується активним ферментом калікреїн-зв'язаною пептидазою 2 та іншими ендопептидазами передміхурової залози [45] та в нормі проходить між аргініном у позиції 7 та ізoleyцином у позиції 8, унаслідок чого утворюється активний ПСА. Крім того, таке відщеплення може активуватися іншими простатичними калікреїнами, включаючи KLK4 і KLK2, а також трипсином [39, 46].

Синтезований активний ПСА в плазмі сперми може перебувати у вільній інтактній (неактивній) протеолітичній формі (іПСА) або бути зв'язаним з інгібітором серинової протеази. Інші ізоформи ПСА є неактивними через розщеплення протеазою сім'яної рідини між ділянками 85–86, 145–146 та 182–183. Такі розщеплені ізоформи ПСА називаються benign ПСА (ВПСА), визначаються в транзиторній зоні простати і збільшують свою концентрацію при доброякісній гіперплазії ПЗ. Їх концентрація знижується в тканинах раку простати переважно через припинення контакту з протеазою сім'яної рідини [47–49].

У тканинах раку простати були знайдені додаткові форми ПСА – усічені форми проПСА, розщеплені між лейкіном 5 та серином 6 пропептиду. В результаті цей протеїн ([-2]проПСА) має дві додаткові амінокислоти відносно ПСА та не володіє каталітичною активністю, тобто циркулює як вільний ПСА. Ця форма є найбільш ракоспецифічною з усіх форм проПСА та доволі стабільною відносно дії ферментів, оскільки дві додаткові амінокислоти унеможливають розщеплення пептиду трипсином, KLK2 або KLK4 [50–53].

Інші усічені форми проПСА з чотирма або п'ятьма додатковими N-кінцевими амінокис-

лотами ([-4]проПСА, [-5]проПСА) також виявляються в тканинах раку простати. Молекулярна основа для підвищення вмісту цих ізоформ ПСА при злоякісних утвореннях не є виявленою, однак припускається, що причиною такого явища є послаблення розщеплення проПСА в тканинах пухлини. Ці ізоформи виявляються в периферійному кровотоці та є маркерами раку простати [47, 49, 54].

Більша частина ПСА (близько 75%), потрапляючи в периферійний кровотік, стають неактивними через утворення комплексу молекулярною масою 90 кДа з інгібітором протеази α_1 -антихімотрипсином (АСТ): утворюється ковалентний зв'язок між залишками Ser-189 ПСА та Leu-358 АСТ і формується комплекс із 614 амінокислотних залишків з молекулярною масою 80,8 кДа. Період напівжиття такого комплексу становить 2–3 доби.

Менше 1% ПСА утворює комплекс з тетрамером α_2 -макроглобуліном (АМГ), формуючи комплекс із молекулярною масою 800 кДа. ПСА протеолітично атакує АМГ, розриваючи пептидний зв'язок між залишками Tyr-686 та Glu-687. Після такого протеолітичного розщеплення ПСА повністю інкапсулюється АМГ. Період напівжиття такого комплексу в крові становить 2–5 хв, він швидко руйнується печінкою [12, 47, 55–58].

Незначна кількість загального ПСА в кровотоці зв'язується з α_1 -інгібітором протеази (АРІ), який є найбільш поширеним інгібітором протеази з концентрацією в плазмі людини близько 29 мг/мл. Однак комплексотворення між АРІ та ПСА відбувається досить повільно порівняно з АСТ та АМГ, при цьому ПСА розщеплює АРІ між залишками Met-358 та Ser-359, які розміщені в активному центрі АРІ.

У низьких концентраціях у кровотоці хворих на РПЗ виявляється комплекс ПСА з інтер- α -трипсином (ІАТІ) – інгібітором серинових протеаз із молекулярною масою 220 кДа. ІАТІ ковалентно зв'язується з ПСА, утворюючи стабільний комплекс [12].

У периферійному кровотоці виявляється також інша каталітично неактивна форма ПСА – вільний ПСА, який не утворює комплексів з інгібіторами протеаз та іншими білками, має молекулярну масу 30 кДа, а його концентрація становить 10–30% від загального ПСА. Відношення вільного до загального ПСА є низьким у багатьох пацієнтів з раком простати, що є основою діагностики цього захворювання.

Усічені форми проПСА, виявлені у простаті, можуть виявлятися і в плазмі. Так, наприклад, у пацієнтів зі злоякісними утворенням ПЗ концентрація [-2]проПСА становить більшу частину вільного ПСА (25–95 %) [47, 54].

Вільний та зв'язаний ПСА відрізняються один від одного за кількістю епітопів, доступних для взаємодії з антитілами. Вільний ПСА має шість епітопів, три з яких стають недоступними після зв'язування з АСТ. Таким чином, вільний ПСА визначається за допомогою імунологічного аналізу, який вибірково розпізнає епітопи, що маскуються АСТ, тоді як сумарний ПСА вимірюється аналізом, який виявляє епітопи ПСА, що не маскуються АСТ [14, 58, 59]. Наприклад, антитіла ПСА-30 є специфічними до ділянки сайту зв'язування з АСТ, а антитіла ПСА-36 – до відкритих ділянок вільного ПСА [60].

Роль простат-специфічного антигену в організмі людини

ПСА являє собою серинову протеазу з хімотрипсинподібною гідролітичною активністю відносно карбоксильних груп залишків тирозину та лейцину [47]. ПСА має оптимальний нейтральний рН, інгібується іонами Cu^{2+} , Zn^{2+} або Hg^{2+} , інгібіторами протеаз леупептином і апротиніном, спеціальними інгібіторами серинових протеаз [15, 38, 61].

ПСА виробляється як нормальними, так і пухлинними клітинами вивідних каналців ПЗ, а саме секреторними епітеліальними клітинами ПЗ, оточеними неперервним шаром базальних клітин і базальної мембрани, та виділяється ними в ацинуси і протоки. Біологічний період напівжиття ПСА становить 2-3 дні.

Загальноприйнятою фізіологічною функцією ПСА вважається його здатність розчинити семіногеліни 1 та 2, які становлять від 20 до 40 % білків сім'яної рідини (концентрації від 10 до 20 мг/мл), і фібринектин, що приводить до розрідження еякуляту. Таким чином, екзогенна функція ПСА полягає у збільшенні рухливості сперматозоїдів [43, 54, 62, 63].

На думку деяких учених, ПСА може також стимулювати виділення кініноподібної субстанції, яка посилює скорочення гладкої мускулатури через розщеплення глікопротеїнів, що знаходяться в рідині сім'яних пухирців ПЗ, а також чинить інші ефекти на організм людини: інгібує ріст певних клітин; індукує апоптоз; знижує експресію генів, продукти яких сприяють росту пухлини ПЗ (активатора плазміно-

гена урокіназного типу, VEGF та Pim-1 онкогена); посилює експресію гена γ -інтерферона, що є відомим супресором пухлин; проявляє антиканцерогенний і антиангіогенетичний ефекти [54, 64].

ПСА в нормі в дуже низьких концентраціях міститься також у парауретральних, перианальних і слинних залозах, апокрінових, молочній і щитоподібній залозах, плаценті й амніотичній рідині. Однак функція ПСА в цих органах не є до кінця визначеною.

Також цей антиген продукується злоякісними пухлинами молочної залози, товстої кишки, яєчників, нирок, легень і печінки. У випадку раку молочної залози експресія ПСА є зниженою відносно його концентрації у здорових пацієнтів, що дає можливість припускати, що ПСА є корисним для клітин молочної залози, а його низький рівень може викликати рак і асоціюється з більш агресивними формами захворювання.

ПСА може *in vitro* впливати на концентрацію інсуліноподібного зв'язуючого фактора росту, ферментативно розщеплюючи гормон-зв'язані білки щитоподібної залози, що сприяє вивільненню біологічного активного фактора росту, зв'язується з інгібітором С-протеїну, активує трансформуючий фактор росту- β , модулює адгезію клітин, розщеплює міжклітинні матричні глікопротеїни (фібронектин та ламінін), що впливає на міграцію клітин і метастазування.

Крім того, ПСА має *in vitro* потужну мітогенетичну активність відносно остеобластів – попередників трансформації фактора росту- β , що підтверджує роль ПСА в кістковому метастазуванні. Також ПСА знижує рівень прищитоподібного гормонзалежного білка, який відмінняє мітогенетичний ефект цього білка на остеобласти. ПСА володіє і антиангіогенними ефектами за рахунок розщеплення плазміногена, генерації пептидів з антистатиноювою активністю або інактивації ангіогенних індукторів фібробластів фактора росту-2 та судинних ендотеліальних факторів росту [14, 54].

У нормі лише невелика кількість ПСА надходить в еякулят і секрет простати (1 мг/мл), і ще менша його кількість потрапляє у кров (0–4 нг/мл). При розвитку різних патологічних змін простати пухлиною під час її росту руйнуються базальні мембрани ПЗ, збільшується судинна проникність та відбувається дифузія великої кількості ПСА у кровотік, а концентрація антигену визначається за допомогою спеціальних тестів [1].

Характеристика тестів для визначення ПСА простат-специфічного антигену

Визначення концентрації ПСА в сироватці крові сьогодні отримало загальне визнання і поширення як скринінговий метод виявлення РПЗ. У сироватці крові визначають концентрацію вільного та загального ПСА і розраховують їх співвідношення (вільний ПСА/загальний ПСА). Про рак ПЗ можуть свідчити підвищення концентрації загального ПСА (більше 4 нг/мл) і зміна показника співвідношення вільного та загального ПСА (нижче 0,15) [1]. За концентрації ПСА в крові нижче 4,0 нг/мл РПЗ виявляється тільки в 0,5 % випадків, за 5–20 нг/мл – у 27–37 %, випадків, за 20–30 нг/мл – у 53–74 % випадків, а при рівні ПСА більше 30 нг/мл практично в усіх обстежуваних підтверджується діагноз. При вихідному рівні ПСА у крові вище 50 нг/мл у 80 % пацієнтів виявляється екстракапсулярна інвазія, а в 66 % у пухлинний процес виявляються втягнутими лімфатичні вузли. Концентрація ПСА в крові більше 100 нг/мл у пацієнтів з РПЗ з імовірністю більше 90 % свідчить про наявність регіональних або віддалених метастазів. Таким чином, за рівнем ПСА в крові людини можна судити про поширеність пухлинного процесу [65].

Для виявлення ПСА існує багато аналітичних методів, таких як електрохімічний, хемілюмінесценція, електрохемілюмінесценція, флуоресценція, поверхневий плазмонний резонанс, імуноферментні аналізи та мас-спектрометрія [66]. Широко застосовуються тести Pros-Check (Yang Laboratories, Bellevue, WA) і Tandem-R (Hybritech, Inc., San Diego, CA), які є радіоімунними методами визначення ПСА. Поріг чутливості цих методів дослідження ПСА в крові однаковий і становить близько 0,3 нг/мл, а їх відмінності полягають у використанні різних антитіл: Tandem-R – моноклональні антитіла, Pros-Check – поліклональні антитіла. Крім того, розроблено модифікований надчутливий поліклональний метод Pros-Check, у якого поріг чутливості знижено до рівня <0,1 нг/мл.

Подальше підвищення чутливості радіоімунних методів визначення ПСА передбачається при впровадженні нових високоспецифічних моноклональних антитіл [67, 68].

У 1986 р. FDA схвалив визначення рівня ПСА у хворих на РПЗ імуноферментним методом Hybritech Tandem PSA-Assay, який являє

собою імуноферментний аналіз із двома ділянками. Зразок додають у посудину з мишачим моноклональним анти-ПСА лужним фосфатазним кон'югатом і парамагнітними частинками, які вкриті іншим мишачим моноклональним анти-ПСА антитілом. ПСА в зразку зв'язується з іммобілізованим моноклональним анти-ПСА на твердій фазі, в той же час моноклональний кон'югат лужної фосфатази анти-ПСА реагує з іншим антигенним сайтом на ПСА-зразку. Після інкубації матеріали, зв'язані з твердою фазою, утримуються в магнітному полі, в той час як незв'язані матеріали змиваються. Потім до посудини додають хемілюмінесцентний субстрат Lumi-Phos* 530 і випромінювання, що генерується реакцією, вимірюють за допомогою люмінометра. Утворення світла прямо пропорційне концентрації ПСА у зразку. Аналітична чутливість методу становить 0,1–0,2 нг/мл [69].

Незначним недоліком тесту Hybritech Tandem PSA-Assay є хибно негативні результати, які також називають “ефектом великої дози”, що спостерігається в одностадійних імунометричних аналізах за високих концентрацій антигену.

Тест Tandem-E являє собою твердофазний двосекційний імунометричний аналіз, який також використовує мишачі моноклональні антитіла, однак містить лужну фосфатазу, приєднану до незв'язаного антитіла, що використовується для вимірювання концентрації ПСА в сироватці. Перевагами методу є те, що під час роботи не використовуються радіоактивні речовини і менш дорогим є створення лабораторії, здатної виконувати імуноферментні аналізи. Експлуатаційні характеристики аналогічні характеристикам аналізу Tandem-R [70, 71].

IRMA – Counf PSA – це метод, який забезпечує пряме кількісне визначення *in vitro* вільного ПСА у людській сироватці. Технологія використовує два високоафінних моноклональних антитіла в системі імунорадіометричного аналізу (IRMA); мічений ізотоп ^{125}I зв'язується з епітопом молекули вільного ПСА. Два антитіла одночасно реагують з антигеном, утворюючи комплекс за типом “сендвіч”, який після 2-годинної інкубації іммобілізують на поверхню пробірок, покриту стрептавідином. Радіоактивність, прямо пропорційна концентрації ПСА, вимірюється в гамма-лічильнику [72].

Аналіз Pros-Check PSA використовує звичайні методи радіометричного аналізу з поліклональними антитілами та розчином білка

альбуміну як розчинником. Аналітична чутливість такого тесту, як повідомляють дослідники, становить 0,1–0,5 нг/мл, однак спосіб може давати хибно позитивні результати за наявності анти-PSA антитіла [69].

Отже, крім радіоімунних методів, механізм дії яких заснований на зв'язуванні антигенів та мічених антитіл, застосовуються і такі імуноферментні методи, в яких використовуються антигени або антитіла, зв'язані з ферментами (пероксидазою, лужною фосфатазою). Суть цих досліджень полягає у визначенні активності ферментів калориметричними методами [73].

Для порівняння результатів дослідження ПСА, отриманих різними методами, використовуються спеціальні таблиці перерахунку. Наприклад, значення концентрації ПСА, обчислене методом Pro-Check PSA, в 1,4–1,8 разу вище, ніж при дослідженні методом Tandem-P PSA.

Додаткові труднощі в інтерпретаціях результатів дослідження ПСА пов'язані з тим, що в сироватці крові ПСА перебуває у вільній і зв'язаній формах [74]. ПСА, зв'язаний з AMG, є недоступним для визначення звичайними імуноними методами, оскільки молекула антигену знаходиться всередині імуного комплексу і епітопи виявляються заблокованими. Спеціальна методика визначення заснована на денатурації цього комплексу за високого рН для вивільнення ПСА [57, 75], використанні імуноблоту та вестерн-блоту, однак концентрація комплексу в крові пацієнта при цьому має становити 5–15 % від загального вмісту ПСА. Також деякими вченими, які припускають наявність одного вільного епітопа у комплексі ПСА з AMG, проводяться розробки систем імуноферментного аналізу для визначення цього комплексу [76–79].

Наразі вивчаються нові модифікації імунологічного аналізу, і однією з них є електрохімічний імунологічний аналіз із використанням магнітної сили (MESIA), де ПСА визначається за допомогою магнітної активації та

електрохімічного детектування наночастинок оксиду заліза із золотом як зондів для формування імунокомплексу. Для постановки MESIA не потрібні мийний буфер або розчинники, оскільки утворення імунокомплексів і видалення незв'язаних зондів контролюються магнітними силами. Попередня електрохімічна обробка та використання магнітних зондів із золотим покриттям забезпечують чутливу, точну та надійну систему для кількісного визначення ПСА. Межа виявлення при цьому становить 0,085 нг/мл, а середній коефіцієнт дисперсії – 8,85 % для п'яти різних концентрацій ПСА в межах від 0 до 25 нг/мл [80].

Висновки

В огляді систематизовано та узагальнено літературні дані щодо андроген-залежної серинової протеази ПСА, основною функцією якої в організмі людини є розрідження еякуляту та збільшення рухливості сперматозоїдів. Практичне значення ПСА полягає у його використанні як маркера діагностики РПЗ, а за рівнем ПСА в крові людини можна судити про поширеність пухлинного процесу та ефективність лікування.

На сьогодні у світі виявляється тенденція до виробництва та використання радіоімунних та імуноферментних тестів для визначення концентрації ПСА в біологічних рідинах людини, розробляються нові магнітні імунологічні тести, тести для визначення зв'язаних форм ПСА та ПСА з відмінностями у глікозилюванні. З урахуванням систематизації інформації щодо методів виявлення ПСА в майбутньому можна очікувати на значне поширення нанотестів, які нині є передовими засобами для діагностики різноманітних захворювань, та на розробку тестів для визначення за допомогою ПСА інших онкологічних захворювань, наприклад раку молочної залози.

References

- [1] Shcherbina O, Sakalo V, Kovalev M, Chernenko O. Prostate cancer: diagnostics and monitoring. *Oncology*. 2006;8(4):322-6.
- [2] Sasaki T, Sugimura Y. The importance of time to prostate-specific antigen (PSA) nadir after primary androgen deprivation therapy in hormone-naïve prostate cancer patients. *J Clin Med*. 2018;7(12):1-9. DOI: 10.3390/jcm7120565
- [3] Fedorenko Z, Gajsenko A, Gulak L. Incidence, mortality, indicators of the oncology service activity. *Byulleten Nacionalnogo Kancer-Reyestru Ukrayiny*. 2011;12:116.
- [4] Semeniv I, Kalenska O, Kuryk O. Immunohistochemical diagnostics of precancerous diseases and prostate cancer. *Sci J Ministry of Health of Ukraine*. 2013;2:72-8.

- [5] Sergeeva N, Mazo E, Grygorev M, Makarova L, Soloveva E. Complex prostatic specific antigen and its diagnostic significance. *Laboratornaya Medycyna*. 2005;7:55-8.
- [6] Nordström T, Akre O, Aly M, Grönberg H, Eklund M. Prostate-specific antigen (PSA) density in the diagnostic algorithm of prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2018;21(1):57-63. DOI: 10.1038/s41391-017-0024-7
- [7] Tailor P, Kodeboyina S, Bai S, Patel N, Sharma S, Ratnani A, et al. Diagnostic and prognostic biomarker potential of kallikrein family genes in different cancer types. *Oncotarget*. 2018;9(25):17876-88. DOI: 10.18632/oncotarget.24947
- [8] Leis-Filho AF, Fonseca-Alves CE. Anatomy, histology, and physiology of the canine prostate gland. In: *Veterinary Anatomy and Physiology*. IntechOpen; 2019. DOI: 10.5772/intechopen.81410
- [9] Loessner D, Goettig P, Preis S, Felber J, Bronger H, Clements J, et al. Kallikrein-related peptidases represent attractive therapeutic targets for ovarian cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2018;22(9):745-63. DOI: 10.1080/14728222.2018.1512587
- [10] Säyblom C. The Kallikrein-related peptidases hK2 and PSA with emphasis on genetic variation, secretion, and sperm motility [Internet]. Portal.research.lu.se. 2019 [cited 2019 Apr 9]. Available from: <https://portal.research.lu.se/portal/files/3382962/1149897.pdf>
- [11] Lawrence M, Lai J, Clements J. Kallikreins on steroids: structure, function, and hormonal regulation of prostate-specific antigen and the extended kallikrein locus. *Endocrine Rev*. 2010;31(4):407-46. DOI: 10.1210/er.2009-0034
- [12] Pérez-Ibave D, Burciaga-Flores C, Elizondo-Riojas M. Prostate-specific antigen (PSA) as a possible biomarker in non-prostatic cancer: a review. *Cancer Epidemiol*. 2018;54:48-55. DOI: 10.1016/j.canep.2018.03.009
- [13] Clements J, Hooper J, Dong Y, Harvey T. The expanded human kallikrein (KLK) gene family: genomic organisation, tissue-specific expression and potential functions. *Biol Chem*. 2001;382(1):5-14. DOI: 10.1515/BC.2001.002
- [14] Diamandis E. Prostate-specific antigen: its usefulness in clinical medicine. *Trends Endocrinol Metab*. 1998;9(8):310-6. DOI: 10.1016/S1043-2760(98)00082-4
- [15] Riegman PHJ. Prostate specific antigen: gene structure and regulation of expression [dissertation]. Rotterdam: Erasmus University Rotterdam; 1992. 136 p.
- [16] Kim J, Coetzee G. Prostate specific antigen gene regulation by androgen receptor. *J Cell Biochem*. 2004;93(2):233-41. DOI: 10.1002/jcb.20228
- [17] Zhu Y, Cai L, You X, Cordero J, Huang Y, Imperato-McGinley J. Androgen-induced prostate-specific antigen gene expression is mediated via dihydrotestosterone in LNCaP cells. *J Androl*. 2003;24(5):681-7. DOI: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02727.x
- [18] Liu X, Choi R, Jawad S, Arnold J. Androgen-induced PSA expression requires not only activation of AR but also endogenous IGF-I or IGF-I/PI3K/Akt signaling in human prostate cancer epithelial cells. *Prostate*. 2010;71(7):766-77. DOI: 10.1002/pros.21293
- [19] Mohler J, Tindall D. *Androgen action in prostate cancer*. New York: Springer-Verlag New York; 2009. 826 p.
- [20] Seaton A, Scullin P, Maxwell PJ, Wilson C, Pettigrew J, Gallagher R, et al. Interleukin-8 signaling promotes androgen-independent proliferation of prostate cancer cells via induction of androgen receptor expression and activation. *Carcinogenesis*. 2008;29(6):1148-56. DOI: 10.1093/carcin/bgn109
- [21] Golias C, Iliadis I, Peschos D, Charalabopoulos K. Amplification and co-regulators of androgen receptor gene in prostate cancer. *Exp Oncol*. 2009;31(1):3-8.
- [22] Sadar MD. Androgen-independent induction of prostate-specific antigen gene expression via cross-talk between the androgen receptor and protein kinase A signal transduction pathways. *J Biol Chem*. 1999;274(12):7777-83. DOI: 10.1074/jbc.274.12.7777
- [23] Chang C. *Prostate cancer: basic mechanisms and therapeutic approaches*. World Scientific; 2005. 429 p.
- [24] Dixon SC, Knopf KB, Figg WD. The control of prostate-specific antigen expression and gene regulation by pharmacological agents. *Pharmacol Rev*. 2001;53(1):73-91.
- [25] Gurova KV, Roklin OW, Krivokrysenko VI, Chumakov PM, Cohen MB, Feinstein E, et al. Expression of prostate specific antigen (PSA) is negatively regulated by p53. *Oncogene*. 2002;21(1):153-7. DOI: 10.1038/sj.onc.1205001
- [26] Chanan-Khan AAA. *Immunomodulating drugs for the treatment of cancer*. Lippincott Williams & Wilkins; 2012. 312 p.
- [27] Marone G. *Angiogenesis, lymphangiogenesis and clinical implications*. Basel: Karger; 2014. 232 p.
- [28] Bronchud MH. *Principles of molecular oncology*. 2nd ed. Humana Press Incorporated; 2004. 420 p.
- [29] Horti J, Dixon SC, Logothetis CJ, Guo Y, Reed E, Figg WD. Increased transcriptional activity of prostate-specific antigen in the presence of TNP-470, an angiogenesis inhibitor. *British J Cancer*. 1999;79(9/10):1588-93. DOI: 10.1038/sj.bjc.6690253
- [30] Rini BL, Weinberg V, Bok R, Small EJ. Prostate-specific antigen kinetics as a measure of the biologic effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with serologic progression of prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21(1):99-105. DOI: 10.1200/JCO.2003.04.163
- [31] Diamandis EP. *Tumor markers: physiology, pathobiology, technology, and clinical applications*. Washington: AACC Press; 2002. 541 p.
- [32] Trump DL, Aragon-Ching JB. Vitamin D in prostate cancer. *Asian J Androl*. 2018;20(3):244-52. DOI: 10.4103/aja.aja_14_18
- [33] Shahvazi S, Soltani S, Ahmadi SM, de Souza RJ, Salehi-Abargouei A. The effect of vitamin D supplementation on prostate cancer: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Horm Metab Res*. 2019;51(1):11-21. DOI: 10.1055/a-0774-8809

- [34] Senderowicz AM, Reid R, Headlee D, Abornathy T, Horti J, Lush RM, et al. A phase II trial of gallium nitrate in patients with androgen-metastatic prostate cancer. *Urol Int.* 1999;63(2):120-5. DOI: 10.1159/000030430
- [35] Spitz A, Young JM, Larsen L, Mattia-Goldberg C, Donnelly J, Chwalisz K. Efficacy and safety of leuprolide acetate 6-month depot for suppression of testosterone in patients with prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2012;15(1):93-9. DOI: 10.1038/pcan.2011.50
- [36] Kyprianou N. *Molecular exploitation of apoptosis pathways in prostate cancer.* London: Imperial College Press; 2012. 217 p.
- [37] Liu G, Gandara DR, Lara PNJ, Raghavan D, Doroshow JH, Twardowski P, et al. A phase II trial of Flavopiridol (NSC #649890) in patients with previously untreated metastatic androgen-independent prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10(3):924-8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0050
- [38] Pushkar DY, Govorov AV, Sidorenkov AV, Prilepskaya EA, Kovvilina MV. *Early diagnosis of prostate cancer.* Moscow: ABC-press; 2015. 54 p.
- [39] Vermassen T, Speeckaert MM, Lumen N, Rottey S, Delanghe JR. Glycosylation of prostate specific antigen and its potential diagnostic applications. *Clin Chim Acta.* 2012;413(19-20):1500-5. DOI: 10.1016/j.cca.2012.06.007
- [40] Drake RR, Jones EE, Powers TW, Nyalwidhe JO. Chapter ten – altered glycosylation in prostate cancer. *Adv Cancer Res.* 2015;126:345-82. DOI: 10.1016/bs.acr.2014.12.001
- [41] Okada T, Sato Y, Kobayashi N, Sumida K, Satomura S, Matsuura S, et al. Structural characteristics of the N-glycans of two isoforms of prostate-specific antigens purified from human semina. *Biochim Biophys Acta.* 2001;1525(1-2):149-60. DOI: 10.1016/S0304-4165(00)00182-3
- [42] Hatakeyama S, Yoneyama T, Tobisawa Y, Ohyama C. Recent progress and perspectives on prostate cancer biomarkers. *Int J Clin Oncol.* 2017;22:214. DOI: 10.1007/s10147-016-1049-y
- [43] Llop E, Ferrer-Batallé M, Barrabés S, Guerrero PE, Ramírez M, Saldova R, et al. Improvement of prostate cancer diagnosis by detecting PSA glycosylation-specific changes: erratum. *Theranostics.* 2018;8(3):746-8. DOI: 10.7150/thno.23906
- [44] Kammeijer GSM, Nouta J, de la Rosette JJMCH, de Reijke TM, Wuhler M. An in-depth glycosylation assay for urinary prostate-specific antigen. *Anal Chem.* 2018;90(7):4414-21. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b04281
- [45] Heidegger I, Klocker H, Pichler R, Pircher A, Prokop W, Steiner E, et al. ProPSA and the Prostate Health Index as predictive markers for aggressiveness in low-risk prostate cancer—results from an international multicenter study. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2017;20(3):271-5. DOI: 10.1038/pcan.2017.3
- [46] Peyromaure M, Fulla Y, Debré B, Dinh-Xuan AT. Pro PSA: a "pro cancer" form of PSA? *Med Hypotheses.* 2005; 64(1):92-5. DOI: 10.1016/j.mehy.2004.06.006
- [47] Balk SP, Ko YJ, Bubley GJ. Biology of prostate-specific antigen. *J Clin Oncol.* 2003;21(2):383-91. DOI: 10.1200/JCO.2003.02.083
- [48] Mikolajczyk SD, Rittenhouse HG. Pro PSA: a more cancer specific form of prostate specific antigen for the early detection of prostate cancer. *Keio J Med.* 2003;52(2):86-91. DOI: 10.2302/kjm.52.86
- [49] Spiess PE. *Prostate cancer - diagnostic and therapeutic advances.* Rijeka: InTech; 2011. 378 p.
- [50] Tosoian JJ, Loeb S, Feng Z, Isharwal S, Landis P, Elliot DJ, et al. Association of [-2]proPSA with biopsy reclassification during active surveillance for prostate cancer. *J Urol.* 2012;188(4):1131-6. DOI: 10.1016/j.juro.2012.06.009
- [51] Sidorenkov V, Govorov AV, Sadchenko AV, Pushkar DY. Diagnostic value of [-2]proPSA and PHI index (review of literature). *Onkourologiya.* 2014;10(4):87-95.
- [52] Semjonow A, Köpke T, Eltze E, Pepping-Schefers B, Bürgel H, Darte C. Pre-analytical in-vitro stability of [-2]proPSA in blood and serum. *Clin Biochem.* 2010;43(10-11):926-8. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2010.04.062
- [53] Vukovic I, Djordjevic D, Bojanic N, Babic U, Soldatovic I. Predictive value of [-2]proPSA (p2PSA) and its derivatives for the prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0ng/mL PSA range. *Int Braz J Urol.* 2017;43(1):48-56. DOI: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2016.0256
- [54] Solovov VA. Biology of prostate specific antigen and its role in the pathogenesis of prostate cancer. *Vestnik SamGU.* 2005;5:200-8.
- [55] Prcic A, Begic E, Hiros A. Actual contribution of free to total PSA ratio in prostate diseases differentiation. *Med Arch.* 2016;70(4):288. DOI: 10.5455/medarh.2016.70.288-292
- [56] Zhu L, Jäämaa S, Hällström TMA, Laiho M, Sankila A, Nordling S, et al. PSA forms complexes with α 1-antichymotrypsin in prostate. *Prostate.* 2012;73(2):219-26. DOI: 10.1002/pros.22560
- [57] Kostova MB, Brennen WN, Lopez D, Anthony L, Wang H, Platz E, et al. PSA-alpha-2-macroglobulin complex is enzymatically active in the serum of patients with advanced prostate cancer and can degrade circulating peptide hormones. *Prostate.* 2018;78(11):819-29. DOI: 10.1002/pros.23539
- [58] Patel D, Feng T, Simon R, Howard L, Vidal A, Moreira D, et al. PSA predicts development of incident lower urinary tract symptoms: results from the REDUCE study. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2018;21(2):238-44. DOI: 10.1038/s41391-018-0044-y

- [59] Corey E, Wegner SK, Corey MJ, Vessella RL. Prostate-specific antigen: characterization of epitopes by synthetic peptide mapping and inhibition studies. *Clin Chem*. 1997;43(4):575-84.
- [60] Konovalova EV. Development of quantitative analysis of prostate cancer serological markers on hydrogel microchips [dissertation]. Moscow: Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian Academy of Sciences; 2006. 23 p.
- [61] Ménez R, Michel S, Muller B, Bossus M, Ducancel F, Jolivet-Reynaud C, et al. Crystal structure of a ternary complex between human prostate-specific antigen, its substrate acyl intermediate and an activating antibody. *J Mol Biol*. 2008;376(4):1021-33. DOI: 10.1016/j.jmb.2007.11.052
- [62] Chissova VI, Daryalovoy SL. Clinical guidelines. *Oncology*. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. 720 p.
- [63] Lilja H. Structure, function, and regulation of the enzyme activity of prostate-specific antigen. *World J Urol*. 1993;11(4).
- [64] Sergeeva NS, Marshutina NV, Solohina MP, Alentov II, Parilova NK, Zenkina EV, et al. Modern conceptions of serological tumor markers and their role in oncology. *Uspehi Molekulyarnoy Onkologii*. 2014;1:69-80.
- [65] Smolyakova RM. Biomolecular criteria for diagnostics and predictio of prostate cancer. *Ekologicheskii Vestnik*. 2017;2:80-6.
- [66] Jalalvand A. Fabrication of a novel and ultrasensitive label-free electrochemical aptasensor for detection of biomarker prostate specific antigen. *Int J Biol Macromol*. 2019;126:1065-73. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.012
- [67] Díaz-Fernández A, Miranda-Castro R, de-los-Santos-Álvarez N, Rodríguez E, Lobo-Castañón M. Focusing aptamer selection on the glycan structure of prostate-specific antigen: Toward more specific detection of prostate cancer. *Biosens Bioelectron*. 2019;128:83-90. DOI: 10.1016/j.bios.2018.12.040
- [68] Stone N, Crawford E, editors. *The prostate cancer dilemma*. Switzerland: Springer; 2016. 230 p. DOI: 10.1007/978-3-319-21485-6
- [69] Access Hybritech PSA [Internet]. *Accessdata.fda.gov*. 2019 [cited 2019 Apr 11]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf/P850048S021c.pdf
- [70] Liu X, Wang D, Chu J, Xu Y, Wang W. Sandwich pair nanobodies, a potential tool for electrochemical immunosensing serum prostate-specific antigen with preferable specificity. *J Pharm Biomed Anal*. 2018;158:361-9. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.06.021
- [71] Greene K, Albertsen P, Babaian R, Carter H, Gann P, Han M, et al. Prostate specific antigen best practice statement: 2009 update. *J Urol*. 2013;189(1S):25-86. DOI: 10.1016/j.juro.2012.11.014
- [72] Free PSA [I-125] IRMA KIT [Internet]. *Izotop.hu*. 2019 [cited 2019 Apr 11]. Available from: http://www.izotop.hu/pdf/immuno/rk85CT_a_181001.pdf
- [73] Tosoian J, Loeb S. PSA and beyond: the past, present, and future of investigative biomarkers for prostate cancer. *Sci World J*. 2010;10:1919-31. DOI: 10.1100/tsw.2010.182
- [74] Adel Ahmed H, Azzazy H. Power-free chip enzyme immunoassay for detection of prostate specific antigen (PSA) in serum. *Biosens Bioelectron*. 2013;49:478-84. DOI: 10.1016/j.bios.2013.05.058
- [75] Shcherbina OV. The role of tumor markers in diagnosis of prostate gland cancer and the patient monitoring. *Mezhdunarodnyy Meditsinskiy Zhurnal*. 2007;2:89-95.
- [76] Stenman UH, Paus E, Allard WJ, Andersson I, Andrius C, Barnett TR, et al. Summary report of the TD-3 workshop: characterization of 83 antibodies against prostate-specific antigen. *Tumor Biol*. 1999;20(1):1-12. DOI: 10.1159/000056523
- [77] The Prostate Specific Antigen – α 2-Macroglobulin complex: a significant form of total serum PSA [Internet]. *Scrippslabs.com*. 2019 [cited 2019 Apr 11]. Available from: <http://scrippslabs.com/content/1997spring.pdf>
- [78] Klyuchko OM, Klyuchko ZF. Electronic information systems for monitoring of populations and migrations of insects. *Biotechnologia Acta*. 2018;11(5):5-25. DOI: 10.15407/biotech11.05.005
- [79] Klyuchko OM. Information computer technologies for using in biotechnology: electronic medical information systems. *Biotechnologia Acta*. 2018;11(3):5-26. DOI: 10.15407/biotech11.03.005
- [80] Hwang H, Choi E, Han S, Lee Y, Choi T, Kim M, et al. MESIA: Magnetic force-assisted electrochemical sandwich immunoassays for quantification of prostate-specific antigen in human serum. *Anal Chim Acta*. 2019;1061:92-100. DOI: 10.1016/j.aca.2019.02.018.

Я.В. Сидякина, А.А. Сивакова, А.Г. Комар, А.Ю. Галкин

ПРОСТАТ-СПЕЦИФИЧЕСКИЙ АНТИГЕН: БИОХИМИЧЕСКИЕ, МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Проблематика. Уровень заболеваемости раком предстательной железы (РПЖ) в мире и Украине неуклонно растет, что связано с трудностями ранней диагностики и поздним выявлением заболевания. Для диагностики РПЖ используют тесты для определения в сыворотке крови человека специфических онкологических маркеров, в первую очередь – простат-специфического антигена (ПСА) – гликопротеина с ферментативной активностью, который секретируется клетками предстательной железы. Выявление ПСА имеет ряд аналитических особенностей, обусловленных биохимическими и серологическими свойствами некоторых форм ПСА, что в свою очередь обуславливает необходимость постоянного совершенствования методов его определения.

Цель. Анализ современных научных данных о биохимических и молекулярно-биологических свойствах ПСА, а также методов его определения в биологических жидкостях человека.

Методика реализации. Систематизированы и проанализированы литературные данные о молекулярных основах синтеза, биохимических особенностях и роли ПСА в организме человека, критически проанализированы современные данные о методах выявления ПСА.

Результаты. ПСА имеет особенности биосинтеза и пост-трансляционных модификаций, которые напрямую влияют на его роль в организме человека и активность как серологического маркера РПЖ и гиперплазии предстательной железы. Современные методы анализа позволяют с высокой чувствительностью определить большую часть форм ПСА. Наиболее распространенными методами клинической лабораторной диагностики являются иммуноферментный анализ и иммунохроматография.

Выводы. Анализ литературных данных показал, что в будущем можно ожидать дальнейшего исследования по определению роли ПСА для других органов человека, кроме предстательной железы, а также развития и улучшения тестов для определения концентрации ПСА и разработки тестов для определения с помощью ПСА других онкологических заболеваний, например рака молочной железы.

Ключевые слова: простат-специфический антиген; рак предстательной железы; калликреин человека 3; сериновая протеиназа; методы детектирования простат-специфического антигена.

Ya.V. Sydyakina, A.A. Sivakova, A.G. Komar, A.Yu. Galkin

PROSTAT-SPECIFIC ANTIGEN: BIOCHEMICAL, MOLECULAR-BIOLOGICAL, AND ANALYTICAL ASPECTS

Background. Prostate cancer incidence in the world and in Ukraine is steadily increasing due to the difficulties of early diagnosis and late detection of the disease. For a diagnosis of prostate cancer tests for specific blood markers detection in the human blood serum are used, first of all, tests for prostate-specific antigen (PSA) detection – glycoprotein with enzymatic activity, which is secreted by the cells of the prostate. Detection of PSA has a number of analytical features due to biochemical and serological properties of some PSA forms, which, in turn, results in the continuous improvement of methods for its detection.

Objective. Analysis of modern scientific data on the biochemical and molecular biological properties of PSA, as well as methods for its measurement in human biological fluids.

Methods. The literature data on the molecular bases of synthesis, biochemical features and the role of PSA in the human body are systematized and analyzed, modern data on methods for PSA measurement are analyzed critically.

Results. PSA has peculiarities of the biosynthesis and post-translational modifications, which directly affect its functions in the human body and the activity of the serum marker in prostate cancer diagnostics. Modern methods of analysis allow to detect most of the forms of PSA with high sensitivity. The most common methods of clinical laboratory diagnosis are enzyme immunoassay and immunochromatography.

Conclusions. Analysis of the literature has shown that in the future further studies on the role of PSA for other than the prostate organs of a person will be carried on, as well as the development and improvement of tests for prostate cancer diagnostic and detection of other oncological diseases with the use of PSA, for example, breast cancer, will take place.

Keywords: prostate-specific antigen; prostate cancer; human kallikrein 3; serine proteinase; prostate-specific antigen detection methods.