

Високомолекулярні білкові біомаркери раку передміхурової залози. Перспективи використання в сучасній онкоурології

Р.О. Данилець

ДУ «Інституту урології НАМН України», м. Київ

Рак передміхурової залози (РПЗ) в останні роки значно поширився серед чоловічого населення планети і тому на сьогодні є безумовною проблемою для охорони здоров'я в різних країнах, оскільки посідає друге місце після раку легенів за чисельністю летальних наслідків серед чоловіків зі злоякісними новоутвореннями. Через це рання діагностика хвороби стає вкрай потрібною.

Першим вагомим біомаркером РПЗ став протеолітичний фермент сімейства калікреїнів, який отримав назву калікреїну-3 або простатоспецифічного антигену (ПСА). Незважаючи на всі свої недоліки, а також невисоку чутливість та специфічність, які зумовлюють появу значного відсотка помилково-позитивних та помилково-негативних результатів, ПСА-тест вже протягом декількох десятиліть широко використовується в клінічній лабораторній діагностиці РПЗ. Подальше удосконалення ПСА-тесту здійснювалось шляхом впровадження низки біомаркерів на базі окремих різних молекулярних форм вільного та комплексного ПСА, серед яких найкращими прогностичними властивостями відзначається [-2]проПСА. Через це, такі показники, як % [-2]проПСА та індекс здоров'я передміхурової залози (ІЗП), що є математичним добутком % [-2]проПСА та $\sqrt{\text{ІЗП}}$, знайшли широке застосування під час ранньої діагностики РПЗ.

У даному огляді літератури головним чином обговорюються високомолекулярні білкові біомаркери РПЗ, серед яких найбільш перспективними є наступні: калікреїн-2, проста-тоспецифічний мембранний антиген, α -метилацил-КоА-рацемаза, інтерлейкін-6, Zn- α 2 глікопротеїн, EN-2 протеїн та β -1 трансформуючий ростовий фактор.

Крім того встановлено, що за допомогою панелі біомаркерів у складі урокіназного плазміногенового активатора (уПА), рецептора до уПА та інгібітора уПА типу 1 (уПАІ-1) можна прогнозувати агресивність пухлин та їхню схильність до біохімічного рецидивування та метастазування. Це підкреслює потребу в найскорішому створенні ефективних біомаркерних панелей для онкоурології.

Ключові слова: біомаркери, рак передміхурової залози, рання діагностика, [-2]проПСА, індекс здоров'я передміхурової залози, високомолекулярні білки.

Рак передміхурової залози (РПЗ) в останні десятиліття дуже поширився серед чоловічого населення планети і на сьогодні являє собою безперечну загрозу для чоловіків. Так, РПЗ є однією з головних причин смертності у чоловіків, а за частотою виявлення у країнах Західної Європи РПЗ поступається лише раку шкіри. Доведено, що РПЗ посідає друге місце після раку легенів за ступенем летальності серед злоякісних новоутворень у чоловіків.

Відповідно до статистичних даних, у 2008 році було діагностовано 914 тис. нових випадків виникнення РПЗ, а також 258 тис. смертей з його причини протягом року. У США від РПЗ помирає кожен рік 27 тис. чоловіків, а майже у 50% чоловіків

віком 60 років і вище діагностують аденому ПЗ, що зумовлена появою доброякісного новоутворення в даному органі [1, 2].

Відомо, що найчастіше випадки РПЗ фіксують в Австралії та Новій Зеландії, трохи поступаються за цим показником Північна Америка та Західна Європа. Відповідно до стандартизованого за віком показника, у наведених вище регіонах патологія зустрічається більше ніж у 80 осіб на 100 тис. населення. В Азії цей показник значно нижчий і дорівнює менше ніж 8 випадкам на 100 тис. населення у 2008 році [3, 4]. Між тим останнім часом спостерігається збільшення частоти появи РПЗ в азіатських країнах. Так, у Гонконзі частота РПЗ зросла протягом 1973–2002 років майже у вісім разів і досягла 21,5 на 100 тис. населення. Це пов'язують з поширенням євро-американського стилю харчування, а також впровадженням чутливих біотестів [5].

В Україні у 2012 році було зареєстровано в середньому 36 випадків виникнення РПЗ на 100 тис. чоловіків. Тому ця хвороба в Україні твердо посідає перше місце серед урологічних захворювань і друге – в переліку онкоонкологій для чоловіків [6, 7].

Діагностика РПЗ раніше, як правило, проводилась за допомогою пальцевого ректального обстеження (ПРО), що потім мало отримати підтвердження при морфогістопатологічному аналізі біопсії. Головним недоліком такого підходу було те, що РПЗ зазвичай вдавалось діагностувати лише на пізніх стадіях канцерогенезу, що часто супроводжувалось появою метастазів в пахвових лімфовузлах та кістках таза.

Ефективність діагностики вдалося покращити шляхом застосування біомаркерів, якими, за визначенням, можуть слугувати будь-які біомолекули, що легко виявляються у крові, сечі або іншій рідині людського організму і свідчать про перебіг нормального або патологічного процесу, появу певного фізіологічного стану організму або хвороби [8].

Метою роботи є огляд та критичний аналіз прогностичних властивостей існуючих високомолекулярних біомаркерів РПЗ.

Перші біомаркери РПЗ

Першим біомаркером РПЗ, що міститься в плазмі крові, за своїми прогностичними властивостями став фермент ПЗ – простатична кислота фосфатаза (ПСКФ), що являє собою глікопротеїновий димер з молекулярною масою 97 кДа. Саме його почали використовувати для визначення злоякісних пухлин ПЗ з метастазами [9]. Проте ПСКФ має дуже низьку чутливість щодо ідентифікації локальної аденокарциноми без метастазів. Тому згодом цей тест був замінений більш надійним аналізом на основі простатоспецифічного антигену (ПСА) [10].

З даних літератури відомо, що ПСА являє собою серинову протеазу з молекулярною масою 33 кДа, що секретується епітеліальними клітинами ПЗ. Ця серинова протеаза відноситься до сімейства калікреїнів і, згідно класифікації, має назву калікреїн-3. У нормі ПСА виділяється клітинами залози-

стого епітелію ПЗ безпосередньо у секреторні протоки, і завдяки цьому до сім'явидного каналу, де стає компонентом сім'яної плазми. Натомість, під час розвитку пухлинного процесу порушується базальний шар клітин ПЗ, що дає змогу ПСА надходити безпосередньо в кров'яне русло, тим самим помітно збільшуючи свою концентрацію в крові. Між тим встановлено, що підвищення рівня ПСА не обов'язково засвідчить про злоякісну трансформацію, тому що розвиток доброякісної гіперплазії передміхурової залози (ДГПЗ) і простатиту також супроводжуються аналогічним підвищенням рівня ПСА. Крім того, на цей показник суттєво впливають тип харчування, вживання ліків та зміна кліматичних умов [11]. Важливо зазначити, що вимірювання ПСА не дозволяє диференціювати стадії канцерогенезу, а також визначати агресивність пухлин та їхню здатність до метастазування.

Незважаючи на ці недоліки, впровадження ПСА-тесту в практику охорони здоров'я західних країн з метою проведення онкоскринінгу ПЗ серед чоловічого населення похилого віку (старше 50 років) дало змогу зменшити середній вік точного визначення РПЗ з 70,5 до 67 років і таким чином покращити ранню діагностику цієї хвороби [12]. Слід зауважити, що після введення ПСА-тесту значно зменшилась смертність серед пацієнтів з РПЗ, хоча дехто намагається пояснити цей факт існуючим прогресом у сучасних технологіях лікування РПЗ [13].

Накопичені в останні роки дані все з більшою аргументованістю свідчать про потребу удосконалення ПСА-тестування шляхом введення нових критеріїв та модифікації існуючих нормативів. З метою підвищення діагностичної точності та інформативності ПСА-тестування було запропоновано додатково вимірювати різні молекулярні форми ПСА, швидкість його збільшення з роками, тобто швидкість ПСА (ПСАШ) та густину ПСА (ПСАГ), що являє собою відношення загального ПСА (зПСА) у крові до об'єму ПЗ.

Встановлено, що ПСА легко утворює білкові комплекси з інгібіторами протеаз, зокрема α_2 -антихімотрипсином, α_1 -протеазою, α_2 -макроглобуліном та антитрипсином. У комплексованому стані перебуває приблизно 60–70% ПСА, у той час як решта знаходиться у вільному стані. Тому під терміном зПСА розуміють суму вільного та комплексного ПСА (кПСА).

Отже, кПСА визначається або підрахунком різниці між зПСА та вільним ПСА (вПСА), або прямим імунологічним детектуванням кПСА за допомогою специфічних антитіл до кПСА. Під час проведення клінічної лабораторної діагностики запропоновано нижньою критичною межею для кПСА вважати його концентрацію у крові в 3,2 нг/мл (верхній ліміт норми для зПСА обирається рівним 4 нг/мл). У деяких роботах описані дещо кращі характеристики кПСА при ранній діагностиці РПЗ порівняно з % вПСА [14], хоча на сьогодні його діагностична перевага ще повністю не доведена.

проПСА та інші молекулярні форми вПСА для ранньої діагностики РПЗ

Останнім часом для удосконалення ПСА-тесту почали використовувати різні форми вПСА, які разом з кПСА циркулюють у крові. Більш того, виявилось, що деякі з цих форм є специфічними для онкотрансформації, тому їхня кількість суттєво збільшується при появі злоякісних новоутворень. Це, насамперед, стосується [-2]проПСА, що являє собою білок довжиною в 239 амінокислотних залишків. Ця макромолекула досить стійка і не піддається подальшому розщепленню калікреїном-2 (Кл2). Головною її відмінністю від молекули кПСА є наявність у структурі двох додаткових амінокислотних залишків у вигляді лідерного дипептиду. Порівняно з [-2]проПСА, кПСА цього лідерного дипептиду не має, тому і містить загалом 237 амінокислотних залишків.

Крім [-2]проПСА, ще знайдено [-4]проПСА, [-5]проПСА та [-7]проПСА. Цифра в дужках вказує на довжину лідерного поліпептиду, тобто на кількість амінокислотних залишків в його структурі. [-1]проПСА, [-3]проПСА та [-6]проПСА не вдалося знайти, можливо, через їхню нестабільність.

Встановлено, що вміст [-2]проПСА в плазмі онкохворого становить 6%, [-4]проПСА – 10%, а [-5] + [-7]проПСА – 17%. Крім проПСА до складу вПСА входить інтактний ПСА (іПСА) та доброякісний ПСА (дПСА). Так, іПСА характеризується наявністю повноцінного пептидного зв'язку між лізінними залишками у 145 та 146 положенні, водночас він являє собою поліпептид, що складається з 232–237 амінокислот.

дПСА на відміну від іПСА містить розрив на ділянках між лізином 145 та лізином 146, а також між лізином 182 та лізином 183. дПСА знаходиться у надмірній кількості у хворих з ДГПЗ. Доведено, що всі форми проПСА, крім [-2]проПСА, є достатньо нестабільними і тому схильні до протеолізу та перетворення у [-2]проПСА та кПСА [15, 16], проте останній являє собою комплекс активного ПСА з різними протеазними інгібіторами.

Усі похідні ПСА утворюються з одного попередника, а саме – препроПСА, що містить 254 амінокислоти. Спочатку він синтезується залозистим епітелієм ПЗ, а вже потім у секреті розщеплюється калікреїновими протеазами (Кл2 та Кл4) до більш низькомолекулярних форм.

Удосконалення та підвищення чутливості методів імунодетекції різних форм вПСА дало можливість не тільки визначити ці форми, що зазвичай присутні у зразках на пікограмовому рівні, але й ввести декілька нових прогностичних критеріїв [17]. Так і з'явився концентраційний показник [-2]проПСА, а також % [-2]проПСА. Перший визначає концентрацію [-2]проПСА в плазмі крові, а другий – відсотковий вміст [-2]проПСА у загальній кількості вПСА. Крім того, був запропонований так званий «індекс здоров'я ПЗ» (ІЗП):

$$\text{ІЗП} = ([-2] \text{ проПСА}) / \text{вПСА} \times (\text{зПСА})^{-1/2}$$

На відміну від своїх попередників, таких, як зПСА, % вПСА, ПСАШ, ПСАГ, [-2]проПСА та його похідні виявили достатній потенціал, щоб підвищити діагностичну точність ПСА-тестування. Була проведена низка досліджень, в яких оцінювали прогностичні та діагностичні властивості запропонованих показників для використання їх як стандартних біомаркерів крові для визначення РПЗ. Так, Guazoni і співавтори [18] провели проспективне дослідження серед 268 чоловіків, у яких не було виявлено якихось вад під час проведення ПРО ПЗ. Проте на підставі підвищеного вмісту зПСА у крові були направлені на проведення біопсії ПЗ. З них у 107 було діагностовано наявність РПЗ. Виявилось, що пацієнти з РПЗ мали значно вищі показники [-2]проПСА, % [-2]проПСА та ІЗП порівняно з рештою пацієнтів, у яких РПЗ не було гістологічно підтверджено. Під час проведення одновимірного математичного аналізу точності прогнозування було доведено, що саме ІЗП та % [-2]проПСА є найбільш надійними прогностичними біомаркерами РПЗ. Використання графіків оцінювання функціонального стану пацієнта (ROC-кривих) підтвердило, що найбільша достовірність, яку вимірювали за допомогою площі під ROC-кривою, притаманна % [-2]проПСА (75,7%) та ІЗП (75,6%), тоді як інші показники їм значно поступались і розміщувались у наступному порядку: вік (63%), ПСАГ (61%), % вПСА (58%) та зПСА (53%). Під час застосування багатовимірного порівняльного математичного аналізу було виявлено, що ІЗП та % [-2]проПСА можуть підвищувати точність діагностичної панелі біомаркерів, створеної на базі зПСА, % вПСА та ПСАГ, на 11% та 10% відповідно за умови їх включення [19].

В іншому дослідженні, що проводили на базі декількох медичних центрів із залученням 756 пацієнтів, також було досягнуто аналогічне зростання прогностичної вагомості ПСА-тестування із застосуванням ІЗП та % [-2]проПСА. Так, при 90% чутливості специфічність ІЗП та % [-2]проПСА сягала 31% та 33% відповідно, тоді як для зПСА специфічність була на рівні 10%, а для % вПСА становила 11%. Багатовимірний математичний аналіз у даному випадку також довів можливість значно підвищити достовірність діагностичної панелі, що складалась спочатку із зПСА та вПСА, при введенні туди додатково [-2]проПСА або ІЗП відповідно на 12% та 19% [20]. Ці дані збігались з тими результатами, що були отримані у паралельних дослідженнях, проведених серед 74 пацієнтів зі вмістом зПСА у крові в діапазоні 2,5–10 нг/мл та негативним ПРО [21], а також згодом підтверджені двома додатковими дослідженнями, перше з яких було ретроспективним і включало 1362 пацієнта з рівнем зПСА у крові 1,6–8,0 нг/мл, а друге – проспективним із залученням 892 пацієнтів з рівнем зПСА у межах 2–10 нг/мл [22, 23]. Також перспективні результати на користь ІЗП та % [-2]проПСА були отримані і в інших проспективних дослідженнях [24–26], де рівень зПСА у пацієнтів перевищував межу в 10 нг/мл.

Прогностичний потенціал % [-2]проПСА та ІЗП, що був спочатку перевірених на результатах первинних біопсій, згодом вдалось верифікувати і на повторних біопсіях. У дослідженні, де брали участь 222 пацієнта, направлених на повторну біопсію, РПЗ був діагностований у 71 особи (31,9%), у яких значення % [-2]проПСА та ІЗП були значно вищими, ніж у пацієнтів з негативною повторною біопсією. До того ж, діагностична ефективність наведених двох показників суттєво перевищувала можливості зПСА, вПСА, % вПСА та [-2]проПСА щодо правильного визначення РПЗ, хоча за своїми прогностичними властивостями вони між собою на статистично достовірному рівні ($p=0,094$) не відрізнялись. Одночасно було з'ясовано, що як % [-2]проПСА, так і ІЗП можна використовувати не тільки як індивідуальні діагностичні показники, але й разом з іншими біомаркерами, зокрема зПСА, об'ємом ПЗ, % вПСА та ПСАГ, що давало змогу підсилити діагностичну спрямованість маркерної панелі на 8% та 11% відповідно [27].

Трохи згодом під час оцінювання діагностичних характеристик ІЗП та інших біомаркерів у порівняльному аспекті Scattoni зі співавторами довели, що саме ІЗП є найбільш точним діагностичним показником для визначення у пацієнтів наявності РПЗ, і підтвердили це за допомогою аналізу результатів первинних та вторинних біопсій [28].

З метою перевірки наведених вище результатів було проведено Європейське проспективне дослідження на базі декількох медичних центрів за участі 646 пацієнтів з рівнем зПСА у крові в межах 2,0–10,0 нг/мл, що були направлені на біопсію. Паралельне тестування цих хворих на ІЗП з верхньою критичною межею на рівні 27,6 та % [-2]проПСА з верхньою критичною межею, що становила 1,22, свідчило, що у випадку використання ІЗП як головного критерію, можна було б уникнути загалом 100 (15,5%) зайвих біопсій, а в другому випадку і того більше – 111 (17,0%) непотрібних біопсій, водночас 90% РПЗ вдалось би чітко ідентифікувати. У даному дослідженні специфічність ІЗП становила 19,4%, а % [-2]проПСА – 22%, тоді як зПСА – лише 15,7% [17].

У тому самому дослідженні було обстежено 222 пацієнта з повторними 1–2 біопсіями. Щоб досягти чутливості тестування в 90% для ІЗП та % [-2]проПСА, специфічність цих двох маркерів мала становити 25,5% та 40,4% відповідно. За цих умов нижня критична межа для ІЗП дорівнювала 28,8, а для % [-2]проПСА – 1,23. Сумісне використання ІЗП разом із зПСА або % вПСА дозволило збільшити специфічність

цих показників на 31,8% та 22,5% відповідно, а у випадку % [-2]проПСА – на 16,6% та 7,3% відповідно. Одночасно це давало змогу відмовитись від 153 (68,9%) зайвих біопсій при використанні ІЗП та 116 (52,25%) необов'язкових біопсій при застосуванні [-2]проПСА [27].

У ще одному дослідженні за участі 354 пацієнта, у яких було взято біопсію ПЗ, вдалось встановити можливість уникнути зайвих біопсій за умови використання ІЗП з верхньою критичною межею в 31,94 та % [-2]проПСА – із значенням верхньої критичної межі рівним 1,21. Водночас чутливість двох біомаркерів була на рівні 90%, а специфічність дорівнювала приблизно 30%. Застосування вказаних діагностичних критеріїв дало б змогу уникнути до 19% непотрібних біопсій [24].

У ретроспективному дослідженні Ito та співавторів [29] було показано, що за умови досягнення 90% чутливості біомаркером, у якості якого послідовно випробовувались зПСА, %вПСА, % [-2]проПСА та ІЗП, найбільша специфічність була притаманна ІЗП (33,3%), тоді як перші три біомаркери мали специфічність у 20,4%, 22,0% та 25,3% відповідно.

В іншому ретроспективному дослідженні, що проводили в Азії Ng та співавтори, серед 230 чоловіків з рівнем зПСА у крові 4–10 нг/мл встановлено найбільшу діагностичну значущість для ІЗП, де площа під ROC-кривою була найбільшою і дорівнювала 78%. У випадку % [-2]проПСА ППК зменшувалась до 77%, а для [-2]проПСА, % вПСА, вПСА та зПСА ще більше – до 65%, 57%, 54% та 55% відповідно. Одночасно було виявлено, що ІЗП мав найбільшу специфічність в 49,7% при 90% чутливості, а % [-2]проПСА за таких умов – специфічність лише в 42,1%. У той самий час зПСА та % вПСА мали значно меншу специфічність, що дорівнювала 17,2% та 11% відповідно. Застосування ІЗП та [-2]проПСА зі значенням нижньої критичної межі на рівні 26,54 та 0,99 відповідно, зумовлювало значне підвищення діагностичної вагомості ПСА-тестування та уникнення апіорі багатьох зайвих біопсій [30].

Важливою ознакою % [-2]проПСА та ІЗП як біомаркерів є їх здатність розрізняти агресивні пухлини з показником Глісона ≥ 7 на кінцевих клінічних стадіях канцерогенезу. Sokoll та співавтори провели проспективне дослідження зразків крові 560 чоловік, серед яких 43% з 57% мали РПЗ, щоб з'ясувати діагностичну чутливість [-2]проПСА щодо визначення агресивності РПЗ. У результаті було доведено існування корелятивного зв'язку між зростанням [-2]проПСА і % [-2]проПСА та підвищенням показника Глісона у сукупності з погіршенням перебігу хвороби [31].

В іншому дослідженні, що проводилось одночасно в багатьох медичних центрах і охопило загалом 892 чоловіка після біопсії ПЗ, ризик появи пухлини з показником Глісона ≥ 7 був в 1,6 разу більшим у пацієнтів зі значенням ІЗП вище 55 порівняно з тими, хто мав ІЗП менше 25 [23]. Цей результат згодом було підтверджено в іншому більш детальному міжклінічному дослідженні із залученням більшої кількості пацієнтів, де було доведено наявність у ІЗП більшої діагностичної ефективності порівняно із зПСА та % вПСА щодо ідентифікації агресивних пухлин [22].

Крім того, Guazzoni зі співавторами [32] спробували з'ясувати здатність % [-2]проПСА та ІЗП прогнозувати властивості пухлин за допомогою використання висновків патоморфологічного аналізу після радикальної простатектомії. У проспективному дослідженні із залученням 350 чоловік, які з діагнозом локалізованого РПЗ були прооперовані шляхом здійснення радикальної простатектомії, визначення зПСА, вПСА, % вПСА, [-2]проПСА, % [-2]проПСА та ІЗП проводили на зразках крові, що були взяті у пацієнтів ще до оперативного втручання. Автори зафіксували, що % [-2]проПСА та ІЗП у пацієнтів, які мали злоякісні новоутворення на

стадії рТЗ канцерогенезу та показником Глісона ≥ 7 , можуть бути використані для прогнозування агресивності пухлин і як допоміжний засіб при дооперативному консультуванні хворих.

Heidegger зі співавторами [33] провели аналогічне дослідження 381 пацієнта, що пройшли радикальну простатектомію з приводу підозри на РПЗ. Було виявлено, що % [-2]проПСА був значно вищий серед дійсно онкологічних хворих порівняно з тими, що мали доброякісні пухлини, ще за чотири роки до діагностування у них РПЗ. Крім того, було показано, що рівень [-2]проПСА в крові тим більше, чим агресивніше є РПЗ. Також встановлено, що порогова межа в 22,5 мг/мл у плазмі крові для [-2]проПСА може з достатньою точністю відрізнити локалізований РПЗ від метастазуючого.

Таким чином, наведені вище дані дають всі підстави стверджувати, що % [-2]проПСА та ІЗП не тільки суттєво покращують визначення злоякісних новоутворень у ПЗ, але й також можуть використовуватись для прогнозування агресивності цих пухлин.

Останнім часом з'явилися дані стосовно перспективності залучення [-2]проПСА та інших показників, що створені на його основі, в проведенні активного спостереження хворих на РПЗ, що, як відомо, було запроваджено для уникнення надмірного лікування у разі наявності локалізованих злоякісних новоутворень, які повільно розвиваються [34, 35]. Активне спостереження, як правило, поєднується з контролем рівня зПСА та проведенням біопсії кожні півроку або принаймні кожен рік. У цьому зв'язку показано, що за своєю інвазивністю біопсії можуть спричинити інфекції, біль, кровотечі тощо, а морфолого-патологічний аналіз у 25–40% хворих занижує стадію пухлини та показник Глісона. Крім того, інколи через мультифокальний генезис пухлин та їхньої внутрішньої гетерогенності традиційні біопсійні методики не можуть надати повної характеристики функціонального стану пухлини. У той самий час, аналіз зПСА або ПСАШ, як правило, асоціюється з появою великої кількості помилково позитивних результатів через малу специфічність цих тестів. Усе це згодом спричинює невірне лікування через недооцінювання або переоцінювання агресивності пухлини.

D.V. Makarov та співавтори [36] кожен рік оцінювали рівень [-2]проПСА у крові у поєднанні з проведенням біопсії у 71 хворого, що були задіяні у програму активного спостереження за РПЗ. Показано, що % [-2]проПСА був значно вищий у тих хворих, у кого згодом було отримано несприятливі результати біопсії. У даних дослідженнях встановлено, що 70% збільшення точності прогнозу щодо появи несприятливої позитивної біопсії відбувається у разі поєднання визначення [-2]проПСА або ІЗП із вмістом ДНК у біопсійній тканині [37]. Обґрунтованість такого алгоритму лабораторних досліджень для виявлення була перевірена у когорті з 167 онкохворих з тривалим терміном спостереження [38], а також у широкомасштабному когортному дослідженні на базі декількох медичних центрів Японії [39].

Нещодавно [-2]проПСА було використано з метою прогнозування появи рецидивів у онкохворих після проведення радикальної простатектомії (РПЕ) [40]. Встановлено, що в цьому випадку приблизно у 20% прооперованих пацієнтів виникає біохімічний рецидив (БР), що має прояв у збільшенні в три рази найменшого рівня ПСА після РПЕ або в послідовному виявленні ПСА у крові в концентраціях більше 0,2 нг/мл. Слід зазначити, що сучасні методи дозволяють визначати ПСА на рівні 0,1 нг/мл [41], причому ПСА такої концентрації отримав назву ультрочутливого ПСА (уПСА). Згадане вище дослідження було проведено в групі із 106 пацієнтів, які пройшли РПЕ через наявність РПЗ високого ризику (рТЗ/рТ4 або позитивні краї). Встановлено, що [-2]проПСА після РПЕ підвищувався у всіх хворих протягом

року незалежно від збільшення уПСА та появи БР. На відміну від [-2]проПСА, уПСА у хворих протягом перших 3 міс спочатку трохи зменшувався або перебував на сталому рівні, а вже потім починав зростати. У цьому зв'язку, на думку авторів роботи, використання [-2]проПСА як прогностичного маркера рецидивування злоякісних новоутворень та появи БР ще потребує додаткових уточнень.

Сучасні альтернативні біомаркери РПЗ

Окрім ПСА та його ізоформ важливим біомаркером РПЗ вважається Кл-2, що продукується клітинами залозистого епітелію ПЗ. Кл2 – це серинова протеаза, яка за своїм амінокислотним складом на 80% подібна до ПСА. Рівень Кл2 у ПЗ, сім'яній плазмі та крові складає лише 1% від концентрації ПСА. Натомість, кількість зумовлених геном Кл2 РНК-транскриптів становить 10–50% від кількості ПСА-зумовлених РНК-транскриптів, що свідчить про можливі відмінності у стабільності РНК-транскриптів обох генів. Виявлено, що експресія гену Кл2 при розвитку канцерогенезу порівняно з ПСА значно зростає [42, 43].

Також було встановлено зв'язок рівня Кл2 із розростанням злоякісної пухлини за межі капсули та загальною масою пухлини, яку вилучають при простатектомії [44]. Це дало змогу використати Кл2 як незалежний прогностичний біомаркер. Так, у проведених дослідженнях у когорті з 867 чоловіків з рівнем зПСА у крові у межах 10 нг/мл, було показано, що Кл2 має більшу прогностичну точність порівняно з уПСА щодо прогнозування можливості біохімічного рецидивування після простатектомії. Тому площа під ROC-кривою для Кл2 становила 0,721, тоді як у разі ультрочутливого ПСА – 0,691 [45]. Різниця у прогностичній ефективності в іншому дослідженні ще більше зростала і становила для Кл2 0,730, а для уПСА – 0,599 [46].

Дуже корисним стало введення показника Кл2 до різних діагностичних та прогностичних біомаркерних серій, або панелей. Так, комбінація з зПСА, вПСА та Кл2 виявилася дуже ефективною для виявлення хворих зі злоякісними новоутвореннями у ПЗ під час проведення первинного огляду пацієнтів та скринінгу [47, 48], що є вкрай важливим, оскільки застосування такого підходу не потребує проведення ПРО та отримання постмасаажної сечі.

Ще одним важливим молекулярним біомаркером РПЗ є простатоспецифічний мембранний антиген (ПСМА). Спочатку ПСМА був відкритий як білок, що містився в мембранах ракових клітин ПЗ людини (LNCaP), але згодом з'ясувалось, що він також присутній і в нормальних епітеліальних клітинах ПЗ і навіть в клітинах інших органів, зокрема нирок та товстої кишки [49, 50].

ПСМА має два ферментативні центри, тому може виконувати роль як карбоксипептидази, так і фолатгідролази, що дає йому можливість послідовно відщеплювати термінальні глютамінові кислоти від фолату. Horoszewics зі співавторами встановили [49], що експресія ПСМА значно посилюється в епітеліальних клітинах ПЗ при злоякісній трансформації, чого не спостерігається в разі виникнення доброякісної пухлини. Підвищення рівня ПСМА корелювало з показником Глісона та клінічною стадією розвитку пухлини, особливо у випадку хвороби, нечутливої до гормонів [51]. Проте існують дані, що заперечують можливість використовувати ПСМА для скринінгу РПЗ, оскільки його чутливість не набагато перевищує зПСА [52].

У той самий час був розроблений спеціальний імунорадіографічний тест під назвою простасцинт (ProstaScint), який значно перевищує інші тести за своєю чутливістю (75%) та точністю (81%) визначення імовірності рецидивування злоякісних пухлин ПЗ після їхнього хірургічного вилучення і поширення метастазів у локальні та регіональні лімфовузли.

Для порівняння, застосування одночасно комп'ютерної томографії, ультразвукової діагностики та магнітного резонансу дає точність не більше 48%. Крім того, ПСМА, що визначається за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції, яка поєднана зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР), стає у пригоді для ідентифікації циркулюючих у крові ракових клітин, особливо при поєднанні ЗТ-ПЛР з ПСА-тестом. Чутливість методу в цьому випадку становить більше 65% [53].

Ще одним перспективним біомаркером РПЗ слід вважати α -метицил-КоА-рацемазу (АМАКР). Цей фермент бере участь у окиснювальному метаболізмі та синтезі розгалужених жирних кислот. Його ген значно активується і посилює свою експресію у аденокарциномних клітинах, що дуже легко виявити за допомогою ЗТ-ПЛР. У той самий час зниження рівня АМАКР свідчить про появу метастазів та біохімічного рецидиву. АМАКР широко використовується як імуногістохімічний маркер для більш точного визначення стадії пухлини при патологічному аналізі біопсії [54].

Антиген раннього РПЗ (АРРП) є протеїном ядерного матриксу, до якого останнім часом прикуто багато уваги. Це втілилось у виявленні так званого АРРП-2, який нібито розрізняє локальні пухлини від поширених [55]. Але згодом автори відмовилися від свого викриття. В інших роботах було показано, що АРРП однаково експресується як в злоякісних, так і в доброякісних пухлинах [56]. Проте останні дані вказують на суттєве збільшення концентрації АРРП у клітинах РПЗ, що відбувається у кореляційній залежності від стадії розвитку пухлини [57, 58]. Безумовно потрібні додаткові дослідження, щоб зробити остаточний висновок щодо придатності цієї молекули для біомаркування РПЗ.

У літературі зустрічається багато повідомлень про зв'язок РПЗ з експресією інсуліноподібного ростового фактору (ІРФ), його рецепторів та афінних до нього білків [59]. Деяким авторам вдалось встановити зв'язок між зростанням ризику утворення РПЗ та підвищенням рівня ІРФ у плазмі крові. Однак цей тест за своєю ефективністю не перевищує ПСА-тесту. У той самий час, більшої значущості для біомаркування має аналіз вмісту білків, що мають здатність зв'язуватись з ІРФ (ІРФЗБ), серед яких найбільш відомі ІРФЗБ-2 та ІРФЗБ-3. Перший, як встановлено, суттєво підвищується в крові онкохворих, причому доведено, що сила його експресії зворотно корелює з агресивністю хвороби, показником Глісона та метастазуванням [60]. Концентрація ІРФЗБ-3 у крові спочатку збільшується під час розвитку локального канцерогенезу в ПЗ, а потім починає зменшуватись у випадку делокалізації злоякісної пухлини та її метастазування, проте все одно перебуваючи на більш високому рівні, ніж у здорових пацієнтів. Використання одночасно ІРФЗБ-2 та ІРФЗБ-3 для післяопераційного прогнозу та оцінювання ризику рецидивування хвороби вважається досить перспективним [59].

Трансформуючий фактор росту $\beta 1$ (ТРФ- $\beta 1$) відіграє значну роль у регуляції клітинної проліферації та диференціації, а також ангіогенезу [61]. Встановлено існування певної кореляції між вмістом ТРФ- $\beta 1$ у клітинах РПЗ, з одного боку, та клінічною стадією злоякісної пухлини і показником Глісона – з іншого [62]. Показано, що збільшення циркулюючого у крові ТРФ- $\beta 1$ є свідченням високого ризику біохімічного рецидивування пухлини та можливістю екстракапсулярного поширення пухлини як на сім'яні везикули, так і лімфатичні вузли з подальшим її метастазуванням у кістки [63]. Слід зауважити, що деякими іншими дослідженнями такої закономірності підтверджено не було [64].

Інтерлейкін-6 (ІЛ-6) являє собою цитокин з великим різноманіттям функцій, що охоплюють гематопоез та імунну відповідь. ІЛ-6, як було показано, стимулює ріст в андроген-незалежних лініях LNCaP. При збільшенні агресивності зло-

якісних новоутворень у ПЗ, що поєднується з підвищенням показника Глісона біопсійних зразків, у крові виявляють зростання циркулюючого ІЛ-6 та його рецептора [65]. На цій підставі Kattan зі співавторами створили прогностичну номограму, куди разом із зПСА, клінічною стадією пухлини та показником Глісона було включено у якості додаткових змінних ще доопераційну концентрацію ТРФ- $\beta 1$ та розчинного рецептора до ІЛ-6 у крові. Створена номограма значно перевищує за своєю ефективністю попередні номограми, що дає змогу з більшою точністю прогнозувати ризик рецидиву хвороби протягом 5-ти років після РПЕ [66].

Zn- $\alpha 2$ глікопротеїн (ЦАГ) має молекулярну масу 41 кДа і кристалічну структуру, подібну до речовин, що належать до класу І головного комплексу гітосомісності. ЦАГ як молекула з біохімічною активністю стимулює розщеплення ліпідів в адипоцитах і, можливо, бере участь у розвитку кахексії, загального виснаження та значної втрати маси тіла, що зазвичай спостерігається в онкохворих [67]. Встановлено наявність норми ЦАГ у різних рідинах тіла – у крові, сечі, сім'яній плазмі, цереброспинальній рідині, водночас у крові концентрація циркулюючого ЦАГ становить приблизно 40 мг/мл. В онкохворих на РПЗ спостерігається помітне зростання концентрації ЦАГ, яка може доходити до позначки в 120 мг/мл [68].

У дослідженні О.Р. Bondar [69] за допомогою рідинної хроматографії у поєднанні з тандемною мас-спектрометрією було доведено, що концентрація ЦАГ у крові здорових пацієнтів становить $36,5 \pm 1,4$ мг/л, у пацієнтів з доброякісними пухлинами – $62,1 \pm 3,3$ мг/л, у хворих на РПЗ – $75,9 \pm 2,4$ мг/л. Це свідчить про існування статистично достовірних відмінностей між хворими на РПЗ та здоровими чоловіками. Водночас не було встановлено статистично достовірних відмінностей між пацієнтами з доброякісними пухлинами та онкохворими за наведеним критерієм.

Загальновідомо, що ангіогенез – це обов'язкова умова для розвитку злоякісної неопластичної трансформації, тоді як плазміноген-активуюча система (ПАС) відіграє у цьому процесі найважливішу роль. ПАС складається з урокінази плазміногенного активатора (уПА), рецептора уПА (уПАР) та інгібітору плазміногенного активатора типу 1 (ПАІ-1) [70]. Підвищення активності уПА та збільшення кількості уПАР корелює зі спроможністю пухлини утворювати власну судинну систему та продукувати метастази. Урокіназа як у вільному стані, так і в комплексі з рецептором здатна перетворювати неактивний плазміноген у протеолітично активний плазміноген, який розщеплює екстрацелюлярний матрикс, тим самим створюючи передумови до ангіогенезу та метастазування [71]. Тому інгібування ферментативної активності уПА та кількісне зменшення уПАР, у свою чергу, пригнічує ангіогенез та метастазування. Дослідження встановили, що зв'язування уПА з ПАІ-1 сприяє зменшенню розмірів пухлин [72]. Однак вважається, що роль ПАІ-1 полягає не тільки у пригніченні протеолізу, оскільки експресія ПАІ-1 у ракових клітинах підвищується майже в 10 разів порівняно з нормою, а це зрештою зумовлює посилення рухливості ракових клітин через взаємодію ПАІ-1 з вітронектином [73]. Натомість занадто високі концентрації ПАІ-1 пригнічують ангіогенез. Це явище отримало назву ПАІ-парадоксу. Тому найбільш небезпечною та сприятливою для розвитку канцерогенезу ПЗ є ситуація помірного збільшення ПАІ-1 [74].

Доведено, що уПАР може бути представлений двома розчинними формами – інтактною та розщепленою, причому поява в крові відокремленого домену І та зв'язаних разом доменів ІІ та ІІІ свідчить на користь виникнення злоякісної неопластичної трансформації. Застосування імуногістохімічної ідентифікації фрагментів уПАР разом з уПА та ПАІ-1 у зразках вилученої після радикальної простатоектомії ураженої тканини дозволило з великою ймовірністю прогнозувати агресивність пухлин, їхню

здатність до повторного клінічного рецидиву та метастазування. У той самий час підвищені концентрації уПА та уПАР у крові перед операцією свідчать про можливість існування віддалених метастазів, які мають на сьогодні певний візуальний або біохімічний прояв, та таких, що такого прояву не мають і є тимчасово прихованими або мовчазними [75].

Останнім часом був розроблений спеціалізований фотосенсибілізатор, чутливий до уПА. У ракових клітинах цей агент під дією уПА активується, перетворюючись у фоточутливу молекулу, що дає можливість вибірково вбивати пухлинні клітини шляхом фототоксичного ефекту під час загального опромінення організму [76].

EN-2 протеїн за результатами останніх досліджень є перспективним для розроблення діагностичного тесту на РПЗ із застосуванням звичайної сечі, а не постмасажної, ще в перших роботах стверджували, що він є більш надійним біомаркером, ніж ПСА разом з ПРО. Хворі на РПЗ мають підвищену експресію EN-2 протеїну в клітинах ПЗ порівняно зі здоровими чоловіками, що певним чином корелювало з об'ємом ПЗ. Однак здатність цього біомаркера розрізняти агресивні пухлини від індолентних ще має бути доведена [77]. Крім того, останнім часом з'явилися вказівки на те, що вміст EN-2 у сечі пацієнтів з аденокарциномою, карциномою та здорових чоловіків майже не розрізняється. Відмінності ставали помітними лише при застосуванні постмасажної сечі, що ставить під сумнів переваги цього біомаркера перед попередніми, які вже пройшли довготривалу клінічну перевірку [78].

Высокомолекулярные белковые биомаркеры рака предстательной железы. Перспективы использования в современной онкоурологии P.O. Danilets

Рак предстательной железы (РПЖ) в последние годы заметно распространился среди мужского населения планеты и поэтому на сегодняшний день представляет собой серьезную проблему для здравоохранения многих стран, поскольку по своей летальности среди мужчин с онкологическими заболеваниями РПЖ уступает лишь раку легких. В связи с этим возникла очевидная необходимость в разработке подходов ранней диагностики болезни. Первым общепризнанным биомаркером РПЖ стал протеолитический фермент семейства калликреинов, который получил название калликреин-3 или простатоспецифический антиген (ПСА).

Несмотря на все свои недостатки, а также невысокую чувствительность и специфичность, которые обуславливают появление заметного процента ошибочно-положительных и ошибочно-отрицательных результатов, ПСА-тест уже в течение нескольких десятилетий широко используется в клинической лабораторной диагностике РПЖ. Дальнейшее усовершенствование ПСА-теста осуществлялось путем применения ряда дополнительных биомаркеров, разработанных на основе разных молекулярных форм свободного ПСА в комбинации с комплексным ПСА, среди которых наилучшими прогностическими свойствами, как оказалось, обладает [-2]проПСА. Вследствие этого такие показатели, как % [-2]проПСА и индекс здоровья предстательной железы (ИЗП), который представляет собой математическое произведение % [-2]проПСА на $\sqrt{\text{ПСА}}$, нашли широкое применение в ранней диагностике РПЖ.

В представленном обзоре литературы главным образом обсуждаются высокомолекулярные белковые биомаркеры РПЖ, среди которых наиболее перспективными в качестве альтернативы ПСА предложены следующие: калликреин-2, простатоспецифический мембранный антиген, α -метилаллил-КоА-рацемеза, интерлейкин-6, Zn- α 2 гликопротеин, EN-2 протеин и β -1 трансформирующий ростовой фактор. Между тем показано, что с помощью панели биомаркеров, состоящей из урокиназного плазминогенового активатора (уПА), рецептора к уПА и ингибитора уПА типа 1 (уПАИ-1), можно прогнозировать агрессивность опухолей и их склонность к рецидивированию и метастазированию. Это подчеркивает необходимость скорейшего создания доступных эффективных биомаркерных панелей для онкоурологии.

Ключевые слова: биомаркеры, рак предстательной железы, ранняя диагностика, [-2]проПСА, индекс здоровья предстательной железы, высокомолекулярные белки.

ВИСНОВКИ

З огляду на наведене вище, слід очікувати, що проблема РПЗ в Україні залишається невирішеною. У першу чергу, це пов'язано з тим, що в Україні, на відміну від США та розвинутих країн світу, ще не впроваджено обов'язкового біотестування чоловіків після 50-и років за показником кількісного вмісту простатоспецифічного антигену (ПСА) у плазмі крові. Тому у більшості випадків чоловіки звертаються до урологів вже у разі появи вираженої симптоматики захворювання на РПЗ (біль у паху, часте та короткотривале сечовиділення). По-друге, застосування інших, більш інформативних біомаркерів викликає помітні труднощі через високу собівартість аналізів, проведення яких за умов поширення економічної кризи стає недоступним для більшості чоловіків. По-третє, слід пам'ятати, що територія України у більшості регіонів забруднена радіонуклідами, важкими металами та іншими токсичними хімічними речовинами. Через це у чоловіків частіше з'являються інтраепітеліальні неоплазми передміхурові залози (ПЗ) та зменшується концентрація цитрату у постмасажній сечі, що є також свідченням підвищеної схильності до неопластичного переродження ПЗ [79, 80].

Отже, розроблення доступних біомаркерних панелей високої ефективності має значно підвищити прогностичний потенціал окремих біомаркерів як компонентів такої панелі під час проведення лабораторної діагностики РПЗ та створити передумови для своєчасного виявлення злоякісних новоутворень у чоловіків різного віку.

High molecular weight protein biomarkers of prostate cancer. Prospects of application in modern oncology R.O. Danilets

Prostate cancer (PCa) has remarkably spread among the male population of the planet and due to this is representing a grave challenge to public health in different countries. Moreover PCa is occupying the second place after lung cancer by the quantity of men's deaths. In view of this, implementation of early diagnostics of the malignancy is of great need. The first widely used in the clinical laboratory diagnostics biomarker of PCa has become kallikrein-3 or prostate specific antigen (PSA).

Despite a number of its drawbacks, moderate sensitivity and low specificity, which have frequently stipulated the emergence of false-positive and false-negative results, PSA-testing has been widely applying over a few last decades in clinical laboratory diagnostics for PCa early detection. The further refinement of PSA-testing was fulfilled through introduction of a series of biomarkers on the basis of free PSA molecular forms along with complexed PSA, the most challenging of them being [-2]proPSA. Because of this, % [-2]proPSA and prostate health index (PHI), the latter being the product of % [-2]proPSA and $\sqrt{\text{tPSA}}$, are regarded as the most valuable criteria in PCa early diagnostics.

In the present literature review the high molecular weight protein biomarkers are discussed. As alternative ones to PSA in PCa detection the following biomolecules have been proposed, namely: kallikrein-2, prostate specific membrane antigen, α -methyl-KoA-racemase, interleukin-6, Zn- α 2 glycoprotein, EN-2 protein and β -1 transforming growth factor.

It was shown that by the aid of biomarkers' panel including urokinase plasminogen activator (uPA), receptor to uPA (uPAR) and the type 1 inhibitor of uPA (uPAI-1) tumor aggressiveness and its aptitude to recurrence and metastases can be predicted. Incidentally the need of effective biomarkers' panels for oncology is evident.

Key words: biomarkers, prostate cancer, early diagnostics, [-2]proPSA, prostate health index, high molecular weight proteins.

Сведения об авторе

Данилец Ростислав Олегович – ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. В.Винниченко, 9а, тел. (044)486-66-60

СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

1. The worldwide epidemiology of prostate cancer: perspectives from autopsy studies / G.P. Haas, N. Delongchamps, O.W. Brawley [et al.] // *Can. J. Urol.* – 2008. – Vol. 15, N 1. – P. 3866–3871.
2. Cancer statistics, 2010. / A. Jemal, R. Siegel, J. Xu [et al.] // *Cancer J. Clin.* – 2010. – Vol. 60, N 5. – P. 277–300.
3. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 / J. Ferlay, H.R. Shin, F. Bray [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2010. – Vol. 127. – P. 2893–2917.
4. Global cancer statistics / A. Jemal, F. Bray, M.M. Center [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2011. – Vol. 61. – P. 69–90.
5. The burden of prostate cancer in Asian nations / J. Cullen, S. Eslamanoudi, S. A. Brassel [et al.] // *J. Carcinog.* – 2012. – Vol. 11. – P. 7.
6. Григоренко В.М. Особливості демографічних показників населення України в аспекті поширення раку передміхурової залози / В.М. Григоренко, Н.О. Сайдакова, Р.О. Данилец, Н.В. Бровко // *Науковий журнал МОЗ України.* – 2014. – № 1. – С. 85–92.
7. Скрининг рака предстательной железы / Стаховский А.Э., Федоренко З.П., Витрук Ю.В. [и др.] // *Клиническая онкология.* – 2016. – Т. 21, № 1. – С. 50–53.
8. National Cancer Institute. NCI Dictionary of Cancer Terms. Available online: <http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/cdrd=45618>
9. Gutman A.B. An "Acid" phosphatase occurring in the serum of patients with metastasizing carcinoma of the prostate gland / A.B. Gutman, E.B. Gutman // *J. Clin. Invest.* – 1938. – Vol. 17. – P. 473–478.
10. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study / F.H. Schroder, J. Hugosson, M.J. Roobol [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360. – P. 1320–1328.
11. Prostate cancer – A biomarker perspective / Y. Liu, P. Hegde, F. Zhang [et al.] // *Front. endocrinol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 72–79.
12. Cross D.S. Historical prostate cancer screening and treatment outcomes from a single institution / D.S. Cross, M. Ritter, D.J. Reding // *Clin. Med. Res.* – 2012. – Vol. 10. – P. 97–105.
13. Sardana G. Proteomic analysis of conditioned media from the PC3, LNCaP, and 22Rv1 prostate cancer cell lines: Discovery and validation of candidate prostate cancer biomarkers / G. Sardana, K. Jung, C. Stephan, E.P. Diamandis // *J. Proteome Res.* – 2008. – Vol. 7. – P. 3329–3338.
14. Measurement of complexed PSA improves specificity for early detection of prostate cancer / M.K. Brawer, G.E. Meyer, J.L. Letran [et al.] // *Urology.* – 1998. – Vol. 52. – P. 372–378.
15. Huang Y.Q. Clinical performance of serum [-2]proPSA derivatives, %p2PSA and PHI, in the detection and management of prostate cancer / Y.Q. Huang, Sun T., Zhong W.D., Wu C.L. // *Am. J. Clin. Exp. Urol.* – 2014. – Vol. 2(4). – P. 343–350.
16. Loeb S. The prostate health index: a new test for the detection of prostate cancer / S. Loeb, W.J. Catalona // *Ther. Adv. Urol.* – 2014. – Vol. 6(2). – P. 74–77.
17. Serum isoform [-2]proPSA derivatives significantly improve prediction of prostate cancer at initial biopsy in a total PSA range of 2-10 ng/ml: a multicentric European study / M. Lazzeri, A. Haese, A. de la Taille [et al.] // *Eur. Urol.* – 2013. – Vol. 63. – P. 986–994.
18. Guazzoni G. Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA significantly improves the prediction of prostate cancer at initial extended prostate biopsies in patients with total PSA between 2.0 and 10 ng/ml: results of a prospective study in a clinical setting / G. Guazzoni, L. Nava, M. Lazzeri // *Eur. Urol.* – 2011. – Vol. 60. – P. 214–222.
19. Filella X. Evaluation of [-2]proPSA and Prostate Health Index (phi) for the detection of prostate cancer: A systematic review and meta-analysis / X. Filella, N. Gimenez // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2013. – Vol. 51. P. 729 – 739.
20. Jansen F. H. Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA in combination with total PSA and free PSA improves diagnostic accuracy in prostate cancer detection / F.H. Jansen, R.H. van Schaik, J. Kurstjens // *Eur. Urol.* – 2010. – Vol. 57. – P. 921–927.
21. [-2]Proenzyme prostate specific antigen is more accurate than total and free prostate specific antigen in differentiating prostate cancer from benign disease in a prospective prostate cancer screening study / B.V. Le, C.R. Griffin, S. Loeb [et al.] // *J. Urol.* – 2010. – Vol. 183. – P. 1355–1359.
22. Multicenter evaluation of [-2]pro-prostate-specific antigen and the prostate health index for detecting prostate cancer / C. Stephan, S. Vincendeau, A. Houlgatte [et al.] // *Clin. Chem.* – 2013. – Vol. 59. – P. 306–314.
23. A multicenter study of [-2]pro-prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml prostate specific antigen range / W.J. Catalona, A.W. Partin, M.G. Sanda [et al.] // *J. Urol.* – 2011. – Vol. 185. – P. 1650–1655.
24. Clinical utility of % p2PSA and prostate health index in the detection of prostate cancer / X. Filella, L. Foj, J.M. Augé [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2014. – Vol. 52. – P. 1347–1355.
25. Performance of serum prostate-specific antigen isoform [-2]proPSA (p2PSA) and the prostate health index (PHI) in a Chinese hospital-based biopsy population / R. Na, D. Ye, F. Liu [et al.] // *Prostate.* – 2014. – Vol. 74. – P. 1569–1575.
26. Prostate health index (phi) and prostate cancer antigen 3 (PCA3) significantly improve diagnostic accuracy in patients undergoing prostate biopsy / S. Perdoni, D. Bruzzese, M. Ferro [et al.] // *Prostate.* – 2013. – Vol. 73. – P. 227–235.
27. Serum index test %[-2]proPSA and Prostate Health Index are more accurate than prostate specific antigen and % fPSA in predicting a positive repeat prostate biopsy / M. Lazzeri, A. Briganti, V. Scattoni [et al.] // *J. Urol.* – 2012. – Vol. 188. – P. 1137–1143.
28. Scattoni V. Head-to-head comparison of prostate health index and urinary PCA3 for predicting cancer at initial or repeat biopsy / V. Scattoni, M. Lazzeri, G. Lughezzani // *J. Urol.* – 2013. – Vol. 190. – P. 496–501.
29. Diagnostic significance of [-2]proPSA and prostate dimension-adjusted PSA-related indices in men with total PSA in the 2.0–10.0 ng/mL range / K. Ito, M. Miyakubo, Y. Sekine [et al.] // *World. J. Urol.* – 2013. – Vol. 31. – P. 305–311.
30. The Prostate Health Index in predicting initial prostate biopsy outcomes in Asian men with prostate-specific antigen levels of 4–10 ng/mL / C.F. Ng, P.K. Chiu, N.Y. Lam [et al.] // *Int. Urol. Nephrol.* – 2014. – Vol. 46. – P. 711–717.
31. A prospective, multicenter, National Cancer Institute Early Detection Research Network study of [-2]proPSA: improving prostate cancer detection and correlating with cancer aggressiveness / L.J. Sokoll, M.G. Sanda, Z. Feng [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2010. – Vol. 19. – P. 1193–1200.
32. Preoperative prostate-specific antigen isoform p2PSA and its derivatives, % p2PSA and prostate health index, predict pathologic outcomes in patients undergoing radical prostatectomy for prostate cancer / G. Guazzoni, M. Lazzeri, L. Nava [et al.] // *Eur. Urol.* – 2012. – Vol. 61. – P. 455–466.
33. Heidegger I. [-2]proPSA is an early marker for prostate cancer aggressiveness / I. Heidegger, H. Klocker, E. Steiner // *Prostate Cancer Prostatic Dis.* – 2014. – Vol. 17. – P. 70–74.
34. Changes in prostate cancer grade on serial biopsy in men undergoing active surveillance / S.P. Porten, J.M. Whitson, J.E. Cowan [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29. – P. 2795–2800.
35. Pathological outcomes in men with low risk and very low risk prostate cancer: implications on the practice of active surveillance / J.J. Tosoian, E. JohnBull, B.J. Trock [et al.] // *J. Urol.* – 2013. – Vol. 190. – P. 1218–1222.
36. Pro-prostate-specific antigen measurements in serum and tissue are associated with treatment necessity among men enrolled in expectant management for prostate cancer / D.V. Makarov, S. Isharwal, L.J. Sokoll [et al.] // *Clin. Cancer. Res.* – 2009. – Vol. 15. – P. 7316–7321.
37. ProPSA and diagnostic biopsy tissue DNA content combination improves accuracy to predict need for prostate cancer treatment among men enrolled in an active surveillance program / S. Isharwal, D.V. Makarov, L.J. Sokoll [et al.] // *Urology.* – 2011. – Vol. 77. – P. 763–766.
38. Tosoian J.J. Association of [-2]proPSA with biopsy reclassification during active surveillance for prostate cancer / J.J. Tosoian, S. Loeb, Z. Feng // *J. Urol.* – 2012. – Vol. 188. – P. 1131–1136.
39. The impact of baseline [-2] proPSA-related indices on the prediction of pathological reclassification at 1 year during active surveillance for low-risk prostate cancer: the Japanese multicenter study cohort / H. Hiram, M. Sugimoto, K. Ito [et al.] // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 140. – P. 257–263.
40. [-2]proPSA versus ultrasensitive PSA fluctuations over time in the first year from radical prostatectomy, in a high-risk prostate cancer population: a first report / S. De Luca, R. Passera, A. Sottile [et al.] // *BMC Urology.* – 2016. – Vol. 16 (14). – P. 1–8.
41. Ultrasensitive detection of prostate-specific antigen by a time-resolved immunofluorometric assay and the immolate immunochemiluminescent thirs-generation assay: potential applications in prostate and breast cancer / R.A. Ferguson, H. Yu, M. Kalivas [et al]

- // Clin. Chem. – 1996. – Vol. 42. – P. 675–684.
42. Relative concentrations of hK2/PSA mRNA in benign and malignant prostatic tissue / S. Lintula, J. Stenman, A. Bjartell [et al.] // Prostate – 2005. – Vol. 63. – P. 324–329.
43. Clinical value of human glandular kallikrein 2 and free and total prostate-specific antigen in serum from a population of men with prostate-specific antigen levels 3.0 ng/mL or greater / C. Becker, T. Piironen, K. Pettersson [et al.] // Urology – 2000. – Vol. 55. – P. 694–699.
44. Human glandular kallikrein 2 levels in serum for discrimination of pathologically organ-confined from locally-advanced prostate cancer in total PSA-levels below 10 ng/ml / A. Haese, M. Graefen, T. Steuber [et al.] // Prostate – 2001. – Vol. 49. – P. 101–109.
45. Comparison of free and total forms of serum human kallikrein 2 and prostate-specific antigen for prediction of locally advanced and recurrent prostate cancer / T. Steuber, A.J. Vickers, A.M. Serio [et al.] // Clin. Chem. – 2006. – Vol. 53, N 2. – P. 233–240.
46. Risk assessment for biochemical recurrence prior to radical prostatectomy: signWcant enhancement contributed by human glandular kallikrein 2 (hK2) and free prostate specific antigen (PSA) in men with moderate PSAelevation in serum / T. Steuber, A.J. Vickers, A. Haese [et al.] // Int. J. Cancer – 2006. – Vol. 118. – P. 1234–1240.
47. Discrimination of men with prostate cancer from those with benign disease by measurements of human glandular kallikrein 2 (HK2) in serum / C. Becker, T. Piironen, K. Pettersson [et al.] // J. Urol. – 2000. – Vol. 163. – P. 311–316.
48. Total and Gleason grade 4/5 cancer volumes are major contributors of human kallikrein 2, whereas free prostate specific antigen is largely contributed by benign gland volume in serum from patients with prostate cancer or benign prostatic biopsies / A. Haese, M. Graefen, T. Steuber [et al.] // J. Urol. – 2003. – Vol. 170. – P. 2269–2273.
49. Horoszevicz J.S. Monoclonal antibodies to a new antigenic marker in epithelial prostatic cells and serum of prostatic cancer patients / J.S. Horoszevicz, E. Kawinski, G.P. Murphy // Anticancer Res. – 1987. – Vol. 7(5B). – P. 927–935.
50. Chang S.S. Prostate-specific membrane antigen: present and future applications / S.S. Chang, P.B. Gaudin, V.E. Reuter, W.D. Heston // Urology. – 2000. – Vol. 55. – P. 622–629.
51. Expression of prostate-specific membrane antigen (PSMA) in prostatic adenocarcinoma and prostatic intraepithelial neoplasia / C. Marchal, M. Redondo, M. Padilla [et al.] // Histol. Histopathol. – 2004. – Vol. 19(3). – P. 715–718.
52. Prognostic value of combined «triple»-reverse transcription-PCR analysis for prostate-specific antigen, human kallikrein 2, and prostate-specific membrane antigen mRNA in peripheral blood and lymph nodes of prostate cancer patients / R. Kurek, G. Nunez, N. Tselis [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2004. – Vol. 10 (17). – P. 5808–5814.
53. Prostate-specific membrane antigen (PSMA): current benefits and future value / A.A. Elgamal, E.H. Holmes, S.L. Su [et al.] // Semin. Surg. Oncol. – 2000. – Vol. 18. – P. 10–16.
54. Decreased alpha-methylacyl CoA racemase expression in localized prostate cancer is associated with an increased rate of biochemical recurrence and cancer-specific death / M.A. Rubin, T.A. Bismar, O. Andren [et al.] // Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. – 2005. – Vol. 14. – P. 1424–432.
55. EPCA-2: a highly specific serum marker for prostate cancer / E. Leman, G. Cannon, B. Trock [et al.] // Urology. – 2007. – Vol. 69(4). – P. 714–720.
56. Expression of a novel biomarker, EPCA, in adenocarcinomas and precancerous lesions in the prostate / H. Uetsuki, H. Tsunemori, R. Taoka [et al.] // J. Urol. – 2005. – Vol. 174. – P. 514–518.
57. Endoglin regulates cancer-stromal cell interactions in prostate tumors / D. Romero, C. O'Neill, A. Terzic [et al.] // Cancer Res. – 2011. – Vol. 71. – P. 3482–3493.
58. Preoperative serum levels of early prostate cancer antigen (EPCA) predict prostate cancer progression in patients undergoing radical prostatectomy / Z. Zhao, W. Ma, G. Zeng [et al.] // Prostate. – 2012. – Vol. 72. – P. 270–279.
59. Bickers B. New molecular biomarkers for the prognosis and management of prostate cancer – the post PSA era / B. Bickers, C. Aukim-Hastie // Anticancer Res. – 2009. – Vol. 29. – P. 3289–3298.
60. Association of preoperative plasma levels of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding proteins-2 and -3 with prostate cancer invasion, progression, and metastasis / S. Shariat, D. Lamb, M. Kattan [et al.] // J. Clin. Oncol. 2002. – Vol. 20 (3). – P. 833–841.
61. Sardana G. Emerging biomarkers for the diagnosis and prognosis of prostate cancer / G. Sardana, B. Dowell, E. Diamandis // Clin. Chem. – 2008. – Vol. 54(12). – P. 1951–1960.
62. Tissue expression of transforming growth factor β 1 and its receptors: correlation with pathologic features and biochemical progression in patients undergoing radical prostatectomy / S. Shariat, A. Menesses-Diaz, I. Kim [et al.] // Urology. – 2004. – Vol. 63(6). – P. 1191–1197.
63. Early postoperative plasma transforming growth factor β 1 is a strong predictor of biochemical progression after radical prostatectomy / S. Shariat, J. Walz, C. Roehrborn [et al.] // J. Urol. – 2008. – Vol. 179(4). – P. 1593–1597.
64. Wolff J. Serum concentrations of transforming growth factor β 1 in patients with benign and malignant prostatic diseases / J. Wolff, T. Fandel, H. Borchers // Anticancer Res. – 1999. – Vol. 19(4A). – P. 2657–2659.
65. Plasma levels of interleukin-6 and its soluble receptor are associated with prostate cancer progression and metastasis / S. Shariat, B. Andrews, M. Kattan // Urology. – 2001. – Vol. 58(6). – P. 1008–1015.
66. The addition of interleukin-6 soluble receptor and transforming growth factor β 1 improves a preoperative nomogram for predicting biochemical progression in patients with clinically localized prostate cancer / M. Kattan, S. Shariat, B. Andrews [et al.] // J. Clin. Oncol. 2003. – Vol. 21(19). – P. 3573–3579.
67. Crystallographic studies of ligand binding by Zn-alpha2-glycoprotein / S.L. Delker, A.P. West, L. McDermott [et al.] // J. Struct. Biol. – 2004. – Vol. 148. – P. 205–213.
68. Ekman R. Renal handling of Zn-alpha2-glycoprotein as compared with that of albumin and the retinol-binding protein / R. Ekman, B.G. Johansson, U. Ravnskov // J. Clin. Invest. – 1976. – Vol. 57. – P. 945–954.
69. Bondar O.P. LC-MS/MS Quantification of Zn- α 2 glycoprotein: a potential serum biomarker for prostate cancer // O.P. Bondar, D.R. Barnidge, E.W. Klee // Clin. Chem. – 2007. – Vol. 53(4). – P. 673–678.
70. Expression of soluble urokinase plasminogen activator receptor may be related to outcome in prostate cancer patients / N. McCabe, F. Angwafo, A. Zaher [et al.] // Oncol. Rep. – 2000. – Vol. 7(4). – P. 879–882.
71. Heterogeneity in plasminogen activator (PA) levels in human prostate cancer cell lines: increased PA activity correlated with biologically aggressive behavior / H. Keer, F. Gaylis, J. Kozlowski [et al.] // Prostate. – 1991. – Vol. 18(3). – P. 201–214.
72. Elevation of serum levels of urokinase-type plasminogen activator and its receptor is associated with disease progression and prognosis in patients with prostate cancer / H. Miyake, I. Hara, K. Yamanaka [et al.] // Prostate. – 1999. – Vol. 39(2). – P. 123–129.
73. Association of the circulating levels of the urokinase system of plasminogen activation with the presence of prostate cancer and invasion, progression, and metastasis / S. Shariat, C. Roehrborn, J. McConnel [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2007. – Vol. 25(4). – P. 349–355.
74. Plasminogen activators in human prostate cancer cell lines and tumors: correlation with the aggressive phenotype // F. Gaylis, H. Keer, M. Wilson [et al.] // J. Urol. – 1989. – Vol. 142(1). – P. 193–198.
75. PSA isoforms and intact and cleaved forms of urokinase plasminogen activator receptor in serum improve selection of patients for prostate cancer biopsy / T. Steuber, A. Vickers, A. Haese [et al.] // Int. J. Cancer. – 2007. – Vol. 120(7). – P. 1499–1504.
76. Prostate cancer biomarkers: an update / O.J. Romero, G.B. Garcia, J.F. Campos [et al.] // Urol. Oncol. – 2014. – Vol. 32(3). – P. 252–260.
77. Engrailed-2 (EN2): A tumor specific urinary biomarker for the early diagnosis of prostate cancer / R. Morgan, A. Boxall, A. Bhatt [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2011. – Vol. 17. – P. 1090–1098.
78. Engrailed-2 protein as a potential urinary prostate cancer biomarker: a comparison study before and after digital rectal examination / M.P. Marzall, W. Sroka, M. Adamowski [et al.] // Eur. J. Cancer Prev. – 2015. – Vol. 24. – P. 51–56.
79. Вивчення компонентного складу та ферментативної активності простатичної рідини чоловіків з України / Л.В. Горбань, І.Т. Гавриш, Р.О. Данилець [та ін.] // Вісник проблем біології та медицини. – 2016. – Вип. 3. – Т. 1(31). – С. 77–81.
80. Prostatic intraepithelial neoplasia and apoptosis in benign prostatic hyperplasia before and after the Chernobyl accident in Ukraine / A.F. Vosianov, A.M. Romanenko, L.B. Zabarko [et al.] // Pathol. Oncol. Res. – 1999. – Vol. 5(1). – P. 28–31.

Статья поступила в редакцию 23.06.17