

La bioquímica del antígeno específico de próstata (AEP) y sus fracciones

Juan Fernando Uribe Arcila¹

Resumen: el antígeno específico de próstata (AEP) es una kalicreína que está entre los varios tipos de sustancias que secreta la próstata en su función como glándula accesoria de la reproducción. En el semen actúa como una proteasa con preferencia desnaturalizante sobre las semenogelinas, las proteínas procoagulantes del semen producidas en la vesícula seminal, pero que como cualquier proteasa tiene un potencial adicional para metabolizar cualquier proteína. Es por esa acción destructora que la naturaleza toma todas las precauciones para que el AEP-proteasa tenga un período de actividad efímero y una serie de fracciones clivadas o desactivadas que explican en su conjunto los porcentajes en plasma del antígeno total y libre en el paciente normal y con patologías. El AEP puede dividirse de una manera simple en dos tipos básicos: activo e inactivo, o bien libre y complejo. Hacia el futuro puede esperarse que el uso del AEP como marcador de cáncer pueda refinarse en sensibilidad y especificidad con el uso de fracciones que se relacionen matemáticamente y además con el uso de otros tipos de antígenos como el antígeno de membrana específico de próstata (PSMA, *prostate specific membrane antigen*) y el antígeno de células madre de próstata (PSCA, *prostate stem cell antigen*).

Palabras claves: antígeno específico de próstata, próstata, cáncer.

Uribe-Arcila JF. La bioquímica del antígeno específico de próstata (AEP) y sus fracciones. Medicina & Laboratorio 2008, 14: 153-166.

Módulo 10 (Oncología), número 10. Editora Médica Colombiana S.A., 2008[®].

Recibido el 14 de enero, 2008; aceptado el 29 de febrero, 2008.

El antígeno específico de próstata o AEP por su abreviatura en español o PSA por su abreviatura en inglés de *prostate specific antigen*, es el marcador de cáncer más solicitado por los médicos en el mundo. Aun en la forma de AEP total que se considera por algunos como un reflejo imperfecto de la malignidad, es una herramienta muy útil en el seguimiento de los pacientes con cáncer de próstata, sobretodo en la vigilancia de pacientes que se escogen para un monitoreo activo y, un tanto menos, en el tamizaje para cáncer de próstata en grandes poblaciones. Su interpretación está sometida a agudas controversias basadas en dos razones: los costos que subyacen en su uso indiscriminado y los errores en su interpretación, conflicto este último que se genera a menudo por desconocer la naturaleza del antígeno como un subproducto de la glándula prostática y de su dinámica como marcador de la salud o alteración del órgano [1-3]. En el presente módulo se describen los diferentes componentes del antígeno específico de próstata, su bioquímica y utilidad en la detección del cáncer de próstata.

La próstata es una glándula de predominio paracrino con una porción estromal que soporta la acción de los andrógenos y una porción epitelial que produce sustancias que soportan y promueven la reproducción aunque no sean reproductivas en sí mismas, como sí lo son los espermato-

1. Médico Urólogo. Profesor Titular de Urología. Hospital Pablo Tobón Uribe. Medellín, Colombia. jfuribe@une.net.co

Tabla 1. Sustancias secretadas por la próstata que influyen en la reproducción

AEP (también llamado kalicreína 3)
Kalicreína 2 (también llamada kalicreína glandular)
Kalicreína 11
Transglutaminasa prostática específica
Deshidrogenasa láctica
Leucinaminopetidasa
Fosfatasa acida prostática (PAP, <i>prostate acid phosphatase</i>)
Proteína secretora prostática de 94 aminoácidos (PSP94, <i>prostate secretory protein of 94 aminoacids</i>) o betamicroseminoproteína

miento que, a su vez, estimulan las células glandulares para que produzcan AEP [4], como se observa en la **figura 1**.

Una breve revisión de la historia muestra que desde 1930 se describieron un grupo de enzimas proteolíticas llamadas kalicreínas (de *kallicreas*, páncreas en griego). En el año de 1970 Ablin y colaboradores [5] aislaron una seminoproteína del tejido prostático y al año siguiente, en 1971, Hara y colaboradores [6] aislaron la misma sustancia que llamó gammaseminoproteína en el semen. Dos investigadores en polos opuestos se concentraron en buscar alguna proteína que sirviera para la identificación del semen de violadores y fue así como en 1973 Li y Beling [7] describieron la Proteína E con este objetivo y en 1978 Sensabough [8] la proteína P30, también con el mismo interés forense. Fue sólo hasta 1979 en que Wang y colaboradores [9] describieron el AEP en el plasma seminal y el tejido prostático y en 1980 Papsidero y colaboradores [10] lo aislaron del suero para que finalmente también en 1980, Kuriyama y colaboradores [11] fabricaran la primera prueba sérica antecesora de la actual. En 1987 Schedlich y colaboradores [12] descubrieron la kalicreína 2 (hk2) y en 1998 Reiter y colaboradores [13] el antígeno de células madre de próstata.

La kalicreína 2 y la kalicreína 3 son producidas en la próstata y pertenecen a la gran familia de las kalicreínas humanas; son proteínas séricas codificadas por un multigen familiar, localizado en el brazo largo del cromosoma 19, de las que hasta ahora se han descubierto 15 diferentes. La kalicreína 1 que fue la primera identificada, es una enzima de predominio pancreático, aunque también se encuentra renal y salivar, y tiene un 62% de similitud con el AEP en sus cadenas de aminoácidos [14-16].

La kalicreína 2 se encuentra presente, además de la próstata, en el líquido amniótico y en los quistes mamarios. Tiene un 80% de similitud con el AEP en su cadena de aminoácidos y también es regulada por an-

zoides del testículo (ver **tabla 1**). Sin embargo, estas sustancias accesorias del semen son fundamentales para la reproducción hasta el punto que la próstata es una glándula común a todos los mamíferos. En la próstata normal, los andrógenos con predominio de la testosterona que llega por la vía vascular, son convertidos a dehidrotestosterona (DHT). Este andrógeno amplificado estimula las células estromales que son las encargadas de producir factores de crecimiento que, a su vez, estimulan las células glandulares para que produzcan AEP [4], como se observa en la **figura 1**.

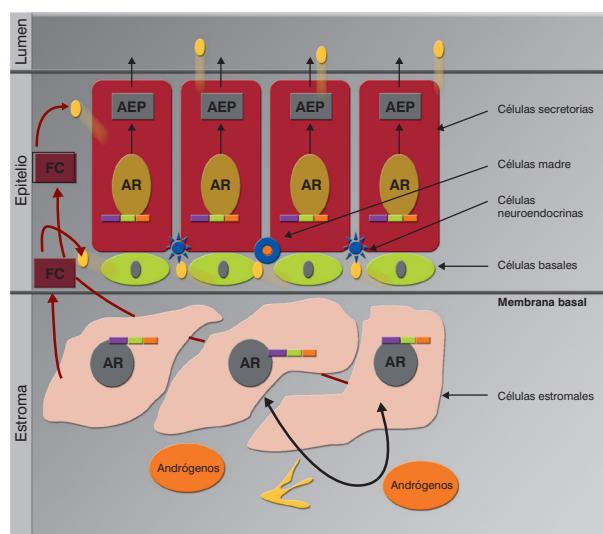


Figura 1. Esquema de la glándula prostática normal dividida por la membrana basal en células estromales que reciben la acción de los andrógenos por medio de los receptores androgénicos (AR), y en células basales y secretoras (o epiteliales) que reciben el efecto paracrino de las anteriores por medio de los factores de crecimiento (FC).

drógenos. Puede ser hasta 200.000 veces más proteolítica que el AEP. La mayor parte se comporta como sustancia libre porque sólo un 20% se une a la proteína transportadora, la alfa-1-antiquimiotripsina (ACT). Influye en la formación de kalicreína 3 (AEP) y es mejor expresada en el cáncer de próstata y por tanto es uno de los marcadores a usar en el futuro [14-24].

Antígeno específico de próstata

La kalicreína 3, más conocida como antígeno específico de próstata, es una glicoproteína de cadena simple con un peso molecular de 33.000 daltons y 237 aminoácidos que se comporta como una enzima proteolítica producida además de las células epiteliales (glandulares) de la próstata, en las glándulas perianales, parauretrales, sudoríparas, tiroídes, placenta, mama y endometrio, y también se encuentra en la leche materna. Su función primaria es la licuefacción del semen, antagonizando la acción de la semenogelina, también llamada "antígeno específico vehiculo-seminal", que es la proteína que produce la coagulación del semen para proteger los espermatozoides durante la eyaculación. Debe entenderse que la función proteolítica es preferente sobre la de la semenogelina pero no exclusiva, por lo que el organismo toma todas las precauciones para controlar adecuadamente esta enzima destructora de proteínas [14-17, 19, 20, 23, 25-27] (ver **figuras 2 y 3**).

El AEP alcanza una concentración en el compartimento seminal o luz de la glándula entre 0,5 a 5 mg/mL y es donde la proteasa ejerce su acción primaria, en el interior de la glándula sana tiene valores de 1 mg/mL y en el compartimento vascular apenas alcanza concentraciones de 0 a 4 ng/mL, cumpliendo sin embargo con su función como marcador tumoral al aumentar sus valores en presencia de cáncer, indicando que una mayor concentración pasa a través de la membrana basal rota hacia el compartimento vascular por acción de alguna noxa [16] (ver figura 4).

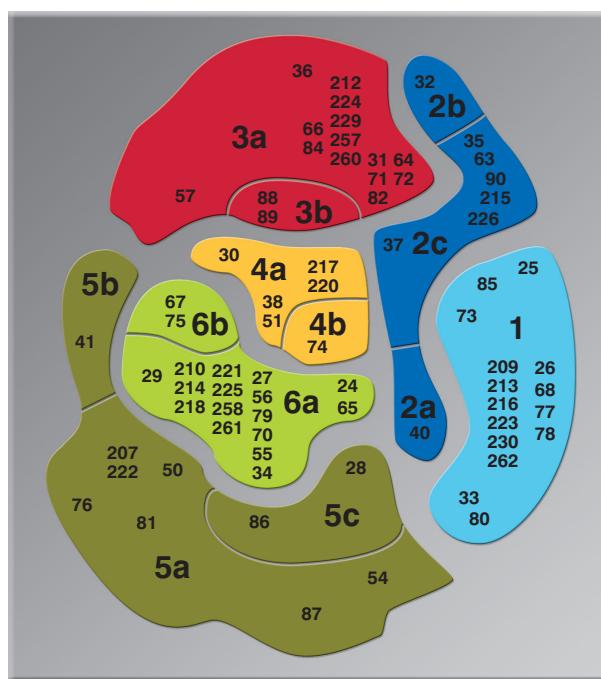


Figura 2. La kalicreína 3 o antígeno específico de próstata con su secuencia de aminoácidos y forma esférica, aunque en la realidad es tridimensional.

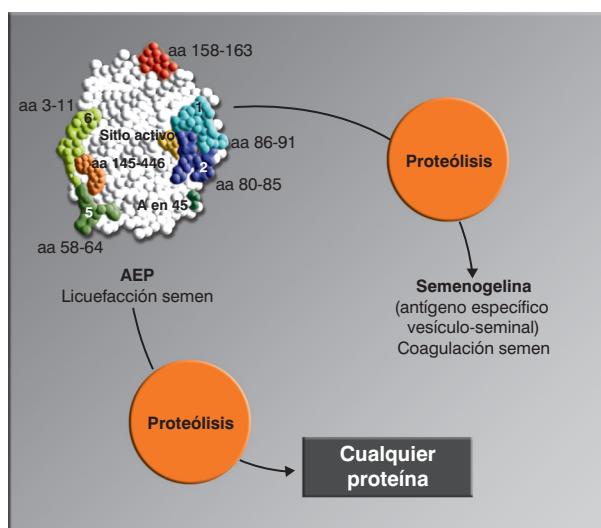


Figura 3: Acción del AEP (kalicreína 3) para la licuefacción del semen y de la semenogelina para la coagulación del semen.

Formas del AEP

Puede decirse de una manera simplificada que el AEP se divide en dos formas básicas: activo e inactivo. La mayor parte del AEP es inactivo, bien sea porque es “preactivo” (pro-AEP o zimógeno de AEP), porque fue “usado” y sigue como un AEP libre, o porque está “unido a proteínas” como la alfa-2-macroglobulina (AMG) o la alfa-1-antiquimiotripsina (ACT) y es entonces un “AEP complejo”, como se observa en la **figura 5** [23, 28]. Las formas de AEP posibles son las siguientes:

- La forma no activa denominada pre-pro-AEP es una forma de seguridad que tiene una cadena de 22 aminoácidos adicionales a los 237 básicos del AEP activo y hasta el momento es imposible de medirla por cualquier método.
- El siguiente paso es el pro-AEP o zimógeno que tiene una cadena adicional de 7 aminoácidos y se considera una fracción de AEP libre.
- El AEP activo es efímero, hace su acción y el organismo lo inactiva de inmediato por el riesgo que implica cualquier enzima proteolítica, por lo tanto no es posible medirlo.
- Otra parte del AEP libre está constituido por el B-AEP que es inactivo con dos péptidos clivados (cortados) de lisina-lisina y lisina-serina en las posiciones 145 y 182 que lo hacen inactivo; no se le conoce función biológica a no ser que tenga alguna de manejo interno en la glándula; comprende al menos el 25% del AEP elevado de los pacientes que tienen biopsias negativas y por lo tanto es una fracción muy interesante hacia el futuro para descartar intentos de biopsia que

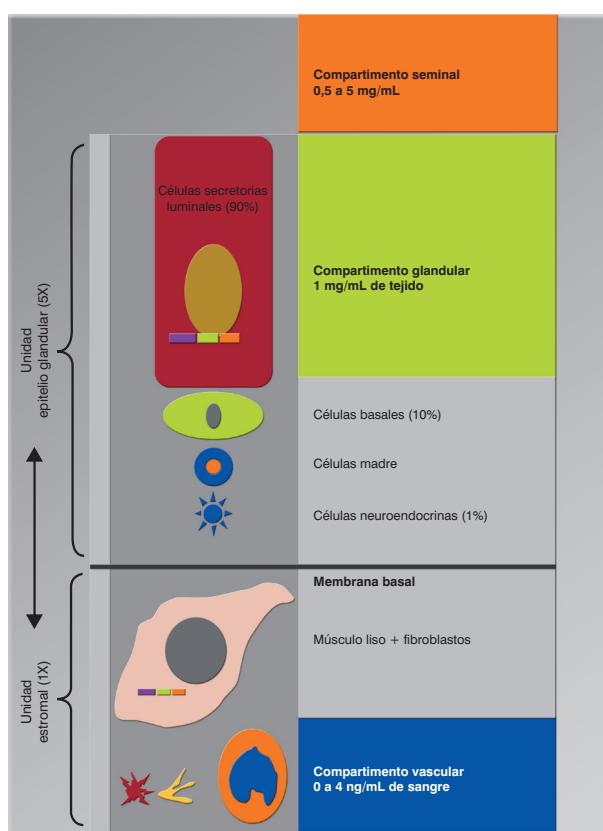


Figura 4: Concentración del AEP en los diferentes compartimentos del organismo. Convenciones: AEP-AMG: complejo AEP-alfa-2-macroglobulina; AEP-ACT: complejo AEP-alfa-2-quimiotripsina.

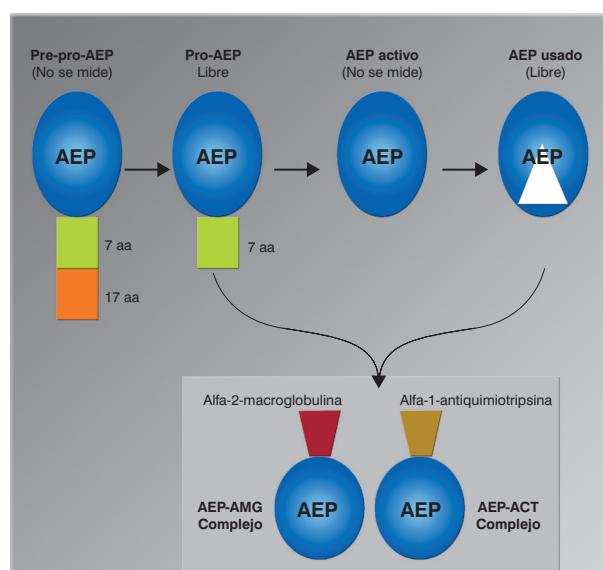


Figura 5. Esquema simplificado de las formas de AEP activas e inactivas.

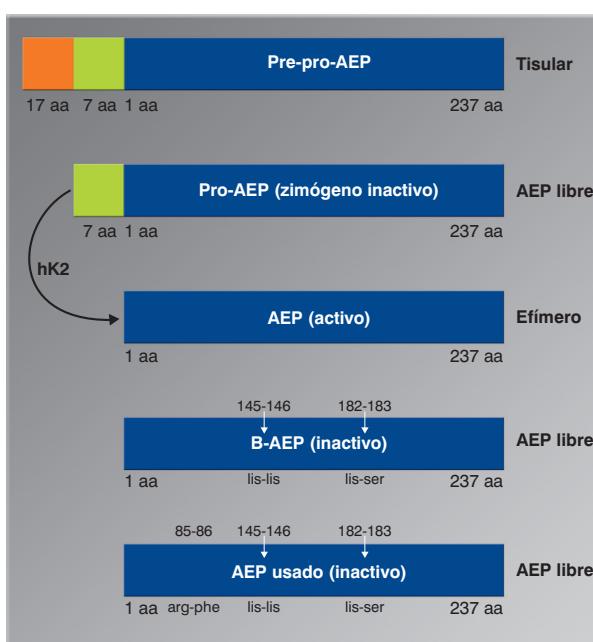


Figura 6. Proceso de activación del AEP desde el pre-pro-AEP y su posterior inactivación hasta AEP usado inactivo. Los números indican los aminoácidos (aa).

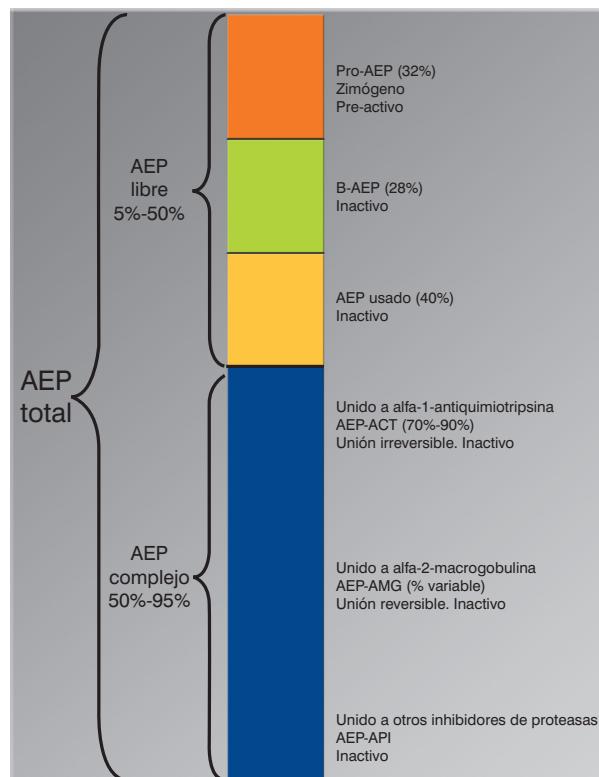


Figura 7. División del AEP total en AEP complejo y en AEP libre y sus formas activas e inactivas.

serán negativos. Es de interés saber que cuando coexisten el cáncer de próstata y la hiperplasia prostática benigna su relación podría ayudar.

Finalmente el resto del AEP libre está constituido por el AEP usado totalmente que es inactivo y que tiene una posición adicional clivada de arginina en la posición 85-86 para mayor seguridad en la inactivación. El paso de pro-AEP inactivo a AEP activo implica la acción de la kalicreína 2, la cual es una de sus principales funciones [16, 28-34] (ver figuras 5, 6 y 7).

Otra forma entonces de dividir el AEP para su estudio es en complejo y libre. El AEP complejo o unido (50% a 95% del AEP total) siempre es inactivo puesto que la unión a las proteínas crea una proteasa que está inactivada. La mayor parte (70% a 90%) está unida a la proteína alfa-1-antiquimiotripsina (AEP-ACT) haciendo una unión covalente que es irreversible; un porcentaje variable está unido a la proteína alfa-2-macroglobulina (AEP-AMG) que es reversible, lo que quiere decir que el AEP puede desligarse y volver a ser activo. Otro porcentaje variable del AEP está unido a otras proteínas menos específicas de transporte que son despreciables en volumen [21,33, 34], como se observa en la figura 7). El AEP libre (5% a 50 %) que es proporcional al tamaño de la próstata, se divide como ya se vio antes en tres componentes:

- El pro-AEP (32%) que como zimógeno está listo a convertirse en AEP activo que es efímero.
- El B-AEP (28%) que ya está clivado en la secuencia de aminoácidos y es inactivo.
- El AEP usado (40%) que está doblemente clivado para inactivarlo [31-33, 35] (ver figura 7).

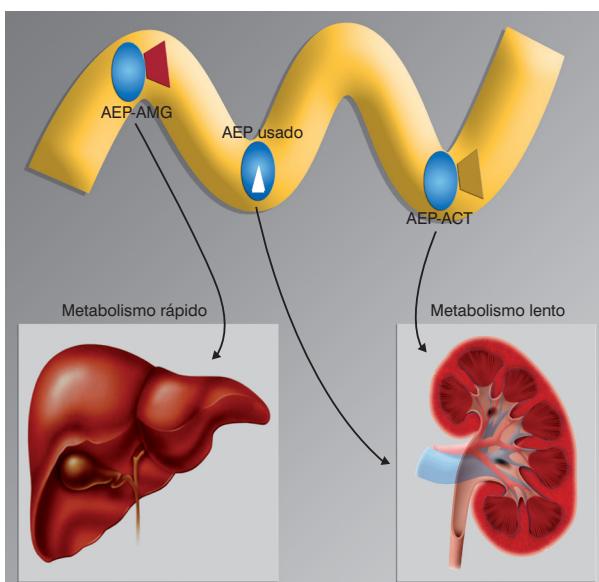


Figura 8. El metabolismo del AEP complejo unido a las proteínas alfa-2-macroglobulina y alfa-1-antiquimiotripsina en el hígado y riñón.

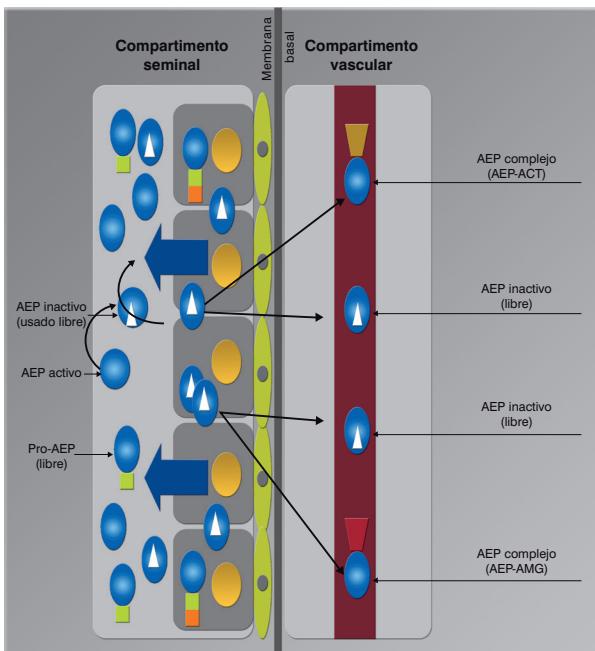


Figura 9. Metabolismo del AEP en la glándula prostática normal.

tras la distorsión del tejido no arruina por completo la función de la glándula, como se observa en la figura 10.

Las diferentes formas de AEP comienzan a pasar en grandes cantidades al plasma donde las proteínas ligan el exceso haciendo aumentar los valores del AEP total. También pasan algunas cantidades de pro-AEP libre y AEP inactivo libre que deben ser igualmente metabolizados. Debe entenderse que en adenocarcinoma el AEP libre aumenta en términos relativos aunque

Las proteínas alfa-1-antiquimiotripsina y alfa-2-macroglobulina son los mayores inhibidores de proteasas extracelulares que existen. Se conocen también como antiproteasas. Cada una tiene su vía específica: el complejo inactivo AEP-AMG se metaboliza en el hígado rápidamente con un tiempo medio de menos de 10 minutos, mientras el complejo AEP-ACT tiene un metabolismo lento en el riñón con un tiempo medio de 12 a 18 horas y un metabolismo de menos de 1 ng/mL/día. Una parte del AEP usado puede ser metabolizado directamente por el riñón sin estar unido a las antiproteasas [36-39], como se observa en la figura 8.

El metabolismo del AEP en la próstata normal es como sigue: el AEP se encuentra en el compartimento glandular como pro-AEP zimógeno, pero también deben encontrarse allí en cada momento pequeñas fracciones de AEP activo efímero que no se mide por ningún método y existen grandes cantidades de AEP inactivo libre que está listo para devolverse hasta el compartimento vascular para unirse a las proteínas alfa-1-antiquimiotripsina o alfa-2-macroglobulina y ser metabolizado luego por el hígado o el riñón [34, 40] (ver figura 9).

La próstata con cáncer

En la próstata cancerosa ocurren varios fenómenos: la glándula se convierte en autocrina, y se pierde la membrana basal y la capa de células estromales. Sólo queda la parte epitelial o glandular concentrada en su labor de producir AEP cuyo valor aumenta de manera dramática mien-

su porcentaje disminuya con respecto al AEP total. Eso se muestra mejor con un ejemplo: implica matemáticamente un mayor valor ser el 10% (valor anormal de AEP libre) en 50 ng de AEP total (lo que corresponde a 5 ng de libre), que ser el 25% (valor normal de AEP libre) de 2 ng de AEP total (lo que corresponde a 1 ng de libre). Sin embargo, es claro que ante la inundación de AEP proveniente de las barreras rotas en el cáncer, el sistema de proteasas y otras proteínas está ávido de ligar el exceso y el valor del AEP complejo aumenta mucho en el compartimento vascular alimentando el valor de AEP total. Un porcentaje del pro-AEP que se aumenta en cáncer puede salir directo a unirse a las macroglobulinas sin pasar por el resto del proceso y esto puede tener influencia en la forma como el porcentaje de AEP libre se comporta en la enfermedad tumoral [34], como se observa en la **figura 11**.

AEP y hueso

Otro fenómeno que vale la pena explicar es el relacionado con el aumento desmesurado del AEP en los pacientes con metástasis óseas. Las células tumorales en el hueso son capaces de producir grandes cantidades de antígeno que tiene un poderoso efecto mitogénico sobre la proliferación de los osteoblastos que son los directamente correlacionados con las metástasis osteoblásticas del cáncer de próstata. El AEP tiene acciones endocrinas adicionales a nivel del hueso estimulando en especial el factor de crecimiento tumoral β (TGF- β) que también es un inductor positivo de las metástasis [41] (ver **figura 12**).

Sensibilidad y especificidad del AEP

De una manera simplificada puede decirse usando la metáfora de una trampa de animales, que

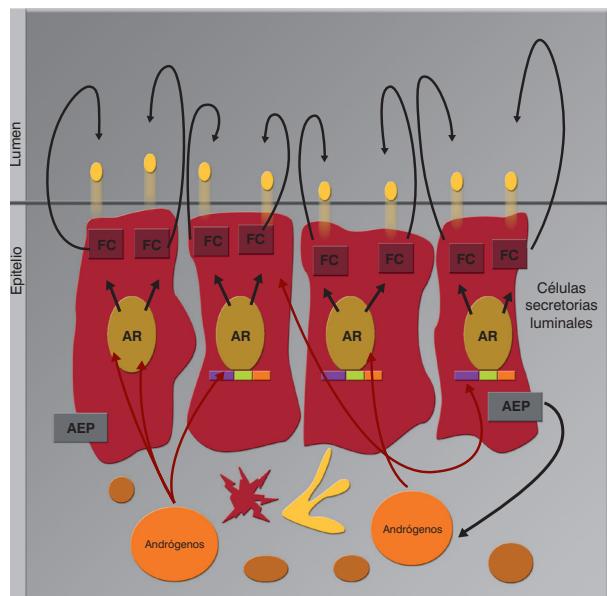


Figura 10. El adenocarcinoma de próstata con pérdida de la membrana basal y un control autocrino de la porción glandular.

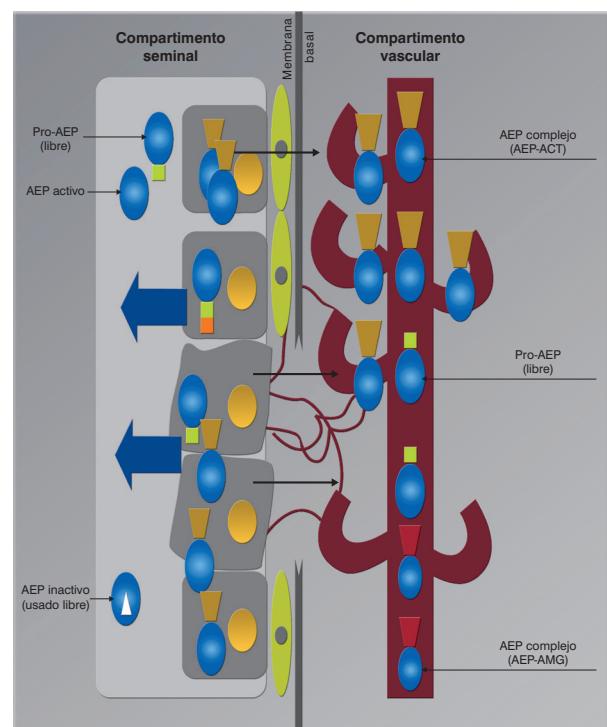


Figura 11. Los cambios de metabolismo en la glándula con adenocarcinoma. Puede observarse poca cantidad de las formas de AEP en el compartimento seminal debido a que la glándula funciona en forma deficiente.

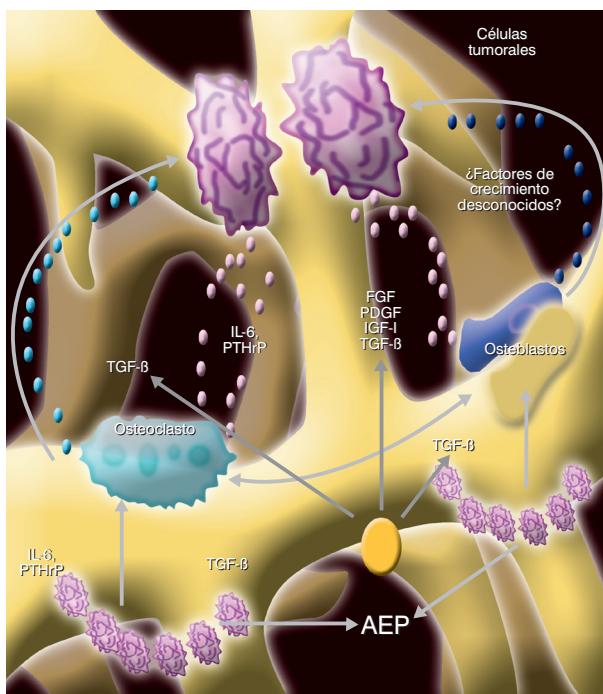


Figura 12. El comportamiento del AEP en las metástasis óseas del adenocarcinoma de próstata. Convenciones: PTHrP: proteína relacionada con la paratohormona; IL-6: interleuquina 6; TGF- β : factor de crecimiento tumoral β ; FGF: factor de crecimiento de los fibroblastos; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas; IGF-1: factor de crecimiento análogo a insulina tipo 1.

Según datos de Partin para el año 2000, con 15 millones de pruebas de AEP realizadas en Estados Unidos, el 85% fueron normales y el 15% anormales. Se generaron entonces un millón de biopsias de las cuales una tercera parte son positivas (250.000 pacientes) [49, 50].

El futuro del uso de estos marcadores está basado en los algoritmos, como el que se presenta en la **figura 15**, adaptado al medio [48]. Se buscan entre las fracciones disponibles diferentes combinaciones para mejorar la sensibilidad y especificidad del antígeno de próstata. En la **tabla 2** aparecen las posibles combinaciones que se usan o serán usadas en los próximos años [51].

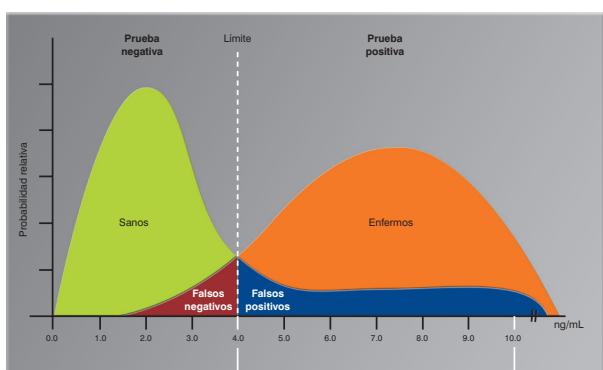


Figura 13. Sensibilidad y especificidad del AEP.

cuando se habla de "sensibilidad" de una prueba es como una trampa de osos que se fabricó tan grande que caen animales de todo tipo, incluyendo por supuesto osos. La "especificidad" en cambio es volver la trampa más efectiva, sólo caen los osos que usted quiere, sin otros animales distintos, pero es tan selectiva que se le pueden escapar algunos osos. En este delicado juego se mueven los valores del AEP como prueba; entre 0 y 4 ng/mL logra una buena especificidad sin perder sensibilidad, sin embargo cuando aumenta la sensibilidad, baja la especificidad, y viceversa [42-48], como se observa en la **figura 13**.

Existen varias formas de interpretar la potencia del AEP como marcador de cáncer. Se supone que por cada 1 de 5 biopsias evitadas, se deja de diagnosticar 5% de tumores que estaban presentes. Con un AEP entre 4 y 10 ng/mL el 75% de las biopsias serán negativas (90% de sensibilidad). El AEP libre agrega un 15% a un 25% de especificidad, como se observa en la **figura 14**.

Otros tipos de AEP

Existen marcadores adicionales que sin hacer parte de las kalicreinas del cromosoma 19 se están convirtiendo en alternativas ciertas en el manejo del cáncer de próstata. Entre ellos:

AEP de membrana (PSMA)

Es una glicoproteína sintetizada por un cromosoma diferente al 19 (el 11) con funciones de transduc-

Tabla 2. Fracciones del AEP y sus posibles combinaciones para el diagnóstico de cáncer de próstata [46, 52, 53]

AEP libre/AEP total (25%)	
hK2/AEP libre	
hK2 x (AEP total/AEP libre)	
Pro-AEP	
AEP-API/AEP	
AEP-AMG/AEP total + AEP-AMG	
ACT-AEP/AEP total	
AEP-ACT/AEP libre	
AEP-ACT/AEP total	
PCA3	
Pro AEP/B-AEP	

ción de señales en las células epiteliales de la glándula y de proliferación de las mismas con sobre-expresión en la mayoría del tejido del adenocarcinoma de próstata, por lo que podría ser útil en su diagnóstico e incluso para el tratamiento al estar diseñando inmunotoxinas anti-PSMA [54-56].

Antígeno de células madre de próstata (PSCA)

Es un antígeno de superficie o proteína integral de membrana expresado en la glándula prostática en células basales y células madre, y sobre-expresado en cáncer de próstata. Adicionalmente, la sobre-expresión del antígeno de células madre de próstata en pacientes con neoplasia intraepitelial prostática puede ser un predictor de cáncer en esos tejidos. El antígeno

de células madre de próstata podría tener también una función endógena en el control de metástasis [57-60]. Además, se está explorando, con resultados alentadores, como una molécula para desarrollar la vacuna contra el cáncer de próstata en el futuro [61].

Los estudios apuntan a la búsqueda de otras macromoléculas que puedan medirse en la circulación durante la terapia del cáncer como la citocromo C, los nucleosomas, la citoqueratina-18 clivada y la E-cadherina que puedan proveer un más eficiente monitoreo del resultado del tratamiento [62].

Conclusiones

- El AEP es una proteasa.
- El organismo lo mantiene en estado de inactividad.
- Su mayor concentración ocurre en la luz de la glándula.
- El AEP activo es efímero y no se puede medir.
- La sensibilidad y la especificidad son el marco en que se mueve toda prueba y los valores de 0 a 4 ng/mL se han considerado los de mayor especificidad sin afectar la sensibilidad.
- En el futuro vendrán otros tipos de AEP como los originados en la membrana (PSMA) y en las células madre (PSCA).

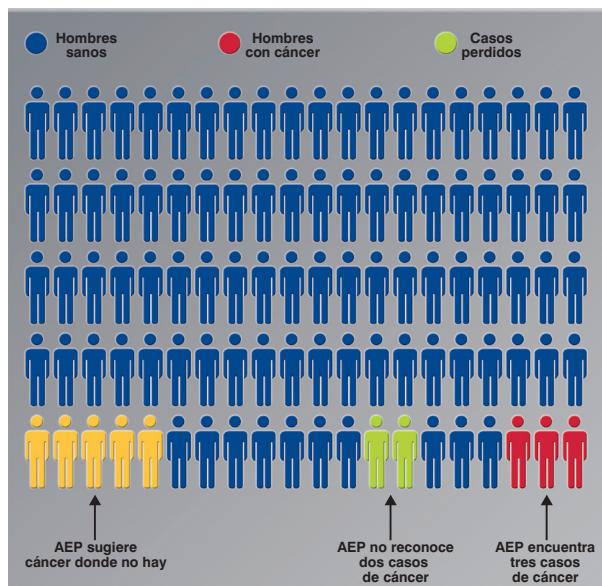


Figura 14. Evaluación de 100 hombres, mayores de 50 años, con los cuales se explica la exactitud del AEP para la detección de cáncer de próstata. Por cada 100 pacientes estudiados, 90 tienen un nivel de AEP normal. Los 10 que tienen un resultado anormal, deberán ser sometidos a otras pruebas que confirmen el diagnóstico. Al finalizar estas pruebas, se encontrará que 3 hombres (3/10) efectivamente tendrán cáncer de próstata (verdaderos positivos). Los otros 7 continuarán siendo monitoreados; de ellos 2 (2/7) desarrollarán el cáncer eventualmente en un futuro. Los otros 5 (5/10) no desarrollarán el cáncer (falsos positivos).

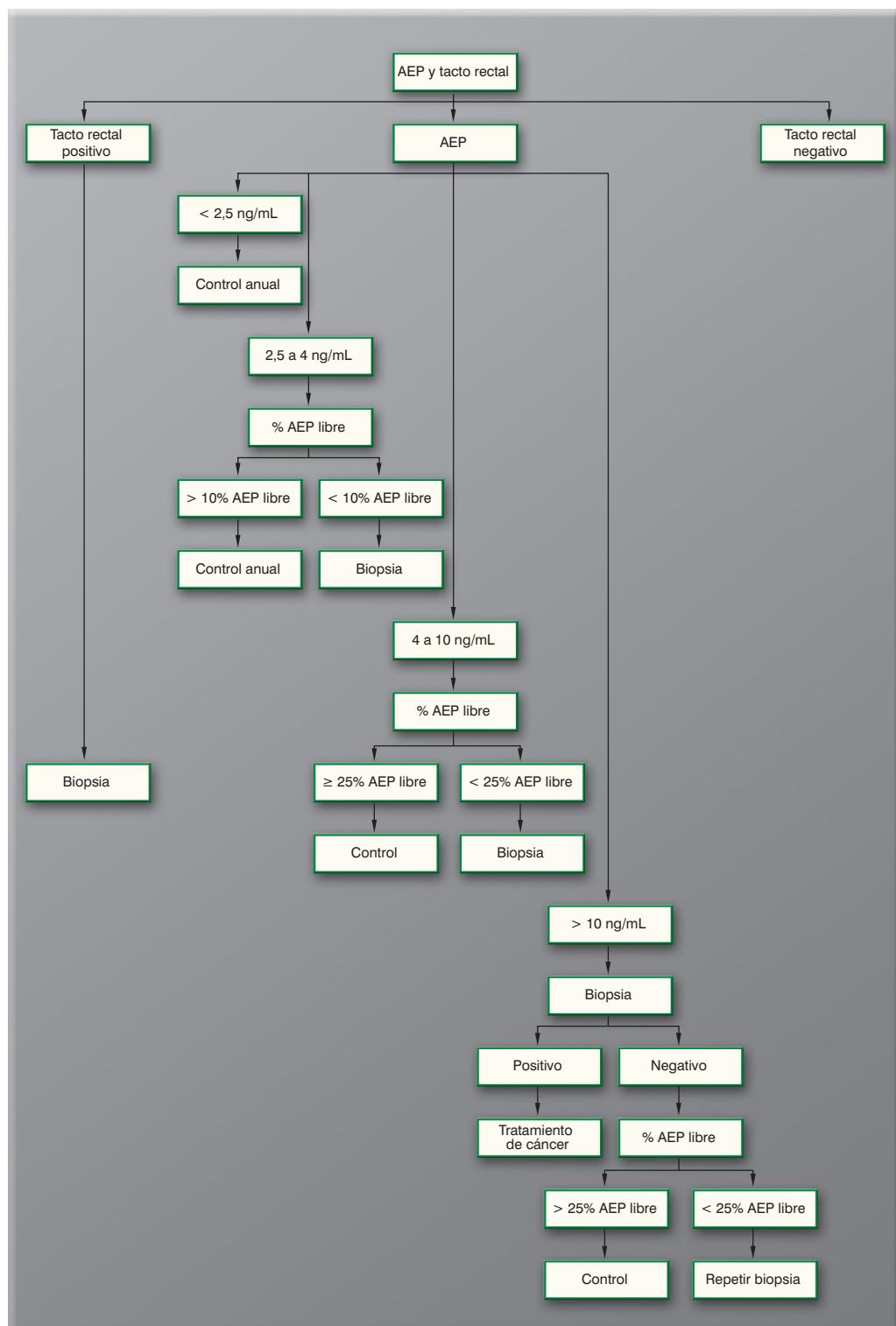


Figura 15. Algoritmo para el tamizaje del cáncer de próstata, a partir del antígeno específico de próstata y del tacto rectal.

Summary: Prostate specific antigen (PSA) is a kallikrein produced by the prostate, among several different substances, as part of its function as an organ of the reproductive system. Semen acts as a protease denaturing semenogelins, the procoagulant proteins of the semen produced by the seminal vesicle, which similar to other proteases has a potential ability to metabolize any protein. For such destructive function, nature takes precaution so that PSA-protease has a short activity period and a series of fractions that are cleaved or inactive, which explain altogether the percentage of the total antigen and the free fraction in the plasma of the healthy and the sick patient. PSA can be plainly divided in two: active and non-active or free and complexed. In the future there is hope that the PSA as a tumor marker can increase its sensitivity and specificity by the use of fractions that relate mathematically, as well as by the use of other antigens such as the prostate specific membrane antigen (PSMA) and the prostate stem cell antigen (PSCA).

Key words: Specific prostate antigen, prostate, cancer.

Uribe-Arcila JF. The biochemistry of the prostate specific antigen (PSA) and its fractions. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14:153-166.

Module 10 (Oncology), number 10. Editora Médica Colombiana S.A., 2008©.

Received on January 14, 2008; accepted on February 29, 2008.

Referencias

1. Canto EI, Shariat SF, Slawin KM. Biochemical staging of prostate cancer. *Urol Clin North Am* 2003; 30: 263-277.
2. Chelladurai AJ, Gunendran T, Nicholson C, Manktelow SS, Blades RA. The economic and workload impact of 'backdoor' prostate-specific antigen screening on the UK National Health Service: a single-centre experience. *BJU Int* 2008; 101: 289-292.v
3. Descazeaud A, Peyromaure M, Salin A, Amselem-Ouazana D, Flam T, Viellefond A, et al. Predictive Factors for Progression in Patients with Clinical Stage T1a Prostate Cancer in the PSA Era. *Eur Urol* 2008; 53: 355-362.
4. Vaughan D, Schlegel P, Perlmutter A. Clinicians manual on prostate specific antigen. 1998; Current Medical Inc, Philadelphia, USA.
5. Ablin RJ, Bronson P, Soanes WA. Immunoglobulin G: identification of rabbit IgG in coagulo-prostatic fluid by gel diffusion precipitation & immunoelectrophoresis. *Indian J Exp Biol* 1970; 8: 185-186.
6. Hara M, Inoue T, Koyanagi Y, Koga K. [Thin-layer chromatography of the antigenic component specific to human seminal plasma "-seminoprotein". Forensic immunological study of body fluids and secretions. XI]. *Nihon Hoigaku Zasshi* 1972; 26: 85-88.
7. Li TS, Beling CG. Isolation and characterization of two specific antigens of human seminal plasma. *Fertil Steril* 1973; 24: 134-144.
8. Sensabaugh GF. Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J Forensic Sci* 1978; 23: 106-115.
9. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 1979; 17: 159-163.
10. Papsidero LD, Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. A prostate antigen in sera of prostatic cancer patients. *Cancer Res* 1980; 40: 2428-2432.
11. Kuriyama M, Wang MC, Papsidero LD, Killian CS, Shimano T, Valenzuela L, et al. Quantitation of prostate-specific antigen in serum by a sensitive enzyme immunoassay. *Cancer Res* 1980; 40: 4658-4662.
12. Schedlich LJ, Bennetts BH, Morris BJ. Primary structure of a human glandular kallikrein gene. *DNA* 1987; 6: 429-437.
13. Reiter RE, Gu Z, Watabe T, Thomas G, Szigeti K, Davis E, et al. Prostate stem cell antigen: a cell surface marker overexpressed in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 1735-1740.

14. **Bhoola KD, Figueroa CD, Worthy K.** Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. *Pharmacol Rev* 1992; 44: 1-80.
15. **Yousef GM, Diamandis EP.** The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocr Rev* 2001; 22: 184-204.
16. **Veltri R, Rodríguez R.** Molecular biology, endocrinology and physiology of the prostate and seminal vesicles. In: *Urología*, Campbell-Walsh.9a ed., 2007 Saunders, 2677-2725.
17. **Young CY, Andrews PE, Montgomery BT, Tindall DJ.** Tissue-specific and hormonal regulation of human prostate-specific glandular kallikrein. *Biochemistry* 1992; 31: 818-824.
18. **Darson MF, Pacelli A, Roche P, Rittenhouse HG, Wolfert RL, Young CY, et al.** Human glandular kallikrein 2 (hK2) expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma: a novel prostate cancer marker. *Urology* 1997; 49: 857-862.
19. **Deperthes D, Marceau F, Frenette G, Lazure C, Tremblay RR, Dube JY.** Human kallikrein hK2 has low kininogenase activity while prostate-specific antigen (hK3) has none. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1343: 102-106.
20. **Rittenhouse HG, Finlay JA, Mikolajczyk SD, Partin AW.** Human Kallikrein 2 (hK2) and prostate-specific antigen (PSA): two closely related, but distinct, kallikreins in the prostate. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1998; 35: 275-368.
21. **Stephan C, Jung K, Lein M, Sinha P, Schnorr D, Loening SA.** Molecular forms of prostate-specific antigen and human kallikrein 2 as promising tools for early diagnosis of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 1133-1147.
22. **Magklara A, Scorilas A, Stephan C, Kristiansen GO, Hauptmann S, Jung K, et al.** Decreased concentrations of prostate-specific antigen and human glandular kallikrein 2 in malignant versus nonmalignant prostatic tissue. *Urology* 2000; 56: 527-532.
23. **Jung K, Brux B, Lein M, Rudolph B, Kristiansen G, Hauptmann S, et al.** Molecular forms of prostate-specific antigen in malignant and benign prostatic tissue: biochemical and diagnostic implications. *Clin Chem* 2000; 46: 47-54.
24. **Stenman UH, Abrahamsson PA, Aus G, Lilja H, Bangma C, Hamdy FC, et al.** Prognostic value of serum markers for prostate cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2005; 64-81.
25. **Lilja H, Oldbring J, Rannevik G, Laurell CB.** Seminal vesicle-secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen. *J Clin Invest* 1987; 80: 281-285.
26. **Oesterling JE.** Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol* 1991; 145: 907-923.
27. **Bangma CH, Wildhagen MF, Yurdakul G, Schröder FH, Blijenberg BG.** The value of (-7, -5)prostate-specific antigen and human kallikrein-2 as serum markers for grading prostate cancer. *BJU Int* 2004; 93: 720-724.
28. **Khan AR, James MN.** Molecular mechanisms for the conversion of zymogens to active proteolytic enzymes. *Protein Sci* 1998; 7: 815-836.
29. **Kumar A, Mikolajczyk SD, Goel AS, Millar LS, Saeidi MS.** Expression of pro form of prostate-specific antigen by mammalian cells and its conversion to mature, active form by human kallikrein 2. *Cancer Res* 1997; 57: 3111-3114.
30. **Lovgren J, Rajakoski K, Karp M, Lundwall a, Lilja H.** Activation of the zymogen form of prostate-specific antigen by human glandular kallikrein 2. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 238: 549-555.
31. **Wang TJ, Slawin KM, Rittenhouse HG, Millar LS, Mikolajczyk SD.** Benign prostatic hyperplasia-associated prostate-specific antigen (BPSA) shows unique immunoreactivity with anti-PSA monoclonal antibodies. *Eur J Biochem* 2000; 267: 4040-4045.
32. **Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ, Rittenhouse HG, Wolfert RL, Marks LS, et al.** "BPSA," a specific molecular form of free prostate-specific antigen, is found predominantly in the transition zone of patients with nodular benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2000; 55: 41-45.
33. **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: 86-91.
34. **Balk SP, Ko YJ, Bubley GJ.** Biology of prostate-specific antigen. *J Clin Oncol* 2003; 21: 383-391.
35. **Roddam AW, Duffy MJ, Hamdy FC, Ward AM, Patnick J, Price CP, et al.** Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2-10 ng/ml: systematic review and meta-analysis. *Eur Urol* 2005; 48: 386-399; discussion 398-389.
36. **Stenman UH, Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuukkanen K, Alfthan O.** A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 222-226.
37. **Huber PR, Mattarelli G, Strittmatter B, van Steenbrugge GJ, Schmid HP, Maurer A.** In vivo and in

- vitro complex formation of prostate specific antigen with alpha 1-anti-chymotrypsin. *Prostate* 1995; 27: 166-175.
38. **Kuriyama M, Ueno K, Uno H, Kawada Y, Akimoto S, Noda M, et al.** Clinical evaluation of serum prostate-specific antigen-alpha1-antichymotrypsin complex values in diagnosis of prostate cancer: a cooperative study. *Int J Urol* 1998; 5: 48-54.
39. **Peter J, Unverzagt C, Hoesel W.** Analysis of free prostate-specific antigen (PSA) after chemical release from the complex with alpha(1)-antichymotrypsin (PSA-ACT). *Clin Chem* 2000; 46: 474-482.
40. **Wesseling S, Stephan C, Semjonow A, Lein M, Brux B, Sinha P, et al.** Determination of non-alpha1-antichymotrypsin-complexed prostate-specific antigen as an indirect measurement of free prostate-specific antigen: analytical performance and diagnostic accuracy. *Clin Chem* 2003; 49: 887-894.
41. **Killian CS, Corral DA, Kawinski E, Constantine RI.** Mitogenic response of osteoblast cells to prostate-specific antigen suggests an activation of latent TGF-beta and a proteolytic modulation of cell adhesion receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 192: 940-947.
42. **Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Dodds KM, Coplen DE, Yuan JJ, et al.** Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 1991; 324: 1156-1161.
43. **Labrie F, Dupont A, Suburu R, Cusan L, Tremblay M, Gomez JL, et al.** Serum prostate specific antigen as pre-screening test for prostate cancer. *J Urol* 1992; 147: 846-851; discussion 851-842.
44. **Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Basler JW.** Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *Jama* 1993; 270: 948-954.
45. **Campuzano-Maya G.** Papel del antígeno específico de próstata en el diagnóstico precoz del cáncer de próstata. *Laboratorio al Día* 1995; 5: 221-236.
46. **Catalona WJ, Partin AW, Finlay JA, Chan DW, Rittenhouse HG, Wolfert RL, et al.** Use of percentage of free prostate-specific antigen to identify men at high risk of prostate cancer when PSA levels are 2.51 to 4 ng/mL and digital rectal examination is not suspicious for prostate cancer: an alternative model. *Urology* 1999; 54: 220-224.
47. **De Koning HJ, Auvinen A, Berenguer Sanchez A, Calais da Silva F, Ciatto S, Denis L, et al.** Large-scale randomized prostate cancer screening trials: program performances in the European Randomized Screening for Prostate Cancer trial and the Prostate, Lung, Colorectal and Ovary cancer trial. *Int J Cancer* 2002; 97: 237-244.
48. **Campuzano-Maya G.** Utilidad del antígeno específico de próstata en el tamizaje del cáncer de próstata. *Medicina & Laboratorio* 2000; 9: 511-538.
49. **Parkin DM, Bray FI, Devesa SS.** Cancer burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer* 2001; 37 Suppl 8: S4-66.
50. **Partin AW, Yoo J, Carter HB, Pearson JD, Chan DW, Epstein JI, et al.** The use of prostate specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage in men with localized prostate cancer. *J Urol* 1993; 150: 110-114.
51. **Canto EI, Shariat SF, Slawin KM.** Molecular diagnosis of prostate cancer. *Curr Urol Rep* 2004; 5: 203-211.
52. **Kwiatkowski MK, Recker F, Piironen T, Pettersson K, Otto T, Wernli M, et al.** In prostatitis patients the ratio of human glandular kallikrein to free PSA improves the discrimination between prostate cancer and benign hyperplasia within the diagnostic "gray zone" of total PSA 4 to 10 ng/mL. *Urology* 1998; 52: 360-365.
53. **Saedi MS, Hill TM, Kuus-Reichel K, Kumar A, Payne J, Mikolajczyk SD, et al.** The precursor form of the human kallikrein 2, a kallikrein homologous to prostate-specific antigen, is present in human sera and is increased in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Clin Chem* 1998; 44: 2115-2119.
54. **Israeli RS, Powell CT, Corr JG, Fair WR, Heston WD.** Expression of the prostate-specific membrane antigen. *Cancer Res* 1994; 54: 1807-1811.
55. **Silver DA, Pellicer I, Fair WR, Heston WD, Cordon-Cardo C.** Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 81-85.
56. **Wolf P, Alt K, Buhler P, Katzenwadel A, Wetterauer U, Tacke M, et al.** Anti-PSMA immunotoxin as novel treatment for prostate cancer? High and specific antitumor activity on human prostate xenograft tumors in SCID mice. *Prostate* 2008; 68: 129-138.
57. **Gu Z, Thomas G, Yamashiro J, Shintaku IP, Dorey F, Raitano A, et al.** Prostate stem cell antigen (PSCA) expression increases with high gleason score, advanced stage and bone metastasis in prostate cancer. *Oncogene* 2000; 19: 1288-1296.
58. **Lam JS, Yamashiro J, Shintaku IP, Vessella RL, Jenkins RB, Horvath S, et al.** Prostate stem cell antigen is overexpressed in prostate cancer metastases. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2591-2596.

59. **Zhigang Z, Wenlu S.** Prostate stem cell antigen (PSCA) mRNA expression in prostatic intraepithelial neoplasia: implications for the development of prostate cancer. *Prostate* 2007; 67: 1143-1151.
60. **Moore ML, Teitel MA, Kim Y, Watabe T, Reiter RE, Witte ON, et al.** Deletion of PSCA increases metastasis of TRAMP-Induced prostate tumors without altering primary tumor formation. *Prostate* 2008; 68: 139-151.
61. **García-Hernández Mde L, Gray A, Hubby B, Klinger OJ, Kast WM.** Prostate stem cell antigen vaccination induces a long-term protective immune response against prostate cancer in the absence of autoimmunity. *Cancer Res* 2008; 68: 861-869.
62. **Beachy SH, Repasky EA.** Using extracellular biomarkers for monitoring efficacy of therapeutics in cancer patients: an update. *Cancer Immunol Immunother* 2008;



Islas Galápagos, Ecuador. 2008
Carlos A. Lozano M.