
ANTÍGENO ESPECÍFICO DA PRÓSTATA EM FLUIDOS BIOLÓGICOS: APLICAÇÃO FORENSE PROSTATE-SPECIFIC ANTIGEN IN BIOLOGICS FLUIDS: FORENSIC APLICATION

SAWAYA, M. C. T.¹; ROLIM, M. R. S.¹

1. Instituto Médico Legal de Curitiba-Paraná - e-mail: resaway@yahoo.com.br

Recebido em: 06/2004 Aprovado em: 7/2004

RESUMO

Antígeno específico da próstata (PSA) é uma glicoproteína produzida pelo tecido da próstata e secretado no plasma seminal em níveis elevados. O PSA é amplamente usado como um biomarcador do câncer e como um marcador forense. O PSA foi originalmente descrito como um Antígeno específico da próstata. Posteriormente, o PSA foi observado em uma variedade de fluidos extraprostáticos. Nesta revisão, sintetizou-se sua história evolutiva do PSA e avaliou-se informações disponíveis sobre níveis do PSA em fluidos não-prostático. Este artigo aponta discutir se estes níveis podem danificar a identificação forense do semen.

Palavras chave: PSA; Antígeno específico da próstata; ciência forense; fluidos não-prostático.

ABSTRACT

Prostate-specific antigen (PSA) is a glycoprotein produced by prostatic tissue and secreted into the seminal plasma at high levels. PSA is widely used as a cancer biomarker and as a forensic marker. Originally PSA was described as a prostate-specific antigen. Later on PSA was observed in a variety of extraprostatic fluids. In this review we summarize its PSA evolutionary history and available informations about levels of PSA in nonprostatic fluids. This article aims to discuss if these levels could impair the forensic identification of semen.

Key words: PSA; prostatic specific antigen; forensic science; nonprostatic fluids.

1 INTRODUÇÃO

A PSA (*Prostatic Specific Antigen*) é uma glicoproteína de cadeia simples, com PM=33-34 kDa e expressa em altos níveis no epitélio da próstata humana (WANG, 1979) sob o controle de andrógenos e progestinas (DIAMANDIS, 1994).

Após várias pesquisas desenvolvidas por cientistas forenses em torno de componentes específicos do esperma, a PSA foi descoberta através do isolamento e da caracterização de proteínas do plasma seminal e recebeu várias denominações. Li e Schulman (1971) descreveram uma proteína com PM=31 kDa que denominaram **E₁**, a qual parecia ser específica do esperma. Sensabaugh (1978), caracterizou uma proteína do plasma seminal, que denominou **p30**, com PM=30 kDa e que apresentava reatividade com o anti-soro preparado contra a proteína E₁, sugerindo que tinham alguns determinantes imunológicos em comum. Em 1979, Wang descreveu uma glicoproteína com PM=33-34 kDa como sendo específica da glândula prostática, que denominou **PSA** (antígeno prostático específico). Wang et al (1982), Graves et al (1990), Sensabaugh e Blake (1990) e Johnson e Kotowski (1993) sugeriram que a **PSA** era bioquimicamente idêntica à **p30**.

A PSA (ou p30) faz parte da família das calicreínas, que são proteases do soro com diversas funções fisiológicas. Elas são representadas por uma família de genes, composta por quinze membros, localizados continuamente ao longo do cromossomo 19q13.4. O gene KLK-3 codifica a protease PSA, também chamada hK3 - calicreína glandular humana 3 (YOUSEF; DIAMANDIS, 2003).

O nome PSA reflete a idéia inicial de que a expressão da proteína era restrita à próstata. Pensava-se, até recentemente, que a PSA era produzida exclusivamente pelas células epiteliais

da próstata, mas, a partir do emprego de metodologias mais sensíveis e da realização de estudos imunohistoquímicos, ficou evidente a presença desta proteína em uma variedade de tipos de tumores, tecidos sadios e fluidos biológicos femininos e masculinos, (DIAMANDIS; YU, 1997), sugerindo que ela possa ser funcional também fora da próstata.

Uma das principais funções prostáticas da PSA é liquefazer o coágulo seminal após a ejaculação, através da fragmentação e solubilização das proteínas seminogelina e fibronectina (LILJA et al, 1987)

Os níveis de PSA aumentam no soro de indivíduos com patologias prostáticas e sua dosagem está sendo largamente utilizada como um marcador prostático tumoral há mais de dez anos, auxiliando na detecção de câncer de próstata em estágios iniciais, avaliação da progressão da doença e para estimar a resposta terapêutica (VIHKO et al, 1990; OESTERLING, 1991; ARMBRUSTER, 1993).

A PSA pode ser encontrada em duas formas moleculares no soro, livre e complexada (LILJA et al, 1991, STENMAN et al 1991, MALM; LILJA, 1995): 10-30% de PSA total é livre, não ligada a proteínas do soro, 70-90% de PSA total é ligada a α_1 -antiquimiotripsina (ACT) e a uma pequena quantidade de α_1 -antitripsina e uma pequena porção não mensurável pelos métodos habituais circula complexada com α_2 -macroglobulina.

A presença de PSA no esperma em concentrações milhões de vezes maiores que no soro de homens a caracterizou como um marcador valioso, já testado e validado pela comunidade forense, para a identificação de fluido seminal em evidências criminais deixadas por indivíduos vasectomizados, azoospérmicos ou oligozoospérmicos (SENSABAUGH, 1978; BAECHEL, 1983; POYNITS; MARTIN, 1984; JOHNSON; KOTOWSKI, 1993; HOCHMEISTER et al, 1999;)

Com os recentes relatos da presença da PSA no soro de homens e em outros fluidos extraprostáticos, como no soro de mulheres e crianças, urina de mulheres, líquido amniótico, leite materno, saliva e fluido cerebrospinal, é interessante que os níveis de PSA encontrados nestes fluidos sejam relacionados com os níveis de PSA encontrados no líquido seminal. O propósito deste trabalho é relatar os resultados de pesquisas realizadas por diversos autores nestes fluidos e avaliar se podem interferir na constatação da presença de líquido seminal em materiais periciados.

2 PSA EM FLUIDOS BIOLÓGICOS

O isolamento e a purificação da PSA no esperma humano (SENSABAUGH, 1978) tornou possível o desenvolvimento de métodos imunológicos para a sua detecção.

De acordo com a descoberta e evolução desses métodos que, inicialmente, tinham uma sensibilidade de 5.000 a 1 ng/ml, vários pesquisadores forenses testaram, desde 1977, diversos fluidos biológicos em relação à PSA e concluíram que a PSA era específica do esperma (SENSABAUGH, 1977; POYNTZ; MARTIN, 1983; STUBBINGS; NEWALL, 1985; JOHNSON; KOTOWSKI, 1993).

Atualmente, a determinação quantitativa da PSA é realizada em equipamentos automatizados e totalmente computadorizados que utilizam métodos imunológicos, como enzimaímunoensaios, quimioluminescentes imunoenzimáticos e imunorradiométricos. Estes métodos possuem uma sensibilidade de pelo menos 0,001 ng/ml, o que possibilitou, a partir de 1994, a detecção da PSA em vários fluidos biológicos extraprostáticos (Tabela 1), como descrito a seguir.

Breul et al (1997) investigaram a concentração de PSA em urina de 20 mulheres com ingestão contínua de testosterona e 20 mulheres que não estavam ingerindo testosterona (controles). Somente cinco dos controles apresentaram PSA entre 0,2-2 ng/ml e o grupo sob ação de androgênicos teve níveis entre 0,2 ng/ml e 12,00 ng/ml. Mannello et al (1998) analisaram a urina de 50 mulheres que tomavam contraceptivo e de 50 mulheres que não estavam ingerindo contraceptivo. Os resultados da PSA variaram, respectivamente, de 0,09-1,239 ng/ml e de 0,02-0,15 ng/ml. Schmidt et al (2001) analisaram amostras de urina de 217 mulheres, cujas dosagens variaram de 0,12 a 1,06 ng/ml. Obiezu et al (2001) dosaram PSA urinário de 35 mulheres com síndrome de ovário policístico e encontraram valores que variaram de 0,001-10,29 ng/ml e 41 controles sem essa síndrome, com valores até 0,046 ng/ml.

Filella et al (1996) verificaram que somente 14% do soro de 252 mulheres apresentaram valores positivos para PSA, e que os mesmos não ultrapassaram 0,5 ng/ml. Melegos et al (1997a) analisaram o soro de 22 mulheres com hirsutismo, encontrando valores de PSA de 0-0,579 ng/ml e de 50 mulheres saudáveis que apresentaram PSA de 0-0,019 ng/ml. Zarghami et al (1997) estudaram a variação de PSA no soro de 14 mulheres saudáveis durante o ciclo menstrual e obtiveram resultados de 0,002-0,004 ng/ml. Aksoy et al (2002) também investigaram a mudança de concentração de PSA no soro e saliva de 30 mulheres saudáveis durante o ciclo menstrual e encontraram variação de 0,007-0,035 ng/ml para o soro e de 0,007-0,029 ng/ml para a saliva. Manello et al (1998) dosaram a PSA no soro de 100 mulheres, metade das quais tomava contraceptivo, e encontraram níveis inferiores a 0,06 ng/ml. Antoniou et al (2004) verificaram a variação de níveis de PSA no soro de 205 crianças até 12 anos e encontraram para 123 meninos valores máximos de 2,768 ng/ml e para 82 meninas valores de até 0,287 ng/ml. Black et al (2000) analisaram o soro de 118 pacientes com câncer de mama e de 99 controles e encontraram valores variando, respectivamente, de 0-8,153 ng/ml e 0-0,055ng/ml.

Yu et al (1995) analisaram leite materno de 38 mulheres, obtendo valores positivos para PSA em 34 amostras, com 5 amostras variando de 10 a 350 ng/ml e nas 29 amostras restantes a variação ficou entre 0,01-10 ng/ml e sugeriram que a concentração de PSA no leite diminui em relação ao tempo pós-parto. Wolff et al (1999) encontraram níveis de PSA de 0,003-1,22 ng/ml no líquido amniótico de 48 mulheres grávidas e concluíram que a fonte do líquido amniótico é ainda desconhecida e que a presença de PSA no líquido amniótico pode indicar seu papel biológico no crescimento e desenvolvimento fetal. Magklara et al (1999) analisaram leite de 44 mulheres, obtendo valores positivos para PSA em 39 amostras com valor médio de 0,084 ng/ml, 4 amostras apresentaram altas concentrações com valores variando de 11,8 a 111 ng/ml. Analisaram, também, 116 amostras de líquido amniótico, com resultados de 0,001-2 ng/ml.

Melegos et al (1997b) investigaram a presença de PSA em 299 amostras de fluido cerebrospinal coletadas de homens e mulheres e concluíram que a PSA pode ser produzida pelo tecido cerebral e encontraram um valor máximo de 0,382 ng/ml.

A presença da PSA em secreções vaginais foi pesquisada em swabs vaginais livres de esperma por Lawson et al (1998) e Macaluso (1999), coletados, respectivamente, de 20 mulheres com variação entre 0-1,25 ng/ml e de 40 mulheres com variação entre 0,43-0,88 ng/ml.

TABELA 1. Níveis De PSA em Fluidos Extraprostáticos

FLUIDO	AUTOR	GRUPOS ESTUDADOS	PSA (ng/ml)
Soro de Mulheres	Filella et al (1996)	—————	até 0,5
	Melegos et al (1997)	controles	0-0,019
		com hirsutismo	0-0,579
	Zarghami et al (1997)	durante o ciclo menstrual	0,002-0,004
	Aksoy et al (2002)	durante o ciclo menstrual	0,007-0,035
	Manello et al (1998)	ingerindo contraceptivo	<0,06
	Black et al (2000)	controles	0-0,055
com câncer de mama		0-8,153	
Soro de Crianças até 12 anos	Antoniou et al (2004)	meninos	até 2,768
		meninas	0,287
Urina de mulheres	Breul et al (1997)	controles	0,2-2,00
		ingerindo testosterona	0,2-12,00
	Mannello et al (1998)	controles	0,02-0,15
		com contraceptivo oral	0,09-1,239
	Schmidt (2001)	—————	0,12-1,06
	Obiezu et al (2001)	controles	0,001-0,046
síndrome de ovário policístico		0,001-10,29	
Saliva	Aksoy et al (2002)	durante o ciclo menstrual	0,007-0,029
Leite Materno	Yu et al (1995)	—————	<0,01-350
	Magklara et al (1999)	—————	0-111
Líquido amniótico	Wolff et al 1999	—————	0,003-1,22
	Magklara et 1999	—————	0,01-2,00
Líquido cefalorraquidiano	Melegos et al (1997)	desordens neurológicas	até 0,382
Secreção vaginal	Lawson et al (1998)	—————	0-1,25
	Macaluso et al (1999)	—————	0,43-0,88

Vários autores dosaram a PSA no esperma. A Tabela 2 relaciona os níveis encontrados.

TABELA 2. Níveis de PSA no fluido seminal

AUTOR	PACIENTES ESTUDADOS (n)	PSA (ng/ml)variação	PSA (ng/ml)média
Senkul et al (2004)	18	0,004 - 2,72 x 10 ⁶	0,7+-0,39x10 ⁶
Shieferstein (1999)	113	0 - 1,8 x 10 ⁶	0,4+-0,3x10 ⁶
Lynne et al (1999)	43	0,009 - 3,0 x 10 ⁶	1,29+-0,15x10 ⁶
Wang et al (1998)	22	0,39 - 3 x 10 ⁶	1,29x+- 0.68x10 ⁶

3 CONCLUSÃO

Em perícias que envolvem materiais oriundos de crimes sexuais, onde o corpo de delito é o esperma, não podemos relegar o possível envolvimento de indivíduos oligozoospermicos, azoospermicos e vasectomizados. A determinação da PSA, considerando seu alto nível no esperma, é uma ferramenta extremamente valiosa nesses casos, já que a pesquisa microscópica para espermatozoides resultará negativa.

Em vestígios criminais, fluidos biológicos são depositados diretamente na vítima, onde será colhido com um swab, ou em diversos tipos de suportes, sob a forma de manchas. Em ambos os casos, o material deverá ser macerado e extraído. Na obtenção destes extratos, devemos considerar dois fatores já bem estudados e determinados (GARTSIDE et al 2003; LAUX; CUSTIS, 2003): a diluição do fluido no líquido de extração e a eficiência desta extração. Estes fatores são relevantes quando analisamos os níveis de PSA encontrados nos diversas fluidos biológicos.

Os métodos já padronizados (SIMICH, 1999; HOCHMEISTER, 1999; LAUX; CUSTIS, 2003; SAWAYA; ROLIM, 2003) e aplicados na extração de *swabs* ou manchas, requerem um volume de solução de extração suficiente para a determinação da PSA e das provas citológicas, sorológicas e moleculares. Considerando este fator de diluição, a eficiência de extração é estimada em 1% (GARTSIDE et al 2003), o que significa que somente 1% da PSA contida em uma mancha ou *swab* é capaz de ser extraída.

Os fluidos normalmente contidos em manchas coletadas em perícias de crimes sexuais, além de esperma, são sangue, saliva, urina e secreção vaginal. Verificando os valores de PSA encontrados nestes fluidos, sob várias circunstâncias e analisados sem diluir (ver tabela 1), observamos que o maior valor relatado foi de 12 ng/ml, encontrado em urina de mulheres que ingeriam testosterona. Considerando a eficiência de extração, o valor obtido em uma mancha será de 0,12 ng/ml, que é extremamente baixo. Em relação aos níveis detectados em leite materno e considerando este mesmo fator, o valor máximo da PSA ficará em torno de 3,5 ng/ml.

Estas constatações são corroboradas pelas pesquisas de vários autores forenses que testaram diversas manchas de fluidos biológicos, como sangue e saliva de homens e mulheres, secreção vaginal, urina de mulheres, material fecal e leite materno e não encontraram resultados positivos para nenhuma delas. Os métodos utilizados para a detecção da PSA nestes testes, com sensibilidade de 4 ng/ml, foram os imunocromatográficos, qualitativos e semiquantitativos, realizados em membranas. Isto significa que todos estes fluidos contidos em manchas apresentaram níveis de PSA menores que 4ng/ml (HOCHMEISTER, 1999; KEARSEY et al, 2001; SATO et al, 2002; LAUX et al, 2003; KHALDI et al, 2004). Por outro lado, como a concentração de PSA em esperma fica em torno de 1×10^6 ng/ml, o valor de PSA encontrado em uma mancha será extremamente alto, aproximadamente 10.000 ng/ml.

Os métodos quantitativos realizados em equipamentos computadorizados, com sensibilidade de até 0,001 ng/ml, já foram também validados para testes forenses (SIMICH, 1999) e devem ser aplicados considerando-se um valor mínimo de positividade para esperma de 4 ng/ml .

Diante destes relatos, concluímos que os níveis de PSA existentes nos fluidos extraprostáticos não interferem na investigação de esperma em perícias criminais e que os cientistas forenses podem, desse modo, determinar com confiança a presença de esperma em manchas e *swabs*, através de testes de PSA.

REFERÊNCIAS

- AKSOY, H.; AKÇAY, F.; ZÜHAL UMUDUM, Z.; YILDIRIM, A. K.; MEMISOGULLARI, R. Changes of PSA Concentrations in Serum and Saliva of Healthy Women during the Menstrual Cycle. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, v. 32, p. 31-36, 2002.
- ANTONIOU, A.; PAPANASTASIOU, P.; STEPHANIDIS, A.; DIAMANDIS, E.; ANDROULAKAKIS, P. A. Assessment of serum prostate specific antigen in childhood. *BJU Int.*, v. 93, n. 6, p. 838-840, 2004.
- ARMBRUSTER, D. A. Prostate-specific antigen: biochemistry, analytical methods, and clinical application. *Clin Chem.*, v. 39, n. 2, p. 181-95, 1993.
- BAECHTEL, S. F. Immunological Methods for Seminal Fluid Identification. *Proceedings of a Forensic Science Symposium on the Analysis of Sexual Assault Evidence - FBI*, July 6-8, p. 85-87, 1983.
- BLACK, M. H.; GIAI, M.; PONZONE, R.; SISMONDI, P.; YU, H.; DIAMANDIS, H. P. Serum Total and Free Prostate-specific Antigen for Breast Cancer Diagnosis in Women. *Clinical Cancer Research*, v. 6, p. 467-473, 2000.
- BREUL, J.; PICKL, U.; SCHAFF, J. Extraprostatic production of prostate specific antigen is under hormonal control. *J.*

- Urol.**, v. 157, n. 1, p. 212-213, 1997.
- DIAMANDIS, E. P.; YU, H.; SUTHERLAND, D. J. Detection of prostate-specific antigen immunoreactivity in breast tumors. **Breast Cancer Res Treat.**, v. 32, n. 3, p. 301-310, 1994.
- DIAMANDIS, E. P.; YU, H. Nonprostatic sources of prostate-specific antigen. **Urol. Clin. North Am.**, v. 24, n. 2, p. 275-282, 1997.
- FILELLA, X.; MOLINA, R.; ALCOVER, J.; MENENDEZ, V.; GIMENEZ, N.; JO, J.; CARRETERO, P.; BALLESTA, A. M. Prostate-specific antigen detection by ultrasensitive assay in samples from women. **Prostate**, v.29, n. 5, p. 311-316, 1996.
- GARTSIDE, B. O.; BREWER, K. J.; STRONG, C. L. Estimation of Prostate-Specific Antigen (PSA) Extraction Efficiency from Forensic Samples Using the Seratec? PSA Semiquant Semiquantitative Membrane Test.** Forensic Science Communications, v. 5, n. 2, 2003.
- GRAVES, H. C.; KAMAREI, M.; STAMEY, T. A. Identity of prostate specific antigen and the semen protein P30 purified by a rapid chromatography technique. **J Urol.**, v. 144, n. 6, p. 1510-1515, 1990.
- HOCHMEISTER, M. N, *et al*, Evaluation of Prostatic-Specific Antigen (PSA) Membrane Test Assays for the Forensic Identification of Seminal Fluid. **Journal of Forensic Sciences**, v. 44, p.1057-1060, 1999.
- JOHNSON, E. D.; KOTOWSKI, T. M. Detection of Prostate Specific Antigen by ELISA. **Journal of Forensic Sciences**, vol. 38, nº2, p. 250-258, 1993.
- KEARSEY, J.; LOUIE, H.; POON, H. Validation study of the "ONESTEP ABACARD PSA TEST" kit for RCMP casework. **Canadian Society of Forensic Science**, v. 34, n. 2, 2001.
- KHALDI, N.; MIRAS, A.; BOTTI, K.; BENALI, L.; GROMB, S. Evaluation of three rapid detection methods for the forensic identification of seminal fluid in rape cases. **Journal of Forensic Sciences**, v. 49, n. 4, p. 1-5, 2004.
- LAUX, D. L.; CUSTIS, S. Forensic Detection of Semen III. Detection of PSA using membrane based tests: sensitivity issues with regards to the presence of PSA in other body fluids. Ohio Bureau of Criminal Identification. Disponível em: <<http://mafs.net/pdf/laux3.pdf>>. Acesso em: maio 2004.
- LAUX, D. L.; TAMBASCO, A. J.; BENZINGER, E. A. Forensic Detection of Semen II. Comparison of the Abacus Diagnostics *OneStep ABACard p30 Test* and the Seratec *PSA Semiquant Kit* for the Determination of the Presence of Semen in Forensic Cases. Ohio Bureau of Criminal Identification, DNA Laboratory. Disponível em: <<http://mafs.net/pdf/laux2.pdf>>. Acesso em: maio 2004.
- LAWSON, M.L.; MACULUSO, M.; BLOOM, A.; HORTIN, G.; HAMMOND, K.R.; BLACKWELL R. Objective markers of condom failure. **Sex Transm Dis.**, v. 25, n. 8, p. 427-432, 1998.
- LI, T. S.; SHULMAN, S. Immunoelectrophoretic analysis of human seminal plasma fractions after fractionation by various methods. **Int J Fertil.**, v. 16, n. 2, p. 87-100, 1971.
- LILJA, H.; OLDBRING, J.; RANNEVIK, G.; LAURELL, C. B. Seminal vesicle-secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen. **J Clin Invest.**, v. 80, n. 2, p. 281-285, 1987.
- LILJA, H.; CHRISTENSSON, A.; DAHLEN, U.; MATIKAINEN, M. T.; NILSSON, O.; PETTERSSON, K.; LOVGREN, T. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. **Clin Chem.**, v. 37, n. 9, p. 1618-1625, 1991.
- LYNNE, C. M.; ABALLA, T.C.; WANG, T.J; RITTENHOUSE, H.G.; FERRELL, S. M.; BRACKETT, N. L. Serum and semen prostate specific antigen concentrations are different in young spinal cord injured men compared to normal controls. **J Urol.**, v. 162, n. 1, p. 89-91, 1999.
- MACALUSO M.; LAWSON, L.; AKERS, R.; VALAPPIL, T.; HAMMOND, K.; BLACKWELL, R.; HORTIN, G. Prostate-specific antigen in vaginal fluid as a biologic marker of condom failure. **Contraception**, v. 59, n. 3, p. 195-201, 1999.
- MAGKLARA, A.; SCORILAS, A.; LÓPEZ-OTÍN, C.; VIZOSO, F.; ALVARO RUIBAL, A.; DIAMANDIS, E. P. Human Glandular Kallikrein in Breast Milk, Amniotic Fluid, and Breast Cyst Fluid. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 10, p. 1774-1780, 1999.
- MALM, J.; LILJA, H. Biochemistry of prostate specific antigen, PSA. **Scand J Clin Lab Invest Suppl.**, v. 221, p. 15-22, 1995.
- MANNELLO, F.; CONDEMI, L.; CARDINALI, A.; BIANCHI, G.; GAZZANELLI, G. High concentrations of prostate-specific antigen in urine of women receiving oral contraceptives. **Clin Chem.**, v. 44, n. 1 p. 181-183, 1998.
- MELEGOS, D. N.; YU, H.; ASHOK, M.; CHUN WANG, C.; STANCZYK, F.; DIAMANDIS, E. P. Prostate-Specific Antigen in Female Serum, a Potential New Marker of Androgen Excess **J Clin Endocrinol Metab**, v. 82, n. 3, p. 777-780, 1997a.
- MELEGOS, D.M.; FREEDEMAN M.S.; DIAMANDIS E.P. Prostate-Specific Antigen in Cerebrospinal Fluid. **Clinical Chemistry**, v. 43, p. 855, 1997b.
- OBIEZU, C. V.; SCORILAS, A.; MAGKLARA, A.; THORNTON, M. H.; WANG, C. Y.; STANCZYK, F. Z.; DIAMANDIS, E. P. Prostate-Specific Antigen and Human Glandular Kallikrein 2 Are Markedly Elevated in Urine of Patients with Polycystic Ovary Syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 4, p. 1558-1561, 2001.
- OESTERLING, J. E. Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. **J Urol.**, v. 145, n. 5, p. 907-23, 1991.
- POYNTZ, F. M.; MARTIN, P. D. Comparison of p30 and Acid Phosphatase Levels in Post-Coital Vaginal Swabs from Donor and Casework Studies. **Forensic Science International**, n. 24, p. 17-25, 1984.
- SATO, I.; SAGI, M.; ISHIWARI, A.; NISHIJIMA, H.; ITO, E.; MUKAI, T. Use of the "SIMITEST" PSA card to identify the presence of prostate-specific antigen in semen and male urine. **Forensic Sci. Int.**, v. 25, n. 127, p. 71-74, 2002.
- SAWAYA, M. C. T.; ROLIM, M. R. S. **Manual Prático de Medicina Legal no Laboratório**. Curitiba: Juruá, 2003. 150 p.
- SCHIEFERSTEIN, G. Prostate-specific antigen (PSA) in human seminal plasma. **Arch Androl.**, v. 42, n. 3, p. 193-197, 1999.

-
- SCHMIDT, S.; FRANKE, M.; LEHMANN, J.; LOCH, T.; STOCKLE, M.; WEICHERT-JACOBSEN, K. Prostate-specific antigen in female urine: a prospective study involving 217 women. **Urology**, v. 57, n. 4, p. 717-720, 2001.
- SIMICH, JOHN P., *et al*, Validation of the Use of a Commercially Available Kit for the Identification of Prostate Specific Antigen (PSA) in Semen Stains. **Journal of Forensic Sciences**, v. 44, n. 6, p.1229-1231, 1999.
- SENKUL, T.; NARIN, Y.; SEN, B.; KARADEMIR, K.; ERDEN, D. Seminal plasma prostate-specific antigen level in benign prostatic hyperplasia. **Urol. Int.**, v. 72, n. 4, p. 332-334, 2004.
- SENSABAUGH, G. F. Isolation and Characterization of a Semen-Specific Protein from Human Seminal Plasma: A Potential New Marker for Semen Identification. **Journal of Forensic Sciences**, v. 23, n. 1, p. 106-115, 1978.
- SENSABAUGH, G. F.; BLAKE, E. T. Seminal Plasma Protein p30: Simplified Purification and Evidence for Identity with Prostate Specific Antigen. **Journal of Urology**, v. 144, p. 1523-1526, 1990.
- STENMAN, U. H.; LEINONEN, J.; ALFTHAN, H.; RANNIKKO, S.; TUHKANEN, 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.**, v. 51, n. 1, p. 222-226, 1991.
- STUBBINGS, N. A.; NEWALL, P. J. An Evaluation of Gamma-Glutamyl Transpeptidase (GGT) and p30 Determination for the Identification of Semen on Postcoital Vaginal Swabs. **Journal of Forensic Sciences**, v. 30, n. 3, p. 604-614, 1985.
- VIHKO, P.; KURKELA, R.; RAMBERG, J.; PELKONEN, I.; VIHKO, R. Time-resolved immunofluorometric assay of human prostate-specific antigen. **Clin Chem.**, v. 36, n. 1, p. 92-95, 1990.
- WANG, M.C.; VALENZUELA, L. A.; MURPHY, G. P.; CHU, T. M. Purification of a human prostate specific antigen. **Invest Urol.**, v. 17, n. 2, p.159-163, 1979.
- WANG, M.C.; VALENZUELA, L. A.; MURPHY, G. P.; CHU, T. M. A simplified purification procedure for human prostate antigen. **Oncology**, v. 39, n. 1, p. 1-5, 1982.
- WANG, T. J.; RITTENHOUSE, H. G.; WOLFERT, R. L.; LYNNE, C. M.; BRACKETT, N. L.** PSA Concentrations in Seminal Plasma. **Clinical Chemistry**, v. 44, p. 895-896, 1998.
- WOLFF, J. M.; HEYL, W.; BORCHERS, H.; BREHMER, B. J.R.; RATH, W.; JAKSE, G. Detection of prostate-specific antigen immunoreactivity in amniotic fluid. **Urol Int.**, v. 62, n. 3, p. 139-142, 1999.
- YOUSEF, G. M.; DIAMANDIS, E.P. An overview of the kallikrein gene families in humans and other species: emerging candidate tumour markers. **Clin Biochem.**, v. 36, n. 6, p. 443-452, 2003.
- YU, H.; DIAMANDIS, E. P. Prostate-specific antigen in milk of lactating women. **Clin. Chem.**, v. 41, n. 1, p. 54-58, 1995.
- ZARGHAMI, N.; GRASS, L.; SAUTER, E. R.; DIAMANDIS, E. P. Prostate-specific antigen in serum during the menstrual cycle. **Clinical Chemistry**, v. 43, n. 10, p.1862-1867, 1997.
-