

УДК 616.65-006.6-07: 57.083.3

*Т.В. Осипова<sup>1</sup>, Т.П. Рябых<sup>1</sup>, З.А. Соколова<sup>1</sup>, В.И. Карасева<sup>1</sup>, Н.Б. Паклин<sup>2</sup>***ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОСТАТИЧЕСКОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ ТЕСТ-СИСТЕМЫ В ФОРМАТЕ БИОЧИПА: РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ**<sup>1</sup>РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва<sup>2</sup>Рязанский государственный университет им. С.А. Есенина, Рязань**Контактная информация***Осипова Татьяна Владимировна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ ЭДнТО***Адрес:** 115478, Москва, Каширское шоссе, 24; **тел.:** +7(495)324-10-65**e-mail:** [tatrav44@yandex.ru](mailto:tatrav44@yandex.ru)

Статья поступила 12.12.2010., подписана в печать 05.05.2011.

**Резюме**

Простатический специфический антиген – основной маркер рака предстательной железы. Две формы этого антигена – общая и свободная – и их соотношение используются в диагностике и мониторинге больных РПЖ. Современная технология биочипов позволяет создавать новые, более совершенные диагностические системы для определения опухолевых маркеров. Целью исследования являлась оценка диагностической эффективности новой тест-системы в формате микрочипа (ИМБ РАН) для определения двух форм ПСА в сыворотке крови человека. На большом клиническом материале, включающем 164 образца сыворотки крови онкологических, неонкологических больных и здоровых доноров, показано, что тест-система в формате микрочипа позволяет проводить одновременное количественное определение ПСАобщ и ПСАсв и получать результаты, сравнимые с результатами традиционных иммуноферментных тест-систем. С помощью модели логистической регрессии и ROC-анализа показано, что новая тест-система в формате микрочипа имеет диагностическую эффективность, сопоставимую с эффективностью широко используемых иммуноферментных тест-систем Fujirebio Diagnostics (Швеция), и в некоторых случаях превосходит последние по показателю специфичности (ПСАобщ и %ПСАсв). Значения площадей под ROC-кривыми при использовании многофакторных моделей составляют для системы в формате микрочипа 0,725, а для иммуноферментных тест-систем «Fujirebio Diagnostics» – 0,642.

**Ключевые слова:** белковый микрочип, диагностические тест-системы, рак простаты, простатический специфический антиген, ROC-анализ.

*T.V. Osipova<sup>1</sup>, T.P. Ryabikh<sup>1</sup>, Z.A. Sokolova<sup>1</sup>, V.I. Karaseva<sup>1</sup>, N.B. Paklin<sup>2</sup>***DETECTION OF PROSTATE-SPECIFIC ANTIGEN IN HUMAN SERUM****BY BIOCHIP-BASED TEST SYSTEM: CLINICAL TRIAL**<sup>1</sup>N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow<sup>2</sup>S.A. Esenin Russian State University, Rязань**Abstract**

PSA is the most useful indicator of PCa. Two forms of this antigen, tPSA, fPSA, and their ratio (%fPSA) are used in diagnostics and monitoring of patients with PCa. Modern biochip technology makes it possible to develop more perfect diagnostic systems for detection of tumors' markers. The goal of the investigation is diagnostic performance evaluation of the biochip-based test system (EIMB, RAS) for simultaneous detection of two PSA forms in human serum. Sera were collected from 164 patients with PCa, non-malignant prostate diseases and healthy donors. Here we show, that the biochip-based test system makes it possible simultaneous quantitation of tPSA and fPSA, and the tumor marker levels obtained are highly competitive with these derived from conventional ELISA test systems (Fujirebio Diagnostics, Sweden). ROC-analysis and logistic regression analysis were used to compare the diagnostic accuracy of two systems. The new test system has diagnostic efficiency competitive with that of ELISA systems, and is superior to the latter in specificity for tPSA and %fPSA. AUCs the ROC-curves in multifactorial models are 0,725 for biochip-based test-system and 0,642 for ELISA systems.

**Key words:** protein biochip, diagnostic systems, prostate cancer, tPSA, fPSA, ROC-analysis.

**Введение**

Разработка методов ранней диагностики злокачественных опухолей продолжает оставаться одной из актуальнейших проблем современной онкологии. РПЖ относится к наиболее распространенным онкологическим заболеваниям среди мужского населения [1]. Увеличение заболеваемости РПЖ приводит к необходимости поиска новых методов раннего выявления заболевания. Ведущая роль в диагностике РПЖ принадлежит ПСА.

Открытие ПСА [20] и создание серологического теста для его определения у человека имело большое значение для диагностики и выявления ранних и локальных форм РПЖ [8]. Ценность серологического теста на ПСА по сравнению с другими методами выявления РПЖ состоит в его простоте, малой инвазивности, воспроизводимости и объективности. Однако повышение этого маркера при различных не злокачественных заболеваниях предстательной железы несколько снижает диагностическую ценность ПСА-теста.

Многочисленные исследования последних лет показали, что диагностическая специфичность ПСА-теста может быть увеличена за счет определения различных форм антигена и соотношения между ними [7; 16], что существенно для дифференциальной диагностики рака и ДГПЖ. В настоящее время дифференциальная диагностика РПЖ и ДГПЖ основана на одновременном измерении общей и свободной форм ПСА и определении %ПСА<sub>св</sub>, т.к. известно, что содержание свободной формы относительно общей у больных РПЖ меньше, чем в норме и при ДГПЖ. Это особенно важно при незначительном повышении ПСА в пределах от 4 до 10 нг/мл [5; 11], так как в этом случае диагностируются ранние, потенциально излечимые стадии РПЖ.

Существует большое количество коммерческих иммунохимических наборов для раздельного определения разных форм ПСА. Однако из-за отсутствия стандартизации возникают существенные различия в результатах анализов, выполненных разными тест-системами [17; 18], что приводит к искажению истинного значения %ПСА<sub>св</sub> и к существенным ошибкам при диагностике РПЖ. Для преодоления этих различий разрабатываются новые диагностические системы, позволяющие одновременно в одном образце сыворотки крови измерять концентрации двух форм ПСА и их соотношение [12]. В таких тест-системах ошибки измерений, связанные с иммобилизацией антител, объемом анализируемого образца, разведением образца и условиями проведения иммуноанализа, сведены к минимуму. Возникшая на рубеже веков технология биологических микрочипов дает возможность создавать мультиплексные диагностические системы, позволяющие проводить в одном образце одновременный количественный анализ большого числа маркеров [2; 10]. Применение в онкологии подобных тест-систем, позволит повысить эффективность диагностики злокачественных заболеваний [19]. Ранее нами была показана возможность количественной оценки серологических онкомаркеров в формате гидрогелевых микрочипов, изготовленных по технологии, разработанной в Институте молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН (ИМБ РАН) [3]. На основе микрочипов в ИМБ РАН был разработан диагностический набор «ОМ-Биочип (ПСА)» для одновременного количественного измерения двух форм ПСА (общей и свободной) в сыворотке крови человека. Первоначальный вариант тест-системы был основан на двухстадийном варианте сэндвич-иммуноанализа с флуоресцентной детекцией сигнала и имел вполне удовлетворительные аналитические характеристики [5; 14]. В дальнейшем тест-система была усовершенствована путем замены двухстадийного варианта иммуноанализа на одностадийный [15].

**Цели** настоящей работы:

- испытание новой диагностической системы на клиническом материале;
- оценка ее диагностической эффективности с помощью ROC-анализа;
- сопоставление с эффективностью стандартных иммуноферментных диагностических систем фирмы Fujirebio Diagnostics, Швеция.

#### Материалы и методы

##### *Получение образцов сыворотки крови*

Для испытаний было отобрано 164 образца сыворотки крови человека, в их числе 67 – от больных РПЖ, 46 – от больных ДГПЖ, 30 – от больных

злокачественными урогенитальными опухолями, и 21 – от здоровых доноров. Образцы сыворотки крови пациентов получены: из урологического отделения РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН (онкологические больные), из отделения урологии ГКБ № 60 г. Москвы (больные ДГПЖ) и ФГБУ ГНЦ Минздрава России (здоровые доноры). Все больные имели гистологически подтвержденные диагнозы.

Образцы сыворотки центрифугировали при 1600 об/мин в течение 15–20 мин, разливали по ампулам, замораживали и хранили при –20 °С до проведения анализа, исключая повторные процедуры замораживания и оттаивания.

##### *Диагностические тест-системы*

Концентрации ПСА<sub>общ</sub> и ПСА<sub>св</sub>, а также % ПСА<sub>св</sub> в одних и тех же образцах сыворотки крови были измерены с помощью тест-системы в формате микрочипа и диагностических иммуноферментных наборов для определения общей и свободной форм ПСА фирмы Fujirebio Diagnostics.

Диагностические наборы «ОМ-Биочип (ПСА)» для одновременного количественного измерения двух форм ПСА (общей и свободной) в сыворотке крови человека были приобретены в ООО «Биочип-ИМБ». В набор входили биологические микрочипы и комплект реагентов для проведения иммуноанализа.

В качестве систем сравнения в работе использовали коммерческие диагностические иммуноферментные наборы для определения ПСА<sub>общ</sub> и наборы для определения ПСА<sub>св</sub> фирмы Fujirebio Diagnostics, Швеция.

##### *Иммуноанализ на микрочипе и регистрация сигналов*

В диагностических наборах «ОМ-Биочип (ПСА)» использовался принцип одностадийного прямого сэндвич-иммуноанализа с флуоресцентной регистрацией сигналов. Биологические микрочипы содержали полусферические гидрогелевые элементы с иммобилизованными МКА к ПСА<sub>общ</sub> и ПСА<sub>св</sub>. МКА к ПСА<sub>общ</sub> в равной степени реагировали как со свободной формой ПСА, так и с формой, связанной с антихимо tripsином. Антитела против ПСА<sub>св</sub> связывали только ПСА в свободной форме. К образцу сыворотки добавляли раствор флуоресцентно меченых антител в соотношении 5:1, тщательно перемешивали и полученную смесь вносили внутрь пластиковой камеры (V=60мкл), расположенной над гелевыми ячейками микрочипа. После инкубации проводили отмывку биочипа и регистрацию флуоресцентных сигналов с помощью универсального аппаратно-программного комплекса (УАПК, производство ИМБ РАН) для анализа изображений микрочипов. Для расчета концентрации ПСА<sub>общ</sub> и ПСА<sub>св</sub> и %ПСА<sub>св</sub> в исследуемом образце использовали программу «ImaGelAssay».

##### *Статистическая обработка результатов*

Регрессионный анализ проводили, используя пакет программ Microsoft Excel. Диагностическую эффективность тест-системы на основе микрочипа оценивали с помощью ROC-анализа [13; 21], используя компьютерную программу MedCalc, версия 9.3.1 г.2009. Достоверными считали различия при  $p \leq 0,05$ .

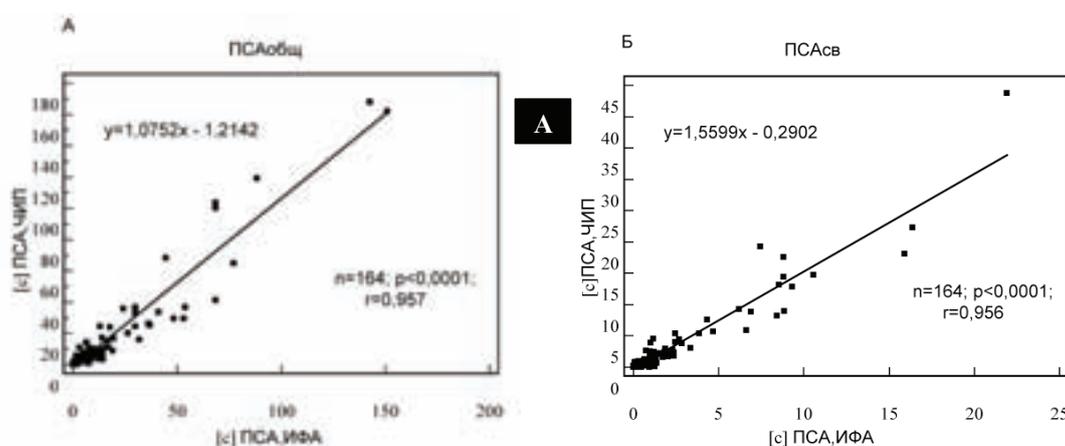
#### Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены основные данные о группах больных, включенных в исследование: возраст, измеренные уровни ПСА<sub>общ</sub>, ПСА<sub>св</sub> и %ПСА<sub>св</sub>.

Таблица 1

Основные данные по группам больных, включенных в исследование

Возраст Среднее Min—max	РПЖ (n=67)		ДГПЖ (n=46)		Урогенитальные опухоли (n=30)		Доноры (n=21)	
	68,2 ± 7,7 (53-100)		70,6 ± 5,7 (58-80)		53,6 ± 15,6 (28-80)		29,9 ± 8,1 (21-45)	
	ИФА	ЧИП	ИФА	ЧИП	ИФА	ЧИП	ИФА	ЧИП
<b>ПСАобщ, нг/мл</b>								
среднее±SD	20,4±31,1	20,7±35,5	7,0±6,6	4,9±6,0	2,0±2,1	2,2±2,2	0,5±0,3	0,6±0,4
минимальное	0,008	0,03	0,03	0,05	0,2	0,15	0,14	0,12
максимальное	150,9	167,8	29,9	32,7	7,2	7,9	1,16	1,89
<b>ПСАсв, нг/мл</b>								
среднее±SD	2,8±4,5	4,1±7,4	1,1±1,0	1,3±1,4	0,4±0,3	0,5±0,9	0,2±0,1	0,2±0,2
минимальное	0,001	0,001	0,007	0,001	0,001	0,001	0,04	0,001
максимальное	21,9	43,7	4,6	5,7	1,17	4,47	0,32	0,69
<b>%ПСАсв</b>								
среднее±SD	14,0±11,7	16,4±17,1	18,7±9,9	28,6±25,0	23,3±16,5	20,2±23,5	35,5±14,9	36,2±35,1
минимальное	0,19	0,04	4,37	0,07	0,36	0,03	11,6	0,1
максимальное	50,8	27,9	51,09	88,6	63,5	77,9	58,4	97,4



**Рис. 1.** Линии регрессии уровней, в образцах сыворотки крови, измеренных на чипе (ЧИП) и в традиционной иммуноферментной системе Fujirebio Diagnostics (ИФА):

А: ПСАобщ.

Б: ПСАсв.

Корреляционный анализ показал высокую степень корреляции результатов, полученных в двух видах систем (рис. 1). Коэффициент корреляции составил: для ПСАобщ – 0,957, для ПСАсв – 0,956 ( $p < 0,0001$ ). Для %ПСАсв коэффициент корреляции составил 0,377, но также был статистически достоверен ( $p < 0,0001$ ).

Таким образом, новая диагностическая система в формате биочипа, объединившая на одном носителе две аналитические системы (на ПСАобщ и ПСАсв), позволяет проводить одновременное количественное определение разных форм ПСА и получать результаты, сравнимые с результатами традиционных иммуноферментных тест-систем.

Известно, что наибольшие проблемы в диагностике РПЖ возникают в так называемой «серой зоне» – интервале концентраций ПСАобщ в сыворотке крови от 4 до 10 нг/мл.

В эту зону попадают пациенты не только с раком предстательной железы, но и с другими заболеваниями, в первую очередь, с ДГПЖ. Для проведения дифференциальной диагностики в этом интервале концентраций ПСА вводят дополнительные показатели: соотношение разных форм ПСА (например, %ПСАсв), плотность ПСА, скорость прироста и др. Так, использование показателя %ПСАсв увеличивает специфичность ПСА-теста на 15–20 % по сравнению с использованием только ПСАобщ и позволяет избежать 20–25 % неоправданных био-

псий. Известно, однако, что 75 % больных РПЖ с нормальным уровнем ПСАобщ попадает в диапазон концентраций от 2 до 4 нг/мл. Поэтому рядом авторов было предложено расширить границы «серой зоны» до 2,5–10 нг/мл [9].

В связи с этим, представляло интерес изучить диагностические характеристики новой системы, используя образцы сыворотки с уровнями ПСАобщ, соответствующими «серой зоне». С этой целью из исходного массива был отобран 61 образец сыворотки крови пациентов старше 45 лет с уровнями ПСАобщ от 3 до 10 нг/мл. В эту группу не вошли здоровые доноры, поскольку их возраст был менее 45 лет.

Оценку диагностической эффективности тест-системы в формате микрочипа и сравнение ее с эффективностью референтной системы Fujirebio Diagnostics проводили с помощью ROC-анализа. ROC-кривая представляет собой зависимость чувствительности от «100 – специфичность» (чувствительность – доля пациентов с заболеванием, у которых диагностический тест положителен; специфичность – доля пациентов без заболевания, у которых диагностический тест отрицателен). Сравнение осуществляли по следующим критериям: чувствительность, специфичность и площадь под ROC-кривой – AUC. AUC изменяется в пределах от 0,5 до 1,0. AUC равная единице соответствует 100% чувствительности и 100% специфичности.

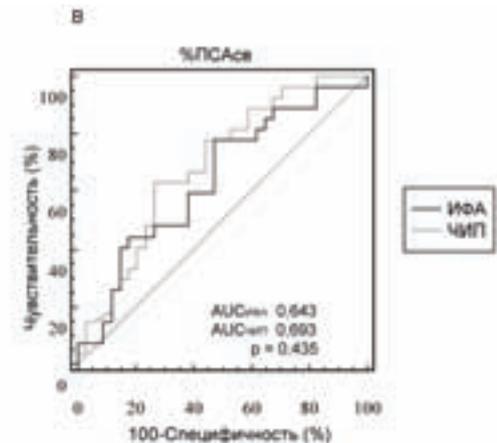
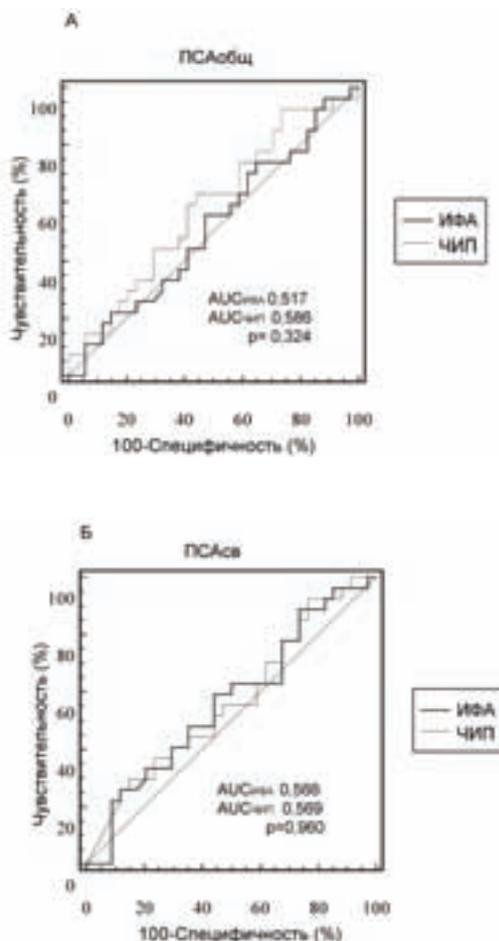
Специфичность оценивали при фиксированном значении чувствительности, принимаемом за 90%, т.к. известно, что чем выше специфичность при одном и том же значении чувствительности, тем эффективнее тест-система.

Мультиплексные диагностические системы, разрабатываемые на основе биологических микрочипов, позволяют строить многофакторные диагностические модели, в которых учитываются не только результаты аналитических измерений опухолевых маркеров, но и ряд дополнительных факторов (возраст, наследственность, объем простаты и т.д.), являющихся важной дополнительной информацией в диагностике [4].

Показано, что многофакторные модели имеют, как правило, более высокие показатели диагностической чувствительности и специфичности, чем однофакторные, использующие какой-либо один фактор: ПСАобщ или ПСАсв и т.д.

Сравнение эффективности диагностических систем проводили, учитывая как один фактор (ПСАобщ, ПСАсв или %ПСАсв), так и несколько факторов одновременно (ПСАобщ, ПСАсв, %ПСАсв, возраст).

На рис. 2 представлены ROC-кривые и значения AUC для однофакторных моделей с факторами ПСАобщ, ПСАсв и %ПСАсв, полученные по результатам измерений в иммуноферментной системе Fujirebio Diagnostics и на микрочипе. Сравнительный анализ этих кривых показывает, что тест-система на основе микрочипа позволяет получать результаты, сравнимые с Fujirebio Diagnostics. Отличия по величине AUC во всех случаях незначительны ( $p = 0,324-0,960$ ).



**Рис. 2.** Сравнение площади под ROC-кривыми (AUC) для тест-системы в формате микрочипа (ЧИП) и иммуноферментной тест-системы Fujirebio Diagnostics (ИФА).

А: ПСАобщ.

Б: ПСАсв.

В: %ПСАсв (В).

В обоих случаях наибольшую эффективность показывает модель на основе %ПСАсв. Величина AUC для % ПСАсв в системе Fujirebio Diagnostics составляет 0,643, а в системе на основе микрочипа – 0,693. Хотя эти различия не были статистически значимы, тенденцию к более высоким показателям проявляла тест-система на основе микрочипа. Кроме того, новая система имела больший показатель диагностической специфичности для ПСАобщ и %ПСАсв, чем традиционная иммуноферментная система. При фиксированном значении чувствительности, принятом за 92,6 %, и при близких значениях порога (табл. 2), диагностическая специфичность %ПСАсв и ПСАобщ для тест-системы Fujirebio Diagnostics составила 17,6 и 14,0 % соответственно, а для тест-системы в формате микрочипа – 32,3 и 26,5 % соответственно. При этом ПСАсв имел в двух тест-системах одинаково низкий показатель специфичности: 17,7 % для Fujirebio Diagnostics и 17,6% для «ОМ-Биочип (ПСА)».

Сравнение диагностической эффективности двух тест-систем проводили также и на основании многофакторной модели, учитывающей одновременно несколько факторов: ПСАобщ, ПСАсв, %ПСАсв и возраст больного. На рис. 3 приведены ROC-кривые для ПСАобщ, ПСАсв, %ПСАсв и для многофакторной модели на основе логистической регрессии, учитывающей указанные 4 фактора (LR4), (А) для иммуноферментной системы Fujirebio Diagnostics и (Б) для системы «ОМ-Биочип (ПСА)». Сравнение величины площади под ROC-кривыми показало, что в случае системы в формате микрочипа наибольшую площадь дает кривая для многофакторной модели LR4. Величина площади AUC для LR4 составила 0,725, тогда как для однофакторных моделей ПСАобщ, ПСАсв, %ПСАсв площади под кривыми составили 0,586; 0,569 и 0,693 соответственно. В случае Fujirebio Diagnostics многофакторная модель не дала преимуществ по сравнению с однофакторной моделью, учитывающей % ПСАсв (AUC для LR4 – 0,642, а для %ПСАсв – 0,643). При попарном сравнении ROC-кривых многофакторных моделей двух систем можно видеть, что большую площадь под кривой, а следовательно, и большую диагностическую эффективность показывает система в формате микрочипа (рис. 4).

Таблица 2

Сравнение диагностической специфичности тест-систем Fujirebio Diagnostics (ИФА) и в формате микрочипа при фиксированном значении чувствительности (92,6%)

Параметр	Чувствительность, 92,6%			
	Специфичность, %		Порог (cut-off)	
	ИФА	микрочип	ИФА	микрочип
ПСАобщ	14,0	26,5	2,2	1,6
ПСАсв	17,7	17,6	1,3	1,9
%ПСАсв	17,6	32,3	24,4	26,2

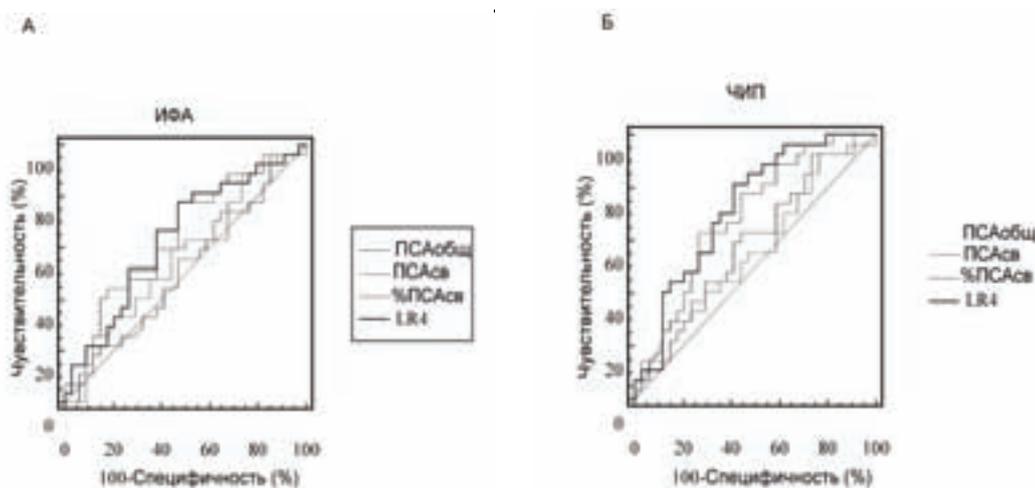


Рис. 3. Сравнение ROC-кривых для ПСАобщ, ПСАсв, %ПСАсв и для многофакторной модели логистической регрессии, учитывающей 4 фактора:

А: для тест-системы Fujirebio Diagnostics (ИФА).

Б: для тест-системы «ОМ Биочип (ПСА)» (ЧИП).

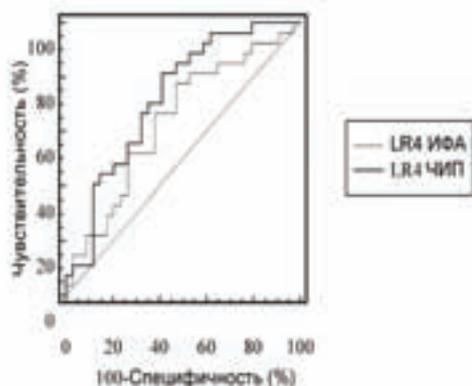


Рис. 4. Сравнение ROC-кривых для многофакторной модели логистической регрессии, учитывающей 4 фактора, для систем Fujirebio Diagnostics (ИФА) и в формате микрочипа (ЧИП).

Значения AUC для ROC-кривых многофакторных моделей равны: 0,642 (Fujirebio Diagnostics) и 0,725 («ОМ-Биочип (ПСА)»).

При одинаковой чувствительности (92,6%) многофакторная модель новой диагностической системы в наших исследованиях имела более высокий показатель специфичности (41,1%), чем многофакторная модель коммерческой иммуноферментной системы Fujirebio Diagnostics (17,6%).

Кроме того, многофакторная система в формате микрочипа имела показатель специфичности выше, чем % ПСАсв (41,1 и 32,3 % соответственно), который, как известно, играет значительную роль в диагностике РПЖ больных, чьи показатели ПСАобщ находятся в «серой зоне».

## Заключение

Таким образом, тест-система в формате микрочипа «ОМ-Биочип (ПСА)» позволяет определять уровни опухолевых маркеров и получать результаты, сравнимые с результатами, полученными в традиционной иммуноферментной тест-системе Fujirebio Diagnostics. С помощью моделей логистической регрессии показано, что тест-система в формате микрочипа имеет диагностическую эффективность, сопоставимую с таковой тест-системы Fujirebio Diagnostics и в некоторых случаях превосходит последнюю по показателю специфичности (ПСАобщ и %ПСАсв). Значения площадей под ROC-кривыми для модели логистической регрессии равны 0,642 (Fujirebio Diagnostics) и 0,725 «ОМ-Биочип (ПСА)».

## Литература

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ // Вестник РОНЦ им.Н.Н.Блохина РАМН.-2008.- №2.-С.52
2. Мирзабеков А.Д., Рубина А.Ю., Паньков С.В. Композиция для полимеризационной иммобилизации биологически значимых соединений и способ ее осуществления. Пат. W0 03/033539, БИ. 2003. №32.
3. Осипова Т.В., Рябых Т.П., Барышников А.Ю. Диагностические микрочипы: их применение в онкологии // Российский Биотерапевтический Журнал. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 72–81.
4. Паклин Н.Б., Орешков В.И. Бизнес-аналитика: от данных к знаниям. – СПб.: Питер, 2009. – 624 с.
5. Рябых Т.П., Осипова Т.В., Дементьева Е.И. и др. Тест-система в формате биочипа для одновременного количественного определения общей и свободной форм простата-специфического антигена в сыворотке крови // Российский Биотерапевтический Журнал. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 49–57.
6. Catalona W.J., Smith D.S., Wolfert R.L. et al. Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening // JAMA. – 1995. – 274. – P. 1214–20.
7. Catalona W.J., Partin A.W., Slawin K.M. et al. Use of percentage of free prostate specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostate disease;a prospective multicenter clinical trial // JAMA – 1998. – 279. – P. 1542–47.
8. Gann P.H., Hennekens C.H., Stampfer M.J. A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostate cancer // JAMA. – 1995. – 273. – P. 289–94.
9. Gann P.H., Ma J., Catalona W.J., Stampfer M.J. Strategies combining total and percent free prostate specific antigen for detecting prostate cancer: A prospective evaluation // The journal of Urology. – 2002. – 167(issue 6). – P. 2427–34.
10. Kingsmore S.F. Multiplexed protein measurement: technologies and application of protein and antibody assays // Nat.Rev.DrugDiscov. – 2006. – 5. – P. 310–20.
11. Lilja H. Significance of different molecular forms of serum PSA/The free, noncomplexed form of PSA versus that complexed to alpha 1-antichymotrypsin // Urol. Clin.North Am. – 1993. – 20. – P. 681–6.
12. Mitrunen K., Pettersson K., Piironen T. et al. Dual-Label One-Step immunoassay for simultaneous measurement of free and total prostate-specific antigen concentration and ration in serum // Clin. Chem. – 1995. – 41(8). – P. 1115–20.
13. Metz C.E. Basic Principles of ROC analysis // Semin.Nucl. Med. – 1978. – 8 – P. 283–98.
14. Osipova T., Ryabykh T., Rubina A. Et al. Biochip-based test-system for prostate cancer diagnostics. In.: New Aspects of Biotechnology and Medicine. New York: Nova Science Publishers, Inc, 2007. – Carter III. – P. 15–28.
15. Osipova T., Sokolova Z., Ryabykh T. et al. Biochip-based test-system for cancer diagnostics .Simultaneous of total and free forms of prostate-specific antigen // Technical Proceeding of the 2008 Nanotechnology Conference and Trade Show. – 2008. – 2. – P. 30–3.
16. Stenman U.H., Leinonen J., Alfthan H. et al. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1 antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostate cancer // CancerRes. – 1991. – 51. – P. 222–6.
17. Stephan C., Klaas M., Muller C. Interchangeability of measurements of total and free prostate-specific antigen in serum with 5 frequently used assays combination: up date // Clin.Chem. – 2006. – 52. – P. 59–64.
18. Strobel S., Smith K., Wolfert R. et al. Role of free PSA in Discordance Across commercial PSA assays // Clin.Chem. – 1996. – 42(4). – P. 645–6.
19. Tsao R.C., Wu T.L., Chang P.Y. et al. Detection of carcinomas in a asymptomatic Chinese population: advantage of screening with multiple tumor markers // J.Clin.Lab.Anal. – 2006. – 20. – P. 42–6.
20. Wang M.C., Valenzuela L.A., Murphy G.P. et al. Purification of a human prostate specific antigen // Invest.Urology. – 1979. – 17. – P. 159–63.
21. Zweig M.H., Campbell G. Receiver-operating characteristics (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine // Clin.Chem. – 1993. – 39. – P. 561–77.

НАУЧНЫЕ ЖУРНАЛЫ  
РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН

