

ARTÍCULO ORIGINAL

Punto de corte de la fracción libre del antígeno prostático específico en la población mexicana susceptible a cáncer de próstata

Martínez Arroyo C,¹ Salgueiro Ergueta R,² Paredes Mendoza J,² Marina González JM,³
Pacheco Gabhler C,⁴ Calderón Ferro F,⁵ Mata Miranda M del P⁶

RESUMEN

Antecedentes: La fracción libre del antígeno prostático específico se asocia con cáncer de próstata, entre más bajo es el porcentaje de la relación, mayor probabilidad de cáncer; siendo más específica y sensible entre 4 y 10 ng/mL.

Objetivos: Determinar y conocer el punto de corte de la fracción libre en zona gris, tacto rectal, edad en la población mexicana y compararlo con la mundial.

Material y métodos: Estudio biinstitucional, retrolectivo, transversal analítico, de agosto 1999 a octubre 2004 se incluyeron 331 pacientes con edad, tacto rectal, antígeno total (4 y 10 ng/mL), fracción libre, porcentaje y relación antígeno libre/antígeno total y biopsia de próstata por ultrasonido transrectal.

Resultados: Correlacionamos en forma global el porcentaje de la relación antígeno libre/antígeno total, tacto rectal y edad con punto de corte del 12%, comparamos tacto rectal normal y edad, con

SUMMARY

Background: The percent free prostatic specific antigen was associated with prostate cancer, a lowest percentage in the relationship had a more probability to appear cancer, and this coefficient is most specific and sensibility between 4 to 10 ng/mL.

Objective: Identifying and learning about the cutting point of the fraction free in gray area, rectal tact, age at Mexican population and compare it with the world.

Methods: It's a retrolective, biinstitutional, transverse, descriptive and comparative, observational open study design, from August 1999 to October 2004, included 331 patients with age, rectal examination, total prostate specific antigen (4-10 ng/mL) free prostatic specific antigen, percentage free antigen and transrectal biopsy.

Results: Our global correlation with percentage free/total prostatic specific antigen, rectal examination and age, results a cut-offs in 12%, when compared rectal examination with age, this values was 12.6 and 12 % from normal digital rectal

1 Médico Asociado. Servicio de Urología. Hospital Español de México. 2 Médico Adscrito. Servicio de Urología. Hospital Español de México. 3 Jefe de Servicio. Servicio de Urología. Hospital Español de México. 4 Médico Adscrito. División de Urología. Hospital General "Dr. Manuel Gea González". 5 Jefe de División. División de Urología. Hospital General. "Dr. Manuel Gea González". 6 Jefa de División. División de Investigación. Hospital General "Dr. Manuel Gea González".

Servicio de Urología. Hospital Español de México. División de Urología. Hospital General "Dr. Manuel Gea González". División de Investigación. Hospital General "Dr. Manuel Gea González"

Correspondencia: Dr. Carlos Martínez Arroyo. Servicio de Urología. Hospital Español de México. Av. Ejército Nacional Núm. 617-804, Col. Granada, CP 11520, México, DF. Teléfono: 5203-1779, fax: 5545-0461.

resultado del 12.6 y 12%, así como tacto anormal y edad con valores del 12 y 13% para menores y mayores de 70 años, respectivamente.

Conclusiones: Reflejamos que el valor de la relación del 12%, nos conlleva a tener mayor índice de detección en cáncer, con sensibilidad importante además de falsos positivos menores de 35%.

Palabras clave: antígeno prostático específico, APE-libre/APEtotal, punto de corte, fracción libre, zona gris.

examination, in the abnormal examination the values was 12 and 13% for patients with less and more 70 years, respectively.

Conclusion: *The real value in the relation free/total prostate specific antigen was 12%, with this, had more prostate cancer detection with a great sensibility and had less false-positive to 35%.*

Key words: *prostatic specific antigen, free/total prostatic specific antigen, cut-offs, free PSA, grey zone.*

INTRODUCCIÓN

Sabemos que el cáncer de próstata es la segunda causa de muerte en los hombres, se diagnosticaron 198,100 casos en Estados Unidos en 2001 y de éstos, 31,500 murieron por esta enfermedad.¹ Mundialmente el cáncer de próstata es la sexta causa más común de incidencia en cáncer y la cuarta causa más común de muerte. La incidencia en tiempo de vida del cáncer en ciudades desarrolladas es del 14.3%, comparado solamente con 4.3% en las ciudades del tercer mundo. Aproximadamente, 19% de los hombres diagnosticados con cáncer de próstata mueren por esta enfermedad. En 1987 se determina el uso del antígeno prostático específico total (APET) como proyecto de la detección oportuna de cáncer de próstata, al documentarlo como proteína producida en el tejido glandular prostático y glándulas periuretrales.² El APE es el marcador tumoral disponible más usado clínicamente para el diagnóstico y manejo del cáncer de próstata, pero es insuficientemente sensible y específico para considerarlo ideal.³ La elevación del APE sérico no es patognomónico del cáncer de próstata, otras condiciones como las prostatitis bacteriana, retención aguda urinaria y la hiperplasia prostática también lo incrementan.⁴ Con Terris y Stamey se inició también por medio del ultrasonido la medición de la densidad del APE para poder corroborar la relación del antígeno y la probabilidad de cáncer en próstata.⁵

Actualmente, se ha encontrado que existe una variedad de formas moleculares del APE, existe unido a proteínas llamadas alfa-2-macroglobulina (AMG), alfa-1-antiquimiotripsina (AQT) y proteína C

inhibidora, solamente la forma libre y la unida a la AQT son medibles por inmunoanálisis.⁶

El APE unido a la AQT es la forma predominante del APE en el suero, en 60 al 95%, mientras que la fracción libre inmunodetectable es del 5 al 30%, dicha fracción es medida usando anticuerpos monoclonales para el epítipo E.⁷

Stenman y cols., fueron los primeros en demostrar que el varón con cáncer de próstata presenta altos promedios de APE unido a la AQT, significando un resultado de APE libre/APE total (APEfl/APET) menor en pacientes con cáncer de próstata.⁸ En 1991, se establece la relación de la fracción libre del APE (APEfl / APET) con la probabilidad del cáncer de próstata cuando es menor del 25%, en 1995, Catalona y cols., determinaron que dicha fracción libre era específica y sensible en pacientes con APE entre 4 y 10 ng/mL.⁹ Debido a los estudios de este autor, se encontró que entre más bajo es el porcentaje de la relación del antígeno libre, mayor es la probabilidad de presentar cáncer de próstata. En nuestra institución, Del Valle y cols., observaron que el porcentaje de la relación de la fracción libre que presentaba mayor sensibilidad y especificidad para dicha patología prostática era del 15% o menor, corroborado por el estudio histopatológico tomado por ultrasonido transrectal (USTR).¹⁰

El punto de corte óptimo de la fracción libre del APE no ha sido determinado, por lo que éste es un equilibrio entre la sensibilidad más óptima en relación con la especificidad. Esto se ha basado con

respecto al volumen prostático, hallazgos del tacto rectal, concentración total del APE y la biopsia prostática. Para conseguir la meta de minimizar el número de biopsias benignas en varones mayores, sin comprometer la detección del cáncer en pacientes jóvenes, se han establecido diferentes puntos de corte.

Un punto de corte del 25% en valores de APE entre 4 y 10 ng/mL, elimina 34% de las biopsias innecesarias en varones de 70 a 75 años, 19% en 60 a 69 años y 11% en 50 a 59 años. El punto de corte del 25% mantiene una sensibilidad en afroamericanos y blancos.¹¹

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio conjunto con dos instituciones: pública y privada (Hospital General "Dr. Manuel Gea González" y Hospital Español de México), retrospectivo, transversal, descriptivo, abierto, comparativo y observacional. Se revisaron los expedientes que incluyeron pacientes mayores de cuarenta años con las siguientes características: biopsia prostática por USTR, antígeno prostático específico total y APET entre 4 y 10 ng/mL, tacto dígito rectal, fracción libre de APE y relación de antígeno prostático específico libre y total (APEfl/APET). El universo de estudio lo constituyeron los pacientes que presentaron el resultado de la biopsia y las variables antes mencionadas en ambas instituciones, el tamaño de la muestra se determinó por la cantidad de pacientes que contaban con estas cualidades, comprendiendo el estudio de agosto de 1999 a octubre de 2004, se documentaron la edad, el tacto rectal, valor de APE, APEfl y la relación APEfl/APET. Se analizó el antígeno prostático específico y su fracción libre con máquina Hybritec de Coulter-Beckmann por técnica de quimioluminiscencia. Se establecieron los objetivos del estudio, siendo el específico determinar el punto de corte de la fracción libre en varones de la población mexicana y como secundarios, el comparar el punto de corte con la población mundial, en mayores de 40 años con APE elevado en la zona gris, conocer la relación entre el APEfl/APET, evaluar la combinación de la relación APEfl/APET y el tacto rectal. Consideramos a la edad, tacto dígito rectal, APET y resultado de la biopsia prostática como variables independientes y el APEfl y la relación APEfl/APET como dependientes. Se realizó un análisis univariado con la edad, tacto dígito rectal, APET y

resultado de la biopsia, y se formaron tres grupos para determinar la relación de edad (mayor o menor de 70 años), tacto dígito rectal (normal o anormal) y relación APEfl/APET. Posteriormente, se realizaron puntos de corte de la relación APEfl/APET, empleando estadística descriptiva con base en medidas de tendencia central y dispersión: rango, media, mediana, moda, proporciones o porcentajes. Se estableció nuestra frecuencia para determinar las percentilas con el programa SPSS Windows 98 y se determinó la sensibilidad y especificidad de las tablas 2x2 con Epidat versión 3.0 para demostrar los puntos de corte con curvas ROC, así como también el valor estadístico de la prueba.

Todos los procedimientos estuvieron de acuerdo con lo estipulado en el reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud.

RESULTADOS

De un total de 759 pacientes sometidos a biopsias prostáticas, con APET, APEfl, y relación APEfl/APET; 467 pacientes correspondían al Hospital General "Dr. Manuel Gea González" y 292 al Hospital Español de México, con edad promedio de 66.54 años y rangos desde 42 a 97 años; perteneciendo al APE en la zona gris (4-10ng/mL) 331 pacientes; con una relación de APE libre/APE total promedio de 14.4% (1 a 44%), de los cuales pertenecían 225 al Hospital General "Dr. Manuel Gea González" y 106 al Hospital Español de México (**figura 1**). De éstos, 207 pacientes presentaron tacto rectal normal y un tacto anormal en 124 (**figura 2**) Se obtuvo diagnóstico de cáncer de próstata en 74 pacientes (22.35%) y negativo a éste 257 (77.65%) (**figura 3**).

Se correlacionó en forma global el porcentaje de la relación APE libre/APE total, tacto rectal y edad con un nivel de confianza del 95% en curvas ROC por deciles, obteniendo un punto de corte del 12% con una sensibilidad y especificidad del 82 y 66%, respectivamente. Con tamaño del área de la curva de 0.8072, error estándar de 0.0132 a 0.0156 y con intervalos de confianza al 95% de 0.7814 a 0.8330 por prueba de Delong y 0.7765 a 0.8378 por prueba de Hanley & McNeil (**figura 4**).

Comparamos el porcentaje de la relación APEfl/APET con tacto rectal normal y edad menor y mayor de 70 años, con un nivel de confianza del 95% en

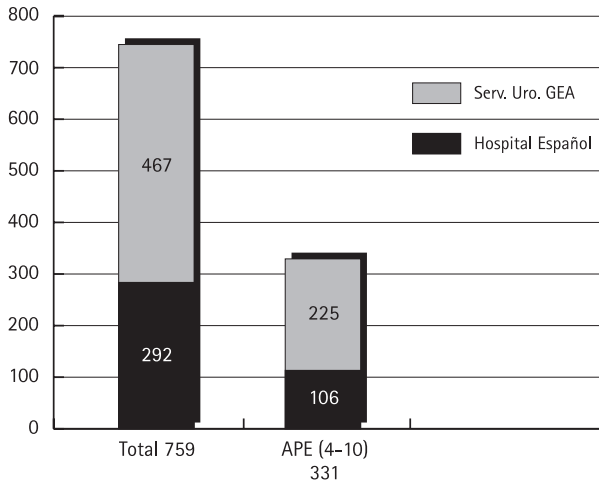


Figura 1. Distribución de pacientes con APE.

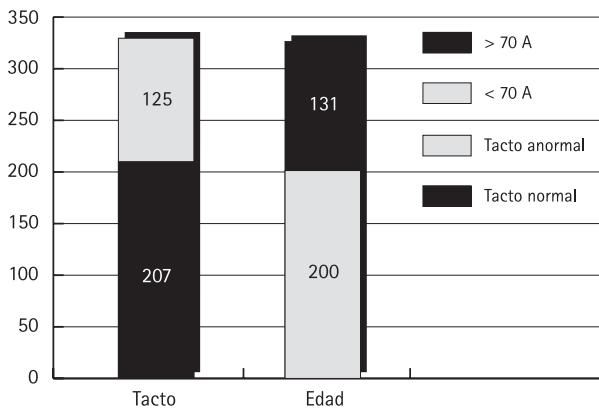


Figura 2. Distribución de pacientes de acuerdo a tacto rectal y edad.

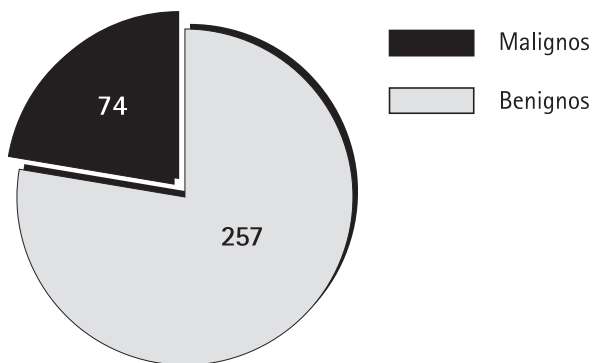
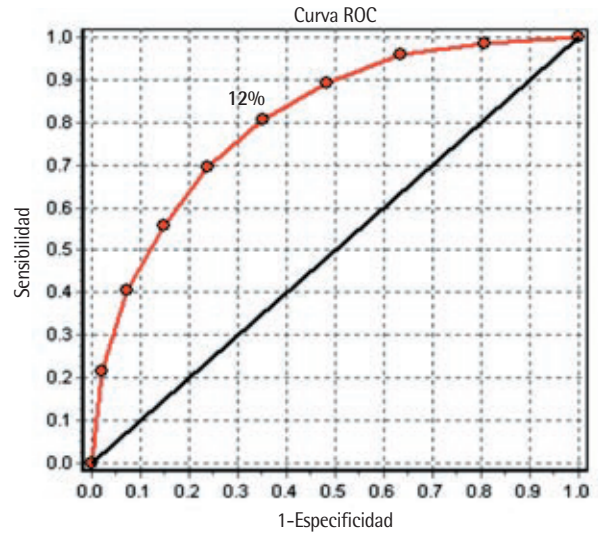
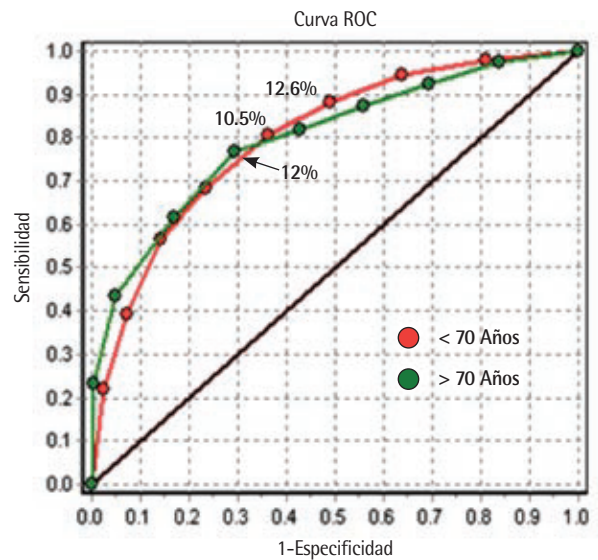


Figura 3. Presencia de cáncer con APE en zona gris.



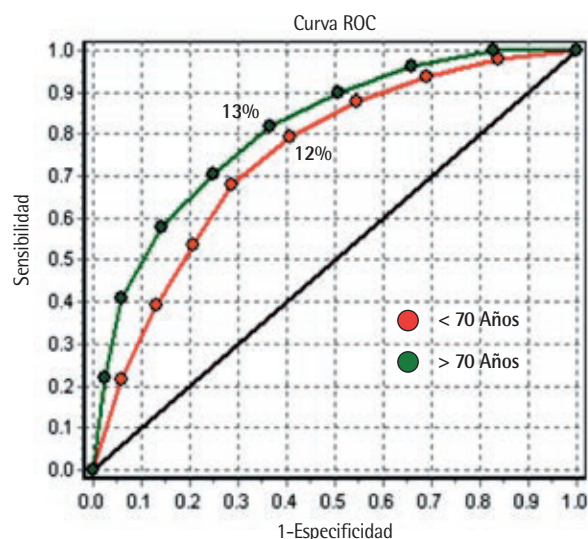
A ROC	EE	IC (95%)		
0.8072	0.0132	0.7814	0.8330	Delong
	0.0156	0.7765	0.8378	Hanley Et Mcneil

Figura 4. Punto de corte del porcentaje de la relación APE libre/APE total, tacto rectal y edad.



A ROC	EE	IC (95%)	
0.7998	0.0244	0.7519	0.8477
0.8005	0.0416	0.7190	0.8820

Figura 5. Punto de corte del porcentaje de la relación APE libre/APE total con tacto rectal normal, edad menor y mayor de 70 años.



A ROC	EE	IC (95%)	
0.7493	0.0287	0.6930	0.8057
0.8138	0.0264	0.7621	0.8656

Figura 6. Punto de corte del porcentaje de la relación APE libre/APE total con tacto rectal anormal, edad menor y mayor de 70 años.

curvas ROC por deciles, determinando un punto de corte del 12.6%, y una sensibilidad además de especificidad del 90 y 50%, respectivamente. Con área de la curva de 0.7998, error estándar de 0.0244 e intervalos de confianza al 95% de 0.7519 a 0.8477.

En mayores de 70 años se obtuvo un punto de corte del 12% resultando una sensibilidad y especificidad del 78 y 72%, con tamaño del área bajo la curva de 0.8005 un error estándar de 0.0416 e intervalos de confianza al 95% de 0.7190 a 0.8820 (**figura 5**).

Analizamos el tacto rectal anormal con el porcentaje de la relación APEI/APeT y la edad (mayores y menores de 70 años), reflejando un nivel de confianza del 95% en curvas ROC por deciles demostrando puntos de corte del 12 y 13% para menores y mayores de 70 años. Reflejando una sensibilidad del 80 y 82% de acuerdo a la edad y una especificidad del 60 y 62%, respectivamente; un error estándar de 0.2087 y 0.0264, con la curva ROC en cuanto al tamaño del área de 0.7493 y 0.8138, y un intervalo de confianza de 0.6930 a 0.8085 y 0.7621 a 0.8656, en menores y mayores de setenta años (**figura 6**).

DISCUSIÓN

En 1991, Stenman y cols., propusieron que el APE unido podría discriminar la enfermedad maligna de la benigna, reduciendo el promedio de falsos positivos a la mitad. Lilja y cols., mostraron que el APE unido a AQT constituía la forma predominante inmunorreactiva en aproximadamente 85% del APE total. Ellos mismos determinaron la concentración sérica de estas formas en la hiperplasia y el cáncer prostático, observando una proporción de APE libre/APE total significativamente más baja en pacientes con cáncer de próstata que con hiperplasia (0.18 vs. 0.28, $p < 0.0001$), siendo más significativa en APE menor de 10 ng/mL.^{8,12-15} En nuestra población pertenecieron al APE de la zona gris (4-10 ng/mL), 331 pacientes con relación de APE libre/APE total promedio de 14.4% (1 a 44%) de los cuales correspondían 225 al Hospital General "Dr. Manuel Gea González" y 106 al Hospital Español de México. El uso de la medición de la relación APE libre/APE total en el suero en comparación con el APE total únicamente, reporta un incremento en la habilidad de diferenciar cáncer prostático de la hiperplasia del 55 al 73% sin compromiso de la sensibilidad.¹⁶ Existen dos grandes estudios retrospectivos que han mostrado el uso del punto de corte del porcentaje de APE libre en la zona gris de diagnóstico (4-10 ng/mL). En Estados Unidos, Luderer y cols.,^{17,18} evaluaron el suero de tres bancos de muestras, que consistieron de 55 muestras de hombres con cáncer de próstata no tratado, 62 muestras de hombre con hiperplasia no tratada y 64 muestras de controles asintomático. Ellos encontraron un 73% con cáncer prostático, comparados con 29% con hiperplasia y 24% de los controles, los cuales tenían una relación APEI/APeT menor de 0.15 ($p < 0.0001$).

Compararon a 25 pacientes con cáncer de próstata y 32 con hiperplasia con antígeno entre 4 y 10 ng/mL, encontrando un punto de corte del 20% para tener una sensibilidad del 80% y una especificidad del 49%. Con punto de corte de APEI/APeT de 0.25 o menor, 31% de biopsias innecesarias se prevenían. Vashi y cols.,¹⁹ establecieron un porcentaje de APE libre de mayor utilidad entre 3 y 10 ng/mL, distinguiendo entre cáncer de próstata e hiperplasia un valor del 24% o menor, detectando 95% de los cánceres y eliminado 13% de las biopsias negativas. Catalona y cols.,⁹ encontraron una mediana

de proporción APEl/APEt de 0.188, 0.159 y 0.092. Éste fue el primer estudio que mostró importancia del volumen prostático y la selección del valor del punto de corte del porcentaje del APE libre. En próstatas menores de 40 cc, un valor de APE libre de 13.7% o menor, detectaba por lo menos 90% de los cánceres y eliminaba 38% de biopsias innecesarias. En los pacientes tenían hallazgos benignos en la examinación rectal; el punto de corte de APEl/APEt era de 0.234 o menor, en comparación con nosotros que obtuvimos un punto de corte del 0.12, con una sensibilidad del 82% en comparación con 90% de Catalana para detección de cáncer y 31.3% de biopsias innecesarias que podían prevenirse contra 34% en nuestro trabajo con un IC (0.7814-0.8330).

En el estudio de Tirol, participaron un grupo de austriacos, 21,078 varones entre los 45 y 75 años, de octubre 1993 y septiembre 1994, para una prueba de escrutinio, donde determinaron el valor del APE total y sus puntos de corte.¹² En nuestro estudio de dos instituciones mexicanas participaron 759 pacientes de los cuales, 457 correspondían al Hospital General "Dr. Manuel Gea González" y 292 al Hospital Español de México, con edad promedio de 66.54 años con rangos desde 42 a 97 años. En Austria, realizaron un estudio retrospectivo donde evaluaron la ayuda de la relación APE libre/APE total para distinguir entre hiperplasia prostática y carcinoma prostático en hombres con APE elevado; participaron 266 voluntarios con promedio de edad de 63 años; 64 (24%) fueron positivos para cáncer de próstata y 202 estaban libres de cáncer: En este estudio retrospectivo comprendido de agosto 1999 a octubre 2004 en la ciudad de México, obtuvimos un diagnóstico de cáncer de próstata en 74 pacientes (22.35%) y negativo a cáncer 257 (77.65%), donde podemos apreciar que la detección del cáncer de próstata es de gran similitud entre ambos con una diferencia de 1.65, en los austriacos solamente 8 de 64 pacientes tenían tacto rectal anormal a diferencia de los mexicanos donde de los 331 pacientes, 207 pacientes presentaron tacto rectal normal y anormal en 124, y de los positivos a cáncer 42 de 74 tenían alteración. En los europeos reflejaron un APE total promedio de 16.4 ng/mL (4.1-168 ng/mL) en comparación con los mexicanos que promediaron un 7.14 ng/mL (1.4-32 ng/mL). En los 202 pacientes

austriacos libres de cáncer el promedio de APE total era de 7.5 ng/mL (2.6-28.2 ng/mL), siendo 257 en los mexicanos sin neoplasia maligna y con 6.82 ng/mL (1.86-27 ng/mL) de APE total, presentando una relación de APE libre/APE total promedio de 0.14 (0.01 a 0.44); en los 64 pacientes de Tirol con cáncer era de 0.10 y significativamente era diferente ($p = 0.001$) con su control y con menos de 0.18, 37% de biopsias negativas podían eliminarse y detectar 94% de los carcinomas.²⁰ Nosotros correlacionamos la relación en forma global con el porcentaje de la relación APE libre/APE total, tacto rectal y edad con un nivel de confianza del 95% en curvas ROC por deciles obteniendo un punto de corte del 0.12 logrando una sensibilidad y especificidad del 82 y 66%, respectivamente.

Con error estándar de 0.0132 y 0.0156 con un intervalo de confianza al 95% de 0.7814 a 0.8330 por prueba de DeLong y 0.7765 a 0.8378 por prueba de Hanley & McNeil, y biopsias innecesarias en 34%.

Desde 1991 hasta marzo de 1996, se han hecho escrutinios para detección de cáncer de próstata en el área de Rotterdam como parte del estudio europeo randomizado de detección para cáncer de próstata (ERSPC), en este estudio participaron seis centros basado en Holanda (Rotterdam), Bélgica (Antwerp), Suecia (Göteborg), Finlandia (Helsinki), Italia (Florencia) y Portugal (Lisboa) y últimamente Canadá (Toronto), donde fueron 9200 varones entre 55 y 70 años, de éstos, a 4800 se les realizó APE, tacto rectal y ultrasonido transrectal. De este estudio, Bangla y cols., realizaron un análisis retrospectivo de 1726 pacientes donde encontraron 67 cánceres de próstata con un punto de corte de la relación APElibre/APEtotal de 0.20 reduciendo un 39% de las biopsias innecesarias.²¹ En la combinación de APE, TDR, y relación APEl/APEt es significativamente mejor que otras combinaciones, mejorando la discriminación de APE sérico entre lo benigno y maligno, por lo cual nosotros determinamos la fracción libre, edad y tacto rectal normal y anormal. De la relación de APEfl/APEt con el tacto sin alteraciones y correlacionando con la edad, nosotros determinamos como límite de edad los 70 años, ya que en los menores de 70 años se les puede ofrecer tratamiento curativo, por lo cual llegamos a un punto de corte del 0.126, con una sensibilidad y especificidad del 90 y 50%, respectivamente.

Tabla 1. Comparación multiinstitucional del punto de corte de la fracción libre del APE

Autor	No Pts	% Fracción Libre en APE(4-10 Ng/ml)			
		APE (Ng/ml)	% Rel APEfL/ APET	Sensibilidad %	Especificidad %
Ludrer	57	4-10	20	80	49
Vashi	413	4-10	24	90	38
Reissigl	202	2.6-26	18	94	Nd
ERSPC	432	4-10	20	90-100	44
Catalona	113	> 4	20	90	38
Martínez (Uro Gea y Español)	313	4-10	12	82	34

Con intervalos de confianza al 95% DE- 0.7519 a 0.8477; en mayores de 70 años se obtuvo un punto de corte del 0.12 resultando una sensibilidad y especificidad del 78 y 72%, comparado con 0.20 del grupo multicéntrico europeo (ERSPC), donde muestra una mejoría en la sensibilidad para biopsias positivas entre 90 y 100%.²² En caso de tacto alterado determinamos un punto de corte de 0.12 y 0.13 para menores y mayores de 70 años. Reflejando una sensibilidad del 80 y 82% de acuerdo a la edad y una especificidad del 60 y 62%, respectivamente (tabla 1).

CONCLUSIÓN

En nuestra población analizamos la importancia del diagnóstico oportuno del cáncer de próstata, así como de evitar la gran cantidad de estudios paraclínicos que se sobregiran en este furor de la medicina basada en evidencias, lo que nos permite y limita en tener una respuesta precisa y concisa de esta enfermedad. Por lo que decidimos realizar este estudio determinando el comportamiento de la relación APEfL/APET; por su gran importancia en la decisión de la realización de una biopsia prostática, puesto que al tener nuestros propios valores conllevará a una mayor precisión diagnóstica, de acuerdo a la raza y hábitos multifactoriales que se presentan en nuestro país. El no depender de cifras anglosajonas o europeas nos permite tener la propia casuística en la detección, planeación y seguimiento del paciente mexicano. Hemos correlacionado la importancia de la fracción libre y proporción total

del APE con la edad y la exploración rectal para poder determinar el punto de corte más acertado en su sensibilidad y especificidad.

Apoyados en curvas de punto de corte de sensibilidad y especificidad para determinar la proporción del porcentaje de fracción libre del antígeno prostático, cabe destacar que no existe estudio alguno en Latinoamérica y México que haya precisado este punto de corte; existen estudios europeos y anglosajones, pero cuya cultura, raza y hábitos multifactoriales son completamente distintos a los nuestros.

Esto nos lleva a convocar a todas las instituciones del país y Latinoamérica a realizar estudios multiinstitucionales para tener mayor estadística y proporcionar en verdad un adecuado escrutinio diagnóstico en patologías, que han tomado gran importancia en nuestra población y no depender de literatura anglosajona y europea, sin menoscabar su gran importancia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2001. *CA Cancer J Clin.* 2001;51:144.
2. Mettlin C, Lee F, Drago J, Murphy GP. The American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project: findings on the detection of early prostate cancer in 2425 men. *Cancer.* 1991;67:2949-58.
3. Oesterling JE. Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol.* 1991;145:907-23.

4. Stamey TA, Yang N, Hay AR *et al.* Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med.* 1987;317:909-16.
5. Terris MK, Stamey TA. Determination of prostate volume by transrectal ultrasound. *J Urol.* 1987;145:984.
6. McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA *et al.* Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family. *Urology.* 1995;45:729-44.
7. Christensson A, Laurell CB, Lilja H. Enzymatic activity of the prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine proteinase inhibitors. *Eur J Biochem.* 1990;194:755-763.
8. Stenman UH, 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 prostatic cancer: Assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res.* 1991;51:222-6.
9. Catalona WJ, Smith DS, Wolfert RL *et al.* Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening. *JAMA.* 1995;274:1214-20.
10. Del Valle GL, Solares SM, Maldonado VR *et al.* Experiencia del Servicio de Urología del Hospital General Manuel Gea González en el uso de la fracción libre del Antígeno Prostático en la detección del Cáncer de Próstata Localizado. *Rev Mex Urol.* 2002;62(4):172-5.
11. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM *et al.* Percentage of free PSA in black versus white men for detection and staging of prostate cancer: a prospective multicenter clinical trial. *Urology.* 2000;55:372-6.
12. Christensson A, Björk T, Nilsson O *et al.* Serum prostate-specific antigen complexed to alpha-1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urol.* 1993;150:100-5.
13. Lilja H. A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest.* 1985;76:1899-903.
14. Catalona WJ, Hudson MA, Scardino PT *et al.* Selection of optimal prostate specific antigen cutoffs of early detection of prostate cancer. Receiver operating characteristic curves. *J Urol.* 1994;152:2037-42.
15. Lilja H, Christensson A, Dahlén U *et al.* Prostate-specific antigen in human serum occurs predominantly in complex with alpha-1-antichymotrypsin. *Clin Chem.* 1991;37:1618-25.
16. Abrahamsson PA, Lilja H, Oesterling JE. Molecular forms of serum prostate-specific antigen. The clinical value of percent free prostate-specific antigen. *Urol Clin of North Am.* 1997;24(2):353-65.
17. Luderer AA, Chen YT, Soriano TF *et al.* Measurement of the proportion of free to total prostate-specific antigen improves diagnostic performance of prostate-specific antigen in the diagnostic gray zone of total prostate specific antigen. *Urology.* 1995;46:187-94.
18. Arcangeli GC, Ornstein KD, Keetch WD, Andriole LG. Prostate-specific antigen as a screening test for prostate cancer. The United States Experience. *Urol Clin of North Am.* 1997;24(2):299.
19. Vashi AR, Wojno KJ, Vessella RL *et al.* Determination of the "reflex range" and appropriate cut points for percent free-PSA in 413 men referred for prostatic evaluation using the AxSYM system. *Urology.* 1997; 49(1): 19-27.
20. Reissigli A, Bartsch G. Prostate-specific antigen as a screening test. The Austrian Experience. *Urol Clin of North Am.* 1997;24(2):315.
21. Bangma CH, Kranse R, Blijenberg B *et al.* The value of screening test in the detection of prostate cancer: A simulation of the role of the F/T ratio, age specific reference ranges, and PSA density. *Urology.* 1995; 46(6): 779-84.
22. Bangma CH, Rietbergen BWJ, Schröder HE. Prostate-specific antigen as a screening test. The Netherlands Experience. *Urol Clin of North Am.* 1997;24(2):307.