

Marcadores tumorales y receptores estrogénicos en el cáncer de mama. Estudio de correlación y supervivencia

B. Ortiz Muñoz*, F. Sancho Merle**, J. Camps Roig**, C. Vázquez Albaladejo**

Resumen

• **Propósito:** Se estudia la correlación y el valor pronóstico de algunos marcadores tumorales en suero y citosol y receptores estrogénicos en 53 pacientes con cáncer de mama primario.

• **Material y Métodos:** Los ER se realizaron por el método del carbón-dextrano; lácticodeshidrogenasa (LDH), fosfohexosaisomerasa (PHI), fosfatasa alcalinas (ALP), fosfatasa ácida (ACP) por métodos enzimáticos y antígeno carcinoembrionario (CEA) y alfafetoproteína (AFP) por radioinmunoanálisis. Paralelamente en tejido mamario sano se realizaron las mismas analíticas (grupo control).

• **Resultados:** Las enfermas cancerosas ER+ tienen mejores supervivencias globales que las ER-. Otros factores pronósticos positivos son la ausencia de ganglios axilares afectos ($p < 0.1$) y el estado postmenopáusico ($p < 0.05$). Tienen mejor pronóstico las pacientes ER+ con LDH y PHI citosólicas elevadas. Asimismo, mejor pronóstico las enfermas ER- con ALP sérica < 90 ml.

• **Conclusiones:** Se aconseja deteminar LDH, PHI, y CEA en el citosol junto con los receptores estrogénicos y CEA y ALP séricos como ayuda para el pronóstico de la enfermedad.

Palabras clave:

Receptores estrogénicos. Marcadores tumorales. Supervivencia.

Oncología, 1995; 18 (12):619-625

* Servicio de Laboratorio.

** Servicio de Cirugía.

Summary

- **Purpose:** The relationship and pronostic value of some tumor markers in serum and cytosol and estrogen receptors in 53 primary breast cancer patients have been studied.
- **Materials and Methods:** ER were analyzed by DCC method. Lactate dehydrogenase (LDH), phosphohexoseisomerase (PHI), alkaline fosfatase (ALP), total acid phosphatase (ACP) were analyzed by enzymatic methods and carcinoembryonic antigen (CEA) and alphafetoprotein (AFP) by immunoradiometric assay. The same test were realized in normal breast tissue (control group).
- **Results:** The cancer patients with ER+ have better overall survival than ER- patients. Other positive prognostic factors are negative axilar nodal status ($p < 0.1$) and postmenopausal status ($p < 0.05$). The prognostic of patients with ER+ and elevated cytosolic LDH and PHI is better than ER+ patients with normal LDHc and PHlc. likewise ER- and serum ALP < 90 U/ml patients have better overall survival than patients with ER- and ALP > 90 U/ml.
- **Conclusions:** The determinations of LDH, PHI, CEA and ER in cytosol and CEA and ALP in serum are considered as pronostics factors in breast cancer.

Key words:

Estrogen receptors. Tumor markers. Global survival.

Introducción

La utilidad clínica de los marcadores tumorales determinados en suero consiste en la posibilidad de monitorizar la evolución del tumor. No obstante, sus aplicaciones en el diagnóstico y pronóstico son muy limitadas.

Sin embargo, se ha descrito la utilidad de la determinación de los marcadores tumorales en el propio tumor, ya que existe, como en el caso del antígeno carcinoembrionario tumores productores pero no secretores. Así como casos positivos para un MT en tejido y negativos en suero que presentan elevación sérica al aparecer las metástasis^{1, 2, 3, 4}. Parece observarse que la presencia de un marcador tumoral en suero depende en primer lugar, de su producción tisular y en segundo lugar de la extensión de la enfermedad. Del mismo modo, se han descrito elevaciones de enzimas glicolíticas como PHI y LDH así como la relación existente entre su actividad tisular y/o sérica y el tamaño tumoral³.

Molina, et al., 1986,⁵ encontraban niveles de CEA significativamente mayores en el citosol tumoral de tumores con receptores hormonales positivos.

En un trabajo previo informábamos de la relación entre algunos M.T. determinados en el citosol tumoral y la relación con los receptores hormonales⁶. En el presente trabajo hemos revisado estos casos para evaluar la influencia de los parámetros séricos y citosólicos en la supervivencia de estas pacientes y ver su posible valor pronóstico.

Material y métodos

Pacientes estudiados

Entre 1983 y 1984 determinamos receptores hormonales en el citosol de 53 pacientes afectas de cáncer de mama confirmadas histológicamente. Asimismo, en el citosol y en el suero de estas enfermas se determinaron la láctico deshidrogenasa (LDH), fosfohexosaisomerasa (PHI), fosfatasas alcalinas (ALP), fosfatasas ácidas totales (ACP), alfafetoproteína (AFP) y antígeno carcinoembrionario (CEA).

Paralelamente se recogió tejido mamario sano procedente de dieciocho mujeres que se sometieron a mamoplasias de reducción y que no tenían patología mamaria en distintos centros hospitalarios. Se tomaron estas muestras como grupo control, realizándose en ellas las mismas determinaciones analíticas que se realizaron en las muestras tumorales.

A las pacientes cancerosas se les tomaron datos de edad, estado menstrual, número de hijos, lactancia natural, nódulos axilares metastásicos, tipo histológico.

Las edades de las mujeres sanas estaban comprendidas entre los 19 y 57 años, siendo la media de 34.9, la desviación estándar de 10.9 y la mediana de 34 años. Para las mujeres cancerosas las edades estaban comprendidas entre 32 y 84 años con media de 57.3, desviación estándar de 12.2 y una mediana de 57 años. Entre las pacientes cancerosas, 37 de ellas tenían una media de tres hijos y dieciseis eran

nulíparas, 44 postmenopáusicas y nueve premenopáusicas.

El estadio tumoral en el momento del diagnóstico fue: estadio I: 5.6%, estadio II: 49%, estadio III: 35.8% y estadio IV: 9.4%.

En cuanto al tipo histológico, el predominante fue el carcinoma ductal infiltrante con 41 enfermas (77.4%).

Se compararon subgrupos en función del estado del receptor, así como de los parámetros estudiados.

Métodos analíticos y estadísticos

La cuantificación de receptores de estradiol (ER) en tejido mamario, tumoral y sano, se realizó por el método de absorción con carbón dextrano. Como ya se ha expuesto anteriormente, este trabajo fue comenzado en 1983 y esta técnica era la que recomendaba la EORTC⁷. Aunque Jensen et al., en 1982⁸ habían publicado un trabajo en el que utilizaban anticuerpos monoclonales contra diferentes determinantes antigénicos del receptor, esta metodología no estaba desarrollada comercialmente en 1983. Asimismo, numerosos grupos de trabajo consideraban que valores menores de 3 fmol/mg de proteína de citosol eran negativos, y los comprendidos entre 3 y 10 fmol/mg de proteína de citosol eran dudosos o borderline. Otros grupos establecían el valor de corte en 3 fmol/mg de proteína de citosol^{9, 10}. En nuestro trabajo se optó por tomar como cut-off la cifra de 6 fmol/mg de proteínas de citosol para eliminar la zona de incertidumbre y unificar las pautas terapéuticas.

Para la determinación de LDH, PHI, ALP y ACP se emplearon métodos enzimáticos (Boehringer Mannheim), realizándose en un autoanalizador Hitachi 705. Los valores séricos de referencia con las técnicas utilizadas son: de 160 a 320 U/l para LDH, de 19 a 95 U/l para PHI, de 73 a 207 U/l para ALP y de 3 a 3,7 U/l para ACP.

Para la determinación de CEA y AFP se utilizaron métodos inmunoradiométricos en fase sólida (IRMA) con yodo 125 (CIS). Los valores de normalidad para el suero con estas técnicas son: de 0 a 5 ng/ml para CEA y de 0 a 14 ng/ml para la AFP.

Los métodos estadísticos empleados son los generales en estadística descriptiva. Para la comparación de dos grupos se ha empleado el test no paramétrico de Mann-Whitney, debido a que la población cancerosa no se ajusta a las características de normalidad de una distribución (distribución normal de Gauss). Para la comparación de más de dos grupos se ha aplicado el test no paramétrico de Kruskal-Wallis por el mismo motivo.

Las tasas de supervivencia han sido calculadas por el método de Kaplan-Meier, y para la comparación de

supervivencias en dos subgrupos el test Log-rank. Como fecha de origen se ha tomado la fecha de la cirugía en la cual se recogió la muestra para receptores y M.T.; y como fecha de la última observación la fecha de defunción, en los casos fallecidos, y en los otros casos, la última fecha de revisión. El período de seguimiento ha sido de 9 y 10 años.

Resultados

Un 37,7% de las mujeres cancerosas tenían ER positivos con una media de 26,9 fmol/mg de proteína de citosol y en las mujeres sanas se obtuvo un 16,6% de ER+, con valores medios de 16,7 fmol/mg de proteína de citosol. El porcentaje de ER+ en las mujeres postmenopáusicas fue de 36,3 y de 44% en las premenopáusicas (tabla I). Asimismo, la proporción de ER+ en el

TABLA I

Distribución de receptores de estradiol según el estado menstrual				
Grupo	Est. menstrual	n° casos	% ER+	x
control	premenopáusica	15	13.3	16.2
	postmenopáusica	3	33.3	·*
cáncer	premenopáusica	9	44	24.4
	postmenopáusica	44	36.3	52.1

* un solo caso

%ER+ = porcentaje de receptores estradiol positivo

x = media de proteína receptora en fmol/mg de proteína

grupo de enfermas sin nódulos axilares fue de 28,5% frente a un 57,8% en las enfermas con nódulos axilares positivos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores medios de ER en el grupo de mujeres cancerosas al estudiarlas en función del su estado menstrual, ni del número de hijos, ni lactancia natural. No obstante, se observaron diferencias entre los valores medios de ER en las enfermas sin nódulos axilares metastásicos y las de nódulos positivos siendo los valores mas bajos en el primer grupo (p<0.05).

La supervivencia global para el grupo ER+ es de 65% a los seis años y de 49.2% a los diez años y de 52.4% a los seis años y de 33% a los diez años para el grupo ER-. Aunque las supervivencias son menores para el grupo de receptores negativos no hay diferen-

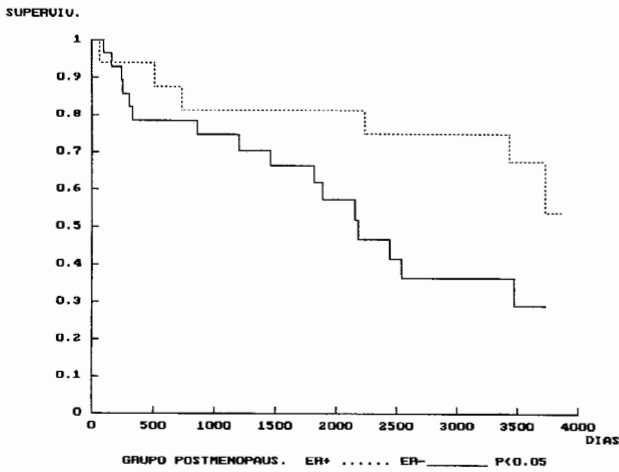


Fig. 1. Superviv. en función de receptor en postmenop.

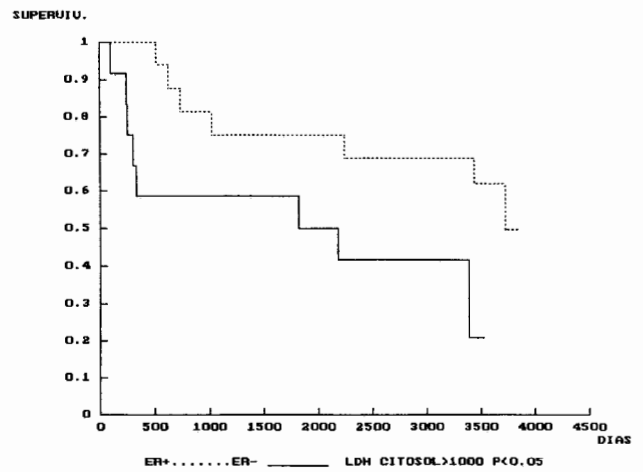


Fig. 2. Supervivencia receptor/LDH citosol.

cias estadísticas en función de las supervivencias en estos dos grupos de ER. Hay diferencias casi significativas entre los grupos de ER cuando no tienen ganglios axilares afectados siendo la supervivencia mayor para el subgrupo de ER+ y No ($p < 0.1$).

Asimismo, en las enfermas postmenopáusicas las que tienen receptores tienen mayores supervivencias ($p < 0.05$) (fig 1).

Los valores medios séricos de LDH, PHI, ALP, ACP, CEA y AFP en las enfermas cancerosas son mayores que los valores medios séricos en las mujeres sanas y los valores tisulares de estas variables, tanto en tejido mamario sano como en el tumoral, son mayores que los valores séricos. Los valores tisulares de referencia obtenidos en el grupo control son los siguientes: LDH de 70 a 2030 U/ml, PHI de 240 a 2530 U/ml, ALP de 0 a 274 U/ml, ACP de 1.3 a 71 U/ml, AFP de 0 a 6 ng/ml y CEA de 1.8 a 6.5 ng/ml.

En el caso del CEA se ha hallado una frecuencia de elevaciones tisulares del 67.7% para los tejidos tumorales frente a un 21.6% para los valores séricos de las mismas pacientes.

En los citosoles se obtuvieron valores significativamente mayores en los tumores hormonodependientes ER+ en el caso de LDH y PHI con $p < 0.05$ y casi significativo en el caso de CEA y ACP ($p < 0.1$). En el subgrupo ER+ y LDH citosólica > 1000 U/ml la supervivencia es mayor que en el subgrupo ER- y LDH > 1000 ($p < 0.05$) (fig. 2).

Asimismo, los valores medios citosólicos de CEA son significativamente mayores en las enfermas con metástasis ($p < 0.05$); los valores medios citosólicos de PHI son mayores en las enfermas con metástasis óseas ($p < 0.1$), siendo además la supervivencia de las pa-

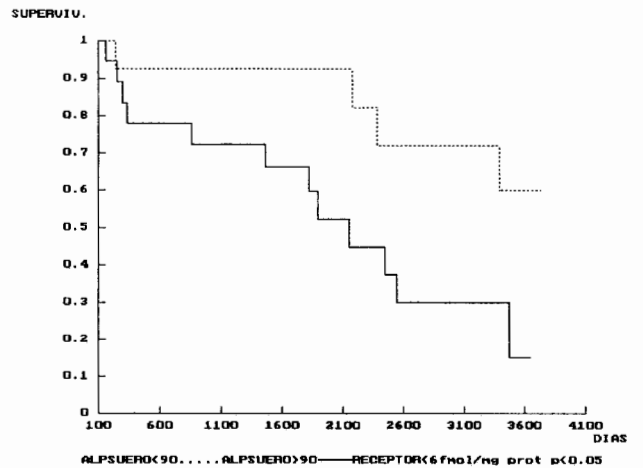


Fig. 3. Supervivencia alpsuero/receptor negativo.

cientes con enfermedad localizada significativamente mayor que las que padecen enfermedad metastásica ($p < 0.001$). Con respecto a las demás variables estudiadas en el citosol, no se han encontrado hallazgos estadísticos.

En el suero se han encontrado diferencias significativas en los valores medios de CEA en los subgrupos de receptor, siendo los valores medios de CEA mayores en el subgrupo que tiene receptores positivos ($p < 0.05$), no obstante, al hacer el estudio de supervivencia no hay diferencias estadísticas.

En función del estado de la enfermedad los valores medios de LDH y PHI séricos son mayores en la enfermedad no metastásica que en las recidivas. Para las ACP séricas los valores medios son significativamente

menores en el primer caso ($p < 0.05$). No obstante, no hay diferencias en las supervivencias.

Son casi significativamente mayores las supervivencias en las mujeres postmenopáusicas con ALP sérica menor de 90 U/ml ($p < 0.1$).

Cuando se estudian las supervivencias de las pacientes con receptores negativos, aquellas cuyas ALP séricas son menores de 90 U/ml tienen mayor supervivencia que las ER- con valores séricos de ALP > 90 ($p < 0.05$) (fig 3).

Discusión y conclusiones

La determinación de receptores hormonales en el tumor primario de mama es una práctica rutinaria para establecer el tratamiento adecuado de la paciente. Su determinación sistemática en los laboratorios comenzó a finales de los años 70, potenciándose en la de los 80. Se pensaba que además de orientar hacia el tratamiento tendrían un importante valor pronóstico, en la medida que la hormonodependencia tumoral implicaría menor desdiferenciación de la célula cancerosa. Se intentaba, asimismo, estudiar los posibles factores hormonales previos que hubieran podido influir en la aparición del tumor relacionándolos con la existencia de receptores.

Nuestro estudio comenzó, como ya se ha mencionado, en 1983 y se obtuvo un 37.7% de ER+ en las mujeres cancerosas. Este porcentaje es de orden similar a los obtenidos por Jensen *et al.*, 1971, 46%¹¹; Leclercq *et al.*, 1983, 46.5%¹²; Pinotti *et al.*, 1986, 43.5%¹³; ligeramente superior al 32.5% de Wittliff *et al.*, 1972¹⁴ e inferior a los de Allegra *et al.*, 1980, 61%¹⁵; Brooks *et al.*, 1980, 77%¹⁰ entre otros. Hemos comparado nuestros resultados con estos grupos de trabajo por haber empleado la misma metodología y haberse realizado en la misma época no obstante existen diferencias en los resultados, procedentes de los posibles errores en todos y cada uno de los pasos del protocolo que, aunque estaban estandarizados por la EORTC⁷, daba diferencias entre los laboratorios. Esta observación la confirma el control de calidad llevado a cabo por el Comité Italiano en el que los coeficientes de variación entre 50 laboratorios oscilaron entre 22.9% y 46.4%¹⁶.

Hay estudios que dieron a los receptores un valor pronóstico, observando que el tumor ER negativo evoluciona con frecuencia hacia una recidiva precoz^{17, 18}. No obstante, otros investigadores no coincidían con esta afirmación¹⁹. En nuestro trabajo no encontramos diferencias estadísticas en la supervivencia entre el grupo ER positivo y ER negativo, sin embargo las pacientes con receptores negativos tienen menor porcen-

taje de supervivencias, para los mismos años, coincidiendo esta observación con los resultados de Calero *et al.*, 1991²⁰, Growe *et al.*, 1991²¹ entre otros.

En cuanto a los resultados obtenidos en función de la situación hormonal, la frecuencia de ER+ en las pacientes cancerosas premenopáusicas fue de 44% con valores medios de 24,4 fmol/mg de proteína de citosol, y en las pacientes cancerosas postmenopáusicas fue de 36,3% con valores medios de 52,1 fmol/mg de proteína de citosol. El porcentaje de ER+ en las enfermas postmenopáusicas es inferior al obtenido por la mayoría de autores^{13, 17, 20, 22}. Aunque es cierto que una alta proporción de pacientes postmenopáusicas tienen tumores ER+ comparados con las pacientes premenopáusicas esta asociación parece ser dependiente de la edad obteniéndose valores más elevados en las mujeres mayores^{21, 22, 23}. En nuestro trabajo los valores medios de ER obtenidos en el grupo de pacientes postmenopáusicas son mayores de los valores medios en el grupo de las enfermas premenopáusicas, asemejándose los valores medios de ER+ en este último grupo a los de las mujeres del grupo control en el que la mayoría son premenopáusicas.

Encontramos también mayores supervivencias en las enfermas postmenopáusicas y ER+, coincidiendo con otros autores²¹.

No se han tenido en cuenta en este estudio los tipos de tratamientos recibidos, que pueden influir en las supervivencias, puesto que el objetivo de este trabajo es evaluar los parámetros de laboratorio. No obstante, la supervivencia global esta en función del estadio del tumor en el momento del diagnóstico y el factor pronóstico más importante para los casos de enfermedad inicialmente localizada, sigue siendo la afectación ganglionar, pero cada vez se van delimitando otros factores citológicos, histológicos y clínicos. Observamos mejores supervivencias globales para el grupo de enfermas sin ganglios axilares afectados y receptores estrogénicos positivos así como, los valores medios de ER son más altos en el grupo sin ganglios afectados que los N+. Del mismo modo, Martínez *et al.*, 1994, observan disminución de las concentraciones medias de ER en los tumores con afectación ganglionar²⁵.

Con respecto al resto de marcadores estudiados, esperábamos que los valores tisulares fueran mayores que los séricos ya que LDH, PHI, ALP y ACP son enzimas intracelulares y al homogenizar el tejido para la determinación de receptores se rompen las membranas celulares liberándose las mismas. Ya se había descrito incrementos de actividad de LDH y PHI en patología tumoral, así como la relación de la actividad tisular y/o sérica con la extensión tumoral^{26, 27}. En nuestro trabajo previo habíamos observado que los valores

medios séricos de LDH y PHI eran mayores en el grupo de enfermas receptores positivos sugiriendo el control hormonal de estas enzimas⁶. Al realizar ahora los estudios de supervivencia se podría confirmar esta hipótesis ya que la asociación ER+, LDH>1000 tiene mayores supervivencias y podría indicar mayor diferencia con celular y mejor pronóstico.

Las mayores supervivencias en las enfermas con ALP séricas bajas podrían interpretarse como ausencia de micrometástasis.

En cuanto al CEA, ya se habían observado que los tumores mamarios que mostraban altos niveles de CEA se asociaban más frecuentemente a tumores con contenido en receptores de estradiol positivos que con ER negativos²⁸. Sin embargo, estas relaciones no eran estadísticamente significativas. Nosotros también observamos estas diferencias sin significación estadística. Observamos además, asociación entre altos valores de CEA tumoral y la existencia de metástasis a distancia.

Resumiendo, se puede concluir que la determinación de receptores estrogénicos es de utilidad para el establecimiento de la terapia, teniendo además, mejor pronóstico las enfermas receptor positivo, sin ganglios axilares y estado menstrual postmenopáusico.

Asimismo parece aconsejable, junto con la determinación de receptores determinar también la LDH, PHI y CEA en el citosol tumoral, así como el CEA y ALP en el suero.

Correspondencia:
Dra. B. Ortiz Muñoz
Servicio de Laboratorio
Instituto Valenciano de Oncología (I.V.O.)
C/ P. Beltrán Báguena, 8
46009 Valencia

Bibliografía

1. Wahren B, Lidbring E, Eallgreen A, Eneroth A, Zjizek JC. Carcinoembryonic antigen and other tumor marker in tissue and serum or plasma of patients with primary mammary carcinoma. *Cancer*, 1978; 1870-8.
2. Cove DH, Woods KL, Smith SCH, Burnett D, Leonard J, Grieve RJ, et al. Tumor marker in breast cancer. *British Journal of cancer*, 1979; 40:710-714.
3. Molina R. Marcadores tumorales en el cáncer de mama. Estudio tisular y sérico. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona, 1990.
4. Von Kleist S, Witterkind C, Sandritter W. Tissue positivity in mammary carcinoma relative to the histologic type and CEA serum positivity. Report on the Cologne Symposium of November 26th, 27th 1980 on Carcinoembryonic Antigen (CEA) and other tumor markers.
5. Molina R, Ballesta AM, Filella X, Nolla M, Gavarro A, Gual J, Balague A. Interés de la dosificación tisular de CEA como parámetro pronóstico. Comparación con el CEA sérico. Libro de resúmenes del I Congreso Nacional conjunto de las Sociedades Oncológicas Españolas. Valencia 10-12 de Diciembre de 1986; pág. 289.
6. Ortiz B, Sanjuan LF, Caldeón J, Cabo J. Receptores estrogénicos y marcadores tumorales en el suero y citosol de tumores de mama. *Oncología*, 1993; 16 (4):159-166.
7. EORTC. Breast Cancer Cooperative Group. Revision of the standards for the assesment of hormone receptors in human breast cancer. Report of the seconds EORTC workshops held on 16-17 march 1979 in the Netherlands Cancer Instite. *Eur J. Cancer*, 1980; 16:1513-5.
8. Jensen EV, Greene GL, Closs LE, Desombre ER, Nadji M. Receptors considered: a 20 years perspective. *Recent Prog Horm Res*, 1982; 38:2-35.
9. Kiang DT, Freening DH, Gay J, Goldman AI, Kennedy BJ. Estrogen receptors status and response to chemotherapy in advanced breast cancer. *Cancer*, 1980; 46:2814-2817.
10. Brooks SC, Saunders DE, Singha Kowinith H, Vaitkevicius WK. Relation of tumor content of estrogen and progesterone receptors with response of patients to endocrine therapy. *Cancer* 1980; 46:2775-2778.
11. Jensen EV, Block GE, Smith S, Kyseer K, De Sombre ER. Estrogen receptors and breast cancer response to adrenalectomy. *Natl Cancer Ins Monogr*, 1971; 34:55-70.
12. Leclerq G, Heuson JC, Schoenfeld WH, Matthe E, Tagnon M. Estrogen receptors in human breast cancer. *Eur J Cancer* 1973; 9 (9):665-673.
13. Pinotti JA, De Pisani RC, Texeira LC, Bartos S. Estrogen receptors in benign and malignant breast diseases. *Dev Oncol*, 1986; 49:157-172.
14. Wittliff JL. Steroid hormone receptors in breast cancer. *Cancer*, 1972; 53:630-643.
15. Allegra JC, Lippman ME, Tomson EB. Estrogen receptor

- status: an important variable predictin response to endocrine therapy in metastatic breast cancer. *Europ J Cancer*, 1980; 16:323-331.
16. Piffanelli A, Giovannini G, Pelizzola D, De Bortoli M. Estrogen and progesterone measurement and its Quality Control in breast cancer: a reapraisal. *The Int J Biol Markers*, 1986; 16:15-28.
 17. Del Moral R, Ruiz de Almodovar JM, Villalva J, López Ruiz JM, Expósito J, et al. Supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en cáncer de mama. Factores de Influencia. *Oncología*, 1989; 12:83-92.
 18. Wiklaner O, Fermo M, Hafström LO, Norgren A, Ryden S. Correlación del estado del receptor hormonal con el pronóstico en el cáncer de mama. Revisiones del Cáncer Endocrinodependiente. *Actas del Sysmposio Internacional de Niza*. Sep 1980.
 19. Parl FF, Schmltdt BP, Dupont WD et al. Pronostic significance of estrogen receptor status in breast cancer relation to tumot stage, axillary-node metastasis and histopatologic grading. *Cancer*, 1984; 54:2237-41.
 20. Calero E, Inocente JM, González P, Gómez F, Ramón N, et al. Pronóstico del cáncer de mama en función del estado de los receptores de estrógeno y progesterona. *Actualidad Obstetrico-Ginecológica*, 1991; 3 (4):166-174.
 21. Growe JP, Gordon NH, Hubay CA, Shenk RR, Zollinger RM, et al. Estrogen receptor determination and long term survival of patients with carcinoma of the breast. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1991; 173 (4):273-8.
 22. Helin HJ, Isola JJ, Helle ML, Aldercreniz H. Influence of endocrin status on biochemical and immunocytochemical estrogen and progesterone receptor assays in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*, 1988; 12:67-73.
 23. Salazar EL, Paredes A, Calzada L. Estradiol, progesterona y dexamentasona en carcinoma ductal ductal infiltrante. *Ginecol Obstet Mex*, 1994; 62:48-51.
 24. Rosen MD, Lesser ML, Senie MA, Menéndez Botet L, Schwartz MK. Receptores estrogénicos y patología del cáncer mamario. Revisiones Cáncer Endocrinodependiente. *Actas del Symposio Internacional de Niza*. Sep 1980.
 25. Martínez M, Aparicio J, Larrodera L. Relación de los receptores hormonales con las características clínicas del cáncer de mama. *Análisis Clínicos* 199; 77 (1):171-5.
 26. Molina R, Ballesta AM. Enzimas y cáncer. *Laboratorio*, 1984; 78:597-620.
 27. Paulick R, Caffier H, Paulick M. Comparison of serum CEA PHI and TPA as tumors markers in breast cancer patients. *Cancer Detect Prev*, 1987; 10 (3-4):197-203.
 28. Persijn JP, Korsten CB. Carcinoembryonic antigen, oestrogen receptors and androgen receptors in human breast tumors. *J Cli Biochem*, 1977; 15:553-55.