

# Receptores esteroideos en el aparato genital de la mujer climatérica

F. R. Pérez-López y  
C. Campo López

*Departamento de Obstetricia y Ginecología  
Hospital Clínico Universitario, Zaragoza.*

## INTRODUCCION

La menopausia es precedida por un período de duración variable caracterizado por una reducción en el número de ovocitos, alteración de la secreción de inhibina y folistatina, aumento de la secreción de hormona foliculoestimulante y ausencia o retraso en la aparición del pico preovulatorio de hormona luteoestimulante, una producción casi normal de estradiol en fase folicular y niveles elevados en fase luteal cuando existe ovulación, y la progesterona está disminuida o casi ausente. Este desequilibrio entre estrógenos y progesterona es de gran importancia en la fisiopatología de algunas molestias premenopáusicas como el síndrome premenstrual, la mastodinia o las irregularidades menstruales, y en la patogenia de algunas enfermedades mamarias y genitales. Llegado el período climatérico postmenopáusico, la disminución de hormonas esteroideas tendrá una mayor traducción clínica a nivel genital y extragenital, y coincidirá cronológicamente con un mayor riesgo y una mayor incidencia de enfermedades orgánicas.

Bajo el control hipofisario, la biosíntesis de hormonas esteroideas es seguida por el paso de hormonas al torrente circulatorio, y es probablemente modificada por la concentración de

proteínas transportadoras circulantes (incluida la sexhormone binding globulin ó SHBG) y la albúmina (e. g. las proteínas transportadoras facilitan el paso de esteroideos a través de la pared capilar). La asociación entre esteroideos y proteínas transportadoras es bastante rápida y depende de las características físico-químicas del esteroide y el sitio específico de unión (1). La proporción de hormona libre circulante es muy limitada (1-3 % de la testosterona y estradiol están libres en la sangre circulante de la mujer), y se admite que esa fracción libre es la biológicamente activa (2). Lógicamente cualquier alteración de los mecanismos de transporte puede determinar alteraciones hormonales con traducción clínica. La mujer postmenopáusica está sometida a cambios en la producción de SHBG que van a condicionar el riesgo de neoplasias. En este sentido, los cambios ponderales influyen notablemente, así la mujer obesa tiene niveles de SHBG más bajos que la delgada, y ello determina mayor cantidad de esteroideos libres. Por tanto, las proteínas de transporte de esteroideos son reservorios hormonales capaces de ejercer efectos homeostáticos según las necesidades de cada órgano diana.

Un segundo factor regulador de la oferta hormonal al tejido diana lo constituye la veloci-

dad del metabolismo y el eventual aclaramiento de hormonas circulantes: un aclaramiento rápido reduce el tiempo de interacción con las células diana y viceversa.

El tercer eslabón de la acción hormonal lo constituye la entrada de hormonas en las células. Aparentemente el paso del espacio extracelular al citoplasma ocurre por difusión simple no selectiva, es decir que células diana y no-diana están expuestas a la misma concentración de hormonas. A finales de la década de los cincuenta se descubrieron las proteínas intracelulares a las que se unen las hormonas esteroideas denominándose "receptores". El estudio de los receptores esteroideos permite conocer el mecanismo de acción hormonal sobre el aparato genital, conocer el mecanismo de carcinogénesis, manipular el mecanismo de crecimiento tumoral y evaluar los efectos de diferentes tratamientos hormonales sobre el aparato genital y áreas extragenitales.

## CARACTERISTICAS DE LOS RECEPTORES ESTEROIDEOS

Los receptores esteroideos se encuadran en una superfamilia de proteínas encargadas de regular la transcripción genética, en la que se in-

cluyen también los receptores de la hormona tiroidea, de la vitamina D3, del ácido retinoico, y del oncogen C-erb-A. Todos ellos comparten 3 propiedades: fijarse a un ligando hormonal, unirse a secuencias específicas de DNA y modificar la actividad transcripcional de genes específicos (3). La homología entre los receptores esteroideos y ciertos oncogenes ha permitido especular sobre la relación entre hormonas esteroideas y carcinogénesis (4).

Las células diana contienen dos tipos de uniones citoplasmáticas: tipo I en cantidad limitada pero con marcada especificidad y alta afinidad para cada hormona, y tipo II presente en mayor cantidad pero con una afinidad y espe-

cificidad considerablemente menores. Por ejemplo, los receptores de estrógenos tienen alguna afinidad por todos los esteroides, mientras que la progesterona se une a su receptor de forma menos específica que los estrógenos. La unión de las hormonas esteroideas a sus respectivos receptores citoplasmáticos determina la aparición de un efecto biológico.

El mecanismo de interacción de las hormonas esteroideas con el receptor fue sugerido, independientemente, por Jensen et al. (5) y Gorski et al. (6) en 1968, y se denominó mecanismo de dos pasos. La hormona esteroidea difunde a través de la membrana celular por difusión pasiva, se une al receptor citoplasmático, el comple-

jo hormona-receptor activado pasa al núcleo y la unión del mismo a la cromatina nuclear provoca síntesis de proteínas citoplasmáticas. La actividad biológica se mantiene mientras el punto de unión nuclear está ocupado por el complejo. Los dos factores citoplasmáticos que intervienen en la respuesta biológica son: la formación del complejo hormona-receptor y la unión del mismo a la cromatina nuclear y la velocidad de transcripción del complejo hormona-receptor. Sin embargo, la obtención de anticuerpos contra los receptores citoplasmáticos de diferentes hormonas esteroideas, la identificación de los receptores de los genes mensajeros y de los genes implicados en la síntesis de proteínas han cuestionado algunos aspectos y h-

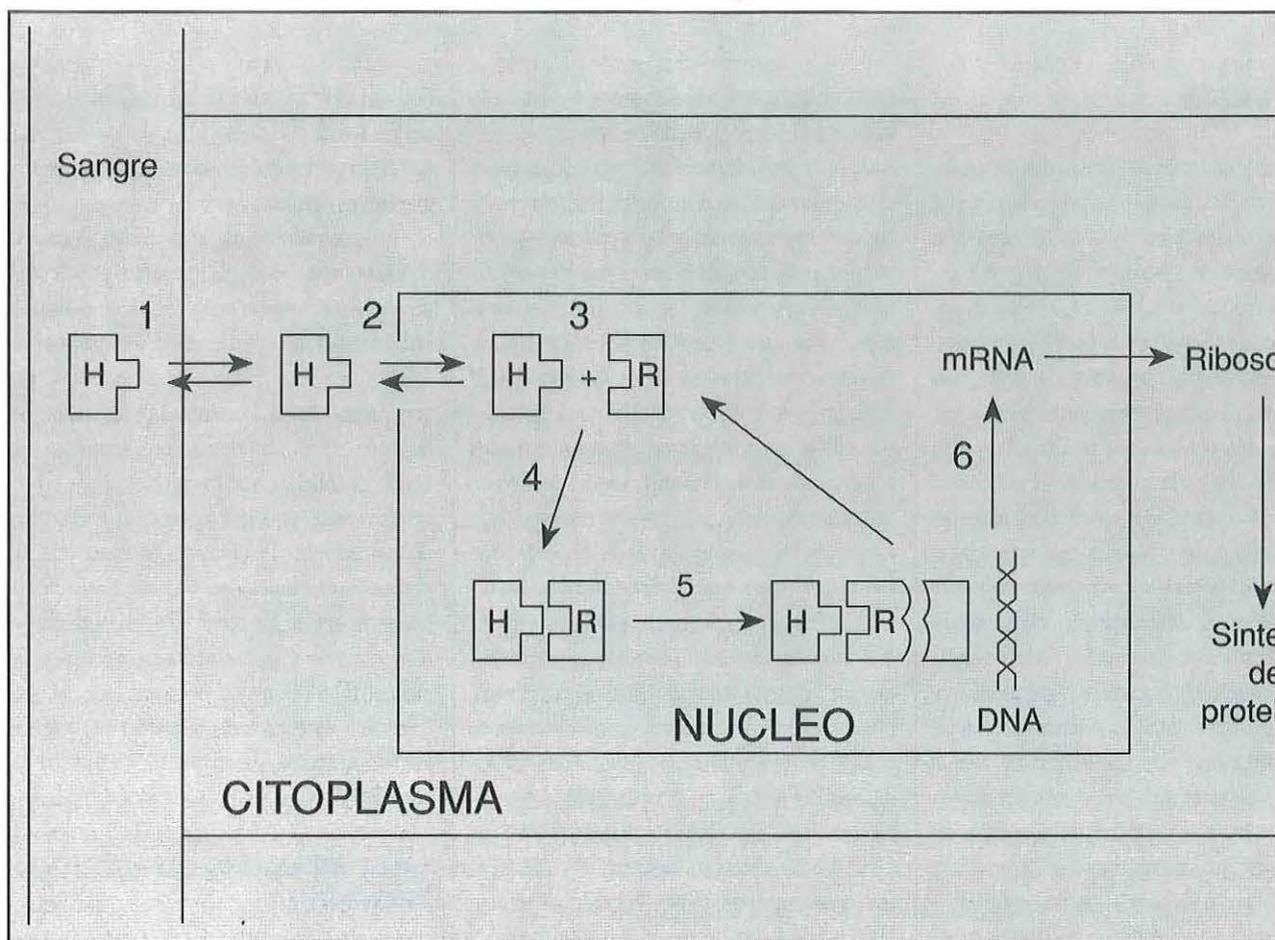


Fig. 1: Mecanismo de acción según la teoría del receptor nuclear: 1) entrada de la hormona (H) en el citoplasma, 2) difusión de la hormona en el núcleo, 3) unión de la hormona al receptor (R), 4) formación del complejo hormona-receptor (H-R), 5) activación del complejo hormona-receptor y unión del complejo al sitio aceptor nuclear, 6) transcripción y síntesis de mRNA.

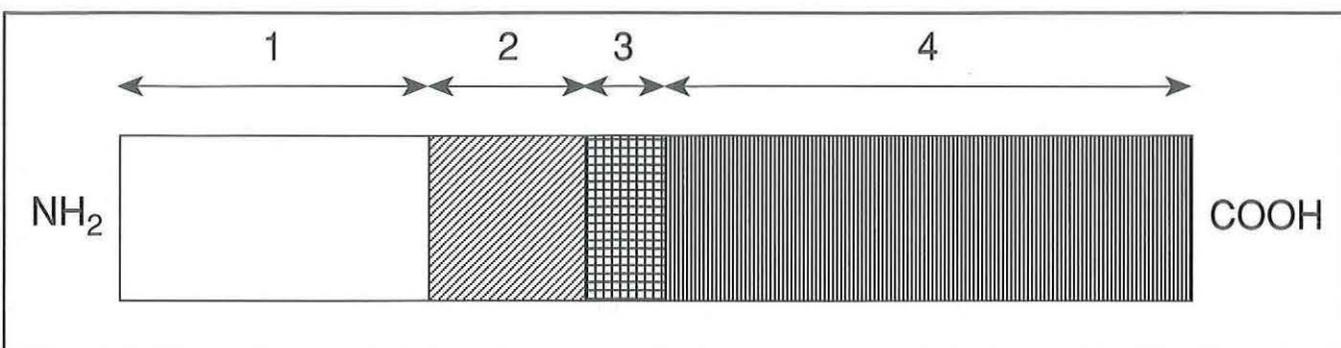


Fig. 2: Dominios del receptor de estrógenos y del receptor de progesterona: 1) región inmunorreactiva, 2) región de unión al DNA, 3) región "bisagra", 4) región de unión a la hormona.

mado otros dogmas de este modelo clásico en dos pasos.

En la actualidad el concepto de un equilibrio de receptor citoplasmático-nuclear a favor del primero en ausencia de hormona y del segundo en su presencia, es erróneo para los receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP) y receptores de glucocorticoides (RG), teniendo en cuenta las aportaciones de los últimos años (7-11). Se ha demostrado que los RE y los RP se encuentran en el núcleo, tanto si están ocupados por hormona esteroidea como si están libres de ella. Mediante técnicas inmunohistoquímicas y autorradiográficas con anticuerpos contra los receptores, se han detectado RE y RP mayoritariamente en el núcleo y parece que sólo un 5% de la población de receptores está en el citoplasma. Estudios realizados en cultivos de adenohipófisis indican que la principal localización de los RE, RP y RG es el núcleo celular (12). Posiblemente, la localización citoplasmática de los receptores sea un artefacto metodológico de las técnicas autorradiográficas convencionales (13), y que los experimentos con homogenización producirían la liberación artificial de receptores libres (10, 11). Molinari et al. (14) han demostrado, trabajando a 25 C sin congelar ni enfriar el tejido ni el homogenizado durante los pasos de la preparación del citosol, que el receptor de estradiol está presente esencialmente en la fracción

nuclear. Aceptando que la mayoría de los RE y RP libres están en el núcleo podemos cuestionar muchos de los resultados publicados determinando receptores en homogenizados de citosol. Considerando la teoría del receptor nuclear, la hormona atraviesa directamente al citoplasma y tras cruzar la membrana nuclear se une al receptor. El receptor se activa y el complejo hormona-receptor se une al receptor nuclear produciéndose la síntesis de RNA y la síntesis proteica (figura 1).

En la actualidad se admite la probabilidad de varias formas moleculares de receptores. En el caso de los RE se admite la existencia de dos estados funcionales distintos: los receptores más grandes, "nativos" o "no transformados", que tienen una baja afinidad por el núcleo (DNA/cromatina), poseen un coeficiente de sedimentación 8-9 S, y constituyen tetrámeros de 320-350 Kdaltons de peso molecular; y los receptores más pequeños, "activados" o "transformados", con una alta afinidad por las estructuras nucleares, son monómeros de 90-100 Kdaltons y tienen coeficiente de sedimentación 4-5 S. En el caso de los RP se han descrito formas de 108 y 79 Kdaltons, pero probablemente sólo la forma de menor peso molecular sea la activa (10, 11, 15-18).

Empleando anticuerpos policlonales y monoclonales contra los RE, RP y RG se ha podido identificar los RNA mensajeros y los DNA y estu-

diar las secuencias genómicas. En estos receptores podemos identificar 4 partes o dominios con zonas extensas de similitud entre los diferentes receptores (3, 10, 19, 20). Los 4 dominios de la estructura molecular proteica de los receptores esteroideos son: el extremo carboxilo-terminal por donde se une la hormona, el extremo aminoterminal que es la zona inmunorreactiva específica para los diferentes receptores, una zona intermedia por la cual el receptor se une al DNA nuclear bastante constante para los diferentes receptores, y una cuarta zona con muchos de los determinantes antigénicos o región "bisagra" que está situada entre las zonas de unión hormonal y de unión al DNA (figura 2).

Los receptores de estrógenos y progesterona cuando están en el núcleo de forma libre no ocupados por hormonas, se componen de las siguientes subunidades: el receptor propiamente dicho, una proteína termolábil o de "choque térmico" (PCT 90) con un peso molecular de 90 Kdaltons, y una proteína nuclear p 59 unida a la proteína de choque término (11, 21).

La regulación del RE y del RPC ha sido ampliamente estudiada: se acepta que los estrógenos actuando sobre los RE provocan síntesis de RE y también de RP, la progesterona bloquea estos efectos de los estrógenos, la prolactina estimula la síntesis de RE en algunos órganos (por ejemplo en la mama) al igual que la insulina, los andrógenos compiten con los estrógenos

para unirse al RE. La unión de la progesterona a su receptor parece menos específica que en el caso de los estrógenos a su respectivo receptor, y los glucocorticoides pueden unirse a los RP (22-25).

**MÉTODOS DE DETERMINACION DE RE Y DE RP**

Los métodos que se han empleado para la determinación de receptores esteroideos han sido numerosos y pueden dividirse en dos grupos: métodos histoquímicos y métodos bioquímicos. Los primeros incluyen la inmunofluorescencia y el sistema de inmunoperoxidasa. Los segundos comprenden la centrifugación en gradiente de sucrosa, la electroforesis en geles de agar y en poliacrilamida, la diálisis de equilibrio, la filtración en gel, la precipitación con sulfato de protamina, la absorción con hidroxilapatita y la técnica del carbón dextrano. De entre todos ellos, el más usado hasta la fecha para la determinación de receptores ha sido el método del carbón dextrano. Dicho método utiliza esteroides ligados a isótopos radiactivos que se unirán al receptor libre de hormona esteroidea. Posteriormente, para separar la hormona libre de la unida al receptor, se utiliza carbón dextrano, se centrifuga, y por medio de un espectrofotómetro se determina la captación de esteroides marcados que se ha producido.

La obtención de anticuerpos monoclonales contra los RE por Greene et al. (26) y contra los RP por Weigand et al. (27) ha permitido desarrollar los métodos de enzimoanálisis basados en el reconocimiento antigénico directo del receptor por su anticuerpo. La determinación de receptores esteroideos usando anticuerpos monoclonales contra el receptor tiene varias ventajas sobre los métodos bioquímicos tradicionales: metodología más simple, menor tiempo para su realización, mayor reproducibilidad con mayores posibilidades de control interlaboratorios, necesidad de menor cantidad de tejido para el ensayo (el carbón dextrano necesita 200-500 mg de tejido), determinación

de la cantidad total de receptor presente en la muestra, esté o no ocupado por hormona esteroidea y, sobre todo, es una técnica más sensible y específica que los métodos clásicos puesto que el anticuerpo se une única y exclusivamente al receptor correspondiente, con lo que se eliminan las uniones no específicas a proteínas de estructuras similar.

Las determinaciones de RE y RP presentadas en este trabajo han sido realizadas mediante enzimoanálisis empleando anticuerpos monoclonales contra los receptores esteroideos (28). Las muestras de tejidos utilizadas para la

destinaba para estudio histológico y se utilizaba para el análisis de receptores. Siempre que se seleccionaba el fragmento de tejido para estas determinaciones, se lavaba con suero fisiológico frío para eliminar los eritrocitos de la sangre que pudieran contaminar la muestra. Posteriormente se eliminaba la grasa y el tejido necrótico. Finalmente, se introducía en un termo con hielo seco para mantenerlo a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Inmediatamente antes de su uso se descongelaba en un baño de agua a temperatura ambiente. En este recipiente se transportaba al laboratorio donde era almacenada a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta que se procedía a su análisis.

Al principio del proceso el tejido co

	RE	RP
OVARIO	7,4±1,4 abc	168,6±24,0 gh
MIOMETRIO	229,5±31,3 de	326,2±47,3 ij
TROMPA DE FALOPIO	95,0±16,4 f	159,0±47,6 k
VAGINA	37,6±7,1	58,3±15,6

EEM= error estándar de la media  
a p< 0,01 versus miometrio  
b p< 0,01 versus trompa de Falopio  
c p< 0,01 versus vagina  
d p< 0,01 versus trompa de Falopio  
e p< 0,01 versus vagina  
f p< 0,01 versus vagina  
g p< 0,01 versus miometrio  
h p< 0,01 versus vagina  
i p< 0,01 versus trompa de Falopio  
j p< 0,01 versus vagina  
k p< 0,01 versus vagina

Tabla 1. Niveles medios ± EEM (fmol/mg de proteína) de RE y RP en diferentes tejidos sanos de mujeres menopáusicas

cuantificación de receptores se obtuvieron directamente de la pieza operatoria, inmediatamente tras la extracción de ésta en el quirófano, con la excepción de las muestras de endometrio sano que se obtuvieron mediante microlegrado. En ambos casos, una parte de la muestra se

se pulveriza con un pulverizador, se congela y posteriormente, se diluye con tampón de homogenización (TRIS base + EDTA + molibdato de sodio + monotioglicerol) a  $-80^{\circ}\text{C}$ , en un baño de ultracentrifugación previamente enfriado. Finalmente se homogeniza el tejido mediante un homogenizador.

de tejidos y se ultracentrifuga a 100.000 x g, durante una hora a 4 °C. El sobrenadante se transfiere a un tubo de vidrio previamente enfriado y se deja sobre hielo. Posteriormente se determina la concentración de proteína y se diluye con tampón de homogenización frío, hasta llegar a 1-2 mg de proteína por ml de sobrenadante. Se practica una determinación de proteína en cada muestra ya diluida y se incluyen muestras de control de calidad.

El ensayo se basa en una técnica de sandwich usando esferas recubiertas de anticuerpo monoclonal de rata antirreceptor. Para la determinación de los receptores de estrógenos las esferas están recubiertas de anticuerpo anti-RE y

éstas se incuban con una solución de sustrato enzimático (peróxido de hidrógeno y ortofenilendiamina-2-ClH) con lo que se desarrolla un color amarillo-anaranjado por la reacción de la solución de sustrato enzimático con la peroxidasa de rábano picante. Dicho color es la medida de conjugado unido a las esferas. La reacción enzimática se suspende por adición de ácido sulfúrico 1N y la intensidad del color desarrollado se mide usando un espectrofotómetro colocado en una longitud de onda de 492 nm. Dicha intensidad de color es proporcional a la concentración de RE presente en la muestra. Se obtiene una curva estándar representado gráficamente la concentración de RE de los estándares frente

como valor límite para considerar una muestra positiva o negativa para aquéllos. En nuestro trabajo consideramos una muestra como positiva para los RE si supera los 20 fmol/mg de proteína y se considera positiva para los Rp si excede de 10 fmol/g de proteína. El método de enzimoimmunoanálisis con anticuerpos monoclonales ha sido validado en relación con el método tradicional del carbón dextrano, encontrando una buena correlación para RE y RP en endometrio sano, pero no se encontró correlación para RP en los carcinomas de endometrio (29). Además, se ha llamado la atención sobre la necesidad de redefinir los conceptos de posibilidad y negatividad con la nueva metodología (30, 31). Recientemente, se ha propuesto sustituir la ultracentrifugación en el procedimiento de enzimoimmunoanálisis por un sistema en fase sólida y centrifugación a 2.600 x g (32).

**NIVELES DE RE Y RP EN TEJIDOS SANOS DE MUJERES CLIMATERICAS**

La experiencia clínica nos demuestra que el tejido endometrial, miometrial y vaginal muestra diferente respuestas al estímulo endógeno y exógeno de las hormonas esteoideas. Después de la administración de estrógenos, la mucosa vaginal atrófica muestra cambios proliferativos en su epitelio basal, mientras que el endometrio responde más lentamente o sólo presenta signos proliferativos parciales. Wiegerinck et al. (33) demostraron, con un método convencional, que la concentración de RE es inferior en citosol vaginal que en el endometrial y en el miometrial. Nosotros hemos encontrado en la literatura datos comparando el nivel de RE y RP en diferentes tramos del aparato genital femenino utilizando los métodos de enzimoimmunoanálisis.

Estudiamos un total de 56 mujeres menopáusicas sanas de las que obtuvimos 15 muestras de ovario, 15 de trompa de Falopio, 12 de miometrio y 14 de vagina. Las concentraciones (media ± error estándar de la media) de RE

se incuban con las muestras, con estándares o con controles adecuados (RE humanos). Durante la incubación el RE presente en las muestras, los estándares o los controles se une al anticuerpo que recubre las esferas. Los materiales no unidos presentes en la muestra se eliminan por aspiración del líquido y lavado de las esferas. Posteriormente se añade un segundo anticuerpo de rata anti-RE que está conjugado con peroxidasa de rábano picante y se incuba con las esferas. Este segundo anticuerpo reconoce un epítopo diferente en el RE y se une a él en la superficie de las esferas. El anticuerpo no unido se elimina lavando las esferas. A continuación

a los valores de absorción. La concentración de RE de las muestras y del control analizados conjuntamente con los estándares puede determinarse a partir de la curva. El procedimiento seguido para la determinación de los RP es en todo idéntico al usado para los RE, salvo que se utilizan esferas recubiertas de anticuerpo anti-RP y conjugados de peroxidasa de rábano picante unidos a anticuerpos anti-RP.

La sensibilidad del procedimiento es de 1,5 femtomoles por miligramo de proteína para los RE y de 1 fmol/mg de proteína para los RP. No existe una concentración de receptores esteroideos universalmente aceptada

	OVARIOS SANOS	TUMORES BENIGNOS	TUMORES MALIGNOS
RE	7,4±1,4 a	8,7±2,2 a	21,2±7,8
RP	168,6±24,0 bc	67,5=21,5	31,0±11,5

EEM= error estándar de la media  
a p< 0,05 versus tumores malignos  
b p< 0,01 versus tumores benignos  
c p< 0,01 versus tumores malignos

Tabla 2: Niveles medios ± EEM (fmol/mg de proteína) de RE y RP en ovarios sanos, en tumores benignos y en tumores malignos de ovario de mujeres menopáusicas.

en los distintos tejidos sanos analizados fue máxima en las muestras de miometrio seguidas, en orden decreciente, por las de trompa de Falopio, vagina y ovario. En la tabla 1 se presentan dichas concentraciones, con las diferencias significativas entre los diversos tejidos. Los niveles de RP alcanzaron el siguiente orden decreciente: miometrio, ovario, trompa de Falopio y vagina, y se presentan en la tabla 1 con sus diferencias significativas.

técnicas bioquímicas convencionales. Con los sistemas de enzimoimmunoanálisis antes descritos determinamos la cantidad total de RE y RP presentes en muestras ováricas, tanto los receptores ocupados por hormona esteroidea como los libres de ella.

Analizamos los niveles de RE y RP en 15 muestras de ovario sano, 12 tumores benignos de ovario y 15 tumores malignos de ovario obtenidas de mujeres postmenopáusicas. Ninguna

	RE±	RP±	RE±/RP-	RE-/RP±	RE-/RP-	RE-/RP-
OVARIOS SANOS	0%	100%	0%	0%	100%	0%
TUMORES BENIGNOS	11,1%	81,5%	11,1%	0%	66,6%	22,2%
TUMORES MALIGNOS	26,3%	68,4%	23,3%	0%	42,1%	31,5%

Tabla 3. Status de los RE y RP en ovarios sanos, en tumores benignos, y en tumores malignos de ovario.

**NIVELES DE RE Y RP EN TUMORES OVÁRICOS**

Numerosos investigadores han demostrado la presencia de receptores de estrógenos y de progesterona en los tumores malignos de ovarios (34-43). Esas observaciones sugieren que alguno de esos tumores pueden ser hormono-dependientes para los esteroides sexuales femeninos. Sin embargo, el tratamiento hormonal en las neoplasias ováricas no es eficaz, siendo el porcentaje de respuestas objetivas inferior al 15% (40, 42, 43). Estas respuestas son pobres cuando se comparan con la frecuencia de los tumores que son positivos para los receptores esteroideos, lo cual indica que nuestros conocimientos sobre las propiedades bioquímicas de las neoplasias ováricas son insuficientes para entender su posible hormonodependencia y, sobre todo, para planificar una terapia hormonal eficaz. Hasta el momento actual la mayor parte de los estudios sobre receptores esteroideos se han llevado a cabo mediante el uso de

de ellas estaba bajo tratamiento hormonal, radioterapia o quimioterapia en el momento de la toma de tejido para análisis de receptores. La tabla 2 presenta los niveles de receptores esteroideos obtenidos en ovarios sanos, en los tumores ováricos benignos y en los tumores ováricos malignos con las diferencias significativas.

En los tumores malignos de ovario de mujeres postmenopáusicas encontramos una concentración de RE significativamente superior que en los ovarios sanos de mujeres postmenopáusicas mientras que la concentración de RP era significativamente inferior que en éstos (tabla 2). Coincidimos en nuestros resultados con Willcocks et al. (44) y Vierikko et al. (45), aunque Galli et al. (36) no encontraron diferencias significativas entre los carcinomas ováricos y los ovarios sanos. Hay que destacar que estos últimos autores mencionados incluyeron en los dos grupos a comparar pacientes pre, peri y postmenopáusicas. Es posible que en el curso de la transformación maligna del tejido ovárico se produzca un cambio en la regulación de los receptores este-

roideos, de tal forma que aumente su nivel en RE pero pierda RP de forma significativa lo cual indicaría que los RE funcionalmente normales pues no son capaces de mantener el nivel de RP.

Cuando comparamos el nivel de receptores esteroideos en los tumores malignos de ovario de pacientes postmenopáusicas con el nivel de receptores ováricos de naturaleza benigna de ovarios también en postmenopáusicas, observamos que la concentración de RE era significativamente superior en el primer grupo mientras que la concentración de RP era menor en los tumores malignos que la diferencia no fue significativa (tabla 3). Estos resultados coinciden con los referidos por Kauppila et al. (46) e Iversen et al. (47) cuando usaron métodos convencionales, que encuentran las mismas diferencias no significativas. Por el contrario, Ko et al. (45) estas diferencias fueron significativas. De nuevo estos datos parecen indicar que la transformación tumoral maligna del tejido ovárico se acompaña de un aumento en la concentración tisular de RE y de un descenso en la concentración de RP, lo que sugiere un defecto funcional del receptor de estrógenos.

Cuando comparamos los niveles de receptores esteroideos en ovarios sanos de mujeres postmenopáusicas con los de mujeres premenopáusicas encontramos diferencias significativas en las concentraciones medias de ambos receptores. Estos resultados coinciden con los referidos por Vierikko et al. (45), empleando métodos convencionales, e indicarían que el tejido sano no sufre variación en el nivel de sus receptores esteroideos con los cambios hormonales que supone la aparición de la menopausia. La concentración de RE fue ligeramente superior en los tumores benignos de ovario que en los ovarios sanos, mientras que la concentración de RP fue significativamente inferior en el grupo de mujeres con ovarios sanos con respecto al grupo con tumores benignos de ovario. La concentración de RE en el grupo de pacientes con ovarios sanos fue significativamente superior a la del grupo de pacientes con tejido ovárico maligno, mientras que los RP

una concentración significativamente superior en el grupo de ovarios sanos que en el de tumores ováricos malignos. Los RE mostraron una concentración significativamente superior en los tumores ováricos malignos que en los tumores benignos, mientras que los RP tuvieron una concentración inferior, aunque no significativa, en los tumores malignos que en los tumores benignos.

Cuando consideramos una población de mujeres pre y postmenopáusicas (48) obtuvimos los porcentajes de positividad y negatividad para ambos receptores que se muestran en la tabla 3. Cuando comparamos la población de RE y RP de las neoplasias ováricas malignas y el estadio clínico en el momento del diagnóstico no encontramos diferencias significativas para ninguno de los dos tipos de receptores. Se agrupan los distintos tipos histológicos de neoplasias malignas en dos categorías: carcinomas endometrioides y resto de tumores, no obtuvimos diferencias significativas con el número de muestras que eran positivas para los RE dentro de cada una de estas categorías y tampoco existieron para los RP. Cuando dividimos nuestras muestras de tumores malignos ováricos en

nignos y malignos de ovario presenta diferencias en las diversas series publicadas que, en gran parte, pueden ser explicadas por los distintos puntos de corte usados por los autores para catalogar a las muestras como receptor-positivas o receptor-negativas.

En los tumores ováricos benignos, de mujeres pre y postmenopáusicas, encontramos un porcentaje de muestras RE positivas de 11,1% y un porcentaje de muestras RP positivas del 81,4% (48). Los resultados publicados en la literatura son muy dispares y varían entre el 0 y el 82% para los RE y entre el 0 y el 100% para los RP (36, 39, 44, 45, 47, 49-53). Dichas diferencias pueden ser atribuidas a los distintos cut-off que oscilaron entre 1 y 20 fmol/mg de proteína para los diversos grupos de trabajo. Tanto en los ovarios sanos como en los tumores benignos de ovario encontramos bajas concentraciones de RE en relación a las de RP que fueron muy superiores. Sin embargo, mientras que la concentración media de RE fue similar en ambos grupos la concentración media de RP fue significativamente superior en el grupo de ovarios sanos y esta diferencia se mantuvo estrati-

	RE+	RP+	RE+/RP+	RE-/RP-	RE-/RP+	RE+/RP-
E. SANO	87,5%	100%	87,5%	0%	12,5%	0%
CARCINOMAS	80%	69,2%	64%	16%	8%	12%

Tabla 5. Estatus de los RE y RP en endometrio sano (E. SANO) y en carcinomas de endometrio

Los carcinomas de ovario que analizamos en mujeres pre y postmenopáusicas mostraron un 26,3% de positividad para los RE y un 68,4% de positividad para los RP y un 68,4% de positividad para los RP (48). Los porcentajes que aparecen en la literatura varían entre el 34% y el 76% para los RE y entre el 13% y el 50% para los RP (35-41, 43, 44, 46, 47, 50-52, 54-56). Para explicar esta disparidad de resultados hay que tener en cuenta que a los diferentes puntos de corte utilizados en cada trabajo hay que unir el hecho de que se analizan series de pequeño tamaño y, además, formadas por tumores de tipos histológicos muy dispares. No encontramos una asociación significativa entre el contenido en receptores y el estadio clínico del tumor maligno en el momento del diagnóstico. La mayor parte de autores que han estudiado esa relación también han sido incapaces de encontrar datos significativos (35, 36, 38, 39, 45, 49, 55) aunque se ha demostrado una mayor incidencia de RE positivos en cánceres en estadios precoces (47, 57). Respecto a la asociación entre contenido en receptores y tipo histológico de la neoplasia ovárica tampoco pudimos hallar una relación significativa. Los datos existentes en la literatura en este sentido son muy confusos sin que se pueda llegar a conclusiones unánimes (38-40, 43, 45, 50, 53, 56-60). Aunque se ha sugerido una mayor frecuencia de RE y RP positivos en tumores endometrioides (40, 43, 61), no parece que exista correlación entre la positividad de receptores y las características histológicas cuando se consideran casuísticas numerosas. Harding et al. (39) y Slotman et

	ENDOMETRIO SANO	CARCINOMAS
RE	104,9±16,3	85,8±17,3
RP	302,1±33,0 a	139,8±35,8

EEM= error estándar de la media  
a p< 0,01 versus carcinoma

Tabla 4. Niveles medios ± EEM (fmol/mg de proteína) de RE y RP en endometrio sano de mujeres en fase lútea del ciclo y en carcinomas de endometrio en mujeres postmenopáusicas

tumores de estirpe epitelial y tumores no epiteliales, tampoco aparecieron diferencias significativas para ninguno de los dos tipos de receptores. La frecuencia de aparición de RE y de RP en el tejido ovárico sano y en los tumores be-

ficando a las pacientes según su estado menstrual. Nuestros resultados coinciden con los publicados por Vierikko et al. (45) aunque en la literatura existen muy escasos datos sobre este tema.

al. (41) han reportado que el pronóstico guarda relación con la presencia de RP mientras que Bizzi et al. (34) creen que la positividad para RE se asocia con una supervivencia mayor, pero no existe evidencia suficiente que indique que los resultados finales mejoren con la manipulación hormonal.

**NIVELES DE RE Y RP EN CARCINOMAS ENDOMETRIALES**

El carcinoma de endometrio es una neoplasia endocrinoindependiente del tracto genital que contiene RE y RP. La concentración de receptores, sobre todo los RP, se ha correlacionado con varias características histopatológicas e incluso dicha concentración se ha propuesto como parámetro pronóstico. Una concentración elevada de RE y RP en la lesión primaria, con independencia de otros factores pronósticos, influyen favorablemente sobre el porvenir de la mujer y suele asociarse con respuesta al tratamiento por gestágenos. Cuando aparecen metástasis o recidivas, después del tratamiento inicial, existe también una correlación entre receptores esteroideos y tiempo de supervivencia (62-68).

Con el fin de estudiar la población de RE y RP en el carcinoma de endometrio analizamos 23 muestras de tumores malignos de endometrio de mujeres menopáusicas y las comparamos con la concentración de receptores en 24 muestras de endometrio sano de mujeres en fase luteal, por la imposibilidad técnica de obtener endometrio sano de mujeres postmenopáusicas. Excluimos todas aquellas mujeres que se encontraran bajo tratamiento hormonal, radioterapia o quimioterapia en el momento de la toma de muestras para la determinación de receptores.

En la tabla 4 se presentan los niveles de RE y RP obtenidos así como las diferencias significativas existentes. La concentración media de RE fue superior, aunque no significativamente, en el endometrio sano que en los carcinomas endometriales. La concentración media de RP

fue estadísticamente superior en endometrio sano que en los carcinomas de endometrio. Neumannova et al. (69) encontraron niveles significativamente inferiores de RE y de RP en los tumores malignos de endometrio que en endometrio sano, utilizando como grupo control endometrio de mujeres premenopáusicas que se encontraban a mitad del ciclo menstrual. La mayoría de los autores encuentran niveles superiores de RE y de RP en el endometrio sano que en las neoplasias endometriales, unos con significancia estadística para los RE (70) y otros sin ella (71, 72). Posiblemente el desarrollo de un carcinoma endometrial implicaría una pérdida de los RP, ya que en ninguna publicación se han descrito diferencias significativas entre las concentraciones de RE pero sí para las de RP. Dicha pérdida se puede interpretar como el cese de una de las funciones, como es la respuesta a las hormonas esteroideas, que posee la célula endometrial sana al sufrir la transformación tumoral.

Cuando consideramos los carcinomas de endometrio en mujeres pre y postmenopáusicas obtuvimos los porcentajes de positividad y negatividad para ambos receptores que se muestran en la tabla 5 (73). Nuestros resultados son similares a los referidos en la literatura tanto en términos de concentración de receptores como en porcentajes de posibilidad de éstos. Así, en diversas series (69-71, 74-80) la concentración de RE de los carcinomas de endometrio varía entre los 43 (79) y los 129 fmol/mg (77) mientras que el porcentaje de positividad lo hace entre el 62% (77) y el 87% (79). Por lo que respecta a los RP, sus concentraciones en distintas publicaciones oscilan entre los 99 (80) y los 610 fmol/mg (77), y el porcentaje de positividad varía entre el 57% (67) y el 90% (79, 81). En cualquier caso hay que tener precaución a la hora de comparar resultados reportados por varios grupos de trabajos, ya que se utilizan puntos de corte diferentes para considerar una muestra como positiva o negativa, que en algunos casos se establece en valores tan altos como 50 fmol/mg de proteína (67). Además,

las técnicas usadas para el ensayo de receptores no siempre son las mismas. Mediante un análisis hemos encontrado una independencia del estatus menopáusico.

	LESIONES BENIGNAS	CARCINOMAS
RE	17,2±5,8 a	149,8±23,6
RP	120,8±23,6	75,1±23,6

EEM= error estándar de la media  
a p< 0,05 versus carcinomas  
b p< 0,01 versus carcinomas

Tabla 6. Niveles medios ± EEM (fmol/proteína) de RE y RP en lesiones mamarias benignas en mujeres con diversos estadios menstruales y en carcinomas de mama en mujeres menopáusicas

los carcinomas de endometrio no mostraron diferencias significativas para ninguno de los tipos de receptores en relación con el estadio clínico en el momento del diagnóstico o con el tipo histológico. No encontramos diferencias significativas entre el número de muestras positivas para los RE ni para los RP en los diferentes grados de diferenciación. La mayoría de los autores encuentran concentraciones progresivamente decrecientes a medida que avanza el estadio (76, 78, 80-82), y lo mismo sucede con la relación entre el grado de anaplasia del tumor y el contenido en receptores (70, 81, 83-85). Unos grupos de trabajo encuentran diferencias significativas pero otros no las encuentran. En general, la concentración de receptores guarda relación con el grado de diferenciación, siendo los tumores diferenciados frecuentemente receptor-positivos y con valores absolutos más altos que los tumores indiferenciados (62, 67, 80, 86). Además, los co-

de endometrio "menos invasivos" suelen tener niveles de RE y RP más altos que aquéllos que están en fases más avanzadas (62). Existe una correlación entre bajos niveles de RE y enfermedad cancerosa avanzada, las recidivas son más frecuentes si los RP son negativos en estadio I que cuando son positivos, y la respuesta a gestágenos es probable en recidivas o en la enfermedad avanzada cuando existen RP (62, 80, 81). En nuestra casuística no encontramos significativas, pero el número de pacientes detrás de cada estadio y grado era pequeño para presentar grandes divergencias. Por lo que respecta a la relación entre el tipo histológico del tumor endometrial y el contenido en receptores, esteroideos existen ciertas controversias en la literatura (69, 80, 81). En los últimos tiempos se ha resaltado la importancia de utilizar la concentración absoluta de receptores antes que la positividad o la negatividad en un punto de corte arbitrario. Palmer et al. (62) sostiene que la concentración de receptores tiene una importancia pronóstica superior que el tipo histológico o el grado de invasión. Apparentemente los tumores con abundantes receptores no sólo tienen un mejor pronóstico sino que, además, dichos niveles guardan relación con la respuesta a la manipulación hormonal en caso de recidiva. En un reciente análisis retrospectivo se ha demostrado que la concentración de RP es un factor pronóstico fundamental, después del estadio clínico, con independencia del tratamiento hormonal (67).

**NIVELES DE RE Y RP EN CARCINOMAS MAMARIOS**

La hormonodependencia mamaria puede afectarse parcial o totalmente en las displasias o en el curso de la transformación carcinomatosa. La determinación de receptores esteroides, sobre todo en el carcinoma mamario, permite establecer tratamientos en función de su concentración. Sin embargo, no existe todavía una forma de selección prospectiva que garantice los resultados óptimos y muchos de los trata-

mientos multicéntricos actualmente en curso consideran la determinación de estos receptores para una posterior evaluación retrospectiva de los resultados finales. La mayor parte de esas investigaciones han utilizado métodos bioquímicos para la cuantificación de los receptores. Las publicaciones sobre las concentraciones de RE y RP totales determinados mediante enzimoimmunoanálisis en tejido mamario son escasas (27, 30, 31, 87).

Analizamos los niveles de RE y RP en 26 tumores malignos de mama de mujeres postmenopáusicas y en 24 lesiones benignas de mama de mujeres en diferentes estados menstruales que sirvieron como grupo de referencia, dada la imposibilidad de obtener un grupo control de tejido mamario sano o un grupo con lesiones mamarias benignas en mujeres postmenopáusicas. Las lesiones benignas incluían 12 tumores benignos y 12 displasias fibroquísticas. Excluimos todas aquellas mujeres que se encontraran bajo tratamiento hormonal, radioterapia o quimioterapia en el momento de la toma de muestras para determinación de receptores.

En la tabla 6 se presentan los niveles de receptores esteroideos obtenidos en los dos grupos de lesiones, así como las diferencias significativas entre ambos. Encontramos una concentración de RE significativamente superior en el tejido canceroso mamario que en las lesiones mamarias benignas. Sin embargo, la concentración media de RP en los tumores malignos fue significativamente inferior a la concentración media de RP en las lesiones benignas. Se ha demostrado (88) que el estradiol sérico en las pacientes portadoras de carcinomas mamarios está dentro los límites normales, pero los porcen-

tajes de estradiol libre están por encima de los normales. Por otra parte, se sabe que los niveles de estradiol en el tejido mamario carcinomatoso son superiores a los encontrados en los tejidos normales (89). Esto supondría un aumento del estímulo de ese esteroide sobre el carcinoma, lo que provocaría una mayor síntesis de RE. Nuestro hallazgo de una concentración significativamente superior de RE en los tumores malignos que en las lesiones benignas de mama apoyaría la hipótesis de un mayor estímulo del estradiol sobre aquellos que sobre éstas. En este sentido coincidimos con otros autores (90, 91), que observaron las mismas diferencias. El nivel de RP fue significativamente inferior en los carcinomas que en las lesiones benignas, lo que indica que el RE de los tumores malignos, a pesar de encontrarse a mayor concentración, es funcionalmente anormal dado que no es capaz de mantener la síntesis de RP. Se debe tener en cuenta que estas diferencias pueden ser debidas a la diferente patología considerada, a la situación menstrual, a la edad, o una combinación de estos factores. Recientemente Wilking et al. (92) han estudiado la influencia de la edad y situación menstrual en mujeres cancerosas, concluyendo que existe un aumento en los niveles de RE, siendo los niveles inferiores en las mujeres premenopáusicas que en las peri o postmenopáusicas de la misma edad, en cambio los RP fueron similares en los diferentes grupos de edad. Es decir, el nivel de receptores esteroides refleja las propiedades biológicas del carcinoma y factores no tumorales como los niveles de hormonas endógenas.

Cuando consideramos los carcinomas de mama en mujeres pre y postmenopáusicas (93),

	RE+	RP+	RE+/RP+	RE+/RP-	RE-/RP+	RE-/RP-
BENIGNOS	22,7%	90,9%	22,7%	0%	68,2%	9,1%
CARCINOMAS	54,8%	63,3%	40%	16,6%	23,3%	20%

Tabla 7. Estatus de los RE y RP en lesiones benignas y carcinomas de mama

los RE mostraron la mayor concentración media en el estadio clínico I seguido, en orden decreciente, por los estadios II y III. Los RP tuvieron la mayor concentración media en el estadio II seguido en orden decreciente por los estadios I y III. Sin embargo, las diferencias no fueron significativas para los RE ni para los RP en los distintos estadios clínicos.

En nuestro material de mujeres pre y postmenopáusicas disponíamos de tres tipos histológicos diferentes de carcinomas mamarios. Los RE mostraron la mayor concentración media en los carcinomas lobulillares infiltrantes ( $477,5 \pm 272,5$  fmol/mg) seguidos, en orden decreciente, por los carcinomas ductales infiltrantes ( $119,0 \pm 21,5$  fmol/mg) y los carcinomas medulares ( $6,8 \pm 6,5$  fmol/mg). Los RP tuvieron la mayor concentración media en los carcinomas ductales infiltrantes ( $86,3 \pm 26,1$  fmol/mg) seguidos, en orden decreciente, por los carcinomas lobulillares infiltrantes ( $18,5 \pm 2,2$  fmol/mg). No obtuvimos diferencias significativas para los RE ni para los RP teniendo en cuenta los distintos tipos histológicos. Los RE mostraron la mayor concentración media en los tumores malignos de grado 1 de diferenciación ( $575,6 \pm 20,3$  fmol/mg) seguidos, en orden decreciente, por los de grados 2 ( $121,1 \pm 46,2$  fmol/mg) y 3 ( $58,0 \pm 28,1$  fmol/mg). Los RP tuvieron la mayor concentración media en los tumores de grado 1 de diferenciación ( $165,6 \pm 90,8$  fmol/mg) seguidos, en orden decreciente, por los de grados 2 ( $123,0 \pm 54,6$  fmol/mg) y 3 ( $21,5 \pm 6,0$  fmol/mg). No obtuvimos diferencias significativas entre el número de muestras positivas para los RP en los distintos grados de diferenciación, pero sí existieron para los RE.

En nuestro material de mujeres pre y postmenopáusicas con carcinomas mamarios encontramos (93) los porcentajes de positividad y negatividad para ambos receptores que se muestran en la tabla VII. En los carcinomas obtuvimos un 54,8% de muestras RE positivas simultáneamente

para RE y para RP. Nuestros resultados coinciden con la mayor parte de los reportados en la literatura (94-101) aunque, nuevamente, debemos tener en cuenta que los cutoff y los métodos de determinación son diferentes en las distintas poblaciones. Foekens et al. (30) establecen el punto de corte en 30 fmol/mg de proteína para los RE y en 27 fmol/mg para los RP usando la misma metodología que nosotros y corresponde el pronóstico de más a menos favorable los RE/RP +/+, +/-, -/+ y -/-. Holmes et al. (31) consideran puntos de corte en 10 y 20 fmol/mg de proteína para ambos receptores medidos también por enzimoanálisis, pero no establecen cuál debe ser el límite entre positividad y negatividad. En la literatura se acepta que no existe correlación entre el estadio clínico y el nivel de receptores (102, 103). En nuestro material tampoco existieron diferencias significativas entre el nivel de receptores y el tipo histológico de carcinoma mamario, y la mayor parte de los investigadores que han estudiado el tema no han sido capaces de encontrar una correlación significativa (103-108). Encontramos concentraciones decrecientes de ambos tipos de receptores a medida que el tumor es más indiferenciado, siendo las diferencias significativas para los RE. Aunque no todos los estudios son concordantes, la tendencia general de los datos reportados en la literatura apunta en el sentido de la aparición de niveles decrecientes de receptores conforme aumenta el grado de anaplasia tumoral. Unos autores (103, 107-109) encuentran diferencias significativas para RE y para RP, mientras que otros (100, 101, 110, 111) solamente las establecen para los RE. En general se acepta que la progresiva indiferenciación de la neoplasia se acompaña de una pérdida de receptores esteroideos de tal forma que el tumor se hace más independiente del estímulo hormonal de los esteroideos sexuales. Esta carencia de receptores se

interpreta como la pérdida de una de las funciones metabólicas que posee la célula como es la de respuesta a las hormonas esteroideas. King et al. (112) apuntan la hipótesis de que a medida que el tumor se va haciendo indiferenciado pierde los RP pero conserva los RE, y si continúa avanzando en el grado de indiferenciación perderá también los RE de forma que el estatus de receptores seguirá la siguiente progresión: positividad para los RP, positividad para los RE y negatividad para los RP, negatividad para los RE y negatividad para los RP.

En el grupo de carcinomas mamarios encontramos una correlación positiva significativa entre el nivel de RE y el de RP. Otros autores (107, 108) también han encontrado una correlación significativa entre los niveles de receptores en los tumores malignos de mama que indicaría que estas neoplasias conforman un mecanismo celular de relación entre los RE y los RP. Sabemos que en los tejidos sanos del tracto genital femenino la unión del estradiol a su receptor provoca síntesis de RE pero no de RP (22-25) y, por tanto, el aumento de RE se acompaña de un aumento paralelo de RP. Desde el punto de vista evolutivo el nivel de RE en el carcinoma mamario está condicionado por el estadio clínico, el tamaño del tumor y seguidamente por la concentración de receptores esteroideos. La concentración elevada de RP es un factor pronóstico favorable, pudiendo incluso seleccionar los casos sin metástasis ganglionar que no requieren quimioterapia adyuvante (113-115). Los tumores con RE y RP tienen mal pronóstico, con mayor tendencia a las recidivas locoregionales y a la aparición de metástasis (115-117). Es probable que los mecanismos de control del crecimiento tumoral mamario sean diferentes dependiendo de la presencia o ausencia de receptores esteroideos (118, 119).

BIBLIOGRAFÍA

1. WESTPHAL, U.: How are steroids transported in the blood before they enter target cells? En: Wittliff, J.L., Dapunt O, eds. Steroid receptors and hormone-dependent neoplasia. París: Masson Publ, 1980; 1-17.
2. QUINN, M.A.: Endocrine changes in the climateric and postmenopausal years. En: The biology of aging. NH and MRC Report of a Workshop in Bio-Medical Research into Aging. Sidney: Australian Government Publishing Service, 1982; 131: 41-46.
3. GREEN, S., CHAMBON, P.: A superfamily of potentially oncogenic hormone receptors. Nature 1986; 324: 615-617.
4. PARKER, M.G. Oncogenes from hormone receptor. J. Endocrinol 1987; 112: 1-2.
5. JENSEN, E.V., SUZUKI, T. KAWASHINA, T., STUMPF, W.E., JUNGBLUT, P.W., DESOMBRE, E.R.: A two step mechanism for the interaction of estradiol with the rat uterus. Proc Natl Acad Si USA 1968; 59: 632-638.
6. GORSKI, J.; TOFT, D.; SHYAMALA, G.; SMITH, D.: Notices A. Hormone receptors: studies on the interaction of estrogen with the uterus. Recent Prog Horm Res 1968; 24: 45-81.
7. KING, W.J.; GREENE, G.L.: Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells. Nature 1984; 307: 745-747.
8. WELSHONS, W.V.; LIEBERMAN, M.E.; GORSKI, J.: Nuclear localization of unoccupied oestrogen receptor. Natura 1984; 307: 747-749.
9. GASC, J.M.; BAULIEU, E.E.: Steroid hormone receptors: intracelullar distribution. Biol Cell 1986; 56: 1-6.
10. KING, R.J.B.: An overview of the steroid receptor machinery. En: Númez, J., Dumont J., King R.J.B. eds. Hormones and Cell Regulation. Londres: John Libbey, 1986; 56-67.
11. BAULIEU, E.E.: Contraception and other clinical applications of RU 486, an antiprogesterone at the receptor. Science 1989; 245: 1351-1357.
12. GORSKI, J.; WELSHONS, W.V., SAKAI, D. et al.: Evolution of a model of estrogen action. Recent Prog Horm Res 1986; 42: 297-332.
13. PENNEY, G.C., HAWKINS, R.A.: Histochemical detection of oestrogen receptors: a progress report. Br. J. Cancer 1982; 45: 237-246.
14. MOLINARI, A.M.; MEDICI, N.; ARMETTA, I.; NIGRO, V. MONCHARMONT, B, PUCA, G.A.: Particulate nature of the unoccupied uterine estrogen receptor. Bichem Biophys Res Commun 1985; 128: 634-642.
15. HORWITZ, K.B.,; WEI LL; SEDLACEK, S.M. D'ARVILLE, CN.: Progesterin action and progesterone receptor structure in human breast cancer: a review. Recent Prog Horm Res 1985; 41: 249-316.
16. LOGEAT F, VU HAI MT, FOURNIER A, LEGRAIN P, BUTTIN P, MILGROM E. MONOCLONAL antibodies to rabbit progesterone receptor: cross reaction with other mammalian progesterone receptors. Proc Nat Acad Sci USA; 1983; 80: 6456-6459.
17. LAMB DJ, KIMA PE, BULLOCK DW. Evidence for a single steroidbinding protein in the rabbit progesterone receptor. Biochemistry 1986; 25: 6319-6324.
18. KUMAR V, GREEN S, STAUB A, CHAMBON P. Localisation of the oestradiol-binding and putative DNA-binding domains of the human oestrogen receptor. EMBO J 1986; 5: 2231-2236.
19. GREEN S, WALTER P, KUMAR V et al. Human oestrogen receptor cDNA : sequence, expression and homology to v-erb-A. Nature 1986; 320: 134-139.
20. GREEN S, CHAMBON P. OESTRADIOL induction of a glucocorticoid-responsive gene by a chimaeric receptor. Nature 1987; 325: 75-77
21. FABER LE, WAKIM NG, DUHRING JL. Evolving concepts in the mechanism of steroid action: current developments. Am J Obstet Gynecol 1987; 156: 1449-1458.
22. ROCHEFORT H. Regulation physiologique et pharmacologique del récepteurs des oestrogènes. En: Namer M, Lalanne CM, eds. Homones and breast cancer. Paris: INSERM, 1976; 83-96.
23. ROCHEFORT H, COEZY E, JOLY E, WESTLEY B, VIGNON F. hormonal control of breast cancer in cell culture. En: IACOBELLI S, KING RJB, LINDNER HR, LIPPMAN ME, eds. Hormones and cancer. Nueva York: RAVEN PRESS, 1980; 21-29.
24. ROCHEFORT H, GARCIA G. The estrogenic and antiestrogenec activities of androgens in female target tissues. Farmacol Ther 1984; 23: 193-216.
25. KASTNER P, KRUST A, TURCOTTE B et al. Two distinct estrogenregulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. Embo J 1990; 9: 1603-1614.
26. GREENE GL, NOLAN C, ENGLER JP, JENSEN EV. Monoclonal antibodies to human estrogen receptor. Proc Nat Acad Sci USA 1980; 77: 5115-5119.

27. WEIGAND RA, COTTER DL, DUNN RA, NOLAN C, GREENE G, PRZYWARA LW. Quantitation of progesterone receptor (Pg R) in breast tumors by double monoclonal enzyme immunoassay. *Breast Cancer Res treat* 1986; 8: 87-92.
28. CAMPO C, ALOS LA, IBAÑEZ F, PEREZ-LOPEZ FR. Receptores de estrógenos y de progesterona en trompa de Falopio humana. *Endoc* 1991; 37: en prensa..
29. ITOH E. Measurement of estrogen receptor and progesterone receptor in human endometrium and endometrial carcinoma. *Nippon Gan Chiryu Shi* 1990; 25: 812-820.
30. FOEKENS JA, PORTGEN H, VAN PUTTEN WL et al. Prognostic value of estrogen and progesterone receptors measured by enzyme immunoassay in human breast tumor cytosols. *Mancr Res* 1989; 49: 555823-5828.
31. HOLMÉS FA, FRITSCHÉ HA, LOEWY JW et al. Measurement of estrogen and progesterone receptors in human breast tumors: enzyme immunoassay versus binding assay. *J Clin Oncol* 1990; 8: 1025-1035.
32. HAHNEL R, AVENELL MH, HAHNEL E. Estrogen and progesterone receptor assays, by the EIA method, of low-speed supernates of breast tumor homogenates. *Clin Chem* 1989; 35: 2226-2227.
33. WIEGERINCK MAHM, POORTMAN J, AGEMA AR, THIJSSSEN JHH. Estrogen receptors in human vaginal tissue. *Maturitas* 1980; 2: 59-63.
34. BIZZI A, CODEGONI AM, LANDONI F et al. Steroid receptors in epithelial ovarian carcinoma: relation to clinical parameters and survival. *Gynecol Res* 1988; 48: 6222-6226.
35. CREASMAN WT, SASSO RA, WEED JC et al. Ovarian carcinoma: histologic and clinical correlation of cytoplasmic estrogen and progesterone receptors. *Gynecol Oncol* 1981; 12: 319-325.
36. GALLI MC, DE GIOVANNI C, NICOLETTI G et al. The occurrence of multiple steroid hormone receptors in disease-free and neoplastic human ovary. *Cancer* 1981; 47: 1297-1302.
37. FRIEDLANDER ML, QUINN MA, FORTUNE D et al. The relationship of steroid receptor expression to nuclear DNA distribution and clinical characteristics in epithelial ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 1989; 32: 184-190.
38. MASOOD S, HEITMANN J, NUSS RC, BENRUBI GI. Clinical correlation of hormone receptor status in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1989;34: 57-60.
39. HARDING M, COWAN S HOLE D ET AL. Estrogen and progesterone receptors in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1990; 65: 486-491.
40. ROSE PG, REALE FR, LONGCOPE C, HUNTER RE. Prognostic significance of estrogen and progesterone receptors in epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 258-263.
41. SLOTMAN BJ, NAUTA JJ, RAO BR. Survival of patients with ovarian cancer. Apart from stage and grade, tumor progesterone receptor content is a prognostic indicator. *Cancer* 1990; 66: 740-744.
42. FREEDMAN, RS, SAUL PB, EDWARDS CL, et al. Ethinyl estradiol and medroxyprogesterone acetate in patients with epithelial ovarian cancer: a phase II study. *Cancer Treat Rep* 1986; 70: 369-373.
43. Sutton GP, Strauss JF, Senior MB, Mikuta JJ. Estrogen and progesterone receptors in epithelial ovarian malignancies. *Gynecol Oncol* 1986; 23: 182.
44. WILLCOCKS D., TOPPILA M, HUDSON CN, TYLER JPP, BAIRD PJ, EASTMAN CJ. Estrogen and progesterone receptors in human ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 1983; 16: 246-253.
45. VIERIKKO P, KAUPPILA A, VIHKO R. Cytosol and nuclear estrogen and progestin receptors and 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in non-diseased tissue and in benign and malignant tumors of the human ovary. *Int J Cancer* 1983; 32: 413-422.
46. KAUPPILA A, JANNE O, SYRJALA P, VIHKO P. Estrogen and progestin receptors in benign and malignant ovarian tumors. *Cancer Treat Res* 1979; 63: 1187-1192.
47. IVERSEN OE, SKAARLAND E, UTAAKER E. Steroid receptor content in human ovarian tumors: survival of patients with ovarian carcinoma related to steroid receptor content. *Gynecol Oncol* 1986; 23: 65-76.
48. PEREZ-LOPEZ FR, CAMPO C, JUSTE MG. Estrogen and progesterone receptors measured by enzyme immunoassay in disease free and neoplastic human ovary cytosols. Sometido para publicación.
49. HOLT JA, CAPUTO TA, KELLY KM, GREENWALD P, CHOROST S. Estrogen and progestin binding in cytosol of ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 1979; 53: 50-58.
50. JANNE O, KAUPPILA A, SYRJALA P, VIHKO R. Comparison of cytosol estrogen and progestin receptor status in malignant and benign tumor-like lesions of human ovary. *Int J Cancer* 1980; 25: 175-179.

51. HAHNES R, KELSALL GRH, MARTIN JD, MASTERS AM, MCCARTNEY AJ, TWADDLE E. Estrogen and progesterone receptors in tumors of the human ovary. *Gynecol Oncol* 1982; 13: 145-151.
52. AL-TIMIMI A, BUCKLEY CH, FOX H. An immunohistochemical study of the incidence and significance of sex steroid hormone binding sites in normal and neoplastic human ovarian tissue. *Int J Gynecol Pathol* 1985; 4: 24-41
53. AGARWAL N, RAO DL, MURGESHAN K et al. Clinical evaluation of steroid receptors in ovarian neoplasma. *Int Gynaecol Obstet* 1987; 25: 145-149.
54. BIBRO MC, SCHWARTZ PE, LIVOLSI VA, EISENFELD AJ. Estrogen binding macromolecules in human ovarian carcinoma. *Lab Invest* 1979; 40: 241-241.
55. SPONA J, GITSCH E, SALZER H, KAUER K. Estrogen and gestagen receptors in ovarian carcinoma. *Gynecol Obstet Invest* 1983; 16: 189-198.
56. SCHWARTZ PE, MERINO MJ, LIVOLSI VA, LAWRENCE R, MAC LUSKY N, EISENFELD A. Histopathologic correlation of estrogen and progesterin receptor protein in epithelial ovarian carcinomas. *Obstet Gynecol* 1985; 66: 428-433.
57. SPONA J, GITSCH E, KUBISTA E, SALZER H, DOHLER B. Enzyme immunoassay and Scatchard plot estimation of estrogen receptor in gynecological tumors. *Cancer Res* 1986; 46: 4310s-4312s.
58. JONES LA, EDWARDS CL, FREEDMAN RS, TAN MT, GALLAGER HS. Estrogen and progesterone receptors titers in primary epithelial ovarian carcinomas. *Int J Cancer* 1983; 32: 567-571.
59. POLLOW K, SCHMIDT MATTHIESEN A, HOFFMANN G et al. 3H-estradiol and 3H-R5020 binding in cytosols of normal and neoplastic human ovarian tissue. *Int J Cancer* 1983; 31: 603-608.
60. TEUFEL G, GEYER H, DE GREGORIO G, FUCHS A, KLEINE W, PFLEIDERER A. Estrogen and progesterone receptors in malignant ovarian tumours. *Geburtshilfe-Frauenheilkd* 1983; 43: 732-740.
61. TOPPILA M, TYLER JPP, FAY R et al. Steroid receptors in human ovarian malignancy. A review of four years tissue collection. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 93: 986-992.
62. PALMER DC, MUIR IM, ALEXANDER AI, CAUCHI M, BENNETT RC, QUINN MA. The prognostic importance of steroid receptors in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1988; 72: 388-393.
63. KAUPPILA A. Oestrogen and progesterin receptors as prognostic indicators in endometrial cancer. *Acta Oncol* 1989; 28: 561-566.
64. BORAZJANI G, TWIGGS LB, LEUNG BS, PREM KA, ADCOCK LL, CARSONLF. Prognostic significance of steroid receptors measured in primary metastatic and recurrent endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 245: 1253-1257.
65. KLEINE W, BERGMANN W, GEYER H, PFLEIDERER A. Progesterone receptors in endometrial cancer. A deciding prognostic factor. *Arch Gynecol Obstet* 1989; 245: 583-585.
66. NYHOLM HC. Endometrial cancer and sesteroid hormone receptors. *Ugeskr Laeger* 1990; 152: 593-597.
67. KLEINNE W, MAIER T, GEYER H, PFLEIDERER A. Estrogen and progesterone receptors in endometrial cancer and their prognostic relevance. *Gynecol Oncol* 1990; 38: 59-65.
68. SOPER JT, SEGRETI EM, NOVOTNY DB, MUYCH D, CREASMAN WT, MCCARTY KS JR. Estrogen and progesterone receptor content of endometrial carcinomas: comparison of total tissue versus component analysis. *Gynecol Oncol* 1990; 36: 363-368.
69. NEUMANNOVA M, KAUPPILA A, VIHKO R. Cytosol and nuclear estrogen and progesterin receptors and 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in normal and carcinomatous endometrium. *Obstet Gynecol* 1983; 61: 181-188.
70. VIHKO R, JANNE O, KAUPPILA A. Steroid receptors in normal, hyperplastic and malignant human endometria. *Ann Clin Res* 1980; 12: 208-215.
71. JANNE OL, KAUPPILA A, KONTULA K, SYRJALA P, VIHKO R. Female sex steroid receptors in normal, hiperplastic and carcinomatous endometrium. Relationship to serum steroid hormones and gonadotropins and changes during medroxioprogesterone acetate administration. *Int J Cancer* 1979; 24: 545-554.
72. KAUPPILA AJ, ISOTALO HE, DIVINEN ST, VIHKO RK. Prediction of clinical and histopathological variables in endometrial cancer. *Cancer Res* 1986; 46: 5380-5384.
73. CAMPO, C.; LAPRESA, J.F.; IBAÑEZ, F.; JUSTE M.G.; PEREZ-LOPEZ, F.R.: Receptores de estrógenos y de progesterona en endometrio sano y en carcinomas de endometrio. Sometido para publicación.
74. FLICKINGER, G.; ELSNER, C.; ILLINGWORTH, D.V. et al.: Estrogen and progesterone receptors in the female genital tract of humans and monkeys. *Ann NY Acad Sci* 1977; 180: 197-203.
75. SAARIKOSKI, S.; SELANDE, K.; KALLIO, S.; PYSTYNEN, P.: Steroid receptors in normal and neoplastic female reproductive tissues. *Gynecol Obstet Invest* 1982; 13: 206-212.

76. KAUPPILA, A.; KUJANSUU, E.; VIHKO, R.: Cytosol estrogen and progesterin receptors in endometrial carcinoma of patients treated with surgery, chemotherapy, and progesterin. *Clinical correlates. Cancer* 1982; 50: 2157-2162.
77. GEISINGER K.R.; MARSHALL, R.B.; KUTE, T.E.; HOMESLEY, H.D.: Correlation of female sex steroid hormone receptors with histological and ultrastructural differentiation in adenocarcinoma of the endometrium. *Cancer* 1986; 58: 1506-1517.
78. LIAO, B.ÇS.; TWIGGS, L.B.; LEUNG, B.S.; YU, W.C.; POLISH, R.A.; PREM, K.A.: Cytoplasmic estrogen and progesterone receptors and prognostic parameters in primary endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1986.
79. UTAAKER, E.; IVERSEN, O.E.; SKAARLAND, E.: The distribution and prognostic implications of steroid receptor in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1987; 28: 89-100.
80. EHRlich, C.E.; YOUNG, P.C.M.; STEHMAN, F.B.; SUTTON, G.P.; ALFORD, W.M.: Steroid receptors and clinical outcome in patients with endometrial adenocarcinoma of the endometrium. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 796-807.
81. CREASMAN, W.T.; SOPER, J.T.; McCARTY, K.S. Jr., McCARTY, K.S. Sr.; HINSHAW, W. CLARKE-PEARSON, D.L.: Influence of cytoplasmic steroid receptor content on prognosis of early stage endometrial carcinoma. *Am J. Obstet Gynecol* 1985; 151: 922-932.
82. GEISINGER, K.R., MARSHALL, R.B.; KUTE, T.E.; HOMESLEY, H.D.; MORGAN, T.M.: Endometrial adenocarcinoma: a multiparameter immunohistochemical analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors. *Cancer* 1986; 58: 1518-1525.
83. EHRlich, C.E.; YOUNG, P.M.; CLEARY, R.E.: Cytoplasmic progesterone and estradiol receptors in normal, hyperplastic and carcinomatous endometria: therapeutic implications. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 141: 539-546.
84. LINDAHL B, PER ALM, MARTEN F, NORGREN A, TROPE C. Plasma steroid hormones, cytosol receptors, and thymidine incorporation in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 149: 607-612.
85. SOPER JT, CRISTENSEN CW. Steroid receptors and endometrial cancer. *Clin Obstet Gynecol* 1986; 13: 825-832.
86. QUINN MA, PEARCE P, FORTUNE DW, KOH SH, HSIEH C, CAUCHI M. Correlation between cytoplasmic steroid receptors and tumour growth, differentiation and invasion in endometrial carcinoma. *Br J Obstet Gynaecol* 1985; 92: 399-406.
87. NOGUCHI S, YAMAMOTO H, INAJI H, IMAOKA S, KOYAMA H. Inability of medroxyprogesterone acetate to down regulate estrogen receptor level in human breast cancer. *Cancer* 1990; 65: 1375-1379.
88. OTA DM, JONES LA, JACKSON GL, JACKSON PM, KEMP K, BAUMAN D. Obesity, non-protein-bound estradiol levels and distribution of estradiol in the sera of breast cancer patients. *Cancer* 1986; 57: 558-562.
89. VERMEULEN A, DESLYPERE JP, PARIDAENS R, LECLERQ G, ROY F, HEUSON JC. Aromatase, 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase and estradiol tissue concentrations in cancerous and normal glandular breast tissue in postmenopausal women. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1985; 22: 1223-1228.
90. ALLEGRA JC, LIPPMAN ME, GREEN L et al. Estrogen receptor values in patients with benign breast disease. *Cancer* 1979; 44:228-231.
91. BUEL RH, TREMBLAY G. Autoradiographic demonstration of 3H-estradiol incorporation in benign human mammary lesions. *Am J Clin Pathol* 1984; 81: 30-34.
92. WILKING N, RUTQVIST LE, NORDENSLJOLD B, SKOOG L. Steroid receptor levels in breast cancer. Relationships with age and menopause. *Acta Oncol* 1989; 28: 807-810.
93. PEREZ-LOPEZ FR, CAMPO C, LORENZO HK, MOROS M, IBAÑEZ F. Receptores de estrógenos y de progesterona en lesiones mamarias benignas y malignas. Sometido para publicación.
94. BROOKS SC, SAUNDERS DE, SINGHAKOWINTA A, VAITKEVICIUS VK. Relation of tumor content of estrogen and progesterone receptors and response of patient to endocrine therapy. *Cancer* 1980; 46: 2775-2778.
95. KNIGHT WA, OSBORNE CK, YOCHMOWITZ MG, Mc GUIRE WL. Steroid hormone receptors in the management of human breast cancer. *Clin Res* 1980; 12: 202-207.
96. WITTLIFF JL. Steroid hormone receptors in breast cancer. *Cancer* 1984; 53: 630-643.
97. WOLLENWEIDER-ZERARGUI L, WONG Y, LEMARCHAND BERAUD T, GOMEZ F. The predictive value of estrogen and progesterone receptor concentrations on the clinical behavior of breast cancer in women: clinical correlation on 547 patients. *Cancer* 1986; 57: 1171-1180.
98. McTIERNAN A, THOMAS DB, JOHNSON LK, ROSEMAN D. Risk factors for estrogen receptor-rich and estrogen receptor-poor breast cancer. *Natl Canc Instit* 1986; 77: 849-854.
99. PADMANABHAN N, HOWELL A, RUBENS RD. Mechanism of action of adjuvant chemotherapy in early breast cancer. *Lancet* 1986; 2: 411-413.
100. BALLARD-BARBASH R, GRIFFIN MR, FISHER LD, COVALCIUC MA, JIANG NS. Estrogen receptor in breast cancer. Association with clinical and pathologic risk factors. *Am J Epidemiol* 1986; 124: 77-84.

101. WILLIAMS MR, TODD JH, ELLIS TO et al. Oestrogen receptors in primary and advanced breast cancer: an eight year review of 704 cases. *Br J Cancer* 1987; 55: 67-73.
102. KNIGHT WA, LIVINGSTON RB, GREGORY EJ, McGUIRE WL. Estrogen receptor as independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer. *Cancer Res* 1977; 37: 4669-4671.
103. MILLIS RR. Correlation of hormone receptors with pathological features in human breast cancer. *Cancer* 1980; 46: 2869-2871.
104. ANTONIADES K, SPECTOR H. Correlation of estrogen receptor levels with histology and cytomorphology in human cancer. *Am J Clin Pathol* 1979; 71: 497-503.
105. KERN WH. Morphologic and clinical aspects of estrogen receptors in carcinoma of the breast. *Surg Gynec Obstet* 1979; 148: 240-242.
106. MARTIN PM, ROLLAND PH, JACQUEMICA J, ROLLAND AM. Multiple steroid receptors in human breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1979; 2: 115-120.
107. Mc CARTY KS Jr, BARTON TK, FETTER BF et al. Correlation of estrogen and progesterone receptors with histologic differentiation in mammary carcinoma. *Cancer* 1980; 46: 2851-2857.
108. MOHAMED RH, LAKATUA DJ, HANS E, YASMINEH WJ. Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer. Correlation with histologic subtype and degree of differentiation. *Cancer* 1986; 58: 1076-1081.
109. BRAUNSBURG H. Hormonal mechanism in cancer. *Mol Aspects Med* 1979; 2: 367-393.
110. MAYNAR PV, BLAMEY RW, ELSTON CW et al. Estrogen receptor assay in primary breast cancer and early recurrence of the disease. *Cancer Res* 1978; 38: 4292-4295.
111. PARL FF, WAGNER RK. The histopathological evaluation of human breast cancers in correlation with estrogen receptor values. *Cancer* 1980; 47: 362-367.
112. KING RJB. Analysis of estradiol and progesterone receptors in early and advanced breast tumors. *Cancer* 1980; 46: 2818-2821.
113. MERKEL DE, OSBORNE CK. Prognostic factors in breast cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 1989; 3: 641-652.
114. SIGURDSSON H, BALDETORP B, BORG A et al. Indicators of prognosis in node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 1990; 322: 1045-1053.
115. GIANI C, CAMPANI D, DE NEGRI F et al. Relationship between progesterone receptor, axillary node status and productive fibrosis in ductal infiltrating carcinoma of the breast. *Appl Pathol* 1989; 7: 225-232.
116. McCARTHY KS JR, KINSEL LB, GEORGIADIS G, LEIGHT G, McCARTHY KS Long-term prognostic implications of sex-steroid receptors in human cancer. *Prog Clin Biol Res* 1990; 322: 279-293.
117. MASON BH, HOLDAWAY IM, STEWART AW, NEAVE LM, KAY RG. Season of tumor detection influences factors predicting survival of patients with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1990; 15: 27-37.
118. KOGA M, MUSGROVE EA, Sutherland R. Differential effects of phorbol ester on epidermal growth factor receptors in estrogen receptor-positive and -negative breast cancer cell lines. *Cancer Res* 1990; 50: 4849-4855.
119. LIPMAN ME, DICKINSON RB, GELMAN EP et al. Growth regulation of human breast carcinoma occurs through regulated growth factor secretion. *J Cell Biochem* 1987; 35: 1-16.