

A. Alvarez,  
I. Martínez Rodríguez,  
M.<sup>a</sup> I. Núñez,  
A. Alba,  
M.<sup>a</sup> T. Allende,  
A. Ruibal

# Comportamiento del antígeno polipeptídico específico tisular (TPS) citosólico en carcinomas ductales infiltrantes de mama

## The behaviour of cytosolic TPS (tissue polypeptide specific antigen) in infiltrating ductal carcinoma of the breast

### SUMMARY

*In order to know its behaviour, we have dosed, by immunoradiometric dosed assay, the TPS (tissue polypeptide specific antigen) cytosolic levels in 115 infiltrating ductal carcinomas of the breast. Our results led us to consider the following: 1) It is necessary to know the estrogenic hormonal status (ER); 2) In ER- carcinoma TPS levels above 176 KU/mg prt. were associated with axillary lymph node involvement and with high cathepsin D cytosolic concentrations, while in ER+ carcinomas TPS levels and the percentages of positives (+176 KU/mg prt.) were similar in both N+ and N- subgroups; 3) In ER+ carcinoma, with or without axillary involvement, TPS levels below 176 KU/mg prt. were significantly correlated with progesterone receptors and pS2, which suggests a more differentiated subgroup and probably with a better prognosis, while the TPS levels above 176 KU/mg prt. were significantly correlated with cathepsin D concentrations, reflecting a subgroup of carcinomas with a poor prognosis.*

Servicio de Medicina Nuclear.  
Hospital General de Asturias.

Correspondencia:  
A. Ruibal Morell.  
Servicio de Medicina Nuclear.  
Hospital General de Asturias.  
33006 Oviedo.

### Palabras clave

*Antígeno polipeptídico específico tisular (TPS), Citosoles, Carcinomas de mama, Hormonodependencia.*

### Key words

*Tissue polypeptide specific antigen (TPS), Cytosolic, Breast cancer, Hormone dependant.*

### INTRODUCCION

El antígeno polipeptídico específico tisular (TPS), definido por el anticuerpo monoclonal M3 que reconoce la citoqueratina 18, es un nuevo marcador tumoral

expresado, al parecer exclusivamente, por las células proliferativas.<sup>1,2</sup> Numerosos autores han descrito la utilidad de su dosificación sérica en el seguimiento de diferentes tumores,<sup>3,4,5,6,7,8,9</sup> pero poco se conoce acerca de su comportamiento a nivel tisular. Recientemente nuestro grupo ha observado que las concentraciones citosólicas de TPS en patologías mamarias no

Recibido: 20-VI-1995.

malignas parecen estar asociadas a la hormonodependencia estrogénica,<sup>10</sup> hecho que apoyaría su relación con la proliferación celular, y Gion et al.<sup>11</sup> han descrito en los carcinomas mamarios una relación inversa entre los niveles citosólicos de TPS y el índice de timidina tritiada, así como una estrecha correlación entre aquel marcador y el antígeno polipeptídico tisular (TPA), lo cual les sugiere la posibilidad de que concentraciones citosólicas elevadas de TPS pudiesen estar asociadas a un mejor pronóstico, como ocurre con el TPA.<sup>12</sup>

Dado que el TPS citosólico, al igual que el TPA y otros marcadores tumorales, es significativamente mayor en los carcinomas mamarios hormonodependientes<sup>13,14</sup> y que existen pocos estudios al respecto, hemos querido analizar el comportamiento del TPS citosólico en carcinomas mamarios clasificados en función de los RE y otros parámetros clinicobiológicos utilizados en este tipo de tumores malignos, con la finalidad de profundizar en su fisiopatología y obtener conclusiones de utilidad práctica.

## MATERIAL Y METODOS

El grupo estudio incluyó 115 carcinomas ductales infiltrantes de mama (CDI), todos con comprobación histológica, correspondientes a sendas mujeres de edades comprendidas entre los 30 y 89 años (media: 60). Los diferentes parámetros clinicobiológicos analizados fueron los siguientes: TPS, receptor de estrógenos (RE), receptor de progesterona (RP), pS2, catepsina D (CAT), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R), Cyfra 21.1, ploidía, fase S (ambas por citometría de flujo, cortesía de las doctoras Miralles y Folgueras del Servicio de Anatomía Patológica de nuestro hospital), grado histológico, edad y presencia o no de afectación ganglionar axilar.

El TPS fue determinado mediante un IRMA monoclonal (gentileza de Beki Diagnostics, Suecia), con un límite inferior de sensibilidad de 1 KU/mg prt., mientras que el resto de los parámetros biológicos lo fueron del siguiente modo: RE y RP por EIAS (Abbott, Estados Unidos), pS2 y CAT por IRMAS (CIS, Francia), EGF-R por un RIA (Viennalab, Austria) y Cyfra 21.1 por un EIA (Boehringer Mannheim, Alemania). Los coeficientes de variación intra e interensayo para los diferentes métodos fueron inferiores al 6 y 10%, respectivamente. Cada muestra se dosificó por duplicado.

La obtención de los citosoles y membranas se efectuaron siguiendo un método habitual y los resul-

tados de los diferentes parámetros fueron expresados en función de los miligramos de proteína, dosificada mediante el método de Bradford. El análisis estadístico se realizó mediante el programa BMDP. Tras comprobar que las concentraciones de los diferentes parámetros biológicos no seguían una distribución normal, se emplearon test estadísticos no paramétricos, así como el de chi cuadrado con la corrección de Yates.

## RESULTADOS

En los 115 CDI las concentraciones citosólicas de TPS oscilaron entre 1,0 y 1.123,7 KU/mg prt., con una media de  $140,2 \pm 173,3$ , una mediana de 97,1 y unos percentiles 25 y 75 de 27,3 y 202,1, siendo superiores a los observados en patologías mamarias no malignas.<sup>10</sup> Asimismo las concentraciones de TPS se correlacionaron significativamente ( $p < 0,05$ ) con la de CAT ( $r: 0,50$ ) y Cyfra 21.1 ( $r: 0,26$ ).

Cuando los CDI fueron clasificados en función de los diferentes parámetros clinicobiológicos descritos anteriormente, pudimos comprobar mayores cifras de TPS, estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en los carcinomas RE+ ( $> 10$  fmol/mg prt.), pS2+ ( $> 5$  ng/mg prt.), CAT+ ( $> 50$  pmol/mg prt.), EGF-R- ( $< 4,5$  fmol/mg prt.), tetraploides y N+ (tabla I). Teniendo en cuenta exclusivamente la afectación ganglionar axilar, observamos mayores concentraciones de TPS en los casos positivos (i: 1,0-1.123,7;  $177,0 \pm 221,9$ ; mediana 130,3) que en los negativos (i: 1,0-457,9;  $107,3 \pm 105,5$ ; mediana 65,3), correlacionándose significativamente el marcador con la catepsina D ( $r: 0,55$ ) y con el receptor de progesterona ( $r: 0,31$ ), respectivamente. Sin embargo, las altas concentraciones de TPS en los N+ aparecieron exclusivamente en los RE-, pero no en los RE+, de tal modo que en aquéllos las cifras de TPS fueron mayores ( $p: 0,0017$ ) en los 30 N+ ( $181 \pm 227,1$ ; i: 1-1.123,7) que en los 16 N- ( $48,8 \pm 45,8$ ; i: 1,0-137,1), mientras que fueron similares en los RE+ (N-: 33 casos;  $135,8 \pm 114,7$ ; i: 6,4-457,9; N+: 36 casos;  $172,8 \pm 201,5$ ; i: 13,6-1.116,8). Se comprobaron también mayores cifras de TPS citosólico en los tumores RE+N- frente a los RE-N- ( $p: 0,006$ ). Merece destacarse que en el grupo RE-N- el TPS no se correlacionó estadísticamente ( $p < 0,05$ ) con ningún otro parámetro biológico, mientras que en los RE-N+ lo hizo con la CAT ( $r: 0,73$ ). Cuando se tuvo presente exclusivamente la afectación ganglionar axilar pudimos obser-

TABLA I

**COMPORTAMIENTO DEL TPS CITOSOLICO  
EN CARCINOMAS DUCTALES INFILTRANTES  
CLASIFICADOS EN FUNCION DE DIFERENTES  
PARAMETROS CLINICOBIOLOGICOS**

Parámetro	N.º	Intervalo	Mediana	25pt	75pt
RE+ .....	69	6,4-1.116,8	103,5	47,6	220,4
RE- .....	46	1,0-1.123,7	60,8	15,9	180,2
RP+ .....	58	1,9-442,5	74,7	36,4	173,2
RP- .....	57	1,0-1.123,7	98,3	20,3	220,4
pS2+ .....	52	15,2-1.123,7	143,7	57,7	242,1
pS2- .....	63	1,0-457,9	56,6	17,0	141,5
CAT+ .....	48	1,4-1.123,7	140,6	46,6	245,0
CAT- .....	67	1,0-487,9	57,9	21,5	153,4
EGF-R+ .....	49	1,0-383,7	63,7	23,4	164,9
EGF-R- .....	66	1,0-1.123,7	108,8	37,7	225,1
N+ .....	61	1,0-1.123,7	130,3	34,4	232,9
N- .....	54	1,0-457,9	65,3	37,7	156,1
- 2 cm .....	38	15,2-457,9	97,1	53,6	227,1
2-5 cm .....	66	1,0-1.123,7	99,9	19,5	182,4
+ 5 cm .....	11	1,0-285,2	48,1	21,0	184,7
f.s - .....	69	1,0-1.116,8	63,7	23,4	63,7
f.s + .....	46	1,0-1.123,7	128,8	39,3	184,7
Diploides .....	64	4,2-317,8	74,1	28,2	202,8
Tetraploides .....	20	21,0-1.116,8	161,6	111,7	213,4
Aneuploides .....	51	1,0-1.123,7	100,3	34,4	202,7
- 50 años .....	27	3,3-1.123,7	68,5	25,2	180,9
50-70 años .....	62	1,0-1.116,8	86,8	27,9	184,7
+ 70 años .....	26	1,4-452,5	121,6	38,7	220,9
GH I .....	29	13,6-317,8	97,3	38,7	202,7
GH II .....	57	1,9-1.116,8	99,9	53,6	220,4
GH III .....	29	1,0-1.123,7	89,5	20,2	232,7

var en los N+ mayores concentraciones de TPS en los casos CAT+ (p: 0,002), pS2+ (p: 0,007) y tetraploides (p: 0,002), mientras que en los N- fueron mayores en los pS2+ (p: 0,057), < 2 cm (p: 0,059), EGF-R- (p: 0,019), RE+ (p: 0,0017) y RP+ (p: 0,09) (tabla II).

Lo anteriormente descrito nos indujo a estudiar el comportamiento del TPS teniendo presente el RE

TABLA II

**DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS  
(p: <0,05) EN LAS CONCENTRACIONES CITOSOLICAS  
DE TPS EN LOS CARCINOMAS DUCTALES  
INFILTRANTES DE MAMA CLASIFICADOS EN FUNCION  
DE DIFERENTES PARAMETROS CLINICOBIOLOGICOS**

Parámetro	p	Parámetro
RE+ .....	0,018	RE-
pS2+ .....	0,0003	pS2-
EGF-R- .....	0,039	EGF-R+
CAT+ .....	0,002	CAT-
N+ .....	0,034	N-
Tetraploide .....	0,033	Aneuploide

TABLA III

**COMPORTAMIENTO DEL TPS CITOSOLICO  
EN CARCINOMAS DUCTALES INFILTRANTES  
DE MAMA RE- CLASIFICADOS EN FUNCION  
DEL ESTADO GANGLIONAR AXILAR**

	N-	p	N+
TPS .....	48,8 ± 45,8	0,0017	181,0 ± 227,1
TPS > 176 .....	0/16	0,004	12/30
CAT D .....	41,7 ± 33,9	0,09	74,2 ± 70,6
Correlaciones del TPS .....	Ninguna		CAT D (r: 0,73)

CAT D: Catepsina D.

y la afectación ganglionar axilar, observando lo siguiente:

- a) *Carcinomas RE- (46 casos)*. Comparando los N+ (30 casos) y N- (16 casos) comprobamos que los N+ tuvieron mayor porcentaje de positividad para el TPS (176 KU/mg prt., límite de normalidad provisional establecido con 50 patologías mamarias no tumorales<sup>10</sup>) (12/30 vs 0/16; p: 0,004), así como mayor concentración de CAT (74,2 ± 70,6; i: 26,5-212 vs 41,7 ± 33,9; i: 7,6-115,6; p: 0,09) que los N-.

En los 21 N+ con TPS < 176 KU/mg prt., el TPS no se correlacionó estadísticamente con ningún parámetro biológico, mientras que en los 9 N+ y TPS > 176 KU/mg prt., lo hizo con la CAT (r: 0,8147). Asimismo este último subgrupo presentó mayores concentraciones (p: 0,0069) de CAT que sus homónimos con TPS < 176 (96,9 ± 108,9; i: 23,1-403 vs 43,9 ± 41,3; i: 8,2-179) (tabla III).

- b) *Carcinomas RE+ (69 casos)*. Comparando los 36 N+ con los 33 N- observamos que en los N- el TPS no se correlacionó estadísticamente con ninguno de los parámetros biológicos analizados, mientras que en los N+ lo hizo con el Cyfra 21.1 (r: 0,47). Las concentraciones del marcador fueron similares en ambos subgrupos (N-: 33 casos; 135,8 ± 114,6; i: 6,4-457,9; N+: 36 casos; 172,8 ± 201,5; i: 13,6-1.116,8), como también lo fueron los porcentajes de positividad (N-: 9/33; N+: 12/36); sin embargo, el grupo N+ tuvo mayores concentraciones (p: 0,011) de CAT que el N- (67,9 ± 38,9; i: 19,4-201,6 vs 48,7 ± 27,3; i: 8,9-112,7) (tabla IV).

TABLA IV  
COMPORTAMIENTO DEL TPS CITOSOLICO  
EN CARCINOMAS DUCTALES INFILTRANTES  
DE MAMA RE+ CLASIFICADOS EN FUNCION  
DEL ESTADO GANGLIONAR AXILAR

	N-	p	N+
TPS .....	135,8 ± 114,7	+0,05	172,8 ± 201,5
TPS > 176 .....	9/33	+0,05	12/36
CAT D .....	48,7 ± 27,3	0,011	67,9 ± 38,9
Correlaciones del TPS .....	Ninguna		Cyfra 21.1 (r: 0,47)

CAT D: Catepsina D.

Los tumores N- TPS > 176 (14 casos) y N- TPS < 176 (22 casos) no presentaron diferencias en relación a los diferentes parámetros biológicos, correlacionándose en el último subgrupo el TPS con los RP (r: 0,656).

Cuando comparamos los carcinomas N+ TPS > 176 (16 casos) con los N+ TPS < 176 (20 casos), pudimos observar mayores concentraciones de pS2 (p: 0,08) en los casos TPS < 176 (24,5 ± 34,4; i: 1,0-118 vs 24,6 ± 54,7; i: 1,7-54,7) y mayores cifras (p: 0,046) de CAT en los TPS > 176 (78,3 ± 43,5; i: 30,3-201,6 vs 61,9 ± 36,8; i: 19,4-170).

## DISCUSION

El interés y estudio de las queratinas, componentes de los filamentos intermedios del citoesqueleto, como posibles indicadores de la transformación tumoral ha experimentado un notable auge en los últimos años.<sup>15, 16, 17</sup> Si bien son numerosos los aspectos fisiopatológicos conocidos, quedan por esclarecer ciertas cuestiones, preferentemente relacionadas con sus mecanismos de liberación, estructura de las moléculas liberadas y que reflejan a nivel celular tumoral.<sup>15</sup> Su dosificación en los líquidos biológicos o su visualización inmunohistoquímica en médula ósea ha permitido obtener conclusiones de interés clínico, mostrándose como parámetros indicadores del comportamiento tumoral, reflejando preferentemente la actividad proliferativa celular, no del todo aceptada, o bien de la presencia de células tumorales en el tejido óseo, aun en estadios muy iniciales de la enfermedad.

En la actualidad se pueden dosificar rutinariamente en los líquidos biológicos determinadas queratinas, como son TPA, que reconoce la 8, 18 y 19, el

TPS que reacciona con la 18 y el Cyfra 21.1 que representa fragmentos solubles de la citoqueratina 19. Nosotros hemos escogido el TPS por ser un marcador que recientemente se ha visto refleja la queratina 18.<sup>1</sup> Numerosos grupos han estudiado su interés como parámetro de seguimiento en numerosos tumores gracias a su dosificación sérica, pero pocos son los trabajos que hacen referencia a su comportamiento tisular. En los carcinomas de mama, Gion et al.<sup>11, 12, 13</sup> comprobaron que sus concentraciones citosólicas se correlacionaban inversamente con la proliferación celular y de un modo directo con las del TPA, lo cual les inducía a pensar que podría ser un indicador de un mejor comportamiento tumoral cuando aquellas eran elevadas, cosa que ocurre con el TPA.<sup>12</sup>

En los 115 CDI las concentraciones citosólicas de TPS oscilaron entre 1,0 y 1.123,7 KU/mg prt., y fueron mayores a las observadas en las patologías mamarias no tumorales,<sup>10</sup> existiendo diferencias estadísticamente significativas en relación a los fibroadenomas (p: 0,005) y mastopatías fibroquísticas (p: 0,002). Cifras similares han obtenido otros autores.<sup>11</sup> Un aspecto interesante fue que el TPS en los carcinomas mamarios se correlacionó estadísticamente (p < 0,05) con la catepsina D (r: 0,50) y el Cyfra 21.1 (r: 0,26), no evidenciándose dichos hechos en las patologías no neoplásicas. Cuando clasificamos los CDI en función de los diferentes parámetros clinicobiológicos, pudimos comprobar mayores concentraciones de TPS, con significación estadística, en los casos RE+, pS2+, CAT+, EGF-R- y N+, de lo que se puede deducir que el TPS citosólico se asocia a un estado estrogénico y/o de mayor diferenciación celular, lo cual es apoyado por el aumento del marcador descrito en los tumores RE+,<sup>13</sup> a pesar de no correlacionarse estadísticamente ambos parámetros, cosa que sí ocurre en las patologías no malignas,<sup>10</sup> por la expresión de pS2 en los tumores RE+,<sup>19</sup> por los mayores incrementos de CAT D en los tumores RE+<sup>20, 21</sup> y por la asociación inversa entre hormono-dependencia y negatividad para el EGF-R.<sup>22, 23</sup> Lo anteriormente descrito apoya la posibilidad de que el TPS refleje la proliferación celular inducida por los estrógenos o bien tumores con buena diferenciación celular.

Pero cuando clasificamos los carcinomas en función de la afectación axilar ganglionar, comprobamos, dentro de los N+, mayores concentraciones de TPS en los CAT+, pS2+ y tetraploides, mientras que

en los N- aquellas se asociaron a los tumores pS2+, < 2 cm, RE+, RP+ y EGF-R-. De lo anterior puede deducirse a primera vista que cifras elevadas de TPS en tumores N- se asocian a un mejor pronóstico, tal como han indicado Gion et al.,<sup>11</sup> si bien debe aclararse su papel en los N+, máxime cuando el papel de la catepsina como indicador de mal pronóstico<sup>24, 25</sup> ha sido cuestionado preferentemente por estudios inmunohistoquímicos.<sup>26, 27, 28</sup> Sin embargo, dada la relación hormonal y el haber observado mayores de concentraciones de TPS en los N+ quisimos estudiar si este comportamiento del marcador persistía cuando los tumores eran clasificados en función de los 2 parámetros: RE y N, comprobando que sólo en los tumores RE- el TPS era mayor en los N+ que en los N-, pero no en los RE+. Estableciendo los 2 subgrupos en los CDI RE- pudimos ver que los N+ tuvieron más TPS, mayor porcentaje de positividad y mayores concentraciones de CAT D que los N-, de lo cual puede deducirse que cifras elevadas de TPS se asocian a la presencia de afectación axilar, tal como indican Seshadri et al.<sup>29</sup> También sólo en los N+ existió una correlación entre TPS y CAT (r: 0,73).

En los carcinomas RE+ el TPS fue similar en los N+ y N-, asimismo también lo fueron los porcentajes de positividad y sólo los carcinomas con afectación ganglionar axilar tuvieron mayor concentración de catepsina D, lo que podría sugerir un peor comportamiento clínico.

En un intento por precisar mejor los diferentes subgrupos clasificamos los tumores RE-N+ en función de la positividad (> 176 KU/mg prt.) o no del TPS. En los < 176 el TPS no se correlacionó con ningún parámetro, mientras que en los > 176 lo hizo con la catepsina D (r: 0,8147), mostrando mayores concentraciones de la proteasa que los < 176.

Estudiando los tumores RE+ N- > y < 176, lo único que llamó la atención fue que en estos últimos el TPS se correlacionó estadísticamente con el RP (r: 0,656), mientras que en los RE+ N+ > 176 se observaron mayores concentraciones de catepsina D, correlacionándose el TPS con el Cyfra 21.1 (r: 0,5538) y mostrando los tumores < 176 más pS2.

## CONCLUSIONES

Teniendo presente el reducido número de casos incluidos en el presente estudio, los resultados obtenidos nos inducen a las siguientes consideraciones

preliminares: 1) para conocer el comportamiento del TPS citosólico en carcinomas de mama y su posible valor como parámetro clinicobiológico, es necesario considerar el estatus hormonal (RE); 2) en los tumores RE-, cifras de TPS superiores a 176 KU/mg prt. se asocian a la presencia de afectación ganglionar axilar y a mayores cifras de catepsina D; 3) en los tumores RE+ no existen diferencias en las concentraciones ni porcentajes de positividad del TPS en los casos con o sin afectación ganglionar axilar, y 4) en los carcinomas RE+N- y RE+N+, cifras de TPS < 176 se correlacionaron con los RP y con la pS2, respectivamente, lo que sugiere un subgrupo de mejor pronóstico, mientras que en los tumores con TPS > 176 lo hicieron con la catepsina D, pudiendo reflejar posiblemente un peor comportamiento.

## RESUMEN

Con objeto de estudiar su comportamiento, hemos determinado, mediante un método inmunoradiométrico, las concentraciones citosólicas del antígeno polipeptídico específico tisular (TPS) en 115 carcinomas ductales infiltrantes de mama. Los resultados obtenidos nos inducen a las siguientes consideraciones: 1) es necesario tener presente el estado hormonal de los tumores; 2) en los carcinomas receptor de estrógenos (RE) negativos, cifras de TPS superiores a 176 KU/mg prt. se asociaron a afectación ganglionar axilar (N) y a mayores concentraciones de catepsina D, mientras que en los RE+ las concentraciones de TPS y el porcentaje de positividad (TPS > 176 KU/mg prt.) fueron similares en los casos N+ y N-, y 3) en los carcinomas RE+, con o sin afectación ganglionar axilar, concentraciones de TPS inferiores a 176 KU/mg prt. se correlacionaron estadísticamente con los receptores de progesterona y pS2, lo que puede sugerir un subgrupo con mayor diferenciación y mejor pronóstico, mientras que las mayores de 176 KU/mg prt. lo hicieron con la catepsina D, pudiendo reflejar un subgrupo de tumores con un peor comportamiento clínico.

## REFERENCIAS

1. Bonfrer JMG, Gronewald EM, Korse CM, Van Dalen A, Oomen LCJM, Ivanyi D. Monoclonal antibody M3 used in TPS assay for the quantification of TPS re-

- cognizes cytokeratin 18. *Tumor Biol* 1994; 15: 210-221.
2. Björklund B. Tumor markers TPA, TPA-S and cytokeratins. A working hypothesis. *Tumordiagn Ther* 1992; 13: 43-48.
  3. Plebani M, Basso D, Del Favero G et al. Clinical utility of TPS, TPA and CA19.9 measurement in pancreatic cancer. *Oncology* 1993; 50: 436-440.
  4. Van Dalen A. TPS in breast cancer: A comparative study with carcinoembryonic antigen and CA15.3. *Tumor Biol* 1992; 13: 10-17.
  5. Tearle M. Serial measurements of tissue polypeptide antigen (TPS), PSA, PAP and CEA serotest values in treated patients with primary and metastatic prostate cancer. *Anticancer Res* 1993; 13: 769-777.
  6. Stieber P, Dienemann H, Hasholzner U et al. Comparison of cytokeratin fragment 19 (Cyfra 21.1), tissue polypeptide antigen (TPA) and tissue polypeptide specific antigen (TPS) as tumor markers in lung cancer. *Eur J Clin Chem* 1993; 31: 689-694.
  7. Van der Gaast A, Schoenmakers CHH, Kok TC, Blijenberg BG, Hop WCJ, Splinter TAW. Prognostic significance of tissue polypeptide specific antigen in patients with advanced non small cell lung cancer. *Eur J Cancer* 1994; 30: 1783-1786.
  8. Stieber P, Dienemann H, Hasholzner U et al. Comparison of Cyfra 21.1, TPA and TPS in lung cancer, urinary bladder cancer and benign diseases. *Int J Biol Markers* 1994; 9: 82-88.
  9. Eskelinen M, Hippalain M, Kettunen J, Salmela E, Penttilä L, Alhava E. Clinical value of serum tumor markers TPA, TPS, TAG-12, CA15.3 and MCA in breast cancer diagnosis: Results from a prospective study. *Anticancer Res* 1994; 14: 699-704.
  10. Alvarez A, Martínez Rodríguez I, Núñez M.<sup>a</sup> I, Alba A, Allende M.<sup>a</sup> T, Ruibal A. TPS cytosolic levels in non malignant breast diseases. *Int J Biol Markers* (en prensa).
  11. Gion M, Mione R, Becciolini A et al. Relationship between cytosol TPS, TPA and cell proliferation. *Int J Biol Markers* 1994; 9: 109-114.
  12. Gion M, Mione R, Gatti C et al. Tissue polypeptide antigen in tumor cytosol: A new prognostic indicator in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1990; 17: 15-21.
  13. Gion M, Mione R, Barioli P, Santorello P, Capitanio G. Tissue polypeptide antigen and tissue polypeptide specific antigen in primary breast cancer: Evaluation in serum and tumor tissue. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994; 32: 779-787.
  14. Correale M, Tedone T, Abbate I et al. TPA-cyk assay in cytosol from primary breast cancer. Preliminary results. *Int J Biol Markers* 1994; 9: 264-265.
  15. Bormer OP. From tissue polypeptide antigen to specific cytokeratin assay. *Tumor Biol* 1994; 15: 185-187.
  16. Moll R. Cytokeratins in the histological diagnosis of malignant tumors. *Int J Biol Markers* 1994; 9: 63-69.
  17. Sundtrom BE, Stigbrand TI. Cytokeratins and tissue polypeptide antigen. *Int J Biol Markers* 1994; 9: 102-108.
  18. Besse G, Kwiatkowski T, Gaillard G et al. pS2 protein as prognostic factor in 1,065 cases of human breast cancer. A multicentric study. *Bull Cancer* 1994; 81: 289-296.
  19. Saver T, Naess O. Expression of the pS2 protein and correlation with estrogen receptor status in fine-needle aspirates from breast carcinomas. *Diagn Cytopathol* 1994; 11: 165-167.
  20. Rochefort H. Biological and clinical significance of cathepsin D in breast cancer. *Seminars in Cancer Biology* 1990; 1: 153-160.
  21. Tan PE, Benz CC, Dollbaum C et al. Prognostic value of cathepsin D expression in breast cancer: Immunohistochemical assesment and correlation with radiometric assay. *Ann Oncol* 1994; 5: 329-336.
  22. Minckwitz GV, Kaufmann M, Schmid H, Goertler K, Bastert G. Epidermal growth factor receptor ans S-phase fraction as prognosticator combination in node negative primary breast cancer. *Breast* 1993; 2: 229-233.
  23. Fox SB, Smith K, Hollyer J, Greenall M, Hastrich D, Harris AL. The epidermal growth factor receptor as a prognostic marker: Results of 370 patients and review of 3,009 patients. *Breast Cancer Res Treat* 1994; 29: 41-49.
  24. Scorilas A, Yotis J, Gouriotis D et al. Cathepsin D and c-erbB2 have an additive prognostic value in breast cancer patients. *Anticancer Res* 1993; 13: 1895-1900.
  25. Roger P, Monteourrier P, Maudelonde T et al. Cathepsin D immunostaining in paraffin-embedded breast cancer cells and macrophages: Correlation with cytosolic assay. *Human Pathol* 1994; 25: 863-871.
  26. Raudin PM, Tandon AK, Allred DC et al. Cathepsin D by western blotting and immunohistochemistry f: Failure to confirm correlations with prognosis in node negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1994; 12: 467-474.
  27. Armas OA, Gerald WL, Lesser ML, Arroyo CD, Morton L, Rosen PP. Immunohistochemical detection of cathepsin D in T2NoMo breast carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 158-166.
  28. Castiglioni T, Merino MJ, Elsner B, Lah TT, Sloane BF, Emmert-Buck MR. Immunohistochemical analysis of cathepsin D, B and L in human breast cancer. *Hum Pathol* 1994; 25: 357-362.
  29. Seshadri R, Horsfall DM, Firgaira F et al. The relative prognostic significance of total cathepsin D and HER-2/neu oncogene amplification in breast cancer. *Int J Cancer* 1994; 52: 61-65.