

## CARCINOMA DE MAMA EN EL VARON

FACTORES PRONOSTICOS Y/O PREDICTIVOS RELACIONADOS CON SU  
COMPORTAMIENTO BIOLOGICO

ENRIQUE H. LUQUE\*, MONICA MUÑOZ de TORO

Laboratorio de Endocrinología y Tumores Hormonodependientes (LETH), Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas,  
Universidad Nacional del Litoral; Laboratorio de Bioquímica Molecular (LABIM), Santa Fe

**Resumen** Los avances en biología molecular han mejorado el conocimiento sobre el papel que desempeñan la información genética, las alteraciones del ciclo de división celular y las hormonas esteroideas en la génesis, diferenciación y crecimiento de algunos tumores. En mujeres con cáncer de mama las características histopatológicas y la expresión de marcadores moleculares proveen las bases para decidir conductas terapéuticas y establecer subgrupos de pacientes con diferente pronóstico. El cáncer de mama también afecta a los varones; por cada 100 mujeres con carcinoma de mama, hay un varón afectado. Los datos concernientes al carcinoma de mama de varón son pocos y, en general, se siguen conductas terapéuticas -por extrapolación- similares a la de la mujer. En este trabajo comentaremos algunos aspectos relacionados con la biología del carcinoma de mama del varón, analizando principalmente los factores pronósticos y/o predictivos y señalando las diferencias y similitudes con el carcinoma de mama de la mujer. Nuestra intención es aportar datos que permitan responder un interrogante fundamental: ¿es el carcinoma de mama del varón biológicamente similar o diferente del carcinoma de mama de la mujer?

**Abstract** *Male breast carcinoma. Prognostic and predictive indicators related to biological behavior.* The use of molecular biology and immunohistochemical techniques has led to remarkable progress in our understanding of key issues in tumor development and progression. For women with breast cancer the prognosis and modality of therapy depend on clinicopathologic features and molecular markers expression. For men with breast cancer there are very few data evaluating biological markers mainly due to the fact that male tumors are rare, the incidence being 1% of that of females. The purpose of this paper is to provide an overview of male breast carcinoma biological behavior analyzing similarities and differences with female breast carcinoma in order to answer a question with clinical and therapeutic implications: are female and male breast carcinomas biologically similar or are they different?

**Key words:** breast cancer, male breast cancer, hormone receptors, oncogenes

El cáncer de mama sigue siendo un desafío para el oncólogo. Es uno de los mayores problemas de salud en el mundo entero. La contribución más importante para luchar contra esta enfermedad está relacionada con una mejor educación pública que ayude a un diagnóstico temprano y a la modificación de los factores de riesgo relacionados con factores ambientales y estilo de vida.

El carcinoma de mama del varón es una patología poco frecuente y de la cual, quizás por esta menor incidencia, es poco lo que se sabe en comparación con el

carcinoma de mama de mujer. En la práctica clínica las estrategias terapéuticas seleccionadas para el tratamiento del carcinoma de mama de varón son las mismas que para el de mujer<sup>1-3</sup>, partiendo de la premisa que ambos tumores se comportan de la misma manera. Sin embargo, si analizamos la expresión de marcadores pronósticos y/o predictivos (y dentro de éstos los marcadores de hormonodependencia: receptor para estrógeno y para progesterona) los porcentajes para el varón no son los mismos que se obtienen en carcinomas de mama de mujer<sup>4-7</sup>.

A pesar de los adelantos terapéuticos, hasta el momento no se tiene cura para la enfermedad metastásica. Si bien la terapia adyuvante se utiliza con buenos resultados en los estadios iniciales del cáncer de mama de la mujer, ni las modalidades terapéuticas ni el subgrupo específico de pacientes que la deben recibir está bien

-----  
Recibido: 22-X-1996

Aceptado: 21-V-1997

\* Miembro de la Carrera del Investigador del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas)

**Dirección postal:** Dr. Enrique H. Luque, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Casilla de Correo 530, 3000 Santa Fe, Argentina

definido. El principal rol de los factores pronósticos es identificar aquellos pacientes con mayor riesgo a la recurrencia y que se beneficiarían con una terapia adicional o más agresiva<sup>8-10</sup>.

Gracias a los últimos avances de la Biología Celular y Molecular los eventos cruciales de la carcinogénesis, del crecimiento tumoral y de la metástasis están siendo analizados a nivel molecular. Muchos de estos adelantos ya han sido incorporados al manejo clínico de mujeres con cáncer de mama. Entre estos nuevos factores podemos citar la amplificación y/o sobreexpresión de oncogenes, secreción aumentada de factores de crecimiento, índice de proliferación celular y ploidía, proteínas inducidas por los estrógenos, proteínas del stress y de shock térmico (*stress-response/heat shock proteins*), expresión de moléculas relacionadas con la angiogénesis y con el proceso de metástasis, etc. La mayoría de la información con relación a estos marcadores tumorales ha sido obtenida a partir de estudios en carcinomas de mama de mujer. Excelentes revisiones sobre los factores pronósticos ya establecidos y sobre los nuevos, pueden consultarse en la literatura<sup>8, 11-13</sup>. Por el contrario, en tumores de mama del varón la información disponible con relación a factores pronósticos y/o predictivos es reducida.

En este trabajo comentaremos algunos aspectos relacionados con la biología del carcinoma de mama del varón, analizando principalmente los factores pronósticos y/o predictivos, y señalando las diferencias y similitudes con el carcinoma de mama de la mujer. Nuestra intención es aportar datos que permitan responder un interrogante fundamental: ¿Es el carcinoma de mama de varón biológicamente similar o diferente al carcinoma de mama de la mujer?

#### Utilidad de los marcadores pronósticos y/o predictivos en oncología

Los marcadores pronósticos y/o predictivos son los que brindan al médico la información necesaria para establecer la terapéutica que mejor se ajusta de manera individual para cada tumor/paciente. En términos generales, los marcadores pueden dividirse en dos grandes categorías: a) las variables que proveen información en relación al período libre de enfermedad y a la supervivencia (marcador pronóstico) y b) las variables que proporcionan información en relación al éxito o fracaso del tratamiento seleccionado (marcador predictivo). Hay marcadores que están incluidos en ambas categorías (i.e.: el receptor de estrógeno, en la mujer, predice la respuesta a la hormonoterapia y suele estar asociado con un período libre de enfermedad más prolongado). De manera óptima estos marcadores permiten identificar: a) pacientes cuyo pronóstico es tan malo, que los tratamientos convencionales deben cambiarse por tratamientos alter-

nativos más agresivos; b) grupos de pacientes de muy bajo riesgo que luego del tratamiento loco-regional (cirugía más radioterapia) no necesitan de tratamiento sistémico y c) cuáles serán los pacientes beneficiados por determinado régimen terapéutico (tipo de droga, dosis, ciclos, duración, etc.).

#### Incidencia y factores de riesgo

En la mujer, el carcinoma de mama representa entre el 25 y el 30% de todos los tumores malignos<sup>14</sup>, en los países industrializados de occidente es la forma de cáncer más frecuente y con mayor índice de mortalidad. En la Argentina el 23,3% de las muertes por cáncer en las mujeres corresponden a tumores de mama (Informe OPS 1980-90). El carcinoma de mama de varón es una patología poco frecuente representando el 1% de los tumores de mama diagnosticados<sup>15</sup>. Actualmente, se considera que una de cada nueve mujeres manifestarán la enfermedad a lo largo de su vida, y que uno de cada novecientos varones serán afectados.

La incidencia de carcinoma de mama crece lentamente año tras año<sup>14, 16, 17</sup> y los factores que influyen en este aumento de la incidencia parecen no estar ligados al sexo<sup>18</sup>; es decir, que este incremento está afectando tanto a varones como a mujeres. Los factores de riesgo asociados con el desarrollo del carcinoma de mama han sido investigados en numerosos estudios epidemiológicos, tanto para la mujer como para el varón. Las Figuras 1 y 2 (confeccionadas en base a datos de la bibliografía<sup>14, 15, 18-24</sup> muestran una clara superposición de los factores de riesgo que afectan a ambos sexos.

#### Parámetros clínicos e histopatológicos de importancia pronóstica

La evolución clínica del carcinoma de mama de la mujer es sumamente variable, presentando formas que progresan rápidamente y otras de evolución lenta. En términos generales se considera que en el varón la evolución suele ser más agresiva, aunque hay pocos datos en comparación con la mujer<sup>3, 4, 25</sup>.

Para clasificar las mujeres con carcinomas de mama de acuerdo con el pronóstico y con la terapia a ser aplicada, se usan de rutina una serie de parámetros relacionados con el huésped y con el tumor primario (Tabla 1). Para los pacientes varones con carcinoma de mama, la bibliografía muestra cierto acuerdo en señalar al tamaño tumoral, el compromiso ganglionar y el grado histológico como factores de valor pronóstico<sup>6, 25-27</sup>. En dos estudios recientes<sup>4, 5</sup> la gran mayoría de los tumores se clasificaron como GI y GII según Scarff-Bloom-Richardson (SBR), mostrando que el grado histológico tiende a ser menor en el varón que en la mujer. A pesar del bajo grado histológico, que implicaría menor agresivi-

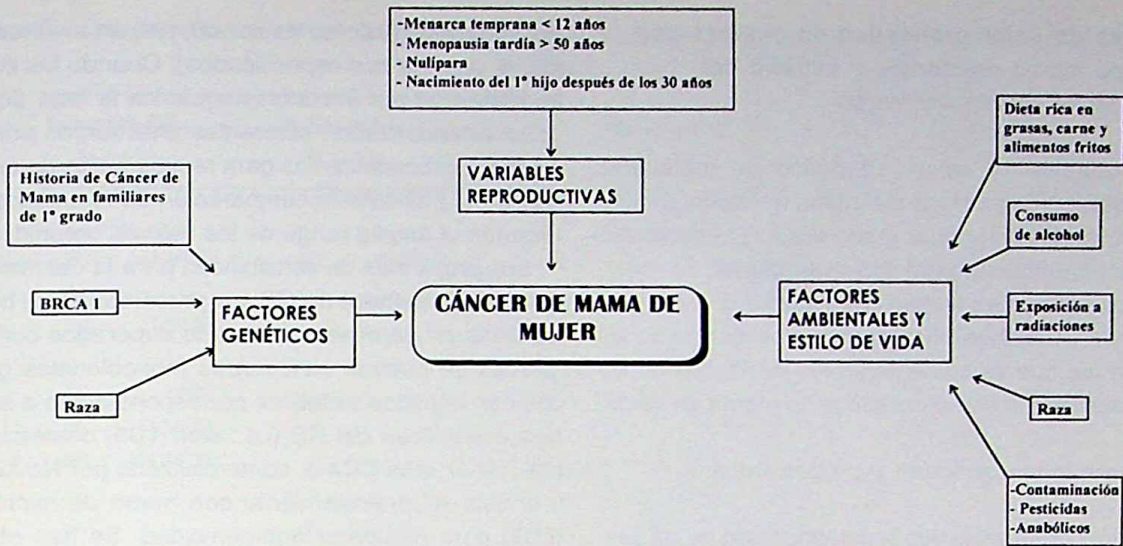


Fig. 1.- Esquema de las posibles relaciones entre cáncer de mama de mujer y factores de riesgo.



Fig. 2.- Esquema de las posibles relaciones entre cáncer de mama de varón y factores de riesgo.

vidad, un 47% de los casos presentó metástasis en los ganglios axilares<sup>5</sup>. En la mujer hay una correlación positiva entre el tamaño tumoral y el compromiso en ganglios axilares<sup>28</sup>. Según nuestros resultados, el compromiso ganglionar en el varón se correlaciona positivamente con el estadio T, independientemente del tamaño tumoral<sup>5</sup>. Esto último podría explicarse porque un considerable número de tumores pequeños, en nuestro estudio, invaden la piel (estadio T4) y esto facilitaría la diseminación a través de los linfáticos de la dermis. Otros autores<sup>29</sup> encuentran una asociación significativa entre la presencia de metástasis (regional o distante) y alto grado histológico, mayor tamaño tumoral e invasión en linfáticos intramamarios. Un 86% de los casos evaluados por nosotros presentaron invasión tumoral en vasos, sin discriminar entre sanguíneos y linfáticos, porcentaje levemente

mayor que el informado por otros autores<sup>4,30</sup> que sólo informan invasión a los vasos linfáticos de la dermis.

TABLA 1.- Parámetros pronósticos tradicionales en carcinoma de mama en la mujer

Factores del huésped	Factores del tumor
edad	tamaño
estadio de menopausia	grado
respuesta inflamatoria	invasión vascular
enfermedad adyacente <i>in situ</i>	compromiso ganglionar
	receptores hormonales

Tomado de: Porter-Jordan & Lippman<sup>28</sup>.

### Moléculas de valor pronóstico en mujeres con cáncer de mama aplicadas al estudio del carcinoma de mama del varón

Con relación al valor pronóstico de moléculas marcadoras en carcinomas de mama de varón, los trabajos publicados son pocos y sus resultados contradictorios. Este capítulo será dividido en secciones, de acuerdo con los principales factores de reconocido valor pronóstico y/o predictivo para carcinomas de mama de mujer, en las que se comentarán los resultados de los trabajos realizados con carcinomas de mama de varón.

#### Receptores para estrógeno y progesterona

Está bien establecido que la determinación de las concentraciones de los receptores para hormonas esteroideas (estrógeno y progesterona) en carcinoma de mama de mujer brinda información racional para establecer la modalidad terapéutica y es útil para predecir el pronóstico<sup>31-33</sup>. En general se considera que una mayor proporción de mujeres cuyos tumores son receptor para estrógeno positivo (RE<sup>+</sup>) responderán al tratamiento hormonal (i.e.: el antiestrógeno tamoxifeno) que las RE<sup>-</sup>. Sin embargo, el contenido del RE ha mostrado ser un pronosticador imperfecto por sí solo, pero cuando se lo complementa con la determinación del receptor para progesterona (RP) (que es una proteína inducida por los estrógenos) mejora significativamente su valor predictivo (Tabla 2).

En carcinomas de mama de varón también se ha investigado la concentración de RE y RP, con la finalidad de establecer su utilidad pronóstica y/o predictiva. La Tabla 3 resume los resultados de la determinación de estos receptores en las principales series de carcinomas de mama de varón. Se observa un amplio rango en el porcentaje de pacientes con tumores positivos para el RE (48% a 87%) y para el RP (41% a 83%) que, posiblemente, esté relacionado con: a) diferentes metodologías utilizadas, b) bajo número de casos evaluados, c) diferentes criterios para considerar los tumores posi-

TABLA 2.- Respuesta a la terapia endocrina en relación al contenido de receptores para estrógeno (RE) y progesterona (RP) en mujeres con carcinoma de mama

Contenido de receptores hormonales		Respuesta terapia endocrina (%)
RE	RP	
Negativo	Negativo	9-11
Positivo	Negativo	27-32
Negativo	Positivo	42-46
Positivo	Positivo	68-77

Tomado de: Osborne et al.<sup>32</sup> y Osborne<sup>31</sup>

vos-negativos (valores de *cut-off* que, en muchos trabajos, ni siquiera son especificados). Cuando los estudios se realizaron por inmunohistoquímica la falta de protocolos estandarizados (diferentes anticuerpos primarios, fijadores, procedimientos para recuperación de antigenicidad, etc.) dificulta la comparación de resultados y justificarían el amplio rango de los valores obtenidos.

Los problemas de sensibilidad para la determinación inmunohistoquímica del RE que presentaban las biopsias incluidas en parafina<sup>8,34</sup> han sido superados con el desarrollo de nuevos anticuerpos monoclonales generados con péptidos sintéticos correspondientes a secuencias específicas del RE (i.e.: clon 1D5, comercializado por DAKO; clon CC4-5, comercializado por Novocastra) y el uso del pretratamiento con horno de microondas (MW) para recuperar anti-geenicidad. Se han obtenido buenos resultados utilizando el 1D5 y el CC4-5 en muestras incluidas en parafina y pretratadas con MW<sup>5, 35-38</sup>. Sin embargo, aún persisten diferencias en los resultados obtenidos usando diferentes anticuerpos. Estudios adicionales permitirán encontrar su explicación.

En tumores de mama de mujer y de endometrio, la expresión de RP se correlaciona con la presencia del RE<sup>39-41</sup>. Esta asociación entre el RE y RP se observó en nuestra serie de carcinomas de mama de varón, sin embargo un 17,5% de los casos mostró el fenotipo RE<sup>-</sup>/RP<sup>+</sup><sup>5</sup>. Resultados similares fueron publicados recientemente<sup>4, 7, 29</sup>. Este alto porcentaje de RE<sup>-</sup>/RP<sup>+</sup> difiere de los datos conocidos en carcinoma de mama de mujer, donde el RP es raramente observado (2-5%) en tumores RE<sup>-</sup><sup>42-44</sup>. Un punto interesante es si las diferencias en la conformación proteica del RE (que no sería reconocido por el anticuerpo utilizado) pueden ser las responsables de estas variaciones en la expresión de RP, ya que ha sido sugerido que ciertas variantes del RE pueden actuar induciendo la expresión de genes sensibles al estrógeno aun en ausencia de estímulo estrogénico<sup>45</sup>. Un mecanismo similar sería el promovido por un receptor de andrógenos mutado que ha sido descrito en varones con carcinoma de mama<sup>46, 47</sup>. Los tumores que son RE<sup>-</sup> pero RP<sup>+</sup> a menudo expresan altos porcentajes de variantes del RE y han sido asociadas con el fenotipo de crecimiento resistente al tamoxifeno<sup>45, 48</sup>. Hasta el presente no hay datos que permitan descartar la posibilidad de una mayor expresión de variantes del RE en los tumores de mama de varón. Otro aspecto a tener en cuenta son los sistemas enzimáticos involucrados en la síntesis de estradiol en el tejido mamario. Al igual que en la mujer postmenopáusica con carcinoma de mama<sup>49</sup>, los sistemas enzimáticos que participan en la síntesis de estradiol parecen estar potenciados en el carcinoma de mama de varón<sup>7</sup>. Una estimulación hormonal parácrina a través de la aromatización de los andrógenos en las células del estroma mamario y bajas concentraciones de RE (no detectables por inmunohistoquímica)

TABLA 3.- Determinación de receptores de estrógeno (RE) y de progesterona (RP) en las principales series de carcinomas de mama en el varón

Tumores RE+ % (n/N)	Tumores RP+ % (n/N)	Método (Cut-off)	Referencia
		Ligando-receptor	
85 (19/22)	62 (5/8)	Dif. métodos separación (> 10 fmol/mg prot)	Everson et al. <sup>104</sup>
83 (10/12)	-	<sup>3</sup> HE <sub>2</sub> -Columna sephadex G25 (> 25 fmol/mg prot)	Friedman et al. <sup>105</sup>
50 (2/4)	-	Carbón dextrán (> 10 fmol/mg prot)	Kraybill et al. <sup>106</sup>
62 (13/21)	-	Carbón dextrán - IHQ	Dawson et al. <sup>95</sup>
86 (18/21)	-	IHQ. Formol-parafina, pronasa (> 25% células +)	Fox et al. <sup>93</sup>
-	60 (18/30)	IHQ. Etanol-parafina (> 5% células +)	Kardás et al. <sup>92</sup>
62 (25/40)	75 (30/40)	IHQ. Parafina	Robertson et al. <sup>94</sup>
87 (124/143)	76(106/139)	Carbón dextrán	Stalberg et al. <sup>29</sup>
48 (13/27)	41 (11/27)	IHQ. RE prot K, DNAasa (> 10% células +)	Pich et al. <sup>6</sup>
80 (47/59)	54 (32/59)	Carbón dextrán	Salvadori et al. <sup>25</sup>
79 (83/105)	77 (81/105)	?	Cutuli et al. <sup>26</sup>
76 (19/25)	83 (19/22)	IHQ-MW	Joshi et al. <sup>4</sup>
60 (9/15)	67 (10/15)	IHQ-MW	Sasano et al. <sup>7</sup>
59 (9/16)	69 (11/16)	IHQ-MW	Muñoz de Toro & Luque <sup>5</sup>

IHQ: Inmunohistoquímica. MW: horno de microondas

podrían ser suficientes para promover el crecimiento tumoral y/o sintetizar el RP.

En la mujer, la presencia del RE se asocia positivamente con la edad. Debido a que la expresión del RP está correlacionada con la presencia del RE, ambos receptores tienen una asociación semejante con las variables clinicopatológicas; sin embargo, por razones que aún no están claramente establecidas, la correlación del RP con la edad es pobre o está ausente. Nuestra serie de tumores de mama de varón, en coincidencia con otros autores<sup>29</sup>, mostró ausencia de correlación entre el RE y edad; mientras que se observó una baja pero significativa correlación positiva entre RP y la edad en el momento del diagnóstico.

A diferencia de lo que ocurre en la mujer, en ninguno de los trabajos analizados (Tabla 3) se encontró asociación entre RE o RP y pronóstico del carcinoma de mama de varón. También llama la atención el pronóstico adverso de los pacientes varones con carcinoma de mama que contrasta con los altos porcentajes de tumores positivos para RE y/o RP.

#### Índice de proliferación celular

Desde mucho tiempo atrás se sabe que aquellos tumores con alto número de mitosis poseen mayor agresividad.

Para alcanzar una precisa evaluación de las células en división se han desarrollado diferentes métodos para cuantificar el índice de proliferación de los tumores<sup>8, 50</sup>. Dentro de estos métodos, el uso de anticuerpos mono-clonales contra antígenos relacionados con el ciclo de división celular ha permitido una fácil, rápida y precisa evaluación de las células en proliferación. Por ello, este procedimiento ha adquirido una amplia difusión.

En términos generales, los epitopes de antígenos expresados por células en proliferación e identificados por los anticuerpos monoclonales son muy lábiles, puesto que no son bien preservados luego del procesado de rutina y la inclusión en parafina. Dos hechos han provocado una revolución en la aplicación clínica de la determinación por inmunohistoquímica de la actividad proliferativa de los tumores: a) el uso del pretratamiento con MW en muestras incluidas en parafina<sup>51, 52</sup> y b) el desarrollo de un anticuerpo, denominado MIB-1, que reconoce un epitope de la molécula del Ki-67 y que es efectivo en biopsias incluidas en parafina<sup>53</sup>. El pretratamiento con MW permitió solucionar los efectos de la sobrefijación que afectan a la molécula del PCNA<sup>54, 55</sup>, independientemente del procesado que hayan recibido las muestras<sup>51</sup>. El pretratamiento con MW también posibilita realizar inmunomarcaciones confiables usan-

do MIB-1, puesto que el epítipo reconocido por este anticuerpo siempre es enmascarado por los fijadores aldehídicos<sup>56</sup>.

Los resultados sobre la utilidad clínica del PCNA en mujeres con carcinoma de mama son contradictorios; hay trabajos que apoyan su utilidad<sup>57-59</sup> mientras otros la rechazan<sup>60-62</sup>. Estas diferencias pueden explicarse por el uso de distintos clones de anticuerpos, procesado de las biopsias y procedimientos metodológicos para la evaluación del PCNA<sup>51, 63, 64</sup>. La gran cantidad de trabajos publicados usando MIB-1 en los últimos dos años y las pruebas clínicas previas con el Ki-67 (evaluado en muestras de tejido congelado), han permitido concluir que el MIB-1 es un buen indicador de proliferación celular en biopsias en parafina de carcinomas de mama de mujer<sup>65-69</sup>. Nuestra experiencia con la inmunomarcación de Ki-67 usando el MIB-1 en carcinomas de varón indica que el procesado de las muestras es un factor importante para la obtención de resultados confiables<sup>69</sup>.

La baja incidencia de casos de carcinomas de mama de varón dificulta la realización de estudios prospectivos y vuelve imprescindible la optimización del dosaje de marcadores de proliferación celular en material de archivo. Diferentes grupos han investigado la utilidad clínica de la determinación del contenido de ADN, la ploidía, el porcentaje de células en fase S, y la evaluación inmunohistoquímica de proteínas relacionadas con la división celular, en carcinomas de mama de varón. Tanto Gatusso et al.<sup>70</sup> como Hatschek et al.<sup>27</sup> concluyeron que el contenido de ADN y la fase S carecen de valor pronóstico en el carcinoma de mama de varón. Por su parte Pich et al.<sup>6</sup> encontraron una correlación negativa entre la actividad proliferativa del tumor *versus* la sobrevida. Mani et al.<sup>71</sup> presentaron resultados preliminares estableciendo el valor pronóstico de la ploidía. Las discrepancias en los resultados indican la necesidad de profundizar estas investigaciones. En un estudio preliminar observamos una buena correlación entre la expresión de PCNA y de Ki-67 con el conteo de las figuras mitóticas<sup>72</sup>. También hubo una significativa correlación entre el alto porcentaje de células que expresaron PCNA en aquellos carcinomas de varones que eran RE<sup>+</sup>/RP<sup>+</sup>, mientras que los tumores RE<sup>-</sup>/RP<sup>-</sup> mostraron un bajo índice de proliferación<sup>72</sup>.

Estudios *in vitro* muestran que los estrógenos estimulan la proliferación celular tanto en tejido mamario normal como neoplásico<sup>33</sup>. La acción de los estrógenos es mediada por sus receptores que actúan como factores de transcripción uniéndose al DNA y promoviendo la expresión de genes<sup>73</sup>. El rol de la progesterona sobre la proliferación celular continúa siendo controvertido, pudiendo actuar estimulando o inhibiendo el crecimiento de células mamaria normales o tumorales. Cuando se correlaciona la expresión de RE o RP con marcadores de proliferación celular en muestras de carcinoma de

mama de mujer los resultados, en general, difieren de los estudios *in vitro*; encontrándose una relación inversa entre ambos parámetros<sup>74, 75</sup>. En un trabajo reciente Fanelli et al.<sup>35</sup> analizaron la expresión de los receptores y marcadores de proliferación a nivel celular, observando que hay correlación entre la expresión de RE con alta proliferación en un elevado porcentaje de tumores. Esta asociación también se observó, pero en menor proporción, entre RP y proliferación celular. En carcinoma de mama de varón sólo Pich et al.<sup>6</sup> estudiaron el índice de proliferación en relación a la expresión de receptores hormonales y no encontraron ninguna asociación entre actividad proliferativa y expresión de receptores. En nuestro estudio observamos una marcada tendencia hacia una mayor actividad proliferativa en los tumores RE<sup>+</sup>, sugiriendo que los estrógenos serían los principales responsables de la proliferación celular en el carcinoma de mama de varón<sup>72</sup>. La expresión de RE, que en el varón parece no correlacionarse con buen pronóstico, podría estar mediando la acción proliferativa de los estrógenos. También encontramos que el porcentaje de células en proliferación mostró una tendencia a ser mayor en los tumores RP<sup>+</sup>. No podemos descartar la posibilidad de que la progesterona pueda estar induciendo proliferación celular; sin embargo, la correlación positiva entre RE y RP hace suponer que podría ser el estrógeno el responsable de promover tanto la proliferación celular como la síntesis del RP.

#### *Proteína hsp27 (proteína inducida por stress/shock térmico)*

La proteína hsp27 (al igual que el RP, proteína S2 y catepsina D) es otra proteína asociada al RE cuya síntesis estaría regulada o mediada por los estrógenos<sup>40, 76</sup>. Posteriormente se demostró que pertenece al grupo de proteínas inducidas por el stress y el shock térmico (*heat shock/stress response proteins*)<sup>40</sup>. La presencia de hsp27 reflejaría la existencia de una vía del RE funcionalmente activa. La expresión de hsp27 en el tumor mamario de mujer, está directamente correlacionada con la presencia del RE, aunque existen tumores que siendo RE<sup>+</sup> no expresan la hsp27<sup>76, 77</sup>. En carcinomas mamarios de mujer entre el 40%<sup>78</sup> al 70%<sup>79</sup> expresan la hsp27.

Teniendo en cuenta que la hsp27 se expresa en tejidos hormono-sensibles y en tumores derivados de éstos, una serie de estudios clínicos investigó su posible utilidad como marcador de hormonodependencia. Además de estudiar la utilidad de la hsp27 como factor predictivo de respuesta a la hormonoterapia, diferentes grupos investigan su posible valor pronóstico. Los datos muestran que la hsp27 es un controvertido indicador de hormonodependencia<sup>40</sup> y estas controversias también se mantienen a la hora de establecer su valor pronóstico<sup>78-82</sup>.

En carcinomas de mama de varón estudiamos la expresión inmunohistoquímica de hsp27 junto con la de RE y RP<sup>5, 83</sup>, este método permitió evaluar la localización precisa de los marcadores en el tejido. Esto fue particularmente importante para analizar la distribución de las células positivas para hsp27, RE y RP en cortes consecutivos de parafina, ya que las áreas negativas para RE fueron –frecuentemente– positivas para RP y/o hsp27. Todos los carcinomas de mama de varón expresaron hsp27, sin embargo sólo 59% de éstos fueron RE<sup>+</sup>. Esta falta de asociación entre la expresión del RE y hsp27 observada en varones difiere de los resultados publicados para carcinomas de mama de mujer<sup>77, 79, 81</sup>. Los casos de carcinomas de mama de varón que fueron RE<sup>-</sup> y positivos para RP y/o hsp27, presumiblemente representen expresión de RP y hsp27 que no es regulada por los estrógenos, sugiriendo un diferente mecanismo de regulación hormonal o una expresión constitutiva (no regulada)<sup>40</sup>. Algunas de las posibles explicaciones a este elevado porcentaje de expresión de hsp27 y RP en tumores de mama de varón ya fueron analizadas en la sección "Receptores para estrógeno y progesterona" de este artículo.

En carcinomas de mama de mujeres la presencia del RE, RP y hsp27 está asociada con características histológicas que sugieren un pronóstico favorable. Los tumores que son positivos para RE, RP y/o hsp27 tienden a ser histológicamente bien diferenciados<sup>43, 44, 78, 82</sup>. Esta asociación no fue observada en nuestra serie de varones con carcinomas de mama, ni cuando se utilizó el sistema SBR ni con el MSBR (SBR modificado)<sup>5</sup>.

### Catepsina D

La catepsina D es una proteasa lisosomal cuya vía principal de síntesis es regulada por los estrógenos<sup>84</sup> y que en forma alternativa puede expresarse constitutivamente (no regulada). Sus funciones son variadas, actúa como factor de crecimiento uniéndose al receptor del factor de crecimiento II de la insulina (Rc-IGF-II) promoviendo la división celular; también parece facilitar el proceso de invasión tumoral por su acción degradadora de la matriz extracelular y de las membranas basales<sup>84, 85</sup>. Usando el método inmunoradiométrico y midiendo diferentes variantes moleculares de la catepsina D, en varios trabajos se encontró que altos niveles de catepsina D en tumor de mama de mujer están asociados con mal pronóstico<sup>86</sup>. Sin embargo, cuando se utilizó inmunohistoquímica que permite visualizar la expresión de catepsina D en los diferentes tipos celulares los resultados fueron sorprendentes; cuando la alta expresión estaba localizada en las células epiteliales del carcinoma había alta correlación con marcadores de buen pronóstico, mientras que si la mayor concentración estaba localizada en las células del estroma mamario

(i.e.: macrófagos) el pronóstico era adverso<sup>87</sup>. Este último trabajo podría explicar parte de las contradicciones surgidas de los estudios clínicos cuando se usan diferentes metodologías para medir la catepsina D<sup>88</sup>.

La expresión en carcinomas de mama de varón fue estudiada por inmunohistoquímica encontrando 13 de los 21 casos estudiados positivos para catepsina D<sup>89</sup>. No se observó correlación entre la expresión de RE y catepsina D. Tres casos que fueron RE<sup>-</sup> fueron positivos para catepsina D, evidenciando una posible expresión constitutiva no regulada por estrógenos. Semejante a lo que ocurre con la mujer, en cáncer de mama de varón no se ha establecido claramente si la expresión de catepsina D tiene valor pronóstico. Para poder usar la catepsina D como factor pronóstico en la clínica, tanto para mujeres como varones con carcinomas de mama, será necesario establecer previamente la metodología y los valores de *cut-off* recomendados.

### Proteína S2

La pS2 es una proteína de tamaño pequeño secretada a partir de las células tumorales de mama. Se desconoce su función, pero posee una alta homología con péptidos pequeños que actúan como factores de crecimiento<sup>90</sup>. El 50% de los carcinomas de mama de mujer expresan pS2 siendo la mayoría de estos tumores positivos para RE, pero sin asociarse con el RP<sup>91</sup>. La pS2 es una proteína inducida por los estrógenos, su expresión predice respuesta a la hormonoterapia y una sobrevida prolongada en mujeres con cáncer de mama<sup>90, 91</sup>.

Kardas et al.<sup>92</sup> en un análisis retrospectivo mostraron que el 70% de los carcinomas de mama de varón expresaron pS2 (38 casos). Esta expresión de pS2 no se correlacionó con mayor sobrevida de los pacientes ni con la expresión de RP. Esa mayor incidencia de tumores del varón positivos para pS2 podría indicar la activación constitutiva de la variante mutada del RE (con borramiento del exón 5) asociada con resistencia al tamoxifeno<sup>45</sup>. Esto último podría apoyar el pronóstico más agresivo del carcinoma de mama del varón *versus* el de la mujer.

### Factores de crecimiento

Se postula que la sobreexpresión del receptor para el factor de crecimiento epidérmico (RcEGF) estaría relacionado con una mayor agresividad de los carcinomas de mama de mujer<sup>13</sup>. La presencia del RcEGF fue investigada en muestras de carcinomas de mama de varones. Fox et al.<sup>93</sup> encontraron que un 76% de los tumores eran positivos, mientras que Robertson et al.<sup>94</sup> describieron resultados positivos en el 59% de los casos estudiados. Fox et al.<sup>93</sup> especulan que la alta expresión del RcEGF podría ser la causa del pronóstico adverso que,

en general, presentan los varones con carcinoma de mama. A diferencia de lo que ocurre en la mujer no se encontró correlación entre la expresión del RE y RcEGF<sup>93</sup>.

#### *Oncogen HER-2/neu*

La amplificación y sobreexpresión del oncogen HER-2/neu se correlaciona con recurrencia temprana y menor sobrevida en mujeres con cáncer de mama; más recientemente también se la asocia con resistencia farmacológica<sup>13</sup>. La evaluación de la amplificación y sobreexpresión de este oncogen en tumores de mama de varón ha dado resultados altamente contradictorios. Hay autores que encontraron ausencia de expresión del oncogen HER-2/neu<sup>95</sup>, mientras otros investigadores describen una baja (17%)<sup>96</sup> o intermedia (40%)<sup>4, 94</sup> expresión. Por su parte Blin et al.<sup>97</sup> describen sobreexpresión en 27/30 (90%) tumores estudiados. Hasta el momento no hay ninguna explicación para estas discrepancias, y sólo Joshi et al.<sup>4</sup> sugieren su valor como factor pronóstico adverso.

#### *Oncoproteína p53*

Los genes supresores de tumores o antioncogenes normalmente regulan la división y diferenciación celular cumpliendo, por lo tanto, una función fundamental evitando la tumorigénesis en las células normales. Las alteraciones de estos genes producen una pérdida de esta función bloqueadora del efecto tumorigénico y, entonces, se facilita el desarrollo del cáncer. Una de las alteraciones más comunes en tumores humanos, de este grupo de genes supresores de tumores, es la expresión de la proteína mutada del oncogen p53 la que se asocia con variables de mal pronóstico<sup>12</sup>.

La mayoría de las publicaciones concluyen que la mutación del p53 es un factor pronóstico independiente en carcinomas invasivos de mama de mujer<sup>12</sup>. En carcinomas de mama de varón la evaluación inmunohistoquímica de la proteína mutada de p53 ha dado resultados dispares; mostrando positividad en rangos desde 0% hasta el 53% de los casos<sup>4, 98</sup>. Cuando se estudiaron las alteraciones a nivel del gen amplificado por PCR (*polymerase chain reaction*) y se analizaron individualmente los exones por SSCP (*single strand conformation polymorphism*) la incidencia de pacientes con mutaciones del p53 fue del 41,4%, mientras que al estudiar la expresión de proteína mutada en las mismas muestras por inmunohistoquímica sólo el 5,5% fue positivo. Los pacientes con alteraciones genéticas del p53 (usando PCR-SSCP en ADN extraído del tumor) mostraron una sobrevida menor, pero esta diferencia no alcanzó a ser estadísticamente significativa<sup>98</sup>.

## Conclusión

El análisis comparativo del pronóstico entre los tumores de mama del varón y de la mujer es un tema controvertido<sup>3, 92, 99, 100</sup>, aunque varios autores señalan un peor pronóstico en varones que en mujeres<sup>2, 4, 25, 101</sup>. A pesar que los carcinomas de mama en varones son más frecuentemente RE<sup>+</sup> y de bajo grado histológico hay una alta incidencia de ganglios linfáticos comprometidos y estadios iniciales avanzados<sup>102</sup>.

El pronóstico adverso del carcinoma de mama en el varón podría depender de: a) diagnóstico tardío, b) diseminación facilitada por aspectos anatómicos, c) alta expresión de hsp27 (en nuestro estudio todos los carcinomas fueron hsp27<sup>+</sup>) proteína que podría estar relacionada con el comportamiento metastásico<sup>81, 103</sup> y d) alta expresión de RE y RP (Tabla 3) que en lugar de asociarse con buen pronóstico se correlaciona con una mayor actividad proliferativa del tumor<sup>72</sup>. Otra posible explicación (que no excluye las hipótesis anteriores) estaría dada por las estrategias terapéuticas seleccionadas que siguen las recomendaciones generales utilizadas para mujeres con carcinoma de mama<sup>1-3</sup>.

Nuestros datos y muchos de los resultados comentados en esta revisión apoyan el hecho de que el carcinoma de mama de la mujer y el de varón serían tumores biológicamente diferentes. Una simple y directa analogía entre ambos, con relación al régimen terapéutico basado en la presencia del RE y de las proteínas reguladas por RE, no se justificaría teniendo en cuenta los datos presentados y discutidos en este trabajo, enfatizando la necesidad de futuras investigaciones para aclarar estos aspectos.

Como conclusión general de los trabajos que investigaron marcadores moleculares para establecer factores pronósticos y/o predictivos en cáncer de mama de varón, podemos decir que los resultados son altamente contradictorios y que no se pueden extraer conclusiones sobre la utilidad de alguno de estos factores. Del análisis comparativo entre el carcinoma de mama de varón *versus* carcinoma de mujer, surge que los resultados presentados apoyan más la tesis de que son patologías biológicamente diferentes. El carcinoma de mama de varón puede requerir una diferente conducta terapéutica y diferentes indicadores pronósticos, o al menos, diferentes valores de *cut-off* o sistemas de valoración para los mismos marcadores biológicos usados en la mujer. Serán necesarios estudios futuros para aclarar las contradicciones observadas y poder aconsejar el uso de alguno de estos factores para poder seleccionar, en la práctica clínica, grupos de pacientes varones con riesgo diferente.

**Agradecimientos:** Este trabajo es parte de la Tesis Doctoral de uno de los autores (MMT). Agradecemos a quienes de diferente manera posibilitaron la realización de los estudios comentados aquí: Drs. Julio Piva, Raúl Giardina, Juan Romero Acuña, Luis Romero Acuña y Mario Langhi (Santa Fe), Doris T. Danni y Juan C. Block (Paraná). Parte de los resultados comentados en esta revisión fueron subsidiados con fondos del CONICET, Fundación Alberto J. Roemmers y Universidad Nacional del Litoral (CAI+D 530-0-PE-290).

**Bibliografía**

1. Borgen PI, Wong GY, Vlamis V, Potter C, Hoffman B, Kinne DW. Current management of male breast cancer: A review of 104 cases. *Ann Surg* 1992; 215: 451-7.
2. Ciatto S, Iossa A, Bonardi R. Male breast carcinoma: Review of a multicenter series of 150 cases. *Tumori* 1990; 76: 555-8.
3. Harris JR, Morrow M, Bonadonna G. Cancer of the breast. *En: Cancer: principles and practice of oncology*, 4th Ed. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). Lippincott, Philadelphia, 1993; 1264-332.
4. Joshi MS, Lee AKC, Loda M, Camus MG, Pedersen C, Heatley GJ, et al. Male breast carcinoma: An evaluation of prognostic factors contributing to a poorer outcome. *Cancer* 1996; 77: 490-8.
5. Muñoz de Toro M, Luque EH. Lack of relationship between the expression of hsp27 heat shock estrogen receptor-associated protein and estrogen receptor or progesterone receptor status in male breast carcinoma. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1997; 60: 277-84.
6. Pich A, Margaria E, Chiusa L. Proliferative activity is a significant prognostic factor in male breast carcinoma. *Am J Pathol* 1994; 145: 481-9.
7. Sasano H, Kimura M, Shizawa S, Kimura N, Nagura H. Aromatase and steroid receptors in gynecomastia and male breast carcinoma: An immunohistochemical study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3063-7.
8. Luque EH, Muñoz de Toro M, Romero Acuña L, Langhi M, Romero Acuña J. Marcadores moleculares para predecir el pronóstico del cáncer de mama. *Medicina (Buenos Aires)* 1993; 53: 151-66.
9. McGuire WL, Tandon AK, Allred DC, Chamness GC, Clark GM. How to use prognostic factors in axillary node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1006-15.
10. Scott JA, McGuire WL. New molecular markers of prognosis in breast cancer. *En: Endocrine-dependent tumors*. Voigt KD, Knabe C (eds). Raven Press, New York, 1991, 179-96.
11. Gasparini G, Pozza F, Harris AL. Evaluating the potential usefulness of new prognostic and predictive indicators in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1206-19.
12. Leong ASY, Lee AK. Biological indices in the assessment of breast cancer. *J Clin Mol Pathol* 1995; 48: M221-38.
13. Mansour EG, Ravdin PM, Dressler L. Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer* 1994; 74: 381-400.
14. Dhom G. Epidemiology of hormone-depending tumors. *En: Endocrine-dependent tumors*. Voigt KD, Knabe C (eds). Raven Press, New York, 1991, 1-42.
15. Sasco AJ, Lowenfels AB, Pasker-de Jong P. Epidemiology of male breast cancer. A meta-analysis of published case-control studies and discussion of selected aetiological factors. *Int J Cancer* 1993; 53: 538-49.
16. Elledge RM, McGuire WL, Osborne CK. prognostic factors in breast cancer. *Semin Oncol* 1992; 19: 2454-52.
17. Jonasson JG, Agnarsson BA, Thorlacius S, Eyfjord JE, Tulinius H. Male breast cancer in Iceland. *Int J Cancer* 1996; 65: 446-9.
18. Epstein S. Environmental and occupational pollutants are avoidable causes of breast cancer. *Int J Health Serv* 1994; 24: 145-7.
19. Donegan WL, Redlich PN. Breast cancer in men. *Surg Clin N Amer* 1996; 76: 343-63.
20. Hulka BS, Liu ET, Lininger RA. Steroid hormones and risk of breast cancer. *Cancer* 1994; 74: 1111-22.
21. Matos EL, Thomas DB, Vuoto D. Breast cancer in Argentina: case-control study with special reference to meat eating habits. *Neoplasms* 1991; 38: 357-65.
22. Simon MS, McKnight E, Schwartz A, Martino S, Swanson GM. Racial differences in cancer of the male breast-15 year experience in the Detroit metropolitan area. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 21: 55-62.
23. Thomas DB. Male breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993; 15: 220-31.
24. Thorlacius S, Tryggvadottir L, Olafsdottir GH, Jonasson JG, Ogmundsdottir HM, Eyfjord JE. Linkage to BRCA2 region in hereditary male breast cancer. *Lancet* 1995; 346: 544-5.
25. Salvadori B, Saccozzi R, Manzari A, Andreola S, Conti RA, Cusumano, F et al. Prognosis of breast cancer in males: An analysis of 170 cases. *Eur J Cancer* 1994; 30: 930-5.
26. Cutuli BF, Lacroze M., Dilhuydy JM, Velten M, DeLafontan B, Marchal C, et al. Male breast cancer: Results of the treatments and prognostic factors in 397 cases. *Eur J Cancer* 1995; 31A: 1960-4.
27. Hatschek T, Wingren S, Carstensen J, Hultbom R. DNA content and S-phase fraction in male breast carcinomas. *Acta Oncol* 1994; 33: 609-13.
28. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989; 63: 181-7.
29. Stalsberg H, Thomas DB, Rosenblatt KA, Jiménez LM, McTiernan A, Stemhagen A, et al. Histologic types and hormone receptors in breast cancer in men: A population-based study in 282 United States men. *Cancer Causes and Control* 1993; 4: 143-51.
30. Cunha F, Andre S, Soares J. Morphology of male breast carcinoma in the evaluation of prognosis. *Path Res Pract* 1990; 186: 745-8.
31. Osborne CK. Receptors. *En: Breast Diseases*. Harris J, Hellman S, Henderson I, Kinne D (eds). Lippincott, Philadelphia, 1991; 301-25.
32. Osborne CK, Yochmowitz MG, Knight VA, McGuire WL. The value of estrogen and progesterone receptors in the treatment of breast cancer. *Cancer* 1980; 46: 2884-8.
33. Sunderland MC, McGuire WL. Hormones and breast cancer. *Trends Endocrinol Metab* 1991; 2: 72-6.
34. Cohen C, Unger E, Sgoutas D, Bradley N, Chenggis M. Automated immunohistochemical estrogen receptor in fixed embedded breast carcinomas. *Am J Pathol* 1991; 95: 335-9.
35. Fanelli MA, Vargas-Roig LM, Gago F, Tello O, Lucero De Angelis R, Ciocca D. Estrogen receptors, progesterone receptors, and cell proliferation in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1996; 37: 217-28.
36. Hendricks JB, Wilkinson EJ. Comparison of two antibodies for evaluation of estrogen receptors in paraffin-embedded tumors. *Modern Pathol* 1993; 6: 765-9.
37. Mauri FA, Veronese S, Frigo B, Giraldo S, Losi L, Gambacorta M, et al. ER1D5 and H222 (ER-ICA) antibodies to human estrogen receptor protein in breast carcinomas: Results of a multicentric comparative study. *Appl*

- Immunohistochem* 1994; 2: 157-63.
38. Pertschuk LP, Kim YD, Axiotics CA, Braverman AS, Carter AC, Eisenberg KB, et al. Estrogen receptor immunocytochemistry: The promise and the perils. *J Cell Biochem* 1994; 19: 134-7.
  39. Ciocca DR, Luque EH. Immunological evidence for the identity between the hsp27 estrogen-regulated heat shock protein and the p29 estrogen receptor-associated protein in breast and endometrial cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1991; 20: 33-42.
  40. Ciocca DR, Oesterreich S, Chamnes GC, McGuire WL, Fuqua SAW. Heat shock protein 27,000 (hsp27): Biological and clinical implications. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1558-70.
  41. Ciocca DR, Puy LA, Fasoli LC. Study of estrogen receptor, progesterone receptor, and the estrogen-regulated Mr 24,000 protein in patients with carcinomas of the endometrium and cervix. *Cancer Res* 1989; 49: 4298-304.
  42. Calandra RS, Charreau EH, Giaroli MR, Baldi A, Calvo JC, Pujato D, et al. Receptores para esteroides y prolactina en carcinomas mamarios humanos. *Medicina (Buenos Aires)* 1980; 40: 718-25.
  43. Donegan WL. Prognostic factors: Stage and receptor status in breast cancer. *Cancer* 1992; 70: 1755-64.
  44. Sluysen M. Role of estrogen receptor variants in the development of hormone resistance in breast cancer. *Clin Biochem* 1992; 25: 407-14.
  45. Fuqua SAW, Wolf DM. Molecular aspects of estrogen receptor variants in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 35: 233-41.
  46. Lobaccaro JM, Lumbroso S, Belon C, Galtier-Dereure F, Bringer J, Lesimple T, et al. Androgen receptor gene mutation in male breast cancer. *Hum Molec Genetic* 1993; 2: 1799-802.
  47. Wooster R, Mangion J, Elles R, Smith S, Dowsett M, Averill D, et al. A germline mutation in the androgen receptor gene in two brothers with breast cancer and Reifenshtein syndrome. *Nature Genet* 1992; 2: 132-4.
  48. Horwitz KB. Mechanism of hormone resistance in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1993; 26: 119-30.
  49. Pasqualini JR, Chetrite G, Nguyen B-L, Maloche C, Delalone L, Talbi M, et al. Estrone sulfate-sulfatase and 17 $\beta$ -hidroxysteroid dehidrogenase activities: A hypothesis for their role in the evolution of human breast cancer from hormone-dependence to hormone-independence. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1995; 53: 407-12.
  50. Woosley JT. Measuring cell proliferation. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115: 555-7.
  51. Muñoz de Toro LM, Luque EH. Effect of microwave pretreatment on proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections. *J Histotechnol* 1995; 18: 11-6.
  52. Shi S-R, Key ME, Kalra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: An enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 1991; 39: 741-8.
  53. Cattoretti G, Becker MHG, Key G, Duchrow, Schluter C, Galle J, et al. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 1992; 1678: 357-63.
  54. Golick ML, Rice M. Optimum staining of PCNA in paraffin sections is dependent on fixation, drying, and intensification. *J Histotechnol* 1992; 15: 39-41.
  55. Greenwell A, Foley JF, Maronpot RR. An enhanced method for immunohistochemical staining of proliferating cell nuclear antigen in archival rodent tissues. *Cancer Lett* 1991; 59: 251-6.
  56. Munakata S, Hendricks JB. Effect of fixation time and microwave oven heating time on retrieval of the Ki-67 antigen from paraffin-embedded tissue. *J Histochem Cytochem* 1993; 41: 1241-6.
  57. Noguchi M, Thomas M, Kitagawa H, Kinoshita K, Ohta H, Earashi M, et al. The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen in breast cancer: Correlation with DNA ploidy, c-erbB-2 expression, histopathology, lymph node metastases and patient survival. *Int J Oncol* 1993; 2: 985-9.
  58. Tahan SR, Neuberg DS, Dieffenbach A, Yacoub L. Prediction of early relapse and shortened survival in patients with breast cancer by proliferating cell nuclear antigen score. *Cancer* 1993; 71: 3552-9.
  59. Visscher DW, Wykes S, Kubus J, Crissman JD. Comparison of PCNA/cyclin immunohistochemistry with flow cytometric S-phase fraction in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 22: 111-8.
  60. Gasparini G, Meli S, Pozza F, Cazzavillan S, Bevilacqua P. PC-10 antibody to proliferating cell nuclear antigen (PCNA) is not related to prognosis in human breast carcinoma. *Growth Regulat* 1992; 2: 145-50.
  61. Leonardi E, Girlando S, Mauri FA, Dalla Palma P, Barbareschi M. PCNA and Ki67 expression in breast carcinoma: Correlations with clinical and biological parameters. *J Clin Pathol* 1992; 45: 416-9.
  62. Schmitt FC, Pereira EM, Andrade LM, Torresan M, de Luca L. The proliferating cell nuclear antigen index in breast carcinomas does not correlate with mitotic index and estrogen receptor immunoreactivity. *Path Res Pract* 1994; 190: 786-91.
  63. Sasaki K, Kurose A, Ishida Y, Matsuta M. Estimation of S-phase fraction in tumor tissue sections by immunohistochemical staining of PCNA. *J Histochem Cytochem* 1994; 42: 957-60.
  64. Wada T, Shimabukuro T, Matsuyama H, Naito K, Skog S, Tribukait B. Optimal conditions of fixation for immunohistochemical staining of proliferating cell nuclear antigen in tumour cells and its cell cycle related immunohistochemical expression. *Cell Prolif* 1994; 27: 541-51.
  65. Barbareschi M, Girlando S, Mauri FM, Forti S, Eccher C, Mauri FA, et al. Quantitative growth fraction evaluation with MIB1 and Ki67 antibodies in breast carcinomas. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 171-5.
  66. Kelleher L, Magee HM, Dervan PA. Evaluation of cell-proliferation antibodies reactive in paraffin sections. *Appl Immunohistochem* 1994; 2: 164-70.
  67. Keshgegian AA. ErbB-2 oncoprotein overexpression in breast carcinomas: Inverse correlation with biochemically- and immunohistochemically-determined hormone receptors. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 35: 201-10.
  68. Ostrowski ML, Chakraborty S, Laucirica R, Brown RW, Greenberg SD. Quantitative image analysis of MIB-1 immunoreactivity: A comparison with flow cytometric assessment of proliferative activity in invasive carcinoma of the breast. *Analyt Quant Cytol Histol* 1995; 17: 15-24.
  69. Muñoz de Toro M. Carcinoma de mama del varón: Estudio de la expresión de moléculas relacionadas con su comportamiento biológico. Tesis Doctoral, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL, Santa Fe, 1996.
  70. Gattusso P, Reddy VB, Green L, Castelli M, Haley D, Herman C. Prognostic significance of DNA ploidy in male breast carcinoma: A retrospective analysis of 32 cases. *Cancer* 1992; 70: 777-80.
  71. Mani S, Haffty B, Sinard J, Fischer D, Papac R, Flynn S. DNA ploidy as a prognostic indicator in male breast carcinoma: A retrospective study of 55 cases. *Breast Cancer*

- Res Treat* 1994; 32: A248.
72. Muñoz de Toro M, Giardina R, Piva J, Luque EH. Evaluation of male breast carcinoma proliferative activity by Ki-67, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and mitotic index. *Braz J Morphol Sci* 1996; 3: A74.
  73. Truss M, Beato M. Steroid hormone receptors: interactions with deoxyribonucleic acid and transcription factors. *Endocr Rev* 1993; 14: 459-79.
  74. Campani D, Sarnelli R, Fontanini G, Martini L, Cecchetti D, De Luca F, et al. Receptor status, proliferating activity, and c-erbB2 oncoprotein. An immunohistochemical evaluation in breast cancer. *Annals NY Acad Sc* 1993; 698: 167-73.
  75. Marchetti E, Querzoli P, Marzola A, Bagni A, Ferretti S, Fabris G, et al. Assessment of proliferative rate of breast cancer by Ki67 monoclonal antibody. *Mod Pathol* 1990; 3: 31-5.
  76. Adams DJ, McGuire WL. Quantitative enzyme-linked immunosorbent for the estrogen-regulated Mr 24,000 protein in human breast tumors: Correlation with estrogen and progesterone receptors. *Cancer Res* 1985; 45: 2445-9.
  77. Ciocca DR, Stati AO, Amprino de Castro MM. Colocalization of estrogen and progesterone receptors with an estrogen-regulated heat shock protein in paraffin sections of human breast and endometrial cancer tissue. *Breast Cancer Res Treat* 1990; 16: 243-51.
  78. Tetu B, Brisson J, Landry J, Huot J. Prognostic significance of heat-shock protein-27 in node-positive breast carcinoma: An immunohistochemical study. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 36: 93-7.
  79. Thor A, Benz C, Moore D, Goldman E, Edgerton S, Landry J, et al. Stress response protein (srp-27) determination in primary human breast carcinomas: clinical, histologic, and prognostic correlations. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 170-8.
  80. Love S, King RJB. A 27 kDa heat shock protein that has anomalous prognostic powers in early and advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1994; 69: 743-8.
  81. Oesterreich S, Hilsenbeck SG, Ciocca DR, Allred DC, Clark GM, Chamnes GC, et al. The small heat shock protein hsp27 is not an independent prognostic marker in axillary lymph node-negative breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 1199-206.
  82. Seymour L, Bezwoda WR, Meyer K. Tumor factors predicting for prognosis in metastatic breast cancer: The presence of p24 predicts for response to treatment and duration of survival. *Cancer* 1990; 66: 2390-4.
  83. Muñoz de Toro M, Luque EH. Expression of progesterone receptor (PgRc) and hsp27 heat shock estrogen receptor-associated protein in male breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 1994; 32: A249.
  84. Rochefort H, Cavailles V, Augereau P, Capony F, Maudelonde T, Touitou I, et al. Overexpression and hormonal regulation of pro-cathepsin D in mammary and endometrial cancer. *J Steroid Biochem* 1989; 34: 177-82.
  85. Rochefort H, Capony F, García M. Cathepsin D: A protease involved in breast cancer metastasis. *Cancer Metast Rev* 1990; 9: 321-31.
  86. Spyrtos F, Brouillet JP, DeFrenne A, Hacene K, Rouesse J, Maudelonde T, et al. Cathepsin D: An independent prognostic factor for metastasis of breast cancer. *Lancet* 1989; 2: 1115-8.
  87. Odonoghue AEMA, Poller DN, Bell JA, Galea MH, Elston CW, Blamey RW, et al. Cathepsin D in primary breast carcinoma: Adverse prognosis is associated with expression of cathepsin D in stromal cells. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 33: 137-45.
  88. Porter-Jordan K, Lippman ME. Overview of the biologic markers of breast cancer. *Hematol Oncol Clin N Amer* 1994; 8: 73-100.
  89. Rogers S, Day CA, Fox SB. Expression of cathepsin D and estrogen receptor in male breast carcinoma. *Hum Pathol* 1993; 24: 148-51.
  90. Henry JA, Piggot NH, Mallick UK, Nicholson S, Farndon JR, Westley BR, et al. pNR-2/pS2 immunohistochemical staining in breast cancer: Correlation with prognostic factors and endocrine response. *Br J Cancer* 1991; 63: 615-22.
  91. Schwartz LH, Koerner FC, Edgerton SM, Sawicka JM, Rio MC, Bellocq JP, et al. pS2 expression and response to hormonal therapy in patients with advanced breast cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 624-8.
  92. Kardas I, Seitz G, Limon J, Niezabitowski A, Rys J, Theisinger B, et al. Retrospective analysis of prognostic significance of the estrogen-inducible pS2 gene in male breast carcinoma. *Cancer* 1993; 72: 1652-6.
  93. Fox SB, Rogers S, Day CA, Underwood JCE. Oestrogen receptor and epidermal growth factor receptor expression in male breast carcinoma. *J Pathol* 1992; 166: 13-8.
  94. Robertson JFR, Cannon P, Leach I, Ellis I, Elston C, Blamey R. Male breast cancer in Nottingham: Clinical-pathological features, including immunohistochemistry and prognosis. *Breast Cancer Res Treat* 1993; 27: A197.
  95. Fox SB, Day CA, Rogers S. Lack of c-erbB-2 oncoprotein expression in male breast carcinoma. *J Clin Pathol* 1991; 44: 960-1.
  96. Dawson PJ, Paine TM, Wolman SR. Immunocytochemical characterization of male breast cancer. *Modern Pathol* 1992; 5: 621-5.
  97. Blin N, Kardas I, Welter C, Rys J, Niezabitowski A, Limon J, et al. Expression of the c-erbB2 proto-oncogene in male breast carcinoma: Lack of prognostic significance. *Oncology* 1993; 50: 408-11.
  98. Anelli A, Anelli TFM, Youngson B, Rosen PP, Borgen PI. Mutations of the p53 gene in male breast cancer. *Cancer* 1995; 75: 2233-8.
  99. Guinee VF, Olson H, Moller T. The prognosis of breast cancer in males. *Cancer* 1993; 71: 154-61.
  100. Ribeiro G, Swindell R. Adjuvant tamoxifen for male breast cancer (MBC). *Br J Cancer* 1992; 65: 252-4.
  101. Heller KS, Rosen PP, Schottenfeld D. Male breast cancer: A clinicopathologic study of 97 cases. *Ann Surg* 1978; 188: 60-5.
  102. Muñoz de Toro M, Luque EH. Carcinoma de mama de varón: Marcadores de comportamiento biológico que contribuyen a un pronóstico adverso. *Medicina (Buenos Aires)* 1996; 56: 181.
  103. Miron T, Vancompernelle K, Vandekerckhove J. A 25-kDa inhibitor of actin polymerization is a low molecular mass heat shock protein. *J Cell Biol* 1991; 114: 255-61.
  104. Everson RB, Lippman ME, Thompson EB, McGuire WL, Wittliff JL, De Sombre ER, et al. Clinical correlations of steroid receptors and male breast cancer. *Cancer Res* 1980; 40: 991-7.
  105. Friedman MA, Hoffman PG, Dandolos EM, Lagios MD, Johnston WH, Siiteri PK. Estrogen receptors in male breast cancer: Clinical and pathologic correlations. *Cancer* 1981; 41: 134-7.
  106. Kraybill WG, Kaufman R, Kinne D. Treatment of advanced male breast cancer. *Cancer* 1981; 47: 2185-9.