



MEME KANSERİNDE C-ERBB-2 EKSPRESYONU İLE DİĞER PROGNOTİK FAKTÖRLER ARASINDA İLİŞKİ VAR MI ?

IS THERE ANY RELATIONSHIP BETWEEN C-ERBB-2 EXPRESSION AND OTHERS PROGNOTIC FACTORS IN BREAST CANCER ?

Bülent KARABULUT¹
Erdem GÖKER¹

Veliddin Canfeza SEZGİN¹
Necmettin ÖZDEMİR²

Ulus Ali ŞANLI¹
Selahattin SANAL³

Rüçhan USLU¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Bornova, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

³University Of Florida Health Science Center, Jacksonville, Florida, U.S.A

Anahtar sözcükler: c-erbB2, meme kanseri

Key Words: c-erbB2, breast cancer

ÖZET

C-erbB-2 insan meme kanserlerinde sık eksprese edilen bir genidir. Yapılan çalışmalarda özellikle aksiller lenf nodu tutulumu olan hastalarda bağımsız negatif prognostik bir faktör olduğu kabul edilmektedir. Bu çalışmada, 134 meme kanserli kadın hastada C-erbB-2 onkogen ekspresyonu ve diğer prognostik faktörlerle olan ilişkisi araştırılmıştır. C-erbB2 onkogeninin, aksiller lenf nodu metastazı ile ilişkisi gösterilemedi. Ancak aksiller metastatik lenf nodlarında yapışık lenf nodülleri (GATO) oluşumu ile c-erbB2 ekspresyonu arasında istatistik olarak anlamlı bir ilişki saptandı. Ayrıca çalışmamızda, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), p53, yaş, tümör çapı, metastaz durumu gibi parametreler ile C-erbB-2 arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. Tüm bu sonuçlar ile C-erbB-2'nin literatürde de belirtildiği gibi diğer faktörlerden bağımsız bir prognostik faktör olabileceği görüşü desteklenmektedir.

SUMMARY

C-erbB-2 gene is frequently over expressed in human breast cancer. Many studies have demonstrated that C-erbB-2 over expression is an independent negative prognostic factor in node-positive breast cancer patients. In this study, C-erbB-2 expression and its relationship with other prognostic factors were investigated in 134 breast cancer patients. The significant relationship between C-erbB-2 and axillary lymph nodes involvement, ER, PR, P53, age, tumor size, metastasis status could not be shown. But statically significant relationship between C-erbB2 over expression and lymph node GATO formation is shown. In a result, C-erbB2 over expression could be a prognostic factor in breast cancer.

GİRİŞ

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanserdir (1, 2). Kanserden ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer al

maktadır (3). Meme kanseri oldukça önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Modern tedavilere rağmen tüm meme kanserli hastaların 1/2-1/3' ü ölmektedir (4). Bu nedenle koruyucu önlemler önem kazanmaktadır. Bu da meme kanserinin biyolojisinin iyi tanımlanmasıyla mümkün olacaktır. Meme kanserinin pek çok prognostik faktörü tespit edilmiştir; aile öyküsü, iki taraflı tutulum, östrojen ve

Yazışma adresi: Bülent KARABULUT, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Bornova, İzmir

Makalenin geliş tarihi: 15.10.2003; Kabul tarihi: 04.12. 2003

progesteron reseptör durumu, p53-tümör supresör gen durumu, C-erbB-2 onkogen pozitifliği, histoloji, diferansiyasyonu, proliferatif indexleri ve Ki-67, yaş, cinsiyet, evre ve aksiller lenf bezi tutuluşu gibi. C-erbB-2 insan meme kanserlerinde sık amplifiye edilen bir genidir. C-erbB-2 onkogeni normal hücrelerde tek kopya halinde olup 17. kromozomda lokalizedir. Epidermal Growth Factor (EGF) ailesinden bir glikoproteini (p185) kodlamaktadır. P185' in intrasellüler komponenti tirozin kinaz aktivitesi göstermektedir. Ekstrasellüler komponenti ise yapı olarak growth faktör reseptörlerine benzemektedir (5). C-erbB-2 aşırı ekspresyonu invaziv duktal karsinomlu hastalarda %25 - 45 olarak izlenmektedir (6). C-erbB-2 geninin meme kanserindeki rolü, EGF (Epidermal Growth Factor)'nin meme epiteli gelişiminde önemli rol oynaması, C-erbB-2 proteinine (p185) karşı geliştirilen antikörlerin sıçan tümörlerinde malign hücre fenotipini normale dönüştürmesi, C-erbB-2 geninin embriyonik gelişme boyunca değişik roller üstlenmesi ve başta meme kanseri olmak üzere birçok değişik tümör tipinde (over, mide, böbrek, kolon v.b) C-erbB-2 geninde amplifikasyon gösterilmesi nedeniyle yoğun olarak araştırılmıştır (7-10). C-erbB-2 aşırı ekspresyonunun, lokal nüks, metastasız sağ kalım, mitotik indeks ve aksiller lenf nodu tutulumu ile ilişkisi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak meme kanserinde diğer prognostik faktörlerle C-erbB-2 ekspresyonu arasında ilişki gösterilememiştir. Bu nedenle C-erbB-2 geni, meme kanserinde negatif bağımsız prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (6,13 - 17).

Bu çalışmada, meme kanserli hastalarda C-erbB-2 onkogen ekspresyonu ve diğer prognostik faktörlerle olan ilişkisi araştırılmıştır.

HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışmaya, 1997-1998 yılları arasında Ege Ü.T.F Medikal Onkoloji polikliniğine başvuran ve invazif duktal karsinom (IDK) tanısı alan 134 kadın hasta alınmıştır. Çalışmaya alınan tüm hastalara aksiller diseksiyon ve total mastektomi uygulanmış, tüm patolojik materyaller tümör çapı, LNM (aksiller lenf nodu metastazı), lenf nodlarında çevre yumuşak doku yayılımı (ÇYDY) ve GATO oluşumu C-erbB-2, ER (östrojen reseptörü), PR (progesteron reseptörü), p53 pozitifliği yönünden değerlendirilmiştir. C-erbB-2 için patolojik yöntem olarak immunohistokimyasal (immunoperoksidaz-kod:A0485, C-erbB-2 oncoprotein, kod: DAKO LSAB(R) 2 kiti-KO675) analiz yapılmıştır. C-erbB-2 onkoproteinine karşı geliştirilen antikörler kullanılarak taze meme dokusundan elde edilen malign hücrelerdeki C-erbB-2 onkoproteini immunoperoksidaz yöntemi ile floresan oranına göre yüzdelenerek değerlendirilmiştir. %50 ve üzerindeki değerler C-erbB-2 yönünden pozitif olarak kabul edilmiştir. Ki-67 ve steroid reseptörleri immunohistokimyasal yön- temle değerlendirilmiştir. Ki-67

için DAKO Ki-67 A0047-DAKO K0675 Peroksidaz - DAKO S 3000 DAB ve steroid reseptörleri için DAKO M:7047 kiti kullanılmıştır. Tüm örnekler aynı patolog tarafından incelenmiş ve aynı kitler kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar 4'lü ki-kare analiz ve korelasyon analiz yöntemi ile değerlendirmeye alınmıştır.

SONUÇLAR

Çalışmaya alınan 134 kadın hastanın tümü IDK tanılıdır ve yaş ortalamaları 49.9 ± 11.7 olarak belirlenmiştir. 19 hastada (%14) aile öyküsü vardı. Hastaların 56'sı (%42) premenapozal, 78'i (%58) postmenapozal dönemdeydi. Hastaların sadece 20'sinde (%15) tümör çapı 2cm altında iken, 97 hastada (%72) tümör çapı 2-5cm, 17 hastada ise (%13) tümör çapı 5cm üzerinde tespit edildi. 55 hastada (%41) p53, 45 hastada (%34) ER, 48 hastada (%36) PR pozitif bulundu. Hastaların sadece 9'unda (%7) metastaz tespit edildi. 96 hastada (%72) c-erbB2 pozitif bulundu. Tanı anında 98 hastada (%73) axiller lenf nodu tutuluşu saptanırken, bu hastaların 11'inde (%8) GATO, 37' sinde (%28) çevre yumuşak doku yayılımı pozitif olarak bulundu. Hasta özellikleri Tablo 1' de özetlenmiştir.

Aksiller lenf nodu tutulumu ve C-erbB-2 arasındaki korelasyon Tablo 2'de, aksiller lenf nodu tutuluşu saptanan hastaların, lenf nodlarının lokal invazyonu ile C-erbB-2 arasındaki ilişki Tablo 3' te özetlenmiştir. Tablolarda da izlendiği gibi C-erbB-2 ile axiller lenf nodu tutulumu arasında istatistik olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak lenf nodu tutulumu ile lokal agresif hastalık arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir ($p < 0.05$). Bu arada yaş, PR, ER, P53, tümör çapı ve metastatik hastalık ile C-erbB-2 arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir ($p > 0.05$). Sonuçlar Tablo 4-9 da özetlenmiştir. Bu sonuçlar içinde en göze çarpan bulgu 2-5 cm'lik tümör çapı ile C-erbB-2 arasındaki ilişki yüzdelerinin yüksekliğidir. Ancak korelasyon analizlerinde tümör çapı ve C-erbB-2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Tablo 1. Hastaların klinik özellikleri

Hasta sayısı / Cinsiyet	134-Kadın
Tanı	invazif Duktal Karsinom
Yaş ortalamaları	49.9±11.7
Aile anamnezi	19 hasta (%14)
Menapoz durumu	56 hasta (%42) premenapozal, 78 hasta (%58) postmenapozal
Tümör çapı	20 hasta (%15) <2cm, 97 hasta (%72) 2-5cm, 17 hasta (%13) >5cm
P53 pozitifliği	45 hastada (%34)
ER pozitifliği	45 hastada (%34)
PR pozitifliği	48 hastada (%36)
C-erbB-2 pozitifliği	96 hastada (%72)
Aksiller LNM	98 hastada (%73)
Lenf nodu GATO	11 hastada (%8)
Lenf nodu ÇYDY	37 hastada (%28)
Metastaz	9 hastada (%7)

Tablo 2. Aksiller lenf nodu - C-erbB-2 ilişkisi

C-erbB-2 (+) LNM (+)	C-erbB-2 (-) LNM (-)	C-erbB-2 (+) LNM (-)	C-erbB-2 (-) LNM (+)
76 (%57)	13(%10)	23 (%17)	23(%16)

p>0.05

Tablo 3. Metastatik lenf nodlarının lokal agresivitesi ve c-erbB2 arasındaki ilişki

	C-erbB-2 (+)-LNM (+)	C-erbB-2 (-)-LNM (+)	Toplam
GATO	10 (%7)*	1 (%0.07)	11 (%8)
ÇYDY	27 (%20)	10 (%7)	37 (%28)

*p<0.05

Tablo 4. Yaş ile C-erbB2 arasındaki ilişki

C-erbB-2 (+) <35 yaş	C-erbB-2 (-) <35 yaş	C-erbB-2 (+) >35 yaş	C-erbB-2 (-) >35 yaş
11 (%8)	3 (%2)	85 (%64)	35 (%26)

p>0.05

Tablo 5 . PR ile C-erbB2 arasındaki ilişki

C-erbB-2 (+) PR(+)	C-erbB-2 (-) PR(-)	C-erbB-2 (+) PR(-)	C-erbB-2 (-) PR(+)
37 (%28)	27 (%20)	59 (%44)	11 (%8)

p>0.05

Tablo 6. ER ile C-erbB2 arasındaki ilişki

C-erbB-2 (+) ER(+)	C-erbB-2 (-) ER(-)	C-erbB-2 (+) ER(-)	C-erbB-2 (-) ER(+)
31 (%23)	24(%18)	65 (%48)	14(%10)

p>0.05

Tablo 7. P53 ile c-erbB2 arasındaki ilişki

C-erbB-2 (+) P53 (+)	C-erbB-2 (-) P53 (-)	C-erbB-2 (+) P53 (-)	C-erbB-2 (-) P53 (+)
37 (%28)	20(%15)	59 (%44)	18 (%13)

p>0.05

Tablo 8. Tümör çapı ile C-erbB2 arasındaki ilişki

Tümör Çapı	C-erbB-2 (+)	C-erbB-2 (-)
<2cm	11 (%8)	9 (%6)
2 - 5cm	73 (%54)	24(%18)
>5cm	12 (%9)	5 (%8)

p>0.05

Tablo 9. Metastatik hastalık ile C-erbB2 arasındaki ilişki

C-erbB-2 (+) metastaz (+)	C-erbB-2 (-) metastaz (-)	C-erbB-2 (+) metastaz (-)	C-erbB2 (-) metastaz (+)
7 (%5)	36 (%27)	89 (%67)	2(%1)

p>0.05

TARTIŞMA

Aksiller lenf nodu tutulumunun meme kanserinin en önemli prognostik faktörlerinden biri olduğu artık kabul gören bir görüş olmuştur. Tan ve arkadaşlarının 1997 yılında 202 meme kanser tanılı hasta üzerinde yaptıkları prospektif bir çalışmada lenf nodu pozitif olan hastaların 112 aylık izleminde mortalite oranı %42 olarak saptanırken, lenf nodu negatif olan hastalarda bu oran 168 aylık izlem döneminde sadece %11 olarak belirlenmiştir (11). Pek çok çalışmada alınan benzer sonuçlar ile lenf nodu tutulumunun önemi kabul edilmiştir. Ancak aynı çalışmada, cerrahi olarak aksiller diseksiyon endikasyonu konulan hastaların sadece %18' inde aksiller tutulum saptanırken, çalışmamızda bu oran %73 olarak tespit edildi. Hasta grubumuzun %80' ninin evre 2b ve üzerinde olması oldukça yüksek rakamlar olarak kabul edilmiştir. Lenf nodu tutulumunun bu prognostik önemi yanında yine son yıllarda C-erbB-2 onkogen aşırı ekspresyonunun da prognostik önemi araştırılmıştır. Meme kanserlerinde C-erbB-2 pozitiflik oranı %25-45 oranında bildirilirken, bizim çalışma grubumuzda bu oran %72 olarak, yine literatüre oranla yüksek oranda tespit edilmiştir (12). Pek çok çalışmada bu onkogenin gerek lokal nüks, gerekse kısa yaşam süresi yönünden, bağımsız bir faktör olarak ilişkisi gösterilmiştir (6,13-17). Hasta popülasyonumuzda yüksek aksiller lenf nodu tutulumu, yüksek C-erbB-2 oranı göz önüne alındığında aralarında bir ilişki var mı sorusu akla gelmektedir. Üstelik, araştırmalarda C-erbB-2' nin bağımsız bir negatif prognostik faktör olduğu düşünülürse bu ilişkiyi araştırmanın faydalı olacağı açıktır. Brotheric ve arkadaşlarının 1995 yılında yaptıkları floWsitometrik çalışmada 110 hasta değerlendirilmiş ve C-erbB-2-lenf nodu tutulumu arasında ilişki tespit edilememiştir (18). Benzer şekilde 10-113 aylık izlem süreli hastaları kapsayan 4 ayrı çalışmada ortalama %10 oranında c-erbB-2 amplifikasyonu bildirilirken, amplifikasyon ile lenf nodu tutulumu arasında bağlantı gösterilememiştir (19). Ancak aynı çalışmada gen amplifikasyonu ile kısa sağkalım arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Başka bir çalışmada da %28 oranında gen amplifikasyonu bildirilirken lenf nodu tutulumu ile gen amplifikasyonu arasında ilişki gösterilememiştir (20). Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmesine karşın bu sonucun tam aksini iddia eden çalışmalar da sunulmuştur. Bunlar içinde en dikkat çekici olanı Slamon ve arkadaşlarının 1987'de yayınladıkları çalışmadır. Bu çalışmada aksiller lenf nodu pozitif hastalar 2-7 yıl izlenmiş ve C-erbB-2 amplifikasyonu %40 olarak

bildirilmiştir (21). Amplifikasyon ile birden fazla lenf bezi tutulumu arasında ilişki gösterilmiştir. Aynı çalışmada elde edilen veriler izlenmesi yapılamayan 103 hastadan alınan veriler ile birleştirildiğinde bu ilişkinin çok daha belirgin hale geldiği bildirilmiştir. Ancak, bu çalışma için, hasta karakterleri farklı 2 ayrı grup üzerinden yapıldığı ve bunun da sonuçları etkileyebileceği eleştirileri yoğun olarak yapılmaktadır. Varolan verilerle lenf nodu tutulumu ile C-erbB-2 amplifikasyonu arasında ilişki kesin olarak ortaya konulamamıştır. C-erbB-2 ve lenf nodu tutulumu oranlarındaki farklılıklar genetik farklılıklara işaret edebileceği gibi, özellikle C-erbB-2 için yöntem farklılıklarına da bağlı olabilir. Flow sitometrik analizlerle daha sağlıklı sonuçlar elde edilmektedir, immunohistokimyasal olarak yapılan değerlendirmelerde yanlış negatif sonuçlar çok daha belirginken, yanlış pozitif sonuçlar çok nadir olarak görülmektedir. (18). Bu nedenle hasta popülasyonunda daha yüksek C-erbB-2 düzeylerinin olabileceği düşünülmüştür. Lenf nodlarında gato formasyonunun da prognostik önemi olduğunu kabul edilmektedir. Çalışmamızda C-erbB-2 pozitifliği ile gato formasyonu arasında istatistik olarak anlamlı bir ilişki saptanırken, lenf düğümlerinde ÇYDY ile C-erbB-2 arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Tüm bu veriler ile C-erbB-2 onkogeninin, aksiller lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğunu iddia etmek zordur. Ancak metastatik lenf nodlarında lokal agresiflik ile ilişkili olabileceğini düşünmek olasıdır. Çünkü yukarıda belirtilen çalışmalarda C-erbB-2' nin yüksek lokal nüks ile birlikteliği, gösterilmiş, bu da C-erbB-2' nin yüksek grade (histolojik-nükleer) ve aneuploidi ile birlikteliği ile açıklanmıştır. Ancak literatürde C-erbB-2 aşırı ekspresyonu ile aksiller lenf nodu tutulumu arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmaların da mevcut olması nedeniyle bu konu

hakkında kesin bir yorum yapılamamaktadır. Son yıllarda, C-erbB-2' nin immunohistokimyasal boyama yöntemlerinin deki gelişmeler ve flow Cyto Metri veya Polymerase Chain Reaction (PCR) gibi tekniklerin kullanımı ile daha hassas ölçümler yapılmakta ve daha farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Ayrıca literatürde belirtilen farklı sonuçların, boyama yöntemlerindeki farklılıklara bağlı olması yanısıra homojen olmayan hasta dağılımları ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Çalışmamızda immunohistokimyasal olarak boyanma oranlarına göre C-erbB-2 ekspresyonu değerlendirildiği ve hasta sayısının yetersiz olduğu için net bir yorum yapılamamıştır.

Bu çalışmada ER, PR, P53, yaş, tümör çapı, tanı anında metastaz durumu gibi parametreler ile C-erbB-2 arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Aryandono ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada C-erbB-2 aşırı ekspresyonu ile hastalık evresi, mitotik indeks ve aksiller lenf nodu tutulum sayısı arasında ilişki saptanırken, diğer parametreler ile anlamlı ilişki saptanamamıştır (22). Çalışmamızda C-erbB-2 ile diğer prognostik faktörler arasında anlamlı bir ilişki olmadığı sonucu literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Ancak bu konuda da çelişkili çalışmalar mevcuttur.

Tüm bu sonuçlar C-erbB-2' nin literatürde de belirtildiği gibi diğer faktörlerden bağımsız bir prognostik faktör olabileceğini desteklemektedir. Ancak aksiller lenf nodu tutulumunda lokal agresiflik ile ilişkisi gösterilirken aksiller lenf nodu tutulumu arasında ilişki saptanamamıştır. İstatistik olarak anlamsız olsa da, C-erbB-2 pozitif ve aksiller lenf nodu tutulumu olan hasta oranının %57 olarak saptanması dikkat çekici olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmanın daha geniş hasta sayısı ile ve C-erbB-2 ekspresyonu için daha ileri tekniklerin kullanılarak yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Laara E, Muir CS. Estimates of the World wide frequency of sixteen major cancers in 1980. *Int J Cancer* 1988; 41: 184-196.
2. Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics 1993. *C.A. Cancer J Clin* 1993; 43:4-26.
3. Sinvenberg E, Lubera J. Cancer statistics 1987. *C.A Cancer J Clin* 1987; 37:19.
4. Allred DC, O'Connel P, Fuqua SA, Osborne CK. Immunohistochemical studies of early breast cancer evolution. *Breast Cancer Res Treat*, 1994; 32:1,13-8.
5. Dawkins HJ, Robbins PD, Smith KLSarna M, Harvey JM, Sernet GF, Papadimitriou JM. What's new breast cancer ? Molecular perspectives of cancer development and the role of the oncogene c-erbB2 in prognosis and disease. *Pathol Res Pract* 1993; 189: 10, 1233-52.
6. Barnes DM, Bartkova J, Campjohn RS, Gullick WJ, Smith PJ, Millis RR. Overexpression of the c-erbB2 oncoprotein: why does this occur more frequently in ductal carcinoma in situ than in invasive mammary carcinoma and is this of prognostic significance ? *Eur J Cancer* 1992; 28: 2-3, 644-8.
7. Slomon E, Voss R, Hail V et al. Chromosome 5 allele loss in human colorectal carcinomas. *Nature* 1987, 328:616-620.
8. Drebin JA, Link VC, Greene MJ. Monoclonal antibodies specific for the neu oncogene product directly mediate antitumor effects in vivo. *Oncogene* 1988; 2:387-394.
9. Schejter ED, Segal D, Glazer L et al. Alternative 5' exons and tissue specific expression of the Drosophila EGF receptor homologue transcripts. *Celi* 1986; 46: 1091-1094.

10. Yokota J, Yamamoto T, Toyoshima K et al. Amplification of c-erbB2 oncogene in human adenocarcinomas in vivo. *Lancet* 1986; 1:765-767.
11. Tan P, Cady B, Wanner M, Worland P, Cukor B, Magi-Galluzzi C, Lavin P, Draetta G, Pagano M, Loda M. The celi cycle inhibitor 27 is an independent prognostic marker in small (T1a,b)invasive breast carcinoma. *Cancer Res* 1997; 57: 7, 1259-63.
12. Lea! CB, Schmitt FC, Bento MJ, Maia NC, Lopes CS. Ductal carcinoma in situ of the breast. Histologic categorization and its relationship to ploidy and immunohistochemical expression of hormone receptors, p53, and c-erbB2 protein. *Cancer* 1995; 75: 8, 21: 23-31.
13. O2Mailey FP, Saad Z, Kerkvliet N, Doig G, Stitt L, Ainsworth P, Hundal H, Chambers AF, Turnbull D, Bramwell V. The predictive poWer of semiquantitative immunohistochemical assessment of p53 and c-erbB2 in lymph node-negative breast cancer. *Hum Pathol* 1996; 27: 9, 955-63.
14. Perin T, Canzonieri V, Massarut S, Bidoli E, Rossi C, Roncadin M, Carbone A. Immunohistochemical evaluation of multiple biological markers in ductal carcinoma in situ of the breast cancer. *Eur J Cancer* 1996; 32 A:7: 1148-55.
15. Lagios MD. Classification of duct carcinoma in situ (DCIS) with a characterization of high grade lesions: defining cohorts for chemoprevention trials. *J Celi Biochem* 1996; Suppl 25: 108-11.
16. Rudas M, Neumayer R, Gnant MF, Mittelböck M, Jakesz R, Reiner A. p53 protein expression, celi proliferation and steroid hormone receptors in ductal and lobular in situ carcinomas of the breast. *Eur J Cancer* 1997; 33: 1, 39-44.
17. Ferrero-Pous M, Hacene K, Bouchet C, Le Doussal V, Tubiana-Hulin, Spyrtos F. Relationship between c-erbB-2 and other tumor characteristics in breast cancer prognosis. *Clin Cancer Res*. 2000; 6 (12) : 4745-54.
18. Brotherick I, Shenton BK, CoWan WK, Angus B, Home CH, Higgs MJ, Lennard TW. The relationship between flow-cytometric and immunohistochemically detected c-erbB2 expression, grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1995; 41: 3: 137-45.
19. Ali IU, Campbell G, Lederau R et al. Lack of evidence for the prognostic significance of c-erbB2 amplification in human breast carcinoma. *Oncogene Res*. 1988; 3: 1-8.
20. Berger MS, Locher GW, Saurer S et al. Correlation of c-erbB2 amplification and protein expression in human breast carcinoma With nodal status and nuclear grading. *Cancer Res*. 1988; 8: 1238-1243.
21. Slamon DJ, Clark GM, Wang SG et al. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival With amplification of the HER-2/neu gene. *Science* 1987; 235: 177-182.
22. Aryandono T, Harijadi, Ghozali A. Correlation of clinical, pathological status, hormone receptor and c-erbB-2 oncoprotein in breast cancer patients. *Gan To Kagaku Ryoho* 2000; 2: 600-6.