



MEME KANSERİNDE KI-67 EKSPRESYONU VE DİĞER PROGNOSTİK FAKTÖRLER İLE İLİŞKİSİ

KI-67 EXPRESSION IN BREAST CANCER AND ITS RELATIONSHIP WITH OTHER PROGNOSTIC FACTORS

Veliddin Canfeza SEZGİN¹ Bülent KARABULUT¹ Ulus Ali ŞANLI¹ Rüçhan USLU¹
Erdem GÖKER¹ Salahattin SANAL² Necmettin ÖZDEMİR³

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

²University of Florida Health Science Center, Jacksonville, Florida

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

Anahtar Sözcükler: Ki-67, meme kanseri, c-erbB-2, östrojen reseptörü

Key Words: Ki-67, breast carcinoma, c-erbB-2, estrogen receptor

ÖZET

İnsan meme kanserlerinin klinik seyri için çeşitli şekillerde ortaya çıktığı bilinmektedir. Geçmişte güvenilir ve tekrarlanabilir prognostik göstergeleri tanımlamak için çok çaba harcanmıştır. Lenf nodu tutulumu, tümör derecesi ve tümör çapı en önemli prognostik faktörler olarak kabul edilir. Diğer önemli prognostik faktörler proliferatif aktivite, c-erbB-2 onkoprotein ekspresyonu, steroid reseptör durumu, p53 ekspresyonu ve hastanın yaşıdır. Hücre proliferasyonunun değerlendirilmesinde Ki-67 monoklonal antikorunun kullanılması, kolay ve güvenilir bir yöntem olarak gösterilmektedir.

Ki-67 ekspresyonu ve diğer prognostik değişkenler arasındaki ilişki, primer meme kanserli 140 hastada araştırıldı. Bütün hastalarda Ki-67, östrojen reseptörü ve c-erbB-2 ekspresyonunu belirlemek için immunohistokimyasal yöntem kullanıldı. Ki-67, c-erbB-2 ve östrojen reseptör (ER) ekspresyonu, lenf nodu pozitifliği sırası ile % 64, % 71, % 34 ve % 74 bulundu. Ki-kare P değerleri; Ki-67, c-erbB-2 ve ER ekspresyonu arasında ilişki olduğunu gösterdi. Ki-67 ekspresyonu, lenf nodu durumu ve hastanın yaşı ile ilişkili değildi.

SUMMARY

Human breast carcinomas are known to exhibit a broad spectrum of clinical behavior. Many attempts have been made in the past to establish reliable and reproducible prognostic parameters. Lymph node involvement, tumor grading and tumor size are accepted as the most important prognostic factors. The proliferative activity, expression of c-erbB-2 oncoprotein, steroid receptors status, p53 expression and patient age are other important prognostic factors. The use of the monoclonal antibody Ki-67 represents an easy and reliable means of assessing cell proliferation.

The association between Ki-67 immunoreactivity and other prognostic variables was investigated in 140 patient with primary breast carcinomas. Immunohistochemical procedure performed to determine Ki-67, estrogen receptor and c-erbB-2 expression in all cases. Ki-67, c-erbB-2 and estrogen receptor (ER) expression, lymph node positivity in the samples was % 64, % 71, % 34 and % 74, respectively. The chi-square P values are shown for the associations of Ki-67, c-erbB-2 and ER expression. The Ki-67 expression is not correlated with lymph node status and patient age.

Yazışma adresi: Veliddin Canfeza SEZGİN, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Bornova, İzmir

Makalenin geliş tarihi: 25.08.2003; Kabul tarihi: 07.10.2003

GİRİŞ

Meme kanseri, tüm dünyada kadınlarda en sık görülen kanserdir. Bu nedenle önemli bir sağlık problemidir. Meme kanserinin seyrinin oldukça farklı olması nedeni ile prognozu belirlemede çeşitli faktörler kullanılmaktadır. Meme kanserinin en önemli prognostik faktörlerini; tümör çapı, tümörün evresi, aksiller lenf nodu durumu, tümörün histolojik tipi, steroid reseptör durumu, nükleer derecesi, hastanın yaşı, ploidi, proliferasyon göstergeleri, p53 ve c-erbB-2 pozitifliği olarak sıralanabilir (1-11). Lenf nodu tutulumunun en önemli prognostik faktör olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (1,2). Yapılan büyük çalışmalarda, yaşı 35 ve altında olan hastalarda prognoz daha kötü olduğu saptanmıştır (12, 13). c-erbB-2 onkogeni, meme kanserli hastaların yaklaşık olarak % 20-30'unda ekprese edilen proteindir (14-16). c-erbB-2 ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu ilk olarak 1987 yılında gösterilmiştir (15). Hormon reseptörü; prognozu iyileştirmekle beraber pozitif olduğu vakalarda, hormonal tedaviye yanıtın en önemli belirleyicisidir.

Proliferasyon göstergeleri arasında en sık kullanılan yöntemlerden birisi, Ki-67' nin immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmesidir. Ki-67, sadece proliferasyon yapan hücrelerde bulunan bir nükleer antijene karşı geliştirilmiş monoklonal antikordur. Yapılan çalışmalarda Ki-67 ekspresyonunun; tümör büyüklüğü, histolojik derece, vasküler invazyon ve aksiller lenf nodu tutulumu ile doğrudan, steroid reseptörleri ile ters ilişkide olduğu ileri sürülmektedir (17, 18).

Bu çalışmamızda meme kanserinin önemli prognostik faktörleri olan lenf nodu tutulumu, yaş (<35 ve >35), c-erbB-2 ekspresyonu, östrojen reseptörü (ER) ile Ki-67 boyanması arasında ilişki olup olmadığını araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya 1997 yılından itibaren Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji polikliniğine başvuran, invaziv duktal karsinom (IDK) tanılı 140 kadın hasta alınmıştır. Tüm hastaların operasyon öncesinde hemogram, rutin biyokimya (ALP dahil), tümör belirleyicileri, PA AC grafisi, üst batin USG, tüm vücut kemik sintigrafisi ve seçilmiş vakalarda torakoabdominal BT ile sistemik taramaları yapılmıştır. Tüm hastalara mastektomi ve aksiller diseksiyon uygulanmıştır. Operasyon materyalleri tümör çapı, lenf nodu tutulumu, histolojik ve nükleer derece, lokal invazyon, çevre yumuşak doku yayılımı, p53, c-erbB-2 ekspresyonu, steroid reseptör durumu, Ki-67 ekspresyonu açısından değerlendirmeye alınmıştır.

Ki-67, immünohistokimyasal yöntemle değerlendirildi. Ki-67' nin patolojik değerlendirilmesi için izlenen yöntem kısaca şöyledir. Eldeki doku kesitleri, sitrat tampon pH: 6.0

ile mikrodalgada 3.5 dakika tutulmuştur. Distile su ile yıkandıktan sonra % 0.3 metanollü H₂O₂ ile 30 dakika muamele edilmiştir. Tekrar distile su ile yıkandıktan sonra Tris tampon (pH:7.6)' a konmuştur. Ardından Dako Ki-67 A0047 ile muamele edildikten sonra tekrar Tris tampon (pH: 7.6)'a konmuştur. Daha sonra Dako K0675 Peroksidaz kiti ile muamele edilen kesitlere Dako S 3000 DAB renkiendirici eklenmiştir. En son olarak Hematoxylen çekirdek boyası ile boyanan kesitler değerlendirilmiştir.

c-erbB-2 onkogen ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmiştir. Kesitler immünoperoksidaz kod: A0485, c-erbB-2 oncoprotein, kod: DAKO LSAB(R) 2 kiti- K0675 ile değerlendirilmiştir.

ER de immunohistokimyasal yöntemle; ER DAKO M; 7047 kiti ile Ki-67'ye benzer şekilde değerlendirilmiştir.

Verilerden elde edilen sonuçlar, ki-kare analiz yöntemi ile değerlendirilmiştir.

SONUÇLAR

Hastaların hepsi invaziv duktal karsinom tanısı almış olup, yaş ortalaması 48,7 ± 11,2 (22-77) idi. Hastaların 82'si (% 59) postmenapozal, 58'i (% 41) premenapozaldı. Hastaların 19'unda (% 14) aile anamnezi vardı. Hastaların 100' ünde (% 71) c-erbB-2 pozitif, 47'sinde (% 34) ER pozitif olarak değerlendirildi. Hastaların 89' unda (% 64) Ki-67 pozitif olarak değerlendirildi. Hastaların 103' ünde (% 74) lenf nodu tutulumu pozitif olarak saptandı. Bu veriler Tablo 1'de özetlenmektedir. Tablo 2'de Ki-67 ile lenf nodu tutulumu, Tablo 3'te Ki-67 ile hastaların yaşı, Tablo 4'de ise Ki-67 ile c-erbB-2 ve östrojen reseptörü arasındaki ilişki gösterilmektedir.

Tabla 1. Hastaların geneli özellikleri

	Pozitif (%)	Negatif (%)
Ailede kanser	19 (% 14)	121 (%86)
Menaploz	82 (% 59)	58(%41)
Lenf nodu m.	103 (%74)	37 (% 26)
c-erbB-2	100(%71)	40 (% 29)
ER	47 (% 34)	93 (% 66)
Ki-67	89 (% 64)	51 (% 36)

Tablo 2. Ki-67 ile aksiller lenf nodu tutulumu arasındaki ilişki

Ki-67 (+)	Ki-67 (+)	Ki-67 (-)	Ki-67 (-)
LNM (-)	LNM (+)	LNM (+)	LNM (-)
26(%19)	66 (% 47)	37(%26)	11 (%8)

* p > 0.05

Tablo 3. yaş < 35 ve > 35 olan invaziv duktal kanserli kadınlarda Ki-67 pozitifliği

	Ki-67 pozitif (%)	Ki-67 negatif (%)
yaş < 35	10 (% 7)	4 (% 3)
yaş > 35	79 (% 56)	47 (% 34)

* p > 0.05

Tablo 4. c-erbB-2 ve östrojen reseptörü ile Ki-67 arasındaki ilişki

	Ki-67 pozitif	Ki-67 negatif (%)
c-erbB-2 (+) *	73 (% 53)	27 (% 19)
c-erbB-2 (-)	16 (% 11)	24 (% 17)
ER pozitif *	38 (% 27)	9 (% 6)
ER negatif	51 (% 36)	42 (% 31)

* p < 0.05

TARTIŞMA

Ki-67, monoklonal bir antikor olup ilk olarak 1983' te Gerdes tarafından bulunmuştur. Ki-67 antijeni hücre siklusunun aktif fazında, hücrelerin onarımı sırasında veya hücre siklusunun başlamasıyla eksprese edilmektedir. Ki-67 saptanmasında immünohistokimyasal yöntem olarak çoğunlukla APAAP (alkalen fosfataz-anti-alkalen fosfataz) metodu önerilmektedir (19). 261 meme kanserli hastada ortalama Ki-67 oranı, % 12.5 (% 1-65) olarak değerlendirilmiştir (19). Bu oran, benign meme hastalıklarından beş kat daha yüksek bulunmuştur.

Meme kanserli hastalarda yapılan bazı çalışmalarda Ki-67 ile diğer prognostik faktörler arasında ilişki bulunmamıştır (20). Fakat diğer çalışmaların çoğunda Ki-67 ile histolojik derece (21-23), lenf nodu durumu (23), hastanın yaşı (24), tümör çapı (23, 25), hormon reseptör durumu (23, 25-27), ploidi (28), p53 durumu (29), epidermal büyüme faktör reseptör ekspresyonu (EGFR) (30) arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca Ki-67 proliferatif indeksi ile hastalısız sağ kaim ve genel sağ kalım arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (31). Yeni yapılan bir çalışmada Ki-67' nin lenf nodu negatif hastalarda tümör derecesi ve çapı ile, lenf nodu pozitif hastalarda ise tümör derecesi, hormon reseptör durumu ve c-erbB-2 ekspresyonu ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (32). Ayrıca Ki-67 ekspresyonu daha yüksek olan hastalarda hastalısız ve genel sağ kalımın daha kötü olduğu gösterilmiştir (32).

Yapılan çalışmalarda, meme kanserli hastalardan ince iğne aspirasyon biyopsisiye alınan sitolojik örneklerin değerlendirilmesiyle Ki-67 ve p53 gibi parametrelerin değerlendirilebileceği ve tedavinin yönlendirilmesinde kullanılabileceği ileri sürülmüştür (33, 34). Tümör çapı 1 cm veya daha küçük olan ve lenf nodu metastazı olmayan meme kanserli hastalarda, histolojik derece, lenfatik invaz

yon, hormon reseptörleri, Ki-67 antijeni ve bcl-2 ekspresyonunun önemli tek değişkenli prognostik göstere olduğu gösterilmiştir (35).

Yapılan bir çalışmada Ki-67' nin lenf nodu negatif meme kanserli hastalarda klinik önemi gösterilememiştir (36). Operabi meme kanserli hastalarda, neoadjuvan kemoterapiyi takiben yapılan lokal tedavinin klinik sonuçlarıyla moleküler belirteçler arasındaki ilişkinin araştırıldığı iki çalışmada kemoterapi uygulanmasms takiben Ki-67 boyanmasında azalma olmasının tedaviye iyi yanıtın göstergesi olduğu gösterilmiştir (37, 38).

Çalışmamızda, Ki-67 boyanması ile lenf nodu tutulumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Yapılan çalışmalar, lenf nodu tutulumu ile Ki-67 boyanması arasında farklı sonuçlar ortaya koymaktadır. Bunun nedeni, çalışma grublarında hasta sayısının az olması, hasta grublarının heterojen olması ve teknik nedenlerdir.

Genç hastalarda, iki büyük çalışmada meme kanserinin prognozunun daha kötü olduğu gösterilmiştir. Bu farklılığın tümörün biyolojik farklılığına bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Biz de hastalarımızda biyolojik davranış farklılığını araştırmak için proliferatif göstere olan Ki-67 boyanmasını; 35 yaşın altındaki ve üstündeki hastalarda araştırdık. Ki-67 boyanması açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. Daha önceden yapılan çalışmalarda, Ki-67 boyanmasının yaş ile ilişkili olup olmadığı konusunda farklı sonuçlar bildirilmiştir (20, 24).

c-erbB-2 ekspresyonu kötü prognoz göstergelerinden birisidir. Hastalarımızda bu iki parametreyi araştırdığımızda, ikisi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (p<0.05). Yapılan bazı çalışmalarda, c-erbB-2 ile benzer yapıda olan EGFR ile Ki-67 boyanması arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (36, 39). Fakat diğer bir çalışmada EGFR ile bu ilişki gösterilememiştir (40). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, lenf nodu metastazı pozitif hastalarda c-erbB-2 ile Ki-67 ekspresyonu arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir (32).

İyi prognoz ve hormonal tedaviye iyi yanıtın göstergesi olan ER ile Ki-67 arasındaki ilişkiyi araştırdığımızda, beklenen aksine bir sonuç elde ettik. Hastalarda, ER ile Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı (p < 0.05) bir ilişki saptadık. Literatürde daha sık olarak ters bir ilişkiden bahsedilmektedir. Bu sonuçlardaki farklılıkların nedeni daha önceden bahsedildiği gibi bu konuda yapılan çalışmalarda hasta sayılarının az olması, hasta grubunun heterojen olması ve patolojik değerlendirmedeki kişisel farklılıklar ve teknik sorunlara bağlı olabilir.

Sonuç olarak Ki-67 ile c-erbB-2 ekspresyonu ve ER pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmasına rağmen lenf nodu tutulumu ve hastanın yaşı ile Ki-67 ekspresyonu arasında herhangi bir ilişki bulun

madı. Literatürde de belirtildiği gibi meme kanserinin prognozunu belirlemede Ki-67 ekspresyonu tek başına değil, diğer prognostik faktörlerle değerlendirildiğinde daha yararlı bilgi verebilir.

KAYNAKLAR

1. Fisher ER, Costantino J, Fisher B, et al. Pathologic finding from the National Surgical Adjuvant Breast Project (protocol 4): Discriminants for 15-year survival. *Cancer* 1993; 71: 2141-2150.
2. Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, et al. Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: A study of 644 patients with median follow-up of 18 years. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1239-1251.
3. Rosner D, Lane WW. Should all patients with node-negative breast cancer receive adjuvant therapy? Identifying additional subsets of low-risk patients who are highly curable by surgery alone. *Cancer* 1991; 68: 1482-1494.
4. Fisher ER, Redmond C, Fisher B, et al. Prognostic factors in NSABP studies of women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1992; 11: 151-158.
5. McQuire WL, Tandon AK, Allred DC, et al. Treatment decisions in axillary node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1992; 11: 173-180.
6. Adami HO, Malke B, Holmberg L, et al. The relation between survival and age at diagnosis in breast cancer. *M Engl J Med* 1986; 315: 559-563.
7. Hoşt H, Lund E. Age as a prognostic factor in breast cancer. *Cancer* 1986; 57: 2217-2221.
8. Harris AL, Nicholson S, Sainsbury R, et al. Epidermal growth factor receptor and other oncogenes as prognostic markers. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1992; 11: 181-187.
9. Foekens JA, van Putten WL, Prtengen H, et al. Prognostic value of PS2 and cathepsin-D in 710 human primary breast tumors: Multivariate analysis. *J Clin Oncol* 1993; 11: 899-908.
10. Allred DC, Clark GM, Elledge R, et al. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 200-206.
11. Dressler LG, Eudey L, Gray R, et al. Prognostic potential of DNA flow cytometry measurements in node-negative breast cancer patients: Preliminary analysis of an intergroup study (INT-0076). *J Natl Cancer Inst Monogr* 1992; 11: 167-172.
12. Nixon AJ, Neuberger D, et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol* 1994; 12: 888.
13. Albain KS, Allred KC, et al. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr* 1994; 16: 35.
14. King C, Kraus M, Aaronson S. Amplification of a novel v-erbB-2 related gene in human mammary carcinoma. *Science* 1985; 229: 974-976.
15. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-182.
16. Slamon D, Godolphin W, Jones L, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707-712.
17. Walker RA, Camplejohn RS. Comparison of monoclonal antibody Ki-67 reactivity with grade and DNA flow cytometry of breast carcinomas. *Br J Cancer* 1988; 57: 281.
18. Brown RW, Allred DC, et al. Prognostic significance and clinical-pathological correlations of cell cycle kinetics measured by Ki-67 immunocytochemistry in axillary node-negative carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat* 1990; 16: 191.
18. Lelle RJ. In situ determination of the Ki-67 growth fraction (Ki-67) in human tumors. *Açta Histochem Suppl* 1990; 39: 109-124.
20. Stumpp J, Dietl J, Geppert M. Growth fraction in breast carcinoma determined by Ki-67 immunostaining: correlation with pathological and clinical variables. *Gynaecol Obstet Invest* 1992; 33: 47-50.
21. Betta PG, Robutti F, Pilato FP, et al. Correlation of proliferation activity with pathological features in breast carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 1989; 10: 433-437.
22. Bouzubar N, Walker KJ, Griffiths K, et al. Ki-67 immunostaining in primary breast cancer: pathological and clinical associations. *Br J Cancer* 1989; 59: 943-947.
23. Wrba F, Chott A, Reiner A, et al. Ki-67 immunoreactivity in breast carcinomas in relation to transferrin receptor expression, estrogen receptor status and morphological criteria. An immunohistochemical study. *Oncology* 1989; 46: 255-259.
24. Şahin AA, Ro JY, Block MB, et al. Ki-67 immunostaining in node-negative Stage I/II breast carcinoma. Significant correlation with prognosis. *Cancer* 1991; 68: 549-557.
25. Veronese SM, Gambacorta M. Detection of Ki-67 proliferation rate in breast cancer. Correlation with clinical and pathologic features. *Am J Clin Pathol* 1991; 95: 30-34.

26. Campani D, De-Negri F, Fabri R, et al. Estrogen, progesterone receptors and proliferating activity evaluated by immunocytochemistry in breast cancer. *Int J Biol Markers* 1991; 6: 144-150.
27. Di-Stefano D, Mingazzini PL, Scuoichi L, et al. A comparative study of histopathology, hormone receptors, peanut lectin binding, Ki 67 immunostaining, and nucleolar organizer region-associated proteins in human breast cancer. *Cancer* 1991; 67: 463-471.
28. Lee AK, Wiley B, Loda M, et al. DNA ploidy, proliferation and neu-oncogene protein overexpression in breast carcinoma. *Mod Pathol* 1992; 5: 61-67.
29. Barbareschi M, Leonardi E, Mauri FA, et al. p53 and c-erbB-2 protein expression in breast carcinomas. An immunohistochemical study including correlation with receptor status, proliferating markers, and clinical stage in human breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1992; 98: 408-418.
30. Nicholson RI, McClelland RA, Finlay P, et al. Relationship between EGF-R, c-erbB-2 protein expression and Ki-67 immunostaining in breast cancer and hormone sensitivity. *Br J Cancer* 1993; 29 A: 1018-1023.
31. Veronese SM, Gambacorta M, Gottardi O, et al. Proliferation index as a prognostic marker in breast cancer. *Cancer* 1993; 71: 3926-3931.
32. Trihia H, Murray S, Price K, et al. International Breast Cancer Study Group. Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors-a surrogate marker? *Cancer* 2003 Mar 1; 97 (5): 1321-31.
33. Dalquen P, Baschiera B, et al. MIB-1 (Ki-67) immunostaining of breast cancer cells in cytologic smears. *Açta Cytol* 1997 Mar- Apr; 41 (2): 229-237.
34. Ljung BM, Chew K, et al. Fine needle aspiration techniques for the characterization of breast cancers. *Cancer* 1994 Aug 1; 74 (3 suppl): 1000-1005.
35. Lee AK, Loda M, Mackarem G, et al. Lymph node negative invasive breast carcinoma 1 centimeter or less in size (T1a,bN0M0): clinicopathologic features and outcome. *Cancer* 1997 Feb 15; 79 (4): 761-771.
36. Janicke F. Value of tumor biological prognostic factors in adjuvant therapy of node-negative breast cancer. *Zentralbl Gynakol* 1994; 116(8): 449-455.
37. Chang J, Ormerod M, PoWes TJ, et al. Apoptosis and proliferation as predictors of chemotherapy response in patients with breast carcinoma. *Cancer* 2000 Dec 1; 89 (11): 2145-52.
38. Colleoni M, Orvieto E, Nole F, et al. Prediction of response to primary chemotherapy for operable breast cancer. *Eur J Cancer* 1999 Apr; 35(4): 574-9.
39. Oehler MK, Rehn M, et al. Correlation of the EGF-receptor with cell kinetic and classical prognostic factors in breast cancer. *Anticancer Res* 1997 Jul-Aug; 17 (4B): 3137-3140.
40. Klijn JG, Bems PM, Schmitz PI, et al. The clinical significance of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in human breast cancer: a review on 5232 patients. *Endocr Rev* 1992 Feb; 13 (1): 3-17.