

ارتباط ژن‌های HER2/neu و p53 و گیرنده‌های استروژن و پروژسترون با میزان بقا در زنان ایرانی مبتلا به سرطان پستان

مهدی مرادی مرجانه: پزشک عمومی، جهاد دانشگاهی مشهد
فاطمه همایی شاندیز: متخصص رادیوتراپی و انکولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سید علی اکبر شمسیان: استادیار انگل شناسی، جهاد دانشگاهی مشهد
ایمان افتخارزاده مشهدی: پزشک عمومی، جهاد دانشگاهی مشهد
محمدرضا هدایتی مقدم: متخصص پزشکی اجتماعی، استادیار پژوهش، جهاد دانشگاهی مشهد
حمیدرضا بیدخوری: پزشک عمومی، جهاد دانشگاهی مشهد
کامران غفارزادگان: متخصص آسیب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

چکیده

مقدمه: بیومارکرهایی همچون گیرنده‌های استروئیدی، HER2/neu و P53، نقشی کلیدی در ارزیابی سیر بالینی، پیش‌آگهی و نیز تعیین نوع درمان سرطان پستان ایفا می‌نمایند. با وجود تحقیقات گسترده در این زمینه، اختلافات موجود در نتایج و نیز تأثیر عوامل جمعیتی در وضعیت این بیومارکرها، اهمیت بررسی‌های بیشتر در مناطق گوناگون از جمله کشور ایران را خاطر نشان می‌سازد. در مطالعه حاضر، ارتباط ژن‌های HER2/neu، p53، ER و PR با میزان بقا در مبتلایان به سرطان پستان شهر مشهد، مورد بررسی قرار گرفت. **روش بررسی:** این مطالعه بر روی ۳۳۹ بیمار مبتلا به سرطان پستان که از سال ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۴ به بیمارستان‌های قائم (عج) و امید مشهد معرفی شده بودند، انجام گردید. به این منظور، وضعیت ایمونوهیستوشیمی بیومارکرها و نیز وضعیت بیمار در پیگیری‌های متوالی از نظر عود بیماری ثبت گردید. پیگیری بیماران تا پایان سال ۱۳۸۵ ادامه یافت. **یافته‌ها:** در ارزیابی ایمونوهیستوشیمی، به ترتیب ۴۶/۶، ۴۳/۸، ۵۱/۷ و ۳۶/۱ درصد از بیماران از نظر ER، PR، HER2/neu و p53 مثبت بودند. همراهی ER با PR ($P < 0.001$) و HER2/neu با p53 ($P = 0.041$) به‌طور معنی داری مشاهده شد. همچنین بین ER با HER2/neu ارتباط مستقیم و معناداری مشاهده شد ($P = 0.001$). در آنالیز بقا، ارتباط معناداری بین بیومارکرها و بقای عاری از عود مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: الگوی متفاوت بدست آمده در زمینه نقش پروگنوستیک بیومارکرهای سرطان پستان در منطقه شمال شرق کشور، نشان‌دهنده تأثیر عمده فاکتورهای جمعیتی در این زمینه است. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه مشابهی در این منطقه انجام نشده است، بررسی حاضر می‌تواند مبنایی برای مطالعات گسترده‌تر در منطقه با تأکید بر زیرگروه‌های جمعیتی خاص باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، HER2/neu، p53، ER، PR، بقای عاری از عود

مقدمه

سرطان پستان پس از سرطان ریه، دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان و پس از سرطان غیرملانومی پوست، شایعترین سرطان زنان است. براساس آمار سازمان بهداشت جهانی^۱، هرساله بیش از ۱/۲ میلیون بیمار مبتلا به سرطان پستان تشخیص داده شده و بیش از ۵۰۰ هزار نفر در اثر این بیماری فوت می کنند [۱].

طبق آمار آژانس بین المللی تحقیقات سرطان^۲، در سال ۲۰۰۴، بیش از یک میلیون مورد جدید مبتلا به سرطان پستان تشخیص داده شده است. به علاوه میزان ابتلا، برخلاف ایالات متحده، در کشورهای درحال رشد روبه افزایش است [۲].

کشور ایران نیز از این امر مستثنی نیست. چنانکه این سرطان عامل ۲۱/۴ درصد از کل بدخیمی ها و شایعترین سرطان در زنان ایرانی است [۳]. علاوه بر شیوع بالای سرطان پستان در ایران، توجه به این مسئله که زنان ایرانی در مقایسه با کشورهای توسعه یافته، حداقل یک دهه زودتر به این بیماری گرفتار می شوند [۴]، اهمیت آن را دوچندان می کند.

تعیین سیر بالینی، سرنوشت نهایی و بخصوص برخی از تصمیمات کلیدی در مورد درمان سرطان پستان، نیازمند تعیین پیش آگهی این بیماری است. به عنوان مثال، پیش آگهی برخی بیماران به قدری مطلوب است که درمان سیستمیک برایشان غیرضروری است. از سوی دیگر در عده ای از مبتلایان، پیش آگهی با درمان معمولی آنقدر ضعیف است که نیاز به درمان شدیدتری دارند [۵].

توصیف فاکتورهای پروگنوستیک در سرطان پستان در چند سال اخیر افزایش زیادی داشته است [۶]. علاوه بر برخی خصوصیات کلینیکی و پاتولوژیک مثل اندازه تومور، درجه هیستولوژیک^۳ و وضعیت درگیری گره های لنفاوی زیربغلی که در پیش آگهی سرطان پستان مؤثرند، بعضی بیومارکرها نیز اطلاعاتی در مورد عاقبت بیماری ارائه می دهند. در سرطان پستان بیومارکرها پروگنوستیک مطرح شده عبارتند از: سطوح افزایش یافته ظهور شاخص های تکثیر^۴ مثل Ki67 و آنتی ژن هسته ای تکثیر سلول^۵؛ ظهور گیرنده استروژن^۶ (ER) و گیرنده پروژسترون^۷ (PR)؛ تقویت و ظهور بیش از حد HER2/neu، سیکلین D1 و c-myc؛ تجمع پروتئین

هسته ای p53؛ ظهور bcl-2 و دگرگونی در پروتئین های آنژیوژنز مثل فاکتور رشدی آندوتلیال عروقی^۸ [۷-۱۱]. مطالعات موجود حاکی از آن است که این فاکتورها می توانند در تصمیم گیری های درمانی مؤثر باشند [۷].

با وجود تحقیقات گسترده در زمینه مارکرها مولکولی سرطان پستان، اختلافات مشاهده شده در نتایج و نیز تأثیر عوامل جمعیتی در وضعیت این بیومارکرها [۱۲-۳۰]، اهمیت بررسی های بیشتر در مناطق گوناگون را خاطرنشان می سازد. طی سال های اخیر در کشور ایران وضعیت بیومارکرها ER، p53، HER2/neu و PR در سرطان پستان و ارتباط آنها با سایر فاکتورهای پروگنوستیک این بیماری در مطالعات محدودی مورد بررسی قرار گرفته که بیشتر آنها محدود به رابطه بیومارکرها پروگنوستیک و خصوصیات کلینیکی و پاتولوژیک سرطان پستان بوده است [۳۱-۳۶]. لذا نیاز به بررسی تأثیر مستقیم این عوامل بر پیش آگهی سرطان پستان در قالب مطالعات بقاء کاملاً محسوس است. به علاوه ترکیب جمعیتی ایران بسیار ناهمگون و متشکل از اقوام مختلف است [۳۷]. حال آنکه مطالعات انجام شده اکثراً محدود به شهر تهران است و شمال شرق کشور بخصوص شهر مشهد که از قطب های جمعیتی کشور بوده و سرطان پستان نیز در آن شایع می باشد [۳۸ و ۳۹]، کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه، ارتباط ژن های HER2/neu و p53 و نیز گیرنده های استروژن و پروژسترون با میزان بقاء در مبتلایان به سرطان پستان که از سال ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۴ به بیمارستان های قائم (عج) و امید مشهد معرفی شده اند، مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که این دو بیمارستان، اصلی ترین مراکز پذیرش بیماران سرطانی در استان های خراسان می باشند [۴۰ و ۴۱].

روش بررسی

در این مطالعه کوهورت، با مراجعه به بایگانی بخش های پرتودرمانی در بیمارستان های امید و قائم (عج) مشهد، مبتلایان به سرطان پستان که از فروردین ماه ۱۳۷۹ تا پایان دی ماه ۱۳۸۴ به بیمارستان های امید و قائم (عج) مشهد معرفی شده بودند و از نظر بیومارکرها مذکور مورد بررسی قرار گرفته بودند، انتخاب شدند. آنگاه از پرونده بیماران اطلاعات مربوط به مشخصات فردی؛ وضعیت بررسی بیومارکرها ER، p53، HER2/neu و PR در ارزیابی ایمونوهیستوشیمی؛ نوع تومور؛ نوع درمان؛ خصوصیات کلینیکی و پاتولوژیک تومور (شامل اندازه تومور، تعداد گره های لنفاوی درگیر، متاستاز اولیه و درجه هیستولوژیک) و نیز وضعیت بیمار در پیگیری های

8 vascular endothelial growth factor

1 World Health Organization (WHO)
2 International Agency for Research on Cancer database
3 histological grade
4 proliferation indices
5 proliferating cell nuclear antigen
6 estrogen receptor
7 progesterone receptor

متوالی از نظر عود بیماری و فوت بیمار استخراج شده و ثبت گردید.

تعیین وضعیت بیومارکرها به روش

ایمونوهیستوشیمی: در اولین مراجعه بیمار به بخش پرتودرمانی، تعیین وضعیت بیومارکرها درخواست می شد. برای این منظور نمونه بافت تومورال از هر بیمار گرفته شده و بررسی به روش ایمونوهیستوشیمی و با تکنیک LSAB انجام می گرفت [۴۲]. به این صورت که در ابتدا از نمونه های بافتی حاصل از تومور، بلوک های پارافینی بدست آمده و از این بلوک ها قطعاتی به ضخامت ۴ میکرومتر تهیه می گردید. جهت اطمینان از کافی بودن سلول های تومورال و نیز کیفیت فیکساسیون، رنگ آمیزی H&E (هماتوکسیلین و ائوزین) انجام می شد. در مرحله بعد، رنگ آمیزی اختصاصی برای هر یک از بیومارکرها صورت می گرفت. برای این منظور، قطعات ۴ میکرومتری بر روی اسلایدهای آغشته به پلی آلانین شناور می شدند. بررسی ایمونوهیستوشیمی HER2/neu در غشای سلول های تومورال با استفاده از کیت هرسپ تست (DakoInc, Denmark) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. بدنبال بررسی با میکروسکوپ نوری، در صورت رنگ گرفتن متوسط تا شدید، نمونه از نظر HER2/neu مثبت تلقی شده و رنگ گرفتن ضعیف و نیز رنگ گرفتن سیتوپلاسمیک، منفی در نظر گرفته می شد. وضعیت p53، ER و PR با استفاده از آنتی بادی های اختصاصی هریک ارزیابی گردید [۴۳ و ۴۴]. تومورهایی که در رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی p53، رنگ گرفتن هسته را در بیش از ۵ درصد از سلول های خود نشان دادند، p53 مثبت و سایر موارد p53 منفی تلقی می شدند. بیان ER و PR نیز همانند سایر بیومارکرها پس از رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی، توسط میکروسکوپ نوری بررسی گردید و نتیجه بر اساس درصد رنگ گرفتن هسته سلول های تومورال تعیین شد. نمونه ها در صورتی از نظر گیرنده استروژن و پروژسترون مثبت بودند که به ترتیب ۱ درصد و ۵ درصد از هسته ها رنگ می گرفتند. سایر موارد نیز منفی تفسیر می شدند.

پیگیری بیماران: تمامی بیماران مورد مطالعه توسط یک پزشک متخصص رادیوتراپی و انکولوژی پیگیری شدند. بیماران به طور متوسط هر سه ماه یک بار ویزیت شده و ضمن اخذ شرح حال، معاینه فیزیکی انجام می شد. در صورت نیاز، مبتلایان تحت آزمایشات پاراکلینیکی نظیر رادیوگرافی، سونوگرافی، CT اسکن، MRI و ... قرار می گرفتند. پیگیری این بیماران تا پایان سال ۱۳۸۵ ادامه یافت.

آنالیز داده ها: داده های بدست آمده از طریق نرم افزار آماری SPSS 13.0 تجزیه و تحلیل شدند. با استفاده از آزمون

کای اسکوار و روش کاپلان مایر ارتباط بین بیومارکرها و میزان بقا سنجیده شد.

یافته ها

در این مطالعه ۳۳۹ زن مبتلا به سرطان پستان، مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن آنها به هنگام تشخیص بیماری ۱۱/۳ ± ۴۷/۴ بود (جوان ترین و مسن ترین بیمار به ترتیب ۲۱ و ۸۱ سال سن داشتند). به هنگام تشخیص بیماری، ۴۱/۷ درصد از مبتلایان در دوران یائسگی به سر می بردند. میانگین سن شروع قاعدگی و سن اولین حاملگی به ترتیب ۱۳/۳ و ۲۰/۵ سال بود. ۸۰/۷ درصد از مبتلایان ساکن شهر و مابقی در مناطق روستایی سکونت داشتند. در بررسی شرح حال بیماران مشخص گردید که در ۲۷/۲ درصد از آنها سابقه فامیلی ابتلا به سرطان در حداقل یکی از اقوام درجه یک و همچنین در حدود نیمی از آنان (۵۱/۹ درصد) سابقه مصرف قرص ضد بارداری خوراکی وجود داشته است.

نوع و مکان تومور: بر اساس گزارش آسیب شناسی، ۸۸/۲ درصد از تومورها از نوع داکتال کارسینوم مهاجم^۹ بود و انواع دیگری از بدخیمی های پستان نیز با شیوع کمتر مشاهده گردید (جدول شماره ۱).

جدول ۱- انواع سرطان پستان در بیماران مورد مطالعه بر اساس طبقه بندی سازمان بهداشت جهانی

نوع سرطان	درصد
کارسینوم غیر مهاجم	
کارسینوم داکتال in situ	۰/۹
کارسینوم لبولار in situ	۰/۳
کارسینوم مهاجم	
کارسینوم داکتال مهاجم	۸۸/۲
کارسینوم لبولار مهاجم	۲/۸
کارسینوم موسینوس	-
کارسینوم مدولاری	۴/۴
کارسینوم پاپیلاری	۰/۶
کارسینوم توبولار	۰/۹
کارسینوم آدنوئید کیستیک	-
کارسینوم ترشخی	-
کارسینوم آپوکرین	-
کارسینوم متاپلاستیک	-
کارسینوم انفلاماتوری	-
سایر	۰/۳
بیماری پازه نیل	۱/۶

سمت مبتلا به سرطان پستان تقریباً به یک میزان بود (به ترتیب ۴۹/۳ و ۴۹/۶ درصد از بیماران درگیری یک طرفه)

جدول ۳- اندازه تومور، درگیری غدد لنفاوی و متاستاز

دوردست اولیه در بیماران مورد مطالعه

اندازه تومور	درصد	درگیری غدد لنفاوی	درصد	متاستاز دوردست اولیه	درصد
T ₁	۱۰/۵	N ₀	۲۸/۸	M ₀	۹۰/۱
T ₂	۴۹/۸	N ₁	۵۵/۲	M ₁	۹/۹
T ₃	۲۸/۸	N ₂	۱۴/۴		
T ₄	۱۰/۵	N ₃	۱/۶		

به طور خلاصه تومور پستان در بیش از نیمی از بیماران مورد مطالعه (۵۳/۴ درصد)، در مرحله II بیماری بود و مرحله III با ۳۱/۴ درصد در رتبه بعدی قرار داشت (جدول شماره ۴).

جدول ۴- مرحله بیماری سرطان پستان در بیماران مورد

مطالعه

Stage	درصد
0	۰/۳
I	۵/۵
II	۵۳/۴
III	۳۱/۴
IV	۹/۳

بیومارکرها: بررسی بیومارکرهای ER، PR، HER2/neu و p53 به ترتیب در ۳۰۹، ۳۱۵، ۳۱۹ و ۲۶۳ بیمار انجام شده بود که موارد مثبت و منفی هر یک برحسب درصد در جدول شماره ۵ ذکر شده است.

جدول ۵- درصد موارد مثبت و منفی بیومارکرهای سرطان

پستان در بیماران مورد مطالعه

بیومارکر	مثبت	منفی
ER	٪ ۴۶/۶	٪ ۵۳/۴
PR	٪ ۴۳/۸	٪ ۵۶/۲
HER2/neu	٪ ۵۱/۷	٪ ۴۸/۳
p53	٪ ۳۶/۱	٪ ۶۳/۹

ارتباط بین بیومارکرها: همانطور که در جدول شماره ۶ مشاهده می گردد، ارتباط ۴ بیومارکر ER، PR، HER2/neu و p53 به صورت دوبه دو بررسی گردید. طبق نتایج بدست آمده، ER با PR ($P < 0.001$) و HER2/neu با p53 ($P = 0.041$) به طور مستقیم ارتباط معنی داری داشتند. همچنین بین ER با HER2/neu ارتباط مستقیم و معنی داری مشاهده شد ($P = 0.001$).

پستان راست و چپ داشتند). با این حال تومور پستان در ۴ بیمار (۱/۲ درصد)، هر دو سمت را مبتلا کرده بود.

تومور حدوداً نیمی از بیماران (۴۴/۱ درصد)، در ربع فوقانی خارجی پستان قرار داشت و سایر نواحی به میزان کمتری درگیر بودند (جدول شماره ۲).

جدول ۲- ناحیه قرارگیری تومور پستان در بیماران مورد

مطالعه

ناحیه مبتلا	درصد
فوقانی	۵/۹
فوقانی داخلی	۱۲/۸
داخلی	۱/۴
تحتانی داخلی	۶/۹
تحتانی	۳/۸
تحتانی خارجی	۵/۵
خارجی	۴/۸
فوقانی خارجی	۴۴/۱
مرکزی	۱۱
دنباله آگزیلاری	۱/۳
تمام پستان	۲/۴

نوع درمان: تمامی بیماران قبل از ورود به مطالعه تحت

عمل جراحی قرار گرفته بودند که در اکثر قریب به اتفاق موارد (۹۴/۶ درصد) عمل رادیکال ماستکتومی مدیفیه^{۱۰} و در سایرین عمل لامپکتومی^{۱۱} انجام شده بود.

همچنین تقریباً تمامی مبتلایان تحت درمان های پرتودرمانی و شیمی درمانی قرار گرفتند (به ترتیب ۹۵/۸ و ۹۹/۴ درصد). اما هورمون درمانی کمکی تنها در حدود دو سوم موارد انجام شد (۶۷/۱ درصد).

خصوصیات کلینیکی پاتولوژیک: بر اساس طبقه بندی

سیستم ناتینگهام، اکثر بیماران (۵۸/۶ درصد) به تومور با درجه II مبتلا بودند و درجه های III و I، هر یک با ۳۰/۸ و ۱۰/۵ درصد در مکان های بعدی قرار داشتند.

مرحله بیماری با توجه به سیستم مرحله بندی TNM^{۱۲} تعیین گردید. حدود نیمی از بیماران (۴۹/۸ درصد)، تومور T₂ داشتند و پس از آن، بیشترین تعداد مربوط به تومورهای T₃ بود (۲۸/۸ درصد). این طبقه بندی در بیش از نیمی از بیماران (۵۵/۲ درصد) به صورت N₁ بود. ۲۸/۸ درصد آنها غده لنفاوی درگیر نداشتند. متاستاز دوردست اولیه، تنها در حدود ۱۰ درصد از موارد وجود داشت (جدول شماره ۳).

10 modified radical mastectomy

11 lumpectomy

12 American Joint Committee on Cancer TNM Staging System for Breast Cancer

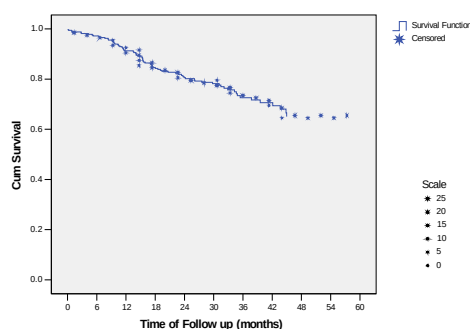
جدول ۶- ارتباط بیومارکرهای پروگنوستیک با یکدیگر در بیماران مورد مطالعه

Factor	ER		PR		HER2/neu		p53	
	Positive/total (%)	p	Positive/total (%)	p	Positive/total (%)	p	Positive/total (%)	p
Total	144/309 (46.6)		138/315 (43.8)		165/319 (51.7)		95/263 (36.1)	
ER								
Positive	-		113/143 (79)	0.000	87/139 (62.5)	0.001	45/117 (38.4)	NS
Negative	-		20/162 (12.3)		67/153 (43.7)		46/133 (34.5)	
PR								
Positive	113/133 (85)	0.00	-		78/133 (58.6)	NS	43/113 (38)	NS
Negative	30/172 (17.4)	0	-		79/165 (47.8)		50/139 (36)	
HER2/neu								
Positive	87/154 (56.4)	0.00	78/157 (49.6)	NS	-		54/126 (42.8)	0.041
Negative	52/138 (37.6)	1	55/141 (39)		-		38/125 (30.4)	
p53								
Positive	45/91 (37.6)	NS	43/93 (46.2)	NS	54/92 (58.7)	0.041	-	
Negative	72/159 (45.2)		70/159 (44)		72/159 (45.2)		-	

NS: not significant

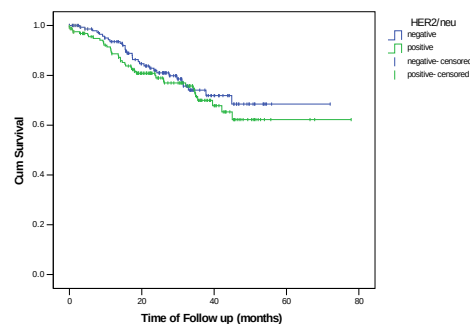
سایر بیومارکرها، ER نیز ارتباط معنی داری با میزان بقا نداشت ($\chi^2(1) = 3$) (نمودار شماره ۵).

نمودار ۱- توزیع تابع بقا در بیماران مورد مطالعه



نمودار ۲- توزیع تابع بقا در بیماران مورد مطالعه برحسب ظهور

HER2/neu



پیگیری بیماران: به طور متوسط بیماران به مدت ۲۶/۳ ماه پیگیری شدند (حداقل و حداکثر مدت زمان پیگیری به ترتیب کمتر از یک ماه و ۷۸ ماه بود). طی این مدت ۷۵ مورد از بیماران دچار عود سرطان پستان شده بودند که ۱۱ نفر از آنان فوت نمودند.

آنالیز بقا: مدت بقا در بیماران مورد مطالعه به طور میانگین ۵۸/۹ ماه بود (۶۲/۷-۵۵/۱ ماه). در صورتی که بقای بیماران در ابتدای پیگیری ۱ در نظر گرفته شود، این میزان پس از گذشت ۱، ۲، ۳ و ۴ سال از آغاز پیگیری به ترتیب به ۰/۹۱، ۰/۸، ۰/۷۲ و ۰/۶۵ کاهش یافته بود (نمودار شماره ۱).

میانگین بقا در افراد HER2/neu مثبت، ۵۷/۱ ماه (۶۲/۶-۵۱/۶ ماه) بود و این میزان در بیمارانی که از نظر HER2/neu منفی بودند، ۵۶/۶ ماه (۶۱/۴-۵۱/۸ ماه) بود. همچنین ارتباط معنی داری بین HER2/neu و بقای بیماران دیده نشد ($\chi^2(1) = 0.6$) (نمودار شماره ۲).

در بررسی انجام شده، میانگین بقا در افراد P53 مثبت و P53 منفی به ترتیب برابر با ۴۵/۸ ماه (۵۰-۴۱/۷ ماه) و ۴۴/۷ ماه (۶۰-۴۹/۵ ماه) بود. ارتباط بین P53 و میزان بقا از نظر آماری معنی دار نبود ($\chi^2(1) = 0.3$) (نمودار شماره ۳).

بیمارانی که از نظر گیرنده استروژن مثبت بودند، دارای میانگین بقای ۵۲/۱ ماه (۵۷-۴۷/۱ ماه) بودند. همچنین میزان بقا در افراد ER منفی، ۵۵/۲ ماه (۶۱-۴۹/۵ ماه) بود. رابطه معنی داری بین ER و میزان بقا مشاهده نگردید ($\chi^2(1) = 2.8$) (نمودار شماره ۴).

بررسی بیماران PR مثبت و PR منفی نشان داد که میزان بقا در دو گروه مذکور به ترتیب برابر با ۵۲/۶ ماه (۵۷/۴-۴۷/۸ ماه) و ۵۵/۱ ماه (۶۰/۶-۴۹/۶ ماه) بود. همچون

است که در آن تأثیر گیرنده های استروئیدی، HER2/neu و p53 بر پیش آگهی سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفته است.

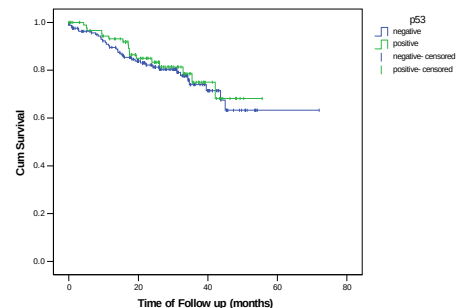
ارزیابی وضعیت گیرنده های استروژن و پروژسترون به روش ایمونوهیستوشیمی به صورت یک تکنیک استاندارد در مبتلایان به سرطان پستان درآمده است و علاوه بر فراهم نمودن اطلاعات پروگنوستیک ارزشمند برای پزشکان، پاسخ به درمان آندوکراین را نیز پیش بینی می کند. امروزه ارزیابی وضعیت گیرنده های هورمونی در تعیین درمان برای کلیه بیماران مبتلا به سرطان پستان ضروری است. تومورهای پستانی که دارای هر دو گیرنده استروژن و پروژسترون باشند، بالاترین شانس رمیسیون بدنال هورمون درمانی (حدود ۷۰ درصد) را خواهند داشت. درحالیکه احتمال مذکور در مورد بیمارانی که تومورشان فقط یکی از دو گیرنده مذکور را داراست، حدود ۳۰ درصد و در مواردی که سطوح کم از هر دو گیرنده وجود دارد، حدود ۱۰ درصد است.

همچنین نشان داده شده است که تومورهایی که ER و PR را بیان می کنند، به میزان بیشتری تمایز یافته بوده، درجه هیستولوژیک پایین تری دارند [۴۵ و ۴۶]. وضعیت ER و PR از اواسط دهه ۷۰ میلادی به عنوان فاکتور پروگنوستیک برای عود زودرس مورد استفاده قرار می گیرد، با این حال نتایج حاصله از برخی مطالعات، مؤید یافته های فوق نبوده و ارزش پروگنوستیک ER و PR همچنان مورد بحث است [۴۷، ۴۸، ۴۹ و ۵۰]. علاوه بر ER و PR، ژن های HER2/neu و p53 نیز اخیراً به عنوان فاکتورهای تعیین کننده پیش آگهی سرطان پستان مطرح شده اند و در خصوص ارزیابی روتین آنها به روش ایمونوهیستوشیمی در کلیه مبتلایان به سرطان پستان، نظراتی بیان شده است [۷-۱۱].

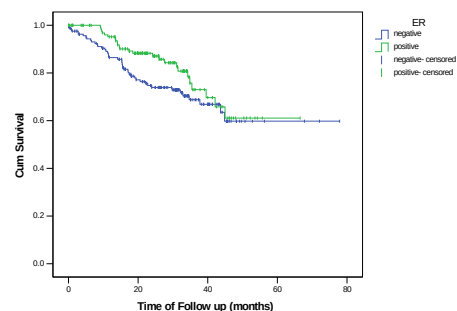
در مطالعات انجام شده، تقویت یا ظهور بیش از حد ژن HER2/neu، معمولاً با درجه بالاتر و اندازه بزرگ تر تومور، درگیری غدد لنفاوی، متاستاز دوردست، فقدان گیرنده استروژن، میزان عود بیشتر و پیش آگهی ضعیف تر مرتبط بوده است [۵۱ و ۵۲]. همچنین ظهور بیش از حد ژن HER2/neu، در پیش بینی اینکه چه بیمارانی از شیمی درمانی یا هورمون درمانی بیشتر سود می برند، می تواند مفید باشد [۵۳-۵۶]. جهش در ژن p53 نیز با درجه هیستولوژیک بالا و پیشرفت سریع تر تومور همراه بوده است [۵۷]. هر چند که این یافته ها از سوی برخی از مطالعات تأیید نشده است [۶۱-۵۸].

در مطالعه حاضر اگرچه همانند سایر مطالعات [۲۹-۲۴]، همراهی ER با PR و نیز HER2/neu با p53 در مبتلایان به سرطان پستان به طور قابل ملاحظه ای مشهود بود، عدم ارتباط بیومارکرهای پروگنوستیک با میزان بقا یافته ای متفاوت

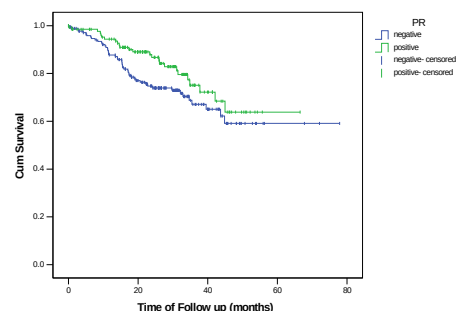
نمودار ۳- توزیع تابع بقا در بیماران مورد مطالعه برحسب ظهور P53



نمودار ۴- توزیع تابع بقا در بیماران مورد مطالعه برحسب ظهور ER



نمودار ۵- توزیع تابع بقا در بیماران مورد مطالعه برحسب ظهور PR



بحث

عوامل پروگنوستیک در زنان ایرانی مبتلا به سرطان پستان اخیراً مورد توجه محققین قرار گرفته اند. با این حال مطالعه حاضر اولین بررسی صورت گرفته در زمینه بیومارکرهای مؤثر در پیش آگهی سرطان پستان در ناحیه شمال شرق ایران و شهر مشهد و از معدود مطالعات بقا در این خصوص در کشور ایران

در مقایسه با دیگر پژوهش‌های انجام‌شده در این زمینه است [۲۵، ۲۷، ۲۸، ۶۲، ۶۳ و ۶۴].

بررسی گیرنده‌های هورمونی در مطالعه حاضر با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی در بلوک‌های پارافینی انجام شده است که از شیوه‌های نوین در این زمینه محسوب می‌گردد. اما مهمترین و شایع‌ترین مشکل آن، فقدان یک سیستم جامع جهت استاندارد سازی آن است. آزمایشگاه‌های مختلف از رأی‌های با ویژگی و حساسیت متفاوت، شیوه‌های گوناگون دیتکت کردن و سیستم‌های متنوع امتیازدهی استفاده می‌کنند. به‌علاوه بسیاری از آزمایشگاه‌ها جهت مثبت یا منفی بودن نمونه، تعاریف اختیاری بکار می‌برند. لذا تخمین زده می‌شود که در ۲۰ درصد از موارد، وضعیت ER به‌طور اشتباه ارزیابی می‌شود و در مورد PR، به‌خاطر تجربه کمتر مراکز آزمایشگاهی، درصد خطا بیش از این خواهد بود [۶۵]. مطالعه حاضر از این امر مستثنی نیست و یافته‌های بدست آمده در مورد گیرنده‌های استروئیدی تاحدی می‌تواند ناشی از آن باشد.

با وجود این، عامل عمده مؤثر در نتایج متفاوت مطالعه حاضر، عوامل جمعیتی و نژادی ساکنین این منطقه است. تأثیر فاکتورهای قومی و نژادی در ظهور بیومارکرهای سرطان پستان همواره مورد توجه دانشمندان بوده است. مطالعات صورت گرفته در ایالات متحده، اختلاف قابل ملاحظه‌ای در شیوع ظهور ژن‌های پروگنوستیک و نیز میزان بقای بیماران در میان نژادهای گوناگون نشان داده است [۲۲، ۲۳، ۶۶، ۶۷ و ۶۸]. تنوع مذکور همراه با گزارش‌های متفاوت در مورد ارتباط بیومارکرها با خصوصیات کلینیکوپاتولوژیک و میزان بقا در پژوهش‌های صورت گرفته در نقاط مختلف جهان نیز مشهود است [۳۰-۲۵]. به عبارت دیگر اگرچه یک الگوی غالب از وضعیت ارتباط بیومارکرهای پروگنوستیک با خصوصیات کلینیکوپاتولوژیک و میزان بقا در سرطان پستان (همانطور که به آن اشاره گردید) قابل توصیف است، موارد اختلاف بسیاری نیز دیده شده است. به‌طوریکه Takei در ژاپن نشان داد که PR برخلاف ER، یک فاکتور مستقل پیش‌بینی کننده بقای بدون عود در مبتلایان به مراحل اولیه سرطان پستان که تحت جراحی نگهدارنده و اشعه درمانی قرار گرفته بودند، نیست [۵۰]. در مطالعه زنان جوان مبتلا به سرطان پستان که توسط Guerra در اسپانیا صورت گرفت، در آنالیز تک متغیره، ژن‌های HER2/neu و p53 برخلاف ER و PR با بقای عاری از بیماری مرتبط نبودند [۲۷] و بطور مشابه در تحقیقی که Al-Moundhri بر روی زنان عمانی انجام داد، بین HER2/neu با بقای مبتلایان به سرطان پستان ارتباطی پیدا نشد. حال آنکه p53 با پیش‌آگهی بدتر بیماران همراه بود [۲۸]. در مطالعه نجفی در استان گیلان نیز HER2/neu با

عود بیماری رابطة‌ای نداشت [۳۴]. از دیگر یافته‌های متفاوت می‌توان به نتایج مطالعه Huang در چین [۲۶] و مفید در تهران [۳۲] اشاره کرد که در آنها ظهور بیش از حد HER2/neu با گیرنده‌های هورمونی ارتباطی نداشت. همچنین در مطالعه‌ای دیگر در شهر تهران که توسط سیرتی انجام شد، HER2/neu با هیچ یک از بیومارکرهای ER، PR و P53 رابطه معنی‌داری نداشت [۳۳]. از میان خصوصیات کلینیکوپاتولوژیک سرطان پستان می‌توان به درگیری غدد لنفاوی اشاره نمود که برخی پژوهشگران، عدم ارتباط آن با بیومارکرهای پروگنوستیک را نشان داده‌اند. از جمله می‌توان به راشد در مصر [۲۹]، Huang در چین [۲۶] و سیرتی در تهران [۳۳] اشاره نمود که نتوانستند ارتباط معنی‌داری بین HER2/neu و تهاجم به غدد لنفاوی زیر بغلی بیابند. این درحالی است که HER2/neu در مطالعه Huang، با مرحله بالاتر سرطان و در مطالعه راشد، با اندازه بزرگتر تومور و درجه هیستولوژیک بالاتر همراه بود. همچنین در بررسی بیماران کره‌ای مبتلا به سرطان پستان توسط Choi، هیچ یک از بیومارکرهای ER، PR، HER2/neu و P53 با متاستاز به غدد لنفاوی آگزیلاری ارتباطی نداشتند [۲۴].

گزارش‌های متفاوت از کشورهای گوناگون در مورد ارتباط بیومارکرها با خصوصیات کلینیکوپاتولوژیک و میزان بقای سرطان پستان، بیانگر لزوم توجه به فاکتورهای جمعیتی بخصوص قومیت و نژاد بیماران به عنوان عاملی تأثیرگذار در این زمینه است. هرچندکه نقش نژاد در نوع رفتار بیولوژیک سرطان پستان بارها مورد بحث و تأکید قرار گرفته است [۲۲، ۲۳، ۶۶، ۶۷ و ۶۸].

نتیجه گیری

الگوی متفاوت بدست آمده در زمینه نقش پروگنوستیک بیومارکرهای سرطان پستان در منطقه شمال شرق ایران، تا حدی معلول فقدان سیستم جامع استانداردسازی و تنوع موجود در مراحل مختلف تکنیک ایمونوهیستوشیمی است. علاوه بر این تأثیر فاکتورهای جمعیتی در این زمینه قابل ملاحظه است. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه مشابهی در این منطقه انجام نشده است، بررسی حاضر می‌تواند مبنایی برای مطالعات گسترده‌تر در منطقه با تأکید بر زیرگروه‌های جمعیتی خاص باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت محترم پژوهش و فناوری دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی اجرا گردید. همچنین نویسندگان لازم می‌دانند از مسئولین محترم بیمارستان‌های قائم (عج) و امید

مشهد که امکان استفاده از بایگانی اطلاعات بیماران مراجعه‌کننده به بخش‌های رادیوتراپی و انکولوژی را فراهم نمودند، سپاسگزاری

نمایند.

منابع

1. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC Cancer-Base. Lyon, France, No 5, Ver 2, 2004.
2. International Agency for Research on Cancer. CANCERmondial [online database]. Available from: URL: <http://www-dep.iarc.fr/> Accessed Dec 7 2006.
3. Center of disease management, Iranian Center for Prevention and Control of Disease, Ministry of Health and Medical Education, Treatment and Education. Summary report on cancer incidence in Iran. Tehran, Islamic Republic of Iran, 2000.
4. Harirchi I, Karbakhsh M, Kashefi A, Momtahan AJ. Breast cancer in Iran: results of a multi-center study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2004; 5 (1): 24-7.
5. Eric P. Winer, chap 37.2. Devita VT, Hellman JS, Rosenberg SA. Cancer: Principles and practice of oncology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001; p. 1687-8.
6. Yamashita H, Nishio M, Toyama T, Sugiura H, Zhang Z, Kobayashi S, et al. Coexistence of HER-2 over-expression and p53 protein accumulation is a strong prognostic molecular marker in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2004; 6: R24-R30.
7. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 966-78.
8. Chang J, Powles TJ, Allred DC, Ashley SE, Clark GM, Makris A, et al. Biologic markers as predictors of clinical outcome from systemic therapy for primary operable breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3058-63.
9. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol* 1998; 11: 155-68.
10. Kobayashi S, Iwase H, Ito Y, Yamashita H, Iwata H, Yamashita T, et al. Clinical significance of bcl-2 gene expression in human breast cancer tissues. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 42: 173-81.
11. Hamilton A, Piccart M. The contribution of molecular markers to the prediction of response in the treatment of breast cancer: a review of the literature on Her-2, p53 and BCL-2. *Ann Oncol* 2000; 11: 647-63.
12. Dignam JJ, Redmond CK, Fisher B, et al. Prognosis among African-American women and white women with lymph node negative breast carcinoma. Findings from two randomized clinical trials of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP). *Cancer* 1997; 80: 80-90.
13. Dignam JJ. Differences in breast cancer prognosis among African-American and Caucasian women. *CA-Cancer J Clin* 2000; 50: 50-64.
14. Jones LA, Brawley O, Johnson-Thompson M, et al. Overview of the summit meeting evaluating research in African-American women. *Cancer* 2003; 97: 207-10.
15. Newman LA, Mason J, Cote D, et al. African-American ethnicity, socioeconomic status, and breast cancer survival. A meta-analysis of 14 studies involving over 10,000 African-American and 40,000 white American patients with carcinoma of the breast. *Cancer* 2002; 94: 2844-54.
16. Joslyn SA, West MM. Racial differences in breast carcinoma survival. *Cancer* 2000; 88: 114-23.
17. Joslyn SA. Hormone receptors in breast cancer: racial differences in distribution and survival. *Breast Cancer Res Treat* 2002; 73: 45-59.
18. Gapstur SM, Dupuis J, Gann P, et al. Hormone receptor status of breast tumors in black, Hispanic, and non-Hispanic women. An analysis of 13, 239 cases. *Cancer* 1996; 77: 1465-71.

19. Beverly LN, Flanders WD, GO RCP, et al. A comparison of estrogen and progesterone receptors in black and white breast cancer patients. *Am J Public Health* 1987; 77: 351-3.
 20. Joslyn SA. Racial differences in treatment and survival from early stage breast carcinoma. *Cancer* 2002; 95: 1759-66.
 21. Alexieva-Figuschi J, Van Putten WI, Blankenstein MA, et al. The prognostic value and relationships of patient characteristics, estrogen and progesterone receptors, and site of relapse in primary breast cancer. *Cancer* 1988; 61: 758-68.
 22. Newman LA, Bunner S, Carolin K, et al. Ethnicity related differences in the survival of young breast carcinoma patients. *Cancer* 2002; 95: 21-7.
 23. Stark AT, Claud S, Kapke A, Lu M, Linden M, Griggs J. Race modifies the association between breast carcinoma pathologic prognostic indicators and the positive status for HER2/neu. *Cancer* 2005; 104 (10): 2189-96.
 24. Choi DH, Shin DB, Lee MH, Lee DW, Dhandapani D, Carter D, et al. A comparison of five immunohistochemical biomarkers and HER2/neu gene amplification by fluorescence in Situ hybridization in white and Korean patients with early-onset breast carcinoma. *Cancer* 2003; 98 (8): 1587-95.
 25. Yamashita H, Nishio M, Toyama T, Sugiura H, Zhang Z, Kobayashi S et al. Coexistence of HER-2 over-expression and p53 protein accumulation is a strong prognostic molecular marker in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2004; 6: R24 -R30.
 26. Huang CS, Chen YC, Wang M, Lin JK, Chang KJ. HER-2/neu overexpression in Chinese breast cancers: correlation with other prognostic factors. *J Formos Med Assoc* 1995; 94 (11): 660-5.
 27. Guerra I, Algorta J, Diaz de Otazu R, Pelayo A, Farina J. Immunohistochemical prognostic index for breast cancer in young women. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2003; 56: 323-7.
 28. Al-Moundhri M, Nirmala V, Al-Mawaly K, Ganguly S, Burney I, Rizvi A, et al. Significance of p53, Bcl-2, and HER-2/neu protein expression in Omani Arab females with breast cancer. *Pathol Oncol Res* 2003; 9(4): 226-31. Epub 2003 Dec 22.
 29. Rashed MM, Ragab NM, Galal MK. The association of Her-2/neu over expression in relation with p53 nuclear accumulation, hormonal receptor status and common clinicopathological prognostic parameters in a series of Egyptian women with invasive ductal carcinoma. *Internet J Pathol* [serial online].
 30. Kroger N, Milde-Langosch K, Riethdorf S, Schmoor C, Schumacher M, Zander AR, et al. Prognostic and Predictive Effects of Immunohistochemical Factors in High-Risk Primary Breast Cancer Patients. *Clin Cancer Res* 2006; 12 (1): 159-68.
۳۱. آزاده پیام، مرتضوی سیدحسین، ولایی ناصر، ارزش پروگنوستیک انکوپروتئین HER2 در بیماران پرمنوپوز مبتلا به سرطان پستان با درگیری غدد لنفاوی زیربغلی، پژوهنده (مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی تهران)، ۱۳۸۲، ۸، ۱، ۷-۱۳.
۳۲. مفید بهرام و دیگران، بررسی رابطه پروتئین کوژن HER2 با فاکتورهای پروگنوستیک سرطان پستان، پژوهش در پزشکی (مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی تهران)، ۱۳۸۳، ۲۸، ۱، ۲۹-۳۲.
۳۳. سیرتی فریدون، یادگاری کیوان، بررسی رابطه بین شاخص توموری Her-2 و قدرت تهاجمی سرطان پستان (متاستاز به غدد لنفاوی زیر بغل) در بیماران ماستکتومی شده در انستیتو کانسر طی سال‌های ۸۲-۱۳۸۰، مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران، ۱۳۸۳، ۱۱، ۴۳، ۷۸۸-۷۸۱.
۳۴. نجفی بهروز، فاخری تبسم، فداکار سقوه غزل، ارتباط HER-2 با دیگر معیارهای تشخیصی پاتولوژی-بالینی در بیماران سرطان پستان، مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان، ۱۳۸۵، ۱۵، ۵۷، ۲۱-۲۷.
۳۵. فاخری تبسم، نجفی بهروز، فداکار سقوه غزل، بررسی ارتباط p53 با برخی از عوامل پاتولوژیک بالینی و گیرنده‌های استروئیدی در بیماران سرطان پستان، مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان، ۱۳۸۵، ۱۵، ۵۸، ۱-۶.
۳۶. نقش‌وار فرشاد و دیگران، وضعیت بیان گیرنده استروژن، گیرنده پروژسترون و HER-2/neu در مبتلایان سرطان پستان مهاجم، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ۱۳۸۵، ۸، ۴، ۶۴-۷.

37. Iran [online]. Available from: URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Iran> Accessed Feb 11 2007.
38. Mashhad [online]. Available from: URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Mashhad> Accessed Feb 11 2007.
39. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی جمهوری اسلامی ایران، معاونت سلامت، مرکز مدیریت بیماری ها، معاونت غیرواگیر، اداره سرطان، گزارش کشوری ثبت موارد سرطانی ۱۳۸۲. تهران: اسفند ۱۳۸۳، ۳.
40. Quaem Hospital [online]. Available from: URL: <http://www.mums.ac.ir/quaem/fa/index> Accessed Feb 11 2007.
41. Omid Hospital [online]. Available from: URL: <http://www.mums.ac.ir/omid/fa/index> Accessed Feb 11 2007.
42. Standard Immunohistochemistry Staining Method, Labeled Streptavidin Biotin (LSAB) Method [online]. Available from: URL: http://www.ihcworld.com/_protocols/general_IHC/standard_lsab_method.htm Accessed Feb 11 2007.
43. HercepTest for the Dako Autostainer [online]. Available from: URL: http://www.dakousa.com/prod_downloadpackaginsert.pdf? Objected =114972002 Accessed Feb 11 2007.
44. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligandbinding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1474-81.
45. Aaltomaa S, et al. Hormone receptors as prognostic factors in female breast cancer. *Ann Med* 1991; 23: 643.
46. Biesterfeld S, et al. Rapid and prognostically valid quantification of immunohistochemical reactions by immunohistochemistry of the most positive tumor focus. *J Pathol* 1998; 185: 25.
47. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Meeting highlights: updated international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3357-65.
48. Guerra I, Algorta J, Diaz de Otazu R, Pelayo A, Farina J. Immunohistochemical prognostic index for breast cancer in young women. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2003; 56: 323-7.
49. Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM, Osborne CK, Clark GM. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Oncol* 2003; 21 (10): 1973-9.
50. Takei H, Horiguchi J, Maemura M, Koibuchi Y, Oyama T, Yokoe T, et al. Predictive value of estrogen receptor status as assessed by ligand-binding assay in patients with early-stage breast cancer treated with breast conserving surgery and radiation therapy. *Oncol Rep* 2002; 9: 375-8.
51. Salmon 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.
52. Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF. When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2334.
53. Ravdin PM. Is Her2 of value in identifying patients who particularly benefit from anthracyclines during adjuvant therapy? A qualified yes. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001; 30: 80.
54. Pietras RJ. Interactions between estrogen and growth factor receptors in human breast cancers and the tumor-associated vasculature. *Breast J* 2003; 9: 361.
55. Ellis MJ, Coop A, Singh B, et al. Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for ErbB-1 and/or ErbB-2-positive, estrogen receptor-positive primary breast cancer: evidence from a phase III randomized trial. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3808.
56. Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: first results of the ATAC randomized trial. The ATAC Trialists Group. *Lancet* 2002; 359: 2131.
57. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists

- Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med 2000; 124: 966-78.
58. Tulbah AM, Ibrahim EM, et al. HER2/neu over expression does not predict response to non-adjuvant chemotherapy or prognosticate survival in patients with locally advanced breast cancer. Med Oncol 2002; 1(1): 15-23.
 59. Allred D, Clark G, Elledge R, Fuqua S, Brown R, Chamness G, 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 (3): 200-6.
 60. Allred D, Clark G, Elledge R, Fuqua S, Brown R. Time for integration of predictive factors for selection of breast cancer patients who need postoperative radiation. J Natl Cancer Inst 1997; 89: 605-7.
 61. Haagensen CD, Bodian C, et al. Importance of p53 in the diagnosis and treatment of cancer. Bergh J 1998; 25: 179-86.
 62. Pinto AE, André S, Pereira T, Nóbrega S, Soares J. C-erbB-2 oncoprotein overexpression identifies a subgroup of estrogen receptor positive (ER+) breast cancer patients with poor prognosis. Ann Oncol 2001; 12 (4): 525-33.
 63. Hlupic L, Jakic-Razumovic J, Bozikov J, Coric M, Belev B, Vrbanec D. Prognostic value of different factors in breast carcinoma. Tumori 2004; 90 (1): 112-9.
 64. Tacca O, Penault-Llorca F, Abrial C, Mouret-Reynier MA, Raoelfils I, Durando X, et al. Changes in and prognostic value of hormone receptor status in a series of operable breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. Oncologist 2007; 12(6): 636-43.
 65. Summary Proceedings: 29th Annual Symposium of the American Society of Breast Disease 14-16; Las Vegas, Nevada 2005.
 66. Li CI, Malone KE, Daling JR. Differences in breast cancer hormone receptor status and histology by race and ethnicity among women 50 years of age and older. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002; 11 (7): 601-7.
 67. Chu KC, Anderson WF, Fritz A, Ries LA, Brawley OW. Frequency distributions of breast cancer characteristics classified by estrogen receptor and progesterone receptor status for eight racial/ ethnic groups. Cancer 2001 (1): 37-45.
 68. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. JAMA 2006; (21): 2492-502.