

Meme Karsinomlarında Erd5 in Yeri ve Prognostik Parametreler İle İlişkisi

Dr. Gülgün Koçak *, Dr. Nilgün Kapucuoğlu *, Dr. Işın Pak *

ÖZET

Steroid hormon reseptörleri, hormon bağımlı tümörlerin gelişiminde etkilidir. bu reseptörlerin varlığı direkt reseptöre yönelik monoklonal antikorlarla ya da indirekt olarak reseptör tarafından kontrol edilen ERD5 gibi intrasitoplazmik proteinlerin gösterilmesi ile saptanabilmektedir.

Bu çalışmada Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Bölümünde Kasım 1992 - Mart 1993 tarihleri arasında incelenen 38 radikal mastektomi spesmenine immünohistokimyasal yöntemle ERD5 boyası uygulanmış; hasta yaşı, menopozal durum, tümör boyutu ve klinik evre, aksiller lenf nodu tutulumu, histolojik ve nükleer grade, lenfositik infiltrasyon, lenfatik invazyon, tümör nekrozu, elastosis gibi prognostik parametreler ile arasındaki ilişki araştırılmıştır. ERD5 pozitif olguların yaş ortalamasının yüksek olduğu ($p < 0,01$) ve elastosis ile pozitif korelasyon gösterdiği ($p < 0,05$) saptanmıştır. Diğer klinik ve morfolojik parametreler ile ilişkisi bulunamamıştır.

Anahtar kelimeler : Meme karsinomu, östrojen reseptörü, ERD5, prognostik parametreler.

GİRİŞ

Meme karsinomu kadında en sık görülen malign tümördür (1). Bu tümörlerin davranışı klinik ve morfolojik kriterler ile değerlendirilir. Çoğu olguda morfoloji ve klinik davranış arasında ilişki bulunur. Morfolojik bulgular genellikle subjektif özellikler taşır. Bu nedenle son yıllarda tümör piloidisi, hücre proliferasyon indeksi, östrojen reseptör (ER) ve progesteron reseptör (PR) durumu gibi objektif parametreler önem kazanmaktadır (2).

Meme karsinomunun davranışında seks steroid hormon etkisi bilinmektedir (3,4). ER ve PR normal meme epitel hücrelerinde değişik oranlarda bulunurken bu organ karsinomlarında atipik epitelde daha yüksek oranlarda saptanmaktadır (5). ER tesbit edilen meme karsinomlarında endokrin tedaviye cevap oranı % 50 - 60 iken reseptör içermeyenlerde bu oran % 5-10 a düşmektedir (2,6).

pS2, ERD5 (P29, estrogen receptor related protein, D5), HSP27 ve katepsin D gibi çeşitli proteinler östrojen kontrolünde sentezlenirler (7-10).

ERD5, 27.000-29.000 dalton ağırlığında insan miyometriyumundan sitozolik östrojen reseptör komponentine karşı oluşturulan monoklonal antikordur (8-10). D5 antijeninin ER'nin bir komponenti olduğu, insan hücrelerinde ER tarafından kontrolünün sağlandığı gösterilmiştir (9).

Meme ve endometrium adenokarsinomlarında ER ve ERD5 arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (8,10). ERD5,

SUMMARY

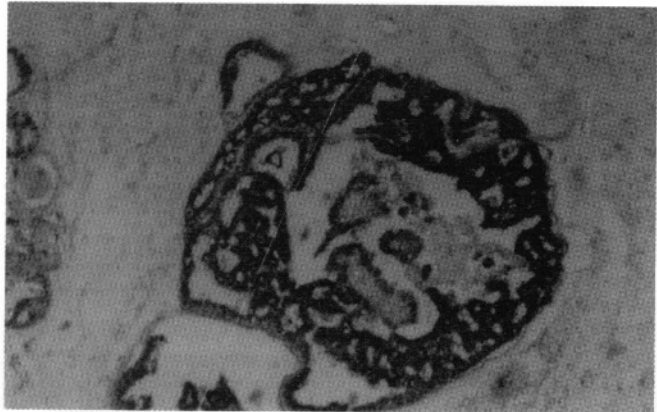
ERD5 and It's relationship to prognostic parameters in breast Carcinoma

Steroid hormones have an important effect on the progression of hormone dependent tumors. The presence of steroid hormone receptors can be detected by monoclonal antibodies directed to the receptors or indirectly by detection of intracytoplasmic proteins such as ERD5 was detected immunohistochemically in 38 radical mastectomy specimens those were evaluated at the pathology department of AOH between November 1992 and March 1993. The relationship between ERD5 and age, menopausal status, tumor size, lymph node status, clinical stage, histological and nuclear grade, lymphocytic infiltration, lymphatic invasion, elastosis were evaluated ERD5 positive cases were older ($p < 0.001$) and there was a positive correlation between elastosis ($p < 0.05$). There were no correlations between other clinical and morphological parameters.

Key words: Breast carcinoma, ERD5, estrogen receptor, prognostic parameters.

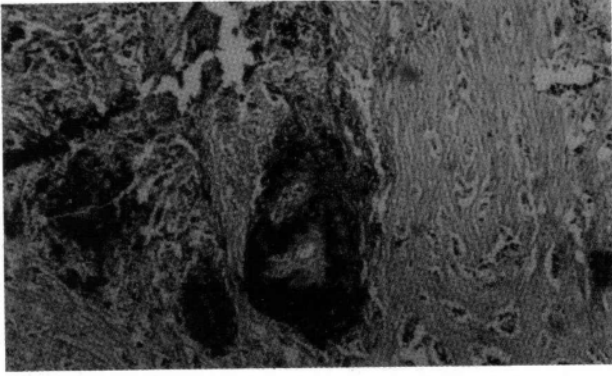
meme karsinomlarında ER varlığını ve fonksiyonel olup olmadığını gösteren parametrelerden biri olabilir (7).

Bunun yanında ERD5 ve diğer östrojen tarafından kontrol edilen proteinlerin ER varlığını tesbitte ve dolayısıyla prognoz ve endokrin tedaviye tümör cevabını belirlemede iyi bir



Resim 1: İnvaziv duktal karsinomda, intraduktal alanda ERD5 pozitifliği (H&E.)

* Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Bölümü



Resim 2 : İnvaziv duktal karsinomda periduktal elastozis (Verhoeff'un elastik boyası, x40)

parametre olmadığını bildiren yayınlara da rastlanmaktadır (11,12).

Çalışmamızda primer meme karsinomlu 38 olguya immünohistokimyasal yöntemle ERD5 boyanmış ve bilinen prognostik parametrelerle ilişkisi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ankara Onkoloji Hastanesi'ne Kasım 1992 - Mart 1993 tarihleri arasında başvuran meme karsinomlu, radikal mastektomi materyalinde residüel tümörü olan veya biopsi materyaline ulaşılabilen 38 olgu çalışma grubunu oluşturmuştur.

Tümör dokusundan alınan örneğin bir kısmı % 96 alkolde fikse edildi ve rutin doku takip cihazında formalin basamağı atlanarak takip edildi. Östrojen reseptör bağımlı protein tesbiti için (klon: D5, monoklonal mouse, BioGenex) predilüe ERD5 antikor kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyam işlemi streptavidin - APAAP indirekt yöntemi kullanılarak yapıldı.

ERD5 antikoru ile sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi (resim 1) ve 10 büyük büyütme alanında 100 hücre sayıldı. Berger ve Wilson (13) tarafından önerilen boyanma şiddeti indeksi kullanıldı.

Otuz sekiz olgunun HxE preparatları incelendi. Histolojik tip, histolojik ve nükleer grade, tümör nekrozu, tümör içi elastoz, aksiller lenf nodu durumu, tümör ve çevre dokuda lenfositik infiltrasyon, tümör ve çevre dokuda lenfatik invazyon araştırıldı. Histolojik tiplerede WHO (14) tarafından önerilen klasifikasyon, histolojik grade ve nükleer grade için sırasıyla Bloom ve Richardson(15) ve Black (16) kriterleri kullanıldı. Elastozis için Verhoeff'un elastik boyası, Master (17) tarafından önerilen skorlama kullanıldı. Elastozis değerlendirilirken periduktal, perivasküler ve stromal elastozis alanları incelenmiştir (resim 2).

İstatistiksel incelemeler için Khi-kare, Student's t, Mann - Whitney U, Kruskal Wallis Varyans analizi kullanıldı.

BULGULAR

Yaşları 32-78 arasında (ortalama 48) arasında değişen tümü kadın olan 38 olgunun 18'i (% 47) premenapozal, 20'si (% 53) postmenapozal dönemdedir. Tümör boyutları 1-10 cm (ortalama 4 cm) dir. Bir olgu evre 1, 12 olgu evre 2a, 12 olgu

evre 2b; 10 olgu evre 3a; 3 olgu evre 3b'dir. Bir olgu intraduktal, 35 olgu invaziv duktal, 1 olgu lobüler, 1 olgu mikst karsinom (invaziv duktal ve müsinöz karsinom) olarak değerlendirilmiştir. Olguların histolojik gradelerine göre dağılımı : 13 olgu grade 1, 21 olgu grade 2, 2 olgu grade 3 olarak değerlendirilmiştir. İntraduktal ve invaziv lobüler karsinom olguları değerlendirme dışında tutulmuştur. Olguların nükleer gradelerine göre dağılımı: 5 olgu grade 1; 17 olgu grade 2, 16 olgu grade 3'tür.

Elastozis ise 13 olguda (+), 6 olguda (++), 5 olguda (+++) olarak değerlendirilmiştir. Ondört olguda elastozis tesbit edilmemiştir.

Aksiller lenf nod metastazı olan olgu sayısı 24'tür Yirmi sekiz olguda tümör çevresinde damar invazyonu saptanmıştır.

Tümör nekrozu 12 olguda görülmemektedir. Yirmi olguda (+), 5 olguda (++), 1 olguda (+*++) olarak değerlendirilmiştir.

Lenfositik infiltrasyon 8 olguda görülmemiştir. Lenfositik infiltrasyon 30 olgunun; 19'unda (+), 7'sinde (++), 3'ünde (+++), 1'inde (++++) olarak değerlendirilmiştir.

Otuz sekiz olgunun 25'inde (%77) ERD5 pozitifliği saptanmıştır. ERD5 pozitif olan grubun yaş ortalaması negatif olan gruptan yüksektir (p>0.01).

ERD5 pozitif olgulardan 10'u (%40) premenapozal, 15'i (%60) postmenapozal dönemdedir ve ERD5 negatif olgularla anlamlı bir fark göstermemektedir (p>0.05).

ERD5 pozitif ve negatif grup arasında tümör boyutu ve klinik evre, histopatolojik ve nükleer grade, tümör nekrozu, aksiller lenf nodu tutulumu, lenfositik infiltrasyon ve lenfatik invazyon açısından istatistiksel farklılık bulunmamıştır(p>0.05).

ERD5 pozitif olgularda elastozis oranı negatif olan gruba göre daha yüksek bulunmuştur(p<0.05).

TARTIŞMA

Çeşitli neoplazmların davranışında seks steroid hormonların etkisi uzun zamandır bilinmektedir (3,4). Östrojen ve progesteron hormonları, hormon bağımlı karsinomların gelişimi üzerinde etkilidir. Bu hormon reseptörleri meme, endometriyum, over, böbrek, beyin ve birçok doku tümöründe izole edilmiştir (18). Meme karsinomlu olguların % 55-60'ında, bazı yayınlarda ise % 70'inde ER tesbit edilmiştir (19,20).

Reseptörlerin kalitatif değerlerinin saptanması tümörün endokrin tedaviye cevabını, hastalığın klinik seyrini, rekürrens oranını ve hastaliksız sağ kalım süresini belirlemede yardımcıdır (26-32).

PR gibi östrojen tarafından kontrol edilen PS2, ERD5 (p29), HSP27, katepsin-D gibi proteinlerin varlığı bilinmektedir.

ERD5 (P29) molekül ağırlığı 26.000-29.000 dalton olan insan miyometriyumundan sitozolik ER komponentine karıştırdırılan spesifik bir monoklonal antikordur (8-10). Bu antikorun hedefi olan D5 antijenin natürü halen aydınlatılmamıştır. Bu antijenin ER'nin parçalanma ürünü olduğu da düşünülmektedir (12). D5 antijen varlığı ER'ne bağımlı ancak PR'de bağımsızdır (9). D5 antijeni sadece ER pozitif hücrelerde saptanabilir, ancak bazı yayınlarda ERD5 pozitifliğine ER negatif hücre ve

dokularda da (deri, damar, düz kas hücreleri gibi) rastlanabileceği gösterilmiştir (8). Tüm fiksasyon yöntemleri ile D5 antijeni intrasitoplazmik olarak saptanabilir (8-10).

Meme ve endometriyumda ve bu dokuların karsinomlarında ER ve ERD5 arasında pozitif bir korelasyon gösterilmektedir (8,9,10,33,34). Bu nedenle ERD5 meme karsinomlarında ER varlığını ve fonksiyonel olup olmadığını gösteren parametrelerden biri olabilir (8-10).

Bunun yanında ERD5 ve diğer östrojen tarafından kontrol edilen proteinlerin ER varlığını tesbitte ve dolayısıyla prognozu ve tümörün endokrin tedaviye cevabını belirlemede iyi bir parametre olmadığı da bildirilmektedir (11,12).

Çalışmamızda 38 meme karsinomu olguya immünohistokimyasal yöntemle ERD5 uygulanmıştır. Morfolojik ve klinik prognostik parametreler ile ilişkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızda ERD5 pozitifliği %77 (25 olgu) oranındadır. Shimuzu (35) immünohistokimyasal yöntemle nükleer ER oranının % 71, Antoniodes (19) biokimyasal yöntem ile % 67, Pascal (23) immünohistokimyasal yöntemle % 82, Andersen (26) immünohistokimyasal yöntemle % 70 oranında saptamışlardır. Hurlıman (7) immünohistokimyasal yöntem ile ER oranını % 72, ERD5 oranını % 48 bulmuştur. Bu çalışmada 146 ER pozitif olgunun 78'inde ERD5 pozitif, ER negatif 50 olgunun 15'inde ERD5 negatif bulunmuştur. Çalışmamızda ERD5 pozitiflik oranı diğer çalışmalardaki ER oranları ile uyumlu ancak bu çalışmadaki ERD5 oranından yüksek olarak saptanmıştır.

Chabon (36) Fisher (37) ve Furmanski (38) meme karsinomlarını içeren geniş serilerinde ER pozitif olgularda yaş ortalamasını yüksek bulmuşlardır. Bunun nedenini genç kadınlarda reseptörleri bağlayıp bloke eden endojen steroid hormon varlığı ile açıklamaktadırlar. Hurlıman (7) ER pozitif ve negatif gruplar arasında, yaş gruplarına göre anlamlı farklılık bulmamıştır. Biokimyasal ölçümle 70 yaşın üzerindeki kadınlarda % 86 oranında ER pozitifliği saptamıştır. ERD5 ise yaş ile değişiklik göstermemektedir. Çalışmamızda ERD5 pozitif olgularda yaş ortalaması, ERD5 negatif gruptan daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Coffe (9) 50 yaşın üzerinde ER pozitif olgularda ERD5 oranını, 50 yaşın altında ER pozitif olgulardan daha yüksek bulmuştur.

Meme karsinomlarının histolojik tipi prognozu etkileyen parametrelerdendir. Medüller, müsinöz, tübüler karsinomlar prognozu daha iyi tiplerdir. Helin (39), Katayama (40), çalışmalarında invaziv duktal karsinom ve özel tipleri ile müsinöz karsinoma ve invaziv lobüler karsinomda ER oranını yüksek bulmuştur. Çalışmamızda özel histolojik tiplerin sayıca az oluşu nedeni ile istatistiksel sonuçlar anlamlı değildir ($p > 0.05$).

Meme karsinomlarında histolojik grade en önemli prognostik parametrelerdendir (5). Helin (39), Mohammed (41), Berger (13), Fisher (37) iyi diferansiye invaziv duktal karsinomlarda yüksek oranda ER saptamışlardır. Antoniodes (19) çalışmasında histolojik grade ve ER ilişkisini anlamlı bulmamıştır. Hurlıman (7) ER, PR, HSP-27, katepsin D ve ERD5 için grade grupları arasında anlamlı farklılık bulmuştur, bu proteinleri düşük gradeli tümörlerde yoğun olarak saptamıştır. Çalış-

mamızda ERD5 pozitif ve negatif gruplar arasında histolojik grade ve nükleer farklılık göstermemektedir ($p > 0.05$).

Meme karsinomlarında elastozezin hormonal tedaviye tümör cevabının en iyi göstergelerinden biri olduğu bilinmektedir (38). İlk olarak Masters ve arkadaşları (42) elastoze ve ER arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Benzer olarak çeşitli çalışmalarda da ER ve elastoze arasında pozitif ilişki gösterilmiştir (38,43,44). Çalışmamızda da ERD5 pozitif olgularda elastoze oranı negatif olgulardan yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$). Hurlıman (7) ER pozitif olgularda hormonal tedaviye cevap oranlarının farklı olmadığını bulmuştur.

Metastazda esas basamak lenf ve kan damarlarının malign hücrelerce invazyonudur. Bu bulgu meme karsinomlarında önemli bir prognostik göstergedir (27). Berger (15) ER pozitif ve negatif olgular arasında fark bulmamıştır. Çalışmamızda lenfatik invazyon anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.005$).

Hurlıman (7) ER ile aksiller metastaz arasında ilişki saptamamış ancak şaşırtıcı olarak metastazsız olguların % 38 inde, metastazlı olguların % 61 inde ERD5 pozitifliği bulunmuştur. Çalışmamızda da aksiller lenf nod metastazı ve ERD5 oranları anlamlı değildir ($p > 0.005$).

Evre I meme karsinomlarında yüksek ER oranı olan hastalarda hastaliksiz dönem ve yaşam süresi uzundur. ER negatif evre I hastaların ise rekürrens oranı ER pozitif, aksiller lenf nod pozitif olgulara benzemektedir. Hurlıman (7) ERD5'i küçük tümörü olan olguların % 37'sinde, büyük tümörü olan olguların % 59'unda bulunmuştur. Çalışmamızda evre ve ERD5 ilişkisi anlamsızdır ($p > 0.005$).

Hızlı tümör büyümesi ve buna bağlı nekroz varlığı malign tümörlerin bir özelliğidir. Berger (15) ER pozitif olgularda nekroz oranının azaldığını saptamıştır. Çalışmamızda nekroz olmayan 8 olguda ve 1(+) nekroz bulunan 14 olguda ERD5 pozitifdir. Ancak ERD5 negatif olgularla aralarında istatistiksel fark bulunmamıştır ($p > 0.005$).

Berger (15) peritümöral lenfositik infiltrasyonu ER pozitif olgularda yüksek oranlarda saptamıştır. Chabon (36) ise lenfositik infiltrasyon yoğunluğunun artışı ile ER pozitifliğinin azaldığını göstermiştir. Çalışmamızda bu ilişki anlamlı değildir ($p > 0.005$).

Hurlıman (7), ERD5, pS2, HSP-27, katepsin D ile hormonal tedaviye tümör cevabını pozitif ve negatif olgular arasında farklı bulmamış, ER pozitif ve negatif olgular arasında anlamlı fark bulmuştur.

Sonuç olarak ERD5 tümör hücresinde ER varlığını gösteren bir marker olarak anlamlıdır. Ancak literatürde ERD5 konusunda bilgiler kısıtlıdır ve sonuçlar da oldukça çelişkilidir. Çalışmamızda ERD5'in yaş ve elastoze gibi hormonal tedaviye yönlendiren parametreler ile ilişkili oluşunu anlamlı olarak değerlendirmekteyiz. Ancak çalışmamızdaki olguların prognoz takibinin yapılmamış oluşu, ERD5 pozitif olguların hormonal tedavi sonuçlarının dökümünün olmaması, ERD5'i ER gibi önemi anlaşılmış bir prognostik parametre olarak sunmamızı engellemektedir.

KAYNAKLAR

1. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer. Principles and Practice of Oncology. Third edition. Vol 1 J B Lippincott Company, 1989;pp 1202-124.
2. Bacus SS, Goldschmidt R. Biological grading of breast cancer using antibodies to proliferating cells and other markers. Am J Pathol 1989;135: 783-792.
3. Carraugiu ML, Chambers, JT. Sex steroid receptors in gynecologic neoplasms Pat Annual 1992;Part 2; 121-151.
4. Ozello L, De Rosa C. Detection of estrophilin in frozen section of breast cancer using an estrogen receptor immunocytochemical assay. Cancer Res. 1986;46; 4303-4307.
5. Leong A, Raymond WA. Prognostic parametres in breast cancer. Pathology 1989;21; 165-175.
6. Parl FF, Posey YF. Discrepancies of the biochemical and immunohistochemical estrogen receptor assay in breast cancer. Hum Pathol. 1988;19; 960-966.
7. Hurlimann J Gebhard S & Gomez. F. Oestrogen receptor, progesterone receptor, pS2, ERD5, HSP27, and Cathepsin D in ivasive ductal breast carcinomas. Histopathology 1993;23; 239-248.
8. Ciocca DR and Luque E. H. Immunological evidence for the identity between the hsp 27, 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.
9. Coffe I, Arnold, Spiller Gerald H, Lewis Katherine M. Immunoradiometric studies Cancer Res 45, 3694-3698
10. King Roger JB, Coffe Arnold I, Lewis Katherine. Histochemical studies with a monoclonal antibody raised against a partially purified soluble estradiol receptor preparation from human myometrium. Cancer Res 1985;45, 5728-5733.
11. Giri DD, Dangerfield VM, Lonsdale RK. Immunohistology of oestrogen receptor and D5 antigen in breast cancer: correlation with oestrogen receptor content of adjacent cryostat sections assayed by radioligand binding and enzyme immunoassay. J Clin Pathol 1987;74: 581-583.
12. Walt L. Al. Van Der, Phillips JI, Afrika DJ. Oestrogen receptor assay by ERD5 immunocytochemistry fails to correlate with ligand-binding assay in breast cancer. S Afr Med J 1988;74: 581-583.
13. Berger U, Wilson P. Correlation of İmmünocytochemically demonsrat-ed estrogen receptor distribution and histopathologic features in primary breast cancer. Hum Pathol 1987;18: 1263-1267.
14. The World Health Organization. The World Health Organization Histolical Typing of Breast Tumors-Second edition. Am J Clin Pathol 1982;78: 806-816.
15. Bloom HJG, Richardson WW. Histological grading and prognozis in breast cancer. Br J Cancer 1957;11: 359-377.
16. Black MM, Speer FD. Nuclear structure in cancer tissues. Surg. Gynecol Obstet 1957;105: 97-102.
17. Masters JRW, Millis RR, King RJB. Elastosis and response to endocrine therapy in human breast cancer. Br J Cancer 1979;39: 536-539.
18. Perrot - Applanat M, Groyer-Picard MT, Lorenza F. Immunocytochemical study with monoclonal antibodies to progesterone receptor in human breast tumors. Cancer Res 1987;47: 2652-2661.
19. Antoniadis K, Spector H. Correlation of estorgenreceptör levels with histology and cytomorphology in human mammary cancer. Am J Clin Pathol 1979;71: 497-503.
20. Barrows GH, Stroupe SB, Riehm JD. Nuclear uptake of a 17 beta-estradiolfluorescein derivative as a marker of estrogen dependence. am J Clin Pathol 1980;73: 330-339.
21. Howovitz JH. Hormon receptors and breast cancer. Hum. Pathol 1981;12(12): 1057-1059.
22. O'connell MD, Said JW. Estrogen receptors in comparison of the dextran coated charcoal, immunfluorecent, and immunoperoxidase tec-nics. Am J Clin Pathol 1983;80: 1-5.
23. Pascal RR, Santensanio G, Sarrell D. Immunohistologic detection of estorgen receptors in paraffin-embedded breast cancer. Correlation with cytosol measurements. Hum Pathol 1986;17: 370-375.
24. Thompson. JA, Flaemen MC, Lougdan SM. Estrogen receptor protein. Am. J. Clin. Pathol. 1980;73: 340-344.
25. Wilbur DC, Willis J, Mooney RA, Estrogen and progesterone receptor detection in archival formalin-fixed, paraffin-embedded tissue from breast carcinoma: A comparison of immunohistochemistry with the dextran coated charcoal assay Modem Pathol. 1992;5: 79-84.
26. Cheng L, Binder SW. Demonstrationof estorgen by monoclonal antibody in formalin-fixed breast tumors. Lab Invest 1989; 64: 1901-1908.
27. Cheng L, Binder SW. Demonstration of estrogen by monoclonal antibody in formalin-fixed breast tumors. Lab Invest 1988;58: 346-353.
28. Holdoway IM, Bowditch F, Bowditch J. Variation in receptor status between primary and metastatic breast cancer. Cancer 1983;52: 479-485.
29. Kern. WH, Hormon receptor levels and aspiration cytology in cancer of the breast. Am J Clin Pathol 1982;78: 847-849.
30. Pertsihuk LP, Eisenberg KB. Immunohistologic location of estorgen receptors in breast cancer with monoclonal antibodies. Cancer 1985;55: 1513-1518.
31. Silfversward C, Gustafsson J. Estrogen receptor concentration in 269 cases of histologically classified human breast cancer. Cancer 1980;45: 2001-2005.
32. Whittliff JL, Steroid-hormone receptors in breast cancer. Cancer 1984;53: 630-643.
33. Navarro MA, Guardia M, Arranz B. ERD5 antigen in breast cancer. J Cancer Res Clin Oncol 1989: 115290-291.

34. Coffey Arnold I, Lewis Katherine M, Brockas Anthony J, Monoclonal antibodies against a component related to soluble estrogen receptor. *Cancer Res* 1985;45: 3686-3693.
35. Shimizu M, Wajima O, Miura M. PAP Immunoperoxidase method demonstrating endogenous estrogen in breast carcinoma. *Cancer* 1983;52: 486-492.
36. Chabon AB, Goldberg JD. Carcinoma of the breast interrelationships among histopathologic features, estrogen receptor activity, and age of the patient. *Hum Pathol*, 1982;14: 368-372.
37. Fisher ER, Redmond CK. Correlation of estrogen receptor and pathologic characteristics of invasive breast cancer. *Cancer* 1980;45: 349-353.
38. Furmanski P, Saunders DE. The prognostic value of estrogen receptor determinations in patient with primary breast cancer. *Cancer* 1980; 46: 2794-2796.
39. Helin HJ, Helle MJ. Immunohistochemical determination of estrogen and progesterone receptors in human breast carcinoma. *Cancer* 1989;63: 1761-1767.
40. Katayama I, Shimizu M. Histochemical demonstration of endogenous estrogen in breast carcinomas : biochemical and clinical correlation. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1984;402: 353-359.
41. Mohammed RH, Lakatua DI, Hans E. Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer. *Cancer* 1986;58: 1076-1081.
42. Masters JRW, Sangster K, Hawkins RA, Shivas AA: Elastosis and oestrogen receptors in human cancer. *Br. J Cancer* 1976;33: 342.
43. Giri DD, Longsdale RN, Clinicopathological significance of intratumoral variations in elastosis grades and oestrogen receptor status of human breast carcinoma *J Pathol* 1987;151: 297-303
44. Glaubitz L.C, Bowen JH. Elastosis in human breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 1984; 108: 27-30.