

Meme karsinomlarında S-100, vimentin, sitokeratin ve HMB-45 ekspresyonu

Sema Hücümenoğlu¹, Fatih Mehmet Avşar², M.Ertuğrul Kafalı³, Evrim Öztürk¹, Gülben Erdem⁴, Şinasi Yılmaz¹, Şenay Yalçın¹

¹SSK Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü, Ankara

²Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi I.Genel Cerrahi Bölümü, Ankara

³Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Konya

⁴SSK İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü, İstanbul

Amaç: Bu çalışmada meme karsinomu olgularında; immün belirleyicilerin ekspresyonu ile tümörlerde histolojik derece ve aksiller lenf nodu metastazı arasındaki korelasyonu araştırmak amaçlanmıştır. **Yöntem:** 32. invaziv duktal karsinom, 1. invaziv papiller karsinom, 1 invaziv lobüler karsinom ve 1 atipik medüller karsinom olmak üzere toplam 35 meme karsinomu olgusu incelenmiştir. Formalinle fikse edilmiş ve parafine gömülmüş dokulardan alınan kesitlere S-100, vimentin, sitokeratin (56 ve 64Kd molekül ağırlığında poliklonal), HMB-45 immünoperoksidaz yöntemi ile immünohistokimyasal boyama yapılmıştır. **Bulgular:** Olgularımızda immünohistokimyasal sonuçların dağılımı şöyledir. S-100 16 olguda (% 45.7), Vimentin 13 olguda (% 37) , Sitokeratin 12 olguda (% 34), HMB-45 12 olguda (% 34) pozitif olarak tespit edilmiştir. Vimentin ekspresyonu ile histolojik derece ve aksiller lenf nodu metastazı arasında korelasyon izlenmemiştir. Sitokeratin ve S-100 pozitifliği ile histolojik dereceler arasında anlamlı bir fark bulunmazken, bu olgularda lenf nodu metastazının daha az olduğu gözlenmiştir (P<0.005). HMB45 + ve – olgularda tümörlerin histolojik dereceleri arasında anlamlı bir fark olmadığı fakat + olgularda aksiller lenf nodu metastazının daha yüksek oranda gözleendiği tespit edilmiştir (P<0.005). **Sonuç:** Vimentin ve S-100 ile ilgili sonuçlarımız literatürle uyumlu olurken , HMB-45 ekspresyonu daha önce bildirilen çalışmalara göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Meme karsinomu, immünohistokimyasal boyalar, S-100, vimentin, sitokeratin , HMB-45

S-100, vimentin, cytokeratin and HMB-45 expression in breast carcinomas

Objective: The aim of this study is to determine the expression of the immunohistochemical markers with respect to the histologic grade and lymph node metastasis in breast carcinomas. **Methods:** We studied 35 cases, distributed as 32 invasive ductal carcinoma, 1 invasive papillary carcinoma, 1 invasive lobular carcinoma and 1 atypical medullary carcinoma. Paraffin sections were immunohistochemically stained with S-100, Vimentin, Sitokeratin (6 and 64 kd M.W, polyclonal) and HMB 45 using immunoperoxidase technique. **Results:** Immunohistochemical results were as follows; S 100 positivity in 16 cases (45,7%) Vimentin positivity in 13 cases (37%) Cytokeratin positivity in 12 cases (34%) and HMB-45 positivity in 12 cases (34%). Vimentin expression exhibited no correlation, between histologic grade and lymph node metastasis. Although there was no significant difference, between Cytokeratin and S-100 positivity with respect to histologic grade. We observed few axillary lymph node metastasis in those cases (P<0.05). We did not observe significant difference between HMB-45 + and – for histologic grade, but in HMB-45 positive cases more axillary lymph node metastasis were evaluated according to negative cases (P<0.05). **Conclusion:** While our results with S-100 and Vimentin were in concordance with the literature, we found higher degree of HMB-45 expression compared to the previous reports.

Key words: Breast carcinoma, immunohistochemical markers, S-100, vimentin, cytokeratin, HMB-45

Genel Tıp Derg 2004;14(4):133-138

Yazışma adresi: Dr.M.Ertuğrul Kafalı, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı Akyokuş, Konya.

e-posta: kafali1405@hotmail.com

Hücre iskeletinin önemli bir kısmını oluşturan sitoplazmik intermediler filament proteinleri 5 sınıfta kategorize edilmektedir (1). Bu proteinler, değişik hücre tipleri ve bunlara uyan tümörlerde eksprese olmaktadır. Sitokeratin genellikle epitelyal hücreler ve karsinomlarda boyanma gösterirken; Vimentin, mezenkimal hücreler, lenfomalar ve kas dışı sarkomlarda izlenmektedir (2). Bununla beraber Vimentin ve Sitokeratinin bir çok epitelyal tümörde beraber eksprese olduğu da bilinmektedir (3-5).

S-100 proteini ilk olarak nöral doku için spesifik olarak kabul edilmiş, nörojenik tümörler ve malign melanom için immünohistokimyasal belirleyici olarak önerilmiştir (6). Daha sonra bu proteinin bir çok dokuda, meme dokusu da dahil geniş bir dağılım gösterdiği ortaya çıkmıştır (7). S-100 proteini normal meme epiteli ve memenin benign lezyonlarında da görülebilmektedir. Bazı çalışmalarda sadece myoepitelyal hücrelerde boyanma olduğu ve bir myoepitelyal belirleyicisi olarak kabul edilebileceği de düşünülmüştür. (7) Nahojimo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise luminal hücrelerde de S-100 protein mevcudiyeti gösterilmiştir (8) İnfiltratif meme karsinomlarında S-100 protein pozitifliği bir çok çalışmada rapor edilmiştir (9,10).

Bu çalışmada meme kanserli olgularda S-100, Vimentin, Sitokeratin ve HMB-45 gibi immün belirleyicilerin ekspresyonu ile tümör evresi aksiler lenf nodu tutulumu arasındaki ilişkinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Yöntem

Çalışmaya 1998-2001 yılları arasında hastanemizin patoloji kliniğine gönderilmiş olan 24-75 yaşları arasındaki (ortalama 49 yaş) 3'ü erkek, 32 si kadın hasta ait operasyon materyalleri dahil edilmiştir. Tüm olgulara, modifiye radikal mastektomi (MRM) uygulanmıştır. Olgulardan 32 tanesi infiltratif duktal karsinom (% 91.4) bir tanesi atipik medüller karsinom, bir tanesi invaziv lobuler karsinom, bir tanesi de papiller karsinom tanısı almıştır.

Karsinom tanısı alan 35 adet olgudan hazırlanan parafin bloğa gömülü örneklerin kesitleri; hematoxilen-eozin, immünohistokimyasal belirleyici olarak da vimentin, S-100, sitokreatin ve HMB-45 immünooperoksidaz tekniği ile boyanmıştır. Kesitler ışık mikroskobunda incelendi. Olguların

aksiller lenf nodu sayısı 3 ila 54 arasında olup, ortalama 14 tane idi. Değerlendirme immünohistokimyasal boyanmanın yaygınlık ve yoğunluğuna göre yarı kantitatif metod olan (+, ++, +++, ++++) değerleri kullanılarak yapıldı.

İmmünohistokimyasal boyanma % 0 ise (-), % 1-10 ise (+), % 11-20 ise ++, >% 20 ise +++ olarak kabul edildi. İmmünohistokimyasal ekspresyonun histolojik derece ve lenf nodu metastazı ile korelasyonu istatistiksel olarak Ki Kare testi ile analiz edildi.

Bulgular

İmmünohistokimyasal olarak değerlendirilen 35 meme karsinomu olgusundaki HMB-45, Sitokeratin, S-100 ve Vimentin ekspresyon sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışmada incelenen bu beş immünohistokimyasal boyamanın sonuçlarının dağılımı karsinom tiplerine göre ise şu şekildedir.

HMB-45 toplam 12 olguda (% 34) eksprese olmuştur. Bu olgulardan 1 tanesi invaziv lobüler, bir tanesi atipik medüller, 10 tanesi invaziv duktal karsinomdan oluşmaktadır. 23 olguda ise HMB-45 açısından boyanma olmamıştır. Bu değerlendirme ile HMB-45 ekspresyonu ile histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon yoktur ($P>0.05$).

HMB-45 ekspresyonu izlenen 10 invaziv duktal karsinom olgusunun, 4 tanesinde histolojik Grade 1, beş tanesinde Grade 2 ve bir tanesinde Grade 3'dür (Tablo 2).

HMB45 ekspresyonu izlenen olguların 9 tanesinde (% 90) lenf nodu metastazı mevcutken, ekspresyon göstermeyen 23 olgunun 14 tanesinde (% 61) lenf nodu metastazı vardır. Buna göre HMB-45 ekspresyonu gösteren olgularda lenf nodu metastazının daha yüksek olduğu görülmüştür ($P<0.05$).

Diğer taraftan Vimentin toplam 13 olguda eksprese olmuştur. Bunlardan 1 tanesi atipik medüller, 12 tanesi invaziv duktal karsinomdu. Ekspresyon izlenmeyen 22 olgunun 20 tanesi invaziv duktal, 1 tanesi invaziv lobüler ve sonuncusun tanısı ise papiller karsinomdu.

Vimentin antikoru ile boyanma gösteren invaziv duktal karsinom olgularının 6 tanesi Grade1, 5 Grade 2, 1 tanesi ise Grade 3 şeklindeydi. (Tablo 2)

Tablo 1. 35 Olgudaki HMB-45, sitokeratin, vimentin ve S-100 ekspresyon sonuçları

Ekspresyon Grade	HMB45	Sitokeratin	S-100	Vimentin
0	23 (% 65,7)	24 (% 68,5)	19 (% 54,2)	22 (%62,8)
+	10 (% 28,5)	10 (% 28,5)	15 (% 42,8)	13 (%37,1)
++	2 (% 5,7)	1 (% 2,8)	1 (% 2,8)	0
+++	0	0	0	0

(-) : ekspresyon izlenmedi

(+) : %1-10 ekspresyon izlendi

(++) : %10-20 arası ekspresyon izlendi.

(+++): >20 ekspresyon izlendi

Tablo2. HMB-45, vimentin, sitokeratin ve S-100 ekspresyon sonuçları ve derecelendirme

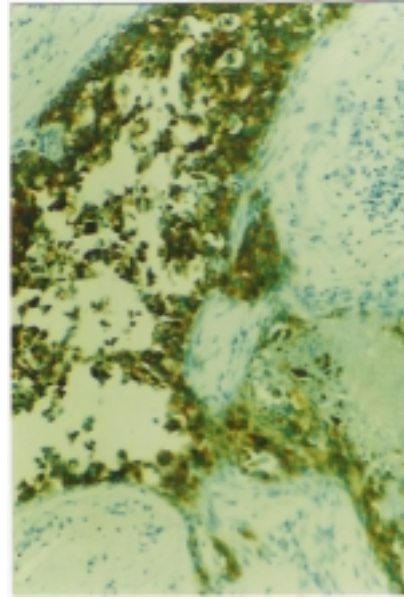
Parametreler	Grade I		Grade II		Grade III	
	+	-	+	-	+	-
HMB-45	4	7	5	13	1	2
Vimentin	6	5	5	13	1	2
Sitokeratin	2	9	7	11	1	1
S-100	4	7	9	9	1	1

Vimentin ekspresyonu gösteren 3 olguda lenf nodu metastazı izlenmiş, oysa Vimentin negatif (-) olguların 15 inde de lenf nodu metastazı belirlenmiştir.

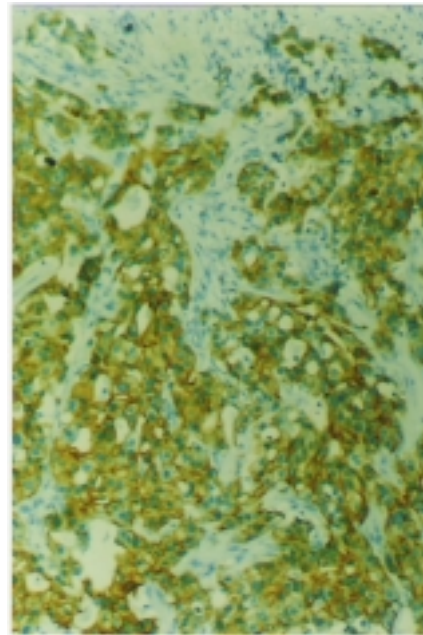
Sitokeratin toplam 12 olguda (% 34) eksprese olmuştur. 23 olguda (% 66) boyanma izlenmemiştir. Ekspresyon izlenen 12 olgunun 1 tanesi atipik medüller, 11 tanesi invaziv duktal karsinomdur. Ekspresyon gösteren 11 invaziv duktal karsinoma olgusunun 2 tanesi Grade 1, 7 tanesi Grade 2, 2 tanesi Grade 3 olgulardır (Tablo 2). Bu bulgularla sitokeratin ekspresyonu ile histolojik derece arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$).

Sitokeratin ekspresyonu olan olgularda lenf nodu metastazı daha az görülmüştür ($P<0.05$).

S-100 toplam 16 olguda eksprese olmuştur. 19 olguda ise S-100 ile boyanma olmamıştır. S-100 ekspresyonu gösteren olguların 15 tanesi invaziv

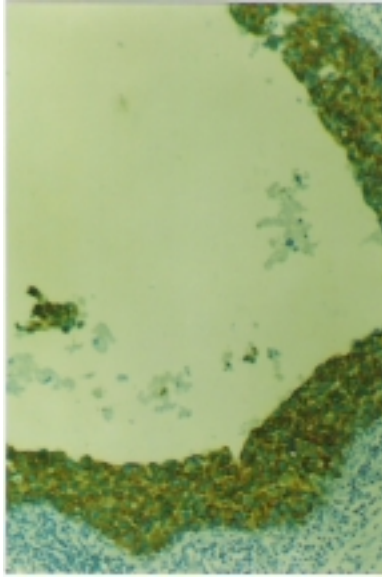


Şekil 1. Bir invaziv duktal karsinom olgusu. S-100 immünoaktivitesi '+' olarak izlenmektedir. (immünohistokimya S 100x100)

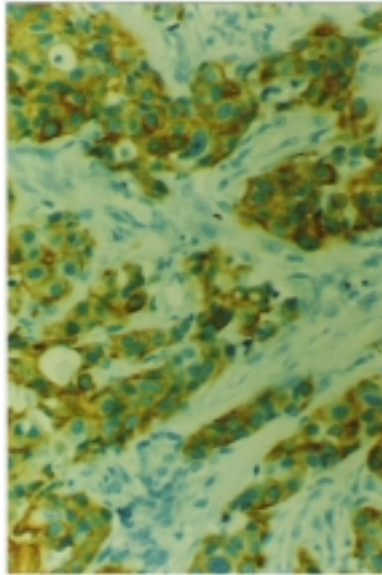


Şekil 2. Başka bir meme karsinom olgusunda vimentin immünoaktivitesi '+' olarak izlenmektedir (immünohistokimya – vimentin x 200)

duktal karsinom, bir tanesi atipik medüller karsinomdur. 15 invaziv duktal karsinom olgusunun 4 tanesi Grade 1, 9 tanesi Grade 2 ve 2 tanesi Grade 3'dür (Tablo 2).



Şekil 3. HM: 45 ' + ' olarak pozitif boyanma göstermektedir (immünohistokimya HMB45 x100)



Şekil 4. İnvaziv duktal karsinom olgusunda sitokreatin '++' olarak immünoreaktivite göstermektedir (immünohistokimya- sitokreatin x 400)

S-100 boyanma pozitif olan 16 olgunun 7 tanesinde lenf nodu metastazı mevcuttur. Oysa S-100 ile boyanma göstermeyen 19 olgunun 15 tanesinde lenf nodu metastazı izlenmiştir.

Tartışma

Bu çalışmada S-100 proteini ekspresyonu % 45.7 oranında bulunmuştur. Literatürde belirtilen oran % 10 ile % 85 arasında değişmektedir. (9-13). Gillet ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada (12) % 44 oranında ekspresyon bulunmuşken diğer taraftan Schmit ve arkadaşları ise (14) 159 serilik çalışmada 2 olguda lokal ekspresyon izlemişlerdir. S-100 ekspresyon sonuçlarımız genel literatür ile uyumlu iken, histolojik dereceler arasında bir fark bulunamamıştır.

Sushima ve arkadaşları (15) 95 olguluk serilerinin 54'ünde (% 57) S-100 pozitifliği saptamışlar ve S-100 pozitif olguların düşük histolojik derece gösterdiğini belirtmişlerdir. Bizim olgularımızda ise histolojik derece ile S-100 ekspresyonu arasında anlamlı bir korelasyon izlenmemiştir. Yine Schmit ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki (14) Paget's hasta grubunda ise S-100 ekspresyonu % 18 gibi küçük bir oranda bulunmuştur.

Glasgow ve arkadaşları (16) immunohistokimyasal olarak S-100 protein ekspresyonunun, Paget's hastalığının Pageotid Malign Melanomdan ayırmada kullanılabileceğini de ifade etmişlerdir.

Drier ve arkadaşları (17) 400 kötü diferansiye meme karsinomunda S-100 ekspresyonunu % 12 oranında pozitif (+) bulmuşlardır. Bu oranı yüksek oluşuna sebep olarak da; aynı anda görülen S-100 pozitif olan tükürük ve ter bezi karsinomlarını içermesine bağlamışlardır.

S-100 mezenşimal tümörlerin ayırıcı tanısında özellikle panel içinde uygulandığında oldukça yararlı bir immün belirleyicidir (15). Bazı araştırmacılar karsinom metastazında S-100 reaktivitesinin değerlerinin, primer karsinomu belirlemede yardımcı olabileceğini ileri sürmektedir (15,17).

Değişik çalışmalardaki S-100 ekspresyonunun farklı olması, doku fiksasyon materyallerinin farklı oluşuna veya immunohistokimyasal teknik değişikliklerine bağlı olabilir (18-20).

Essa ve arkadaşlarının yapmış olduğu 58 olguluk bir çalışmada (21) % 32 oranında Vimentin pozitifliği saptanmış Grade III olguların % 50, Grade II olguların % 24'ünde, Grade I olguların % 0'ında vimentin pozitif bulunmuştur. Dolayısıyla Vimentin daha çok memenin medüller karsinomlarında ve

yüksek histolojik Gradeli duktal karsinomda pozitif olarak görülürken lobuler karsinomda negatif olarak görülmektedir (21).

Çalışmamızda Vimentin ekspresyonu 13 olguda (% 37) izlenmiştir. Aynı anda atipik medüller karsinomda pozitif (+), lobuler karsinomda ise negatif (-) olarak izlenmiştir ve Vimentin pozitif (+) olgularımızın çoğunluğu Grade I ve II'dir. Heatley ve arkadaşları (22) Vimentinin formalin ile fikse dokularda, frozen dokularına oranla daha az pozitif olduğunu iddia etmişlerdir. Formaldehitin proteinleri değiştirdiğini ve doku antijenlerini maskeleydiğini söylemişlerdir. Yine aynı çalışmada (22) Vimentin ekspresyonunun, tümör histolojik Grade ve büyüklüğü ile arttığını ve yine metastatik lenf nodu sayısı ile de arttığını ifade etmişlerdir. Oysa bu çalışmada vimentin ekspresyonu ile histolojik Grade ve aksiler metastatik lenf nodu sayısı arasında bir korelasyon izlenmemiştir.

Üç ayrı çalışmada Vimentinin yüksek proliferasyon hızı olan tümörlerde, EGF (epidermal growth faktör) ile ilişkili olduğunu ve hormon bağımsız olduğunu gösterilmiştir (23-25).

Toi ve arkadaşlarının (25) çalışmış olduğu seride ise, tümör hücrelerinin % 10'undan daha azında boyanma saptanmış ve Vimentin ekspresyonu ile histolojik derece ve lenf nodu arasında korelasyon izlenmediği ifade edilmiştir.

Schaller ve arkadaşları (26) meme karsinomlarında Keratin-18 protein ekspresyonunun güçlü metastatik hücre kültürlerinde düşük, zayıf metastazı gösteren hücre kültürlerinde yüksek bulmuşlardır. Aynı araştırmacı grup 8 yıllık izlem dataları sonucunda 22 hastada (% 16,4) pozitif boyanma olduğunu göstermişlerdir. Keratin-18 pozitif grupta mortalite oranı % 4,5 iken, Keratin-18 negatif grupta ise mortalite oranı % 44,6 bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda Sitokeratin % 34 oranında pozitif (+) bulunmuştur. Pozitif bulunan bu olgularda, aksiler lenf nodu metastazı daha az bulunmuştur. Lenf nodu metastazının, negatif (-) prognostik bir faktör olarak düşündüğümüzde sitokeratin pozitif olguların prognozunun daha iyi olabileceği ileri sürülebilir (26). Literatürle uyum içinde olan bir başka çalışmada (27) ise Keratin-18 ile pozitif boyanma oranı (105/134) % 78'dir.

Bizim çalışmamızda HMB-45 12 olguda (% 34) pozitif bulunmuştur. Daha önceki çalışmalara baktığımızda HBM-45 pozitifliğinin oldukça düşük olduğunu görüyoruz. Örneğin Bonetti ve arkadaşlarının (28) 100 olguyu dahil ettikleri bir araştırmada yalnızca 2 olguda (% 2) pozitiflik izlenmiştir. Vimentin ile S-100 sonuçlarımız genelde literatürdeki çalışmalarla uyum göstermektedir. Oysa HMB-45 pozitifliği bu çalışmada daha öncekilere göre oldukça yüksek bulunmuştur. Bunu bizim serimizdeki meme karsinomu olgularındaki tümör hücrelerinde melanositik hücre diferansiasyonunu yüksek olabileceğine bağlamaktayız.

Sonuç olarak bulgularımıza dayanarak Vimentin ekspresyonunun meme kanserinde tümör evresi ile ilişkili olmadığını söyleyebiliriz. S-100 ve Sitokeratin ekspresyonunun aksiler lenfadenopati (LAP) varlığı ile ters orantılı olması bu parametrelerin iyi prognoza işaret edebileceği söylenebilir.

HMB-45 pozitifliği ile aksiler LAP varlığı paralellik göstermektedir. Bu bulgu da negatif prognostik faktör olarak yorumlanabilir.

Kaynaklar

1. Leon AS, Gilham P, Milios J. Sitokeratin and vimentin, intermediate filament pros in benign and neoplastik prostotik epitelium. Histopathology 1988;13:435-42.
2. Altransbeser M, Dralle H, Weber K, Osborn. Needle aspirates by means of monoclonal antibodies. Acta Cytol 1986;30:214-24.
3. Osborn M, Weber K. Biology of diease tumour diagnosis by intermediate filament typing a novel tool for surgical pathology. Lab Invest 1983;48:372-93.
4. Acs G, Simpson JF, Bleiweiss IJ, Hugh J, Reynolds C, Olson S, Page DL. Microglandular adenosis with transition into adenoid cystic carcinoma of the breast. Am J Surg Pathol 2003;27:1052-60.
5. Ryska A, Reynolds C, Keeney GL. Benign tumors of the breast with multinucleated stromal giant cells. Immunohistochemical analysis of six cases and review of the literature. Virchows Arch 2001;439:768-75.
6. Yombe H, İshii Y, Tabuchi K, Isabe T, Kikuchi K. Detection of S-100 protein in melanocytic and neurogenic cutaneous tumors. Arch Dermatol Res 1984; 276:160-4.
7. Egan MJ, Neva J, Crocher J, Collard M. İmmunohistokimyasal localization of S-100 protein in benign and malignant conditons of breast. Arch Pathol Lab Med 1987;111:28-31.
8. Nahojimo T, Watanabe S, Sato Y, Kaveya T, Hirota T, Shimosato Y. Immunoperoxidase study of S-100 protein distribution in normal and neoplastic tissues. Am J Surg Pathol 1982;6:715-27.

9. Duarakanath S, Lee AKC, Delellis RA, Silverman ML, Frasca L, Walfe HJ. S-100 protein positivity in breast carcinomas: A potential pitfall in diagnostic immunohistochemistry. *Hum Pathol* 1987;18:1144-8.
10. Hirayama K, Honda Y, Sako T, Okamoto M, Tsunoda N, Tagami M, et al. Invasive ductal carcinoma of the mammary gland in a mare. *Vet Pathol* 2003;40:86-91.
11. Lunde S, Nesland JM, Holu R, Johannessen JV. Breast carcinomas with protein S-100 immunoreactivity: An immunohistochemical and ultrastructural study. *Pathol Res Proct* 1987;182: 627-62.
12. Gillet CE, Bobrow LG, Millis RR. S-100 protein in human mammary tissue-immunoreactivity in breast carcinoma, including Paget's Disease of the nipple, and value as a marker of myoepithelial cells. *J Pathol* 1990;160:19-24.
13. Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Kameye T, Hirota T, Shimosato Y. An immunoperoxidase study of S-100 protein distribution in normal and neoplastic tissues. *Am Surg Pathol* 1982;6:715-727.
14. Schmit FC, Bacchi CE. S-100 protein: Is it useful as a tumour marker in diagnostic immunohistochemistry? *Histopathology* 1989;15:281-8.
15. Mat Sushima S, Mori M, Adachi Y, Mutsukuma A, Sugimachi K. S-100 protein positive human breast carcinomas: An immunohistochemical study. *T Surg Oncol* 1994;5:108-13.
16. Glasgow BJ, Wen D.R, Al-Jitawi S, Cochran AJ. Antibody to S-100 protein aids the separation of pagetoid melanoma from mammary and extramammary Paget's disease. *J Cutan Pathol* 1989;14:223-6.
17. Drier JK, Swanson PE, Cherwitz DL, Wick MR. S-100 protein immunoreactivity in poorly differentiated carcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 1987;3:447-52.
18. Nakamura S, Ishida-Yamamoto A, Takahashi H, Hashimoto Y, Yokoo H, Iizuka H. Pigmented Paget's disease of the male breast: Report of a case. *Dermatology*. 2001;202:134-7.
19. Strbac M, Popovic L, Jovic M, Ilic S, Dimitrijevic J. Breast carcinoma with melanocytic differentiation. *Vojnosanit Pregl* 2002;59(6 Suppl):99-102.
20. Brasanac D, Boricic I, Todorovic V. Epidermotropic metastases from breast carcinoma showing different clinical and histopathological features on the trunk and on the scalp in a single patient. *J Cutan Pathol* 2003;30:641-6.
21. Essa TM, El Tatawi FA, Hamdi KN, Arafawa. Vimentin expression in different types of breast carcinoma: An immunohistochemical study. *J Egypt Soc Parasitol* 1996;26: 433-42.
22. Heatley M, Whiteside C, Maxwell P, Toner P. Vimentin expression in benign and malignant breast epithelium. *J Clin Pathol* 1993;46:441-5.
23. Athanassiadou P, Lazaris D, Petrakak P, Keramopoulos K, Aravantionos D. Vimentin and alfa fetoprotein expirisson in breast cancer smears: Relationship with various prognostic factors. *Cancer Detection Prev* 1997;21:207-12.
24. Domagala W, Lasota J, Barthowiak J, Weber K, Osborn M. Vimentin is preferentially expressed in human breast carcinomas with low estrogen receptor and high Ki67 growth fraction. *Am J Pathol* 1990;136:219-27.
25. Toi M, Nakamura T, Mukaida H, Relationship between epidermal growth factor receptor status and various prognostic factors in human breast cancer. *Cancer* 1980;65:1980-4.
26. Schaller G, Fuchs I, Pritze W, Ebert A, Herfts B, Pantel K, et al. Elevated Keratin-18 protein expression indicates a favorable prognosis in patents with breast cancer. *Clinical Cancer Res* 1996;2:1879-85.
27. Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation: Expression profiles in epithelial and non-epithelial tumors. New York: Gustav Fischer; 1993. pp.90-6.
28. Bonetti F, Colombari R, Menfrin E, Zamboni G, Mortifnani G, Mombello A, Chilosi M. Breast carcinoma with positive results for melanoma marker (MHB-45) immunoreactivity in normal and neoplastic breast. *A J Clin Pathol* 1989:491-5.