

بررسی وضعیت بیان ژن Bcl-2 در سرطان اولیه پستان و ارتباط آن با برخی عوامل مؤثر در پیش آگهی

محمد رضا جلالی ندوشن⁺ (M.D.) *، علی دواتی^{**} (M.D.)، اعظم توکلی فر^{***} (M.D.)

چکیده

سابقه و هدف: سرطان پستان شایع ترین بدخیمی در زنان محسوب می گردد. در طی ۵۰ سال گذشته میزان بروز سرطان پستان به طور قابل توجهی در ایالات متحده افزایش یافته؛ به طوری که تقریباً از هر ۸ زن یک نفر مبتلا می شود. ظهور bcl2 در بیش از نیمی از سرطان های پستان دیده شده است. ظهور بیش از حد Bcl-2 با سرطانی شدن و کاهش مرگ برنامه ریزی شده (Apoptosis) در پاسخ به مسمومیت های سلولی مرتبط می باشد. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی ظهور ژن bcl2 در سرطان پستان و ارتباط آن با درجه بدخیمی، مرحله تومور، و درگیری گره های لنفاوی می باشد.

مواد و روش ها: این مطالعه به روش مقطعی بر روی ۷۵ بیمار مبتلا به سرطان پستان بیمارستان شهید مصطفی خمینی (۱۳۷۹-۸۳) انجام گرفت. پس از آماده سازی، از نمونه، برش بافتی گرفته شد. یکی از برش های بافتی تومور و گره های لنفاوی با روش هماتوکیسین و اتوزین، رنگ آمیزی گردید. لام دیگری به روش ایمنی-بافتی-شیمیایی با آنتی بادی پلی کلونال از نظر bcl2 بررسی شد. تمامی لام ها توسط آسیب شناس واحد، مورد بررسی قرار گرفت. داده ها با استفاده از آزمون مربع کای، من ویتنی و توسط نرم افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: میانگین سنی افراد مورد مطالعه ۵۴/۰۱ و با انحراف معیار ۱۲/۵۲ سال بود. ۶۹/۳ درصد بیماران درگیری غدد لنفاوی داشتند، ۴۱/۳ درصد نمونه ها bcl2 مثبت بودند. در این بررسی بین ظهور bcl2 و مرحله بندی تومور (stage) و نیز درگیری غدد لنفاوی ارتباط معنی داری یافت نشد. تنها بین ظهور bcl2 و درجه بدخیمی (grade) ارتباط معنی داری مشاهده گردید ($P < 0.006$).

استنتاج: به نظر می رسد، bcl2 عامل مؤثری در پیش آگهی سرطان پستان می باشد. جهت به دست آوردن نتایج قطعی و تعیین نقش bcl2 در پیش آگهی سرطان پستان بررسی همزمان سایر نشانگرهای تومور، ارزشمند می باشد.

واژه های کلیدی: سرطان پستان، bcl2، درجه بدخیمی، مرحله تومور

* متخصص پاتولوژی، عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی شاهد

E_mail : Jalali @ shahed.ac.ir

+ ✉ **مؤلف مسئول:** تهران- بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالله زاده، پلاک ۲۹، دانشکده پزشکی شاهد

** متخصص پزشکی اجتماعی، عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی شاهد

*** دانش آموخته دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد

تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۱۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۵/۹/۱۹ تاریخ تصویب: ۸۶/۲/۱۲

مقدمه

سرطان یکی از بیماری‌های مزمن غیر واگیر می باشد که سلامت افراد خانواده را به خطر انداخته و بر جسم و روان، وضعیت اقتصادی و اجتماعی فرد تأثیر می گذارد. شیوع بالا، شدت بدخیمی، عوارض و امکان اعمال مداخله ایجاب می کند تا در مورد سرطان پستان اقدام های اساسی و موثر صورت گیرد (۱).

برای زنان، هیچ سرطانی نگران کننده تر از سرطان پستان نیست. سرطان پستان، شایع ترین بدخیمی در زنان در سراسر دنیا و شایع ترین علت مرگ ناشی از سرطان در زنان ۴۰-۵۵ سال است (۲). طی ۵۰ سال گذشته میزان بروز سرطان پستان به طور قابل توجهی در ایالات متحده افزایش یافته که تقریباً از هر ۸ زن یک نفر مبتلا می گردد (۱۲/۵ درصد). میزان مرگ و میر در سال های ۹۷-۱۹۹۳ کاهش یافته است که به علت موفقیت در تشخیص و درمان زودرس بوده است (۳).

براساس آخرین گزارش کشوری، سرطان پستان در ایران، سومین سرطان شایع در زنان و مردان می باشد (۱۰ درصد کل سرطان) (۴). بر خلاف کشورهای غربی به نظر می رسد سن شایع آن بین ۳۵ تا ۴۴ سالگی باشد (۱).

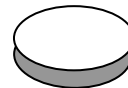
از آنجا که سیر بالینی سرطان اولیه پستان در هر بیمار، متفاوت از سایر مبتلایان است، تعیین سرنوشت نهایی هر بیمار مشخص نیست و شناخت عواملی که بتوانند به طور مستقیم یا غیرمستقیم، سرنوشت نهایی بیماران را پیش بینی کنند، در تصمیم گیری بالینی و انتخاب درمان، مفید است. مطالعات دو دهه اخیر نشان دادند که مکانیسم های مختلفی در شروع و پیشرفت سرطان پستان در سطح بافتی نقش دارند. از جمله این مکانیسم ها، نقش Bcl2 می باشد.

Bcl2 یک پروتئین میتوکندریال را رمزگذاری می کند که از مرگ برنامه ریزی شده سلول های طبیعی

جلوگیری می کند (۲). این پروتئین به وسیله روش های ایمنی-بافتی-شیمیایی قابل بررسی می باشد. ظهور Bcl-2 در بیش از نیمی از سرطان های پستان دیده شده است. برخی مطالعات نشان داده که Bcl-2 در سرطان مهاجم پستان در مقایسه با پستان طبیعی و ضایعات پیش تهاجمی پستان کاهش می یابد و Bcl-2 به عنوان مهار کننده مرگ برنامه ریزی شده سلول باید با تومورهای با تهاجم بالا و مقاوم به درمان هورمونی مسمومیت سلولی مرتبط باشد. همچنین ظهور بیش از حد Bcl-2 با سرطانی شدن و کاهش مرگ برنامه ریزی شده در پاسخ به مسمومیت های سلولی مرتبط می باشد.

در مطالعات مختلف نتایج گوناگونی از نقش Bcl-2 در پیش آگهی سرطان پستان به دست آمده است؛ به عنوان مثال در مطالعه ای که توسط ویلار (Villar) در سال ۲۰۰۱ روی ۱۱۶ نمونه سرطان پستان با روش ایمنی-بافتی-شیمیایی انجام گردید Bcl-2 به عنوان یک عامل مؤثر در پیش آگهی سرطان پستان اولیه شناخته شد (۵). همچنین مطالعه ای که توسط کراگرون (Krogeron) در آلمان (۲۰۰۶) بر روی ۳۰۲ نمونه سرطان پستان با درگیری بیش از ۱۰ گره لنفاوی انجام گردید، نشان داد که bcl2 یک عامل پیش آگهی مثبت برای بقا می باشد ولی فاکتور پیش گویی کننده در سرطان اولیه پستان نمی باشد (۶).

این خصوصیات پیشنهاد می کند Bcl-2 می تواند نقش تعیین کننده ای در پیش آگهی سرطان پستان داشته باشد. لذا این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ظهور ژن Bcl-2 و رابطه آن با بعضی از عوامل مؤثر در پیش آگهی نظیر مرحله تومور- درگیری غدد لنفاوی و درجه بدخیمی طراحی و اجرا گردید.



مواد و روش ها

این مطالعه از نوع مقطعی (Cross-sectional) و دارای جنبه‌های توصیفی-تحلیلی بود که بر روی ۷۵ بیمار پستان برداری شده (Mastectomy) مبتلا به سرطان اولیه پستان که از تاریخ ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۳ به مرکز پزشکی آموزشی-درمانی شهید مصطفی خمینی مراجعه نمودند، صورت پذیرفت. ابزار گردآوری اطلاعات، چک لیست بود و اطلاعات دموگرافیک شامل سن و جنس از پرونده بیماران استخراج گردید. ابتدا نمونه بافت‌ها برش داده شد و مشخصات ماکروسکوپی بویژه اندازه تومور و تعداد گره‌های لنفوی جدا شده، تعیین گردید. پس از تثبیت (Fixation) نمونه‌ها با فرمالین بافره ۱۰ درصد، از تومور و گره‌های لنفوی برش داده شد و آماده‌سازی گردید.

برش‌های بافتی تومور و همچنین برش بافتی از گره‌های لنفوی با هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی گردید و نوع تومور، درجه بدخیمی براساس معیارهای اصلاح شده ریچاردسون-بلوم ناتینگهام (Natingham Modification of Bloom-Richardson) در سه درجه I و II و III و تعداد گره‌های لنفوی درگیر، با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ئوزین و بر اساس روش استاندارد انجام شده در بخش‌های آسیب شناسی تعیین گردید و به وسیله ذره بین نوری بررسی شد.

برش تهیه شده به وسیله دستوالعمل اسباب (Kit) مورد استفاده شرکت DAKO جهت بررسی ظهور ژن Bcl-2 به روش ایمنی-بافتی-شیمیایی رنگ‌آمیزی گردید و به وسیله ذره‌بین نوری از نظر مثبت یا منفی بودن این نشانگر بررسی گردید. شایان ذکر آن‌که تمامی لام‌ها توسط یک آسیب‌شناس مورد بررسی قرار گرفت.

پس از تکمیل برگه‌های اطلاعاتی داده‌ها وارد نرم‌افزار آماری SPSS گردید. در قسمت توصیفی مطالعه

از بیان درصد، و در قسمت تحلیلی با استفاده از آزمون مربع کای، من ویتنی و سایر آزمون‌های مرتبط داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

این مطالعه، بر روی ۷۵ بیمار مبتلا به سرطان اولیه پستان انجام گرفت که همه آنها مؤنث بودند.

میانگین سنی افراد مورد مطالعه ۵۴/۰۱ و با انحراف معیار ۱۲/۵۲ سال بود و جوان‌ترین بیمار ۲۷ سال و مسن‌ترین آنان ۸۱ سال داشت.

در بررسی صورت گرفته براساس درگیری غدد لنفوی، ۵۲ نفر (۶۹/۳ درصد) درگیری غدد لنفوی داشتند و ۲۳ نفر (۳۰/۷ درصد) درگیری غدد لنفوی نداشتند. ضمن آنکه ۱ مورد با ۱۲ غده لنفوی درگیر بالاترین میزان درگیری غدد لنفوی را داشت.

در بررسی صورت گرفته براساس مرحله‌بندی (Stage)، ۴۴ نفر از بیماران در Stage II قرار داشتند که بیش‌ترین فراوانی را داشت در مرحله بعدی نمونه‌ها از نظر مرحله‌بندی (grade) تحت مطالعه قرار گرفتند، بیش‌تر افراد تحت مطالعه در grade III (۴۲/۷ درصد) قرار داشتند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: فراوانی بیماران مبتلا به سرطان اولیه پستان براساس

مرحله بندی تومور و درجه بدخیمی	
مرحله و درجه بدخیمی تومور	فراوانی (درصد)
مرحله تومور	
۱	۲۲ (۲۹/۳)
۲	۴۴ (۵۸/۷)
۳	۹ (۱۲)
جمع	۷۵ (۱۰۰)
درجه بدخیمی	
۱	۱۳ (۱۷/۳)
۲	۳۰ (۴۰)
۳	۳۲ (۴۲/۷)
جمع	۷۵ (۱۰۰)

جدول شماره ۴: فراوانی Bcl-2 براساس Grade تومور

کل	Bcl-2		درجه بدخیمی
	مثبت	منفی	
۱۳	۱	۱۲	۱
۳۰	۱۲	۱۸	۲
۳۲	۱۸	۱۴	۳
۷۵	۳۱	۴۴	کل

در بررسی صورت گرفته براساس وضعیت Bcl-2، ۴۴ نفر (۵۸/۷ درصد) فاقد این نشانگر تومور بودند و ۳۱ نفر (۴۱/۳ درصد) از نظر Bcl-2 مثبت بودند. جدول شماره ۲ وضعیت Bcl-2 را نسبت به درگیری غدد لنفاوی نشان می‌دهد.

جدول شماره ۲: فراوانی Bcl-2 براساس غدد لنفاوی درگیر

کل	درگیری غدد لنفاوی		Bcl-2
	ندارد	دارد	
۳۱	۹	۲۲	دارد
۴۴	۱۴	۳۰	ندارد
۷۵	۲۳	۵۲	کل

در تحلیل انجام شده بین bcl-2 و درگیری غدد لنفاوی ارتباط معنی‌داری یافت نشد. همچنین بین bcl-2 و تعداد غدد لنفاوی درگیر نیز ارتباط معنی‌داری یافت نشد.

همچنین بین bcl-2 و stage ارتباط معنی‌داری یافت نگردید. جدول شماره ۳ وضعیت Bcl-2 را نسبت به مرحله (stage) تومور نشان می‌دهد.

جدول شماره ۳: فراوانی bcl-2 براساس stage تومور

مرحله تومور	Bcl-2		کل
	مثبت	منفی	
۱	۹	۱۳	۲۲
۲	۱۶	۲۸	۴۴
۳	۶	۳	۹
کل	۳۱	۴۴	۷۵

نهایتاً در تحلیل صورت گرفته تنها بین bcl-2 و درجه‌بندی (grade) ارتباط معنی‌داری مشاهده گردید ($P < 0.006$) به طوری که افرادی که در grade بالاتری قرار داشتند، احتمال این که bcl-2 در آنها مثبت باشد، بیش‌تر بود. جدول شماره ۴ وضعیت Bcl-2 را نسبت به grade تومور نشان می‌دهد.

بحث

همان‌طور که ذکر گردید مطالعه ما، بر روی ۷۵ نمونه سرطان مجاری پستان انجام گردید که ظهور bcl2 در ۴۱/۳ درصد از نمونه‌ها مثبت گردید. در مورد ظهور bcl2 در سرطان پستان، در داخل کشور مطالعاتی صورت نگرفته است ولی در مطالعات خارج از کشور میزان مثبت شدن bcl2 در بیش از نیمی از نمونه‌ها گزارش گردیده که شاید بیش‌تر بودن حجم نمونه‌ها در آن مطالعه‌ها و شرایط جغرافیایی و نژادی متفاوت، عامل این یافته باشد.

سیلور استرینی (Silvestrini) و همکارانش در سال ۱۹۹۴ بر روی ۲۸۳ نمونه کارسینوم پستان بدون درگیری غدد لنفاوی مطالعه‌ای انجام دادند (۷) و به این نتیجه دست یافتند که bcl2 با بقاء کلی و عدم عود ۶ ساله وابسته به پروتئین P53 همراه می‌باشد. مطالعه ما بر روی ۷۵ نفر که بیش‌تر آن‌ها درگیری غدد لنفاوی داشتند، انجام گردید. با توجه به این که درگیری غدد لنفاوی عامل مؤثری در پیش‌آگهی سرطان پستان می‌باشد، نمی‌توان در مورد یافته‌های این دو مطالعه، قضاوتی انجام داد.

گاسپارینی (Gasparini) در سال (۱۹۹۵) در ایتالیا مطالعه‌ای با روش ایمنی-بافتی-شیمیایی بر روی ۱۸۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان اولیه‌ای که درگیری غدد لنفاوی داشتند، انجام داد (۸). این بیماران طی یک دوره ۶۳ ماهه پی‌گیری شدند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد که بین bcl2 و درگیری غدد لنفاوی ارتباطی وجود ندارد و



گروهی که bcl2 مثبت هستند، پیش آگهی بهتر و بقاء ۵ ساله بدون عود دارند.

در مطالعه حاضر نیز بین bcl2 و درگیری غدد لنفاوی ارتباطی یافت نشد و فقط بین درجه بدخیمی تومور و bcl2 ارتباط وجود داشت. چون مطالعه آنها همراه با یک پی گیری طولانی مدت بود، شاید بتوان گفت که بهترین عامل مؤثر در تعیین پیش آگهی، پی گیری بیماران می باشد.

لی (Lee) در سال ۱۹۹۶ مطالعه ای روی ۱۰۱ بیمار مبتلا به سرطان مجاری پستان انجام داد (۹) و به این نتیجه دست یافت که درصد مثبت شدن bcl2 در درجات پایین تر بدخیمی، بیش تر می باشد و bcl2 می تواند با عوامل تعیین کننده پیش آگهی خوب همراه باشد و جهش P53 می تواند زمینه ای برای عملکرد bcl2 در تومورهای با تمایز بد باشد. ولی در مطالعه ما درصد مثبت شدن bcl2 در درجات بالاتر بدخیمی، بیش تر بود. به نظر می رسد عدم مطالعه ما بر روی جهش P53 منجر به این نتیجه گیری شده باشد.

مطالعه ای که توسط جانسن (Jansen) در سال ۱۹۹۸ در هلند بر روی ۳۴۵ بیمار مبتلا به سرطان پستان با پی گیری ۱۰ ساله انجام گردید (۱۰). نشان داد که bcl2 در تعیین پیش آگهی نقش ندارد. ما در مطالعه خود به دلیل ارتباطی که بین bcl2 و درجه بدخیمی پیدا کردیم، دریافتیم که bcl2 از عوامل مؤثر در تعیین پیش آگهی است. شاید دلیل این اختلاف این باشد که تحقیق آنها بر روی تعداد بیش تری از بیماران و با پی گیری طولانی مدت ۱۰ ساله انجام شده و آنها عوامل دیگری را نیز مورد بررسی قرار دادند.

در مطالعه دیگری که در سال ۱۹۹۸ در ایتالیا بر روی ۲۳۹ بیمار مبتلا به سرطان پستان انجام شد (۱۱) و بیماران به طور متوسط ۷۹ ماه (۱۱ تا ۱۴۰ ماه) پی گیری شدند، یافته های بررسی نشان داد که bcl2 بادرگیری

غدد لنفاوی ارتباط نداشته ولی با درجه بدخیمی تومور ارتباط دارد که با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی دارد. به طوری که درصد مثبت شدن bcl2 در تومورهای با درجات بالاتر، بیش تر می باشد.

باید در نظر داشت که مطالعه آنها یک مطالعه آینده نگر با پی گیری طولانی مدت بوده و آنها نشانگرهای دیگر را نیز بررسی کرده بودند.

مطالعه ای که توسط یانگ (Yang) در چین (۲۰۰۰) بر روی ۸۵ بیمار مبتلا به سرطان پستان با روش ایمنی-بافتی-شیمیایی انجام گردید (۱۲). نشان داد، نمونه هایی که در درجات پایین تری قرار داشتند از لحاظ bcl2 درصد بیش تری را به خود اختصاص داده بودند. از آن جایی که در بررسی آنها روش انجام تحقیق و تعداد نمونه ها همانند مطالعه ما بوده، به نظر می رسد تفاوت های نژادی علت این اختلاف بوده باشد که نیاز به بررسی بیش تری دارد.

همچنین در مطالعه ای که توسط پارک (Park) در سال ۲۰۰۲ در کره بر روی ۱۱ بیمار مبتلا به سرطان مجاری پستان درجا و ۴۴ بیمار مبتلا به سرطان مهاجم انجام گردید (۱۳) ارتباطی بین سرطان درجا و bcl2 یافت نشد و در سرطان مهاجم هم، نمونه هایی که bcl2 داشتند در درجات پایین تری قرار داشتند که با یافته های مطالعه ما تناقض دارد. در این رابطه کم بودن حجم نمونه های آنها را باید مورد توجه قرار داد.

در مطالعه دیگری نیز که در سال ۲۰۰۴ در کانادا بر روی ۷۵ نمونه سرطان پستان انجام گردید، باکس (Bax) و bcl2 با میزان بقا ارتباط نداشت و P53 جهش یافته با کاهش واضح در میزان بقاء عمر ۵ ساله همراه بود (۱۴). مطالعه ما یک مطالعه مقطعی است که bcl2 را به عنوان یک عامل مؤثر در پیش آگهی می شناسد. اما مطالعه آنها از این جهت که چندین عامل را به طور همزمان مورد بررسی قرار می دهد و ارتباط آنها را با

بررسی بانک‌های اطلاعاتی فارسی زبان، مطالعه مشابهی که در ایران انجام شده باشد، یافت نشد.

باتوجه به نتایج سایر مطالعات، به نظر می‌رسد bcl-2 عامل مؤثری در پیش‌آگهی سرطان پستان می‌باشد، اما نظرات متفاوتی در مورد مثبت یا منفی بودن این اثر وجود دارد. ما نیز به دلیل ارتباطی که بین bcl2 و درجه بدخیمی تومور پیدا کردیم bcl-2 را به عنوان یک عامل مؤثر در پیش‌آگهی می‌شناسیم. جهت به دست آوردن نتایج قطعی و تعیین نقش bcl2 در پیش‌آگهی نیاز به مطالعات با حجم نمونه بیش‌تر و پی‌گیری طولانی مدت و بررسی همزمان سایر نشانگرهای تومور وجود دارد.

میزان بقاء می‌سجد از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. همچنین در مطالعه‌ای که توسط موریلو اورتز (Murillo-Ortiz) در مکزیک انجام شده است، فراوانی ظهور بیش از حد bcl2 در ۷۹/۵ درصد موارد گزارش شده است که ۲۰ درصد بیش از نتیجه گزارش شده در مطالعه ما می‌باشد (۱۵) علاوه بر این در مطالعه دیگری در ژاپن که بر روی ۲۲ بیمار انجام شد، تنها در ۱۱ بیمار (حدود ۵۰ درصد) ظهور بیش از حد ژن دیده شده است (۱۶). نتایج متفاوت این دو مطالعه در دو منطقه مختلف جغرافیایی با نتایج مطالعه حاضر می‌تواند بیانگر ظهور متفاوت ژن در نژادهای مختلف باشد. همچنین در

فهرست منابع

- ۱- مجد مینا، دلاور بهرام، یعقوبی پروین. *برنامه کشوری سرطان های شایع زنان*. چاپ اول. تهران: انتشارات وزارت بهداشت، ۱۳۸۱، ص ۴.
- 2-Kumar V, Robbins S, Cotran R. *Raobbins Pathologic basis of disease*. 6th ed. Philadelphia: Saunders; 1999, 1623-6.
- 3-Brek J. Novak's gynecology. 13th ed. Philadelphia: Lippincott williams and wilkins; 2002, 1375-82.
- ۴-مرکز مدیریت بیماری‌ها، معاونت غیرواگیر، اداره سرطان. *گزارش کشوری ثبت موارد سرطانی ۱۳۸۲*. چاپ اول. تهران: انتشارات کلک دیرین، ۱۳۸۴، ص ۳۸-۲۵.
- 5-Villar E, Redondo M, Rodrigo I, Garcia J, Avila E, Mutilla A. bcl2 Expression and apoptosis in primary and metastatic breast carcinoma. *Tumour Biol*. 2001; 22(3): 137-45.
- 6-Kroger N, 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.
- 7-Silvestrini R, Veneronis S, Daidone MG, Benini E, Boracchip P, Mezzettim M, et al. The Bcl2 protein: a prognostic indicator strongly related to P53 protein in Lymph node-negative breast cancer patients. *J. Natl. Cancer. Inst*. 1994; 86(7): 499-504.
- 8-Gasparini G, Barbareschi M, Doglioni C, Palma PD, Mauri FA, Boracchi P, et al. Expression of bcl-2 protein predicts efficacy of adjuvant treatments in operable node-positive breast cancer. *Clin. Cancer. Res*. 1995; 1(2): 189-98.



- 9-Lee WY, Jin YT, Tzeng CC. Reciprocal expression of Bcl-2 and P53 in breast ductal carcinoma. *Anticancer. Res.* 1996; 16(5): 3007-12.
- 10-Jansen RL, Joosten-Achianie SR, Volovics A, Arends JW, Hupperets PS, Hillen HF, et al. Relevance of the expression of bcl-2 in combination with p53 as a prognostic factor in breast cancer. *Anticancer. Res.* 1998; 18(6): 4455-62.
- 11-Veronese S, Mauri FA, Caffo O, Scaioli M, Aldovini D, Perrone G, et al. Bax immunohistochemical expression in breast carcinoma: a study with long term follow-up. *Int. J. Cancer.* 1998; 79(1): 13-8.
- 12-Yang H, Sun Y, Liu F. Expression of bcl-2 gene in relation to histologic type and grade, and prognosis of breast cancer. *Zhonghua. Zhong. Liu. Za. Zhi.* 2000; 22(6):490-2.
- 13-Park SH, Kim H, Song BJ. Down regulation of bcl-2 expression in invasive ductal carcinomas in both estrogen-and progesterone- receptor dependent and associated with poor prognostic factors. *Pathol. Oncol. Res.* 2002; 8(1): 26-30.
- 14-Linjaw A, Kontogiannea M, Halwani F, Edwardes M, Meterissian S. prognostic significance of P53, bcl-2, and Bax expression in early breast cancer. *J. Am. Coll. Surg.* 2004; 198(1): 83-90.
- 15-Murillo-Ortiz B, Astudillo-De la Vega H, Castillo-Medina S, Malacara JM, Benitez-Bribiesca L. Telomerase activity, estrogen receptors (alpha, beta), Bcl-2 expression in human breast cancer and treatment response. *BMC. Cancer.* 2006; 6: 206.
- 16-Hishikawa Y, Tamaru N, Ejima K, Hayashi T, Koji T. Expression of keratinocyte growth factor and its receptor in human breast cancer: its inhibitory role in the induction of apoptosis possibly through the overexpression of Bcl-2. *Arch. Histol. Cytol.* 2004; 67(5): 455-64.