Memenin İnvaziv Duktal Karsinomunda P53 Ekspresyonu ve Apoptosisin Prognostik Parametreler ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

Dr. Esin Cengiz Boduroğlu*, Dr. Çiğdem Irkkan*, Dr. Işın Pak*

ÖZET

Memenin invaziv duktal karsinomunda p53 ekspresyonu ve apoptotik hücre ölümünün bilinen prognostik parametreler ile ilişkisini araştırmak amacıyla Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Laboratuarı'na kayıtlı 160 olgu çalışmaya alınmıştır. Olgulara ait bloklardan alınan kesitlere anti-p53 antikoru ile immünhistokimyasal boyama ve Mayer's hematoksilen-eozin boyaması yapılmıştır. p53 ekspresyonu ile histolojik grade ve pleomorfizm arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0.01$). Apoptotik hücre ölümünün varlığı ise histolojik grade, pleomorfizm ve mitoz ile ilişkili bulunmuştur ($p<0.01$). Yaş dışında, incelenen parametrelerin kötü prognozu gösteren gruplarında apoptotik hücre ölümünün sayısal değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).

Anahtar Kelimeler: meme karsinomu, p53, apoptosis.

SUMMARY

Association of p53 expression and apoptosis with prognostic parameters in invasive ductal carcinoma of the breast

A hundred and sixty cases of invasive ductal carcinoma of the breast were retrieved from the archieves of the Ankara Oncology Hospital Pathology Laboratory. Anti-p53 antibody was employed to the sections cut from the wax blocks and Mayer's hematoxylen-eosin sections were prepared to determine the histopathologic parameters together with apoptosis. p53 immunostaining was significantly associated with histologic grade and pleomorphism ($p<0.01$). Presence of apoptosis in sections was statistically associated with histologic grade, pleomorphism and mitosis ($p<0.01$). Apoptotic cell count was strikingly higher in the worst groups of the prognostic parameters, excluding age. This relation was also statistically significant ($p<0.01$).

Key Words: breast cancer, p53, apoptosis.

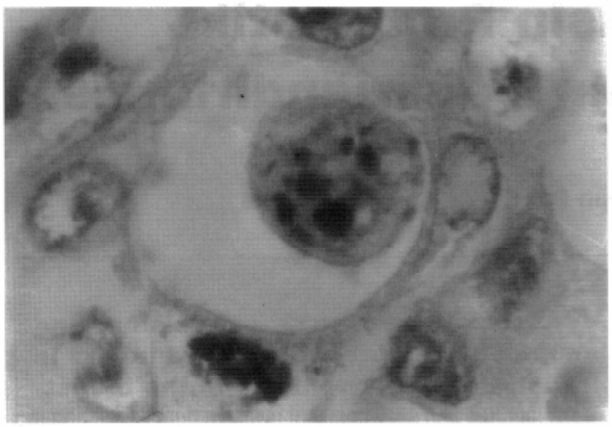
GİRİŞ

Meme karsinomu kadınlarda en sık görülen malignitedir ve kanserden ölüm nedenleri arasında akciğer kanserinden sonra 2. sırada gelmektedir (1,2). Meme karsinomunda yaygın olarak uygulanan tarama, takip programları ve tedavi değişikliklerine rağmen görülme sıklığı artmakta ve sonuç ölüm oranları değişmemektedir (3). Bilinen prognostik parametreler önemli bilgiler sağlamasına rağmen iyi veya kötü prognozlu gruplar içerisinde farklı gidişe sahip olgular olabilmektedir (4). Bu noktada tümör davranışını belirleyecek yeni parametrelere gereksinim doğmuştur. Yeni parametre arayışı araştırmacıları onkogenezde rol oynayan ve tümör davranışı üzerine etkisi olabilecek moleküllerin araştırılmasına yöneltmiştir. Meme karsinomlarında prognostik önemi olabileceği düşünülen ve araştırılan pekçok yeni marker mevcuttur. Yüzün üzerinde kanser ilişkili gen arasında meme karsinomunda en sık saptanan genetik bozukluk p53 gen mutasyonu veya ekspresyon bozukluklarıdır (5). "Genomun gardiyanı" olarak da anılan p53 geninin ağır DNA hasarında genetik materyalin onarımını sağlayabilmek için hücre döngüsünü durdurduğu, hasar giderilemediğinde ise p53 geninin hücrenin apoptosis ile ölmesini sağlayan mekanizmaları çalıştırdığı bilinmektedir (5,6,7). Tümör kinetiğinde mitoz kadar önemi olan apoptotik hücre ölümünün meme karsinomlarında prognostik önemi olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (8). Bu çalışmanın amacı; memenin invaziv duktal karsinomunda p53 ekspresyonunun anormal yapıda yada anormal fonksiyona sahip proteini gösteren immünhistokimyasal yöntemle, apoptotik hücre ölümünün ise ışık mikroskobunda hematoksilen-eozin kesitlerde değerlendirilmesi ve diğer prognostik parametreler ile ilişkisinin araştırılmasıdır.

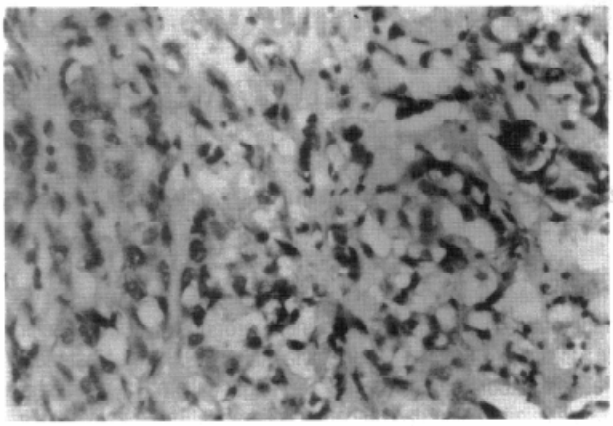
GEREÇ VE YÖNTEM

Yüzaltmış olguluk çalışma grubu Ocak 1990-Aralık 1991 tarihleri arasında Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Laboratuarı arşivine kayıtlı mastektomili olgularda primer tümörü invaziv duktal karsinom tanısı alanlar arasından rezidüel tümörlü olanlar seçilerek oluşturulmuştur. Olgulara ait tümör büyüklüğü, cinsiyet, yaş bilgileri patoloji raporlarından alınmıştır. Yüzde 10 formalinde fikse, parafine gömülü tümör dokularından 5 mikron kalınlıkta ikişer lama kesitler alınmıştır. Apoptotik hücre ölümünü ve histopatolojik parametreleri değerlendirmek için birer lama Mayer's hematoksilen-eozin boyaması yapılmıştır. Tümörlere grade vermek için Ellston ve Ellis modifikasyonlu Scarff- Bloom-Richardson grade sistemi kullanılmıştır(9). Mitoz sayımı, Ellston ve Ellis'in önerdiği şekilde

* *Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Bölümü*



Resim 1 : İnvaziv duktal karsinomda apoptotik hücre ölümü (hematoksilen-eozinx1000)



Resim 2 : İnvaziv duktal karsinomda yaygın p53 pozitifliği (x200)

mikroskopik alan belirlenerek ve yalnızca mitotik figür olduğu kesin olan morfolojik görünümler dikkate alınarak yapılmıştır, hiperkromatik küçük nükleuslar mitoz olarak sayılmamıştır (9,10). Apoptotik hücre ölümü sayımı, Cummings ve Winterford (11) tarafından verilen ışık mikroskobik tanımlama esas alınarak, 10 büyük büyütme alanında mitoz sayımı ile birlikte, aynı alanlardan aynı anda yapılmıştır. Histolojik kesitlerde nükleer membranı olmayan koyu bazofilik boyanan değişik boyut ve şekillerdeki yuvarlak-oval cisimcikler apoptotik hücre ölümü olarak kabul edilmiştir (Resim 1).

p53 ekspresyonunun değerlendirilmesi için aşağıda tanımlanan aşamalar uygulanarak immünhistokimyasal boyama yapılmıştır. Poly-L lizin kaplı lamlara alınmış kesitler 60°C etüvde 60 dakika bekletildikten sonra 2 değişim ksilolde 5'er dakika, 2 değişim %96 alkolde 3'er dakika bırakılmıştır. Antijenin geri kazanımı için kesitler 0.01 molar pH 6 trisodyum sitrat tampon çözeltisi içerisinde mikrodalga fırında kaynatılmıştır. Altmış dakika protein bloğunu takiben alkalen fosfataz-anti alkalen fosfataz yöntemi ile anti-p53 antikoru (monoklonal mouse BP53-12 Biogenex USA) 1/480 dilüsyonda uygulanmıştır. Primer antikor kesitler üzerinde en az 18 saat bekletilmiştir. İki olguda tekrarlayan denemelere rağmen kesitlerin antijen geri kazanımı işlemi sırasında dökülmesi önlenememiştir. Boyama sırasında p53 pozitifliği bilinen bir meme invaziv duktal karsinom olgusu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Işık mikroskobunda tüm tümör alanı incelenerek nükleer boyanmalar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Resim 2).

Sonuçlar SPSS paket programında değerlendirilmiş, ikiden fazla bağımsız grup ortalamalarının karşılaştırılmasında "One way analysis of variance", gruplar arası farklılıkların karşılaştırılmasında "Chi-square" testleri kullanılmıştır.

BULGULAR

Olguların %96.9 u kadındır, yaş ortalaması 47.4±10.9 (aralık 25-80) olarak bulunmuştur. Olguların incelenen parametrelere göre dağılımı tablo 1de verilmektedir. Apoptotik hücre ölümü ortalaması 13.81±18.58 (aralık 0-167) olarak bulunmuştur. Olguların %43.8'sında tümör grade 3 olup, %55.0'ında tümör boyutları 2-5 cm. arasında, %48.6'sında aksillada 3'ten fazla metastaz bulunmaktaydı. p53 ekspresyonunun histopatolojik parametreler ile ilişkisi araştırıldığında histolojik grade ve pleomorfizm ile p53 negatif ve pozitif gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (tablo 2). İncelenen prognostik parametreler ile apoptotik hücre ölümünün varlığı karşılaştırıldığında grade, pleomorfizm ve mitoz sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (tablo 3). Apoptotik hücre ölümünün sayısal değerlerinin, yaş dışında incelenen tüm parametrelerin en kötü prognozu gösteren gruplarında anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (tablo 4).

TARTIŞMA

Meme karsinomunda aksiller lenf nod durumunun prognozu belirleyen en önemli faktör olduğu ve onu takiben histolojik grade ile tümör büyüklüğünün geldiği bilinmektedir (3,4,5,12,13). Ancak bilinen prognostik parametreler önemli bilgiler vermesine rağmen tümör davranışını belirleme konusunda ek bilgiler gerekmektedir. Çalışmamızda bu amaçla p53 ekspresyonu ve apoptotik hücre ölümünün bilinen prognostik parametreler ile ilişkisi araştırılmıştır.

Çalışma grubumuzda kötü prognostik özelliklere sahip olguların oranının yüksek olduğu dikkati çekmektedir; olguların %43.8 sında tümör grade 3'tür, %25 inde tümör boyutu >5cm., olguların %48.6 sında aksillada 3 ten fazla metastatik lenf nodu vardır. Bu bilgiler çalışma grubundaki olgularda hastalığı ilerlemiş olanların yüksek oranda olduğunu göstermektedir.

Meme karsinomlarında p53 ekspresyonunun prognostik önemine dair çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bazı araştırmalarda p53 ekspresyonunun saptanmasının kötü prognozu gösterdiği bildirilmektedir (14,15,16). Buna karşılık bir grup araştırmacı ikili karşılaştırmalarda p53 ekspresyonunun

		Olgu sayısı	Yüzde(%)
Histolojik grade			
	1	30	18.8
	2	60	37.5
	3	70	43.8
Nükleer pleomorfizm			
	1	25	15.6
	2	80	50.0
	3	55	34.4
Tübül formasyonu			
	1	19	11.9
	2	41	25.9
	3	100	62.5
Mitoz sayısı			
	1	36	22.5
	2	40	25.0
	3	84	52.5
Tümör büyüklüğü			
	<2 cm.	32	20.0
	2-5 cm.	88	55.0
	>5 cm.	40	25.0
Lenf nodu durumu			
	Metastaz yok	45	30.8
	1-3 adet metastatik nod var	30	20.5
	>3metastatik nod var	71	48.6
P53 gen bozukluğu			
	negatif	86	54.4
	pozitif	72	45.6
Yaş			
	<35	21	13.1
	36-50	81	50,6
	>51	58	36.3

Tablo 1 : Olguların incelenen parametrelere göre dağılımı

		p53 negatif sayı (%)	p53 pozitif sayı (%)	p değeri
Histolojik grade				
	1	21(75.0)	7(25.0)	
	2	34(56.7)	26(43.3)	
	3	31(44.3)	39(55.7)	p<0.01*
Nükleer pleomorfizm				
	1	19(79.2)	5(20.8)	
	2	45(57.0)	34(43.0)	
	3	22(40.0)	33(60.0)	p<0.01*
Tübül formasyonu				
	1	13(72.2)	5(27.8)	
	2	22(55.0)	18(45.0)	
	3	51(51.0)	49(49.0)	p>0.05
Mitoz sayısı				
	1	23(67.6)	11(32.4)	
	2	22(55.0)	18(45.0)	
	3	41(48.8)	43(51.2)	p>0.05
Tümör büyüklüğü				
	<2 cm.	20(64.5)	11(35.5)	
	2-5 cm.	43(49.4)	44(50.6)	
	>5 cm.	23(57.5)	17(42.5)	p>0.05
Lenf nodu durumu				
	Metastaz yok	24(55.8)	19(44.2)	
	1-3 adet metastatik nod var	16(53.3)	14(46.7)	
	>3metastatik nod var	44(62.0)	27(38.0)	p>0.05
Yaş				
	<35	12(57.1)	9(42.9)	
	36-50	45(55.6)	36(44.4)	
	>51	29(51.8)	27(48.2)	p>0.05

* İstatistiksel anlamlı

Tablo 2 : Histopatolojikparametrelerle p53 negatif ve p53 pozitifliğnin karşılaştırılması

prognostik değeri olsa da çoklu karşılaştırmalarda bağımsız parametre olmadığını bildirmektedirler (17,18). Çalışmamızda olguların %45.6 sında p53 pozitif boyanması gözlenmiştir. Tümör diferansiasyonunu gösteren histolojik grade ile p53 pozitifliği arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Meme kanserinde özellikle de invaziv duktal karsinomlarda grade ile p53 ekspresyonu ilişkisi bilinmektedir (12,18,19,20). Olgularımızda nükleer pleomorfizm arttıkça p53 pozitifliği artmıştır. Bu bulgu Lipponen ve arkadaşlarının nükleer çap arttıkça p53 pozitifliğinin arttığı şeklindeki sonuçları ile uyumludur.

Apoptotik hücre ölümü değerlendirme yöntemleri içinde en güvenilir olanı elektron mikroskobu ile birlikte agaroz jel elektroforezin kullanılmasıdır. Ancak bu yöntemler arşiv materyallerinde çok başarılı değildirler ve her patoloji laboratuarında bulunmazlar. Gerekli deneyim ve özenle ışık mikroskobunda hematoksilen-eozin boyalı kesitlerde apoptotik hücre ölümünü tanımak mümkündür (6,21,22,11,23). Işık mikroskobunda apoptotik hücre ölümü değerlendirmeleri gerçek sayının altında kalmaktadır, çünkü ışık mikroskobunda gözlenen morfolojik görüntüler tüm apoptotik süreç içinde kısa bir zaman diliminde gerçekleşmektedir. Apoptotik hücre sayımını yakın zamanda kullanıma çıkan immünhistokimyasal boyama yöntemi ile desteklemek artık mümkündür. İmmünhistokimyasal boyama ile, ışık mikroskobunda değerlendirelemeyen, apoptotik hücre ölümü sürecinin erken dönemlerindeki hücrelerin yakalanması da olasıdır. Ancak yine de ışık mikroskobunda yapılan az sayıda çalışmada apoptotik hücre ölümünün prognostik önemi olan parametreler ile yakın ilişkisi olduğu bildirilmektedir (8,24). Çalışmamızda apoptotik hücre ölümünün varlığı ile grade, pleomorfizm ve mitoz sayısı arasında ilişki bulunmuştur. Ayrıca yüksek gradeli, tümör boyutu 5 cm. üzerinde olan, 3 ten fazla metastatik lenf nodu bulunan olgular içeren gruplarda apoptotik hücre ölümünün sayısal değerlerinin yüksek olduğu istatistiksel anlamlı bir bulgu olarak saptanmıştır. Bu özellikler tümörün ilerlediğine işarettir. Hücre kültürlerinde preneoplastik hücrelerde, azalan besleyici serum düzeylerinin aşırı derecede apoptotik hücre ölümüne neden olduğu bildirilmektedir (24). Büyük tümörlerde apoptotik hücre ölümünün fazla görülmesinin nedeni hücreleri besleyen

		Apoptosis Yok n (%)	Var n (%)	p değeri
Histolojik grade				
	1	8 (26.7)	22 (73.3)	
	2	3(5.0)	57(95.9)	
	3	1(8.3)	69(98.6)	p<0.01*
Nükleer pleomorfizm				
	1	6(24.0)	19(76.0)	
	2	4(5.0)	76(95.0)	
	3	2(3.6)	53(96.4)	p<0.01*
Tübül formasyonu				
	1	3(15.8)	16(84.2)	
	2	3(7.3)	38(92.7)	
	3	6(6.0)	94(94.0)	p>0.05
Mitoz sayısı				
	1	10(27.8)	26(72.2)	
	2	1(2.5)	39(97.5)	
	3	1(1.2)	83(98.8)	p<0.01*
Tümör büyüklüğü				
	<2 cm.	3(9.4)	29(90.6)	
	2-5 cm.	6(6.8)	82(93.2)	
	>5 cm.	3(7.5)	37(92.5)	p>0.05
Lenf nodu durumu				
	Metastaz yok	5(i1.1)	40(88.9)	
	1-3 adet metastaz	3(10.0)	27(90.0)	
	>3 metastaz	3(7.5)	68(95.8)	p>0.05
Yaş				
	<35	0(0.0)	21(100.0)	
	36-50	5(6.2)	76(93.8)	
	>51	7(12.1)	51(87.6)	p>0.05

*İstatistiksel anlamlı

Tablo 3 : Prognostik parametreler ile apoptosisin varlığı ve yokluğunun karşılaştırılması

		Apoptosis (n) ort. ± sh	p değeri
Histolojik grade			
	1	(30) 3.53 ± 0.66	
	2	(60) 11.3 ± 1.89	
	3°°	(70) 20.60 ± 22.50	p<0.01*
Pleomorfizm			
	1	(25) 5.96 ± 1.36	
	2	(80) 12.30 ± 1.61	
	3°	(55) 19.58 ± 3.37	p<0.01*
Tübül formasyonu			
	1	(19) 8.84 ± 1.70	
	2	(41) 8.04 ± 1.45	
	3°	(100) 17.12 ± 21.09	p<0.01*
Mitoz sayısı			
	1	(36) 3.08 ± 0.53	
	2	(40) 10.30 ± 2.52	
	3°°	(84) 20.08 ± 2.29	p<0.01*
Tümör büyüklüğü			
	<2 cm.	(32) 8.71 ± 1.50	
	2-5 cm.	(88) 12.35 ± 1.29	
	>5 cm°°.	(40) 21.10 ± 4.85	p<0.01*
Lenf nod durumu			
	Metastaz yok	(45) 9.44 ± 1.44	
	1-3 adet metastaz	(30) 12.56 ± 2.47	
	>3 metastaz°	(71) 12.92 ± 1.99	p<0.01*
P53 boyanması			
	negatif	(86) 11.86 ± 1.64	
	% 1-25 pozitif	(36) 12.55 ± 1.90	
	% 26-50 pozitif	(16) 17.62 ± 3.85	
	% 51-75 pozitif	(12) 13.08 ± 4.08	
	% 76 ve üstü°°°	(8) 37.37 ± 18.64	p<0.01*
Yaş			
	<35	(21) 13.66 ± 2.22	
	36-50	(81) 13.75 ± 1.75	
	>51	(58) 13.94 ± 3.15	p>0.05

sh: standart hata, o istatistiksel olarak birbirinden farklılıkla gösteren gruplar,
* anlamlı

Tablo 3 : Prognostik parametreler ile apoptosisin sayısal değerlerinin karşılaştırılması

mikroçevrenin yetersiz kalması olabilir.

Apoptotik hücre ölümü muhtemelen tümör ilerlemesine karşı bariyer görevi de yapmaktadır (23,26). Duktal karsinoma in situda apoptotik hücre ölümü invaziv duktal karsinomdan fazla saptanabilmektedir , ancak tümör invazyon yaptıktan sonra apoptotik hücre ölümü miktarı nispeten düşük seviyede kaldıktan sonra metastatik lezyonun gelişmesi ile birlikte tekrar yükselmektedir (27). Bu bulgu çalışmamızda apoptotik hücre ölümünün lenf nodu metastazı fazla olan grupta yüksek olmasını açıklamaktadır. Hücre içinde mitoz ile apoptotik hücre ölümü bazı ortak basamakları kullandıklarına dair bilgiler mevcuttur (28). Bu bilgiler, çalışmamızda, mitoz sayımı 10 büyük büyütme alanında 10 dan fazla bulunan tümörlerde apoptotik hücre ölümünün de yüksek olmasını açıklamaktadır. Işık mikroskobunda grade verirken mitoz ve apoptotik hücre ölümü ayırımının etkin şekilde yapılması gerekmektedir. Hiperkromatik küçük nükleusların apoptotik olduğu bilinmektedir, dolayısıyla mitoz sayımı yapılırken bu özelliklere sahip hücrelerin sayım dışı bırakılması uygun olacaktır. Bu nedenle hiperkromatik küçük nükleusların dikkate alınmadığı Elston ve Ellis modifikasyonlu Scarff-Bloom-Richardson grade sisteminin kullanılması tercih edilmelidir, aksi taktirde yanlış olarak apoptotik hücreler mitoz gibi sayılacak ve gerçekte olduğundan daha yüksek değerlerde grade verilmiş olacaktır.

Çalışmanın sonucunda, tümör davranışını gösteren parametreler olarak p53 ekspresyonu ve apoptotik hücre ölümü halen kullanımda olan prognostik parametreler ile ilişkili bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1 Rosai J. Breast. In: Rosai J, editors. Ackerman's Surgical Pathology. 8th. ed. (Vol 2) St Louis: Mosby, 1996; 1565-1660.
2. The Breast. In: Cotran RS, Kumar V, Robins SL, editors. Robins Pathologic Basis of Disease, 5th ed.Philadelphia: Saunders, 1994; 1089-1112.
3. Carter CL, Allen C, Henson D. Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24,740 breast cancer cases. Cancer 1989; 63: 181-187.
4. Page DL. Prognosis and breast cancer: recognition of lethal and favorable prognostic types. Am J Surg Pathol 1991; 15: 334-349.
5. Ozbun MA, Butel JS. Tumor supressor p53 mutations and breast cancer: a critical analysis. Advances in Cancer Research 1995; 66: 71-141.
6. Lane DP. P53, guardian of the genome. Nature 1992; 358: 15-16.
7. Sher CJ. Cancer cell cycles. Science 1996; 274: 1672-1677.
8. Lipponen P, Aaltomaa S, Kosma VM, Syrjanen K. Apoptosis in breast cancer as related to histopathologic characteristics and prognosis. Eur J Cancer 1994; 30A: 2068-2073.
9. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histologic grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow up. Histopathology 1991; 19: 403-410.
10. Ellis PS, Whitehead R. Mitosis counting: a need for reppraisal. Hum Pathol 1981;12:3-4.
11. Cummings MC, Winterford CM, Walker NI. Apoptosis. Am J Surg Pathol 1997; 21: 88-101.
12. Home GM, Anderson JJ, Tiniakos DG, et al. P53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. Br J Cancer 1996; 73: 29-35.
13. Frierson HF, Wolber RA, Berean KW, et al. Interobserver reproducibility of the Nothingham Modification of the Bloom and Richardson Histologic Grading Scheme for infiltrating ductal carcinoma. Am J Clin Pathol 1995; 103: 195-198.
14. Moll UM, Ostermeyer AG, Ahomadegbe JC, et al. P53 mediated tumor cell response to chemotherapeutic DNA damage: a preliminary study in matched pairs of breast cancer biopsies. Hum Pathol 1995; 26: 1293- 1301.
15. Thorlacius S, Thorgilsson B, Björnsson J, et al. TP53 mutations and abnormal p53 protein staining in breast carcinomas related to prognosis. Eur J Cancer 1995; 31 A: 1856-1861.
16. Kovach JS, Hartmann A, Blaszyk H, et al. Mutation detection by highly sensitive methods indicates that p53 gene mutations in breast cancer can have important prognostic value. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 1093- 1096.
17. Caleffi M, Teague MW, Jensen RA, et al. P53 gene mutations and steroid receptor status in breast cancer. Cancer 1994; 73: 2147-2156.
18. Askmalm MS, Stal O, Olsen K, et al. P53 as a prognostic factor in stage 1 breast cancer. Br J Cancer 1995; 72:715-719.
19. Barbareschi M, Leonardi E, Mauri FA, et al. P53 and c-erbB-2 protein expression in breast carcinomas: an immunohistochemical study including correlations with receptor status, proliferation markers, and clinical stage in human breast cancer. Am J Clin Pathol 1992; 98: 408-418.
20. Lipponen P, Aaltomaa S, Syrjanen K. P53 protein expression in breast cancer as related to histopathological characteristics and prognosis. Int J Cancer 1993; 55: 51-56.
21. Schulte-Hermann, Grasl-Kraupp B, Bursch W. Apoptosis and Hepatocarcinogenesis. In: Jirtle RJ,ed. Liver regeneration and carcinogenesis. San Diego: Academic Press 1995; 141-178.
22. Kerr JFR, Winterford CM, Harmon BV. Apoptosis: its significance in cancer and cancer therapy. Cancer 1994; 73: 2013-1026.
23. Bodis S, Siziopikou KP, Schnitt SJ, et al. Extensive apoptosis in ductal carcinoma in situ of the breast. Cancer 1996; 77: 1831-1835.
24. Sierra A, Dloveras Castellsague X, et al. Bcl-2 expression is associated with lymph node metastasis in human ductal breast carcinoma. Int J Cancer 1995; 60: 54-60.
25. Preston G, Lang JE, Maronpot RR, Barrett JC. Regulation of apoptosis by low serum in cells of different stages of neoplastic progression: enhanced susceptibility after loss of a senescence gene and decreased susceptibility after loss of a tumor supressor gene. Cancer Res 1994; 54: 4214-4223.
26. Carson DA, Riberio JM. Apoptosis and disease. The Lancet 1993; 341: 1251-1253.
27. Eeles RA, Bartkova J, Lane DP, Bartek J. The role of TP53 in breast Cancer development. Cancer Surveys 1993; 18: 57-75.
28. Schulte-Hermann, Bursch W, Grasl-Kraupp B. Active cell death (Apoptosis) in Liver Biology and Disease. In: JL Boyer, RK Ockner, ed. Progress in Liver Disease. Philadelphia: WB Saunders Company 1995; 1-3.