

Sự bộc lộ p53 và Bcl-2 trong tiên lượng ung thư vú

PREDICTIVE VALUE OF P53 AND BCL-2 EXPRESSION IN BREAST CANCER

Chu Văn Đức, Vũ Ngọc Hà

Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

TÓM TẮT

Các sản phẩm gen Bcl-2 và p53 tiếp tục được nghiên cứu rộng rãi để xác định các yếu tố tiên lượng bệnh và để tìm ra biện pháp điều trị tối ưu.

Mục đích nghiên cứu: Nhận xét sự bộc lộ p53 và Bcl-2 trong tiên lượng ung thư vú.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 196 khối u của các bệnh nhân ung thư vú được nhuộm HMMD với các dấu ấn Bcl-2 và p53 của hãng Dako.

Kết quả nghiên cứu: P53 dương tính có mối quan hệ có ý nghĩa thống kê với đặc điểm lâm sàng - giải phẫu bệnh xấu, Bcl-2 dương tính kết hợp có ý nghĩa thống kê với một số đặc điểm lâm sàng-giải phẫu bệnh tốt. p53(-) Bcl-2(+) có xu hướng làm tăng thời gian sống thêm còn p53(+)Bcl-2(-) có xu hướng làm giảm thời gian sống thêm tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Kết luận: Sự bộc lộ p53 và Bcl-2 trong ung thư vú có sự trái ngược nhau và có giá trị trong tiên lượng bệnh.

Từ khóa: Ung thư vú, Hóa mô miễn dịch, p53, Bcl-2, tiên lượng.

SUMMARY

Background: P53 and Bcl-2 genes products continue to be extensively studied in breast cancer in order to identify prognostic factors and to optimize therapeutic approaches.

Objectives and methods: Immunohistochemistry using the anti- P53 and Bcl-2 antibody was performed on 132 breast carcinoma specimens.

Results: Positive p53 expression was correlated with the bad clinicopathological features. Positive Bcl-2 expression was correlated with the good clinicopathological features. p53 (-) Bcl-2 (+) tends to increase survival time and p53 (+) Bcl-2 (-) tends to reduce the survival time but the difference is not statistically significant.

Conclusions: p53 and Bcl-2 expression are contrast in breast cancer, p53 and Bcl-2 detection provides valuable information for prognosis.

Key words: Breast cancer, Immunohistochemistry, p53, Bcl-2, predictive value.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vú là loại u phổ biến nhất ở phụ nữ Việt Nam cũng như ở phần lớn các nước phát triển,

chiếm khoảng 23% các trường hợp ung thư mới [1]. Năm 2015 có gần 40.290 phụ nữ chết vì bệnh này chỉ tính riêng tại Mỹ [2].

Ngày nhận bài: 13/9/2021

Ngày phản biện: 24/9/2021

Ngày chấp nhận đăng: 1/10/2021



Các protein được mã hóa bởi gen Bcl-2 và p53 là các yếu tố điều hòa apoptosis - quá trình chết tế bào bình thường. Sự đột biến các gen này gây ra các thay đổi số lượng cũng như chất lượng của các protein này và góp phần vào cơ chế bệnh sinh của một số loại ung thư trong đó có ung thư vú. Protein Bcl-2 ức chế gen điều hòa sự chết tế bào theo chương trình [3]. Trong ung thư vú, Bcl-2 dương tính thường kết hợp với các đặc điểm GPB-LS tốt và tiên lượng tốt [4]. P53 là một gen ức chế u, có chức năng như một yếu tố sao chép đa chức năng liên quan tới việc kiểm soát chu kỳ tế bào, sửa chữa sau khi DNA bị tổn thương và apoptosis [5]. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng sự bộc lộ p53 thường có biểu hiện lâm sàng xấu hơn [4].

Ở Việt Nam, đã có nhiều công trình nghiên cứu về ung thư biểu mô tuyến vú tuy nhiên chưa có nhiều nghiên cứu đánh giá riêng các dấu ấn Bcl-2 và p53 với tiên lượng bệnh. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài: **“Nghiên cứu sự bộc lộ dấu ấn p53, Bcl2 trong ung thư biểu mô tuyến vú”** nhằm mục tiêu: Nhận xét sự bộc lộ p53, Bcl-2 trong tiên lượng ung thư vú.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu:

Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu trên 196 khối nén của các bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến

vú được phẫu thuật tại bệnh viện K từ tháng 1 - 2012 đến tháng 6 - 2014, theo dõi tình trạng hiện tại của các bệnh nhân.

Phương pháp nghiên cứu

Loại hình nghiên cứu:

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu theo phương pháp mô tả hồi cứu và tiến cứu.

Cách thức nghiên cứu:

- Thu thập số liệu thông tin bệnh nhân dựa trên hồ sơ bệnh án lưu trữ.

- Xử lý bệnh phẩm, nhuộm hóa mô miễn dịch với những bệnh nhân chưa nhuộm với các dấu ấn p53, Bcl-2.

- Liên hệ với 193 bệnh nhân được chọn để tìm hiểu tình trạng sức khỏe sau điều trị.

Xử lý số liệu:

- Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 16.

- Đánh giá vai trò tiên lượng tới thời gian sống thêm theo Kaplan - Meiner.

KẾT QUẢ

Trong 196 bệnh nhân ung thư vú, có 85 trường hợp có bộc lộ p53 dương tính (43,4 %) và 129 trường hợp có bộc lộ Bcl-2 dương tính (65,8 %). Bcl-2(+) và p53(-) chiếm tỷ lệ cao nhất 37,8%, thấp nhất là tỷ lệ Bcl-2(-) và p53(+): 15,3% ($p=0,774>0,05$).

Bảng 1. Mối quan hệ giữa một số đặc điểm lâm sàng - giải phẫu bệnh với sự bộc lộ p53, Bcl2 của 196 bệnh nhân ung thư vú.

Đặc điểm lâm sàng - giải phẫu bệnh	n (%) 196(100)	p53		+/- χ^2 (p)	Bcl-2		+/- χ^2 (p)
		dương tính 85(43,4)	âm tính 111(56,6)		dương tính 129 (65,8)	âm tính 67 (34,2)	
Kích thước u (cm)							
≤2	82 (41,8)	36 (42,4)	29 (39,7)	0.625	55 (42,6)	27 (40,3)	0,112
>2-5	105 (53,6)	44 (51,8)	42 (57,5)	(0.779)	68 (52,7)	37 (52,2)	(0,945)
>5	9 (4,6)	5 (5,9)	2 (2,7)		6 (4,7)	3 (4,5)	

Độ mô học							
I	22 (11,2)	6 (7,1)	16 (14,4)	7,517	15 (11,6)	7 (10,4)	2,868
II	73 (37,2)	26 (30,6)	47 (42,3)	(0,023)	53 (41,1)	20 (29,9)	(0,238)
III	101 (51,5)	53 (62,4)	48 (43,2)		61 (47,3)	40 (59,7)	
Số hạch di căn							
Âm tính	129 (65,8)	52 (61,2)	77 (69,4)		91 (70,5)	38 (56,7)	3,877
1-3 hạch	40 (20,4)	19 (22,4)	21 (18,9)	1,560	22 (17,1)	18 (26,9)	(0,144)
>3 hạch	27 (13,8)	14 (16,5)	13 (11,7)	(0,458)	16 (12,4)	11 (16,4)	
NPI							
Tốt	40 (20)	13 (15,3)	26 (23,6)	4,303	30 (23,4)	9 (13,4)	3,542
Trung bình	119 (61,0)	51 (60,0)	68 (61,8)		77 (60,2)	42 (62,7)	(0,170)
Xấu	37 (19)	21 (24,7)	16 (14,5)	(0,116)	21 (16,4)	16 (23,9)	
Ki67				+			-
Thấp ($\leq 20\%$)	108 (55,1)	36 (42,4)	72 (64,9)	9,861	76 (58,9)	32 (47,8)	2,217
Cao ($>20\%$)	88 (44,9)	49 (57,6)	39 (35,1)	(0,002)	53 (41,1)	35 (52,2)	(0,136)
pTNM							
I	36 (18)	14 (16,7)	21 (19,1)		30 (23,4)	5 (7,6)	7,410
II	133 (68,6)	56 (66,7)	77 (70,0)	1,410	82 (64,1)	51 (77,3)	(0,025)
III	27 (13,4)	14 (16,7)	12 (10,9)	(0,494)	16 (12,5)	10 (15,2)	

Từ bảng 1 cho ta thấy p53 dương tính có mối quan hệ có ý nghĩa thống kê với chỉ số Ki67 cao ($p=0,002 < 0,05$), độ mô học cao ($p=0,023 < 0,05$). Ngược lại, Bcl-2 dương tính kết hợp có ý nghĩa thống kê với một số đặc điểm giai đoạn I ($p=0,025 < 0,05$).

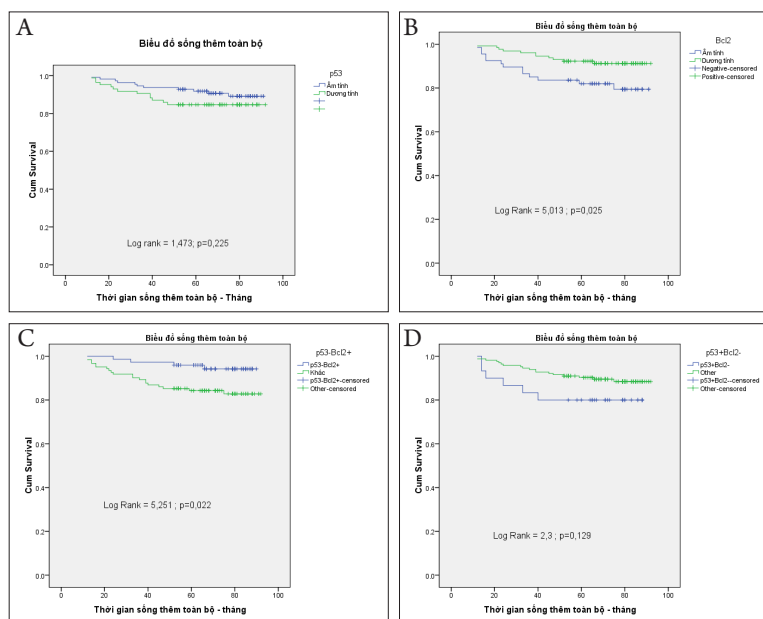
Bảng 2. Mối quan hệ giữa một số đặc điểm lâm sàng - giải phẫu bệnh với sự bộc lộ p53(-) Bcl2(+); p53(+), Bcl2(-) của 196 bệnh nhân ung thư vú

Đặc điểm lâm sàng - giải phẫu bệnh	n (%) 196(100)	p53 (-) Bcl 2 (+)		+/- χ^2 (p)	p53 (+) Bcl2 (-)		+/- χ^2 (p)
		phenotype expressed 74(37,8)	phenotype not expressed 122(62,2)		phenotype expressed 30 (15,3)	phenotype not expressed 166 (84,7)	
Kích thước u (cm)							
≤ 2	82 (41,8)	30 (40,5)	52 (42,6)	0,197	11 (36,7)	71 (42,8)	0,622
>2-5	105 (53,6)	41 (55,4)	64 (52,5)	(0,906)	17 (56,7)	88 (53,0)	(0,733)
>5	9 (4,6)	3 (4,1)	6 (4,9)		2 (6,7)	7 (4,2)	
Độ mô học							
I	22 (11,2)	10 (13,5)	12 (9,8)	-	1 (3,3)	21 (12,7)	+
II	73 (37,2)	34 (45,9)	39 (32,0)	5,758	7 (23,3)	66 (39,8)	7,073
III	101 (51,5)	30 (40,5)	71 (58,2)	(0,056)	22 (73,3)	79 (47,6)	(0,029)



Số hạch di căn							
Âm tính	129 (65,8)	54 (73,0)	75 (61,5)	-	15 (50,0)	114 (68,7)	3,939 (0,139)
1-3 hạch	40 (20,4)	12 (16,2)	28 (23,0)	2,707	9 (30,0)	31 (18,7)	
>3 hạch	27 (13,8)	8 (10,8)	19 (15,6)	(0,258)	6 (20,0)	21 (12,7)	
NPI				2,984			+ 8,808 (0,013)
Tốt	40 (20)	18 (24,7)	21 (17,2)	(0,225)	1 (3,3)	38 (23,0)	
Trung bình	119 (61,0)	45 (61,6)	74 (60,7)		19 (63,3)	100 (60,6)	
Xấu	37 (19)	10 (13,7)	27 (22,1)		10 (33,3)	27 (16,4)	
Ki67							+ 11,577 (0,001)
Thấp ($\leq 20\%$)	108 (55,1)	48 (64,9)	60 (49,2)	4,580	8 (26,7)	100 (60,2)	
Cao ($> 20\%$)	88 (44,9)	26 (35,1)	62 (50,8)	(0,032)	22 (73,3)	66 (39,8)	
pTNM							2,472 (0,291)
I	36 (18)	19 (26,0)	16 (13,2)	5,183	3 (10,3)	32 (19,4)	
II	133 (68,6)	46 (63,0)	87 (71,9)	(0,075)	20 (69,0)	113 (68,5)	
III A	27 (13,4)	8 (11,0)	18 (14,9)		6 (20,7)	20 (12,1)	

Khi xét kết hợp sự bộc lộ của 2 protein trên, ta có kết quả như sau: P53(-) Bcl-2(+) kết hợp có ý nghĩa thống kê với các đặc điểm lâm sàng - giải phẫu bệnh: chỉ số Ki67 thấp ($p=0,032 < 0,05$). P53(+) Bcl2(-) kết hợp có ý nghĩa thống kê với đặc điểm độ mô học cao ($p=0,013 < 0,05$), chỉ số Ki67 cao ($p=0,001 < 0,05$) (bảng 2).



Biểu đồ 1. Biểu đồ Kaplan-Meier biểu hiện sự tác động của: A. sự bộc lộ dấu ấn p53 với thời gian sống thêm toàn bộ; B. sự bộc lộ dấu ấn Bcl-2 với thời gian sống thêm toàn bộ; C. sự bộc lộ dấu ấn p53(-) Bcl-2 (+) với thời gian sống thêm toàn bộ; D. sự bộc lộ dấu ấn p53(+) Bcl-2 (-) với thời gian sống thêm toàn bộ



Theo dõi 196 bệnh nhân trong thời gian theo dõi trung bình là 84.650 tháng. Tỷ lệ sống thêm toàn bộ cộng gộp khi theo dõi 5 năm của bệnh nhân có bộc lộ p53 âm tính là 89,1%, nhóm bộc lộ p53 dương tính là 84,7%, sự khác biệt giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p=0,225 > 0,05$ (biểu đồ 1.A). Tỷ lệ sống thêm toàn bộ cộng gộp khi theo dõi 5 năm của bệnh nhân thuộc có bộc lộ Bcl-2 âm tính là 79,4%, nhóm bộc lộ Bcl-2 dương tính là 91,2%, sự khác biệt giữa 2 nhóm có ý nghĩa thống kê với $p=0,025 < 0,05$ (biểu đồ 1.B).

Đánh giá mức độ ảnh hưởng đến thời gian sống thêm toàn bộ khi kết hợp sự bộc lộ của 2 protein vẫn cho ta kết quả p53(-)Bcl2(+) có xu hướng làm tăng thời gian sống thêm (có ý nghĩa thống kê với $p=0,022 < 0,05$) còn p53(+)Bcl2(-) có xu hướng làm giảm thời gian sống thêm tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (biểu đồ 1.C, 1.D).

BÀN LUẬN

Các gen p53 và Bcl-2 có liên quan tới sự kiểm soát tăng sinh chu kỳ tế bào và điều hòa sự chết tế bào theo chương trình. Sự bộc lộ các gen p53 và Bcl-2 như một yếu tố điều hòa dương tính và âm tính của apoptosis và các protein này có ý nghĩa tiên lượng quan trọng ở ung thư vú.

Trong 196 bệnh nhân ung thư vú, tỷ lệ bộc lộ p53 dương tính (43,4 %) thấp hơn bộc lộ Bcl-2 dương tính (65,8 %). Bcl-2(+) và p53(-) chiếm tỷ lệ cao nhất 37,8%, thấp nhất là tỷ lệ Bcl-2(-) và p53(+): 15,3%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ ($p=0,774$).

Fourati-Kharrat A và cs, nhận thấy sự bộc lộ p53 và Bcl2 ở các tế bào u có sự liên quan trái ngược nhau có nghĩa: Sự bộc lộ gen ức chế u p53 liên quan chặt chẽ với sự không bộc lộ Bcl-2 [6]. Tác giả Phil Rolland và cs cho thấy 29% ung thư vú có p53(+), trong khi đó 46% Bcl2(+), tỷ lệ p53(-

) Bcl2 (+) là 35.5%, p53(+)Bcl2(-) là 18.9% [7]. Tsutsui S và cs cũng cho thấy rằng Bcl-2 dương tính chiếm 58%, Bcl-2(+) p53(-) cũng chiếm tỷ lệ cao nhất là 67% [8].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của các tác giả nước ngoài. Một sự thống nhất được nhận thấy giữa các nghiên cứu là sự bộc lộ 2 dấu ấn p53 và Bcl-2 – 2 gen đối lập nhau về mặt chức năng, đều có tỷ lệ bộc lộ trái ngược nhau, phản ánh một phần vai trò của chúng trong bệnh sinh của quá trình tạo u.

Từ bảng 1 cho ta thấy p53 dương tính có mối quan hệ có ý nghĩa thống kê với chỉ số Ki67 cao (57,6% so với 44,9%) ($p=0,002 < 0,05$). Chỉ số Ki67 cao biểu hiện tế bào tăng hoạt động phân bào, gắn liền với tiên lượng xấu [9]. Ngoài ra, p53 dương tính cũng có xu hướng kết hợp với đặc điểm khối u có kích thước lớn ($> 5\text{cm}$), có di căn hạch, NPI từ trung bình đến cao và bệnh ở giai đoạn III, tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Ngược lại, Bcl-2 dương tính kết hợp có ý nghĩa thống kê với giai đoạn I (23,4% so với 18,0%) ($p=0,025 < 0,05$). Ngoài ra, Bcl-2 dương tính cũng có xu hướng kết hợp với một số đặc điểm khác: kích thước u $\leq 2\text{cm}$, NPI tốt, không có di căn hạch, chỉ số Ki67 thấp $\leq 15\%$, tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Bảng 1).

Nghiên cứu của Tsutsui và cs cũng cho kết quả sự giảm bộc lộ Bcl-2 liên quan đến độ mô học III, ER âm tính, giảm bộc lộ p27, p53 dương tính, MIB-1 dương tính, Her2 dương tính [8]. Phil Rolland và cs cũng chỉ ra rằng Bcl-2 dương tính kết hợp với kích thước u nhỏ, giai đoạn hạch sớm hơn, giảm nguy cơ di căn xa, độ mô học thấp, NPI thấp hơn, typ mô bệnh học tốt hơn, thụ thể nội tiết dương tính; ngược lại p53 dương tính có liên quan đến bệnh nhân lớn tuổi hơn, kích thước u lớn hơn, giai



đoạn hạch muộn hơn, thụ thể nội tiết âm tính [7].

Kết quả của chúng tôi tương đồng với các tác giả khác, đều cho thấy p53 dương tính có liên quan đến các đặc điểm lâm sàng - giải phẫu bệnh xấu còn Bcl-2 có liên quan đến các đặc điểm tốt. Bcl-2 và p53 là hai gen có tác dụng trái ngược nhau và có giá trị tiên lượng trái ngược nhau.

Khi xét kết hợp sự bộc lộ của 2 protein trên, ta có kết quả như sau: P53(-) Bcl-2(+) kết hợp có ý nghĩa thống kê với chỉ số Ki67 thấp (64,9% so với 55,1%) ($p=0,032<0,05$). Ngoài ra, p53(-) Bcl-2(+) có xu hướng kết hợp với 1 số đặc điểm khác như: kích thước u 2-5cm, độ mô học II, di căn 1-3 hạch tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p>0,05$. P53(+) Bcl2(-) kết hợp có ý nghĩa thống kê với đặc điểm chỉ số Ki67 cao (73,3% so với 44,9%) ($p=0,001<0,05$). Ngoài ra p53(+) Bcl2(-) có xu hướng kết hợp với đặc điểm lâm sàng - giải phẫu bệnh khác như: kích thước u >2 cm, độ mô học III, có di căn hạch, NPI trung bình đến xấu tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm là không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) (bảng 2).

Theo Phil Rolland và cộng sự, p53(-) Bcl-2(+) liên quan đến bệnh nhân lớn tuổi, kích thước u nhỏ, giai đoạn hạch sớm, giảm tỷ lệ di căn xa, độ mô học thấp, typ mô bệnh học tốt, ER, PR dương tính; trong khi đó p53(+)Bcl2(-) liên quan đến bệnh nhân trẻ, khối u lớn, giai đoạn hạch muộn, tăng nguy cơ di căn xa, độ mô học cao, typ mô bệnh học tồi, NPI cao, ER, PR âm tính [7].

Kết quả mà chúng tôi thu được tương tự như các tác giả khác, cặp bộc lộ không tương đồng của p53, Bcl2 có liên quan đến các đặc điểm có giá trị tiên lượng.

Theo dõi 196 bệnh nhân trong thời gian theo dõi trung bình là 85.650 tháng, p53 có xu hướng làm giảm thời gian sống thêm toàn bộ tuy nhiên sự khác biệt giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê

với $p=0,225 > 0,05$ (biểu đồ 1.A). Sự bộc lộ Bcl-2 dương tính làm thời gian sống thêm toàn bộ dài hơn tuy nhiên sự khác biệt giữa 2 nhóm có ý nghĩa thống kê với $p=0,025 < 0,05$ (biểu đồ 1.B). Đánh giá mức độ ảnh hưởng đến thời gian sống thêm toàn bộ khi kết hợp sự bộc lộ của 2 protein vẫn cho ta kết quả p53(-)Bcl2(+) làm tăng thời gian sống thêm (có ý nghĩa thống kê với $p=0,022 < 0,05$) còn p53(+)Bcl2(-) có xu hướng làm giảm thời gian sống thêm tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (biểu đồ 1.C, 1.D).

Tác giả Tsutsui và cs cũng đưa ra kết luận sự giảm bộc lộ Bcl2 ảnh hưởng xấu đến thời gian sống thêm không bệnh khi phân tích đơn biến [8]. Nghiên cứu của Phil Rolland và cs chỉ ra rằng Bcl-2 âm tính hay p53 dương tính đều làm giảm thời gian sống thêm toàn bộ. p53(-) Bcl-2(+) làm tăng thời gian sống thêm toàn bộ. Trong khi đó p53(+)Bcl-2(-) làm giảm thời gian sống thêm [7].

Nghiên cứu của chúng tôi tuy kết quả chưa có ý nghĩa thống kê, có lẽ do cỡ mẫu còn quá bé, tuy nhiên có xu hướng phù hợp với các kết quả của các nghiên cứu trước đó. Từ đó khẳng định vai trò tiên lượng của cặp dấu ấn p53 và Bcl2 trong ung thư biểu mô tuyến vú.

KẾT LUẬN

Qua nhuộm HMMD 196 khối nén của các bệnh nhân ung thư vú điều trị tại Bệnh viện K, chúng tôi rút ra kết luận sau:

- P53 dương tính có mối quan hệ có ý nghĩa thống kê với chỉ số Ki67 cao ($p=0,002 < 0,05$).
- Bcl-2 dương tính kết hợp có ý nghĩa thống kê với giai đoạn I ($p=0,025 < 0,05$).
- P53(-)Bcl2(+) có xu hướng kết hợp với các đặc điểm lâm sàng-giải phẫu bệnh tốt.
- P53(+)Bcl2(-) có xu hướng kết hợp với đặc điểm lâm sàng-giải phẫu bệnh xấu.



- Tỷ lệ sống thêm toàn bộ cộng gộp khi theo dõi 5 năm của bệnh nhân có bộc lộ p53 âm tính là 89,1%, nhóm bộc lộ p53 dương tính là 84,7%, sự khác biệt giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p=0,225 > 0,05$.

- Tỷ lệ sống thêm toàn bộ cộng gộp khi theo dõi 5 năm của bệnh nhân thuộc có bộc lộ Bcl-2 âm tính

là 79,4%, nhóm bộc lộ Bcl-2 dương tính là 91,2%, sự khác biệt giữa 2 nhóm có ý nghĩa thống kê với $p=0,025 < 0,05$.

- p53(-)Bcl2(+) có xu hướng làm tăng thời gian sống thêm còn p53(+)Bcl2(-) có xu hướng làm giảm thời gian sống thêm tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Sunil R. Lakhani, Ian O. Ellis, Stuart J. Schnitt, et al. (2012)**, WHO Classification of Tumour of the Breast, International Agency for Research on Cancer, Lyon.
2. **American Cancer Society (2015)**. Cancer Facts & Figures 2015. 56.
3. **Callagy G.M. (2006)**. Bcl-2 Is a Prognostic Marker in Breast Cancer Independently of the Nottingham Prognostic Index. *Clinical Cancer Research*, 12(8), 2468–2475.
4. **Malamou-Mitsi V. (2006)**. Evaluation of the prognostic and predictive value of p53 and Bcl-2 in breast cancer patients participating in a randomized study with dose-dense sequential adjuvant chemotherapy. *Annals of Oncology*, 17(10), 1504–1511.
5. **Bottini A., Berruti A., Bersiga A., et al.** p53 but not bcl-2 Immunostaining Is Predictive of Poor Clinical Complete Response to Primary Chemotherapy in Breast Cancer Patients. 9.
6. **Fourati-Kharrat A (2003)**. P53 and Bcl 2 Expression in Breast Cancer. Prospective Study in Tunisia. *Austral-Asian Journal of cancer*, <<http://www.australasiancancer.org/journal-article-view/p53-and-bcl-2-expression-in-breast-cancer-275>>, accessed: 05/07/2019.
7. **Rolland P., Spendlove I., Madjid Z., et al. (2007)**. The p53 positive Bcl-2 negative phenotype is an independent marker of prognosis in breast cancer. *International Journal of Cancer*, 120(6), 1311–1317.
8. **Tsutsui S., Yasuda K., Suzuki K., et al. (2006)**. Bcl-2 protein expression is associated with p27 and p53 protein expressions and MIB-1 counts in breast cancer. *BMC Cancer*, 6(1).
9. **Dowsett M., Smith I.E., Ebbs S.R., et al. (2007)**. Prognostic Value of Ki67 Expression After Short-Term Presurgical Endocrine Therapy for Primary Breast Cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 99(2), 167–170.