Prognostic Importance of Bcl-2 Expression in Colon Cancer

Kolon Kanserinde Bcl-2 Ekspresyonunun Prognostik Önemi

Bcl-2 ve Kolon Kanseri / Bcl-2 and Colon Cancer

Arsenal Sezgin Alikanoğlu[1], Mustafa Yıldırım[2], Dinç Süren[1], Ayşegül Kargı[2], Mustafa Yıldız[2], Cem Sezer[1], Duriye Öztürk[3], Birsel Tutuş[1]
[1]Patoloji Kliniği, [2]Tıbbi Onkoloji Kliniği, [3]Radyasyon Onkolojisi Kliniği, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Türkiye

Özet

Amaç: Kolon kanserinde lezyonun patolojik ve anatomik özellikleri kullanılarak oluşturulan TNM sınıflaması günümüzde adjuvan tedavi kararında en önemli etkendir. Küratif cerrahi rezeksiyona rağmen erken evre hastalıkta %20-30 nüks olabilmektedir. Bu nedenle hastalarda anatomik ve patolojik özelliklere dayalı TNM sınıflamasının yeterliliği tartışmalıdır. Son yıllarda ise tümörlerin anatomik ve patolojik özelliklerinin yanında moleküler özelliklerinin de biyolojik davranışı ve tedaviye yanıtı belirleme de önemli olduğu tartışılmaktadır. Çalışmamızda kolon kanserinde Bcl-2 ekspresyonunun diğer bilinen patolojik prognostik faktörlerle ilişkisi araştırılmıştır. Gereç ve Yöntem: Kliniğimizde takip edilen hastalar çalışmaya alındı. Bcl-2 ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle araştırıldı. Bulgular: Çalışmaya 19'u (%36.5) kadın, 33'ü erkek (%63.5) toplam 52 hasta alındı. Bcl-2 ekspresyonu 7 hastada (%13.5) pozitif, 45 hastada (%86.5) ise negatif olarak değerlendirildi. Bcl-2 ekspresyonu ile cinsiyet, evre, bölgesel lenf nodu tutulumu, uzak metastaz varlığı ve histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi. Tartışma: Çalışmamızda Bcl-2 ekspresyonunun, istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa da erken hastalıkla ilgili olduğu yönünde bulgular elde ettik. Bcl-2 kolay erişilebilir, ucuz ve kullanımı kolay bir prognostik belirteçtir. Kolon kanserli hastalarının prognozunu belirlemede Bcl-2'nin immünohistokimya ile ekspresyonunun gösterilmesinin rolünün olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler

Kolon Kanseri; Prognoz; Bcl-2; İmmünohistokimya

Abstract

Aim: TNM classification, that had been established according to pathologic and anatomic characteristics of the lesion , is the most important factor in decision of adjuvant therapy in colon cancer. Despite curative resection, recurrence can ocur with a rate of 20-30% in early stage disease. Therefore efficieny of TNM classification is controversial. In recent years ,significance of molecular characteristics of the tumors besides their anatomic and pathologic characteristics in determining the biological behaviour and response to treatment have been discussed. In our study, relation between expression of Bcl-2 and the other known prognostic factors in colon cancer had been searched. Material and Method: Patients who had been followed up in our clinic were enrolled in this study. Expression of Bcl-2 was searched by immunohistochemical method. Results: A total of 52, 19 (%36.5) female and 33 (%63.5) male patients were enrolled in this study. Bcl-2 expression was found positive in 7 (%13.5) and negative in 45 (%86.5) patients. Statistically no significant relationship was found between Bcl-2 expression and sex, stage, regional lymph node involvement, presence of distant metastasis and histologic grade. Discussion: In our study, although not in a statistical significance, we found that Bcl-2 expression is related to early stage disease. Bcl-2 is a low-priced and easily accessible prognostic marker. We think that establishing expression of Bcl-2 by immunohistohemistry may play a role in determining prognosis of patients with colon cancer.

Keywords

Colon Cancer; Prognosis; Bcl-2; Immunohistochemistry

DOI: 10.4328/JCAM.1138 Received: 06.06.2012 Accepted: 25.06.2012 Printed: 01.09.2013 J Clin Anal Med 2013;4(5): 398-401
Corresponding Author: Mustafa Yıldırım, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Kliniği, Varlik Mah. Kazim Karabekir Cad. Soğuksu, 07050 Antalya, Türkiye. GSM: +905333948252 F.: +90 2422494402 E-Mail: mustafayildirim7@yahoo.com

Giriş

Kolon kanseri sık görülen ve ciddi mortalite ile seyreden bir hastalıktır. Dünya genelinde meme kanserinden sonra ikinci sıklıkta rastlanmaktadır [1] . Türkiye'de ise 2006 verilerine göre görülme sıklığı kadınlarda ikinci , erkeklerde ise 5. sıradadır [2]. Kolon kanserinin prognozunu tahmin etmeye yönelik çalışmalar güncelliğini korumaktadır. AJCC'ın (The American Joint Committee on Cancer) 7. edisyonunda daha önceden bilinen preoperatif CEA yüksekliğine, rezidü lenf nodu özellikleri taşımayan ve karsinomun infiltratif sınırıyla devamlılığı olmayan satellit tümör depozitleri, neoadjuvan kemoterapi sonrası tümör regresyonu, sirkümferensiyal cerrahi sınır, mikrosatellit instabilite (MSİ), perinöral invazyon (PNİ), lenfovasküler invazyon (LVİ) ve KRAS mutasyon durumu eklenmiştir [3].

Normal kolon epitelinden invaziv karsinom gelişme süreci 7-12 yıl arasındadır [4]. Bu süreçte genetik ve epigenetik birçok faktör rol oynamaktadır. Apopitoziste rol oynayan mekanizmalar bu faktörlerden birisidir. Bcl-2 geni ilk defa t(14;18) translokasyonun gösterildiği B hücreli foliküler lenfomalı hastalarda tanımlanmıştır ancak ekspresyonu bu translokasyona bağlı değildir. Bcl-2 apopitozu inhibe ederek hücrenin yaşam süresinin uzamasına ve mutajen faktörlerle daha fazla karşılaşmasına neden olmaktadır. Birçok çalışmada Bcl-2 ekspresyonu ile değişik malignitelerin sağ kalımı arasında ilişki gösterilmiştir [5]. Kolon kanserinde Bcl-2 ekspresyonunu araştıran çalışmalarda ekspresyon oranı %31 ile %70 arasında değişmektedir [6].

Çalışmamızda kolon kanserinde Bcl-2 ekspresyonunun diğer bilinen patolojik prognostik faktörlerle ilişkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hasta seçimi

Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 2008-2010 yılları arasında takip edilen ve histopatolojik olarak tanı konulan kolon kanserli hastalar çalışmaya alındı. Görüntüleme yöntemleri ve klinik olarak evrelendirme çalışmaları yapılmış olan hastalar 7. AJCC evreleme sistemine göre evrelendirildi. Hasta dosyaları taranarak yaş, cinsiyet, hastalığın evresi gibi demografik bilgiler elde edildi. Histopatolojik tanısı olmayan hastalar, tedavisi başka merkez tarafından başlanmış ve merkezimizde tedavisi devam eden hastalar çalışma dışı bırakıldı.

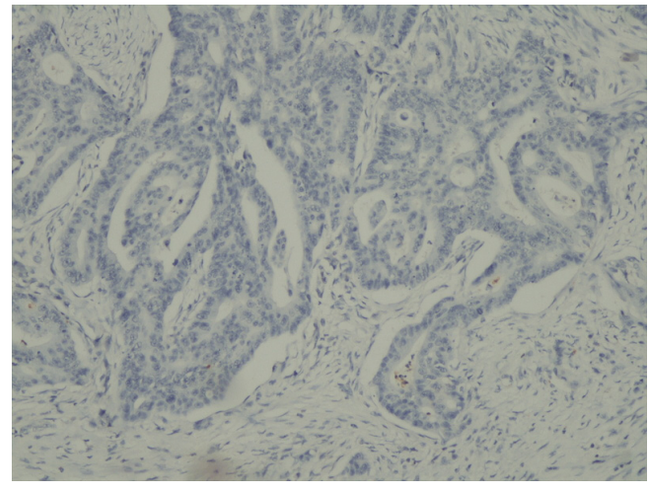
İmmünohistokimya

Cerrahi veya endoskopi sonrası elde edilen tümör örnekleri işlemden hemen sonra %10 formaldehit içinde fikse edidi. Doku takibi sonrası örnekler parafine gömüldü. Parafin bloklar 4 µm kalınlığında kesildi ve ilk olarak hemotoksilen ve eozin ile boyanarak değerlendirildi. Kesitler etüvde 60ºC de 1 saat deparafinize edildi. Daha sonra ksilende 10 dakika, %100'lük alkolde 5 dakika bekletildi ve su ile yıkandı. Lamlar %10'luk sitratla tamponlanmış solüsyon içinde mikrodalgada maksimum güçte (800 watt) 15 dakika bekletildi. Daha sonra güç yarıya düşürülerek 20 dakika daha mikrodalgada bekletildi. Mikrodalgadan çıkarılan lamlar oda sıcaklığında 20 dakika tutuldu. Endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletilerek giderildi. Distile su ile yıkanan lamlara 3x5 PBS uygulandıktan sonra üzerlerine protein blokajı damlatıldı. Beş dakika sonra blokaj yıkanmadan lamların üzerine Bcl-2 antikoru damlatıldı. Primer antikorda 30 dakika bekletildikten sonra fosfat ile tamponlanmış saline (PBS) alınarak 5 dakika yıkandı. Daha sonra biyotinlenmiş sekonder antikor ile 20 dakika muamele edildi ve PBS'de 5 dakika yıkandı. Peroksidaz konjuge antikor ile 20 dakika bekletildi. PBS'de yıkamı işlemi süre yine 5 dakika olacak şekilde tekrarlandı. Kromojende (DAB) 5 dakika bekletildi. Musluk suyu altında yıkanan lamlarda hematoksilen ile karşıt boyama yapıldı. Dehidrate edildi, kurutuldu ve entellan ile kapatıldı.

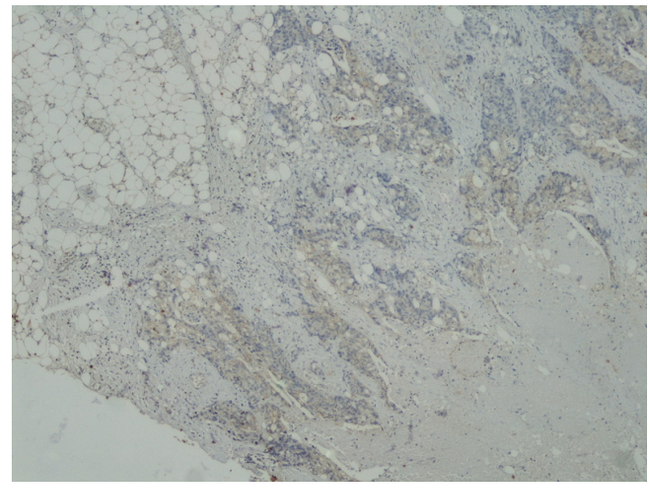
Örneklerin boyanmasında Bcl-2 onkoproteini, liyofilize fare monoklonal antikoru (clone100/D5, 1:50, Thermo Scientific, Fremont, ABD) kullanıldı. Boyama sonrasında örnekler Nicon Eclipse 80i mikroskopunda incelendi.

İmmünohistokimyasal skorlama

Örnekler yüksek oranda ekspresyon gösteriyorsa düşük büyütme ile değerlendirildi. Düşük ekspresyon veya negatif sonuçlar ise yüksek büyütme ile incelendi. Örneklerdeki pozitif tümör hücrelerinin ekspresyon oranları hastaların klinik özelliklerini bilmeyen iki farklı patolog (AS, DS) tarafından değerlendirildi. Bcl-2 ekspresyonları hücrelerin (nükleer) membranöz ve sitoplazmik boyanmalarına göre değerlendirildi. Örneklerde %10'dan fazla boyanma pozitif, %10 ve daha az boyanma ise negatif olarak kabul edildi. (Resim 1-2)



Resim 1. Bcl-2 negatif tümör hücreleri



Resim 2. Bcl-2 pozitif tümör hücreleri

İstatiksel Analiz

İstatiksel analiz SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 13.0 yazılım programı kullanılarak yapıldı. Bcl-2 ekspresyonuna göre cinsiyet, evre, bölgesel lenf nodu tutulumu, uzak metastaz varlığı ve histolojik derece durumu çapraz tablolar kullanılarak verildi. Gruplar arasındaki farklar Ki-kare testi kullanılarak incelendi. Anlamlı p değeri <0,05 olarak kabul edildi.

Sonuç

Çalışmaya 19'u (%36.5) kadın, 33'ü erkek (%63.5) toplam 52 hasta alındı. Hastaların ortalama yaşı 59.8±13.5 (26-82 yaş) idi. Hastaların 51'inde (%96.2) adenokarsinom tespit edilirken bir hastada müsinöz adenokarsinom ve bir hastada taşlı yüzük hücreli karsinom tespit edildi.T1 hastalık hastaların hiçbirinde tespit edilmezken T2 hastalık 6 hastada (%11.6) T3 hastalık 39 hastada (%75), T4 hastalık 6 hastada (%11.5) saptandı. Bölgesel lenf nodu metastazı 22 hastada (%42.3) pozitif olarak, 30 hastada (%57.7) negatif olarak gösterildi. Uzak organ metastazı 8 hastada (%15.4) gösterilirken 44 hastanın (%84.6) metastatik hastalığı yoktu. Hastalar evrelerine göre değerlendirildiğinde hastaların birinde evre 1, 15'inde (%28.8) evre 2, 28'inde (%53.8) evre 3, 8'inde evre 4 hastalık saptandı. Histolojik derece açısından hastaların örnekleri değerlendirildiğinde; 4 hastada (%7.7) derece 1, 41 hastada (%78.8) derece 2, 7 hastada (%13.5) derece 3 lezyon tespit edildi. 14 hastada lenfositik yanıt (%27.5), 18 hastada perinöral invazyon (%35.3) ve 33 hastada lenfovasküler invazyon (%63.5) saptandı.

Bcl-2 ekspresyonu 7 hastada (%13.5) pozitif, 45 hastada (%86.5) ise negatif olarak değerlendirildi. Bcl-2 ekspresyonu ile cinsiyet, evre, bölgesel lenf nodu tutulumu, uzak metastaz varlığı ve histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi. (Tablo 1)

Tablo 1. Bcl-2 ekspresyonuna göre hasta grupları

	Bcl-2 negatif	Bcl-2 pozitif	P değeri
Cinsiyet			p:0.709
Kadın	16 (%35.6)	3 (%42.9)	
Erkek	29 (%64.4)	4 (%57.1)	
Yaş	59.1±13.4	64.4±13.8	
Evre			p:0.641
Evre 1	1 (%2.2)	0	
Evre 2	14 (%31.1)	1(%14.3)	
Evre 3	24 (%53.3)	4 (%57.1)	
Evre 4	6 (%13.3)	2 (%28.6)	
Lenf nodu durumu			p:0.429
metastatik	20 (%44.4)	2 (%28.6)	
nonmetastatik	25 (%55.6)	5 (%71.4)	
Uzak metastaz			p:0.299
Negatif	39 (%86.7)	5 (%71.4)	
Pozitif	6 (%13.3)	2 (%28.6)	
Histolojik Derece			p.0.693
Derece 1	4 (%8.9)	0	
Derece 2	34 (%75.6)	7 (%100)	
Derece 3	7 (%15.6)	0	

Tartışma

Kolon kanserinde lezyonun patolojik ve anatomik özellikleri kullanılarak oluşturulan TNM sınıflaması günümüzde adjuvan tedavi kararında en önemli etkendir [7]. Uzak metastazı olmayan ve bölgesel lenf nodu tutulumu olmayan hastalarda cerrahi rezeksiyon küratif tedavi seçeneğidir. Küratif cerrahi rezeksiyona rağmen erken evre hastalıkta %20-30 nüks olabilmektedir. Bu nedenle hastalarda anatomik ve patolojik özelliklere dayalı TNM sınıflamasının yeterliliği tartışmalıdır [8]. Literatürde kolon kanserinde prognozu belirlemeye yönelik çalışmalar popülerliğini korumaktadır ve çok sayıda parametre şu ana kadar araştırılmıştır. Bu parametrelerin çoğu prognoz ile ilişkili olup istatistiksel çalışmalarda bağımsız değişken olarak yer almaktadır.

İyi tariflenen anatomik ve patolojik özellikler esas alındığında; polipoid kanserlere kıyasla sesil ve ülsere tümörlerde prognozun daha kötü olduğu bilinmektedir. Histopatolojik olarak barsak duvarı boyunca derin infiltrasyon, az differansiasyon, taşlı yüzük hücreli, müsinöz, adenoskuamöz, küçük hücreli ve anaplastik karsinom morfolojisi kötü prognoz göstergesidir [9,10].

Son yıllarda ise tümörlerin anatomik ve patolojik özelliklerinin yanında moleküler özelliklerinin de biyolojik davranışı ve tedaviye yanıtı belirleme de önemli olduğu tartışılmaktadır. Örneğin tümörün epidermal büyüme faktörü ekspresyon durumu bir epidermal büyüme faktörü reseptörü antikoru olan setuksimab'a yanıtı belirleyebilmektedir [11,12]. K-ras mutasyonunun olup olmaması da setuksimab'a yanıtı etkileyen faktörlerdendir [13,14]. Bununla birlikte bu moleküler belirteçler tüm tümörlerde gösterilememektedir ve bazı tümörlerde de sınırlı prognostik anlamlılığı olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda apopitotik yolaklarda önemli rol oynayan Bcl-2'nin kolon kanserli hastalarda ekspresyonu araştırıldı. Kolon kanserinde Bcl-2 ekspresyonu ile prognostik rolü daha önce gösterilmiş olan diğer faktörler arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Kolorektal kanserlerde apopitotik belirteçler olan p53 ve Bcl-2 ekspresyonunun araştırıldığı Zhao ve ark. [15] yaptığı çalışmada 93 hastanın %57'sinde Bcl-2 ekspresyonu pozitif olarak saptanmış ve lenf nodu tutulumu olan hastalarda Bcl-2 ekspresyonunun düşük olduğu gösterilmiştir. Scopa ve ark. [16] Ki-67 ile birlikte Bcl-2 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmalarında Bcl-2 ekspresyonu 65% olarak saptanmış ve düşük dereceli tümörü olan ve erken evre hastalarda Bcl-2 ekspresyonunun daha fazla olduğu göstermişlerdir. Bu iki çalışma Bcl-2 ekspresyonunun erken evre hastalık ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlara benzer olarak Bcl-2 ekspresyonunun olmamasının metastazla ilişkili olduğu gösterilmiştir [17]. Çalışmamızda istatiksel anlamlı fark gösterilmemesine rağmen bcl-2 pozitif metastatik hastaların oranı %28.6 iken Bcl-2 negatif hastalarda bu oranı %44.4 idi.

Bcl-2 ekspresyonunun daha iyi prognozla ilişkili olduğunu gösteren Ilyas ve ark [18]. yaptığı çalışmada çalışmamıza benzer olarak cinsiyet, yaş, T evresi, hastalık evresi ile Bcl-2 ekspresyonu arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada ise Bcl-2 ekspresyonunun tümör rekürrensi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [19].

Bcl-2 ekspresyon oranlarının daha düşük saptandığı çalışmalar da vardır. Bcl-2 ekspresyonu ile metastaz arasındaki ilişkiyi gösteren Ogura ve ark.'nın [20] çalışmasındabu oran %31 olarak bulunmuştur. Kolorektal kanser gelişiminde apoptotik belirteçlerinin araştırıldığı bir çalışmada ise %29 oranında bcl-2 ekspresyonu gösterilmiştir [21]. Ofner ve ark. [22] ise %5 ve üzerindeki

Bcl-2 ekspresyon oranını çalışmamıza benzer şekilde %11.2 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmalar arasındaki bu farklılığın hasta sayıları yanında kullanılan yöntem ve cut-off değerinin farklı olmasından kaynaklandığını düşünüyoruz.

Çalışmamızda Bcl-2 ekspresyonunun, istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa da erken hastalıkla ilgili olduğu yönünde bulgular elde ettik. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark gösteremeyişimizin nedeninin çalışmaya alınan hasta sayısının ve Bcl-2 pozitif hasta sayısının azlığı olduğunu düşünüyoruz. Bcl-2 kolay erişilebilir, ucuz ve kullanımı kolay bir prognostik belirteçtir. Kolon kanserli hastalarının prognozunu belirlemede Bcl-2'nin immünohistokimya ile ekspresyonunun gösterilmesinin rolünün olabileceğini düşünüyoruz.

Kaynaklar

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin. 2012;62(1):10-29.
2. Eser S, Yakut C, Özdemir R, Karakilinç H, Özalan S, Marshall SF et al. Cancer incidence rates in Turkey in 2006: a detailed registry based estimation. Asian Pac J Cancer Prev. 2010;11(6):1731-9.
3. Edge, SB, Byrd, DR, Compton, CC, editors. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Cancer Staging Manual, 7th edition, New York: Springer, 2010. p.151-2.
4. Kim GP, Colangelo LH, Wieand HS, Paik S, Kirsch IR, Wolmark N, et al. Prognostic and predictive roles of high-degree microsatellite instability in colon cancer: a National Cancer Institute–National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project collaborative study. J Clin Oncol. 2007;25(7):767-72.
5. Yildirim M, Suren D, Goktas S, Dilli UD, Kaya C, Copuroglu R. The predictive role of Bcl-2 expression in operable locally advanced or metastatic gastric carcinoma. J BUON. 2012;17(1):106-9.
6. Menezes HL, Jucá MJ, Gomes EG, Nunes BL, Costa HO, Matos D. Analysis of the immunohistochemical expressions of p53, bcl-2 and Ki-67 in colorectal adenocarcinoma and their correlations with the prognostic factors. Arq Gastroenterol. 2010;47(2):141-7.
7. Graziano F, Cascinu S. Prognostic molecular markers for planning adjuvant chemotherapy trials in Dukes' B colorectal cancer patients: how much evidence is enough? Ann Oncol, 2003;14(7):1026-38.
8. Resnick MB, Routhier J, Konkin T, Sabo E, Pricolo VE. Epidermal growth factor receptor, c-MET, beta-catenin, and p53 expression as prognostic indicators in stage II colon cancer: a tissue microarray study. Clin Cancer Res. 2004;10(9):3069-75.
9. Cerottini JP, Caplin S, Pampallona S, Givel JC. Prognostic factors in colorectal cancer. Oncol Rep 1999;6(2): 409-414.
10. Whittaker MA, Carr NJ, Midwinter MJ, Badham DP, Higgins B. Acinar morphology in colorectal cancer is asscoiated with survival but is not an independent prognostic variable. Histopathology 1999;36(5): 440-443.
11. Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, Buc E, Bachet JB, Lecomte T, et al. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. J Clin Oncol. 2009;27(35):5924.
12. Personeni N, Fieuws S, Piessevaux H, De Hertogh G, De Schutter J, Biesmans B, Clinical usefulness of EGFR gene copy number as a predictive marker in colorectal cancer patients treated with cetuximab: a fluorescent in situ hybridization study. Clin Cancer Res. 2008;14(18):5869.
13. Santini D, Loupakis F, Vincenzi B, Floriani I, Stasi I, Canestrari E, et al. High concordance of KRAS status between primary colorectal tumors and related metastatic sites: implications for clinical practice. Oncologist. 2008;13(12):1270.
14. Baas JM, Krens LL, Guchelaar HJ, Morreau H, Gelderblom H. Concordance of predictive markers for EGFR inhibitors in primary tumors and metastases in colorectal cancer: a review. Oncologist. 2011;16(9):1239-49.
15. Zhao DP, Ding XW, Peng JP, Zheng YX, Zhang SZ. Prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma. J Zhejiang Univ Sci B. 2005;6(12):1163-9.
16. Scopa CD, Tsamandas AC, Zolota V, Kalofonos HP, Batistatou A, Vagianos C. Potential role of bcl-2 and ki-67 expression and apoptosis in colorectal carcinoma: a clinicopathologic study. Dig Dis Sci. 2003;48(10):1990-7.
17. Giatromanolaki A, Stathopoulos GP, Tsiompanou E, Papadimitriou C, Georgoulias V, Gatter KC, et al. Combined role of tumor angiogenesis, bcl-2, and p53 expression in the prognosis of patients with colorectal carcinoma. Cancer. 1999;86(8):1421-30.
18. Leahy DT, Mulcahy HE, O'Donoghue DP, Parfrey NA. Bcl-2 protein expression is associated with better prognosis in colorectal cancer. Histopathology. 1999;35(4):360-7.
19. Ilyas M, Hao XP, Wilkinson K, Tomlinson IP, Abbasi AM, Forbes A, et al. Loss of Bcl-2 expression correlates with tumour recurrence in colorectal cancer. Gut. 1998;43(3):383-7.
20. Giatromanolaki A, Stathopoulos GP, Tsiompanou E, Papadimitriou C, Georgoulias V, Gatter KC, et al. Combined role of tumor angiogenesis, bcl-2, and p53 expression in the prognosis of patients with colorectal carcinoma.Cancer. 1999;86(8):1421-30.
21. Ogura E, Senzaki H, Yamamoto D, Yoshida R, Takada H, Hioki K, et al. Prognostic significance of Bcl-2, Bcl-xL/S, Bax and Bak expressions in colorectal carcinomas. Oncol Rep. 1999;6(2):365-9.
22. Ofner D, Riehemann K, Maier H, Riedmann B, Nehoda H, Tötsch M, et al. Immunohistochemically detectable bcl-2 expression in colorectal carcinoma: correlation with tumour stage and patient survival. Br J Cancer.1995;72(4):981-5.