

Benign, Premalign ve Malign Prostat Lezyonlarında Ki-67, Bcl-2 ve C-erbB2 Belirteçlerinin Önemi

Significance of Ki-67, Bcl-2 and C-erbB2 Markers in Benign, Premalign and Malign Prostatic Lesions

İlyas SAYAR,¹ İbrahim GELİNCİK,² Aliseydi BOZKURT,³ İrfan BAYRAM⁴

¹Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzincan

²Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ

³Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Erzincan

⁴Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Van

Özet

Amaç: Bu çalışmada benign, premalign ve malign prostat lezyonlarında Ki-67, bcl-2 ve c-erbB2 belirteçlerinin önemi ve karsinomun histolojik derecelendirmesinde belirteçlerin yararlılığı incelendi.

Hastalar ve Yöntem: 1998-2008 yılları arasında 38 benign prostat hiperplazisi (BPH), 35 adenokarsinom (PCA) ve 16 prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) tanısı almış 89 olguya ait örnekler immünohistokimyasal olarak Ki-67, bcl-2 ve c-erbB2 uygulandı ve pozitif hücrelerin yüzdesine göre immünboyanmalar skorlandı.

Bulgular: Ki-67 ile benign lezyonlarda düşük oranda boyanma oranı, karsinomlarda daha yüksek oranda boyanma oranı bulundu. Karsinomlarda Gleason derecesi yüksek olan olguların Ki-67 boyanma oranı, derecesi düşük olanlara göre yüksek bulunarak, Ki-67 immünboyanmasının Gleason skoruyla ilişkili olduğu gösterildi. Bcl-2 ile benign ve premalign lezyonlarda bazal tabakada yüksek oranda boyanma gözlenirken, malign lezyonlarda hiç boyanma saptanmadı. C-erbB2 ile ilginç olarak olguların hiçbirinde boyanma görülmeydi.

Sonuç: Sonuç olarak Ki-67'nin malign lezyonlarda artan histolojik grade ile ilişkili olduğu gözlemlendi. Ayrıca Ki-67'nin benign ve premalign lezyonların ayırıcı tanısında yararlı olabileceği kanısına varıldı. Bcl-2'nin bazal tabaka belirteci olarak klasik belirteçlere ek olarak yararlı olabileceği düşünüldü.

Anahtar sözcükler: Bcl-2; C-erbB2; Ki-67; prostat.

Summary

Background: In this study, we studied the importance of Ki-67, bcl-2 and c-erbB2 markers in benign, premalign and malign prostate lesions, and the usefulness of these markers for histologic grading of carcinoma.

Methods: We applied Ki-67, bcl-2 and c-erbB2 as immunohistochemical markers to the samples from a total of 89 cases including 38 diagnosed benign prostatic hyperplasia (BPH), 35 adenocarcinoma (PCA), 16 prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) in the years between 1998 and 2008, and we scored immunostains according to the percentage of positive cells.

Results: Lower staining proportion was found for Ki-67 in benign lesions, with higher staining proportion in carcinoma. Our results demonstrate that Ki-67 immunostains are related to Gleason score. Among cases in which there is a high Gleason score, stain proportion was found to be much higher than with low Gleason score. However, bcl-2 immunostains indicated considerable stain at the basal layer, with benign and premalign lesions, but there was no sign of staining in malign lesions at all. Interestingly there was no staining of any cases for c-erbB2.

Conclusion: Consequently, it was observed that Ki-67 is related to increased histological grade in malign lesions. We concluded that Ki-67 is useful in the differential diagnosis of benign and premalign lesions. Also bcl-2 is thought to be useful as basal layer marker in addition to classical markers.

Key words: Bcl-2; C-erbB2; Ki-67; prostate.

İletişim: Dr. İlyas Sayar.
Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,
24030 Erzincan

Tel: 0446 - 226 66 66

Başvuru tarihi: 20.09.2011

Kabul tarihi: 03.09.2012

e-posta: drilyassayar@hotmail.com

Giriş

Dokulardaki hücre topluluklarının hacmi proliferasyon, diferansiyasyon ve apoptoz oranlarına göre değişir. Hücre sayısının artması, proliferasyonun artmasına veya hücre ölümünün azalmasına bağlıdır. Prostat kansinomlarında bazal tabakanın kaybolduğunun gösterilmesi tanı açısından önemlidir.^[1]

Ki-67 hücre proliferasyon indeksinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir nonhiston nükleer proteindir. Bcl-2 apoptozu önleyen bir onkogenidir. Prostat hücrelerinin önemli bir yüzdesinde özellikle androjen bağımsız olanlarda salgılanmaktadır.^[2] Normal prostat dokusunda glandın bazal tabaka hücrelerinden salgınır, sekretuar hücrelerden salgınmaz.^[3-5] C-erbB2 tirozin kinaz aktivitesine sahip olup bir büyüme reseptörü olarak görev yaparak hücre büyümesini uyarma yeteneğine sahip olduğu varsayılan bir onkoproteindir.^[6]

Bu çalışmada, benign, premalign ve malign prostat lezyonlarında Ki-67, bcl-2 ve c-erbB2 belirteçlerinin önemi ve kansinomun histolojik derecelendirmesinde bu belirteçlerin yararlılığı incelendi.

Hastalar ve Yöntem

Bu çalışmaya, 1998-2008 yılları arasında Patoloji Anabilim Dalında 38 adet benign prostat hiperplazisi (BPH), 35 adet adenokarsinom (PCA) ve 16 adet prostatik intraepitelyal neoplazi (PiN) tanısı konan olgu alındı. Olguların lam arşivinden çıkarılan preparatları, ışık mikroskopunda yeniden gözden geçirildi. Tümör diferansiyasyonu Gleason skoruna göre ayrı ayrı değerlendirildi.

Ki-67 immün reaktivitesinin değerlendirilmesi için standart ışık mikroskopunda x 40 objektif ile pozitifliğin minimum ve maksimum olduğu beşer alan seçilerek, 10 alanda toplam 1000 hücre sayıldı. Ki-67 immün boyanmalarında, tüm nükleer boyanmalar boyanma şiddetindeki farklılığa bakılmaksızın pozitif kabul edildi. Ki-67 primer antikorla boyanan kesitlerde mevcut olan hücrelerden, çekirdekleri kırmızı-kahve renkte boyananlar pozitif kabul edildi, bu hücreler arasında bulunan boyanmış hücreler hesaplandı ve sonuçta proliferasyon indeksi değeri bulundu.^[7]

Bcl-2 pozitifliğinin değerlendirilmesinde sitoplazmik ve membranöz boyanma, c-erbB2 için tam membranöz boyanma dikkate alındı.^[8-10]

Sonuçlar pozitif hücrelerin yüzdesi olarak ifade edildi.

Bu skorlama sistemine göre Ki-67 için;

hiç boyanma gözlenmeyen olgular (-),
%5'ten düşük Ki-67 indeksi olanlar (+),
%5-9 arası Ki-67 indeksi olanlar (++),
%10-20 arası Ki-67 indeksi olanlar (+++),
%21-50 arası Ki-67 indeksi olanlar (++++)
%50'den fazlası (+++++)

olarak değerlendirildi.

Ayrıca %20'nin altı düşük Ki-67 labelling indeksi, %20'nin üstü yüksek Ki-67 labelling indeksi olarak değerlendirildi.^[8-10]

Bcl-2 ve c-erbB2 için;^[11]

hiç boyanma gözlenmeyen olgular (-),
%0-5 arasında boyanma gösteren olgular (+),
%5-50 arasında boyanma gösteren olgular (++),
%50'den fazla boyanma gösteren olgular (+++)
olarak değerlendirildi.

Tanımladığımız skorlama sistemine göre olguları kıyaslamak için korelasyon testi uygulandı. Uygulanan Spearman'ın rho korelasyon testinde istatistiksel olarak p değeri 0.01'den büyük olanlar (p>0.01) anlamsız, p değeri 0.01'den küçük olanlar (p<0.01) anlamlı olarak kabul edildi. İstatistiksel değerlendirmelerin tümü Windows altında çalışan SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Benign prostat hiperplazili 38 olguda Ki-67 ile yapılan immün boyanmada 26'sı (%68.4) (+) iken, 12'si (%31.6) (-) olarak izlendi. On altı PiN'li hastadan üçü (%18.75) (-), dördü (%25) (+), sekizi (%50) (++), biri (%6.25) (+++++) boyandı. Otuz beş PCA'lı hastadan dördü (%11.42) (+), 12'si (%34.29) (++), 13'ü (%37.14) (+++), üçü (%8.57) (++++), ikisi (%5.71) (+++++) olarak gözlenirken bir olguda boyanma olmadı (%2.86) (Tablo 1).

Çalışmamızda Ki-67 proliferasyon indeksini BPH'lı olgularda %1.16, düşük dereceli prostatik intraepitelyal neoplazilerde (DDPiN) %3.75, yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazilerde (YDPiN) %7.88, PCA'larda %13.54, iyi diferansiyasyonlu prostat adenokarsinomunda (İDPCA) %3.00, orta derecede diferansiyasyonlu prostat adenokarsinomunda (ODPCA) %8.57, az diferansiyasyonlu prostat adenokarsinomunda (ADPCA) %21.78 olarak bulduk.

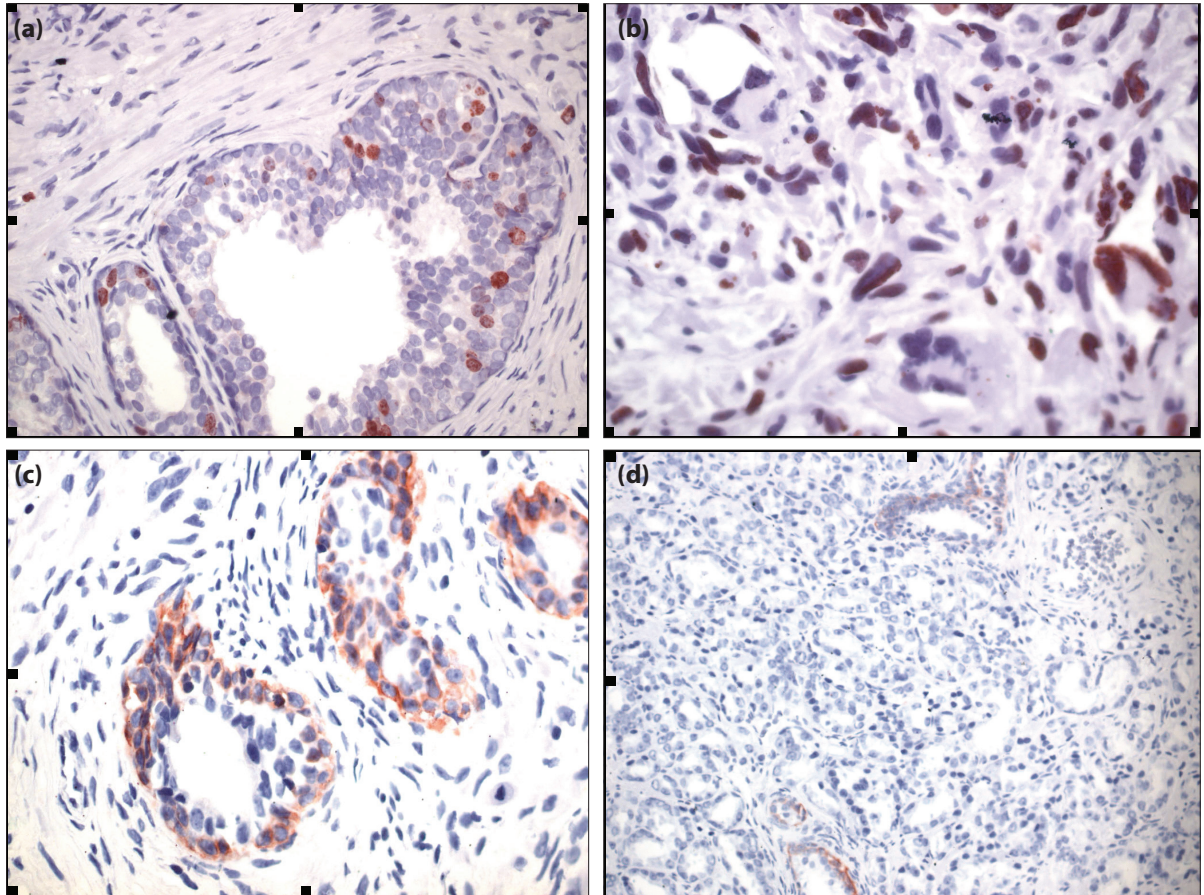
Tablo 1. Çalışma gruplarında Ki-67 boyanması

Tanı	Olgu sayısı	Ki-67					
		-	+	++	+++	++++	+++++
BPH	38	12	26	0	0	0	0
PİN	DDPİN	8	2	2	4	0	0
	YDPİN	8	1	2	4	0	1
PCA	İDPCA	2	0	1	1	0	0
	ODPCA	18	0	1	11	6	0
	ADPCA	15	1	2	0	7	3

BPH: Benign prostat hiperplazisi; PİN: Prostatik intraepitelyal neoplazi; PCA: Adenokarsinom; DDPİN: Düşük dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi; YDPİN: Yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi; İDPCA: İyi diferansiye prostat adenokarsinomu; ODPCA: Orta diferansiye prostat adenokarsinomu; ADPCA: Az diferansiye prostat adenokarsinomu.

Spearman'ın rho korelasyon testi kullanıldığında; istatistiksel olarak karşılaştırmalı şekilde BPH ve ODPCA için $p=0.0001$, BPH ve ADPCA için $p=0.004$, DDPİN ve YDPİN

için $p=0.009$, DDPİN ve ADPCA için $p=0.006$, YDPİN ve ADPCA için $p=0.001$, ADPCA ve ODPCA için $p=0.0001$ bulunarak, $p<0.01$ olduğundan anlamlı bulundu.



Şekil 1. (a) Yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (Ki-67 x 200). (b) Az diferansiye adenokarsinom (Ki-67 x 400). (c) Düşük dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (Bcl-2 x 200). (d) Normal prostat glandları ve prostat adenokarsinomu (Bcl-2 x 100).

Renkli şekiller derginin online sayısında görülebilir (www.keahdergi.org)

Tablo 2. Çalışma gruplarında bcl-2 boyanması

	Olgu sayısı	Şiddet			
		(-)	(+)	(++)	(+++)
BPH	38	10	7	14	7
DDPİN	8	3	0	0	5
YDPİN	8	1	0	0	7
PCA	35	35	0	0	0

BPH: Benign prostat hiperplazisi; PCA: Adenokarsinom DDPİN: Düşük dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi; YDPİN: Yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi.

Yüksek Ki-67 labelling seviyesi %20'nin üstü, düşük Ki-67 labelling seviyesi %20'nin altı olarak alındı. Sekiz DDPİN'nin tamamı (%100) düşük Ki-67 labelling seviyesi olarak izlendi. YDPİN'lerde sekiz olgunun biri (%12.5) yüksek Ki-67 labelling seviyesi (Şekil 1a), yedisi (%87.5) düşük Ki-67 labelling seviyesi olarak gözlemlendi. PCA'larda ise 35 olgunun beşi (%14.29) yüksek Ki-67 labelling seviyesi (Şekil 1b), 30'u (%84.31) düşük Ki-67 labelling seviyesi olarak saptandı.

Bcl-2 ile yapılan boyamada 38 BPH olgusunun 10'unda (%26.32) (-) boyanma, yedisinde (%18.42) (+) boyanma, 14'ünde (%36.84) (++) boyanma, yedisinde (%18.42) (+++) boyanma izlendi. Sekiz DDPİN olgusunun üçü (%37.5) (-), beşi (%62.5) (+++) olarak gözlemlendi (Şekil 1c). Sekiz YDPİN olgusunun biri (%12.5) (-), yedisi (%87.5) (+++) boyandı. PCA olgularının hiçbirinde bcl-2 ile boyanma gözlemlenmedi (Tablo 2).

Tipik olarak ışık mikroskopisinde aynı kesitlerde gözlenen, normal prostat glandları ile karsinom glandlarının bcl-2 ile yapılan immünohistokimyasal çalışmasında, bazal tabakanın iyi diferansiye karsinom glandlarında boyanma göstermediği fakat normal prostat glandlarında ise boyanma gösterdiği gözlemlendi (Şekil 1d).

C-erbB2 immünboyama için kontrol blok olarak üç pozitif (+++) meme invaziv duktal karsinom çalışılmasına rağmen, prostat olgularının hiçbirinde boyanma görülmedi.

Tartışma

Prostat kanserleri genellikle düşük düzeyde proliferasyona sahiptir. Akım sitometrisi S faz fraksiyonunun saptanması, bromodeoksiüridin işaretleme, proliferasyon hücre nükleer antijenlerinin PCNA ve Ki-67'nin

immünohistokimyasal olarak boyanması gibi farklı teknikler hücresel proliferasyonunu değerlendirmede kullanılır. PCA'larda Ki-67 işaretleme indeksinin, hem hastalığın sınırlı olduğu hem de lenf nodu metastazlı olgularda tümör spesifik mortaliteyi saptadığı söylenmektedir.^[12]

Prostat adenokarsinomlarında Gleason sınıflaması kullanılan olgularda Gleason skoru 2, 3 ve 4 olanlar düşük, 5, 6 ve 7 olanlar orta, 8, 9 ve 10 olanlar yüksek skorlu gruplar olarak değerlendirilmektedir. Ancak son yıllardaki çalışmalarda özellikle patern 4'ün de görüldüğü olgularda prognozun belirgin biçimde kötüleştiği, bu nedenle skoru 7 olan olguların ayrıca değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır.^[13]

Prostatik intraepitelyal neoplazi olguların çoğunda kanserle birliktelik gösterir. PCA'ların çoğunun geliştiği (%70) prostatın periferik bölgesi, aynı zamanda PİN'in de en sık lokalize olduğu alandır.^[3,14]

Gallee ve ark.^[15] PCA ve BPH'da büyüme fraksiyonu olarak Ki-67'yi değerlendirmişler, BPH'da Ki-67 antikoruna için nükleer immünreaktivite gösteren hücrelerin ortalama değerini %0.3 oranında bulmuşlardır. PCA'larda ise ortalama %2.9 olarak bularak oldukça düşük olduğunu vurgulamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise Ki-67 proliferasyon indeksi BPH'da negatif iken PCA'da yüksek oranda bulunmuştur.^[16]

Thompson ve ark.^[17] PCA'da Ki-67 proliferasyon indeksini BPH'dan daha yüksek oranda boyandığını bulmuşlar, fakat karsinom derecelendirmesi ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel bir ilişki bulamamışlardır. Mucci ve ark.^[18] Ki-67 proliferasyon indeksini BPH'da %0.55, YDPİN'de %2.28, PCA'da %5.35 olarak bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Ki-67 indeksi en yüksek değerleri PCA'da alırken, en düşük değerleri BPH'da almıştır. YDPİN'lerde ise ikisinin arasında değerler almıştır.^[19] Zellweger ve ark.^[20] ise yaptıkları bir çalışmada BPH, PİN ve İDPCA'larda düşük Ki-67 labelling seviyesi tespit etmişlerdir (p<0.005). Artan Gleason skoruyla birlikte ADPCA ve ODPCA'larda yüksek Ki-67 labelling seviyesi bildirmişlerdir.

Yukarıda örnekleri verildiği gibi proliferasyonun prognostik değerinin gücü birçok grup tarafından incelenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazıları derece ve evre ile pozitif ilişki rapor etmişken, diğerleri böyle bir anlamlı ilişki tespit etmemişlerdir. Bizim çalışmamızda Ki-67 proliferasyon indeksi, YDPİN'lerde %7.88, DDPİN'lerde %3.75, PCA'da %13.54, ADPCA'da %21.78,

ODPCA'da %8.57, İDPCA'da %3.00 olarak bulundu. BPH DDPİN, YDPİN, ODPCA ve ADPCA birbirleriyle karşılaştırıldığında Ki-67 proliferasyon indeksi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.01$). Ayrıca Ki-67 proliferasyon indeksi BPH ve DDPİN'ler ile karşılaştırıldığında YDPİN ve PCA'larda yüksek Ki-67 labelling seviyesi saptanarak proliferasyon indeksi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.01$). ADPCA'larda yüksek proliferasyon indeksi izlenirken, İDPCA'larda ve ODPCA'larda düşük proliferasyon indeksi bulunarak PCA'larda artan Gleason skoruyla da doğru ilişkili olduğu saptandı. Ki-67 proliferasyon indeksinin BPH ile PİN, BPH ile PCA, PİN ile PCA, DDPİN ile YDPİN, ODPCA ve ADPCA ayırıcı tanısında yararlı olacağı kanısına varıldı.

Tümörlerin çoğu tarama programları çerçevesinde erken dönemde rastlantısal olarak belirlenmekte ve bu tümörlerin malignite potansiyeli kesin olarak bilinmemektedir. Bu olgularda gereksiz tedavileri önlemek ve bazen çok agresif seyredabilen tümörleri ayırabilmek için yeni metodlara ihtiyaç duyulmaktadır.^[21-23] Genel olarak apoptotik oranın tüm prostat lezyonlarında düşük oranda olduğu, PİN ve PCA'larda BPH'tan daha fazla oranda olduğu bildirilmiştir.^[24] Baltacı ve ark.^[25] yaptığı çalışmada BPH'larda bazal tabaka hücrelerinde boyanma olduğunu belirtirken, luminal hücrelerde boyanma olmadığını bildirmişlerdir. YDPİN'lerde %80, DDPİN'lerde ise %67 oranında hem bazal hem de luminal hücrelerde boyanma olduğunu saptamışlardır. Yapılan iki çalışmada bcl-2'nin yüksek dereceli tümörlerde yüksek oranda eksprese olduğu bildirilirken,^[26,27] diğer iki çalışmada^[8,28] bcl-2 ile tümör dereceleri arasında bağlantı olmadığı vurgulanmıştır.

Hausler ve ark.^[24] bcl-2'nin BPH'ta bazal tabaka hücrelerinde diffüz olarak eksprese edildiğini, fakat PCA'larda sadece %3 oranında eksprese edildiğini bildirmişlerdir. Johnson ve ark.^[19] YDPİN ve PCA'ları karşılaştırdıkları bir çalışmada YDPİN'lerde bcl-2 boyanma oranını %34.9 olarak bildirmişlerdir. Ramos Soler ve ark.^[29] bcl-2'yi bazal tabaka belirteci olarak kullandıkları 48 olgulu bir çalışmada prostat kansinomu 46 olgunun (%95.83) bcl-2 ile boyanmadığını, iki olgunun (%4.17) ise çok zayıf boyandığını, YDPİN'lerde ise 38 olgudan 35'inin (%95.1) boyandığını bildirmişlerdir. BPH'da ise 44 olgudan 34'ünün (%77.28) boyanma gösterdiğini belirtmişlerdir.

Yukarıda sunulan çalışma sonuçlarına göre ve bizim yaptığımız çalışmada prostat lezyonlarında bcl-2 ile immünboyanma farklılıkları mevcut olup, heterojen

bir boyanma gösterdiği gözlenmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada bcl-2 ile PCA olgularında bazal tabaka hücrelerinde boyanma gözlenmemesi, diğer prostat lezyonlarında yüksek oranda boyanma gözlenmesi, özellikle Ramos Soler ve ark.nın^[29] yaptığı çalışmaya paralel olarak, bcl-2'nin bazal tabaka belirteci olarak kullanılabileceğini düşündürdü. PCA ile karışıklık yaratan küçük prostat glandlarında, bcl-2'nin diğer bilinen klasik belirteçlere ek olarak, bazal tabaka belirteci olarak kullanılmasının faydalı olabileceği gözlemlendi. Ayrıca bazal tabaka dışındaki hücrelerde bcl-2 ekspresyonunun gözlenmemesi, yukarıda belirtilen bazı çalışmaların aksine, apoptotik oranla prostat lezyonları arasındaki ilişkiyi desteklemedi.

C-erbB2 gen amplifikasyonunun PCA'larda tümör derecesi, evresi ve nondiploid DNA içeriği ile ilişkili olduğu bulunmuştur.^[30] Yapılan iki çalışmada^[24,31] c-erbB-2'nin BPH ve PİN'lerde yaygın ekspresyonunu bildirilirken, PCA'larda ekspresyonun düşük, hatta olmadığı saptanmıştır. Zellweger ve ark.^[20] PCA'larda c-erbB2 boyanma oranını (%4.85) olarak bildirmişler, PİN'lerde ise boyanma olmadığını saptamışlardır.

Bu çalışmada prostatın benign, premalign ve malign lezyonlarında c-erbB2 ile herhangi bir boyanma gözlenmedi. C-erbB2 ile özellikle PCA'da literatürde^[31,32] değişik oranlarda ekspresyon oranı bildirilmesine karşın çalışmamızda prostat lezyonları ile c-erbB2 ekspresyonu arasında bir ilişkili bulunamadı.

Sonuç olarak, Ki-67 proliferasyon indeksinin malign lezyonlarda, benign ile premalign lezyonlara ve premalign lezyonlarda benign lezyonlara oranla daha yüksek olduğu gözlemlendi. Ki-67'nin prostatın benign, premalign ve malign lezyonlarının ayırımında yararlı olabileceği kanısındayız. Ayrıca bcl-2'nin de bilinen klasik belirteçlere ek olarak bazal tabaka belirteci olarak kullanılabileceğini düşündük.

Çıkar Çatışması

Yazar(lar) çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Kaynaklar

1. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Cellular adaptations, cell injury, and cell death. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, eds. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2005. p. 3-46.
2. McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, Logothetis C, Chung LW, Hsieh JT, et al. Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with

- emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 1992;52(24):6940-4.
3. Kyprianou N, Tu H, Jacobs SC. Apoptotic versus proliferative activities in human benign prostatic hyperplasia. *Hum Pathol* 1996;27(7):668-75.
 4. Van Brussel JP, Mickisch GH. Prognostic factors in prostate and testis cancer. *BJU Int* 1999;83(8):910-7.
 5. Grignon DJ, Hammond EH. College of American Pathologists Conference XXVI on clinical relevance of prognostic markers in solid tumors. Report of the Prostate Cancer Working Group. *Arch Pathol Lab Med* 1995;119(12):1122-6.
 6. von Bossanyi P, Sallaba J, Dietzmann K, Warich-Kirches M, Kirches E. Correlation of TGF- α and EGF-receptor expression with proliferative activity in human astrocytic gliomas. *Pathol Res Pract* 1998;194(3):141-7.
 7. Wang W, Johansson H, Kvasnicka T, Farnebo LO, Grime-lius L. Detection of apoptotic cells and expression of Ki-67 antigen, bcl-2, p53 oncoproteins in human parathyroid adenoma. *APMIS* 1996;104(11):789-96.
 8. Bubendorf L, Sauter G, Moch H, Jordan P, Blöchlinger A, Gasser TC, et al. Prognostic significance of bcl-2 in clinically localized prostate cancer. *Am J Pathol* 1996;148(5):1557-65.
 9. Torhorst J, Bucher C, Kononen J, Haas P, Zuber M, Köchli OR, et al. Tissue microarrays for rapid linking of molecular changes to clinical endpoints. *Am J Pathol* 2001;159(6):2249-56.
 10. Zellweger T, Ninck C, Mirlacher M, Anefeld M, Glass AG, Gasser TC, et al. Tissue microarray analysis reveals prognostic significance of syndecan-1 expression in prostate cancer. *Prostate* 2003;55(1):20-9.
 11. Apakama I, Robinson MC, Walter NM, Charlton RG, Royds JA, Fuller CE, et al. Bcl-2 overexpression combined with p53 protein accumulation correlates with hormone-refractory prostate cancer. *Br J Cancer* 1996;74(8):1258-62.
 12. Rosai J. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 10th ed., Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto: Mosby; 2011. p. 1287-334.
 13. Montie JE. Current prognostic factors for prostate carcinoma. *Cancer* 1996;78(2):341-4.
 14. Mills SE, Carter D, Greenson JK, Reuter VE, Stoler MH. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 5th ed., Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo: Lippincott Williams Wilkins; 2010. p. 1870-914.
 15. Gallee MP, Visser-de Jong E, ten Kate FJ, Schroeder FH, Van der Kwast TH. Monoclonal antibody Ki-67 defined growth fraction in benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer. *J Urol* 1989;142(5):1342-6.
 16. Madani SH, Ameli S, Khazaei S, Kanani M, Izadi B. Frequency of Ki-67 (MIB-1) and P53 expressions among patients with prostate cancer. *Indian J Pathol Microbiol* 2011;54(4):688-91.
 17. Thompson SJ, Mellon K, Charlton RG, Marsh C, Robinson M, Neal DE. P53 and Ki-67 immunoreactivity in human prostate cancer and benign hyperplasia. *Br J Urol* 1992;69(6):609-13.
 18. Mucci NR, Rubin MA, Strawderman MS, Montie JE, Smith DC, Pienta KJ. Expression of nuclear antigen Ki-67 in prostate cancer needle biopsy and radical prostatectomy specimens. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(23):1941-2.
 19. Johnson MI, Robinson MC, Marsh C, Robson CN, Neal DE, Hamdy FC. Expression of bcl-2, Bax, and p53 in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and localized prostate cancer: relationship with apoptosis and proliferation. *Prostate* 1998;37(4):223-9.
 20. Zellweger T, Ninck C, Bloch M, Mirlacher M, Koivisto PA, Helin HJ, et al. Expression patterns of potential therapeutic targets in prostate cancer. *Int J Cancer* 2005;113(4):619-28.
 21. Spires SE, Banks ER, Davey DD, Jennings CD, Wood DP Jr, Cibull ML. Proliferating cell nuclear antigen in prostatic adenocarcinoma: correlation with established prognostic indicators. *Urology* 1994;43(5):660-6.
 22. Strohmeyer D, Rössing C, Strauss F, Bauerfeind A, Kaufmann O, Loening S. Tumor angiogenesis is associated with progression after radical prostatectomy in pT2/pT3 prostate cancer. *Prostate* 2000;42(1):26-33.
 23. Yörükoglu K, Sagol O, Ozkara E, Mungan U, Kirkali Z. Comparison of microvascularization in diagnostic needle biopsies and radical prostatectomies in prostate carcinoma. *Eur Urol* 1999;35(2):109-12.
 24. Häussler O, Epstein JI, Amin MB, Heitz PU, Hailemariam S. Cell proliferation, apoptosis, oncogene, and tumor suppressor gene status in adenosis with comparison to benign prostatic hyperplasia, prostatic intraepithelial neoplasia, and cancer. *Hum Pathol* 1999;30(9):1077-86.
 25. Baltaci S, Orhan D, Ozer G, Tolunay O, Gögüs O. Bcl-2 proto-oncogene expression in low- and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *BJU Int* 2000;85(1):155-9.
 26. Krajewska M, Krajewski S, Epstein JI, Shabaik A, Sauvageot J, Song K, et al. Immunohistochemical analysis of bcl-2, bax, bcl-X, and mcl-1 expression in prostate cancers. *Am J Pathol* 1996;148(5):1567-76.
 27. Stattin P, Damber JE, Karlberg L, Nordgren H, Bergh A. Bcl-2 immunoreactivity in prostate tumorigenesis in relation to prostatic intraepithelial neoplasia, grade, hormonal status, metastatic growth and survival. *Urol Res* 1996;24(5):257-64.
 28. Colombel M, Symmans F, Gil S, O'Toole KM, Chopin D, Benson M, et al. Detection of the apoptosis-suppressing oncoprotein bcl-2 in hormone-refractory human prostate cancers. *Am J Pathol* 1993;143(2):390-400.
 29. Ramos Soler D, Mayordomo Aranda E, Calatayud Blas A, Rubio Briones J, Solsona Narbón E, Llombart Bosch A. Usefulness of bcl-2 expression as a new basal cell marker in prostatic pathology. [Article in Spanish] *Actas Urol Esp*

2006;30(4):345-52. [Abstract]

30. Ross JS, Sheehan C, Hayner-Buchan AM, Ambros RA, Kallakury BV, Kaufman R, et al. HER-2/neu gene amplification status in prostate cancer by fluorescence in situ hybridization. *Hum Pathol* 1997;28(7):827-33.
31. Osman I, Scher HI, Drobnjak M, Verbel D, Morris M, Agus D, et al. HER-2/neu (p185neu) protein expression in the natural or treated history of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7(9):2643-7.
32. Sanchez KM, Sweeney CJ, Mass R, Koch MO, Eckert GJ, Geary WA, et al. Evaluation of HER-2/neu expression in prostatic adenocarcinoma: a requested for a standardized, organ specific methodology. *Cancer* 2002;95(8):1650-5.