VÝZNAM BCL-2 GÉNU PRI NÁDOROCH HLAVY A KRKU A NÁDOROCH SLINNÝCH ŽLIAZ

Katarína Obtulovičová[1], Ivo Stárek[2]
[1]*Klinika Otorinolaryngológie a chirurgie hlavy a krku, Ústredná vojenská nemocnica, Ružomberok*
[2]*Klinika otolaryngologická, Fakultní nemocnice Olomouc*

Karcinómy hlavy a krku charakterizuje lokálna agresivita tumoru, časté rekurencie, regionálne a vzdialené metastázy a vývoj sekundárnej malignity. Kľúčom k účinnej liečbe je identifikácia jednotlivých krokov v onkogenéze pomocou molekulárnych markerov. Jedným z nich je bcl-2 gén, ktorý významným spôsobom zasahuje do apoptotických dejov normálnych a nádorových buniek. Autori predkladajú literárny prehľad prác zaoberajúcich sa bcl-2 génom u dlaždicovobunkových karcinómov aerodigestívneho traktu a nádorov slinných žliaz. Bcl-2 gén považujú za významný marker zlej prognózy.
Kľúčové slová: apoptóza, bcl-2 gén, karcinómy hlavy a krku, nádory slinných žliaz

IMPORTANCE OF BCL-2 GENE IN HEAD AND NECK TUMOURS AND SALIVARY GLAND TUMOURS
Head and neck carcinomas are notorious for their agressive growth, regional and distant metastasis, occurence of secondary malignancy and high incidence of reccurencies. Recently, treatment of these tumours can hardly be effective without understanding of their biology, based on identification of particular oncogenetic steps using molecular markers. One of them, the bcl-2 gene, regulates apoptotic events both in normal and tumour cells. The authors present literary review of clinical significance of bcl-2 immunohistochemical expression - in head and neck salivary gland tumours. Authors consider bcl-2 expression for bad prognostic factor.
Key words: apoptosis, bcl-2 gene, head and neck tumours, salivary gland tumours

Otorinolaryngol. chir. hlavy krku 2011; 5 (1): 24-27

Úvod

Súčasným problémom karcinómov hlavy a krku je zlá prognóza u pokročilých štádií, kedy ani radikálna a často mutilujúca chirurgická liečba s adjuvantnou rádioterapiou a klasickými cytostatikami nie je schopná zabrániť lokoregionálnym recidívam a vzdialenému rozsevu tumoru. Pozornosť relevantných onkologických tímov sa tak zameriava na zlepšenie kvality života. Táto taktika spočíva v aplikácii záchovného protokolu, t.j. nahradenie funkčne a kozmeticky závažných operačných výkonov konzervatívnejšími onkologickými metódami. Ideálom k presnej indikácii záchovného protokolu je stanovenie individuálnej citlivosti pomocou molekulárnych markerov. To zároveň otvára potenciálne možnosti k cielenej biologickej liečbe spočívajúcej v blokáde jednotlivých krokov onkogenézy determinovanej supresorickými génmi a protoonkogénmi[(30)]. V súčasnosti je u dlaždicovobunkových karcinómov horného aerodigestívneho traktu najlepšie preskúmaný gén pre receptor epidermálneho rastového faktoru (EGFR). Jeho blokáda monoklonálnou protilátkou (Cetuximab, fi.názov Erbitux) sa s rôznou účinnosťou využíva pri lokálne pokročilých a generalizovaných nádoroch. Ďalším z intenzívne študovaných génov významných pre vznik a ďalšie správanie nádorov sú gény regulujúce apoptotické procesy ich buniek.

Termín apoptóza, doslovne znamenajúci „opadávanie listov“ prvýkrát v biológii použili v r. 1972 Kerr, Willie a Currie (Brit. J. Cancer 26:239). Ide o programovanú smrť bunky, ktorá sa líši od iného základného mechanizmu odumretia bunky, nekrózy. Tá je živelným procesom, následkom pôsobenia vonkajších biologických, fyzikálnych či chemických škodlivín, sprevádzaným zápalovou reakciou. Deregulácia apoptózy vedie ku vzniku celej rady patologických stavov a mnohých tumorov. Evolučne rozoznávame 2 typy apoptózy, receptorovú a mitochondriálnu. Prvá z nich, spustená väzbou tzv. death ligandov, sa uplatňuje predovšetkým pri vývoji lymfatického tkaniva. Jej poruchy sú späté so vznikom malígnych lymfómov. Mitochondriálna apoptóza, ktorá sa vyvinula ako ochrana pred replikačnými defektami DNA, je iniciovaná ruptúrou membrány mitochondrií, ktoré obsahujú veľké množstvo proapoptotických molekúl. Oba pôvodne na sebe nezávislé apoptotické pochody sa zbiehajú do spoločnej, už ireverzibilnej dráhy. Na jej začiatku stojí aktivácia efektorových kaspáz a následne aj ďalších enzýmov, čo vedie k degradácii DNA a následne ďalších bunkových štruktúr, ktoré sú fagocytované. Apoptotický proces vrcholiaci za 12 až 14 hodín smrťou bunky môže byť spustený fyziologickými stimulmi (napr. v rámci udržania tkanivovej homeostázy alebo počas embryonálneho vývinu) a tiež rôznymi vonkajšími aj vnútornými faktormi, ako sú ionizujúce žiarenie, cytostatiká a iné (hypertermia, toxíny, steroidové hormóny, cytokíny, NO, vírusy). Antiapoptotické pochody chrániace bunky pred odumretím sú príčinou rezistencie nádorov na rádioterapiu a chemoterapiu. Sú definované 4 skupiny génov regulujúcich apoptózu - 1. gény s regulačnou funkciou, t.j. bcl-2 skupina a p53, 2. gény s iniciačnou funkciou, 3. gény ovplyvňujúce priebeh apoptózy a morfológiu a 4. gény zodpovedné za fragmentáciu DNA.

Skupina bcl-2 sa skladá z inhibítorov a promótorov apoptózy, ktorých vzájomný pomer determinuje apoptotický potenciál bunky. Do podskupiny promótorov (proapoptotické proteíny), ktoré môžu pôsobiť ako nádorové supresory patria BAX, Bak, bcl-X(s), Bad, Bik, Bid. Medzi inhibítory (antiapoptotické proteíny) radíme bcl-2, bcl-X(L), Mcl-1, A1, bcl-w. Najlepšie poznané a preskúmané sú bcl-2 a Bax proteíny. Skupina bcl-2 je regulovaná na rôznych úrovniach cytokínmi a ďalšími signálmi na prežitie. Antiapoptotické gény príbuzné bcl-2 sú potenciálne onkogénne a niektoré mutácie pravdepodobne nepriamo zvyšujú ich expresiu. Nezávisle od úlohy v apoptóze majú proteíny skupiny bcl-2 tiež schopnosť ovplyvňovať vstup buniek do bunkového cyklu jeho zástavou v G0 a G1 fáze[19].

Princípom liečby nádorov radiáciou a cytostatikami je narušenie DNA nádorových buniek, čo je signálom na začatie apoptózy. Determinantom senzitivity, resp. rezistencie k týmto terapeutickým modalitám je apoptotický potenciál tumoru. Znížená expresia antiapoptotického bcl-2 a zvýšená tvorba proapoptotických onkoproteínov signalizuje citlivosť nádorovej bunky k cytotoxickým efektom chemoterapeutík. Pre schopnosť bcl-2 blokovať apoptotickú smrť bunky indukovanú protinádorovými látkami môže sa tento považovať za významný v rozvoji liekovej rezistencie[8].

Bcl-2 gén bol prvýkrát identifikovaný pri folikulárnom B-lymfóme na translokačnom zlome medzi chromozómami 14 a 18. Uplatňuje sa pri vzniku a progresii celej rady nádorov. Jeho proteín je exprimovaný v organizovaných tkanivách, predovšetkým lymfoidných, ale aj epiteliálnych a neepiteliálnych. Bcl-2 je tu markerom dlhodobo prežívajúcich kmeňových buniek slúžiacich na obnovu tkanív. Exprimujú ho aj niektoré bunky postmitotické - napr. neuróny[13]. V neustále sa obnovujúcej sliznici GIT-u je bcl-2 pozitivita viazaná na bunky bazálnej vrstvy. Ojedinele je prítomná aj v okolitých proliferujúcich bunkách, nikdy nie je na povrchu epitelu[3,4]. Expresia bcl-2 bola tiež potvrdená v bazálnych bunkách nosohltana a bronchov[28]. Okrem apoptotickej funkcie sa špekuluje, že bcl-2 proto-onkogén zasahuje aj do procesu bunkovej proliferácie a diferenciácie[15]. Najnovšie bola stanovená úloha bcl-2 ako koordinátora medzi endoteliálnymi bunkami a bunkami tumoru s významom pre neovaskularizáciu.

Diskusia

Z praktického hľadiska je bcl-2 významný ako diferenciálno diagnostický marker len pri folikulárnom B-lymfóme. U solídnych nádorov sa aktivácia signálnej dráhy bcl-2 génu považuje za všeobecne nepriaznivý faktor ich biologického správania. Pri dlaždicovobunkovom karcinóme hlavy a krku patrí bcl-2 k najlepšie preštudovaným génom. Farnebo dokázal na 39 rastových populáciách buniek vplyv bcl-2 na ICS (intrinsic cisplatin sensitivity). Bcl-2 označil za prediktor senzitivity SCCA hlavy a krku na cisplatinu[8]. Vysoká expresia bcl-2 protoonkogénu v nádoroch všeobecne a jeho úloha vo vzniku rezistencie na chemoterapeutikami indukovanú apoptózu predurčuje bcl-2 ako vhodný cieľ cielenej biologickej liečby. Genasense (oblimersen sodium, G3139) je oligonukleotid, ktorý sa naväzuje na prvých 6 kodónov ľudskej bcl-2 mRNA a znižuje tak expresiu bcl-2 proteínu (gene-silencing strategy), čo napomáha apoptóze, otvára nový smer v terapii nádorových ochorení[29]. Zaraďujeme ho medzi tzv. antisense oligonucleotides (ASOs). Použitie oblimersenu v kombinácii s inými chemoterapeutikami má dobrú odpoveď s dobrou toleranciou u mnohých typov rakoviny. Skúša sa v liečbe hematologických malignít (CLL, myeloma multiplex) a malígneho melanómu. V štúdii Loriot hodnotil efektívnosť kombinácie bcl-2 ODN a rádioterapie pri malobunkovom karcinóme pľúc. Ukázalo sa, že radiácia zvýšila intracelulárnu a intratumoróznu penetráciu oblimersenu, čo potvrdilo závery predchádzajúcich štúdií pri karcinóme prostaty. Oblimersen zvýšil rádiosenzitivitu H69 buniek in vitro aj in vivo[24]. Raab referoval o fáze I. klinickej štúdie s použitím oblimersenu v kombinácii s cisplatinou a 5-fluorouracilom pri liečbe karcinómu pažeráka a gastrického karcinómu, kde uvedenú kombináciu považuje za možnú a tolerovateľnú. Racionálne využitie cielenej biologickej liečby závisí od úspešnej aplikácii diagnostických metód molekulárnej biológie a vytvorenia molekulárneho profilu pacienta - vybratí pacienta, ktorý bude z tejto liečby profitovať.

V skupine prác zameraných na **dlaždicovobunkový karcinóm hlavy a krku** bez špecifikácie lokality Smilek analýzou 217 pacientov zistil, že pozitivita bcl-2 bola signifikantná pre celkové prežívanie, nie však pre klinickú remisiu[32]. Overexpresia bcl-2 bola spojená so signifikantne horšou prognózou aj v rôznorodej skupine včasných (T1-2) tumorov[9].

U pacientov s **karcinómom hrtana** zistil Jackel (88 pacientov)[17] štatisticky významnú koreláciu expresie bcl-2 s pokročilým nádorovým ochorením (klinicko-patologickými charakteristikami). Georgiou (30 pacientov) určil bcl-2 za nezávislý prognostický faktor zlej prognózy ochorenia a horšieho prežívania[3]. Jackel (88 pacientov) označil bcl-2 expresiu v univariate analýze za zlý prognostický faktor skracujúci prežívanie. V multivariate analýze bola jediným negatívnym prediktorom zlej prognózy koexpresia Bcl-2 /p53[18]. V porovnaní s predchádzajúcimi zisteniami žiadny prognostický význam expresie bcl-2 nezistil Hirvikoski (172 pacientov s karcinómom hrtana)[12] a ani Lazaris (64 pacientov s karcinómom hrtana)[21]. Ojedinele sa stretávame s kontroverznými výsledkami, ako napr. zistenie Georgiousa, kde zvýšená expresia bcl-2 bola spojená s lepším 5-ročným prežívaním (38 pacientov s karcinómom hrtana)[11].

U pacientov s dlaždicovobunkovým nádorom **dutiny ústnej** označil Kummoona (24 pacientov) overexpresiu bcl-2 za silný antiapoptotický faktor, ktorý zapríčiňuje rezistenciu na rádioterapiu a chemoterapiu. Našiel tiež koreláciu s gradingom[20]. Zhang (110 pacientov) zistil štatisticky lepšie prežívanie pri pomere expresie bcl-2/bax menej alebo rovné 1 a považuje ho za nezávislý prognostický faktor[35]. Loro zisťoval, či nie je nedostatok bcl-2 onkoproteínu pri progredujúcom dlaždicovobunkovom karcinóme

dutiny ústnej (28 pacientov) následok genetických mutácií. Keďže mutácie nenašli, domnievajú sa, že ide o zmeny na úrovni transkripcie s následným poklesom produkcie bcl-2 proteínu[22]. Lo Muzio označil bcl-2 overexpresiu za včasný prediktor agresívneho správania sa karcinómu spodiny ústnej (66 pacientov)[23].

Bcl-2 gén sa skúmal aj u patomorfologicky a biologicky veľmi pestrých **adenómov a karcinómov slinných žliaz**. Teoreticky je možné v ich onkogenéze predpokladať úlohu mnohých dnes známych supresorických génov a protoonkogénov, viac či menej špecifických pre daný typ nádoru. V ľudskom nenádorovom tkanive slinných žliaz exprimujú bcl-2 bazálne bunky žíhaných a exkretorických vývodov, nie však bunky acinárne a myoepiteliálne[2,7]. Pammer[27] našiel ojedinelú expresiu aj v bunkách luminálnych. Bcl-2 pozitivita uvedených elementov ich identifikuje ako rezervné elementy slúžiace na obnovu tkanív, a teda aj ako potenciálne nádorové origo. V štúdii Al-Rawiho[1] bola pozitívna imunoreakcia zaznamenaná u všetkých 12 testovaných karcinómov 4 rôznych histopatologických typov. Počet bcl-2 pozitívnych buniek pritom javil závislosť na histologickom gradingu tumoru. V inej štúdii Cruz-Pereza[6] zahrňujúcej 26 salivárnych karcinómov u detí a adolescentov exprimovalo bcl-2 12 zo 17 hodnotených tumorov. Jeho význam pre prežitie či vznik recidívy nebol preukázaný. Naopak, Yin[37] uvádza, že expresia tohto antiapoptotického onkoproteínu je prognostickým faktorom pri mukoepidermoidnom karcinóme malých slinných žliaz. Nagao[26] porovnal bcl-2 imunoexpresiu 9 bazocelulárnych adenómov a 11 analogických karcinómov. Všetky benígne nádory vykazovali silnú reakciu, kým v druhej skupine boli 3 úplne negatívne. Carlifante[5] v štúdii 21 adenoidno cystických karcinómov zistila, že 19 z nich vykazovalo súčasne p53 a bcl-2 imunoreakciu. Táto kopozitivita nemala vzťah k histologickému gradingu, klinickému štádiu, vzniku lokálnych recidív, metastázovaniu a prežitiu. Význam oboch onkogénov tak vidí autorka v ich účasti na iniciálnych štádiách tohto typu tumoru. To potvrdzuje aj práca Soiniho[33], v ktorého zostave vykazovalo bcl-2 pozitivitu 16 z 25 karcinómov. S výnimkou adenoidnocystického karcinómu však bola reakcia u väčšiny tumorov slabá. Autor tak vyvodzuje, že bunky salivárnych karcinómov podliehajú častejšie bcl-2 riadeným apoptotickým pochodom. Sunardhi-Widyaputra pri štúdiu 5 karcinómov v pleomorfnom adenóme našiel výraznú bcl-2 pozitivitu v ich malígnom komponente[34]. Yanez[36] vyšetril 4 adenoidnocystické karcinómy a 3 mukoepidermoidné karcinómy. Bcl-2 bol exprimovaný vo všetkých, čo naznačuje jeho význam pre biológiu týchto nádorov. V adenoidnocystických karcinómoch bol bcl-2 gén exprimovaný v myoepiteliálnych bunkách a v mukoepidermoidných karcinómoch iba v epidermoidných oblastiach.

Okrem karcinómov boli na bcl-2 pozitivitu testované aj **benígne nádory slinných žliaz**. Hlavným účelom bolo určenie potenciálnej úlohy expresie tohto onkoproteínu v histopatologickej diferenciálnej diagnóze, pri pleomorfnom adenóme potom objasnenie jeho onkogenézy a možnosti predpovede recidív. Soini[33] uvádza, že relatívny počet apoptotických (TUNEL+) buniek bol pri Warthinovom tumore a pleomorfnom adenóme nižší a bcl-2 pozitivita vyššia ako pri karcinómoch. V už citovanej štúdii Cruz Perez[6] uvádza silnú, až strednú bcl-2 pozitivitu u 87,5 % pleomorfných adenómov. Nepreukázal však jej vzťah k následným recidívam. Yanez[36] zistil 100 % expresiu pri pleomorfnom adenóme, lokalizovanú do jeho tubulo-duktálnych štruktúr, menej do trabekulárnych a solídnych oblastí. Veľmi vysokú, až 94,3 % bcl-2 pozitivitu udáva aj Aoki[2]. Najväčšiu imunoreaktivitu preukázali bazálne bunky tubulo-duktálnych štruktúr, bunky abluminálne boli negatívne. Bunky solídnych a myxochondroidných oblastí reagovali len sporadicky. Rovnakú distribúciu bcl-2 pozitívnych buniek v tomto type najbežnejšieho salivárneho adenómu udáva aj Pammer[27]. Prítomnosť bcl-2 onkoproteínu ich identifikuje ako nediferencované, apoptóze nepodliehajúce kmeňové elementy[14]. Tomu zodpovedajú aj výsledky štúdie Debiec-Rychterovej[7], ktorá zistila, že bcl-2 pozitívne elementy pleomorfného adenómu vykazujú súčasne aj silnú expresiu PLAG1 génu, ktorý je zodpovedný za iniciáciu tohto tumoru. Bcl-2 imunohistochemický profil buniek pleomorfného adenómu tak potvrdzuje jeho onkogenézu postulovanú Dardickom. Rast tohto nádoru vychádza z kmeňových buniek, nachádzajúcich sa na periférii tubulo-duktálnych štruktúr. Abluminálne bunky podliehajú epiteliálnej diferenciácii, čo sa prejaví stratou bcl-2 imunoreakcie. Sporadický výskyt izolovaných či do nepravidelných skupín usporiadaných bcl-2 pozitívnych kmeňových buniek v solídnych a myxoidných oblastiach je daný chaotickou nádorovou proliferáciou z nich vychádzajúcich bunkových bcl-2 negatívnych populácií. Tie podliehajú aberantnej morfologickej diferenciácii, smerujúcej od epiteliálnych k mezenchymálnym charakteristikám za tvorby extracelulárnych hmôt. Zaujímavé je zistenie autorov[34], ktorí našli nadbytok bcl-2 pozitívnych buniek v primárnom tumore, ktorý recidivoval, a to v jeho periférnej časti a v kapsule. To by mohlo mať kauzálny vzťah k recidíve pleomorfného adenómu (perzistujúce zvyšky tumoru sú chránené pred apoptózou)[34].

Záver

Význam apoptózy v kancerogenéze je nesporný. Apoptotický potenciál bunky v konkrétnom nádore určuje biologické správanie nádoru, ovplyvňuje chemosenzitivitu, rádiosenzitiviu a prognózu nádorového ochorenia. Antiapoptotický proteín bcl-2 patrí k najlepšie preskúmaným molekulám pri nádoroch hlavy a krku. Všeobecne je jeho prítomnosť v nádore prediktorom negatívneho biologického správania sa nádoru, aj keď existujú aj kontroverzné štúdie. Perspektívne má význam vytvorenie biologického profilu konkrétneho nádoru s následným stanovaním liečebnej stratégie na mieru. Biologická liečba cielená na bcl-2 gén otvára nové perspektívy s prvými výsledkami.

Adresa pre korešpondenciu:
MUDr. Katarína Obtulovičová
Klinika Otorinolaryngológie a chirurgie hlavy a krku
Ústredná vojenská nemocnica a fakultná nemocnica
Ul. gen. Vessela č. 2, 034 01 Ružomberok
e-mail: katarina_kalinova centrum.sk

Literatúra

1. Al-Rawi N.H., Omer H., Al Kawas S. Immunohistochemical analysis of P53 and bcl-2 in benign and malignant salivary gland tumors. Oral Pathol Med, 36, 2010, s. 48-55.
2. Aoki T., Tsukinoki K., Karakida K., Ota Y., Otsuru M., Kaneko A. Expression of cyclooxygensae-2, Bcl-2 and Ki-67 in pleomorphic adenoma with special reference to tumor proliferation and apoptosis. Oral Oncol, 40, 2004, s. 954-959.
3. Bell K., Van Arsdale C., Bronner M., Pasha T., Furth E. The relationship of the expression of PCNA and bcl-2 in inflammatory and neoplastic lesions of the gastrointestinal tract. Lab Invest, 144, 1994, s. 57A.
4. Bronner M., Brentnall T., Burner G., Rabinovich P., Rubin C., Hagitt R., Hockenberry D. Bcl-2 protooncogen in ulcerative colitis associated neoplastic progression: correlation with morphology, p53, and DNA content. Lab Invest, 144, 1994, 57A.
5. Carlifante G., Lazzaretti M., Ferrari S., Bianchi B., Crafa P. p53, bcl-2 and Ki-67 expression in adenoid cystic carcinoma of the palate. A clinoco-pathologic study of 21 cases with long-term follor-up. Pathol Res Pract, 200, č. 11/12, 2004, s. 791-799.
6. Cruz Perez D. E., Pires F. R., Alves F. A., Almeida O. P., Kowalski L. P. Salivary gland tumors in children and adolescents: a clinicopathologic and immunohistochemical study of fifty-three cases. Int J Ped Otrhinolaryngol, 68, 2004, s. 895-902.
7. Debiec-Rychter M., Van Valckenborgh I., Van den Broeck CH., Hagemeijer A., Van den Ven W., Kas K., Van Damme B., Voz M. L. Histologic localization of PLAG1 (pleomorphic adenoma Gene 1) in pleomorphic adenoma of the salivary gland: cytogenetic evidence of common origin of phenotypically diverse cells. Lab Invest, 81, 2001, s. 1289-1297.
8. Farnebo L., Jedlinski A., Ansell A., Vainikka L., Thunell L.K., Grénman R., Johansson A.C., Roberg K. Proteins and single nucleotide polymorphisms involved in apoptosis, growth control and DNA repair predict cisplatin sensitivity in head nad neck cancer cell lines. Int J Mol Med, 2009, s. 549-56.
9. Friedman M., Grey P., Venkatesan T.K., Bloch I., Chawla P., Caldarelli D.D., Coon J.S. Prognostic significance of bcl-2 expression in localised squamous cell carcinoma of head and neck. Ann Otol Rhinol Laryngol, 106 (6), 1997, s.445-50.
10. Georgiou A., Gomatos I.P., Pararas N.B., Giotakis J., Ferekidis E. Cell kinetics and apoptosis in laryngeal carcinoma patients. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2003, s.206-13.
11. Georgiou A., Gomatos I.P., Ferekidis E., Syrigos K., Bistola V., Giotakis J., Adamopoulos G., Androulakis G. Prognostic significance of p53, bax and bcl-2 gene expression in patients with laryngeal carcinoma. Eur Surg Oncol, 27(6), 2001, s. 574-80.
12. Hirvikoski P., Kumpulainen E., Virtaniemi J., Pirinen R., Salmi L., Halonen P., Johansson R., Kosma V.M. Enhanced apoptosis corelates with poor survival in patients with laryngeal cancer but not with cell proliferation, bcl-2 or p53 expression. Eur J Cancer, 35(2), 1999, s.231-7.
13. Hockenbery D. M., Zutter M., Hickey W., Nahm M., Korsmeyer S. J. BCL2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. Proc Natl Acad Sci USA, 88, č. 16, 1991, s. 6961-6965.
14. Hockenbery D. M., Oltvai Z. N., Yin X. M., Milliman C. L., Korsmeyer S. J. Bcl-2 functions in an antioxydant pathway to prevent apoptosis. Cell, 75, 1993, s. 241-245.
15. Hockenbery, D. M. Bcl-2, a novel regulator of cell death. Bioessays, 17, 1995, č. 7, s. 631-638.
16. Hockenbery D. M. Bcl-2 in cancer, development and apoptosis. J Cell Sci, 18, 1991, s. 51-55.
17. Jäckel M.C., Sellmann L., Youssef S., Dorudian M.A., Fuzesi L. Prognostic significance of expression of p53, bcl-2 and bax in squamous epithelial carcinoma of the larynx - a multivariate analysis. HNO, 2001, s. 204-11.
18. Jäckel M.C., Sellmann L., Youssef S., Dorudian M.A., Fuzesi L. Prognostic significance of p53/bcl-2 co-expression in patients with laryngeal squamous cell carcinoma. Laryngoscope, 110(8), 2000, s.1339-45.
19. Kolář Z. Molekulární patologie nádorú. Epava. Olomouc, 2003, s. 33-62.
20. Kummoona R., Mohammed Sámi S., Al-Kapptan I., Al-Muala H. Study of antiapoptotic gene of oral carcinoma by using bcl-2 oncogene. J Oral Pathol Med, 37(6), 2008, s.345-51.
21. Lazaris A.C., Lendari I., Kavantzas N., Kandiloros D., Adamopoulos G., Davaris P. Correlation of tumour markers p53, bcl-2 and cathepsin-D with clinicopathologic features and disease-free survival in laryngeal squamous cell carcinoma. Pathol Int, 50(9), 2000, s. 7717-24.
22. Loro L.L., Johannessen A.C., Vintermyr O.K. Loss of Bcl-2 in progression of oral cancer is not attributed to mutations. J Clin Pathol, 58(11), 2005, s. 1157-62.
23. Lo Muzio L., Falaschini S., Farina A., Rubini C., Pezzetti F., Campisi G., De Rosa G., Capogreco M., Carinci F. Bcl-2 as prognostic factor in head and neck carcinoma. Oncol Res, 15(55), 2005, s.249-55.
24. Loriot Y., Mordant P., Brown BD., Bouthis J., Soria JC., Deutsch E. Inhibition of Bcl-2 in small cell lung cancer cell lines with oblimersen, antisen s BCL-2 oligodeoxynucleotide (ODN): in vitro and in vivo enhancement of radiation response. Anticancer Res, 30(10), 2010, s. 3869-78.
25. Moreira J.N., Santos A., Simoes S. Bcl-2-targeted antisense therapy (Oblimersen sodium): towards clinical reality. Rev Recent Clin Trials. 1(3), 2006, s. 17-35.
26. Nagao T., Sugano I., Ishida Y., Hasegawa M., Matsuzaki O., Konno A., Kondo Y., Nagao K. Basal cell adenoma of the salivary glands: comparison with basal cell adenoma through assessment of cell proliferation, apoptosis, and expresssion of p53 and bcl-2. Cancer, č. 3, 1998, s. 439-447.
27. Pammer J., Horvat R., Weninger W., Ulrich W. Expression of bcl-2 salivary glands and salivary gland adenomas. A contribution to the reserve cell theory. Path Res Pract 191, 1995, s. 35-41.
28. Pezizella F., Turley H., Kuzu I., Tungekar M.F., Dunnill M.S:, Pierce C.B., Harris A., Gatter K.C., Mason D.Y. Bcl-2 protein in non small cell lung carcinoma. N Engl J Med, 329, 1993, s. 690-694.
29. Piro L.D. Apoptosis, Bcl-2 antisense, and cancer therapy. Oncology (Willison Parc). 13 Suppl. 10, 2004, s. 5-10.
30. Seung A.H. Standard of care and novel treatments for chronic lymphocytic leukemia. Am J Health Syst Pharm, 67(21), 2010, s. 1813-24.
31. Shin D.M., Lee J.S., Lippman S.M., Lee J.J., Tu Z.N., Choi G., Heyne K., Shin H.J., Ro J.Y., Goepfert H., Hong W.K., Hittelman W.N. P53 expressions: predicting reccurence and second primary tumours in head and neck squamous cell carcinoma. J Nat Cancer Inst, 1996, s. 519-29.
32. Smilek P., Dušek I., Veselý K., Rottenberg J., Kostřica R. Correlation of expression of Ki-žý, egfr, C-ERBb-2, mmp-9, P53, bcl-2, CD34 and cell cycle analysis with survival in head and neck squamous cell cancer. Exp Clin Cancer Res, 2006, s. 5549-55.
33. Soini Y., Tormanen U., Paakko P. Apoptosis is inversely related to bcl-2 but not to bax expression in salivary gland tumors. Histopathol, 32, č. 1, 1998, s. 28-34.
34. Sunardhi-Widyaputra S., Van Damme B. Immunohistochemical pattern of bcl-2 and PTHrP-positive cells in primary, in recurrent and in carcinoma in pleomorphic adenomas. Path Res Pract, 191, 1995, s. 1186-1191.
35. Zhang M., Zhang P., Zhang C., Sun J., Wang L., Li J., Tian Z., Chen W. Prognostic significance of Bcl-2 a Bax protein expression in the patiens with oral squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med, 38(3), 2009, s. 307-13.
36. Yanez M., Roa I., Garcia M., Ibacache G., Villaseca M. Bcl-2 protein expression in salivary gland tumors. Rev Med Chil, 127, č. 2, 1999, s. 139-142.
37. Yin H. F., Okada N., Tagaki M. Apoptosis and apoptotic-relataed factors in mucoepidermoid carcinoma of the oral minor salivary glands. Pathol Int, 50, 2000, s. 603-609.