

ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO DE BCL-2 Y MIB-1/KI-67 EN EL CARCINOMA DE MAMA

ANALISIS RETROSPECTIVO EN 238 CASOS

ALBERTO S. SUNDBLAD, CHUL AHN, HECTOR BATTIFORA

Hospital Privado de Comunidad, Mar del Plata; City of Hope National Medical Center, Duarte, CA, USA

Resumen Es de interés conocer si un indicador de proliferación como el anticuerpo MIB-1 contra el antígeno Ki-67 y la expresión de bcl-2, proteína relacionada con el bloqueo de la apoptosis, tienen relación entre sí y con potenciales factores pronósticos del cáncer de mama. Para ello en este trabajo se estudian retrospectivamente 238 casos de carcinoma de mama en estadios I y II con un seguimiento mínimo de 5 años. Los resultados muestran que la alta expresión de MIB-1 se asoció con grados nuclear e histológico altos ($p < 0,001$ para ambos), con receptores de estrógenos y de progesterona negativos ($p = 0,009$ y $p = 0,004$ para cada uno respectivamente) y con población menor de 60 años ($p = 0,014$). La alta expresión de bcl-2 se relacionó con tumores más pequeños ($p = 0,001$); receptores de estrógenos y de progesterona positivos ($p < 0,001$ para ambos), grado nuclear bajo ($p < 0,001$), grado histológico bajo ($p < 0,002$), estadio I ($p = 0,01$) y baja expresión de MIB-1 ($p = 0,025$). La regresión univariada de Cox demostró una significativa asociación de la alta expresión de MIB-1 y de la baja expresión de bcl-2 con menor supervivencia global ($p = 0,002$ y $p = 0,04$ para cada uno respectivamente). Por otra parte el análisis multivariado de selección por pasos de Cox mostró que la expresión de MIB-1 fue un factor pronóstico independiente.

Palabras clave: carcinoma de mama, bcl-2, MIB-1, Ki-67, inmunohistoquímica, pronóstico

En el desarrollo de las neoplasias intervendrían tanto fallas de los mecanismos que regulan la proliferación celular como defectos de los destinados a eliminar las células anómalas^{1,2}. El índice de mitosis, la medición de la fase S y la expresión de antígenos ligados a la proliferación celular son entre otros, elementos destinados a evaluar la proliferación de células neoplásicas. En este sentido el anticuerpo MIB-1/Ki-67 es un elemento que se ha utilizado con este fin³⁻⁵.

Por otra parte, en la eliminación de células supernumerarias o defectuosas interviene la apoptosis, mecanismo de muerte programada destinado a erradicar las células anómalas^{6,7}. La

alteración de este programa biológico de muerte celular podría ser, en el desarrollo de las neoplasias, un factor de una importancia similar a la proliferación de células atípicas^{8,9}. El proto-oncogen bcl-2 es un gen comprometido en la regulación de la apoptosis^{10,11} y su expresión permitiría obtener información sobre la pérdida de los mecanismos destinados a la eliminación de elementos anormales.

En este trabajo se analizan expresiones de ambos procesos, es decir de la proliferación y de la eliminación de células neoplásicas. Para ello determinamos la presencia de la expresión de MIB-1/Ki-67 y de la oncoproteína bcl-2 determinadas por inmunohistoquímica en una serie de carcinomas de mama en estadios I y II estudiamos la relación de ambos antígenos entre sí y con algunos factores considerados de valor pronóstico.

Recibido: 6-X-1995

Aceptado: 15-IV-1996

Dirección postal: Dr. Alberto S. Sundblad, Hospital Privado de Comunidad, Córdoba 4545, 7600 Mar del Plata, Argentina

Material y métodos

De un total de 414 casos de carcinoma de mama resecados entre 1972 y 1984 en el Hospital Privado de Comunidad se incluyeron para este estudio 238 en estadios I y II. Los restantes fueron excluidos por no reunir los requisitos clínicos o anatomopatológicos requeridos para este estudio. Todos habían sido tratados con mastectomía radical modificada; 8 recibieron quimioterapia adyuvante y 209 radioterapia externa en el sitio primario y en la cadena ganglionar mamaria. El seguimiento en todos los casos fue de un mínimo de 5 años. Se tabularon los siguientes datos de cada caso: la edad, estadio, el tamaño tumoral, estado de los ganglios axilares, grado histológico¹², grado nuclear^{13, 14}, presencia de receptores hormonales determinados por inmunohistoquímica, sobreexpresión de oncoproteína c-erbB-2 y de bcl-2 y MIB-1/Ki67. También se consideraron la recidiva de la enfermedad y la sobrevida global a los 5 años.

En todos los casos el tejido fue fijado en formol buffer al 10% e incluido en parafina. Los anticuerpos primarios utilizados para este estudio están indicados en la tabla 1. Luego de esta incubación se aplicó un anticuerpo secundario biotinilado 1:200 y finalmente complejo ABC 1:150. Se reveló con diaminobenzidina y se contrastó con hematoxilina. Para la evaluación de MIB-1 se utilizó un método semicuantitativo basado en la estimación del porcentaje de núcleos teñidos inequívocamente: de 0 a 10% de las células positivas se consideró como bajo grado y más del 10% como alto grado⁴. Para bcl-2 se consideraron sólo los cambios de coloración citoplasmática en las células neoplásicas. La ausencia de color fue catalogada como negativa, una coloración muy tenue como 1+, la coloración franca como 2+ y el color intenso como 3+. Los tumores negativos y 1+ fueron considerados como baja expresión mientras que los 2 y 3+ como alta expresión¹⁵.

Para el análisis estadístico se utilizó el test del chi cuadrado con el fin de identificar a los factores que se asociaron significativamente con alta expresión de bcl-2 y de MIB-1. Para determinar cuáles factores pronósticos fueron predictivos de la sobrevida libre de enfer-

medad (SLE) y de la sobrevida global (SG) se usó la regresión univariada de Cox. También se establecieron las variables pronósticas independientes mediante la regresión de Cox de selección por pasos.

Resultados

La expresión de MIB-1 pudo determinarse en 236 casos como puede observarse en la tabla 2. De ellos 184 tuvieron baja expresión mientras que en 52 hubo alta expresión. La alta expresión de MIB-1 se asoció de manera muy significativa con grados nuclear e histológico altos ($p = 0,001$ para ambos) con receptores de estrógenos negativos ($p = 0,009$), receptores de progesterona negativos ($p = 0,004$) y edad menor de 60 años ($p = 0,01$). Por su parte, el estado de los ganglios linfáticos, el estadio clínico, el tamaño tumoral y la sobreexpresión de c-erbB-2 no mostraron asociación estadísticamente significativa con la expresión de MIB-1.

Con respecto a bcl-2 el análisis pudo realizarse en los 238 casos. Del estudio de las células neoplásicas se observó que en 100 casos había alta expresión de la oncoproteína y 138 tenían baja expresión. La alta expresión se asoció de manera significativa con tumores más pequeños ($p = 0,001$), estadio I de la enfermedad ($p = 0,01$), grado histológico bajo ($p = 0,002$), grado nuclear bajo ($p < 0,001$), presencia de receptores de estrógenos y progesterona ($p < 0,001$ para ambos) y baja expresión del MIB-1 (0,02). La edad, el estado de los ganglios linfáticos axilares y la sobreexpresión de c-erbB-2 no se relacionaron con la expresión de bcl-2.

Cuarenta y nueve (21%) de las pacientes habían fallecido por la enfermedad. La tabla 3 sintetiza la comparación de grupos basados en factores clínico-patológicos y su relación con la SLE y la SG según la regresión univariada de Cox. Los factores que se asociaron a menor SLE y menor SG fueron: ganglios linfáticos positivos ($p = 0,0001$ para ambas); tumores mayores de 2 cm ($p = 0,0007$ para SLE y $p = 0,002$ para SG); estadio II ($p = 0,0005$ para SLE y $p = 0,0007$ para SG); grado nuclear alto ($p = 0,004$ para SLE y $p = 0,003$ para SG); sobreexpresión de c-erbB-2 ($p = 0,02$ para ambos); grado histológico alto ($p = 0,04$ para SG); baja expresión de bcl-2 ($p = 0,04$ para SG) y alta expresión de MIB-1 ($p = 0,002$ para SG). Los factores pronósticos independien-

TABLA 1.— Anticuerpos primarios utilizados en este estudio

Anticuerpo	Clon	Origen	Dilución
MIB-1	MIB-1	AMAC	1:50
bcl-2	124	Dako	1:100
c-erbB-2	Policlonal	Triton	1:30
Receptor estrógenos	ER1D5	AMAC	1:40
Receptor progesterona	1A6	Novocastra	1:40

TABLA 2.— *Análisis de factores asociados con la expresión de MIB-1 y de bcl-2*

Factor	n	MIB-1 alto	(%)	p	bcl-2 alto	(%)	p
Edad							
< 60 años	56	19	(34)	0,014	21	(38)	0,43
60 + años	182	33	(18)		79	(43)	
Estadio							
I	65	12	(18)	0,41	36	(55)	0,01
II	173	40	(23)		64	(37)	
Ganglios linfáticos							
Negativos	142	31	(22)	0,93	62	(44)	0,53
Positivos	96	21	(22)		38	(40)	
Tamaño tumoral							
< 2 cm	58	10	(18)	0,35	32	(55)	0,02
2 + cm	180	42	(23)		68	(38)	
Grado nuclear							
Bajo (G1 y G2)	120	13	(11)	< 0,001	64	(53)	< 0,001
Alto (G3)	118	39	(33)		36	(31)	
Grado histológico							
Bajo (G1 y G2)	146	21	(14)	< 0,001	73	(50)	0,002
Alto (G3)	92	31	(34)		27	(29)	
Recept. estróg.							
Positivos	164	28	(17)	0,009	89	(54)	< 0,001
Negativos	74	24	(32)		11	(15)	
Recept. progest.							
Positivos	120	35	(30)	0,004	68	(27)	< 0,001
Negativos	118	17	(14)		32	(57)	
c-erbB-2							
Positivos	53	16	(30)	0,10	24	(45)	0,58
Negativos	185	36	(20)		76	(41)	
MIB-1							
Bajo	184				85	(46)	0,025
Alto	52				15	(29)	

tes de menores SLE y SG (tabla 4) fueron: el estado de los ganglios linfáticos ($p = 0,0001$ para ambos); la sobreexpresión de c-erbB-2 ($p = 0,006$

y $p = 0,02$) y el tamaño tumoral ($p = 0,02$ y $p = 0,01$). La expresión de MIB-1 fue un factor pronóstico independiente sólo para la SG ($p = 0,002$).

TABLA 3.— Análisis univariado de factores asociados con sobrevida libre de enfermedad (SLE) y con sobrevida global (SG)

Factor	n	SLE	p	SG	p
RR			RR		
Edad					
< 60 yr	56				
60 + yr	182	1,20	0,51	1,05	0,89
Estadio					
I	65				
II	173	3,48	0,0005	7,59	0,0007
Ganglios linfáticos					
Negativos	142				
Positivos	96	4,46	0,0001	4,86	0,0001
Tamaño tumoral					
< 2 cm	58				
2 + cm	180	3,58	0,0007	6,70	0,002
Grado nuclear					
Bajo (G1 y G2)	120				
Alto (G3)	118	2,02	0,004	2,52	0,003
Grado histológico					
Bajo (G1 y G2)	146				
Alto (G3)	92	1,37	0,18	1,80	0,042
Recept. estrog.					
Positivos	164				
Negativos	74	0,95	0,85	1,13	0,68
Recept. progest.					
Positivos	120				
Negativos	118	1,17	0,51	1,31	0,35
c-erbB-2					
Positivo	53				
Negativo	185	1,80	0,022	2,00	0,024
MIB-1					
Bajo	184				
Alto	52	1,43	0,18	2,40	0,002
bcl-2					
Bajo	138				
Alto	100	1,48	0,11	1,90	0,04

TABLA 4.— *Análisis multivariado de factores pronósticos asociados con sobrevida libre de enfermedad (SLE) y con sobrevida global (SG)*

Factor	Paso	RR	p	Paso	RR	p
Ganglios	1	3,99	0,0001	1	4,54	0,0001
c-erbB-2	2	1,99	0,006	4	2,04	0,022
Tamaño tumoral	3	2,34	0,024	3	4,15	0,019
MIB-1				2	2,58	0,002

Discusión

La expresión de antígenos ligados a la proliferación celular son, entre otros, elementos destinados a evaluar el grado de multiplicación de las células neoplásicas¹⁶⁻¹⁹. La marcación del antígeno Ki-67 con el anticuerpo MIB-1 parece un medio confiable como indicador de la actividad proliferativa para tejidos rutinariamente procesados e incluidos en parafina^{3, 4, 5, 20}. Este antígeno nuclear se expresa en las fases G1, S, G2 y M del ciclo de proliferación celular pero está ausente en la quiescente fase G0²¹.

Por otra parte, en los últimos años se ha puesto en evidencia la importancia del bloqueo del mecanismo de apoptosis como parte del crecimiento de las neoplasias^{1, 9, 22, 23}. La sobreexpresión del proto-oncogene bcl-2 bloquea la apoptosis y protege a las células de una muerte programada^{10, 11, 24}, anulando así un mecanismo normal de los tejidos que previene la supervivencia de células con anomalías genéticas⁹. Una alta concentración de esta proteína ha sido observada en linfomas foliculares como consecuencia de una translocación t(14:18)², aunque esta sobreexpresión puede ser generada también por otros mecanismos²⁵. Mientras la mayor parte de los estudios de este gen han sido relacionados con las proliferaciones linfoides²⁶, es relativamente menor la información sobre el significado de la presencia de la sobreexpresión de este proto-oncogen en tumores sólidos^{1, 27-33}.

Resulta entonces de interés analizar si estas dos expresiones de producción y eliminación de células neoplásicas tienen relación entre sí y con otros factores pronósticos.

En coincidencia con observaciones previas³⁴⁻³⁷ los resultados de este estudio muestran una relación entre la expresión de MIB-1 con el grado nuclear alto, el grado histológico alto y con pacientes menores de 60 años. La asociación con receptores hormonales negativos está de acuerdo con algunos estudios^{37, 38} pero discrepa con otros³⁴⁻³⁶. Concordando con trabajos anteriores no encontramos relación entre la expresión de MIB-1 con el tamaño de los tumores ni con el estado de los ganglios linfáticos^{34, 35}. Sin embargo Wintzer y colab. hallaron una asociación entre estos factores³⁴. Como lo habían mostrado Sahin y colab.³³ en nuestra serie tampoco la amplificación del c-erbB-2 tuvo relación con MIB-1. Los análisis univariado y multivariado de Cox demostraron una significativa asociación entre la expresión de MIB-1 y la SG, como ya lo habían publicado otros autores^{36, 38}. Esta asociación reviste interés clínico ya que la expresión de MIB-1 podría ser de utilidad para orientar la conducta terapéutica en los casos en que la información clínico-patológica no sea concluyente para decidir la aplicación de un tratamiento adyuvante.

Se encontró una vinculación muy significativa entre bcl-2 y receptores hormonales, lo que resulta razonable considerando la expresión normal de bcl-2 en epitelios glandulares hormonodependientes³⁹. La positividad del epitelio mamario normal en casi todos nuestros casos confirman este dato. La alta proporción de células positivas para receptores de estrógenos y progesterona que expresan un alto grado de bcl-2 ya fue observada por Chan y colab.⁴⁰ y por Leek et al³³, siendo estos últimos quienes plantearon la hipótesis que bcl-2 podría ser una proteína regulada por los

receptores de estrógenos. Esta fuerte asociación podría explicar por qué una baja expresión de bcl-2 se relacionó con una menor SG. Como en estudios anteriores¹ la expresión de bcl-2 tuvo positiva correlación con tumores menores de 2 cm y con grado histológico bajo y grado nuclear bajo, pero, inesperadamente, dada su importancia como factor pronóstico, no se relacionó con el estado de los ganglios linfáticos.

En esta serie bcl-2 no demostró relacionarse con la amplificación de c-erbB-2 a diferencia de Leek y colab. al que encontraron una mayor amplificación en los casos bcl-2 negativos³³.

De acuerdo con otros autores¹ se encontró una relación inversa entre las expresiones de MIB-1 y de bcl-2, en contraste con Segal y colab.³² quienes observaron una relación directa entre expresión de Ki-67 y bcl-2 en células neuroendocrinas de carcinomas de próstata.

En conclusión, la alta expresión de MIB-1 se asoció con algunos factores pronósticos desfavorables y puede contribuir a predecir la SG, mientras que la alta expresión de bcl-2 tuvo una clara asociación con algunos factores pronósticos favorables pero no resultó un valor pronóstico independiente para predecir la evolución del cancer de mama.

Summary

Immunohistochemical detection of bcl-2 and MIB-1/Ki-67 in breast cancer. Retrospective analysis of 238 cases

We considered of interest to determine the possible interrelationship between the proliferation-related marker MIB-1/Ki-67 and the bcl-2, a protein involved in the blockage of apoptosis, and whether they contributed to the prognosis of breast cancer. For this purpose we carried out a retrospective immunohistochemical study of 238 cases of stage I and II breast carcinomas with a follow up of at least 5 years. The study revealed that high expression of MIB-1 was associated with high nuclear and histological grades ($p < 0.001$ for both), negative estrogen receptor status ($p = 0.009$) and progesterone status ($p = 0.004$), and younger age ($p = 0.014$). High bcl-2 expression was associated with smaller tumor size ($p = 0.001$); positive estrogen and progesterone receptors ($p < 0.001$ for both); low nuclear grade ($p < 0.001$), low histological grade ($p < 0.002$), stage I disease ($p = 0.01$) and low MIB-1 expres-

sion ($p = 0.025$). The univariate Cox regression showed a significant association of high MIB-1 expression ($p = 0.002$) and low bcl-2 expression ($p = 0.04$) with shorter OS. Furthermore, MIB-1 expression was a significant independent predictor of OS ($p = 0.002$) as showed by stepwise Cox regression analysis.

Bibliografía

1. Silvestrini R, Veneroni S, Daidone MG, et al. The bcl-2 protein: a prognostic indicator strongly related to p53 in lymph node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 499-504.
2. Raff MC. Social control on cell survival and cell death. *Nature* 1992; 356: 397-400.
3. McCormick D, Chong H, Hobbs C, Datta C, Hall PA. Detection of the Ki-67 antigen in fixed and wax-embedded sections with the monoclonal antibody MIB-1. *Histopathology* 1993; 22: 355-60.
4. Gaglia P, Bernardi A, Venesio T, et al. Cell proliferation of breast cancer evaluated by anti-BrdU and anti-Di-67 antibodies: its prognostic value on short term recurrences. *Eur J Cancer* 1993; 29A: 1509-13.
5. Remmele W, Dietz M, Schmidt F, Schicketanz KH. Relation of elastosis to biochemical and immunohistochemical steroid receptor findings, Ki-67 and epidermal growth factor receptor (EGFR) immunostaining in invasive ductal breast cancer. *Winchows Archiv A Pathol* 1993; 423: 319-26.
6. Edgington SM. Looking death in the eye: Apoptosis and cancer research. *Biotechnology* 1993; 11: 787-92.
7. Cohen JJ. Apoptosis (Review). *Immunology Today* 1993; 14: 126-9.
8. Jacobson MD, Burne JF, King MP, Miyashita T, Reed JC, Raff MC. Bcl-2 block apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA. *Nature* 1993; 361: 365-8.
9. Carson DA, Ribeiro JM. Apoptosis and disease. *Lancet* 1993; 341: 1251-4.
10. Korsmayer SJ. Bcl-2: an antidote to programmed cell death. *Cancer Surveys* 1992; 15: 105-18.
11. Hockenbery DM. The bcl-2 oncogene and apoptosis. *Semin Immunol* 1992; 4: 413-20.
12. Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1409 cases which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957; 11: 359-77.
13. Fisher ER, Gregorio RM, Fisher B. The pathology of invasive breast cancer: A syllabus derived from findings of the National Surgical Adjuvant Breast Project. *Cancer* 1975; 36: 1-84.
14. Fisher ER, Costantino J, Fisher B, Palekar AS, Redmond C, Mamounas E. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project. *Cancer* 1975; 36: 1-84.
15. Joensuu H, Pylkkänen L, Toikkanen S. bcl-2 protein expression and long-term survival in breast cancer. *Am J Pathol* 1994; 145: 1191-8.

16. Simpson J, Page DL. Celular proliferation and prognosis in breast cancer. *Hum Pathol* 1994; 25: 331-2.
17. Going JJ. Efficiently estimated histologic cell counts. *Hum Pathol* 1994; 25: 333-6.
18. Simpson JF, Dutt PL, Page DL. Expression of mitosis per thousand cells and cell density in breast carcinomas: A proposal *Hum Pathol* 1992; 23: 608-11.
19. Linden MD, Torres FX, Kubus J, et al. Clinical application of morphologic and immunocytochemical assessment of cell proliferation. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: S4-13.
20. Verhoeven D, Bourgeois N, Derde MP et al. Comparison of cell growth in different parts of breast cancer. *Histopathology* 1990; 17: 505-9.
21. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133: 1710-15.
22. Kyprianou N, English HF, Isaacs JT. Programmed cell death during regression of PC-82 human prostate cancer following androgen ablation. *Cancer Res* 1990; 50: 3748-53.
23. Hickman JA. Apoptosis induced by anticancer drugs. *Cancer metastasis Rev* 1992; 11: 121-39.
24. Bissonette RP, Echeverri F, Mahboubi A, Green DR. Apoptotic cell death induced by c-myc in inhibited by bcl-2 *Nature* 1992; 359: 552-4.
25. Pezzella F, Tse AG, Cordell JL, Pulford KA, Gatter KC, Mason DY. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14; 18 chromosomal translocation. *Am J Pathol* 1990; 137: 225-32.
26. Weiss LM, Chang KL. The bcl-2 proto-oncogene. *Appl Immunohistochem* 1993; 1: 163-5.
27. Allred DC, Clark GM, Elledge R, et al. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 200-6.
28. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, et al. bcl-2 protein in non-small cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 690-4.
29. Reed JC, Meister L, Tanaka S, et al. Differential expression of bcl-2 protooncogene in neuroblastoma and other human tumor cell lines of neural origin. *Cancer Res* 1991; 51: 6529-38.
30. McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, 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: 6940-4.
31. Lauwers GY, Scott GV, Hendricks J. Immunohistochemical evidence of aberrant bcl-2 protein expression in gastric epithelial dysplasia. *Cancer* 1994; 73: 2900-4.
32. Segal NH, Cohen RJ, Haffeejee Z, Savage N. Bcl-2 proto-oncogene expression in prostate cancer and its relationship to the prostatic neuroendocrine cell. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118: 616-8.
33. Leek RD, Kaklamanis L, Pezzella F, Gatter KC, Harris AL. bcl-2 in normal human breast and carcinoma, association with oestrogen receptor-positive, epidermal growth factor receptor-negative tumours and in situ cancer. *Br J Cancer* 1994; 69: 135-9.
34. Barnard NJ, Hall PA, Lemoine NR, Kadar N. Proliferative index in breast carcinoma determined in situ by Ki-67 immunostaining and its relationship to clinical and pathological variables. *J Pathol* 1987; 152: 287-95.
35. Sahin AA, Ro J, Ro JY, et al. Ki-67 immunostaining in node-negative stage I/II breast carcinoma. Significant correlation with prognosis. *Cancer* 1991; 68: 549-57.
36. Wintzer HO, Zipfel I, Sculte-Mönting J, Hellerich U, von Kleist S. Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. *Cancer* 1991; 67: 421-8.
37. Gillett CE, Barnes DM, Camplejohn RS. Comparison of three cell cycle associated antigens as markers of proliferative activity and prognosis in breast carcinoma. *J Clin Pathol* 1993; 46: 1126-8.
38. Veronese SM, Gambacorta M, Gottardi O, Scanzi F, Ferrari M, Lampertico P. Proliferation index as a prognostic marker in breast cancer. *Cancer* 1993; 71: 3926-31.
39. Lu QL, Poulson R, Wong L, Hanby AM: BCL-2 expression in adult and embryonic nonhaematopoietic tissues. *J Pathol* 1993; 169: 431-7.
40. Chan WK, Poulson R, Lu QL, et al. bCL2 expression in invasive mammary carcinoma: correlation with apoptosis, hormone receptors and p53 expression *J Pathol* 1993; 169 (Suppl): 138.

El original es infiel a la traducción.

Jorge Luis Borges (1899-1986)

Sobre el Vathek de William Beckford