

Eksprei P53, Bcl-2 dan Nm23-H1 pada Karsinoma Ovarium Tipe Serosum dan Musinosum serta Hubungannya dengan Stadium dan Derajat Histologi

Rusnita, Priyono Tirtoprodjo, Irianiwati

Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta

ABSTRAK

Latar belakang

Karsinoma ovarium merupakan keganasan kedua paling banyak pada organ genital wanita, setelah karsinoma endometrium. Karsinoma ovarium tipe serosum prognosinya lebih buruk dibandingkan tipe musinosum. Kematian karsinoma ovarium terutama disebabkan karena kesulitan mendiagnosis penyakit sejak dini dan karena invasi dan metastasis tumor. Proses metastasis dipengaruhi banyak faktor, di antaranya adalah faktor molekuler p53, Bcl-2 dan nm23-H1. P53 merupakan gen supresor tumor yang berperan mengontrol proliferasi sel, sedangkan Bcl-2 merupakan onkoprotein yang berperan menghambat apoptosis dan berkaitan dengan respon terhadap kemoterapi. Mutasi p53 menekan fungsi Bcl-2 sehingga memacu proliferasi sel dan metastasis. NM23 merupakan gen penghambat metastasis dan menurunnya level atau ekspresi gen tersebut dapat meningkatkan risiko terjadinya metastasis. Ekspresi p53, Bcl-2 dan nm23-H1 pada karsinoma ovarium perlu diteliti agar prognosis bisa ditentukan lebih tepat. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan ekspresi p53, Bcl-2 dan nm23-H1 pada karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum dan hubungannya dengan stadium dan derajat histologi.

Metode

Desain penelitian ini adalah *cross sectional*. Sampel berupa 50 blok parafin karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum mulai tahun 2009-2012 dari Laboratorium Patologi Anatomi RSUP. Dr. Sardjito. Sampel dipulas dengan metode imunohistokimia dengan antibodi monoklonal anti p53, Bcl-2 dan nm-23-H1. Perbedaan ekspresi p53, Bcl-2 dan nm23-H1 antara karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum dan hubungannya dengan stadium dan derajat histologi diuji dengan *chi square*.

Hasil

Eksprei p53 berhubungan dengan derajat histologi tetapi tidak berhubungan dengan stadium pada karsinoma ovarium tipe serosum dan tidak diekspresikan pada karsinoma ovarium tipe musinosum. Ekspresi Bcl-2 dan nm23-H1 tidak berhubungan dengan derajat histologi maupun stadium pada karsinoma tipe serosum, sedang pada tipe musinosum, ekspresi Bcl-2 dan nm23-H1 tidak berhubungan dengan stadium.

Kesimpulan

Eksprei bcl-2 pada stadium awal berbeda secara bermakna antara tipe serosum dan musinosum sedangkan pada stadium lanjut tidak berbeda secara bermakna. Ekspresi nm23-H1 tidak berbeda secara bermakna dengan derajat histologi dan stadium pada tipe serosum dan musinosum.

Kata kunci : Bcl-2, karsinoma ovarium, musinosum, nm23-H1, p53, serosum.

ABSTRACT

Background

Ovarian carcinoma is the second most common malignancy of the female genital tract, following endometrial carcinoma. Highly mortality of ovarian carcinoma is primarily due to difficulties in diagnosing early stage disease. Metastatic process is influenced by many factors, including molecular factors p53, Bcl-2 and nm23- H1. p53 is a tumor suppressor gene that acts to control cell proliferation, while Bcl-2 is an oncoprotein that inhibit apoptosis, which is also associated with response to chemotherapy. Mutation of p53 gene might inhibit Bcl-2 gene therefore stimulate cell proliferation and metastasis. nm23-H1 gene is metastatic inhibitor and decrease the level or expression of these genes will increase the risk of metastasis. p53, Bcl-2 and nm23-H1 expression of ovarian carcinoma need to be investigated in order to obtain more accurate prognosis. This study aimed to investigate p53, Bcl-2 and nm23-H1 expression in Serous and Mucinous ovarian carcinoma and to determine their association with Staging and Grading .

Methods

Design of this research was a cross sectional design. Subjects used in this study were 50 paraffin-embedded tissues of epithelial ovarian carcinoma, which had been taken from Dr. Sardjito General Hospital (Pathology Laboratory archive). Samples were processed with immunohistochemical staining (IHC) methode using monoclonal antibody anti p53, bcl-2, and nm23-H1. Different expression of p53, Bcl-2, nm23-H1 among samples and their association with staging and grading was analyzed with *chi-square*.

Results

p53 expression was associated with grading but not with staging of serous ovarian carcinoma and this protein was not expressed in mucinous ovarian carcinoma. Both Bcl-2 and nm23-H1 expression was not associated with grading and staging of serous ovarian carcinoma. In mucinous ovarian carcinoma, bcl-2 and nm23-H1 expression was not associated with staging.

Conclusion

Bcl-2 expression was not different among early stages of serous and mucinous ovarian carcinoma. nm23-H1 expression was not significantly different with grading and staging of both ovarian carcinoma.

Key words : Bcl-2, mucinosum, nm23-H1, ovarian carcinoma, p53, serosum.

PENDAHULUAN

Di sebagian besar negara maju, karsinoma ovarium merupakan keganasan kedua paling sering pada organ kelamin wanita, setelah kanker endometrium, namun angka kematian yang disebabkan oleh karsinoma ovarium lebih tinggi dari semua keganasan ginekologi lainnya.^{1,2} Kematian pada kanker ovarium terutama karena kesulitan dalam mendiagnosa penyakit ini pada stadium awal serta belum tersedianya petanda skrining yang tepat.

Metastasis jauh merupakan salah satu faktor prognostik penting pada pasien *karsinoma* ovarium, oleh karena itu perlu dilakukan upaya untuk memprediksi metastasis. Elemen kas-kade metastasis dapat digunakan sebagai faktor untuk memprediksi prognosis atau respon terhadap kemoterapi pada karsinoma ovarium.³

Gen supresor tumor P53 aktif pada siklus sel dan berperan memberikan respon terhadap paparan kerusakan DNA.^{4,5} Berbagai penelitian menunjukkan bahwa mutasi P53 mempengaruhi prognosis pada sebagian besar penyakit kanker. Pada penelitian *Werness et al*, mutasi P53 pada karsinoma ovarium merupakan faktor prognostik yang buruk, namun penelitian lain oleh *Sagarra et al* menunjukkan hasil yang berbeda.^{6,7}

BCL-2 adalah onkoprotein yang berperan menghambat apoptosis.^{8,9} Pada karsinoma ovarium, Bcl-2 merupakan indikator prognostik *independen* dari ketahanan hidup penderita.¹⁰ Ekspresi Bcl-2 diketahui sangat bervariasi pada berbagai keganasan epitelial, namun pada karsinoma epitel ovarium masih belum jelas.¹¹⁻¹³

Gen NM23-H1 merupakan gen penghambat metastasis. Ekspresi gen NM23 pada kanker manusia berbeda menurut lokasi, sedangkan pada karsinoma ovarium belum jelas. Penurunan ekspresi NM23 telah terbukti berhubungan dengan metastasis atau prognosis yang lebih buruk pada pasien karsinoma payudara,¹⁴⁻¹⁶ karsinoma hepatoseluler,¹⁷ melanoma maligna,¹⁸ dan karsinoma lambung.¹⁹ Ekspresi tinggi NM23 telah dilaporkan berkorelasi dengan karsinogenesis pada karsinoma usus²⁰ dan neuroblastoma.²¹

Ekspresi P53, BCL-2 dan NM23-H1 diperkirakan dapat digunakan sebagai petanda prognosis karsinoma ovarium. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi protein p53, BCL-2 dan NM23-H1 pada karsinoma

ovarium tipe serosum dan musinosum dan hubungannya dengan stadium dan derajat histologik.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian ini adalah potong lintang. Subjek penelitian ini adalah 50 blok parafin jaringan karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum dari Instalasi Patologi Anatomi RSUP. Dr. Sardjito periode tahun 2009 hingga 2012. Blok parafin yang mengandung fokus tumor yang sangat kecil (<5 lapang pandang kecil) dikeluarkan dari penelitian ini.

Dari rekam medis dicatat nomor Rekam Medis, usia, nomor PA, diagnosis klinik, diagnosis patologik dan ditentukan stadium dan derajat histologik karsinoma ovarium. Stadium dibagi menjadi stadium awal dan stadium lanjut, sesuai klasifikasi *The International Federation of Gynecology and Obstetrics* (FIGO). Stadium I dan II dikelompokkan sebagai stadium awal, sedangkan stadium III dan IV dikelompokkan sebagai stadium lanjut.

Dibuat sediaan dengan pulasan hematoxilin dan eosin dari blok parafin sampel, kemudian secara histologik diklasifikasikan sebagai karsinoma ovarium, jenis serosum atau jenis musinosum menurut kriteria WHO. Derajat histologis diklasifikasikan menggunakan sistem *grading Gynecologic Oncology Grading* (GOG). Derajat baik dan sedang ditentukan sebagai derajat rendah dan derajat buruk ditentukan sebagai derajat tinggi.

Dilakukan pulasan imunohistokimia (IHK) dengan antibodi monoklonal terhadap protein p53, Bcl-2, dan nm23 -H1. Sebagai kontrol positif dipakai jaringan karsinoma payudara untuk pewarnaan p53, jaringan dari limfoma folikuler untuk pewarnaan Bcl-2 dan jaringan otak untuk nm23-H1. Hasil imunohistokimia dianalisis oleh dua pemeriksa secara independen berdasarkan kriteria sebagai berikut: ekspresi p53 dinilai positif bila ekspresi >10% dari keseluruhan sel tumor (pada inti) dan negatif bila ekspresi <10%. Sedangkan ekspresi Bcl-2 dan nm23-H1 dinilai positif bila ekspresi >10% dari keseluruhan sel tumor (pada sitoplasma) dan negatif bila ekspresi <10%.

Hubungan antara ekspresi p53, Bcl-2 dan nm23-H1 dengan stadium dan derajat histologik dianalisa menggunakan perangkat lunak statistik SPSS 15.0, dengan uji *chi-square*. Sedangkan perbedaan ekspresi p53, Bcl-2 dan

nm23-H1 dengan stadium dan derajat histologi menggunakan uji McNemar test.

HASIL

Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini didapatkan 25 sampel karsinoma ovarium jenis serosum dan 25 sampel karsinoma ovarium jenis musinosum. Dari keseluruhan 50 sampel karsinoma ovarium yang diteliti, didapatkan rerata usia adalah 47 tahun (usia termuda 15 tahun dan usia tertua 74 tahun). Adapun penderita karsinoma ovarium jenis serosum memiliki rerata yang lebih tinggi, yaitu 51 tahun (usia termuda 36 tahun dan tertua 74 tahun), sedangkan penderita karsinoma ovarium jenis musinosum memiliki rerata yang lebih rendah, yaitu 43 tahun (usia termuda 15 tahun dan tertua 72 tahun). Mayoritas sampel didapatkan dari hasil operasi *total abdominal hysterectomy-bisalfingoooforectomy* (TAH-BSO) Pada karsinoma ovarium jenis serosum, 60% (15 dari 25) merupakan stadium lanjut dan 40% (10 dari 25) stadium awal (Tabel 1). Berdasarkan derajat histologiknya, 48% (dari 25) adalah derajat rendah dan 52% (13 dari 25) adalah derajat tinggi. Pada karsinoma ovarium jenis musinosum, 84% (21 dari 25) merupakan stadium awal dan 16% (4 dari 25) merupakan stadium lanjut. Seluruh karsinoma ovarium jenis musinosum menunjukkan derajat histologi yang rendah (Tabel 1).

Hubungan antara ekspresi p53 dengan stadium dan derajat histologi

Pada penelitian ini, p53 tidak terekspresi pada karsinoma ovarium tipe musinosum (Gambar 1). Ekspresi p53 pada karsinoma ovarium tipe serosum didapatkan 44% (Tabel 2). Pada karsinoma ovarium tipe serosum didapatkan hubungan antara ekspresi p53 dan derajat histologis (p=0,008) namun tidak dengan stadium (p=0,414).

Hubungan antara ekspresi bcl-2 dengan stadium dan derajat histologi

Pada penelitian ini, ekspresi Bcl-2 hanya 2% (1 sampel) pada karsinoma ovarium tipe serosum dan 6% (3 sampel) pada karsinoma ovarium tipe musinosum. Pada karsinoma ovarium tipe serosum tidak didapatkan hubungan antara ekspresi Bcl-2 dengan stadium (p=1) dan derajat histologis (p=0,327). Pada

karsinoma ovarium tipe musinosum tidak didapatkan hubungan bermakna antara ekspresi Bcl-2 dengan stadium (p=1). Hubungan antara ekspresi Bcl-2 dan derajat histologis pada karsinoma musinosum tidak dianalisis karena semua sampel karsinoma musinosum adalah derajat rendah.

Tabel 1. Karakteristik karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum.

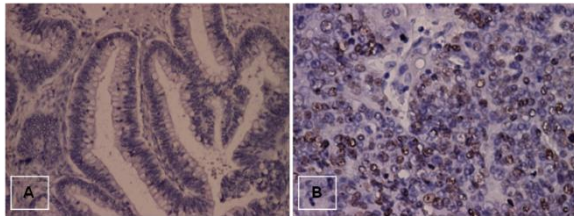
Karakteristik	Karsinoma serosum	Karsinoma musinosum
	Jumlah (%)	Jumlah (%)
Umur		
< 40 tahun	4 (16%)	7 (28%)
> 40 tahun	21 (84%)	18 (72%)
Stadium		
Awal	10 (40%)	21 (84%)
Lanjut	15 (60%)	4 (16%)
Derajat histologik		
Rendah	12 (48%)	25 (100%)
Tinggi	13 (52%)	0 (0%)

Tabel 2. Ekspresi p53 pada karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum dan hubungannya dengan stadium dan derajat histologi.

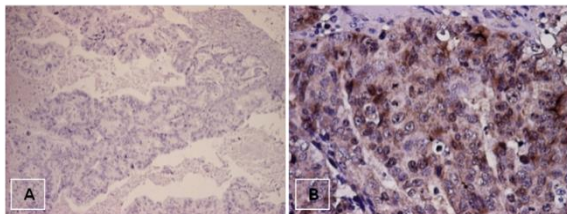
Karakteristik	Ekspresi P53		p
	Positif	Negatif	
Karsinoma serosum stadium:			
Awal	3	7	0,414
Lanjut	8	7	
Derajat histologi			
Rendah	2	10	0,008
Tinggi	9	4	
Karsinoma musinosum stadium:			
Awal	0	21	
Lanjut	0	4	
Derajat histologi			
Rendah	0	25	
Tinggi	0	0	

Tabel 3. Ekspresi bcl-2 pada karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum dan hubungannya dengan stadium dan derajat histologis.

Karakteristik	Ekspresi P53		p
	Positif	Negatif	
Karsinoma serosum stadium:			
Awal	0	10	1
Lanjut	1	14	
Derajat histologi			
Rendah	0	12	0,327
Tinggi	1	12	
Karsinoma musinosum stadium:			
Awal	3	18	
Lanjut	0	4	
Derajat histologi			
Rendah	22	3	
Tinggi	0	0	



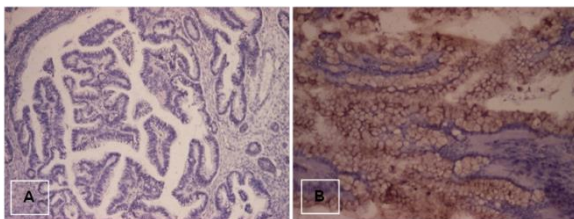
Gambar 1. A. Ekspresi negatif p53 pada karsinoma musinosum. B. Ekspresi positif pada karsinoma serosum.



Gambar 2. A. Ekspresi negatif Bcl-2 pada karsinoma musinosum. B. Ekspresi positif Bcl-2 pada sitoplasma dan membran sel pada karsinoma musinosum.

Hubungan antara ekspresi nm23-H1 dengan stadium dan derajat histologik

Pada penelitian ini, tidak didapatkan perbedaan bermakna ekspresi nm23-H1 antara karsinoma ovarium serosum dan musinosum (14 pasien/28%). Pada karsinoma ovarium tipe serosum tidak didapatkan hubungan bermakna ekspresi nm23-H1 dengan stadium ($p=0,428$) dan derajat histologis ($p=0,165$). Tidak didapatkan hubungan bermakna ekspresi nm23-H1 dengan stadium pada karsinoma ovarium tipe musinosum ($p=1$). Ada perbedaan yang bermakna ekspresi nm23-H1 antara karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum pada kelompok derajat rendah ($p=0,035$) dan stadium lanjut ($p=0,000$), namun tidak pada kelompok stadium awal ($p=0,092$).



Gambar 3. A. Ekspresi negatif nm23-H1 pada karsinoma musinosum. B. Ekspresi positif pada sitoplasma dan membrane sel pada karsinoma musinosum.

Tabel 4. Ekspresi nm23-H1 pada karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum dan hubungannya dengan stadium dan derajat histologis.

Karakteristik	Ekspresi P53		p
	Positif	Negatif	
Karsinoma serosum stadium:			
Awal	4	6	1
Lanjut	9	6	
Derajat histologi			
Rendah	4	8	-
Tinggi	10	3	
Karsinoma musinosum stadium:			
Awal	12	9	
Lanjut	2	2	
Derajat histologi			
Rendah	14	11	
Tinggi	0	0	

DISKUSI

Karsinoma ovarium merupakan keganasan terbanyak pada ovarium.² Pada referensi menyebutkan bahwa usia rerata untuk karsinoma serosum adalah berkisar antara 57 hingga 63 tahun²² sedangkan pada tipe musinosum usia rerata adalah 42 tahun.²³ Angka ketahanan hidup lima tahun untuk karsinoma ovarium stadium I adalah >90%. Sebagian besar pasien (75%) terdeteksi pada stadium lanjut, dan mempunyai angka ketahanan hidup lima tahun yang rendah yaitu 30%.² Stadium FIGO sampai saat ini merupakan faktor prognostik independen untuk karsinoma ovarium. Pada penelitian ini, karsinoma ovarium tipe serosum stadium awal sebesar 40% dan stadium lanjut sebesar 60%. Karsinoma ovarium tipe musinosum stadium awal sebesar 84% dan stadium lanjut sebesar 16%. Karsinoma ovarium tipe serosum lebih banyak ditemukan pada stadium lanjut dan derajat tinggi dibandingkan tipe musinosum disebabkan karena sebagian besar karsinoma tipe serosum berkembang secara *de novo* dari epitel permukaan dan tumbuh cepat tanpa dikenali lesi prekursorinya. Sedangkan karsinoma ovarium tipe musinosum berkembang dari lesi prekursor berupa kistadenoma.²⁴

Penelitian pada karsinoma ovarium mendapatkan ekspresi p53 pada 284 pasien sebesar 62% dari seluruh pasien.²⁵ Penelitian lain mendapatkan ekspresi p53 pada 135 pasien karsinoma ovarium sebesar 44%, dan berkorelasi dengan histologis tipe serosum, derajat histologis buruk dan ketahanan hidup yang buruk.²⁶ Penelitian Mark mendapatkan ekspresi p53 pada 107 pasien sebesar 50%.²⁷

Penelitian lain pada 221 pasien dengan karsinoma ovarium mendapatkan ekspresi p53 sebesar 48,4% kasus dan berhubungan dengan tumor stadium lanjut dan derajat histologisnya.²⁸ Penelitian tentang ekspresi p53 dengan stadium, mendapatkan pada stadium I sebesar 17,4%, stadium II sebesar 47,8% dan stadium III sebesar 34,8%.²⁹

Pada penelitian ini, ekspresi p53 pada karsinoma ovarium tipe serosum sebesar 44%, dan p53 tidak terekspresi pada karsinoma tipe musinosum. Perbedaan ekspresi p53 tersebut disebabkan karena perbedaan jalur patogenesisnya. Berdasarkan penelitian klinikopatologi dan molekuler, karsinoma ovarium mempunyai dua jalur patogenesis yaitu melalui mutasi BRAF, K-Ras (tipe I) dan mutasi p53 (tipe II). Pada karsinoma ovarium tipe musinosum termasuk tipe I, yaitu mengalami mutasi K-ras tanpa mutasi p53, sedangkan tipe serosum yang derajat tinggi termasuk tipe II, mengalami mutasi p53³⁰.

Pada penelitian ini, ekspresi bcl-2 didapatkan sebesar 2% pada karsinoma tipe serosum dan 6% pada karsinoma tipe musinosum. Hasil ini lebih sedikit dibanding penelitian sebelumnya. Penelitian pada 47 pasien dengan karsinoma ovarium, immunostaining positif bcl-2 pada 57% kasus dan menunjukkan bahwa persentase dan intensitas pewarnaan bcl-2 pada epitel dan stroma menurun sesuai progresi tumor.³¹ Penelitian lain menganalisis ekspresi bcl-2 pada 95 pasien dengan karsinoma ovarium menunjukkan immunoreaktivitas bcl-2 adalah 69,5% kasus³² dan Peneliti lain juga menemukan ekspresi bcl-2 pada 66 pasien karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum, menunjukkan 50% pada karsinoma serosum dan 13% pada karsinoma musinosum dan ada korelasi terbalik antara pewarnaan Bcl-2 dan respon awal terhadap kemoterapi.¹² Silvestrini dkk mengevaluasi ekspresi Bcl-2 pada 168 pasien dengan karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum, menunjukkan immunoreaktivitas Bcl-2 sebesar 35% pada karsinoma serosum dan 50% pada karsinoma musinosum.¹¹

Tidak didapatkan hubungan antara ekspresi Bcl-2 dengan stadium dan derajat histologis pada karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum. Ekspresi Bcl-2 berbeda antara karsinoma serosum dan musinosum pada kelompok derajat rendah dan stadium lanjut

namun tidak berbeda pada kelompok stadium awal.

Peran nm23 pada tumor ginekologi belum banyak diteliti. Pada kanker ovarium, ekspresi nm23 lebih tinggi dibandingkan pada jaringan ovarium normal, tumor jinak dan tumor *borderline*. Reaktivitas nm23 telah diteliti aktif pada tahap awal penyakit dan ekspresi proteinnya meningkat dengan semakin progresifnya karsinoma ovarium³³.

Pada penelitian ini, ekspresi nm23-H1 sebesar 28% pada karsinoma tipe serosum dan 28% pada karsinoma tipe musinosum. Pada karsinoma ovarium tipe serosum dan musinosum tidak didapatkan hubungan antara ekspresi nm23-H1 dengan stadium dan derajat histologis serta pada kelompok derajat rendah dan kelompok stadium awal dan stadium lanjut.

Penelitian pada 185 pasien karsinoma ovarium, mendapatkan immunoreaktivitas nm23-H1 sebesar 72% dari kasus.³⁴ Sedangkan penelitian lain pada 71 pasien karsinoma ovarium mendapatkan immunoreaktivitas nm23-H1 sebesar 67,9%.³⁵

Perbedaan hasil-hasil penelitian tersebut disebabkan oleh banyak faktor. Jaringan yang berbeda yang digunakan dalam penelitian dapat memberikan hasil yang berbeda. Antigen p53 diekspresikan lebih baik pada jaringan segar pada potong beku.³⁶ Enzim yang berbeda yang digunakan untuk pewarnaan dan prosedur microwave juga dapat mempengaruhi hasil pewarnaan. Perbedaan "*cut off value*" yang digunakan dalam penelitian juga mempengaruhi hasil yang berbeda. Jumlah sampel dapat mempengaruhi signifikansi hasil penelitian ini.

KESIMPULAN

Pada karsinoma serosum, ekspresi p53 berhubungan dengan derajat histologis tetapi tidak berhubungan dengan stadium, sedangkan ekspresi Bcl-2 dan nm23-H1 tidak berhubungan dengan derajat histologis maupun stadium. Pada karsinoma ovarium tipe musinosum, p53 tidak terekspresi sedangkan ekspresi Bcl-2 dan nm23-H1 tidak berhubungan dengan stadium.

DAFTAR PUSTAKA

1. McClugage G. Morphological subtypes of ovarian carcinoma: a review with emphasis on new developments and pathogenesis. *Pathol.* 2011;43: 420-32.

2. Jemal, R, Siegel, E, Ward, Y, Hio, J, Xu, MJ, Thun, *et al* . Cancer statistics. 2008, CA: A Cancer J Clin. 2008; 2: 71-96.
3. MacDonald NJ, Steeg PS. Molecular basis of tumour metastasis. *Cancer Surv.* 1993;16: 175-99.
4. Yoshida K, Miki Y. The cell death machinery governed by the p53 tumor suppressor in response to DNA damage. *Cancer Sci.* 2010; 101: 831-6.
5. Levine AJ, Moment J, Finlay CA: The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-6.
6. Werness BA, Freedman AN, Piver MS, Romero-Gutierrez M, Petrow W. Prognostic significance of p53 and p21 immunoreactivity in epithelial cancers of the ovary. *Gynecol Oncol.* 1999; 75: 413-8.
7. Sagarra RA, Andrade LA, Martinez EZ, Pinto GA, Syrjanen KJ, Derchain SF. p53 and bcl-2 as prognostic predictors in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2002; 12: 720-7.
8. McDonnell TJ, Deane N, Platt FM. Dereglated bcl-2 immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B-cell survival and follicular lymphoproliferation. *Cell.* 1989; 57: 80-8.
9. Hockenbery D, Nunez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer S J. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990;348: 334-6.
10. Herod JO, Eliopoulos AG, Warwick J, Niedobitek J, Young LS, Kerr DJ, *et al* . The prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in ovarian carcinoma. *Cancer Res.* 1996; 56: 2178-84.
11. Silvestrini R, Daidone MG, Veneroni S, Benini E, Scarfone G, Zanaboni F, *et al* . The clinical predictivity of biomarkers of stage III-IV epithelial ovarian cancer in a prospective randomized treatment protocol. *Cancer* 1998; 82: 159-67.
12. Mano Y, Kikuchi Y, Yamamoto K, Kita T, Hirata J, Tode T, *et al* . Bcl-2 as a predictor of chemosensitivity and prognosis in primary epithelial ovarian cancer. *Eur J Cancer* 1999;35:1214-9.
13. Baekelandt M, Kristensen GB, Nesland JM, Trope CG, Holm R. Clinical significance of apoptosis-related factors p53, Mdm2, and Bcl-2 in advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 1999; 17: 2061-8.
14. Hirayama R, Sawai S, Takagi Y, Mishima Y, Khimura N, Shimada N, *et al* . Positive relationship between expression of anti-metastatic factor nm23 gene product or nucleoside diphosphate kinase and good prognosis in human breast cancer. *J Nat Cancer Inst.* 1991; 83: 1249-50.
15. Barnes R, Masood S, Barker E, Rossegard AM, Coggin D, Crowell T, *et al* . Low nm23 protein expression in infiltrating ductal breast carcinomas correlates with reduced patient survival. *Am J Pathol.* 1991; 139: 245-50.
16. Hennessy C, Henry JA, May FEB, Westlcy BR, Angus B, Lcnnard TWJ. Expression of the anti metastatic gene nm23 in human breast cancer: an association with good prognosis. *JNCI.* 1991; 83: 281-5.
17. Nakayama T, Ohtsum A, Nakao K, Shima K, Nakata M, Watanabe K, *et al* . Expression in human hepatocellular carcinoma of nucleoside diphosphate kinase, a homologue of the nm23 gene product. *JNCI.* 1992; 84: 1349-54.
18. Florenes VA, Aamdal S, Myklebost O, Maclandsmo GM, Bruland OS, Fodstad O. Levels of nm23 messenger RNA in metastatic malignant melanomas: inverse correlation to disease progression. *Cancer Res.* 1992; 52: 6088-91.
19. Nakayama H, Yasui, W, Yokozaki H, Tahara E. Reduced expression of nm23 is associated with metastasis of human gastric carcinomas. *Jpn J Cancer Res.* 1993; 84: 184-90.
20. Haut M, Steeg PS, Willson JKV, Markowitz SD. Induction of nm23 gene expression in human colonic neoplasms and equal expression in colon tumors of high and low metastatic potential. *J Nat Cancer Inst.* 1991;83:712-6.
21. Hailal N, Keim DR, Meinem RF, Zhu RF, Eckerskorn C. High levels of p19/nm23 protein in neuroblastoma are associated with advanced stage disease and with N-mv1 gene amplification. *J Clin Invest.* 1991; 88: 341-5.
22. Seidman JD, Russel P, Kurman R. Surface epithelial tumors of the ovary. In: Kurman R. J. (ed), *Blaustein's pathology of the female genital tract*, 5th edition. New York: Springer Verlag; 2002.

23. Fun SJ, Jeung HB, Yeung JC, Jong SP, Kyo YL. Mucinous adenocarcinoma involving the ovary: Comparative evaluation of the classification algorithms using tumor size and laterality. *J Korean Med Sci.* 2010; 25: 220-5.
24. Daniel G, Gong Yang, Guangzhi Liu, Rosen, Imelda M, Bin Chang, *et al.* Ovarian cancer: pathology, biology, and disease models. *Front Biosci.* 1994; 14: 2089-102.
25. Hartman LC, Podratz KC, Keeney GL, Deavers S, Diaz S. Prognostic significance of p53 immunostaining in epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 1994; 12: 64-65.
26. Klemi PJ, Pylkanen L, Kiilholma P, Kurvinen K, Joensuu H. P53 protein detected by immunohistochemistry as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Cancer* 1995; 76: 1201-8.
27. Marks JR, Davidoff AM, Kern BJ, Humphrey PA, Pence JC, Dodge RK, *et al.* Overexpression and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res.* 1991; 51: 2979-84.
28. Eltabakh GH, Belinson JL, Kennedy AW, Biscotti CV, Casey G, Tubbs RR. P53 overexpression is not an independent prognostic factor for patients with primary ovarian epithelial cancer. *Cancer* 1997; 80: 892-8.
29. Skirnisdottir I, Seidal T, Gerdin E, Sorbe B. The prognostic importance of p53, bcl-2, and bax in early stage epithelial ovarian carcinoma treated with adjuvant chemotherapy. *Int J Gynecol Cancer* 2002; 12: 265-76.
30. Kurman RJ, Shih LM. Pathogenesis of ovarian cancer. Lessons from morphology and molecular biology and their clinical implication. *Int J Gynecol Pathol.* 2008; 27: 151-60.
31. Anderson NS, Turner L, Livingstone S. Bcl-2 expression is altered with ovarian tumor progression: an immunohistochemical evaluation. *J Ovarian Res.* 2009; 2: 1-11.
32. Malamou-Mitsi V, Criconi O, Timotheadou E, Aravantinos G. Prognostic significance of HER-2, p53 and Bcl-2 in patient with epithelial ovarian cancer. *Anticancer Res.* 2007; 27: 1157-66.
33. Harlozinska A, Bar JK, Gerber J. Nm23 expression in tissue sections and tumor effusion cells of ovarian neoplasms. *Int J Cancer* 1996; 69: 415-9.
34. Baekelandt M, Holm R, Trope CG, Nesland JM, Kristensen GB. The significance of metastasis-related factors cathepsin D and nm23 in advanced ovarian cancer. *Ann Oncol.* 1999; 10: 1335-41.
35. Arik D, Sezer K. P53, bcl-2 and nm23 expression in serous ovarian tumors: correlation with the clinical and histo-pathological parameters. *Turkish J Pathol.* 2010; 27: 38-45.
36. Wen WH, Reles A, Runnebaum IB, Sullivan HJ, Bernstein L, Jones LA, *et al.* p53 mutation and expression in ovarian cancers: correlation with overall survival. *Int J Gynecol Pathol.* 1999; 18: 29-41.