



Korelacija između ekspresije p53 i kliničkopatoloških osobina karcinoma želuca

Correlation between p53 expression and clinical-pathological characteristics of gastric cancer

Dragče Radovanović*, Milan Knežević†, Dragan Čanović*, Ljubiša Aćimović*

Klinički centar, Kragujevac, *Klinika za hirurgiju, †Centar za patološku dijagnostiku, Kragujevac, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Gen p53 ili „čuvar genoma ćelije“ deluje preventivno na pojavu genskih aberacija i sprečava pojavu i ekspanziju tumorskih ćelija. U ćelijama karcinoma želuca u velikom broju slučajeva registruje se visoka ekspresija proteina p53 koja koreliše sa prognozom i određenim kliničkopatološkim karakteristikama karcinoma želuca. **Metode.** Imunohistochemijskom metodom određen je nivo ekspresije proteina p53 kod 62 karcinoma želuca i 30 prekanceroznih stanja (intestinalna metaplazija). Analiziran je odnos nivoa ekspresije p53 i kliničkopatoloških karakteristika karcinoma želuca. **Rezultati.** Ekspresija p53 bila je pozitivna kod 42 (67,7%) karcinoma želuca i kod sedam (14,3%) slučajeva intestinalne metaplazije. Ekspresija proteina p53 i karcinom želuca bili su u direktnoj korelaciji ($p = 0,000$). Senzitivnost za p53 kod karcinoma želuca iznosila je 67,7% (42/62), a specifičnost 76,7% (23/30). Ekspresija mutiranog proteina p53 bila je u direktnoj korelaciji sa invazijom limfnih ($p = 0,034$) i krvnih sudova karcinomskim ćelijama ($p = 0,042$). **Zaključak.** Između ekspresije p53 i karcinoma želuca postoji direktna korelacija što ukazuje na sposobnost neoplazmi za invaziju krvnih sudova.

Ključne reči:

želudac, neoplazme; geni, p53; geni ekspresija; imunohistohemija; osetljivost i specifičnost.

Abstract

Background/Aim. Gene p53, or “cell genome keeper”, has a preventive effect on the occurrence of genetic aberrations and prevents abnormal expansion of (tumor) cells. In gastric cancer cells in most cases we register high expression of mutated p53 gene, which correlates with prognosis and specific clinical-pathological characteristics of gastric cancer. **Methods.** Using the immunohistochemical method we determined the level of expression of p53 protein in 62 gastric cancers and 30 precancerous conditions (intestinal metaplasia of the stomach). We analyzed the relationship of the level of p53 expression and clinical pathological characteristics of gastric cancer. **Results.** Expression of p53 was positive in 42 (67.7%) tumor cases and in 7 (14.3%) cases of intestinal metaplasia. Expression of P53 and stomach cancer were in direct correlation ($p = 0.000$). Sensitivity for p53 in stomach cancer cases was 67.7% (42/62), and specificity was 76.7% (23/30). Expression of mutated p53 protein was in direct correlation with the invasion of lymph nodes ($p = 0.034$) and with invasion of blood vessels by carcinoma cells ($p = 0.042$). **Conclusion.** There is a direct correlation between p53 expression and gastric cancer and it indicates the ability of carcinoma cells to invade blood vessels.

Key words:

Stomach neoplasms; genes, p53; gene expression; immunohistochemistry; sensitivity and specificity.

Uvod

Karcinom želuca bio je jedan od vodećih uzroka smrti od svih maligniteta u svetu tokom većeg dela XX veka. Prema učestalosti dugo je bio na drugom mestu, iza karcinoma pluća, sa 875 000 novootkrivenih bolesnika širom sveta¹⁻³. Krajem XX veka u mnogim regionima sveta došlo je do drastičnog pada pojave karcinoma želuca, što je objašnjeno smanjenjem uticaja spoljašnjih epidemioloških faktora (način ishrane, način pripremanja hrane i dr), ali i do

porasta incidencije karcinoma lokalizovanog u proksimalnom delu želuca i na gastroezofagusnoj junciji⁴⁻⁶.

Većina sporadičnih karcinoma želuca nemaju u biologiji svog nastanka naslednu komponentu. Samo kod 8–10% bolesnika može se povezati sa naslednim faktorima^{7, 8}, i to je kod oko 67–83% poremećaj na nivou gena *E-cadherin* (lociran na 16q22.1 hromozomu)⁹⁻¹³. U različitim suptipovima sporadičnog karcinoma želuca registrovana su oštećenja različitih gena i produkata gena kao što su p53, TGF- β II receptor, receptor za EGF, FGF i VEGF (*Epidermal Growth factor*, *Fibroblast*

Growth Factor, Vascular Endothelial Growth Factor), kao i gen *E-cadherin*, a koji su uključeni u regulatorne puteve rasta ćelije, neoangiogeneze i strukture ekstracelularnog prostora¹⁴.

Gen p53 (poznat i kao TP53) je tumor supresorni gen, sa bitnom ulogom u kontroli ćelijskog rasta, lociran je na kratkom kraku 17p13.1 hromozoma^{15,16}. Javlja se u dva oblika: normalni (*wilde type*) i mutirani tip. Kada je prisutno oštećenje DNA, nivo normalnog p53 proteina raste u ćeliji, vezuje se za DNA i dovodi do transkripcije nekoliko gena kontrolišući dva bitna efekta na ćeliju: prvo, zaustavlja ćelijski ciklus u G1 fazi, tokom koga se oštećenje DNA popravljaja, tako da, ako je došlo do reparacije oštećenja, nivo p53 opada u ćeliji uz pomoć dejstva produkata MDM2 gena, a ćelija nastavlja deobu u pravcu ćelija kod kojih nema oštećenja DNA; ukoliko prvi proces nije doveo do reparacije oštećenja DNA, p53 uz pomoć ćelijskih gena smrti BAX i IgFBP3, inicira apoptozu ćelije¹⁷. Opisanim mehanizmom gen p53 sprečava pojavu i ekspanziju tumorskih ćelija prevencijom pojave genskih aberacija^{18,19}. U karcinomskim ćelijama funkcija normalnog gena p53 je oštećena zbog genskih mutacija. Tokom modifikacije p53 dolazi do brze akumulacije oštećenja gena. Ovaj fenomen vodi do maligne alteracije i formiranja tumora. Akumulacija mutiranog p53 registrovana je kod oko 50% svih karcinoma (u karcinomima debelog creva, želuca, dojke, ovarijuma i pluća, ali i u leukemijama, osteosarkomu i tumorima mozga)²⁰.

Cilj naše studije bio je da se utvrdi korelacija između nivoa ekspresije antionkogenog p53 i parametara tumorske agresivnosti u pojedinim stadijumima karcinomske bolesti želuca. Potencijalna zavisnost između ekspresije p53 i limfne i vaskularne invazije ukazala bi na prognostički značaj ekspresije p53 na klinički tok i ishod bolesti kod bolesnika sa karcinomom želuca.

Metode

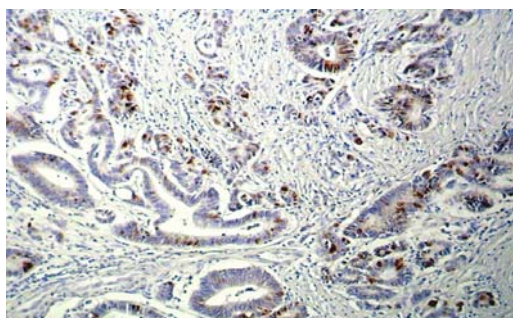
Istraživanje je obuhvatilo 62 bolesnika sa karcinomom želuca i 30 bolesnika sa benignim patomorfološkim promena (intestinalna metaplazija na terenu ulkusne bolesti), operisanih u Klinici za hirurgiju Kliničkog centra (KC) Kragujevac u periodu od 2001. do 2008. godine.

Detaljne kliničkopatološke informacije o tipu, starosti, polu, lokalizaciji karcinoma (desni, levi kolon, rektum), opisu načina rasta prema Ming-u, histološkom tipu prema Lauren-u, konfiguraciji invazivnog ruba tumora, ekstenzivnosti nekroze u tumoru, stanju resekcionih margina, udaljenosti tumora od najbliže margine, gradusu tumora (stepenu diferencijacije), prisustvu intra i peritumorskog limfocitnog odgovora, stromalnom odgovoru kao i o postojanju limfatične, vaskularne, ekstramuralne venske i perineuralne invazije za sve bolesnike obrađene su u Klinici za hirurgiju i Centru za patološku dijagnostiku KC Kragujevac.

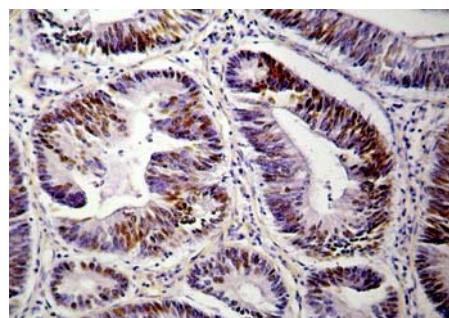
Imunohistohemijska analiza vršena je primenom imunohistohemijske metode LSAB+HRP, pri čemu se kao primarno antitelo koristio protein p53, (*Monoclonal Mouse Anti-Human, Clone DO-7, code M7001, DAKO, Denmark*). Na kraju, preparati su kontrastirani Mayer-ovim hematoksilinskim bojenjem.

Kao pozitivna kontrola za testiranje p53 koristili smo uzorke primarnog karcinoma dojke, a kao negativna kontrola poslužili su uzorci tkiva tretirani neimunskim serumom, umesto primarnog antitela.

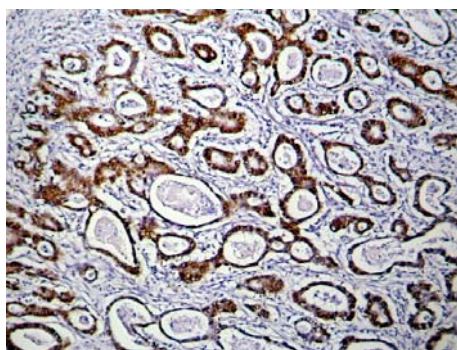
Analiza ekspresije proteina p53 vršena je semikvantitativnim metodom, određivanjem procenta imunoreaktivnih ćelija, sa konačnim svrstavanjem nivoa ekspresije u četiri grupe: negativna (-), manje od 5% pozitivnih ćelija; slabo pozitivna (+), ako je 5–25% ćelija pozitivno; srednje pozitivna (++) , kada je 25–75% ćelija pozitivno i jako pozitivna (+++), ako je pozitivnost veća od 75% (slika 1 a, b i c).



a) p53 slabo pozitivan (IHH × 100)



b) p53 umereno pozitivan (IHH × 200)



c) visoko pozitivan (IHH × 200)

Sl. 1 – Analiza ekspresije p53 preko određivanja procenta imunoreaktivnih ćelija (imunohistohemijsko bojenje-IHH)

Statistička obrada rezultata izvršena je primenom komercijalnog programskog paketa SPSS (verzija 11.0, SPSS Inc., Chicago, IL). Statistička značajnost utvrđivana je za $p < 0,05$.

Rezultati

U istraživanje su bili uključeni 51 muškarac i 11 žena operisanih zbog karcinoma želuca. Prosečna starost ispitivanih bolesnika bila je $62 \pm 9,89$ godina (raspon 43 – 86 godine).

Prema AJCC/UICC sistemu za određivanje stadijuma u ispitivanoj grupi, u prvom stadijumu bilo je 12 bolesnika (19,4%), u drugom 11 (17,7%), u trećem 18 (29,0%) i u četvrtom stadijumu 21 bolesnik (33,9%). Prosečno vreme preživljavanja bilo je $36,11 \pm 20,69$ meseci (raspon = 5–79 meseci).

Dominantan histološki tip karcinoma, prema Lauren-ovoj klasifikaciji na ispitivanom materijalu bio je intestinalni (55 ispitanika; 88,7%), dok je difuzni bio prisutan kod sedam (11,3%) bolesnika. Ekspresija p53 bila je pozitivna kod 42 (67,7%) tumora dok je u intestinalnoj metaplaziji bila prisutna samo kod sedam (14,3%) slučajeva. Ekspresija p53 bila je najveća u prvom stadijumu bolesti (91,67%), u drugom (63,64%) i trećem (66,67%) približno ista, a najniža (57,14%) u četvrtom stadijumu (prisutne udaljene metastaze). Ekspresija p53 i karcinom želuca bili su u direktnoj korelaciji ($p = 0,000$), (tabela 1). U ispitivanoj grupi, bez ekspresije p53 proteina bilo je 46,5% karcinoma želuca, a u grupi sa p53 pozitivnošću bilo je njih 85,7%. Senzitivnost određivanja ekspresije p53 iznosila je 67,7% (42/62), a specifičnost 76,7% (23/30).

Tabela 1

Ekspresija p53 kod karcinoma želuca.

Ekspresija p53	Metaplazija (n %)	Karcinom (n %)	Ukupno (n %)
Negativan	23 (53,5)	20 (46,5)	43 (100,0)
Pozitivan	7 (14,3)	42 (85,7)	49 (100,0)
Ukupno	30 (32,6)	62 (67,4)	92 (100,0)

Odnos između ekspresije proteina p53 i različitih patohistoloških varijabli prikazan je u tabeli 2. Rezultati poka-

zuju da ne postoji značajna korelacija između ekspresije p53 i histološkog tipa ($p = 0,671$), histološkog i nuklearnog gradusa ($p = 0,104$), nekroze u tumoru ($p = 0,697$), stromalne reakcije ($p = 0,0725$), perineuralne invazije ($p = 0,150$) kao i stadijuma karcinomske bolesti ($p = 0,446$).

Između invazije limfnih sudova i ekspresije p53 u tumoru postojala je pozitivna korelacija, odnosno ekspresija je dvadeset puta bila češća na ćelijama karcinoma koji je pokazao sposobnost invazije limfatika ($p = 0,034$) [odds ratio = 0,048 (0,003 – 0,796)]. Negativna korelacija bila je prisutna između ekspresije p53 i dezmoplastične reakcije ($p = 0,047$). Ako je u tumoru bila izražena dezmoplazija, ćelije su pokazivale šest puta ređu ekspresiju p53 u odnosu na tumore kod kojih je dezmoplazija bila oskudna [(odds ratio = 0,157 (0,025 – 0,978)].

Invazija krvnih sudova bila je u direktnoj korelaciji sa ekspresijom p53 ($p = 0,042$). Postojanje invazije krvnih sudova bilo je praćeno ekspresijom p53 u tumoru koja je bila 10 puta veća u odnosu na tumore kod kojih se invazija krvnih sudova nije registrovala [(odds ratio = 9,838 (1,086 – 89,080)].

Diskusija

Gen p53 je čuvar genoma ćelije, koji prevencijom pojave genskih aberacija sprečava pojavu i ekspanziju tumorskih ćelija^{18,19}.

U našem radu na 62 preparata karcinoma želuca registrovana je povećana ekspresija proteina p53 kod 42 tumora (67,7%). U 30 preparata intestinalne metaplazije želuca povišena ekspresija bila je prisutna kod sedam (14,3%), bolesnika što ukazuje da mutirani protein ne pokazuje akumulaciju tokom procesa metaplazije ćelija mukoze želuca. Zastupljenost p53 mutacija u karcinomima želuca veoma je varijabilna u mnogobrojnim istraživanjima i varira od 35,6% do 59%²⁰⁻²⁷. Ovako visoka ekspresija koju smo dobili u relativnoj je diskrepanci sa mnogobrojnim svetskim istraživanjima²⁸⁻³¹. Moguće objašnjenje je da je visoka ekspresija karakteristika kasnijih stadijuma maligne bolesti, jer u našem materijalu dominirao je karcinom želuca u trećem i četvrtom stadijumu (39 bolesnika ili 62,9%).

Tabela 2

Varijacije ekspresije u odnosu na praćene parametre

Karakteristike	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp (B)	95,0% CI za EXP (B)	
							donja granica	gornja granica
Pol	-3,147	1,294	5,919	1	0,015	0,043	0,003	0,542
Starost	0,002	0,045	0,003	1	0,958	1,002	0,917	1,096
Histološki tip	-0,270	1,372	0,039	1	0,844	0,764	0,052	11,241
Stadijum			0,623	3	0,891			
1	0,549	1,216	0,204	1	0,652	1,732	0,160	18,777
2	0,279	1,052	0,070	1	0,791	1,321	0,168	10,383
3	0,714	0,975	0,537	1	0,464	2,042	0,302	13,794
Histološki gradus	1,415	0,843	2,815	1	0,093	4,116	0,788	21,500
Perineuralna invazija	0,601	1,023	0,345	1	0,557	1,823	0,246	13,528
Limfatična invazija	-3,039	1,434	4,490	1	0,034	0,048	0,003	0,796
Vaskularna invazija	2,286	1,124	4,136	1	0,042	9,838	1,086	89,080
Dezmoplazija	-1,850	0,933	3,935	1	0,047	0,157	0,025	0,978
Stromalna reakcija	0,703	0,984	0,510	1	0,475	2,019	0,294	13,892
Nekroza	-0,242	1,037	0,055	1	0,815	0,785	0,103	5,986
Konstanta	6,293	3,608	3,042	1	0,081	540,82		

CI – interval poverenja

U ćelijama karcinoma želuca kod velikog broja bolesnika registruje se visoka ekspresija mutiranog proteina p53, ali nije utvrđena korelacija sa prognozom ishoda bolesti²¹⁻²³. Za razliku od prvih istraživanja odnosa ekspresije mutiranog gena p53 i korelacije sa prognozom, Starzynska i sar.²⁴ pokazali su da je kod 42,5% karcinoma želuca nivo p53 povišen, odnosno da je p53 nezavisni parametar koji ukazuje na lošu prognozu bolesti. Mnogi autori u svojim studijama prikazali su slične rezultate koji govore da je visoka ekspresija p53 prisutna kod preko 57% karcinoma želuca, a da je p53 status tumora u direktnoj korelaciji sa periodom preživljavanja nakon postavljene dijagnoze^{25,26}. U istraživanju Chen-a i sar.²⁷ registrovana je ekspresija p53 kod 59% karcinoma pri čemu niska ekspresija p27^{Kip1} i visoka ekspresija p53 koreliše sa invazivnošću i metastaziranjem kod karcinoma želuca, što redukuje preživljavanje²⁷. Dong i sar.²⁸ u svojoj studiji pokazuju da se kroz multiple genske promene kao i sadejstvo nastalih promena razvija karcinom želuca. Između ostalih, rezultati koje su dobili pokazuju da su postojanje inaktivacije gena p16, uz prisutnu mutaciju gena p53, nezavisni prediktivni faktori koji ukazuju na dubinu invazivnosti karcinoma želuca²⁸.

Naše istraživanje pokazalo je da su ekspresija p53 i karcinom želuca u direktnoj korelaciji ($p = 0,000$). Izračunate vrednosti senzitivnosti i specifičnosti su relativno visoke (67,7% i 76,7%). Urađen je veliki broj studija posvećen ekspresiji proteina p53 u karcinomu želuca, koje nisu saglasne u pitanju da li ova ekspresija koreliše sa lošom prognozom, odnosno ukazuje na metastatsku sposobnost tumora. Prva istraživanja ukazivala su da ne postoji korelacija stepena ekspresije proteina p53 sa prognozom ishoda bolesti²¹⁻²³. Kasnija istraživanja saglasna su da je povišena ekspresija ovog proteina u direktnoj korelaciji sa periodom preživljavanja nakon postavljene dijagnoze. Po mnogim autorima, ovaj marker je nezavisan prediktivni faktor^{24-28, 30, 31}.

Analiza korelacije ekspresije p53 i kliničkopatoloških karakteristika karcinoma želuca pokazala je da ne postoji značajna korelacija sa histološkim tipom tumora, kao ni sa histološkim i nuklearnim gradusom, prisutnom nekrozom u tumoru, kao ni sa stadijumom bolesti. Utvrdili smo postojanje pozitivne korelacije između invazije limfnih i krvnih sudova, kao i dezoplastične reakcije u tumoru, i ekspresije p53. Ćelije koje vrše invaziju limfotika i krvnih sudova imaju veću ekspresiju proteina p53, u odnosu na maligne ćelije bez ove sposobnosti. Naime, ako je registrovano postojanje invazije krvnih sudova, verovatnoća da je na ćelijama takvog tumora prisutna ekspresija p53 povećava se 10 puta u odnosu na tumore kod kojih se invazija krvnih sudova ne registruje.

U većini istraživanja prisutna je raznolikost veza ekspresije ovog proteina i kliničkopatoloških karakteristika karcinoma želuca. Starzynska i sar.²⁴ pokazali su da se povišena ekspresija p53 češće uočava kod karcinoma lokalizovanih u proksimalnom delu želuca i ova akumulacija je u pozitivnoj korelaciji sa stadijumom bolesti, veličinom tumora, limfnim statusom i udaljenim metastazama²⁴. Već je spomenuto da su Chen i sar.²⁴ ukazali da postojanje niske ekspresije p27^{Kip1}, a visoke ekspresije p53 koreliše sa invazivnošću i metastaziranjem kod karcinoma želuca²⁷, dok Dong i sar.²⁸ u svojoj studiji pokazuju da inaktivacija gena p16, uz prisutnu mutaciju gena p53, ukazuje na dubinu invazivnosti i sposobnost limfogenog metastaziranja karcinoma želuca.

Zaključak

Između ekspresije p53 i karcinoma želuca postoji direktna korelacija. Ekspresija mutiranog proteina p53 je u pozitivnoj korelaciji sa invazijom limfnih i krvnih sudova, i ne zavisi od stadijuma bolesti, histološkog gradusa i drugih patomorfoloških parametara.

L I T E R A T U R A

1. Smith MG, Hold GL, Tabara E, ElOmar EM. Cellular and molecular aspects of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12(19): 2979-90.
2. National Foundation for Cancer research. Gastric cancer. Available from: www.nfcr.org/index.php
3. American Cancer Society. Global Cancer facts and Figures; 2nd ed. 2011.
4. Jemal A, Timari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E et al. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2004; 54(1): 8-29.
5. Salvon-Harman JC, Cady B, Nikulasson S, Khettry U, Stone MD, Lavin P. Shifting proportions of gastric adenocarcinomas. *Arch Surg* 1994; 129(4): 381-9.
6. Devesa SS, Fraumeni JF Jr. The rising incidence of gastric cardia cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(9): 747-9.
7. La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Gentile A. Family history and the risk of stomach and colorectal cancer. *Cancer* 1992; 70(1): 50-5.
8. Goldgar DE, Easton DF, Cannon-Albright LA, Skolnick MH. Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86(21): 1600-8.
9. Machado JC, Soares P, Carneiro F, Rocha A, Beck S, Blin N et al. E-cadherin gene mutations provide a genetic basis for the phenotypic divergence of mixed gastric carcinomas. *Lab Invest* 1999; 79(4): 459-65.
10. Pharoah PD, Guilford P, Caldas C. Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. *Gastroenterology* 2001; 121(6): 1348-53.
11. Ascaño JJ, Frierson H Jr, Moskaluk CA, Harper JC, Roviello F, Jackson CE et al. Inactivation of the E-cadherin gene in sporadic diffuse-type gastric cancer. *Mod Pathol* 2001; 14(10): 942-9.
12. Kaurab P, MacMillan A, Boyd N, Senz J, De Luca A, Chun N et al. Founder and recurrent CDH1 mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer. *JAMA* 2007; 297(21): 2410-1.
13. Carneiro F, Oliveira C, Suriano G, Seruca R. Molecular pathology of familial gastric cancer, with an emphasis on hereditary diffuse gastric cancer. *J Clin Pathol* 2008; 61(1): 25-30.
14. Scautozzi M, Galizja E, Freddari F, Berardi R, Cellerino R, Cascinu S. Molecular biology of sporadic gastric cancer: prognostic indicators and novel therapeutic approaches. *Cancer Treat Rev* 2004; 30(5): 51-9.

15. *Harris AL*. Mutant p53 - the commonest genetic abnormality in human cancer. *J Pathol* 1990; 162(1): 5–6.
16. *Harris CC, Hollestein M*. Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med* 1993; 329(18): 1318–27.
17. *Komarova EA, Chamakov PM, Gudkov AV*. TP53 in cancer origin and treatment. In: *Cowell JK*, editor. *Molecular Genetic of Cancer*. 2nd ed. Oxford: Bios; San Diego, CA: Academic Press, 2001. p. 195–216.
18. *Oren M, Damalas A, Gottlieb T, Michael D, Taplick J, Leal JF* et al. Regulation of p53: intricate loops and delicate balances. *Ann NY Acad Sci* 2002; 973: 374–83.
19. *Ulrich SJ, Anderson CW, Mercer WE, Appella E*. The p53 tumor suppressor protein, a modulator of cell proliferation. *J Biol Chem* 1992; 267(22): 15259–62.
20. *Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC*. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253(5015): 49–53.
21. *Hurlimann J, Saraga EP*. Expression of p53 protein in gastric carcinomas. Association with histologic type and prognosis. *Am J Surg Pathol* 1994; 18(12): 1247–53.
22. *Gabbert HE, Müller W, Schneiders A, Meier S, Hommel G*. The relationship of p53 expression to the prognosis of 418 patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1995; 76(5): 720–6.
23. *Varis A, Wolf M, Monni O, Vakkari ML, Kokkola A, Moskaluk C* et al. Targets of gene amplification and over expression at 17q in gastric cancer. *Cancer Res* 2002; 62(9): 2625–9.
24. *Starzynska T, Markiewski M, Domagala W, Marlicz K, Mietkiewski J, Roberts SA* et al. The clinical significance of p53 accumulation in gastric carcinoma. *Cancer* 1996; 77(10): 2005–12.
25. *Martin HM, Filipe MI, Morris RW, Lane DP, Silvestre F*. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 2006; 50(6): 859–62.
26. *Lazăr D, Tăban S, Sporea I, Dema A, Cornianu M, Lazăr E* et al. The immunohistochemical expression of the p53-protein in gastric carcinomas. Correlation with clinicopathological factors and survival of patients. *Rom J Morphol Embryol* 2010; 51(2): 249–57.
27. *Chen L, Lu P, Hoengjie S, Dechun LI*. The Relationship between the Expression of p27^{Kip1}, p53 and Infiltration, Metastasis and Prognosis in Gastric Carcinoma. *Chin Ger J Clin Oncol* 2005; 4(3): 155–60.
28. *Dong W, Sun J, Xu Y, Yu J*. Changes of multiple genes in human gastric carcinomas. *Chin J Cancer Res* 2001; 13(3): 63–5.
29. *Lane DP*. Cancer. P53, guardian of the genome. *Nature* 1992; 358(6381): 15–6.
30. *Yokobori T, Mimori K, Iwatsuki M, Ishii H, Onoyama I, Fukagawa T*, et al. p53-Altered FBXW7 Expression Determines Poor Prognosis in Gastric Cancer Cases. *Cancer Res* 2009; 69(9): 3788–94.
31. *Leung WK, To KF, Ng YP, Lee TL, Lau JY, Chan FK*, et al. Association between cyclo-oxygenase-2 overexpression and missense p53 mutations in gastric cancer. *Br J Cancer* 2001; 84(3): 335–9.

Primljen 18. II 2010.
Revidiran 30. VI 2010.
Prihvaćen 05. VII 2010.