

# ЕКСПРЕСИЯ НА ПРОТЕИН P53 ВЪВ ВРЪЗКА С КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛНИ ЕПИТЕЛНИ НЕОПЛАЗМИ

Недялка Згурова<sup>1</sup>, Мария Цанева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Катедра по обща и клинична патология, Медицински факултет, МУ-Варна

<sup>2</sup>Катедра по предклинични и клинични науки, Факултет по фармация, МУ-Варна

## P53 EXPRESSION IN COLORECTAL EPITHELIAL NEOPLASMS AND ITS RELATION TO CLINICAL AND HISTOPATHOLOGICAL FEATURES

Nedyalka Zgurova<sup>1</sup>, Maria Tzaneva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of General and Clinic Pathology, Forensic Medicine and Deontology, Faculty of Medicine, Medical University of Varna

<sup>2</sup>Department of Preclinical and Clinical Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Varna

### РЕЗЮМЕ

**Увод:** Колоректалният карцином (КРК) е резултат от генетични и епигенетични нарушения. Ген p53, известен като пазител на генома, играе важна роля в апоптозата и инхибиране на ангиогенезата.

**Цел:** Целта на настоящото изследване е да се проучи и сравни експресията на p53 в туморната тъкан на синхронни/метахронни аденоми и КРК във връзка с клинично-морфологичните показатели и да се оцени p53 като предиктивен маркер.

**Материали и методи:** Материали от 18 синхронни/метахронни колоректални аденоми и 21 КРК са фиксирани в 10% неутрален формалин и са включени в парафин. Срези с дебелина 5µ са оцветени с хемалаун-еозин за оценка на хистологичните параметри. За имунохистохимичния анализ е използвано моноклоналното заешко p53 анти тяло (Clone Y5). Използвана е петстепенна скала за оценка процента на позитивни ядра: липсва експресия - 0 (0-5%), 1 (6-25%), 2 (26-50%) и 3 (51-75%) и 4 (>75%).

**Резултати:** Седем (38.89%) от доброкачествените неоплазми са позитивни за p53 и експресията на протеина е в права корелационна зависимост от размера, локализация в дясната половина на колона и вилозната компонента на аденома и в обратна зависимост от степента му на диференциация ( $p < 0.05$ ). Туморната тъкан на

### ABSTRACT

**Introduction:** Colorectal carcinoma (CRC) is the result of genetic and epigenetic disorders. The p53 gene, known as the guardian of the genome, plays an important role in apoptosis and inhibition of angiogenesis.

**Aim:** The aim of our study is to investigate and compare the expression of p53 in the tumor tissue of synchronous/metachronous adenomas and CRC and its relation to clinical and histopathological features, and to evaluate p53 as a predictive marker.

**Materials and Methods:** Materials from 18 synchronous/metachronous colorectal adenomas and 21 CRCs were fixed in formalin (10% neutral), followed by paraffin embedding of tissue. Tissue sections of 5 µ were stained with hematoxylin and eosin to evaluate histological parameters. For immunohistochemistry, the monoclonal rabbit p53 antibody (Clone Y5) was used. A five-step scale was used to evaluate the percentage of positive nuclear expression: 0 (0-5%), 1 (6-25%), 2 (26-50%) and 3 (51-75%) and 4 (>75%).

**Results:** Seven (38.89%) of the benign neoplasms were positive for p53 and the expression of the protein was in correlation with size, localization in the right half of the colon and the villous component of the adenoma, and inversely dependent on its differentiation degree ( $p < 0.05$ ). Tumor tissue of 13 (61.90%) CRCs accumulated p53, but there was no correlation with clinical and morphological parameters: age, gender, size,

13 (61.90%) КРК акумулира p53, но липсва корелация с клинично-морфологичните показатели: възраст, пол, размер, локализация, TNM стадий и диференциация ( $p>0.05$ ). В нетуморната тъкан не се открива p53 позитивност.

**Заключение:** Акумулирането на p53 е предиктор за малигнизация на колоректалните аденоми и за участие в аденом карциномната туморна прогресия.

**Ключови думи:** p53, синхронни/метахронни аденоми, колоректален карцином, клинично-морфологични показатели

## УВОД

Колоректалният карцином (КРК) е една от водещите причини за заболяемост и смъртност в света (12). Той е на трето място по честота сред злокачествените тумори и на четвърто място като причина за смърт. Годишно в света се регистрират около 1 400 000 нови случая на КРК и около 700 000 смъртни случая (5).

КРК възниква в резултат на акумулиране на различни типове на увреждане на генома, като нарушения в транскрипцията на гени и епигенетични нарушения (1). Тези промени водят до активиране на протоонкогени (K-ras, c-myc, BRAF и др.) и превръщането им в онкогени и/или инактивиране на тумор супресорни гени (p53, APC и др).

Ген p53 (известен още като TP53) е тумор-супресорен ген, който е разположен на късото рамо на хромозома 17p13.1 и има молекулно тегло от 53 kDa (29). Той е известен като пазител на генома, поради ролята му в запазване стабилността на генома, играе важна роля в апоптозата и инхибиране на ангиогенезата (7). Мутациите на P53 са честа находка, срещат се в около половината от злокачествените епителни неоплазми, а при кожния меланом те се откриват в повече от 90% от случаите (4).

В болшинството от случаите КРК се развива на фона на предшествващи доброкачествени лезии на чревния епител – тубуларни, вилозни или смесени аденоми с различна степен на диспластични промени.

Цел на настоящото изследване е да се проучи и сравни експресията на p53 в туморната тъкан на синхронни/метахронни аденоми и КРК във връзка с клинично-морфологичните параметри и да се оцени p53 като прогностичен маркер.

localization, TNM stage and grade of differentiation ( $p>0.05$ ). The non-neoplastic colonic mucosa was negative in all cases.

**Conclusion:** Accumulation of p53 is a predictor of malignancy in colorectal adenoma and plays part in adenoma-carcinoma tumor progression.

**Keywords:** p53, synchronous/metachronous adenomas, colorectal carcinoma, clinical-morphological parameters

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изследвани са 18 синхронни/метахронни колоректални аденома и 21 КРК. Определени са диференциацията, размерът и локализацията на туморите, възрастта и полът на пациентите. Колоректалните карциноми са стадирани съгласно последната класификация на СЗО от 2010 година.

Материалите са фиксирани в 10% неутрален формалин и са включени в парафин с точка на топене между 52-54°C. Срези с дебелина 5µ са оцветени с хемалаун-еозин за оценка на хистологичните параметри. За имунохистохимичния анализ е използвано моноклоналното заешко p53 антитяло (Clone Y5) клон и mini KIT high Ph DAKO K8024.

Използвана е петстепенна скала за оценка процента на позитивни ядра: липсва експресия - 0 (0-5%), 1 (6-25%), 2 (26-50%) и 3 (51-75)% и 4 (>75%).

Данните са обработени статистически и за корелационна зависимост се прие  $p<0.05$ .

## РЕЗУЛТАТИ

Пациентите с метахронни/синхронни колоректални аденоми са 18 на брой. Седем (38,89%) от пациентите са на възраст между 61 и 70 години, 5 (27,78%) са между 71-80 години, 3 (16,66%) пациенти са над 81 г., двама (11,11%) са на възраст между 51 и 60 години и един (5,56%) е от възрастовата група 31-40 години. На Табл. 1. са посочени клинично-морфологични характеристики на пациенти със синхронни/метахронни аденоми.

Колоректалните аденоми се срещат по-често при мъжкия пол - 13 (72,22%) случая, в сравнение с женския пол - 5 (27,78%) случая. Размерите им варират, като най-многобройни са аденомите с размери между 1,1 и 2 см - 7 (38,89%) аденома. На второ място по честота са тези с размери меж-

ду 0,1 и 0,5 см - 5 (27,78%) аденома. Два (11,11%) аденома са с размери над 2 см и 4 (22,22%) аденома между 0,6 и 1 см.

Аденоматозните полипи по-често са локализирани в лявата половина на колона - 14 слу-

чая (77,78%), в сравнение с дясната половина - 4 (22,22%) случая.

Високодиференцираните аденоми са 13 (72,22%) случая, а останалите 5 (27,78%) аденома са нискодиференцирани.

**Табл. 1.** Клинико-морфологична характеристика на пациенти със синхронни/метахронни аденоми

Показател		Брой (%) пациенти
Пол	Жени	5 (27,78)
	Мъже	13 (72,22)
Размер	0,1-0,5 см	5 (27,78)
	0,6-1 см	4 (22,22)
	1,1-2	7 (38,89)
	>2	2 (11,11)
Локализация	Дясна половина на колон	4 (22,22)
	Лява половина на колон	14 (77,78)
Хистологичен вид	Тубуларни аденоми	9 (50,00)
	Тубуловилозни аденоми	8 (44,44)
	Вилозни аденоми	1 (5,56)
Степен на диференциация	Високодиференцирани	13 (72,22)
	Нискодиференцирани	5 (27,78)

**Табл. 2.** Клинико-морфологична характеристика на пациенти с колоректални карциноми

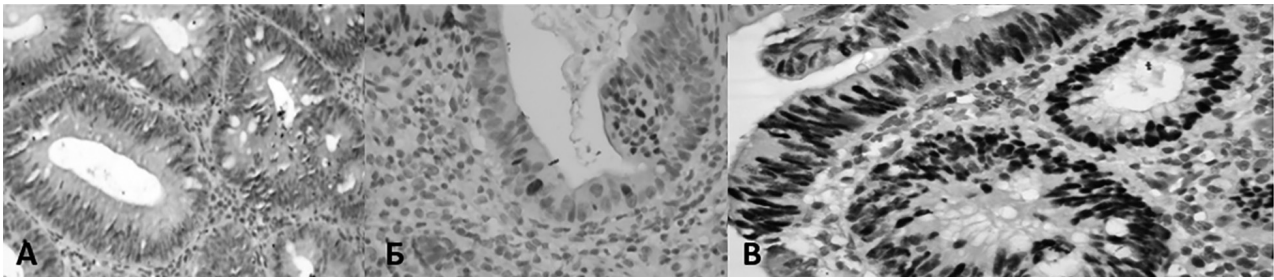
Показател		Брой (%) пациенти (n=21)
Пол	Жени	7 (33,33)
	Мъже	14 (66,67)
Локализация	Дясна половина на колон	6 (28,57)
	Лява половина на колон	15 (71,43)
Степен на диференциация	G2	21(100%)
Т стадий	T1	0 (0%)
	T2	4 (19,05)
	T3	11 (52,38)
	T4	6 (28,57)
N стадий	N0	13 (61,90)
	N1	8 (38,10)
M стадий	M0	15 (71,43)
	M1	6 (28,57)

Легенда: N0 – липсват метастази; N1 – метастази в регионални лимфни възли; M0 - липсват далечни метастази; M1 – далечни метастази; G - степен на диференциация.

От изследваните 21 пациенти с КРК 7 (33,33%) са жени и 14 (66,67%) са мъже. Седем от тях (33,33%) са на възраст между 61 и 70 години, по 4 (19,05%) случая са между 71 и 80 г., 81 и 90 г. и 51 и 60 години. Един (4,76%) пациент е на 31 години и един (4,76%) на 45 години. Повече от половината КРК са локализирани в лявата половина на колона - 15 (71,43%) случая, а останалите 6 (28,57%) - в дясната му половина. Преобладават туморите с размери между 2 и 3 см - 13 (61,91%) случая, един (4,76%) е с размери 4,5 см, а останалите 7 (33,33%) тумора са с размери между 3,1 и 4 см. Всички карциноми са с умерена степен на диференциация (G2) (Табл. 2.). Болшинството от пациентите с КРК са в Т3 стадии - 11 (52,38%) случая, 6 пациенти (28,57%) са в Т4 стадий и 4 пациенти (19,05%) в Т2 стадий. При малко повече от половината пациенти липсват метастази в лимфни възли - 13 (61,90%) случая, и в 15 (71,43%) случая липсват органни метастази.

Експресия на p53 се установи при 7 аденома. От тях в 4 (57,14%) случая експресията е в диапазона между 6% и 25%, в 2 (28,57%) случая е между 26%-50% и в един случай (14,29%) е над 75%. Експресия на протеина липсва в 11 (61,11%) случая (Фиг. 1).

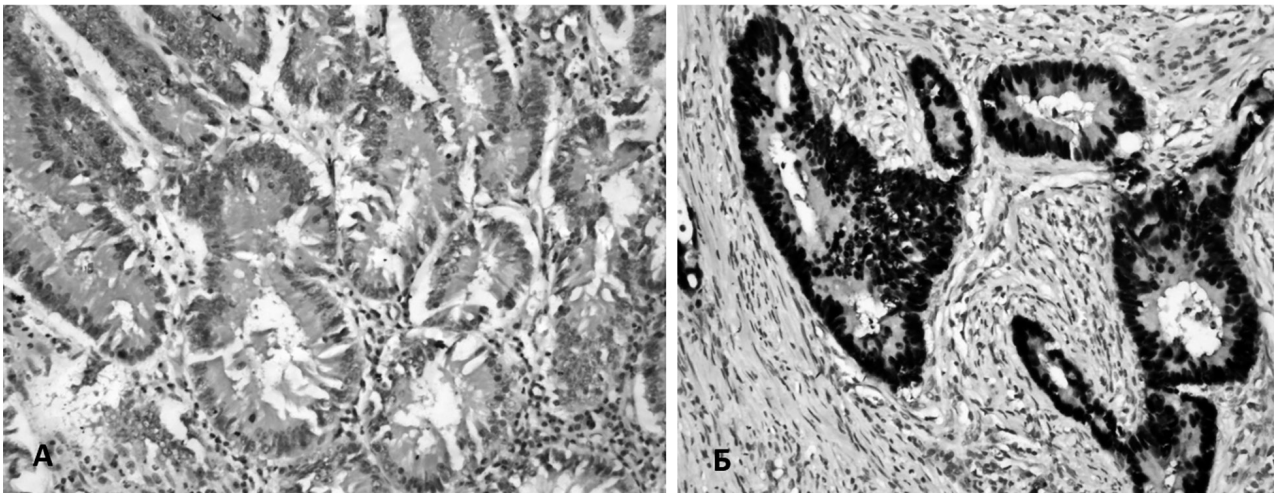
В туморната тъкан на 13 КРК има експресия на протеин p53. В 9 (69,23%) от КРК процентна



**Фиг. 1.** Процент на експресия на p53 протеин при колоректални аденоми. А. Липсва реакция (площ 0); Б. Площ 26-50% (степен 2); В. Площ над 75% (степен 4). Имунохистохимия x 40.

та експресия на протеин p53 е над 75%, при 2 (15,38%) случая е между 51% и 75%, при 2 (15,38%) случая между 26% и 50%. При 8 случая липсва експресия (Фиг. 2).

аденомите, тяхната локализация, вилозната им компонента и степента им на диференциация ( $p < 0.05$ ). Подобна зависимост не е установена за останалите клинично-морфологични показатели,



**Фиг. 2.** Процент на експресия на p53 протеин в колоректални карциноми. А. Липсва реакция (степен 0); Б. Площ >75% (степен 4). Имунохистохимия x 40.

Площта на експресия на p53 е по-висока при аденомите с по-големи размери в сравнение с тези с по-малки размери ( $p < 0.05$ ). Експресията е по-изразена при локализация на аденомите в дясната половина на колона и при наличие на вилозна компонента в тях ( $p < 0.05$ ). При нискодиференцираните аденоми експресията на p53 е по-висока в сравнение с добре диференцираните аденоматозни полипи ( $p < 0.05$ ). Между експресията на p53 и показателите като възраст и пол не се установи корелационна зависимост ( $p > 0.05$ ).

Експресията на протеин p53 не корелира с никой от изследваните клинично-морфологични показатели при КРК ( $p > 0.05$ ).

В нетуморната тъкан на синхронните/метакронни аденоми липсва експресия на протеин p53.

## ДИСКУСИЯ

Получените от нас резултати показват, че експресията на протеин p53 корелира с размера на

като възраст и пол. Основните морфологични параметри, предиктори за авансиране на аденомите, са техният размер, мултипленост и степента им на диференциация (16). P53 е тумор супресорен ген, който регулира апоптозата и мутациите в гена водят до висока пролиферативна активност на неопластично трансформирани клетки поради загуба на контрол на апоптозата (7). Според нас ядрената експресия на p53 в епителните клетки на аденоматозните полипи е предиктивен фактор, който трябва да се има предвид при оценка прогресия на аденомите.

Ние установихме, че процентната експресия на протеин p53 е по-висока при аденоми с размери над 1 см, десностранна локализация, присъствие на вилозна компонента и ниска степен на диференциация в сравнение с аденоми с по-малки размери, локализиращи се в лявата половина на колона, липса на вилозна компонента и с добра диференциация. Тези резултати са в съответствие с данните, получени от други изследвания, при

които също се открива зависимост между експресията на p53 и степента на диференциация на аденомите, по-високата експресия е характерна за нискодиференцираните аденоми (35).

При един от изследваните синхронни/метахронни аденоми експресията на p53 е висока, над 75% от площта. Аденомът е с размери 1 см, от тубуларен тип с ниска степен на диференциация и е локализиран в лявата половина на колона. Пациентът е мъж на 61 години. Тези клинично-морфологични показатели покриват отчасти профила на високо рисковите аденоми, при които се наблюдава интензивна експресия на p53 протеин, размери  $\geq 1$  см, висока степен на дисплазия и наличие на вилозна компонента (6.11). Според нас високата експресия на p53 в тубуларните аденоми показва, че за стратифициране на пациентите с тубуларни аденоми с висок риск от малигнизация към хистологичните критерии трябва да се добавят и молекулярни маркери.

В нетуморната тъкан в съседство на синхронните/метахронни аденоми протеин p53 не се открива в ядрата на епителните клетки. Подобни резултати са установени и от други автори, които също не намират експресия на p53 в нормална колоректална тъкан (19,21). Получените от нас резултати показват, че фонът за поява на синхронни/метахронни аденоми не е асоцииран с нарушения в процеса на апоптоза, регулирана от ген p53. Липсата на експресия на протеин p53 в ядрата на нетуморните клетки и появата му при аденомите и по-изразената експресия при КРК показва, че протеин p53 участва в по-късните етапи на КРК. Тези резултати са в съответствие с проучванията на други автори, според които мутациите на p53 са късно събитие в туморогенезата при КРК (17,32,28).

Ние установихме, че експресия на протеин p53 има в повече от половината КРК - 13 (61.9%) случая, като преобладава високата степен на експресия - в 9 (69,24%) случая процентната експресия на протеина е над 75%. Тези резултати не противоречат на резултатите от други проучвания, при които положителна реакция на протеина е установена между 50 и 75% от случаите на КРК (24). Те са в съответствие с данните, че p53 позитивността е между 43 и 86,36% (29,28,13). Според нас методите на оценка на тъканната експресия на протеин p53 са от съществено значение за несъответствията в получените резултати.

Връзката между експресията на протеин p53 и клинично-морфологичните характеристики на КРК все още не е напълно изяснена (8). Получените от нас резултати показват, че експресията

на протеин p53 при КРК не корелира с никой от изследваните клинично-морфологични показатели като възраст, пол, локализация, стадий на тумора и диференциация ( $p > 0.05$ ). Liang JT et al. (2002) установяват зависимост между експресия на p53 и пола на пациентите, по-изразена е експресията в туморната тъкан на пациенти с КРК от мъжки пол в сравнение с женския пол (22). Според други автори (33) с възрастта експресията на протеин p53 в туморната тъкан на КРК се повишава, а според други липсва подобна зависимост (18,3). Ние считаме, че тези различия са свързани с възрастовото разпределение на пациентите. В проучването на Akshatha S et al. (2016) пациентите са разделени в две възрастови групи: под и над 40 години (3), а при изследването на Jerjees DA et al. (2009) границата на възрастовото разпределение е 55 години (18).

Връзката между експресията p53 и TNM стадия все още е спорна. Според получените от нас резултати ( $p > 0,05$ ) и тези на Adrover E et al. (1999) и Prasad GR et al. (2017) липсва зависимост между двата показателя (2,27), а според други изследвания има обратна корелация между експресията на протеин p53 и T стадия на КРК (14). Gurzu S et al. (2007) установяват експресия в 75% от туморите в pT1, 65% при pT2 и 40% при pT3 (14). Според Wang P et al. (2017) p53 е независим и неблагоприятен прогностичен фактор, защото p53 позитивните тумори са асоциирани с по-висока степен на малигненост, авансирал туморен стадий с метастази в лимфните възли и с намалена обща преживяемост (34). Ние считаме, че различните резултати не са свързани със стадия на заболяването, защото повечето от КРК в настоящото изследване са в T3 и T4 стадий, както и при изследването на Wang P et al. (2017). На базата на получените от нас резултати, ние считаме, че p53 не е прогностичен фактор при КРК.

Ние, подобно на други автори, не установихме зависимост ( $p > 0.05$ ) между тъканната експресия на p53 и локализация на КРК (10,31). Според Paluszkiwicz P et al. (2004) съществува статистически значима разлика между двата показателя (26). Те установяват, че акумулацията на протеин p53 в туморните клетки на КРК е свързан с понижена обща преживяемост и е независим прогностичен маркер при КРК локализиран в лявата половина на колона (26). Диетичният режим, различната експозиция и чувствителност към канцерогени и половите хормони могат да са фактори, които също участват в колоректалната карциногенеза (23).

Според редица изследвания позитивната имунохистохимична реакция е отражение на мутация в p53 гена (20,36,15). Невинаги липсата на експресия на протеин p53 изключва мутации на ген p53 (29). Akshatha CT et al. (2016) установяват, че при 16% от пациентите с КРК и мутация в p53 гена имунохистохимично липсва експресия на протеина (3). Те откриват, че протеин p53 е най-често позитивен при мутация на p53 от мисенс тип, защото стабилността на протеина се повишава, предотвратява се разцепването му и това го прави възможен за имунохистохимично откриване. Липсата на експресия на протеин p53 може да се дължи на мутации от типа на делеция или разкъсване на p53 и в тези случаи молекулярните методи са единствените методи за откриване на съществуващите мутации (25,9). Мисенс мутациите на p53 са най-чести и съответствие между генетичния анализ и имунохистохимичната експресия на протеина се установява в 75% от случаите, докато според други изследвания чувствителността нахвърля 94% (20,30). Според нас видът на p53 мутациите и използваните антители за имунохистохимичен анализ могат да обяснят поне отчасти несъответствията в резултатите между различните изследвания.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Акумулирането на p53 е предиктор за малигнизация на колоректалните аденоми и за участие в аденом карциномната туморна прогресия.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиева М, Тончева Д. Молекулярно-генетичен скрининг на нефамилен и фамилен колоректален и анален карцином. УЧЕБНА КНИГА МОРЕ, 2011. Поведение при колоректален и анален карцином Танграм медия ООД 7-14
2. Adrover E, M L Maestro ML, Sanz-Casla MT, del Barco V, Cerdán J, Fernández C, Balibrea JL. Expression of high p53 levels in colorectal cancer: a favourable prognostic factor. *Br J Cancer*. 1999;81(1):122–126
3. Akshatha C, Mysorekar V, Arundhathi S, Arul P, Adithi Raj, Smitha Shetty. Correlation of p53 Overexpression with the Clinicopathological Prognostic Factors in Colorectal Adenocarcinoma. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(12): EC05–EC08.
4. Ananiev J, Tchernev G, Patterson JW, Gulubova M, Ganchev G. p53 – “the

- guardian of genome. *Acta Medica Bulgarica*. 2011;38:72-82.
5. Arnold M, Sierra M, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray FR. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*. 2017;66(4):683-691.
  6. Bond JH. Polyp guideline: diagnosis, treatment, and surveillance for patients with colorectal polyps. Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:3053-3063
  7. Bourdon JC, Fernandes K, Murray-Zmijewski F, Liu G, Diot A, Xirodimas DP, Saville MK, Lane DP. p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity“. *Genes & Development*. 2005;19(18):2122–2137.
  8. Cao DZ, Ou XL, Yu T. The association of p53 expression levels with clinicopathological features and prognosis of patients with colon cancer following surgery. *Oncol Lett*. 2017;13(5):3538–3546
  9. Colomer A, Erill N, Verdú M, et al. Lack of p53 nuclear immunostaining is not indicative of absence of TP53 gene mutation in colorectal adenocarcinomas. *Appl immunohistochemistry and Molecular Morphology*. 2003;11:130–137
  10. Contu PC, Contu SS, and Moreira LF. Bcl-2 expression in rectal cancer. *Arq Gastroenterol*. 2006;43:284-87.
  11. Di Gregorio C, Bonetti LR, de Gaetani C, Pedroni M, Kaleci S, Ponz de Leon M. Clinical outcome of low- and high-risk malignant colorectal polyps: results of a population-based study and meta-analysis of the available literature. *Intern Emerg Med*. 2014 Mar;9(2):151-60
  12. Favoriti P, Carbone G, Greco M, Pirozzi F, Pirozzi RE, Corcione F. Worldwide burden of colorectal cancer: a review. *Updates Surg*. 2016;68(1):7-11
  13. Ghita C, Vilcea ID, Dumitrescu M, Vilcea AM, Mirea CS, Aschie M, et al. The prognostic value of the immunohistochemical aspects of tumour suppressor genes p53, bcl-2, PTEN and nuclear proliferative antigen Ki-67 in

- resected colorectal carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* . 2012;53:549-56
14. Gurzu S, Jung J, Mezei T, Pávai Z. The correlation between the immunostains for p53 and Ki67 with bcl-2 expression and classical prognostic factors in colorectal carcinomas. *Rom J Morphol Embryol*. 2007;48(2):95-99.
  15. Huang C, Cheng Y, Chen M, Lin S, Chou M, Lee H. Different p53 mutation patterns in colorectal tumors from smokers and nonsmokers. *Environmental and Molecular mutagenesis*. 2006;47:527–532.
  16. Iordache S, Saftoiu A, Ciurea T, Georgescu CV, Chilusi M. Predictive parametres for advanced neoplastic adenomas and colorectal cancer in patients with colonic polyos – a study in a tertiary medical centre in the South-West region of Romania. *Romanian J Morphology Embryology* 2006;47(3):239-243.
  17. Ishii T, Notohara K, Umapathy A, Mallitt KA, Chikuba H, Moritani Y, et al. Tubular adenomas with minor villous changes show molecular features characteristic of tubulovillous adenomas. *Am J Surg Pathol* 2011;35(2):212-20
  18. Jerjees DA, Bedoor A, Irhayim-AL. P53 expression in colonic carcinoma – immunohistochemical study. *Ann Coll Med Mosul*.2009;35:111-16
  19. Kaklamanis L, Gatter KC, Mortensen N, Baigrie RJ, Heryet A, Lane DP, Harris AL. p53 expression in colorectal adenomas. *Am J Pathol*. 1993;142(1):87-93.
  20. Kapiteijn E, Liefers G, Los L, et al. Mechanisms of oncogenesis in colon versus rectal cancer. *J Pathol*. 2001;195:171–178
  21. Kruschewski M, Mueller K, Lipka S, Budczies J, Noske A, Buhr HJ, Elezkurtaj S. The Prognostic Impact of p53 Expression on Sporadic Colorectal Cancer Is Dependent on p21 Status. *Cancers (Basel)*. 2011;3(1):1274–1284
  22. Liang JT, Huang KC, Cheng YM, Hsu HC, Cheng AL, Hsu CH, et al. P53 overexpression predicts poor chemosensitivity to high-dose 5-fluorouracil plus leucovorin chemotherapy for stage IV colorectal cancers after palliative bowel resection. *Int J Cancer* 2002;97:451–457.
  23. Matsuda K, Masaki T and Watanbe T. Clinical significance of MUC1 and MUC2 mucin and p53 protein expression in colorectal carcinoma. *Japanese Journal of Clinical Oncology*. 2000;30:89-94.
  24. Morán A, Ortega P, de Juan C, Fernández-Marcelo T, Frías C, Sánchez-Pernaute A, et al. Differential colorectal carcinogenesis: molecular basis and clinical relevance. *World J Gastrointest Oncol* 2010;2(3):151-158.
  25. Nassierowsken-Guttmejer A, Treeciale L, Nowacki MP, Ostrowski J. p53 protein accumulation and p53 gene mutation in colorectal cancer. *Path Oncol Res*. 2000;6:275–279
  26. Paluszkiwicz P, Berbec H, Pawlowska-Wakowicz B, Cybulski M, Paszkowska A. p53 protein accumulation in colorectal cancer tissue has prognostic value only in left-sided colon tumours. *Cancer Detect Prev*. 2004;28:252–259.
  27. PraSad GR, Banda S. Evaluation of Immunoreactivity of p53 in Colorectal Adenocarcinomas. *National Journal of Laboratory Medicine* 2017;6(1):28 – 32.
  28. Qasim B, Husam Ali, Alaa Hussein Immunohistochemical Expression of p53 and bcl-2 inColorectal Adenomas and Carcinomas Using Automated Cellular Imaging System *Iranian Journal of Pathology*. 2012;7(4):215 – 223.
  29. Rambau PF, Odida M, and Wabinga H. p53 expression in colorectal carcinoma in relation to histopathological features in Ugandan patients. *Afr Health Sci*. 2008 Dec; 8(4): 234–238.
  30. Servomaa K, Kosma V-M, Hirvikoski P, Rytömaa T. p53 and K-ras mutations in carcinoma of the rectum among Finish women. *J Clin Pathol: Mol Pathol*. 2000;53:24–30.
  31. Sharifi N, Sharifi K, Ayatollahi H, Shakeri MT, Sadeghian MH and Azari JB. Evaluation of angiogenesis in colorectal carcinoma by CD34 immunohistochemistry method and its correlation with clinicopathologic parameters. *Acta Medica Iranica*. 2009;47:161-164
  32. Sheikh RA, Min BH, Yasmeen S, Teplitz R, Tesluk H, Ruebner BH, et al.

Correlation of Ki-67, p53, and Adnab-9 immunohistochemical staining and ploidy with clinical and histopathologic features of severely dysplastic colorectal adenomas. *Dig Dis Sci* 2003;48(1):223-229

33. Slattery ML, Ballard-Barbash R, Potter JD, Ma KN, Caan BJ, Anderson K, et al. Sex-specific differences in colon cancer associated with p53 mutations. *Nutr Cancer*.2004;49:41–48
34. Wang P, Liang J, Wang Z, Hou H, Shi L, Zhou Z. The prognostic value of p53 positive in colorectal cancer: A retrospective cohort study.*Tumour Biol*. 2017;39(5):1010428317703651.
35. Xi HQ, Zhang KE, Li JY, Cui JX, Zhao P, Chen L. Expression and clinicopathologic significance of TUFM and p53 for the normal–adenoma–carcinoma sequence in colorectal epithelia. *World Journal of Surgical Oncology* 2017;15(1):15:90
36. Zhao D, Ding X, Peng J, Zheng Y, Zhang S. Prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma. *Journal of Zhejiang University*. 2005;6:1163–1169

**Адрес за кореспонденция:**  
Недялка Згурова  
Катедра по обща и клинична патология,  
Медицински факултет, МУ-Варна  
e-mail: nzgurova@abv.bg