

Interakcia medzi p53 a MDM2 v nádorových bunkách karcinómu pľúc

Interaction between p53 and MDM2 in Human Lung Cancer Cells

Rybárová S.¹, Hodorová I.¹, Vecanová J.¹, Muri J.², Mihalik J.¹

¹ Ústav anatómie, LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika

² Národný ústav tuberkulózy, pľúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie, Vyšné Hágy, Slovenská Republika

Súhrn

Východiská: Odpoveďou onkoproteínu p53 na poškodenie DNA je indukcia zastavenia bunkového delenia (apoptózy). Mutácia génu *TP53* (gén, ktorý kóduje proteín p53) je veľmi častá v humánnych malignitách a mení pôsobenie proteínu p53. Výsledkom je stabilná forma p53, ktorá sa hromadí v jadrách nádorových buniek súčasne so stratou jeho funkcie. Mutovaná p53 je stabilizovaná a ľahko imunohistochemicky (IHC) detegovateľná. Hladina p53 je v zdravých bunkách výrazne determinovaná proteínom MDM2 (murine double minute-2). Tento spolupôsobí pri degradácii proteínu p53, a zároveň ho považujeme za potenciálny marker funkčnosti p53. Nadexpresia proteínu MDM2 predstavuje mechanizmus, ktorý môže počas tumorigenézy rušiť funkciu p53. **Súbor a metódy:** Stotridsaťšesť vzoriek karcinómu pľúc sme získali od pacientov, ktorí podstúpili radikálnu resekciu (lobektómiu alebo pulmonektómiu a lymfadenektómiu). Patologická diagnóza bola stanovená na základe WHO kritérií. V našej štúdii sme sledovali expresiu proteínu p53 a proteínu MDM2, ktorý môže slúžiť ako IHC marker pre p53 status. Oba proteíny sme imunohistochemicky detegovali. Stanovili sme ich expresiu, ďalej sme porovnali ich výskyt s klinicko-patologickými parametrami. **Výsledky:** Vo vzorkách p53 a MDM2 pozitívnych sme pozorovali silne tmavohnedo sfarbené jadrá nádorových buniek. Väčšina p53 pozitívnych vzoriek predstavovala *skvamocelulárny typ* (55 %), nasledovali vzorky *veľkobunkového typu* (53 %) a 26 % p53 pozitívnych vzoriek predstavoval *adenokarcinóm*. Ani jedna vzorka z *iných typov* neexprimovala p53. Ďalej sme porovnali výskyt p53 a stupeň malignity nádoru (grade). Zistili sme, že expresia p53 stúpa so stupňom malignity nádoru. Na štatistické vyhodnotenie sme použili chi-kvadrátový test, ktorým sme dokázali štatistickú významnosť medzi expresiou p53 na jednej strane, a typom nádoru a stupňom malignity na strane druhej ($p = 0,000425$; $p = 0,00157$). S ohľadom na expresiu p53 a MDM2 sme zistili nasledovné: len deväť vzoriek bolo simultánne p53 a MDM2 pozitívnych. V 46 prípadoch (34 %) zvýšená hladina p53 bola kombinovaná s MDM2 negatívnou. Ostatné vzorky boli buď negatívne na oba proteíny (71/52 %), alebo p53 negatívne a MDM2 pozitívne v počte 10/7 %. **Záver:** Vo väčšine štúdií je absencia p53 imunoreaktivity dávaná do súvisu s absenciou p53 mutácií. Platí to aj naopak, a síce, pozitívna expresia p53 je považovaná za znak mutácie p53, ktorý súvisí so stratou funkcie. V našej štúdii 34 % prípadov vykazovalo vysokú hladinu p53 bez expresie MDM2. Tieto nádory považujeme za tumory s inaktivujúcimi mutáciami, ktoré stabilizujú proteín p53. Na druhej strane nádory, ktoré exprimujú vysoké hladiny stabilnej p53 a sú súčasne pozitívne na MDM2 (v našom prípade 9 vzoriek/7 %) predstavujú skupinu s funkčnou p53. U tejto skupiny pacientov by sme mohli očakávať lepšiu prognózu.

Kľúčové slová

onkoproteín p53 – MDM2 proteín – karcinóm pľúc – imunohistochemia

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore grantovej agentúry ministerstva školstva Slovenskej republiky VEGA: 1/0224/12; 1/0925/11; 1/0928/11.

This work was supported by the Grant Agency of the Ministry of Education of the Slovak Republic VEGA: 1/0224/12; 1/0925/11; 1/0928/11.

Autoři deklaruji, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



doc. MVDr. Silvia Rybárová, Ph.D.
Lekárska fakulta
Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach
Ústav anatómie
Šrobárova 2
040 11 Košice
Slovenská republika
e-mail: silvia.rybarova@upjs.sk

Obdrženo/Submitted: 13. 6. 2013
Přijato/Accepted: 23. 7. 2013

Summary

Background: The oncoprotein p53 protein induces cell growth arrest (apoptosis) in response to endo- or exogenous stimuli. Mutation of *TP53* (gene encoding the p53 protein) is common in human malignancies and alters the conformation of p53. The result is a more stable protein which accumulates in nuclei of tumor cells with loss of function. Mutant p53 is stabilized, and it is possible to detect this form very clearly by immunohistochemistry (IHC). Expression of the MDM2 protein is used as a potential marker of p53 function. P53 levels in normal cells are highly determined by the MDM2 protein (murine double minute-2) – mediated degradation of p53. MDM2 overexpression represents at least one mechanism by which p53 function can be abrogated during tumorigenesis. **Material and Methods:** Lung carcinoma samples were obtained from patients, who underwent radical resection (lobectomy or pneumonectomy and lymphadectomy). Pathological diagnosis was based on the WHO criteria. In our study, we investigated the expression of p53 and MDM2 protein that might improve IHC as a marker for p53 status. Proteins were IHC detected in 136 samples of primary lung carcinoma. Immunostaining results of p53 positive samples were compared to IHC expression of MDM2 positive and MDM2 negative samples. **Results:** Strong brown nuclear staining was visible in p53 and MDM2 positive cells. The most p53 positive cases were samples of *squamous cell carcinoma* (55%), then samples of *large cell carcinoma* (53%) and 26% *adenocarcinoma* samples showed the p53 immunoreactivity. No one sample of *different types* was p53 positive. When we compared the p53 expression and grade of tumor, we found that the p53 expression increased with the grade of tumor. For statistical evaluation, the chi-square test was used. The relationship between p53 expression and type of tumor, also the p53 expression and grade of tumor was statistically significant ($p = 0.000425$; $p = 0.00157$). Regarding p53 and MDM2 expression, only nine samples (7%) were simultaneously p53 and MDM2 positive. In 46 (34%) cases, elevation of p53 was combined with MDM2 negative expression. Other tumor samples were either negative for both proteins (71/52%), or p53 negative and MDM2 positive in 10 (7%) tumor samples. **Conclusion:** Absence of p53 staining in most studies indicates absence of p53 mutation, and on the contrary, positive expression of p53 is a sign of p53 mutations with loss of function. In our study, 34% of cases with extensively high level of p53 without increased level of MDM2 were identified. We suppose that these are tumors with inactivating mutations that stabilize p53. On the other hand, tumors with high level of stabilized wild-type p53 protein and simultaneously with increased MDM2 staining (9 samples/7%) represent group with functional p53. In this group of patients, we could expect better prognosis with regard to function of p53 protein.

Key words

oncoprotein p53 – MDM2 protein – lung cancer – immunohistochemistry

Úvod

Proteín p53 je vysoko účinný inhibítor bunkového rastu, ktorý reguluje bunkový cyklus vo fáze G1-S. V podmienkach poškodenia DNA aktivuje mechanizmy, ktoré vedú k zastaveniu bunkového cyklu v niekoľkých fázach a ktoré následne vyústia do programovanej smrti buniek – apoptózy [1]. V podmienkach nádorového bujnenia je táto funkcia proteínu p53 pre jeho antionkogénny účinok mimoriadne dôležitá. Génom p53 je *TP53* a jeho mutácie môžu viesť buď k zastaveniu produkcie p53, alebo k tvorbe nefunkčnej formy p53. Strata funkcie p53 je častokrát príčinou zvýšeného rizika vzniku nádorov a/alebo progresie nádorov, čo závisí od stupňa dysfunkcie p53. Gén *TP53* je jedným z najčastejšie mutovaných génov v ľudských nádoroch. Okolo 50 % nádorov človeka vykazuje jeho mutáciu. Avšak stupeň poškodenia, resp. strata funkcie mutovanej p53, závisí na type mutácie. Zárodočnou mutáciou v géne *TP53* vzniká Li-Fraumeni syndróm, ktorý je charakteristický vysokou predispozíciou vzniku rôznych typov nádorov v detskom aj dospelom veku [2]. Na základe tohto odporúčajú autori Foretová

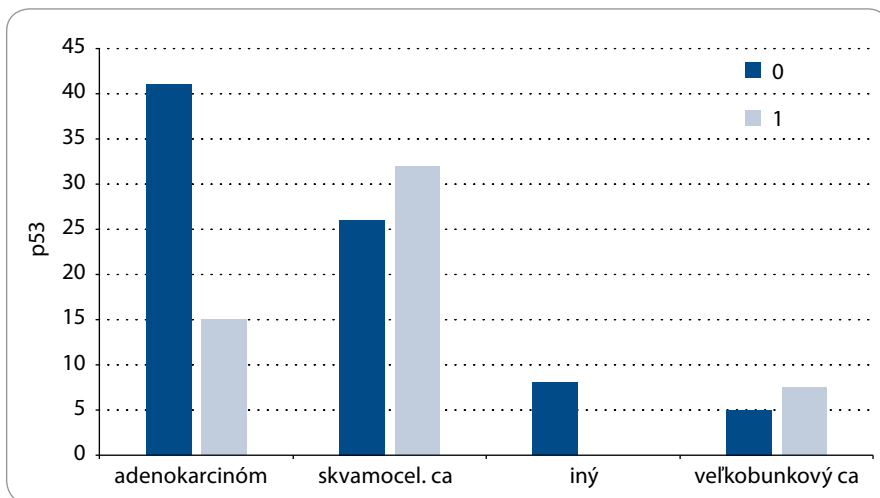
et al [3] zaistiť včasnú diagnostiku nositeľov danej mutácie na nádorové ochorenia, čím sa dosiahne celkové zlepšenie prežívania osôb so spomínaným syndrómom.

Abnormality v géne *TP53* sú veľmi časté u nádorov pľúc a obvyčajne sú to bodové mutácie. Mutácie vznikajú veľmi často následkom expozície na environmentálne karcinogény, napr. v prípade karcinómu pľúc je to cigaretový dym [4]. Bolo zistené, že abnormality génu *TP53* zhoršujú prognózu u pacientov s adenokarcinómom pľúc v štádiu I [5]. Mutovaný proteín p53 má oveľa dlhšiu životnosť ako wild-type p53, čo vyúsťuje do vysokých hladín proteínu v nádorových bunkách. Pomocou imunohistochemie sa potom deteguje vysoká expresia tejto nefunkčnej formy proteínu p53.

Jednou z najdôležitejších zložiek de-gradačnej dráhy proteínu p53 je proteín MDM2 (murine double minute-2). Má mnoho biologických funkcií. Jeho hlavnou úlohou je priama interakcia s proteínom p53 a inhibícia jeho aktivity. Okrem toho má MDM2 množstvo p53 nezávislých účinkov [6]. Rast nádoru závisí aj od krvného zásobenia, nádoro-

vej strómy a tiež od imunosupresívneho nádorového prostredia, čo sú faktory, ktoré nie sú nevyhnutne späté a dávané do kontextu s MDM2. Nedávno bolo v tejto súvislosti zistené, že MDM2 pôsobí ako kofaktor pre NF- κ B (transkripčný faktor). V bunkách s normálnou aktivitou NF- κ B indukuje MDM2 zvýšenú aktiváciu NF- κ B a bunkovú proliferáciu. Toto zistenie vedie k závažnej hypotéze, podľa ktorej sa zdá, že MDM2 je chýbajúcim článkom medzi zápalom a karcinogenezou [7]. MDM2 je teda dôležitým regulátorom NF- κ B, prirodzenej imunity a zápalového procesu a ich možného účinku na bunkovú biológiu nádoru, nádorovú terapiu, iné abnormálne hyperproliferatívne syndrómy, ako aj na hojenie rán. Na druhej strane v bunkách s vysokou aktivitou NF- κ B MDM2 potláča tento faktor a zvyšuje apoptózu [8].

V súvislosti s proteínom p53 slúži MDM2 ako jeho negatívny regulátor a tým limituje zastavenie bunkového cyklu a apoptózu. Bolo tiež zistené, že MDM2 participuje na degradácii proteínu p53 [5]. P53 a MDM2 sa navzájom veľmi silne regulujú, čo je v zdravých bunkách jav vysoko pozitívny. Aktivovaná p53 zvyšuje expresiu MDM2, čo



Graf 1. Porovnanie expresie p53 s typom nádoru. 1 = p53 pozitívna, 0 = p53 negatívna.

naopak vedie k jej degradácii [8–10]. Keďže blokáda MDM2 potláča rast nádorových buniek *in vitro* aj *in vivo*, je jeho inhibícia v súčasnosti pokladaná za jednu z možností protinádorovej terapie. Dôvodom je aj fakt, že MDM2 negatívne reguluje p53 hlavne cestou ubikvitínom sprostredkovanej degradácie, čím potláča koordináciu zastavenia bunkového cyklu (apoptózu) a podporuje prežívanie a rast buniek [4,5]. Množstvo nádorov exprimuje veľmi vysoké hladiny MDM2, čo vedie následne k potláčaniu antiapoptotického účinku wild-type p53 a k rastu nádoru [4,9]. Amplifikovaný proteín MDM2 môže byť tiež združený s nefunkčným a mutovaným proteínom p53 [4,9]. Celkovo môžeme povedať, že MDM2, či už sám o sebe alebo vo vzťahu s p53, pôsobí na nádorové bunky proliferatívne, podporuje rast nádoru a tvorbu metastáz.

Súbor a metódy

V tejto práci sme použili 136 vzoriek karcinómu pľúc, ktoré sme rozdelili podľa histologického typu nádoru nasledovne: 56 vzoriek – adenokarcinóm, 58 vzoriek – skvamocelulárny typ (epidermoidný), 13 – veľkobunkový typ a 9 – iné typy (malobunkový, neuroendokrinný, typický karcinoid, atypický karcinoid). Vzorky pochádzali od pacientov, ktorí nám poskytli informovaný súhlas. Pacienti podstúpili radikálnu resekciu (lobektómiu alebo pulmonektómiu a lymfodektómiu). Patologická diagnóza bola stanovená na základe kritérií WHO [11] a po-

kročilé štádiá boli hodnotené podľa TNM klasifikácie [12].

Vo vzorkách sme imunohistochemicky detegovali expresiu proteínov p53 a MDM2. Na detekciu p53 sme použili primárnu monoklonovú protilátku D07 – ready to use (BioGenex Lab. Inc.), na detekciu MDM2 primárnu monoklonovú protilátku MDM2 SPM14: sc-965 (Santa Cruz Biotechnology, Inc.), v riedení 1 : 50. Na detekciu naviazanej primárnej protilátky sme použili univerzálny detekčný kit (Universal detection kit LSAB+KIT/HRP, Dako). Tento obsahoval sekundárnu biotinylovanú protilátku (LINK) a streptavidín peroxidázu (LABEL). Ako chromogén sme použili DAB (diamínobenzidín). Jadrá buniek boli dofarbené hematoxylínom na modro. Správnosť použitej metodiky sme skontrolovali vynechaním primárnej protilátky a jej nahradením základným premyvacím pufrom. Ostatné kroky ostali plne zachované. Výsledky boli vyhodnocované vo svetelnom mikroskope tromi nezávislými hodnotiteľmi. Expresiu proteínu sme určili semikvantitatívnou metódou a použili sme nasledovnú škálu od 0 do 3+: 0 % pozitívnych buniek = negatívny výsledok (-); 1–10 % = 1+; 11–90 % = 2+; 91–100 % = 3+. Za pozitívne vzorky sme považovali len tie, ktoré boli ohodnotené na 2+ a 3+, t.j. percento pozitívnych buniek bolo nad 10 %. Vzorky, ktoré boli hodnotené na (-) a 1+ sme považovali za negatívne, keďže pozitívna bola pod 10 %. Na štatistické vyhodnotenie výsledkov

Tab. 1. Tabuľka uvádza štatisticky významný vzťah medzi expresiou p53 a typom nádoru, medzi p53 a stupňom malignity nádoru (grade) ($p < 0,01$). Vzťah medzi p53 a štádiom ochorenia (TNM) nebol štatisticky významný.

	p53	MDM2
typ	0,000425 p < 0,01	0,365
fázy	0,25347	0,298
stupeň	0,00157 p < 0,01	0,215

sme použili chi-kvadrátový test. Hodnoty $p < 0,01$ a $p < 0,05$ boli štatisticky významné.

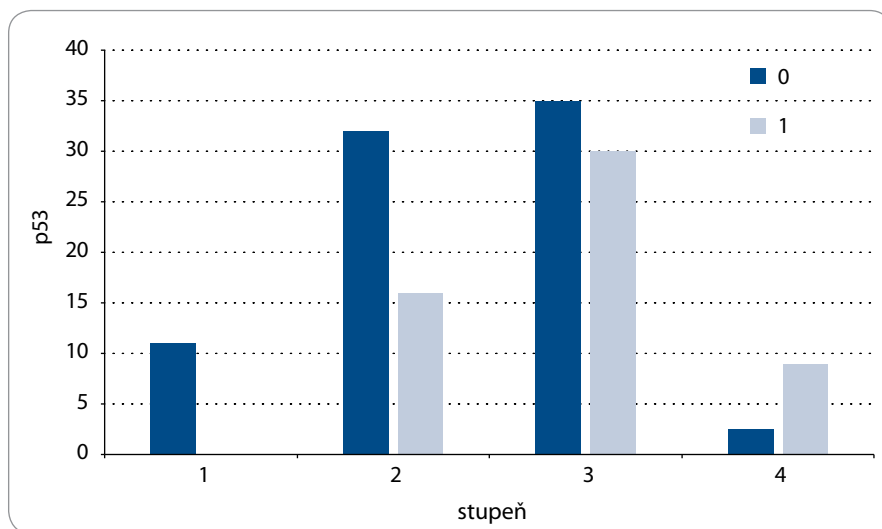
Výsledky

Výsledky sme kvalitatívne aj semikvantitatívne vyhodnocovali vo svetelnom mikroskope. Vzorky, ktoré vykazovali p53 a MDM2 pozitívitu mali v dôsledku použitia chromogénu diamínobenzidínu tmavohnedo sfarbené nádorové bunky, resp. ich jadrá. Výsledky imunoreakcie p53 a MDM2 sme porovnali s klinicko-patologickými údajmi, a to s histologickým typom nádoru, s TNM štádiom ochorenia (stage) a so stupňom malignity nádoru (grade).

P53

V jednotlivých morfológických diagnózach vyzerala expresia proteínu p53 nasledovne – najväčší počet vzoriek, ktoré vykazovali prítomnosť p53 boli vzorky skvamocelulárneho karcinómu (55 %), nasledoval veľkobunkový karcinóm (53 %) a adenokarcinóm (26 %). Ani jedna vzorka – iný typ, neexprimovala p53 (graf 1). Použitím chi-kvadrátového testu sme zistili, že vzťah medzi expresiou p53 a typom nádoru je štatisticky významný ($p = 0,000425$, $p < 0,01$) (tab. 1).

Pri porovnávaní expresie p53 a stupňa malignity (grade G) sme detegovali stúpajúcu expresiu p53 so stúpajúcim gradom. Kým v G1 ani jedna vzorka nevykazovala prítomnosť p53 – 0 %, v G2 to bolo 33 % vzoriek, v G3 – 46 % a nako-



Graf 2. Porovnanie expresie p53 so stupňom malignity 1–4. 1 = p53 pozitivita, 0 = p53 negativita.

nec v G4 až 75 % vzoriek (graf 2). Táto závislosť bola aj štatisticky významná, nakoľko $p = 0,00157$ ($p < 0,01$) (tab. 1).

Vyhodnotenie p53 vo vzťahu k štádiu ochorenia bolo nasledovné – v štádiu TNM I exprimovalo p53 42 % vzoriek, v štádiu TNM II 55 % a v štádiu TNM III 23 % vzoriek. V tomto prípade sme však štatistickú významnosť nezistili.

MDM2

Celkovo sme detegovali veľmi nízke hladiny proteínu MDM2 či už vo vzťahu k typu nádoru, štádiu ochorenia alebo k stupňu malignity nádoru. Z celkového počtu 136 vzoriek len 19 exprimovalo daný proteín, z čoho bolo šesť vzoriek adenokarcinómu (9,3 %), 11 bolo skvamocelulárneho typu (5,3 %) a dve vzorky predstavovali veľkobunkový typ (6,5 %). Všetky percentuálne údaje sa týkali konkrétnej morfolologickej diagnózy.

Štatistickú významnosť medzi expresiou MDM2 a sledovanými, vyššie spomínanými parametrami ochorenia sme nezistili.

P53 a MDM2

Funkčnosť imunohistochemicky exprimovaného proteínu p53 môžeme s veľkou pravdepodobnosťou dokázať súčasne s expresiou MDM2. Väčšina vzoriek vykazovala negativitu oboch proteínov. Bolo to 71 vzoriek (52 %). Malé percento vzoriek bolo p53 negatívnych a MDM2 pozitívnych (10/7 %). Zvýšenú

hladinu p53 v kombinácii s MDM2 negatívnou sme zistili v 46 vzorkách, čo predstavuje 34 %. Len deväť vzoriek bolo simultánne pozitívnych na p53 aj MDM2, čo predstavovalo 7 % všetkých skúmaných vzoriek. Z nich dve vzorky z 56 predstavovali adenokarcinóm, päť z 58 skvamocelulárny typ a dve z 13 veľkobunkový karcinóm. Výlučne p53 pozitívnych vzoriek bolo 48 (19 %) všetkých sledovaných vzoriek (136).

Diskusia

Použitím imunohistochemie na detekciu samotného proteínu p53 sme schopní určiť jeho zvýšenú expresiu v nádorových bunkách. Predpokladáme, že je to jeho nefunkčná forma. V našej práci sme sa snažili zistiť expresiu skutočnej formy proteínu p53 vo vzorkách karcinómu pľúc. Predpokladáme teda, že nádory, ktoré exprimujú vysoké hladiny tohoto proteínu, budú p53 inaktívne. Na druhej strane ale, vzorky bez imunoexpresie p53 by mali obsahovať funkčnú formu proteínu. Ak chceme rozlíšiť či zvýšená expresia proteínu p53 vznikla ako následok stabilizujúcej mutácie génu alebo je dôsledkom funkčného génu p53, ktorý bol stabilizovaný určitou formou bunkového stresu, na to nám posluží dôkaz expresie proteínu MDM2. Ak nájdeme zvýšenú expresiu p53 bez expresie MDM2 pôjde s najväčšou pravdepodobnosťou o mutovanú formu génu, čoho výsledkom je nefunkčný proteín p53.

Ak však pri zvýšenej expresii p53 zistíme súčasne aj zvýšenú prítomnosť MDM2, v takomto prípade pôjde zrejme o funkčnú variantu p53 – wild-type p53 (Wtp53). Z tohto dôvodu sme teda svoju pozornosť upriamili na vzorky p53 pozitívne a v nich sme dôsledne sledovali aj prítomnosť MDM2.

V našom súbore, ktorý predstavoval 136 vzoriek, 46 vzoriek bolo p53 pozitívnych. Pri ich ďalšom dofarbení na MDM2 sme zistili, že len deväť vzoriek bolo súčasne pozitívnych aj na proteín MDM2. U týchto vzoriek predpokladáme, že exprimujú funkčnú variantu p53 (wild-type p53), a zároveň u týchto pacientov by mala byť prognóza z hľadiska expresie proteínu p53 priaznivejšia.

Mutácie p53 sú v bunkových líniah nemalobunkového karcinómu pľúc (non-small cell lung cancer – NSCLC) veľmi časté [13] a vedú k zvýšenej rezistencii na cisplatinu [14–17], cyklofosfamid [15], 5-FU [14], etopozid [14–16], kamptotecín [17], metotrexát [14], antracyklíny [14], bleomycín [14], a rádiáciu [13]. Schopnosť indukovať rezistenciu na chemoterapiu a rádiáciu varíruje s typom p53 mutácie. Naopak, vpravenie Wtp53 do bunkových líní s mutovanou p53 zvráti rezistenciu [14,17]. Transfekcia Wtp53 do NSCLC bunkových líní, ktoré neobsahujú p53, zvyšuje senzitivitu na platínu, 5-FU, doxorubicín, irinotekan a etopozid [18,19] a vedie k bunkovej senescencii [19,20]. Transfekcia p73 (homológ p53) do Wtp53 a p53 negatívnych NSCLC bunkových líní tiež zvyšuje cisplatinou indukovanú apoptózu [21], a efektívnosť účinku cisplatinu a žiarenia koreluje s expresiou MDM2 proteínu [22]. Taxány môžu interagovať s p53 trochu odlišne ako iné agensy. Vpravenie Wtp53 do p53 negatívnych buniek zvyšuje senzitivitu na taxány [18], podľa iných zvyšuje rezistenciu na taxány [23]. Vpravenie Wtp53 do iných bunkových líní znižuje senzitivitu na taxány [20] a mutovaná forma p53 (Mtp53) v iných štúdiách nemá vplyv na taxánovú rezistenciu [14,24]. Nemalobunkové karcinómy pľúc exprimujú mutácie p53 v 40–90 % [15]. To, že nádory, ktoré sú imunohistochemicky p53 pozitívne sú nositeľmi Mtp53 platí asi na 70 % [15,25].

V klinických štúdiách NSCLC mala expresia MTP53 u pacientov liečených na báze platiny súvislosť so zníženou odpoveďou na liečbu a skrátením celkovej doby prežívania [25,26]. U tejto skupiny pacientov ale MTP53 nebolo výrazne asociované s odpoveďou na liečbu taxánmi bez platiny. U pacientov, ktorí exprimovali p53 a boli liečení platinovými derivátmi v kombinácii s celým radom cytostík (vinka alkaloidy, taxány, etopozid, 5-FU,...) bola tendencia k zníženej odpovedi na liečbu so skrátením doby prežívania [27–31]. Na druhej strane, IHC p53 pozitivita nekorelovala s redukcíou odpovede na liečbu a celkovým prežívaním u pacientov liečených len vinka alkaloidmi [32], alebo platinovými derivátmi v kombinácii s etopozidom, gemcitabínom, rádioterapiou a inými [27,32–34]. Vidíme, že názory na výpovednú hodnotu imunohistochemickej expzie p53 sa výrazne rôznia a sú často protirečivé. Súčasné IHC stanovovanie p53 a MDM2 by mohlo viesť k objasneniu tohto problému a pomôcť presnejšie určiť skutočnú funkciu, resp. nefunkčnosť MTP53 v nádorových bunkách.

Záver

Častá prítomnosť imunohistochemicky dokázaného proteínu p53 v nádorových bunkách ešte neznamená, že tento proteín je apriori nefunkčný. Na presnejšie určenie skutočnej aktivity proteínu p53 v nádorových bunkách karcinómu pľúc nám poslúži IHC stanovovanie proteínu MDM2. Ak p53 pozitívna vzorka vykazuje súčasne MDM2 expresiu, resp. pozitivitu, pôjde s najväčšou pravdepodobnosťou o funkčnú formu MTP53.

Podakovanie

Naša vďaka patrí kolektívu laborantiek Ústavu anatómie.

Literatúra

- Bates S, Vousden KH. p53 in signaling checkpoint arrest or apoptosis. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 6(1): 12–18.
- Li FP, Fraumeni JF Jr. Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms: a familial syndrome? *Ann Intern Med* 1969; 71(4): 747–752.
- Foretová L, Štěrba J, Opletal P et al. Li-Fraumeni syndrom – návrh komplexní preventivní péče o nosiče TP53 mutace s použitím celotělové magnetické rezonance. *Klin Onkol* 2012; 25 (Suppl 1): 49–54.
- Mao L, Hruban RH, Boyle JO et al. Detection of oncogene mutations in sputum precedes diagnosis of lung cancer. *Cancer Res* 1994; 54(7): 1634–1637.
- Han H, Landreneau RJ, Santucci TS et al. Prognostic value of immunohistochemical expressions of p53, HER-2/neu, and bcl-2 in stage I non-small-cell lung cancer. *Hum Pathol* 2002; 33(1): 105–110.
- Bouska A, Eischen CM. Mdm2 affects genome stability independent of p53. *Cancer Res* 2009; 69(5): 1697–1701.
- Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr Mol Med* 2010; 10(4): 369–373.
- Eischen CM, Lozano G. p53 and MDM2: antagonists or partners in crime? *Cancer Cell* 2009; 15(3): 161–162.
- Marine JC, Lozano G. Mdm2-mediated ubiquitylation: p53 and beyond. *Cell Death Differ* 2010; 17(1): 93–102.
- Clegg HV, Itahana K, Zhang Y. Unlocking the Mdm2–p53 loop: ubiquitin is the key. *Cell Cycle* 2008; 7(3): 287–292.
- Beasley MB, Brambilla E, Travis WD. The 2004 World Health Organization classification of lung tumors. *Semin Roentgenol* 2005; 40(2): 90–97.
- IASLC Staging Manual in Thoracic Oncology. Orange Park, FL, USA: Editorial Rx Press 2009: 129–140.
- Bergqvist M, Brattstrom D, Gullbo J et al. p53 Status and its in vitro relationship to radiosensitivity and chemosensitivity in lung cancer. *Anticancer Res* 2003; 23(2B): 1207–1212.
- Wang T, Xu J, Zhong NS. Relationship between the acquired multi-drug resistance of human large cell lung cancer cell line NCI-H460 by cisplatin selection and p53 mutation. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2005; 28(2): 102–107.
- Brattström D, Bergqvist M, Lamberg K et al. Complete sequence of p53 gene in 20 patients with lung cancer: comparison with chemosensitivity and immunohistochemistry. *Med Oncol* 1998; 15(4): 255–261.
- Blandino G, Levine AJ, Oren M. Mutant p53 gain of function: differential effects of different p53 mutants on resistance of cultured cells to chemotherapy. *Oncogene* 1999; 18(2): 477–485.
- Lai SL, Perng RP, Hwang J. p53 Gene status modulates the chemosensitivity of non-small cell lung cancer cells. *J Biomed Sci* 2000; 7(1): 64–70.
- Inoue A, Narumi K, Matsubara N et al. Administration of wild-type p53 adenoviral vector synergistically enhances the cytotoxicity of anti-cancer drugs in human lung cancer cells irrespective of the status of p53 gene. *Cancer Lett* 2000; 157(1): 105–112.
- Wang Y, Blandino G, Oren M et al. Induced p53 expression in lung cancer cell line promotes cell senescence and differentially modifies the cytotoxicity of anti-cancer drugs. *Oncogene* 1998; 17(15): 1923–1930.
- Ling YH, Zou Y, Perez-Soler R. Induction of senescence-like phenotype and loss of paclitaxel sensitivity after wild-type p53 gene transfection of p53-null human non-small cell lung cancer H358 cells. *Anticancer Res* 2000; 20(2A): 693–702.
- He Y, Fan SZ, Jiang YG et al. Effect of p73 gene on chemosensitivity of human lung adenocarcinoma cells H1299. *Ai Zheng* 2004; 23(6): 645–649.
- Mori T, Okamoto H, Takahashi N et al. Aberrant overexpression of 53BP2 mRNA in lung cancer cell lines. *FEBS Lett* 2000; 465(2–3): 124–128.
- Ji D, Deeds SL, Weinstein EJ. A screen of shRNAs targeting tumor suppressor genes to identify factors involved in A549 paclitaxel sensitivity. *Oncol Rep* 2007; 18(6): 1499–1505.
- Vogt U, Zaczek A, Klinke F et al. p53 Gene status in relation to ex vivo chemosensitivity of non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128(3): 141–147.
- Kandioler-Eckersberger D, Kappel S, Mittlbock M et al. The TP53 genotype but not immunohistochemical result is predictive of response to cisplatin-based neoadjuvant therapy in stage III non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117(4): 744–750.
- Kandioler D, Stamatis G, Eberhardt W et al. Growing clinical evidence for the interaction of the p53 genotype and response to induction chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135(5): 1036–1041.
- Ludovini V, Gregorc V, Pistola L et al. Vascular endothelial growth factor, p53, Rb, Bcl-2 expression and response to chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2004; 46(1): 77–85.
- Miyatake K, Gemba K, Ueoka H et al. Prognostic significance of mutant p53 protein, P-glycoprotein and glutathione S-transferase-pi in patients with unresectable non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2003; 23(3C): 2829–2836.
- Brooks KR, To K, Joshi MB et al. Measurement of chemoresistance markers in patients with stage III non-small cell lung cancer: a novel approach for patient selection. *Ann Thorac Surg* 2003; 76(1): 187–193.
- Azuma K, Komohara Y, Sasada T et al. Excision repair cross-complementation group 1 predicts progression-free and overall survival in non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Sci* 2007; 98(9): 1336–1343.
- Gajra A, Tatum AH, Newman N et al. The predictive value of neuroendocrine markers and p53 for response to chemotherapy and survival in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002; 36(2): 159–165.
- Berrieman HK, Cawkwell L, O’Kane SL et al. Hsp27 may allow prediction of the response to single-agent vinorelbine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 2006; 15(1): 283–286.
- Gregorc V, Darwish S, Ludovini V et al. The clinical relevance of Bcl-2, Rb and p53 expression in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2003; 42(3): 275–281.
- van de Vaart PJ, Belderbos J, de Jong D et al. DNA-adduct levels as a predictor of outcome for NSCLC patients receiving daily cisplatin and radiotherapy. *Int J Cancer* 2000; 89(2): 160–166.