

ارتباط فراوانی پروتئین های P53 و P21 با شاخصهای پاتولوژیک آدنوکارسینوم های کولورکتال

مهدی جهانتبغ (MD)^۱، بهزاد نارویی (MD)^{۲*}، الهام شیخی غیور (MD)^۳، علی داوریان (MD)^۴

۱- گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

۲- مرکز توسعه تحقیقات بالینی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

۳- دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

۴- باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

دریافت: ۹۰/۳/۱۶، اصلاح: ۹۰/۴/۸، پذیرش: ۹۰/۶/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: سرطان کولورکتال یکی از مهمترین علل مرگ و میر و ناتوانی در جهان است. فقدان عملکرد پروتئین P53 و P21(WAF1) یکی از مهمترین مکانیسم های تنظیمی دخیل در روند تشکیل سرطان کولورکتال و مؤثر در پیش آگهی و مقاومت درمانی می باشد. این مطالعه به منظور تعیین فراوانی بیان پروتئین P53 و P21 و ارتباط آن ها با شاخص های پاتولوژیک سرطان کولورکتال انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه تحلیلی بر روی ۷۰ نمونه بافت تومور بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم کولورکتال شهرستان زاهدان که از سال ۱۳۸۹-۱۳۸۲ تحت کولکتومی قرار گرفته بودند، انجام شد. برش های بافتی برای تعیین وضعیت پروتئین P53 و P21 به روش ایمونوهیستوشیمیایی رنگ شده و مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: فراوانی بیان پروتئین P53، ۳۷ مورد (۵۲/۹٪) و فراوانی بیان پروتئین P21، ۳۳ مورد (۴۷/۱٪) بود. بیان بیش از حد پروتئین P53 با شاخص های پاتولوژیک سرطان رابطه ای نداشت. بین بیان پروتئین P21 و درجه تمایز ارتباط معنی داری وجود داشت ($p=0/02$) به عبارتی بیان این پروتئین در شرایطی با تمایز بهتر با فراوانی بیشتری همراه بود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که جهش ژن P53 نقش مهمی در پیشرفت آدنوکارسینوم کولورکتال دارد و تئوری بیان عمده پروتئین P21 در مسیر غیر وابسته به P53، نقش این پروتئین را در سرطان کولورکتال قوت می بخشد.

واژه های کلیدی: آدنوکارسینوم کولورکتال، پروتئین P53، پروتئین P21، ایمونوهیستوشیمیایی.

مقدمه

روی درمان در حضور پروتئین طبیعی P53، با حساسیت بیشتر تومور به شیمی درمانی و رادیوتراپی همراه می باشد (۹). توزیع فراوانی پروتئین P53 در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم کولورکتال در نقاط مختلف دنیا از ۴۳٪ و ۴۷٪ در چین و سوئیس تا ۷۰٪ و ۸۲/۱٪ در لهستان و ترکیه متغیر است (۱۴-۱۰). در ایران این میزان در مطالعات مختلف بین ۳۴ تا ۵۲٪ بوده است (۱۲و۶). توزیع فراوانی پروتئین P21 نیز در مطالعات مختلف از ۲۶ تا ۳۹٪ متغیر بوده است (۱۴و۱۳و۷). این مطالعه به منظور بررسی تعیین فراوانی پروتئین های P53 و P21 و نیز ارتباط بین آنها با شاخص های پاتولوژیک در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم کولورکتال در شهرستان زاهدان در سال های ۸۹-۱۳۸۲ انجام شد.

سرطان کولورکتال (Colo Rectal Cancer, CRC) سومین سرطان شایع و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در کشورهای غربی محسوب می شود (۱و۲). از لحاظ مولکولی، علت CRC جهش های ژنتیکی است (۳). کروموزوم ۱۷ که ژن P53 بر روی بازوی کوتاه آن قرار دارد، در اکثر موارد در CRC درگیر است (۴). ایجاد اختلال و یا غیر فعال شدن پروتئین P53، منجر به بروز سرطان می شود (۵و۶). ژن Waf1/Cip1 بر روی کروموزوم ۶ کد کننده پروتئین P21 می باشد. در سرطان کولورکتال ارتباطی معکوس بین فراوانی بیان پروتئین P21 و مرحله تومور، عمق تهاجم، متاستاز به لنف نود وجود دارد و پیش آگهی و بقا در حضور این پروتئین مطلوب است (۸و۷). تأثیر پروتئین P21 بر

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۱۳۱۰ و پایان نامه الهام شیخی غیور دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان می باشد.

* مسئول مقاله:

آدرس: زاهدان، بیمارستان علی ابن ابیطالب، طبقه دوم، مرکز توسعه تحقیقات بالینی، تلفن: ۰۵۴۱-۳۴۱۴۱۰۳

e-mail: b_narouie@yahoo.com

مواد و روشها

انجام شد. پس از خاتمه رنگ آمیزی، ایمونوآکتیویتی با تخمین درصد میزان مثبت شدن هسته سلول های تومورال برای پروتئین های P53 و P21 مشخص شد. به این صورت که معیار مثبت شدن پروتئینهای مورد مطالعه، رنگ پذیری کامل و قوی هسته ها به رنگ قهوه ای در بیش از ۵٪ سلولهای تومورال می باشد و زیر ۵٪ منفی لحاظ گردید (۶و۵۰). پس از بررسی میکروسکوپی نمونه ها و تعیین وضعیت پروتئین P53 و P21، نتایج به دست آمده در فرمهای اطلاعاتی ثبت گردید. جهت تعیین ارتباط بین بیان پروتئین این دو پروتئین با درجه تمایز و مرحله دوک تومور و تعیین ارتباط بین بیان پروتئین P21 و بیان پروتئین P53 از آزمون آماری کای دو (X^2) استفاده شد و $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج این مطالعه نشان داد که بیان پروتئین P53 در ۳۷ مورد (۵۲/۹٪) و پروتئین P21 در ۳۳ مورد (۴۷/۱٪) آدنوکارسینوم کولورکتال مثبت شد. نمونه ها در محدوده سنی ۱۱ تا ۸۶ سال قرار داشتند. ۳۷ مورد مرد (۵۲/۹٪)، ۳۳ مورد زن (۴۷/۱٪)، ۱۵ بیمار زیر ۴۰ سال (۲۱/۴٪) و ۵۵ بیمار بزرگتر یا مساوی ۴۰ سال (۷۸/۶٪) بودند (جدول ۱). ارتباط آماری معنی داری بین رنگ پذیری P53 و P21 با جنس، سن، محل و نوع تومور وجود نداشت. اگرچه در خصوص محل تومور، فراوانی موارد مثبت پروتئین های P53 و P21 در نواحی دیستال بیشتر بود (جدول ۲).

این مطالعه تحلیلی بر روی نمونه های بافت تومور ۷۰ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم کولورکتال شهرستان زاهدان که از سال ۸۹-۱۳۸۲ تحت کولکتومی قرار گرفته بودند، با مراجعه مستقیم به آرشیو بیمارستان ها و مراکز پاتولوژی سطح زاهدان و تحویل بلوک های پارافینی مربوط به نمونه ها انجام شد. اطلاعات بالینی شامل سن، جنس، محل تومور؛ پروگزیمال (سکوم، کولون صعودی و کولون عرضی) یا دیستال (کولون نزولی، سیگموئید، رکتوم) و خصوصیات پاتولوژیک نظیر درجه تمایز، مرحله و نوع تومور از پرونده بیماران استخراج شد. نمونه ها بر حسب درجه تمایز به ۳ دسته خوب، متوسط، ضعیف و بر اساس مرحله بندی دوک (Duke) به گروه های A، B، C و D تقسیم شدند (۱۵). در این تحقیق کدهای شماره ۱۷ و ۲۰ مصوب کمیته کشوری اخلاق در پژوهش های علوم پزشکی رعایت شد (۱۶). بیمارانی وارد مطالعه شدند که در فاصله زمانی سال های ۸۹-۱۳۸۲ به یکی از بیمارستان های شهر زاهدان مراجعه کرده و تحت عمل کولکتومی قرار گرفته باشند، گزارش پاتولوژی بیمار موجود باشد، در گزارش، تشخیص قطعی آدنوکارسینوم کولورکتال ذکر شده باشد و بلوک پارافینی مربوط به بافت تومور بیمار در آرشیو آزمایشگاه موجود باشد و در مواردیکه در گزارش پاتولوژی، تشخیص نهایی موردی غیر از آدنوکارسینوم کولورکتال بود و یا بلوک پارافینی مربوط به بافت تومور در آرشیو موجود نبود، از مطالعه خارج شدند. رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی بر روی ۷۰ نمونه کولکتومی آدنوکارسینوم کولورکتال

جدول ۱. توزیع فراوانی بیان پروتئین های P53 و P21 در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم کولورکتال به تفکیک سن و جنس بیماران.

متغیر	تعداد	P53 مثبت (%)	P53 منفی (%)	p-value	P21 مثبت (%)	P21 منفی (%)	p-value
جنس							
مرد	۳۷	۲۱ (۵۶/۸)	۱۶ (۴۳/۲)	>0.05	۱۶ (۴۳/۲)	۲۱ (۵۶/۸)	>0.05
زن	۳۳	۱۶ (۴۸/۵)	۱۷ (۵۱/۵)		۱۷ (۵۱/۵)	۱۶ (۴۸/۵)	
سن (سال)							
<40	۱۵	۷ (۴۶/۷)	۸ (۵۳/۳)	>0.05	۷ (۴۶/۷)	۸ (۵۳/۳)	>0.05
>40	۵۵	۳۰ (۵۴/۵)	۲۵ (۴۵/۵)		۲۶ (۴۷/۳)	۲۹ (۵۴/۷)	

جدول ۲. توزیع فراوانی بیان پروتئین های P53 و P21 در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم کولورکتال بر حسب محل، نوع و درجه تمایز تومور و مرحله بندی دوک.

متغیر	تعداد	P53 مثبت (%)	P53 منفی (%)	p-value	P21 مثبت (%)	P21 منفی (%)	p-value
محل تومور							
پروگزیمال	۳۱	۱۳ (۴۱/۹)	۱۸ (۵۸/۱)	>0.05	۱۵ (۴۸/۴)	۱۶ (۵۱/۶)	>0.05
دیستال	۳۹	۲۴ (۶۱/۵)	۱۵ (۳۸/۵)		۱۸ (۴۶/۲)	۲۱ (۵۳/۸)	
نوع تومور							
موسینی	۲۳	۱۳ (۵۶/۵)	۱۰ (۴۳/۵)	>0.05	۱۱ (۴۷/۸)	۱۲ (۵۲/۲)	>0.05
غیرموسینی	۴۷	۲۴ (۵۱/۱)	۲۳ (۴۸/۹)		۲۲ (۴۶/۸)	۲۵ (۵۳/۲)	
تمایز تومور							
خوب	۲۸	۲۳ (۶۰/۵)	۱۵ (۳۹/۵)	>0.05	۲۳ (۶۰/۵)	۱۵ (۳۹/۵)	>0.05
متوسط	۲۶	۱۰ (۳۸/۵)	۱۶ (۶۱/۵)		۸ (۳۰/۸)	۱۸ (۶۹/۲)	
ضعیف	۶	۴ (۶۶/۷)	۲ (۳۳/۳)		۲ (۳۳/۳)	۴ (۶۶/۷)	
مرحله دوک							
A	۱	۱ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	>0.05	۱ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	>0.05
B	۴۳	۲۱ (۴۸/۸)	۲۲ (۵۱/۲)		۲۱ (۴۸/۸)	۲۲ (۵۱/۲)	
C	۱۹	۱۲ (۶۳/۲)	۷ (۳۶/۸)		۸ (۴۲/۱)	۱۱ (۵۷/۹)	
D	۷	۳ (۴۲/۹)	۴ (۵۷/۱)		۳ (۴۲/۹)	۴ (۵۷/۱)	
مجموع	۷۰ (۱۰۰)	۳۷ (۱۰۰)	۳۳ (۱۰۰)		۳۳ (۱۰۰)	۳۷ (۱۰۰)	

(۶۴/۹٪) در مقایسه با (۳۵/۱٪) بیشتر بود ولی در مطالعه Mahdavinia و همکاران تجمع داخل هسته ای پروتئین P53 در تومورهای دیستال بیشتر و به لحاظ آماری معنی دار بود (۲۰).

نتایج مطالعه ما حاکی از عدم وجود ارتباط معنی دار آماری بین فراوانی پروتئین P21 و مراحل دوک است. در مطالعه Viale و همکاران فراوانی پروتئین P21 ۵۱٪ بود که با مرحله تومور ارتباط معکوسی داشت (۲۱). همچنین در مطالعه Yasui و همکاران در ۵۵٪ آدنوم ها و ۶۶٪ آدنوکارسینوم ها P21 مثبت بود که رنگ پذیری آن در مراحل ۰،۱،۲ کارسینوم بیشتر از مراحل ۳ و ۴ (مراحل TNM) بوده و با افزایش عمق تهاجم، فراوانی این پروتئین کاهش یافت و ارتباط قوی بین کاهش فراوانی این پروتئین و متاستاز به لف نود ها وجود داشت (۲۲).

در مطالعه Pasz-Walczak و همکارانش، ۳۹٪ از ۱۲۲ نمونه CRC، P21 مثبت بود و ارتباط معنی داری بین درجه تمایز و پروتئین P21 وجود نداشت. ولی بیان این پروتئین با افزایش مرحله تومور، عمق تهاجم و متاستاز به لنفود کاهش یافت (۷). هرچند مشابه با نتایج مطالعه ما، Zirbes و همکارانش نیز با مطالعه بر روی ۲۹۴ نمونه CRC دریافتند که بین پارامترهایی نظیر سن، جنس، محل تومور، نوع و مرحله تومور با فراوانی P21 ارتباط معنی دار آماری وجود ندارد (۸). اگر چه پروتئین P21 نقش مهمی در تنظیم چرخه سلولی (تکثیر و توقف رشد سلول و آپوپتوز) دارد، ولی با نتایج بدست آمده بنظر می رسد که نمی تواند بعنوان یک فاکتور قوی تر در رقابت با پروتئین P53 و مستقل از مرحله بندی تومور (staging) در جهت تعیین پیش آگهی در CRC عمل نماید. لذا بررسی یو مارکرهای جدیدتر همانند پروتئین P27 پیشنهاد می گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاران آزمایشگاه بیمارستان علی ابن ابیطالب (ع) زاهدان، خانم توانا و آقای رودباری و مرکز توسعه تحقیقات بالینی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

از لحاظ پاتولوژی بیش از دو سوم موارد غیر موسینی (۶۷/۱٪) و یک سوم موارد موسینی (۳۲/۹٪) بودند. ۳۸ نمونه (۵۴/۳٪) درجه تمایز خوب، ۲۶ نمونه (۳۷/۱٪) متوسط و ۶ نمونه (۸/۶٪) تمایز ضعیف داشتند. عمده نمونه ها (۴۳ نمونه = ۶۱/۴٪) مرحله دوک B را نشان دادند (جدول ۲). اگرچه در ۴۷ نمونه (۶۶/۷٪) با درجه تمایز ضعیف، بیان پروتئین P53 دیده شد و عمده موارد مثبت پروتئین P21 در تومورهای تمایز یافته تر دیده شد اما از لحاظ آماری ارتباط معنی داری بین بیان این دو پروتئین و درجه تمایز وجود نداشت. در خصوص مراحل دوک A، B، D، C و فراوانی بیان پروتئین های P53 و P21 نیز ارتباط آماری معنی داری به دست نیامد (جدول ۲). همچنین بین فراوانی پروتئین P53 و فراوانی پروتئین P21 از لحاظ آماری رابطه معنی داری وجود نداشت.

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که بین فراوانی بیان پروتئین P53 و درجه تمایز تومور و همچنین بین معیارهای بالینی نظیر سن، جنس و محل تومور با وضعیت بیان پروتئین P53 ارتباط آماری معنی داری وجود ندارد. توزیع فراوانی پروتئین P53 در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم کولورکتال در چین و سوئیس به ترتیب ۴۳٪ و ۴۷٪ و در ایران بین ۳۴ تا ۵۲٪ بوده است (۱۸ و ۱۷ و ۱۲ و ۱۱) که مشابه نتایج این مطالعه می باشند. توزیع فراوانی پروتئین P21 نیز در مطالعات مختلف از ۲۶ تا ۳۹٪ متغیر بوده است (۱۴ و ۱۳ و ۷). تفاوت در تکنیک رنگ آمیزی، استفاده از آنتی بادی های مختلف، سیستم های درجه بندی متفاوت برای رنگ پذیری هسته و جمعیت های آماری مختلف مورد مطالعه، از علل مطرح شده برای این اختلاف در فراوانی بیان پروتئین است. اگرچه برخی از مطالعات به روش ایمنوهیستوشیمی فراوانی بیشتر پروتئین P53، در مراحل بالاتر دوک (C و D) شرایط تمایزی ضعیف نشان داد (۱۷) اما در این مطالعه ارتباطی بین این دو خصوصیت پاتولوژیک و فراوانی بیان پروتئین P53 دیده نشد.

در این مطالعه ارتباط بین محل تومور و وضعیت بیان پروتئین P53 از لحاظ آماری معنی دار نبود. اگرچه فراوانی موارد مثبت در دیستال نسبت به پروگزیمال

Correlation between Frequency of P53 and P21 Proteins with Pathological Parameters in Colorectal Adenocarcinoma

M. Jahantigh (MD)¹, B. Narouie (MD)^{2*}, E. Sheikhi Ghayur (MD)³, A. Davarian (MD)⁴

1. Department of Pathology, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
2. Clinical Research Development Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
3. Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
4. Young Researchers Club, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(2); Mar 2012; pp: 47-52

Received: Jun 6th 2011, Revised: Jun 29th 2011, Accepted: Sep 7th 2011.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Colorectal cancer is the major and cause of morbidity and mortality throughout the world. Loss of activity of P53 and P21 (WAF1) proteins that belong to the cell cycle regulation family of protein, seems to be important regulatory mechanism of carcinogenesis in colorectal cancer and affected prognosis and resistance to chemotherapy. P21 expressed in P53-dependent and independent pathway. This study was designed to assess P53 and P21 frequency and their correlation with pathological parameters in colorectal adenocarcinoma.

METHODS: This analytical study was done on 70 paraffin preserved colorectal adenocarcinoma samples of patients in Zahedan, Iran who underwent colectomy from 2003 to 2010. Tissue slice was stained and evaluated by method of immunohistochemistry for P53 and P21 protein and evaluated.

FINDINGS: P53 was expressed in 37(52.9%) patients and P21 was expressed in 33(47.1%). No correlation was found between P53 overexpression and P21 with pathological variables. P21 had a statistically significant association with tumor differentiation ($p=0.02$). The high frequency of P21 was seen in good differentiated tumors.

CONCLUSION: The results of the study show that P53 mutation plays an important role in the development of colorectal cancer. No correlation between P21 expression and P53 statue supports the theory that P21 induction occurs mostly in P53 independent pathway in colorectal cancer.

KEY WORDS: *Colorectal Cancer, Protein P53, Protein P21, Immunohistochemistry (IHC).*

*Corresponding Author;

Address: Clinical Research Development Center, Ali -Ebne -Abitaleb Hospital, Zahedan, Iran

Tel: +98 541 3414103

E-mail: b_narouie@yahoo.com

References

1. Hagggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg* 2009;22(4):191-7.
2. Golmohamadi R, Nikbakht M, Salehi M, Mokhtari M. Detection of P53 exon 6 mutations in colorectal cancer patients by PCR-SSCP method in Isfahan hospital during 2004 -2005. *Feyz, Kashan Univ Med Sci* 2006;10(2):1-6. [in Persian]
3. Syngal S, Clarke G, Bandipalliam P. Potential roles of genetic biomarkers in colorectal cancer chemoprevention. *J Cell Biochem Suppl* 2000;34:28-34.
4. Golmohamadi R, Nikbakht M, Salehi M, Mokhtari M. Detection of P53 exon 5 mutations in colorectal cancer. *J Isfahan Med Sch* 2005;23(78):81-7. [in Persian]
5. Azarhoush R, Semnani Sh, Besharat S, et al. Study of the p53 gene expression by immunohistochemistry in patients with gastric cancer at 5th Azar hospital in Gorgan, Iran. *J Sabzevar Univ Med Sci* 2006;13(2):74-9. [in Persian]
6. Golmohammadi R, Mohajeri MR, Zargarian M. Study of relationship between p53 protein stability and pathological parameters in colorectal cancer by immunohistochemistry method. *J Sabzevar Univ Med Sci* 2007;14(3):141-6. [in Persian]
7. Pasz-Walczak G, Kordek R, Faflik M. P21 (WAF1) expression in colorectal cancer: correlation with P53 and cyclin D1 expression, clinicopathological parameters and prognosis. *Pathol Res Pract* 2001;197(10):683-9.
8. Zirbes TK, Baldus SE, Moenig SP, et al. Prognostic impact of p21/waf1/cip1 in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2000;89(1):14-8.
9. Girlando S, Slomp P, Caffo O, et al. P21 expression in colorectal carcinomas: a study on 103 cases with analysis of p53 gene mutation/expression and clinic-pathological correlations. *Virchows Arch* 1999;435(6):559-65.
10. Bouzourene H, Gervaz P, Cerottini JP, et al. P53 and Ki-ras as prognostic factors for Dukes' stage B colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2000;36(8):1008-15.
11. Zhao DP, Ding XW, Peng JP, Zheng YX, Zhang SZ. Prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma. *J Zhejiang Univ Sci B* 2005;6(12):1163-9.
12. Ghavam-Naseri MR, Rezaei E, Chafarzadegan K, Seilanian-Toosi M, Malekifard H. Expression of p53 in colorectal carcinoma: correlation with clinicopathological features. *Arch Iran Med* 2007;10(1):38-42
13. Schwandner O, Bruch HP, Broll R. p21, p27, cyclin D1, and p53 in rectal cancer: immunohistology with prognostic significance? *Int J Colorectal Dis* 2002;17(1):11-9.
14. Noske A, Lipka S, Budczies J, et al. Combination of p53 expression and p21 loss has an independent prognostic impact on sporadic colorectal cancer. *Oncol Rep* 2009;22(1):3-9.
15. Rosai J. Rosai & Ackerman's surgical pathology. 9th ed. St. Louis: Mosby 2004; pp: 750-858.
16. Codes of ethics, Ethics Committee, Zahedan University of Medical Sciences. Available at: <http://www.zaums.ac.ir/index.aspx?siteid=1&pageid=7044> . Accessed February 4, 2012.
17. Erhan Y, Korkut MA, Kara E, Aydede H, Sakarya A, Ilkgü O. Value of p53 protein expression and its relationship with short-term prognosis in colorectal cancer. *Ann Saudi Med* 2002;22(5-6):377-80.
18. Paluszkievicz P, Berbeć H, Pawłowska-Wakowicz B, Cybulski M, Paszkowska A. p53 protein accumulation in colorectal cancer tissue has prognostic value only in left-sided colon tumors. *Cancer Detect Prev* 2004;28(4):252-9.
19. Han HS, Park YM, Hwang TS. Differential expression of Bcl-2, Bcl-XL and p53 in colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21(7):1108-14.
20. Mahdavinia M, Bishehsari F, Verginelli F, et al. P53 mutations in colorectal cancer from northern Iran: Relationships with site of tumor origin, microsatellite instability and K-ras mutations. *J Cell Physiol* 2008;216(2):543-50.

21. Viale G, Pellegrini C, Mazzarol G, Maisonneuve P, Silverman ML, Bosari S. P21WAF1/CIP1 expression in colorectal carcinoma correlates with advanced disease stage and p53 mutations. *J Pathol* 1999;187(3):302-7.
22. Yasui W, Akama Y, Yokozaki H, et al. Expression of p21WAF1/CIP1 in colorectal adenomas and adenocarcinomas and its correlation with p53 protein expression. *Pathol Int* 1997;47(7):470-7.