

## Rokownicze znaczenie występowania białka mdm2 w niedrobnokomórkowym raku płuca

Dorota Dworakowska<sup>1</sup>, Ewa Jassem<sup>2</sup>, Klaus Hermann Wiedorn<sup>3</sup>,  
Rafał Dziadziuszko<sup>4</sup>, Carsten Boltze<sup>5</sup>, Andrzej Karmoliński<sup>6</sup>,  
Jan Skokowski<sup>7</sup>, Alexander Bosse<sup>3</sup>, Jacek Jassem<sup>4</sup>

*Cel pracy.* W pracy oceniono rokownicze znaczenie występowania białka mdm2 (w powiązaniu z poprzednio określoną ekspresją białka p53) u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NDKRP).

*Materiał i metody:* Badana grupa obejmowała 123 chorych na NDKRP poddanych doszczętnej resekcji miąższu płucnego. Ekspresja białka mdm2 została oceniona immunohistochemicznie, z wykorzystaniem przeciwciała monoklonalnego (klon IF2, Oncogene Science).

*Wyniki.* Obecność białka mdm2 stwierdzono w 40 przypadkach (33%), natomiast współwystępowanie białka mdm2 z białkiem p53 - w 19 (15%). Nie stwierdzono zależności pomiędzy obecnością białka mdm2 a cechami klinicznymi chorych, jak również wpływu ekspresji białka mdm2 (rozpatrywanego pojedynczo oraz łącznie z białkiem p53) na czas do nawrotu choroby oraz na czas całkowitego przeżycia. W analizie jedno- i wieloczynnikowej stopień zaawansowania klinicznego nowotworu oraz stopień jego zróżnicowania były niezależnymi czynnikami rokowniczymi.

*Wnioski.* Wyniki badania sugerują brak rokowniczego znaczenia ekspresji białka mdm2 u chorych leczonych operacyjnie z powodu NDKRP.

**Słowa kluczowe:** mdm2, niedrobnokomórkowy rak płuca, rokowanie

### Wprowadzenie

Pomimo znacznego rozwoju metod terapeutycznych, rokowanie w niedrobnokomórkowym raku płuca (NDKRP) pozostaje niezadowolające [1]. Uważa się, że lepsze zrozumienie biologii raka płuca, a w szczególności zaburzeń molekularnych występujących w tym nowotworze, może w przyszłości zwiększyć skuteczność leczenia.

Jedną z najdokładniej zbadanych zmian genetycznych w NDKRP są zaburzenia genu *P53*. Gen ten, określany jako „strażnik genomu”, jest zlokalizowany w regionie 17p13 i koduje fosfoproteinę jądrową o masie 53 kDa (393 aminokwasy). Gen *P53* uczestniczy w kontroli cyklu komórkowego, naprawie nici DNA, różnicowaniu komórek, starzeniu się, angiogenezie, a w szczególności w apoptozie. Produkt białkowy genu *P53* powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego w odpowiedzi na uszkodzenie DNA poprzez indukowanie ekspresji *GADD45*, *p21<sup>WAF1/CIP1</sup>*, *PCNA* i *mdm2* [2]. Poza mutacjami czynność tego genu mogą zaburzać inne mechanizmy, m.in. zmiany lokalizacji subkomórkowej p53, łączenie białka p53 z białkami wirusowymi lub wiązanie białka p53 z onkoproteiną komórkową *mdm2* [2, 3].

Gen *MDM2/HDM2* (mouse/human double minute) to zachowany w procesie ewolucji onkogen zlokalizowany w regionie 12q13-14. Po raz pierwszy został on zidentyfikowany w nowotworowej linii komórek mysich Balb/c określanej jako 3T3DM, w której *MDM2* ulegało amplifikacji i nadmiernej ekspresji [4]. Aktywność onkogenetyczna *MDM2* wynika z nadmiernej ekspresji białka *mdm2*, która może zachodzić w trzech mechanizmach: amplifikacji genu *MDM2*, nasilonej transkrypcji *MDM2*mRNA lub nasilonej translacji białka *mdm2*. Obecnie niewiele wiadomo na temat fizjologicznej roli *MDM2* [5].

<sup>1</sup> Klinika Chorób Wewnętrznych, Endokrynologii i Zaburzeń Hemostazy  
AM w Gdańsku

<sup>2</sup> Katedra Pneumonologii i Alergologii  
AM w Gdańsku

<sup>3</sup> Department of Pathology, Katharinenhospital, Stuttgart,  
Niemcy

<sup>4</sup> Klinika Onkologii i Radioterapii  
AM w Gdańsku

<sup>5</sup> Department of Pathology  
Otto-von-Guericke University, Magdeburg, Niemcy

<sup>6</sup> Katedra i Zakład Patomorfologii  
AM w Gdańsku

<sup>7</sup> Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej  
AM w Gdańsku

Produkt białkowy *MDM2* jest onkoproteiną o masie 90 kDa, fizycznie związaną z p53 i hamującą czynność *wtp53*. W fibroblastach mysich wykazano, że nadmierna ekspresja białka *mdm2* może się wiązać z transformacją nowotworową [3]. Białka *mdm2* i p53 tworzą autoregulacyjną pętlę sprzężenia zwrotnego, w której p53 zwiększa stężenie *mdm2*, natomiast hamuje ekspresję i aktywność p53 [3, 6, 7]. *Mdm2* odgrywa istotną rolę nie tylko w jądrze (tworząc kompleks z *wt* lub *mtp53*) [3, 5], lecz także poprzez działania międzykomórkowe [8].

Rokownicze znaczenie ekspresji białka *mdm2* u chorych na NDKRP leczonych operacyjnie pozostaje niejasne, zwłaszcza w powiązaniu z występowaniem białka p53. Higashiyama i wsp. [9] sugerowali, że nadmierna ekspresja białka *mdm2* skojarzona z brakiem ekspresji białka p53 – paradoksalnie wiązała się z lepszym rokowaniem. Jednak w innych badaniach obecność białka *mdm2* związana była z przerzutami do węzłów chłonnych [10] lub nie miała wpływu na przeżycie [11]. Ze względu na to, że wartość rokownicza ekspresji białka *mdm2* stanowi wciąż przedmiot kontrowersji, postanowiliśmy ocenić tę kwestię u chorych na NDKRP poddanych resekcji mięszu płucnego.

## Materiał i metody

Badana grupa składała się ze 123 chorych na NDKRP, u których w latach 1994-1998 wykonywano doszczętną resekcję mięszu płucnego w Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej Akademii Medycznej w Gdańsku. Próbkę guzów utrwalane były w formalinie a następnie zatapiane w parafinie. Trzech niezależnych patologów (A.K., K.H.W. i C.B.), na podstawie wycinków barwionych hematoksyliną-eozyną, oceniało typ i stopień zróżnicowania nowotworu. Stopień zaawansowania choroby (pTNM) określano po badaniu patologicznym guza pierwotnego i regionalnych węzłów chłonnych.

Ekspresję białek *mdm2* [12] i p53 [13] oceniano immunohistochemicznie przy użyciu metod opisanych w poprzednich pracach naszego zespołu. Stosowano przeciwciała monoklonalne: klon IF2 – przeciwko *mdm2* i Pab 1801 – przeciwko p53 firmy Oncogene Science. Preparaty wybarwione metodami immunohistochemicznymi oceniane były przez dwóch niezależnych obserwatorów (K.H.W. i C.B.). Obecność białka *mdm2* w jądrach komórkowych, niezależnie od jej nasilenia, uznawana była za wynik dodatni ( $\geq 1\%$ ). Baza danych obejmowała następujące cechy: wiek i płeć chorych, palenie tytoniu, typ histologiczny i stopień zróżnicowania guza, stopień zaawansowania nowotworu w skali pTNM, datę zabiegu operacyjnego, leczenie uzupełniające, datę i lokalizację nawrotu choroby, informację o przeżyciu obejmującą ostatnią obserwację lub datę zgonu, a także ekspresję białek *mdm2* i p53.

## Statystyka

Związek pomiędzy ekspresją *mdm2* i p53 a cechami klinicznymi oceniono za pomocą testów  $\chi^2$  i Fishera. Czas przeżycia do nawrotu choroby (*disease-free survival* – DFS) obliczano od dnia zabiegu operacyjnego do dnia stwierdzenia nawrotu lub do dnia zgonu, w zależności od tego, które z tych zdarzeń wystąpiło wcześniej. Całkowity czas przeżycia (*overall survival* – OS) obliczano od dnia zabiegu operacyjnego do dnia ostatniej obserwacji lub dnia zgonu. Analizę przeżycia objęto wszystkich zmarłych chorych, niezależnie od przyczyny zgonu. Krzywe przeżycia

sporządzano przy użyciu metody Kaplana–Meiera i porównywano za pomocą testu log-rank. Analizę wieloczynnikową przeprowadzono przy użyciu modelu regresji Coxa, przy czym za znamienne uważane były wartości  $p$  poniżej 0,05.

## Wyniki

Ekspresję białka *mdm2* w jądrze wykryto w 40 próbkach (33%). Współwystępowanie białek *mdm2* i p53 wykryto w 19 przypadkach (15%). Nie zaobserwowano zależności pomiędzy ekspresją białek *mdm2* i p53, niezależnie od przyjętego punktu odcięcia.

W analizie  $\chi^2$  nie stwierdzono zależności pomiędzy ekspresją białka *mdm2* (analizowaną pojedynczo lub łącznie z p53) a cechami klinicznymi obejmującymi wiek i płeć chorych, stopień zaawansowania klinicznego nowotworu, typ histologiczny oraz stopień zróżnicowania guza (Tab. I). Ponieważ tylko 6 chorych (5%) w badanej grupie nigdy nie paliło papierosów, nie oceniono zależności pomiędzy ekspresją białka *mdm2* i nałogiem palenia tytoniu.

Tab. 1. Zależność pomiędzy występowaniem białka *mdm2* a cechami klinicznymi chorych (test  $\chi^2$ )

Cecha	<i>mdm2</i> (-)	<i>mdm2</i> (+)	$p$
Wiek			
>60 lat	41	15	0.29
≤60 lat	42	25	
Płeć			
kobiety	20	11	0.85
mężczyźni	63	29	
Stopień zaawansowania klinicznego			
I	39	17	0.77
II	6	5	
IIIA	35	16	
IIIB + IV	3	2	
Postać histologiczna raka			
płatkonabłonkowy	41	23	0.48
gruczolakorak	24	3	
wielkokomórkowy	10	2	
gruczołowo-płatkonabłonkowy	8	2	
Stopień zróżnicowania raka			
G1	13	7	0.86
G2	50	22	
G3	20	11	
p53			
(-)	39	21	0.70
(+)	44	19	

Do chwili przeprowadzenia niniejszej analizy (czerwiec 2005 r.) u 29 chorych (24%) nie stwierdzono nawrotu choroby. Mediana DFS dla całej grupy wynosiła 28 miesięcy, a prawdopodobieństwo rocznego i pięcioletniego DFS – odpowiednio 61% i 31%. Mediana DFS wśród pacjentów z ekspresją i bez ekspresji białka *mdm2* wynosiła odpowiednio 12 i 31 miesięcy, a prawdopodobieństwo pięcioletniego DFS – odpowiednio 25% i 35% ( $p=0,22$ ). Nie zaobserwowano różnic pod względem DFS pomiędzy czterema możliwymi fenotypami

Tab. II. Wpływ obecności białka mdm2 i p53 na czas do nawrotu choroby oraz na całkowity czas przeżycia

Podgrupy chorych	Liczba (%)	Czas do nawrotu choroby		Całkowity czas przeżycia	
		p	WR (95% ZU)	p	WR (95% ZU)
mdm2-/p53- vs pozostali	39 (32%)	0,72	1,08 (0,64-1,52)	0,67	1,10 (0,66-1,54)
mdm2-/p53+ vs pozostali	44 (36%)	0,14	0,72 (0,29-1,15)	0,09	0,69 (0,24-1,12)
mdm2+/p53- vs pozostali	21 (17%)	0,37	1,27 (0,75-1,79)	0,28	1,34 (0,83-1,86)
mdm2+/p53+ vs pozostali	19 (15%)	0,52	1,20 (0,66-1,76)	0,51	1,20 (0,65-1,76)

WR – współczynnik ryzyka, 95% ZU – zakres ufności

Tab. III. Analiza wieloczynnikowa obejmująca wpływ analizowanych cech na czas do nawrotu oraz na całkowity czas przeżycia

Cecha	Czas do nawrotu choroby		Całkowity czas przeżycia	
	p	WR (95% ZU)	p	WR (95% ZU)
Płeć	0,77	0,94 (0,53-1,35)	0,93	0,98 (0,57-1,39)
Wiek	0,07	1,40 (1,03-1,76)	0,06	1,50 (1,12-1,87)
Postać histologiczna raka	0,42	1,06 (0,92-1,21)	0,50	1,05 (0,90-1,20)
Stopień zaawansowania klinicznego	<0,001	1,52 (1,36-1,69)	<0,001	1,58 (1,40-1,74)
Stopień zróżnicowania raka	0,01	1,47 (1,17-1,77)	0,003	1,60 (1,30-1,92)
Ekspresja białka mdm2	0,56	0,84 (0,51-1,27)	0,75	0,94 (0,56-1,32)
Ekspresja białka p53	0,64	0,92 (0,58-1,27)	0,67	0,93 (0,58-1,28)

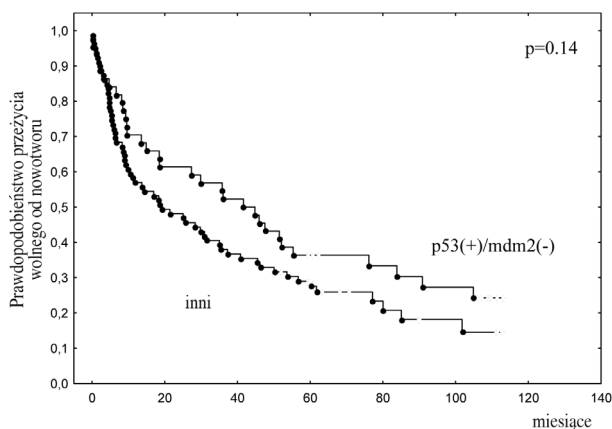
WR – współczynnik ryzyka, 95% ZU – 95% zakres ufności

mdm2/p53 (mdm2-/p53-, mdm2-/p53+, mdm2+/p53-, mdm2+/p53+) (Tab. II).

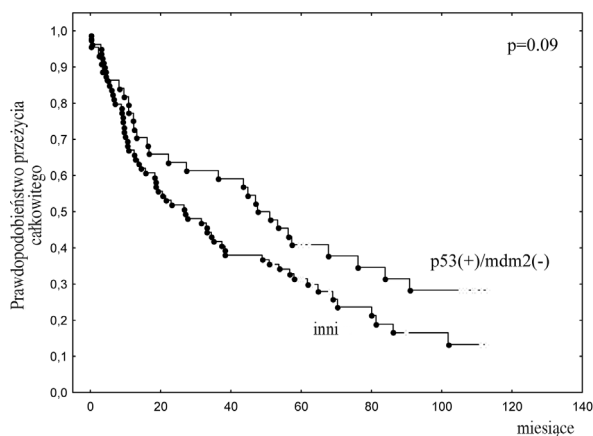
W chwili wykonywania analizy, przy medianie czasu obserwacji wynoszącej 71 miesięcy (zakres od 52 do 113), żyło 31 chorych (25%). Mediana OS dla całej grupy wynosiła 34 miesiące, a prawdopodobieństwo przeżycia jednego roku i pięciu lat – odpowiednio 70% i 35%. Mediana OS w grupie chorych z ekspresją i bez ekspresji mdm2 wynosiła odpowiednio 16 i 38 miesięcy, a prawdopodobieństwo przeżycia pięciu lat – odpowiednio 24% i 40% (p=0,17).

Nie zaobserwowano istotnych różnic w czasie całkowitego przeżycia pomiędzy poszczególnymi grupami pacjentów o czterech możliwych fenotypach mdm2/p53 (Tab. II). Całkowite przeżycie oraz czas do nawrotu choroby były jednak nieznamienne dłuższe w grupie chorych z fenotypem mdm2-/p53+ (rysunki 1A. i 1B.).

W analizie jedno- i wieloczynnikowej stopień zaawansowania klinicznego nowotworu oraz stopień jego zróżnicowania były niezależnymi czynnikami rokowniczymi dla DFS i OS (Tab. III).



Ryc. 1A. Krzywa przeżycia Kaplana-Meyera dla fenotypu p53(+)/mdm2(-) w porównaniu do pozostałych chorych – czas do nawrotu choroby



Ryc. 1B. Krzywa przeżycia Kaplana-Meyera dla fenotypu p53(+)/mdm2(-) w porównaniu do pozostałych chorych – całkowity czas przeżycia

## Dyskusja

W naszym badaniu ekspresję białka mdm2 stwierdzono w 33% przypadków NDKRP. Częstość występowania ekspresji mdm2 w innych badaniach dotyczących raka płuca wykazywała duże zróżnicowanie w granicach od 6% do 78% [9–11, 14–16]. Tak znaczne rozbieżności mogą być spowodowane kilkoma czynnikami. Wydaje się, że jednym z nich może być rodzaj przeciwciała pierwotnego oraz systemu detekcyjnego. W przedstawionej pracy zastosowano technikę APAAP (*alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase*), podczas gdy inni autorzy stosowali system kompleksów ABC (*avidin-biotin-peroxidase*) [9, 14] lub SAB (*streptavidin-biotin-peroxidase*) [11, 17]. Podobnie jak w przypadku innych prac [9, 10, 14, 15, 17], w niniejszym badaniu do wykrywania białka mdm2 stosowano klon IF2. Przeciwciała to rozpoznaje  $-NH_2$ -końcowy region mdm2. Inni autorzy stosowali klon 1B10 rozpoznający  $-COOH$ -końcowy region białka mdm2 [10, 15] lub klon SMP14, rozpoznający epitopy mdm2 zlokalizowane pomiędzy aminokwasami 154 i 167 mdm2 [11]. Ponieważ dostępne przeciwciała przeciwko białku p53 nie rozróżniają rodzaju nagromadzonego białka p53 (typu „dzikie” lub zmutowane), w badaniach dotyczących ekspresji tego białka w NDKRP nie można określić mechanizmu jego gromadzenia. Podobnie nieznana pozostaje przyczyna nadmiernej ekspresji mdm2, zwłaszcza w kontekście autoregulacyjnej pętli sprzężenia zwrotnego z udziałem mdm2 i p53.

W przedstawionej pracy za dodatnie uznawaliśmy jedynie te próbki, w których ekspresja białka mdm2 dotyczyła jąder komórkowych. Niektórzy autorzy do tej kategorii zaliczali także lokalizację białka poza jądrem, np. w cytoplazmie [14]. Różne były także punkty odcięcia. Poszczególni autorzy za dodatnie uznawali próbki, w których ekspresja występowała w  $>0\%$  [14],  $>5\%$  [18] lub  $>10\%$  komórek nowotworowych [9, 10, 15]. Marchetti i wsp. [14] nie podali punktu odcięcia dla mdm2, natomiast dla białka p53 wartość ta wynosiła  $>50\%$ . Wszystkie te czynniki uniemożliwiają przeprowadzenie miarodajnej, wspólnej analizy wyników uzyskanych w poszczególnych badaniach.

Współwystępowanie białka mdm2 i p53 oceniano jedynie w kilku badaniach. W pięciu z nich [9, 10, 15, 16, 19] nie stwierdzono zależności pomiędzy ekspresją tych białek natomiast w jednym obecność mdm2 była związana z silną ekspresją p53 [14]. W naszym badaniu współwystępowanie mdm2 i p53 zaobserwowano w 15% przypadków. Nie stwierdzono zależności pomiędzy ekspresją obu białek, nawet po uwzględnieniu najsilniejszej ekspresji p53 ( $>50\%$ ). Niektórzy autorzy sugerowali, że funkcja mdm2 wykracza poza regulację p53 [10]. Istnieje prawdopodobieństwo, że mdm2 może odgrywać niezależną od p53 rolę w powstawaniu nowotworu, oraz że nadmierna ekspresja tego protoonkogenu może prowadzić do przekształcenia nowotworowego, nawet jeśli nie występują inne zaburzenia genetyczne [8].

W przedstawionej pracy, podobnie jak w materiale Ko i wsp. [11], nie zaobserwowaliśmy zależności pomiędzy

ekspresją mdm2 i p53 a cechami klinicznymi chorych (zarówno we wspólnej, jak i w pojedynczej analizie obu białek). Niektóre badania wykazały silniejszą ekspresję białka mdm2 w gruczolakorakach płuca [9, 14], w innych natomiast (w tym także w naszym) nie udało się wykazać takiej zależności [11, 16, 17]. Podobnie jak inni autorzy [9, 19], nie zaobserwowaliśmy zależności pomiędzy mdm2 a stopniem zróżnicowania guza lub stopniem zaawansowania nowotworu. Częstsze występowanie przerzutów do węzłów chłonnych towarzyszące nadekspresji mdm2 ( $p < 0,005$ ), jak i fenotypowi mdm2+/p53+ ( $p < 0,001$ ) opisali Gorgoulis i wsp. [10]. Akiawa i wsp. [16] wykazali natomiast, że obecność białka mdm2 wiąże się z ekspresją białka p<sup>21</sup>WAF1/CIP1 i stopniem zaawansowania choroby, lecz nie z obecnością białka p53.

W badanej grupie chorych nie zaobserwowaliśmy wpływu ekspresji mdm2 na DFS oraz OS. Według naszej wiedzy opublikowano tylko pięć badań oceniających ekspresję białka mdm2 w NDKRP, z których tylko trzy obejmowały analizę wartości rokowniczej tej cechy.

Wspólna analiza ekspresji mdm2 i p53 w naszym materiale nie wykazała wartości rokowniczej któregośkolwiek z badanych fenotypów. Obserwację tę należy jednak interpretować ostrożnie ze względu na stosunkowo niewielką liczbę chorych w poszczególnych podgrupach. Akiawa i wsp. [16] nie zaobserwowali wartości rokowniczej ekspresji mdm2/p53 u 112 chorych na NDKRP, pomimo częstszego występowania nadmiernej ekspresji mdm2 w chorobie zaawansowanej. Ko i wsp. [11] nie wykazali wpływu ekspresji białek mdm2 i p53 oraz mutacji genu *P53* na czas przeżycia, jakkolwiek obecność MDM2mRNA była związana z lepszym rokowaniem. Higashiyama i wsp. [9] sugerowali, że wyłączna ekspresja mdm2 nie miała wpływu na czas przeżycia ( $p = 0,62$ ), jednak fenotyp mdm2+/p53- był związany z lepszym rokowaniem ( $p = 0,039$ ). Gorgoulis i wsp. [10] wykazali gorsze rokowanie i częstsze przerzuty do węzłów chłonnych w przypadku fenotypu mdm2+/p53+, lecz badanie to nie obejmowało analizy przeżycia.

Podsumowując, wyniki naszego badania sugerują, że kliniczne znaczenie ekspresji białka mdm2 pozostaje wątpliwe, niezależnie od występowania lub braku ekspresji białka p53.

### Podziękowania

*Autorzy pragną podziękować dyrekcji Katharinenhospital w Stuttgarcie (Niemcy), za umożliwienie przeprowadzenia laboratoryjnej części tego badania, jak również całemu personelowi Zakładu Patologii, w szczególności pani Reyes Esparza i pani Brigitte Öchsle, za ich nieocenioną pomoc laboratoryjną.*

**Dr med. Dorota Dworakowska**  
Klinika Chorób Wewnętrznych,  
Endokrynologii i Zaburzeń Hemostazy AM  
ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk, Poland  
tel/fax: (48) (58) 349 28 42  
e-mail: ddd@amg.gda.pl

## Piśmiennictwo

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J i wsp. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108.
2. Prives C, Hall PA. The p53 pathway. *J Pathol* 1999; 187: 112-26.
3. Momand J, Zambetti GP. Mdm-2: "big brother" of p53. *J Cell Biochem* 1997; 64: 343-52.
4. Fakhrazadeh S, Trusko S, George DL. Tumorigenic potential associated with enhanced expression of a gene that is amplified in a mouse tumor cell line. *Embo J* 1991; 10: 1565-9.
5. Momand J, Jung D, Wilczynski S i wsp. The MDM2 gene amplification database. *Nucleic Acids Res* 1998; 26: 3453-9.
6. Piette J, Neel H, Marechal V. Mdm2: keeping p53 under control. *Oncogene* 1997; 15: 1001-10.
7. Haines DS, Landers JE, Engle LJ i wsp. Physical and functional interaction between wild-type p53 and mdm2 proteins. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 1171-8.
8. Wiethege T, Voss B, Muller KM. Detection of MDM2-proto-oncogene in paraffin embedded human bronchial epithelium. *J Cancer Res Clin Oncol* 1994; 120: 252-5.
9. Higashiyama M, Doi O, Kodama K i wsp. MDM2 gene amplification and expression in non-small-cell lung cancer: immunohistochemical expression of its protein is a favourable prognostic marker in patients without p53 protein accumulation. *Br J Cancer* 1997; 75: 1302-8.
10. Gorgoulis VG, Zoumpourlis V, Rassidakis GZ i wsp. A molecular and immunohistochemical study of the MDM2 protein isoforms and p53 gene product in bronchogenic carcinoma. *J Pathol* 1996; 180: 129-37.
11. Ko JL, Cheng YW, Chang SL i wsp. MDM2 mRNA expression is a favorable prognostic factor in non-small-cell lung cancer. *Int J Cancer* 2000; 89: 265-70.
12. Dworakowska D, Jassem E, Jassem J i wsp. MDM2 gene amplification: a new independent factor of adverse prognosis in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2004; 43: 285-95.
13. Dworakowska D, Jassem E, Jassem J i wsp. Prognostic relevance of altered pRb and p53 protein expression in surgically treated non-small cell lung cancer patients. *Oncology* 2004; 67: 60-6.
14. Marchetti A, Buttitta F, Pellegrini S i wsp. mdm2 gene amplification and overexpression in non-small cell lung carcinomas with accumulation of the p53 protein in the absence of p53 gene mutations. *Diagn Mol Pathol* 1995; 4: 93-7.
15. Gorgoulis VG, Rassidakis GZ, Karameris AM i wsp. Immunohistochemical and molecular evaluation of the mdm-2 gene product in bronchogenic carcinoma. *Mod Pathol* 1996; 9: 544-54.
16. Aikawa H, Sato M, Fujimura S i wsp. MDM2 expression is associated with progress of disease and WAF1 expression in resected lung cancer. *Int J Mol Med* 2000; 5: 631-3.
17. Koga T, Hashimoto S, Sugio K i wsp. Heterogeneous distribution of P53 immunoreactivity in human lung adenocarcinoma correlates with MDM2 protein expression, rather than with P53 gene mutation. *Int J Cancer* 2001; 95: 232-9.
18. Stefanaki K, Rontogiannis D, Vamvouka C i wsp. Immunohistochemical detection of bcl2, p53, mdm2 and p21/waf1 proteins in small-cell lung carcinomas. *Anticancer Res* 1998; 18: 1167-73.
19. Rasidakis A, Orphanidou D, Kalomenidis J i wsp. Expression of mdm-2 protein in neoplastic, preneoplastic, and normal bronchial mucosa specimens: comparative study with p53 expression. *Hybridoma* 1998; 17: 339-45.

Otrzymano: 10 października 2005 r.

Przyjęto do druku: 22 lutego 2006 r.