

Association of Mutant p53 Expression with Lymph Node Metastasis and Histological Grading in Breast Cancer Patients

M. Bachtiar Budianto¹, Kenty W. Anita², Solimun Solimun³, Aprianda Saputara⁴✉

¹Department of Oncology Surgery, Dr. Saiful Anwar General Hospital – Brawijaya University, Malang, Indonesia

²Department of Pathological Anatomy, Brawijaya University, Malang, Indonesia

³Department of Statistics, Faculty of Mathematics and Natural Science, Brawijaya University, Malang, Indonesia

⁴Department of Surgery, Brawijaya University – Dr. Saiful Anwar General Hospital, Malang, Indonesia

Received: 2025/09/28
Accepted: 2025/12/23

*Corresponding Author:
tommy@ub.ac.id

Ethics Approval:
[400/239/k.3/102.7/2024](https://doi.org/10.24090/ijbd.v18i4.488)

Abstract

Introduction: Breast cancer remains the most prevalent malignancy among women worldwide, with lymph node metastasis serving as a critical determinant of prognosis. Mutations in the TP53 gene, leading to the expression of dysfunctional p53 protein, have been implicated in tumor progression and nodal dissemination. This study aimed to analyze the association between mutant P53 expression and lymph node metastasis (LNM) as well as histopathological grading in breast cancer patients.

Methods: Retrospective cross-sectional study of 83 patients treated (Jan 2021–Dec 2024) at Dr. Saiful Anwar General Hospital, Indonesia. Mutant p53 was assessed by immunohistochemistry. Associations with LNM were tested by chi-square; correlations with grade by Spearman's rho.

Results: The mean age of the subjects was 51.27 ± 10.24 years. Based on nodal staging, the majority of patients were classified as N1 (67.47%). Histopathological grading revealed Grade 3 as the most prevalent (53.0%). Statistical analysis demonstrated a significant association between mutant P53 expression and lymph node metastasis ($p < 0.001$; $r = 0.670$), indicating a strong positive correlation. In contrast, no significant association was observed between mutant P53 expression and histopathological grading ($p = 0.485$; $r = 0.078$).

Conclusion: Mutant p53 expression is strongly associated with lymph node metastasis but not with histological grade in breast cancer. Prospective studies incorporating advanced assessment methods are warranted to validate these findings.

Keywords: breast cancer, mutant P53, lymph node metastasis, histopathological grading



Introduction

Breast cancer is the most frequently diagnosed malignancy among women and a leading cause of cancer-related mortality worldwide [1]. In 2022, an estimated 2.3 million new cases and 670,000 deaths were reported globally [1]. Clinical outcomes are heterogeneous and strongly influenced by tumor biology and the extent of regional spread. Regional lymph node metastasis (LNM) remains a critical prognostic factor and a cornerstone of staging and treatment planning [2]. In the TNM system, nodal status is integrated with tumor size and distant metastasis to guide therapy [3]. Histological grade is another established parameter reflecting differentiation and mitotic activity, where higher grades are associated with aggressive tumors [4]. However, patients with similar stage and grade often experience different outcomes, indicating a need for additional biological markers to capture tumor aggressiveness.

Among molecular alterations, *TP53* is one of the most frequently mutated genes in breast cancer. The p53 protein is a key tumor suppressor regulating cell-cycle arrest and apoptosis [5]. *TP53* mutations disrupt these functions and often confer oncogenic gain-of-function properties, linked to increased proliferation and poor prognosis [5, 6]. In routine practice, p53 alterations are often inferred using immunohistochemistry (IHC), where overexpression suggests a mutation, although this is an imperfect surrogate [6]. Studies have reported that p53 overexpression is associated with high histological grade and lymph node involvement [7, 8], though findings vary across populations. Data from South-East Asian tertiary referral centers remain limited. This study aimed to evaluate the association between mutant p53 expression, assessed by IHC, and (i) lymph node metastasis and (ii) histopathological grade in breast cancer

patients treated at a tertiary referral hospital in Indonesia.

Materials and Methods

This retrospective cross-sectional study was conducted at the Oncology Surgery Clinic and Department of Anatomical Pathology, Dr. Saiful Anwar General Hospital, East Java. Data collection spanned from January 2021 to December 2024. The study included patients with breast cancer confirmed via clinical, radiological, and histopathological evaluation. Patients with incomplete medical records or non-representative paraffin blocks were excluded.

The independent variable was mutant p53 expression, determined via IHC using anti-p53 antibody (Santa Cruz, catalog DO-1: sc-126). Expression was classified as positive when $\geq 5\%$ of tumor cells demonstrated nuclear staining. The dependent variables were lymph node metastasis status (classified according to AJCC criteria into N0, N1, N2, N3) and histopathological grading (Grade 1, 2, or 3). The sample size was calculated based on a correlation coefficient from prior literature, requiring a minimum of 80 patients [9]. Sampling was conducted using a non-probability purposive technique.

Data were analyzed using SPSS version 25.0. The association between mutant p53 expression and lymph node metastasis was evaluated using the Chi-square test, while correlation with histopathological grade was assessed using Spearman's rank correlation test. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

A total of 83 patients were included, with a mean age of 51.27 \pm 10.24 years. The distribution of lymph node metastasis and histopathological grading is summarized in Table 1.

Table 1: Sample Characteristic.

Characteristic	n	%
Lymph Node Metastasis		
N0	12	14.46
N1	56	67.47
N2	11	13.25
N3	4	4.82
Histopathological Grading		
Grade 1	6	7.2
Grade 2	33	39.8
Grade 3	44	53.0

The majority of patients were classified as N1 (67.47%). Grade 3 was the most prevalent histological grade (53.0%). Representative

examples of mutant p53 expression are illustrated in Figure 1.

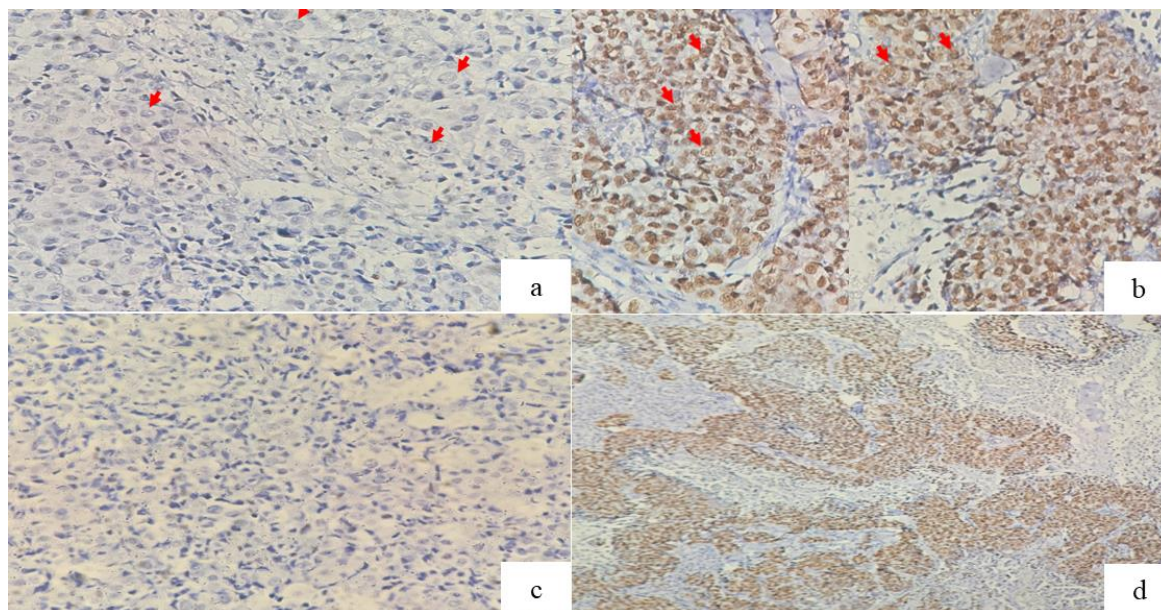


Fig 1: Positive and negative mutant p53 expression under microscopic magnification: (a) negative (400×), (b) positive (400×), (c) negative (100×), (d) positive (100×).

A significant association was identified between mutant p53 expression and lymph node metastasis ($p < 0.001$). Most patients with nodal involvement exhibited positive mutant p53 expression, particularly in the N1 group

(63.9%). No negative p53 expression was observed in patients with N2 or N3 disease. The analysis yielded a correlation coefficient of $r = 0.670$, indicating a strong positive relationship (Table 2).

Table 2: Distribution of Mutant p53 Expression by Lymph Node Metastasis.

Lymph Node Metastasis	Mutant p53 Expression				Mutant p53 Expression (X^2)
	Positive		Negative		
	n	%	n	%	
N0	7	8.4%	5	6.0%	$p < 0.001$ $r = 0.670$
N1	53	63.9%	3	3.6%	
N2	11	13.3%	0	0.0%	
N3	4	48%	0	0.0%	

Note: Statistical test = Chi-square; r denotes the reported association coefficient.

Mutant p53 expression was most frequent in Grade 3 tumors (47.0%), followed by Grade 2 (36.1%) and Grade 1 (7.2%) (Table 3). Despite this distribution, statistical analysis revealed no

significant association between mutant p53 expression and histopathological grade ($p = 0.485$).

Table 3: Distribution of Mutant p53 Expression by Breast Cancer Grading.

Breast Cancer Grading	Mutant p53 Expression				Degree of Association
	Positive		Negative		
	n	%	n	%	
Grade 1	6	7.2%	0	0.0%	$p = 0.485$ $r = 0.078$
Grade 2	30	36.1%	3	3.6%	
Grade 3	39	47.0%	5	6.0%	

Note: Statistical test = Spearman's rank correlation.

Discussion

This study identified a strong positive correlation between mutant p53 expression and lymph node metastasis in breast cancer patients. These results corroborate the established role of p53 mutations in disrupting cell cycle regulation and apoptosis, thereby contributing to tumor progression and lymphatic dissemination [10]. Consistent with previous reports, our findings support the view that increased p53 immunoreexpression serves as a marker of more aggressive tumor biology and a higher probability of nodal involvement.

The association between mutant p53 and lymph node metastasis is likely mediated through gain-of-function properties that enhance invasion and metastasis. Mutant p53 can impair apoptotic pathways, allowing cancer cells to migrate into lymphatic tissues, and promote epithelial-mesenchymal transition (EMT), increasing cellular motility [5]. Clinical data from other cohorts support this link; Noguchi et al. found p53 expression was significantly associated with the number of positive axillary lymph nodes [8]. Furthermore, p53 overexpression tends to cluster with higher nodal burden, particularly in aggressive subtypes like triple-negative breast cancer [7]. However, the association in our study was assessed using univariable analysis. Consequently, residual confounding by established prognostic factors such as tumor size and molecular subtype cannot be excluded. Without multivariable adjustment, mutant p53 should be interpreted as a correlate of nodal involvement rather than an independent predictor.

Regarding histological grade, while *TP53* mutations are recognized drivers of high-grade morphology, the present study did not demonstrate a statistically significant association between mutant p53 expression and

histopathological grade. This discrepancy may be due to the predominance of high-grade tumors in our cohort, which reduced variability and limited statistical power. Additionally, the inability to stratify analyses by intrinsic subtype may explain the lack of significance, as p53 expression is known to interact with receptor profiles [7].

Clinical Implications

The observed association suggests that p53 immunoreexpression may reflect a more aggressive tumor phenotype. In resource-limited settings, p53 assessment by IHC could be incorporated into risk stratification models alongside established factors to inform decisions regarding systemic therapy. However, it should not be used in isolation to guide axillary management. Furthermore, the potential for targeted therapies designed to restore mutant p53 function offers promise for improving outcomes in this subset of patients [5].

Limitations

This study has limitations, including its retrospective cross-sectional design and reliance on IHC without confirmatory sequencing. The lack of multivariable adjustment means residual confounding cannot be excluded. Additionally, as a single-center study, generalizability may be limited.

Conclusion

This study demonstrated a strong positive correlation between mutant p53 expression and lymph node metastasis in breast cancer patients. In contrast, no significant association was observed between mutant p53 expression and histopathological grade. Future research should employ prospective designs to validate these findings.

References

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel R, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):229–63. doi:10.3322/caac.21834.
2. Harbeck N, Penault-Llorca F, Cortes J, Gnant M, Houssami N. Breast cancer. *Nat Rev Dis Prim.* 2020;5(1):66. doi:10.1038/s41572-019-0111-2.
3. Kalli S, Semine A, Cohen S, Naber S, Makim S, Bahl M. American Joint Committee on Cancer's Staging System for Breast Cancer, Eighth Edition: What the Radiologist Needs to Know. *Radiographics.* 2020;38(7):1921–33. doi:10.1148/rg.2018180054.

4. Dooijeweert C van, Diest P van, Ellis I. Grading of invasive breast carcinoma: the way forward. *Virchows Arch.* 2022;480(1):33–43. doi:10.1007/s00428-021-03148-8.
5. Marvalim C, Datta A, Lee S. Role of p53 in breast cancer progression: An insight into p53 targeted therapy. *Theranostics.* 2023;13(4):1421–42. doi:10.7150/thno.77863.
6. Abubakar M, Guo C, Koka H, Sung H, Shao N, Guida J, et al. Clinicopathological and epidemiological significance of breast cancer subtype reclassification based on p53 immunohistochemical expression. *NPJ Breast Cancer.* 2020;5(20). doi:10.1038/s41523-019-0120-0.
7. Pan Y, Yuan Y, Liu G, Wei Y. P53 and Ki-67 as prognostic markers in triple-negative breast cancer patients. *PLoS One.* 2017;12(12):e0172324. doi:10.1371/journal.pone.0172324.
8. Noguchi M, Kitagawa H, Kinoshita K, Thomas M, Miyazaki I, Saito Y, et al. The relationship of p53 protein and lymph node metastases in invasive breast cancer. *Surg Today.* 1994;24(6):512–7. doi:10.1007/BF00311876.
9. Darling H. Basics of statistics – 4 : Sample size calculation (ii): A narrative review. *Cancer Res Stat Treat.* 2020;3(4):817–28. doi:10.4103/crst.crst_133_20.
10. Tang Q, Su Z, Gu W, Rustgi A. Mutant p53 on the Path to Metastasis. *Trends Cancer.* 2020;6(1):62–73. doi:10.1016/j.trecan.2019.11.003.

ارتباط بیان p53 جهش یافته با متاستاز غدد لنفاوی و درجه بندی هیستولوژیک در بیماران مبتلا به سرطان پستان

مجله علمی
بیماری‌های پستان ایران
۱۴۰۴؛ ۱۸(۴): ۸۸-۱۰۱

ام. بختیار بودیانتو^۱، کنتی دلبلیو. آنتیا^۲، سلیمان سلیمان^۳، آپریاندا ساپوتارا^۴✉

^۱بخش جراحی انکولوژی، بیمارستان عمومی دکتر سیفول انوار - دانشگاه براویجایا، مالانگ، اندونزی

^۲بخش آناتومی پاتولوژیک، دانشگاه براویجایا، مالانگ، اندونزی

^۳آمار، دانشکده ریاضیات و علوم طبیعی، دانشگاه براویجایا، مالانگ، اندونزی

^۴بخش جراحی، دانشگاه براویجایا - بیمارستان عمومی دکتر سیفول انوار، مالانگ، اندونزی

چکیده

مقدمه: سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی در میان زنان در سراسر جهان است، و متاستاز غدد لنفاوی به عنوان یک عامل تعیین‌کننده حیاتی در تعیین پیش‌آگهی آن عمل می‌کند. جهش‌های ژن TP53 که منجر به بیان پروتئین p53 کارکردناپذیر می‌شوند، در پیشرفت تومور و انتشار نودال دخیل بوده‌اند. این مطالعه با هدف تحلیل ارتباط میان بیان P53 جهش یافته و متاستاز غدد لنفاوی (LNM) و همچنین درجه بندی هیستوپاتولوژیک در بیماران مبتلا به سرطان پستان انجام شد.

روش‌ها: مطالعه مقطعی رترواسپکتیو روی ۸۳ بیمار که در بازه زمانی ژانویه ۲۰۲۱ تا دسامبر ۲۰۲۴ در بیمارستان عمومی دکتر سیفول انوار اندونزی درمان شده بودند، انجام شد. p53 جهش یافته با استفاده از ایمونوهیستوشیمی ارزیابی شد. ارتباطات با متاستاز غدد لنفاوی با استفاده از آزمون کای-اسکوئر و همبستگی‌ها با درجه با استفاده از ضریب اسپیرمن آزمون شد.

یافته‌ها: میانگین سنی افراد مورد مطالعه $51/27 \pm 10/24$ سال بود. براساس درجه بندی گره‌های لنفاوی، اکثریت بیماران در طبقه بندی N1 (۶۷/۴۷٪) قرار گرفتند. درجه بندی هیستوپاتولوژیک نشان داد که درجه ۳ (Grade 3) شایع‌ترین مورد (۵۳/۱۰٪) است. تحلیل آماری نشان‌دهنده یک ارتباط معنادار میان بیان P53 جهش یافته و متاستاز غدد لنفاوی ($p < 0.001$; $r = 0.670$) بود که بیانگر یک همبستگی مثبت قوی است. در مقابل، هیچ ارتباط معناداری میان بیان P53 جهش یافته و درجه بندی هیستوپاتولوژیک مشاهده نشد ($p = 0.485$; $r = 0.078$).

نتیجه‌گیری: بیان p53 جهش یافته به شدت با متاستاز غدد لنفاوی مرتبط است اما با درجه هیستولوژیک در سرطان پستان ارتباطی ندارد. مطالعات آینده‌نگر که شامل روش‌های ارزیابی پیشرفته باشند، برای اعتبارسنجی این یافته‌ها توصیه می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، P53 جهش یافته، متاستاز غدد لنفاوی، درجه بندی هیستوپاتولوژیک.

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۷/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۲

نویسنده مسئول:
tommy@ub.ac.id

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی تشخیص داده شده در میان زنان و یکی از علل اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در سراسر جهان است [۱، ۲]. در سال ۲۰۲۲، تخمین زده شد که ۲/۳ میلیون مورد جدید و ۶۷۰,۰۰۰ مرگ در سطح جهانی گزارش شده است که این امر بار سلامتی قابل توجهی را نشان می‌دهد [۲]. پیامد بالینی بسیار ناهمگن است و به شدت تحت تأثیر زیست‌شناسی تومور و میزان انتشار منطقه‌ای و دور دست قرار دارد [۳]. متاستاز غدد لنفاوی منطقه‌ای (LNM) همچنان یکی از مهم‌ترین عوامل پیش‌آگهی و سنگ بنای مرحله‌بندی و برنامه‌ریزی درمان است. غدد لنفاوی زیربغلی شایع‌ترین محل درگیری متاستاتیک هستند که در حدود ۳۰ تا ۵۰ درصد بیماران رخ می‌دهد و به دنبال آن غدد لنفاوی مامواری داخلی و سوپراکلاویکلار قرار دارند [۳، ۴]. در سیستم TNM کمیته مشترک آمریکایی سرطان (AJCC)، وضعیت گره‌ای با اندازه تومور و متاستاز دور دست ترکیب می‌شود تا مرحله آناتومیک را دقیق‌تر کرده و درمان سیستمیک را راهنمایی کند [۵]. درجه هیستولوژیک پارامتر پاتولوژیک دیگری است که تثبیت شده و بازتاب‌دهنده تمایز، آتیبی هسته‌ای و فعالیت میتوزی است و درجه بالاتر به طور کلی با تومور تهاجمی‌تر مرتبط است [۶]. با این حال، بیماران با مرحله و درجه مشابه ممکن است همچنان پیامدهای به شدت متفاوتی را تجربه کنند که نشان می‌دهد نشانگرهای بیولوژیک بیشتری برای بهتر درک تهاجمی بودن تومور موردنیاز است.

در میان تغییرات مولکولی، TP53 یکی از بیشترین ژن‌هایی است که در سرطان پستان دچار جهش می‌شود. پروتئین p53 یک سرکوب‌گر کلیدی تومور است که یکپارچگی ژنومی را با تنظیم توقف چرخه سلولی، ترمیم DNA و آپوپتوز حفظ می‌کند [۷، ۸]. جهش‌های TP53 که اغلب به صورت انواع نقطه‌ای (missense) هستند، اتصال توالی خاص به DNA را مختل کرده و می‌توانند کارکردهای سرکوب‌گر تومور را از بین برده در حالی که خواص کارکردی اکتسابی سرطان‌زا را اعمال می‌کنند [۷، ۸]. این جهش‌ها در حدود یک‌سوم از سرطان‌های پستان تهاجمی رخ می‌دهند و با افزایش تکثیر، مقاومت به درمان و پیش‌آگهی ضعیف مرتبط بوده‌اند [۱، ۷].

در بررسی‌های روتین بالینی، تغییرات p53 اغلب با استفاده از ایمونوهیستوشیمی (IHC) بررسی می‌شود. بسیاری از جهش‌های TP53 منجر به یک پروتئین با ساختار پایدار می‌شوند که در هسته‌های سلول توموری تجمع یافته و می‌تواند به عنوان بیش‌بیانی p53 در IHC شناسایی شود، اگرچه این یک جایگزین ناقص برای وضعیت جهشی زیربنایی است [۷، ۹]. چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که افزایش بیان p53 با درجه هیستولوژیک بالا، ویژگی‌های بیولوژیک نامطلوب و احتمال افزایش درگیری غدد لنفاوی مرتبط است [۱۰-۱۲]. با این وجود، یافته‌ها در میان مطالعات مختلف، همچنان ناهمگون است و قدرت ارتباط بین وضعیت p53، متاستاز لنفاوی و گریدبندی سرطان به نظر می‌رسد در میان جوامع و زیرنوع‌های مولکولی متفاوت باشد [۱۲، ۱۳]. داده‌ها از مناطق جنوب شرق آسیا، به ویژه از مراکز ارجاع سطح سه، همچنان محدود است.

با توجه به نقش مرکزی متاستاز غدد لنفاوی و درجه هیستولوژیک در پیش‌آگهی، روشن کردن اینکه بیان p53 چگونه به این پارامترها در زمینه‌های بالینی خاص مرتبط است، ممکن است به طبقه‌بندی خطر کمک کند. بنابراین، این مطالعه مقطعی با هدف ارزیابی ارتباط میان بیان p53 جهش‌یافته که با ایمونوهیستوشیمی ارزیابی شد و (۱) متاستاز غدد لنفاوی طبق مرحله N در سیستم AJCC و (۲) درجه هیستوپاتولوژیک در بیماران مبتلا به سرطان پستان که در یک بیمارستان ارجاع سطح سه در اندونزی درمان شده بودند، انجام شد. با بررسی این روابط در یک سری تک‌مرکزی از موارد شناسایی شده به صورت رترواسپکتیو، این مطالعه قصد دارد تعیین کند که آیا بیان p53 جهش‌یافته اطلاعات بیشتری در مورد تهاجمی بودن تومور فراتر از عوامل پاتولوژیک متداول ارائه می‌دهد یا خیر، و برای کارهای آینده در مورد ادغام p53 در مدل‌های پیش‌آگهی در این زمینه مطلع سازد.

مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه

این مطالعه از یک طرح تحلیلی مشاهده‌ای با رویکرد مقطعی رترواسپکتیو بهره برد. هدف از این مطالعه، ارزیابی ارتباط میان بیان p53 جهش‌یافته، متاستاز غدد لنفاوی منطقه‌ای و درجه‌بندی هیستوپاتولوژیک در بیماران مبتلا

داخل شکمی) بود که با هم، یک ارزیابی تصویربرداری پایه استاندارد برای مرحله بندی متاستاز دور دست (M1) را تشکیل می دادند. علاوه بر این، نتایج ایمونوهیستوشیمی از بلوک های بافتی پارافینی، مبنای انتخاب بود. بیماران در صورتی حذف شدند که پرونده های پزشکی آنها ناقص باشد یا بلوک های پارافین برای تحلیل ایمونوهیستوشیمی مناسب تشخیص داده نشوند.

تعریف و اندازه گیری متغیرها

متغیر مستقل در این مطالعه، بیان p53 جهش یافته بود که از طریق ایمونوهیستوشیمی با استفاده از آنتی بادی ضد-p53 (Santa Cruz, catalog DO-1: sc-126) تعیین شد. بیان زمانی مثبت طبقه بندی شد که $\leq 5\%$ از سلول های توموری رنگ آمیزی هسته ای نشان دادند. ارزیابی روی ۲۰۰ سلول توموری در نواحی که بالاترین ایمونورئاکتیویتی را نشان می دادند، با استفاده از میکروسکوپ نوری دوچشمی در بزرگنمایی $\times 400$ انجام شد. متغیرهای وابسته عبارت بودند از: (۱) وضعیت متاستاز غدد لنفاوی که از طریق معاینات بالینی و رادیولوژیک ارزیابی و طبق معیارهای AJCC به N0، N1، N2 و N3 طبقه بندی شد؛ و (۲) درجه بندی هیستوپاتولوژیک سرطان پستان که توسط متخصص آسیب شناسی بر اساس معیاره میکروسکوپی نمونه های بیوپسی تعیین و به عنوان درجه ۱، درجه ۲ یا درجه ۳ طبقه بندی شد.

روش های تحقیق

داده های بیماران از طریق بازبازی و اعتبارسنجی پرونده های پزشکی سرطان پستان در بیمارستان عمومی دکتر سیفول انوار به دست آمد. نمونه های بیوپسی پارافینی در آزمایشگاه آسیب شناسی شناسایی و برای معاینه ایمونوهیستوشیمی طبق پروتکل های استاندارد پردازش شدند. تفسیر اسلایدها توسط متخصصان آسیب شناسی انجام شد که نسبت به هویت بیمار و وضعیت بالینی ناآگاه (کور) بودند. یافته ها به عنوان بیان p53 جهش یافته مثبت یا منفی ثبت شد و در ادامه با داده های بالینی برای تحلیل بیشتر تطبیق داده شد.

تحلیل آماری

تمامی داده ها با استفاده از نسخه ۲۵.۰ نرم افزار SPSS (IBM Corp., Armonk, NY, USA) تحلیل شدند.

به سرطان پستان بود. تمامی اقدامات در کلینیک جراحی انکولوژی و بخش آسیب شناسی آناتومیک بیمارستان عمومی دکتر سیفول انوار، جاوه شرقی انجام شد. جمع آوری داده ها در بازه زمانی ژانویه ۲۰۲۱ تا دسامبر ۲۰۲۴ انجام گرفت، در حالی که آزمایش های آزمایشگاهی از ژوئیه ۲۰۲۴ تا ژوئیه ۲۰۲۵ صورت پذیرفت.

جمعیت و نمونه

جمعیت هدف شامل بیماران مبتلا به سرطان پستان بود که در بیمارستان عمومی دکتر سیفول انوار درمان شده اند. جمعیت در دسترس متشکل از بیمارانی بود که از آنها نمونه های بافتی از طریق بیوپسی باز به دست آمده، به صورت بلوک های پارافین حفظ شده و برای تحلیل ایمونوهیستوشیمی بعدی مناسب تشخیص داده شده بود. حجم نمونه با استفاده از یک فرمول مبتنی بر همبستگی، همان طور که در مرور روایی دارینگ (۲۰۲۰) در مورد محاسبه حجم نمونه تشریح شده است، محاسبه گردید [۱۴]. فرمول زیر برای یک ضریب همبستگی اعمال شد:

$$n = (z_{1-\alpha} + z_{1-\beta})^2 \frac{z_0^2}{p_0(1-p_0)} = 202 + 3n = z_0^2 (z_{1-\alpha} + z_{1-\beta})^2 + 3$$

که در آن

$$z_0 = 0.5 (\ln \frac{f_0}{1-f_0} (1+p_0) - \ln \frac{f_0}{1-f_0} (1-p_0))$$

$$= 0.5 (\ln(1+p_0) - \ln(1-p_0)),$$

و

$$p_0 = 0.309 \quad \rho_0 = 0.309$$

از ادبیات پیشین استخراج شده بود. با فرض توان ۸۰٪ و سطح معناداری دو دمیه α برابر با ۰/۰۵، حجم نمونه مورد نیاز به ترتیب تعیین شد. این محاسبه نشان دهنده حداقل حجم نمونه مورد نیاز ۸۰ بیمار بود. نمونه گیری با استفاده از روش هدفمند غیر احتمالی انجام شد، به طوری که بیماران واجد شرایط به طور متوالی تا رسیدن به حجم نمونه هدف جذب شدند.

معیارهای ورود و خروج

معیارهای ورود شامل بیماران مبتلا به سرطان پستان با تشخیص تأیید شده از طریق رویکرد سه گانه تشخیصی بالینی، رادیولوژیک و هیستوپاتولوژیک و همچنین وجود داده های پشتیبان کامل بود. این شامل رادیوگرافی قفسه سینه (برای غربالگری متاستازهای ریوی)، سونوگرافی پستان (برای درجه بندی موضعی و عمومی) و سونوگرافی شکم (برای ارزیابی متاستازهای احتمالی کبد یا

نتایج

ویژگی‌های بیماران

مجموعاً ۸۳ بیمار در این مطالعه وارد شدند که میانگین سنی آن‌ها $۱۰/۲۴ \pm ۵۱/۲۷$ سال بود. توزیع متاستاز غدد لنفاوی و درجه‌بندی هیستوپاتولوژیک در جدول ۱ خلاصه شده است.

ارتباط میان بیان p53 جهش‌یافته و وضعیت متاستاز غدد لنفاوی با استفاده از آزمون کای-اسکوئر ارزیابی شد، در حالی که همبستگی آن با درجه هیستوپاتولوژیک با استفاده از آزمون همبستگی رتبه‌ای اسپیرمن سنجیده شد. مقدار p-value < 0.05 به عنوان معنادار آماری در نظر گرفته شد.

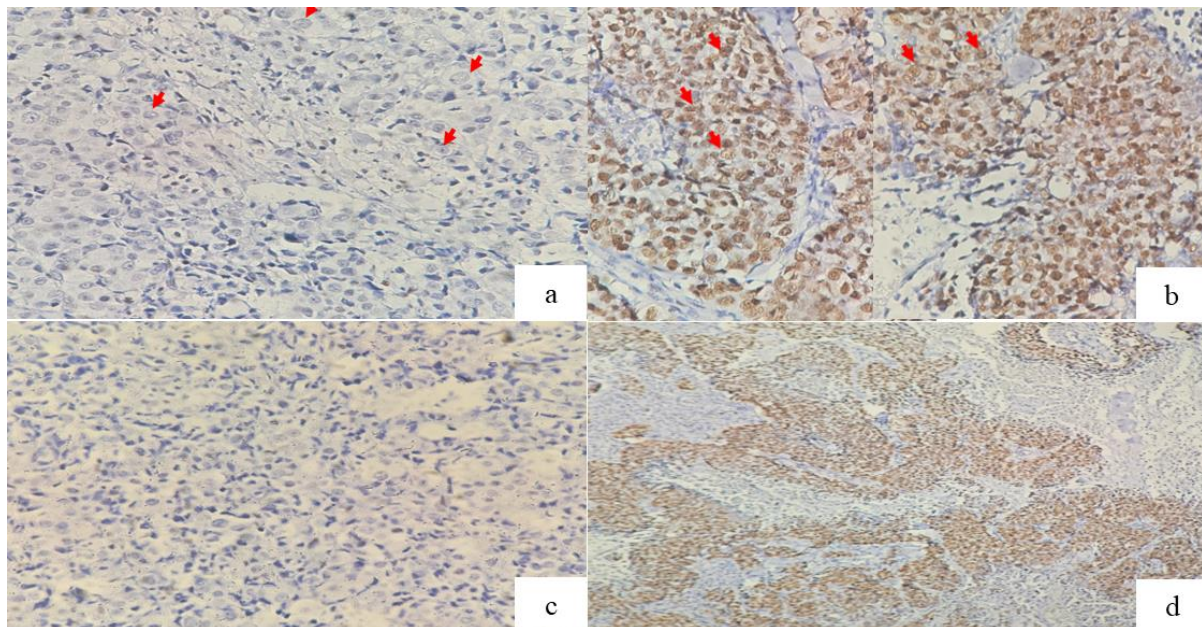
جدول ۱: ویژگی‌های بیماران

Table 1: Sample Characteristic.

Characteristic	n	%
Lymph Node Metastasis		
N0	12	14.46
N1	56	67.47
N2	11	13.25
N3	4	4.82
Histopathological Grading		
Grade 1	6	7.2
Grade 2	33	39.8
Grade 3	44	53.0

نمونه‌های نماینده از بیان p53 جهش‌یافته، هم به صورت مثبت و هم منفی در بزرگنمایی‌های مختلف، در شکل ۱ نشان داده شده است.

براساس درجه‌بندی لنفاوی، اکثریت بیماران در طبقه‌بندی N1 قرار گرفتند که ۶۷/۴۷٪ از گروه را تشکیل می‌دادند. در خصوص درجه‌بندی هیستوپاتولوژیک، درجه ۳ شایع‌ترین مورد بود که در ۵۳/۰٪ از موارد مشاهده شد.



شکل ۱: بیان جهشی مثبت و منفی p53 در بزرگنمایی میکروسکوپی: (a) منفی (۴۰۰×)، (b) مثبت (۴۰۰×)، (c) منفی (۱۰۰×)، (d) مثبت (۱۰۰×).

Fig 1: Positive and negative mutant p53 expression under microscopic magnification: (a) negative (400×), (b) positive (400×), (c) negative (100×), (d) positive (100×).

دادند که به طور برجسته‌ای در گروه N1 (۶۳/۹٪) مشاهده شد. هیچ بیان منفی p53 در بیماران مبتلا به بیماری در مرحله N2 یا N3 مشاهده نشد. آزمون کای-اسکوئر ضریب همبستگی $r = 0.670$ را به دست داد که نشان دهنده یک رابطه مثبت قوی میان بیان p53 جهش یافته و متاستاز غدد لنفاوی است (جدول ۲).

ارتباط میان بیان p53 جهش یافته و متاستاز غدد لنفاوی

ارتباط معناداری میان بیان p53 جهش یافته و متاستاز غدد لنفاوی شناسایی شد ($p < 0.001$). اکثریت بیماران مبتلا به درگیری نودال، بیان مثبت p53 جهش یافته را نشان

جدول ۲: توزیع بیان p53 جهش یافته بر اساس متاستاز غدد لنفاوی

Table 2: Distribution of Mutant p53 Expression by Lymph Node Metastasis

Lymph Node Metastasis	Mutant p53 Expression				Mutant p53 Expression (X ²)
	Positive		Negative		
	n	%	n	%	
N0	7	8.4%	5	6.0%	p=<0.001 r=0.670
N1	53	63.9%	3	3.6%	
N2	11	13.3%	0	0.0%	
N3	4	48%	0	0.0%	

نکته: آزمون آماری = کای-اسکوئر؛ نشان دهنده ضریب ارتباط گزارش شده است.

درجه ۱ (۷/۲٪) قرار داشت (جدول ۳). با وجود این توزیع، تحلیل آماری هیچ ارتباط معناداری میان بیان p53 جهش یافته و درجه بندی هیستوپاتولوژیک نشان نداد ($p = 0.485$).

ارتباط میان بیان p53 جهش یافته و درجه بندی سرطان پستان

بیان p53 جهش یافته بیشتر در تومورهای درجه ۳ (۴۷/۰۷٪) مشاهده شد، و به ترتیب در درجه ۲ (۳۶/۱٪) و

جدول ۳: توزیع بیان p53 جهش یافته بر اساس درجه بندی سرطان پستان.

Table 3: Distribution of Mutant p53 Expression by Breast Cancer Grading.

Breast Cancer Grading	Mutant p53 Expression				Degree of Association
	Positive		Negative		
	n	%	n	%	
Grade 1	6	7.2%	0	0.0%	p=0.485 r= 0.078
Grade 2	30	36.1%	3	3.6%	
Grade 3	39	47.0%	5	6.0%	

نکته: آزمون آماری = ضریب همبستگی رتبه‌ای اسپیرمن.

ایمونوبیانی p53 ممکن است به عنوان نشانگر زیست‌شناسی تهاجمی‌تر تومور و احتمال بالاتر درگیری گره‌ای عمل کند [۱۵].

سرطان پستان با تمایل بالایی برای متاستاز، به ویژه به غدد لنفاوی منطقه‌ای مشخص می‌شود که همچنان یک عامل کلیدی در تعیین پیش‌آگهی و برنامه‌ریزی درمان باقی می‌ماند [۳]. از نظر فیزیولوژیک، p53 به عنوان یک سرکوب‌گر تومور عمل می‌کند که ترمیم DNA، توقف چرخه سلولی و آپوپتوز را در پاسخ به آسیب ژنومی تقویت می‌کند [۷]. هنگامی که TP53 دچار جهش می‌شود، این

بحث

ارتباط میان بیان p53 جهش یافته و متاستاز غدد لنفاوی در بیماران مبتلا به سرطان پستان

این مطالعه یک همبستگی مثبت قوی میان بیان p53 جهش یافته و متاستاز غدد لنفاوی در سرطان پستان شناسایی کرد. این نتایج نقش تثبیت شده جهش‌های p53 در اختلال در تنظیم چرخه سلولی و آپوپتوز را تأیید می‌کند و بدین ترتیب در پیشرفت تومور و انتشار لنفاتیک مشارکت دارد. با در نظر گرفتن گزارش‌های قبلی در کنار یکدیگر، نتایج ما از این دیدگاه حمایت می‌کنند که افزایش

HER2 [۹، ۲۰]. در تحلیل بزرگ موردی توسط ابوبکر و همکاران (۲۰۱۹)، بیان پروتئین p53 در تومورهای شبیه لومینال A پایین‌ترین و در زیرنوع‌های سه‌منفی و غنی از HER2 بالاترین بود که بر این نکته تأکید می‌کند که مثبت بودن p53 اغلب نشان‌دهنده زمینه مولکولی تهاجمی‌تر است [۹]. به‌طور کلی، این یافته‌ها نشان می‌دهند که افزایش ایمونوبیانی p53 به‌طور مداوم با درگیری غدد لنفاوی و رفتار تهاجمی تومور مرتبط است، اگرچه روابط علی و استقلال از سایر عوامل پیش‌آگهی نمی‌تواند از داده‌های مشاهده‌ای استنباط شود.

در مطالعه ما، ارتباط میان بیان p53 جهش‌یافته و متاستاز غدد لنفاوی با استفاده از تحلیل کای-اسکوئر تک‌متغیره در یک نمونه مقطعی رترواسپکتیو ارزیابی شد. از این رو، اختلاط باقی‌مانده توسط عوامل پیش‌آگهی تثبیت‌شده مانند اندازه تومور، درجه هیستولوژیک، زیرنوع مولکولی، وضعیت گیرنده هورمونی، بیان HER2، شاخص‌های تکثیر و درمان سیستمیک قبلی را نمی‌توان رد کرد [۹، ۳]. بدون تنظیم چندمتغیره، بنابراین p53 جهش‌یافته باید به‌عنوان یک همبستگی درگیری گره‌ای تفسیر شود تا یک پیش‌بین مستقل. این محدودیت به‌ویژه با توجه به تعامل پیچیده میان تغییرات TP53، زیرنوع ذاتی و سایر عوامل بیولوژیک تعیین‌کننده رفتار سرطان پستان، همان‌طور که در مطالعات نشان داده شده است که بیان p53 اغلب همزمان با شاخص‌های بالای Ki-67 و پروفایل‌های گیرنده نامطلوب در بیماری سه‌منفی رخ می‌دهد، مرتبط است [۲۱، ۲۰].

ارتباط میان بیان p53 جهش‌یافته و درجه

هیستولوژیک در بیماران مبتلا به سرطان پستان سرطان پستان ناهمگونی بیولوژیک قابل‌توجهی، از جمله تنوع قابل توجه در درجه هیستولوژیک نشان می‌دهد. جهش‌های TP53 به‌عنوان محرک‌های مهم ناپایداری ژنومی، فعالیت تکثیری افزایش‌یافته و مورفولوژی درجه بالا شناخته شده‌اند [۸]. چندین مطالعه ارتباطات معناداری را میان بیان p53 جهش‌یافته، درجه هیستولوژیک بالاتر و فعالیت تکثیری افزایش‌یافته گزارش کرده‌اند که از نقش آن به‌عنوان یک نشانگر بالقوه تهاجمی بودن تومور حمایت می‌کند [۱۱، ۱۰]. دینگ و همکاران (۲۰۱۷) در یک گروه ۲۶۰ نفری از بیماران در شمال چین مشاهده کردند که بیان بالای p53 و Ki-67 به‌طور معناداری با درجه

مکانیسم‌های محافظتی از بین می‌روند و پروتئین‌های p53 جهش‌یافته ممکن است خواص کارکردی اکتسابی به دست آورند که تهاجم و متاستاز را تقویت می‌کنند، به‌جای اینکه صرفاً باعث از دست رفتن فعالیت سرکوب‌گر تومور شوند [۸، ۱۶]. کارهای آزمایشگاهی نشان داده است که p53 جهش‌یافته با کارکرد اکتسابی، تحرک، تهاجم و انتشار متاستاتیک سلول‌های سرطانی را از طریق چندین مکانیسم، از جمله القای گذار اپیتلیال-مزانشی (EMT)، تعدیل تعاملات سلول-ماتریکس برون‌سلولی و تقویت سیگنال‌دهی گیرنده‌های تیروزین کیناز، افزایش می‌دهد [۱۶].

مطالعه حاضر ارتباط معناداری را میان بیان p53 جهش‌یافته و متاستاز غدد لنفاوی در سرطان پستان آشکار ساخت. این رابطه احتمالاً از طریق چندین مکانیسم بیماری‌زا واسطه‌گری می‌شود. اول، p53 جهش‌یافته می‌تواند مسیرهای آپوپتوز را مختل کرده و به سلول‌های سرطانی اجازه می‌دهد تا از مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی فرار کرده و به بافت‌های لنفاوی مهاجرت کنند. دوم، جهش‌های p53 ممکن است بیان عوامل آنژیوژنیک و پروتئولیتیک، از جمله فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و متالوپروتئین‌های ماتریس (MMPs) را افزایش دهند که تهاجم تومور به عروق لنفاوی را تسهیل می‌کنند [۱۷]. علاوه بر این، نشان داده شده است که p53 جهش‌یافته EMT را تقویت می‌کند؛ فرآیندی که در آن سلول‌های اپیتلیال قطبیت خود را از دست داده و بدین ترتیب تحرک سلولی و پتانسیل متاستاتیک به غدد لنفاوی منطقه‌ای را افزایش می‌دهند [۱۸].

داده‌های بالینی از سایر گروه‌ها نیز بیشتر از پیوند میان ناهنجاری‌های p53 و درگیری نودال حمایت می‌کنند. ناوگاچی و همکاران (۱۹۹۴) دریافتند که بیان p53 در سرطان پستان تهاجمی به‌طور معناداری با تعداد غدد لنفاوی زیربغلی مثبت و وجود متاستاز غدد لنفاوی داخلی پستان مرتبط است، اگرچه با اندازه تومور، سن، وضعیت یائسگی یا نوع هیستولوژیک مرتبط نبود و در تحلیل چندمتغیره به‌عنوان یک عامل پیش‌آگهی مستقل ظاهر نشد [۱۹]. مطالعات اخیر به‌طور مشابه گزارش کرده‌اند که بیش‌بیانی p53 تمایل دارد با بار گره‌ای بالاتر و بیماری در مرحله پیشرفته‌تر همراه باشد، به‌ویژه در زیرنوع‌های بیولوژیک تهاجمی مانند تومورهای سه‌منفی و غنی از

کلینیکوپاتولوژیک تثبیت شده تفسیر شود و نباید به تنهایی برای استنباط درگیری غدد لنفاوی یا راهنمایی مدیریت زیربغلی مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این، درمان‌های هدفمند طراحی شده برای بازیابی یا تعدیل کارکرد p53 جهش یافته، مانند ترکیبات فعال کننده مجدد p53، به عنوان مداخلات بالقوه برای محدود کردن پیشرفت متاستاتیک تحت بررسی فعال هستند [۱]. این رویکردها وعده‌ای را برای بهبود پیامدها در بیماران مبتلا به سرطان پستان با جهش p53 دارند. پیوند میان بیان p53 جهش یافته و متاستاز غدد لنفاوی فرض می‌شود که از طریق چندین مکانیسم، از جمله اختلال در مسیرهای آپوپتوز، تقویت آنژیوژنز و القای EMT واسطه‌گیری شود. در محیط‌های با منابع محدود که پروفایل‌سازی جامع ژنومی به طور معمول در دسترس نیست، ارزیابی نیمه کمی p53 با ایمونوهیستوشیمی می‌تواند در کنار پارامترهای کلینیکوپاتولوژیک تثبیت شده مانند اندازه تومور، درجه، وضعیت گیرنده و مرحله گره‌ای برای اصلاح طبقه بندی خطر و اطلاع رسانی در مورد تصمیمات مربوط به شدت درمان سیستمیک گنجانده شود [۳، ۷، ۹]. کارهای اخیر همچنین نشان می‌دهد که p53 و Ki-67، به ویژه در سرطان پستان سه منفی، ممکن است اطلاعات پیش‌آگهی بیشتری فراتر از عوامل متداول ارائه دهند و به شناسایی بیماران در معرض خطر بالاتر عود زودرس کمک کنند [۲۰]. با این حال، با توجه به طراحی مقطعی رترواسپکتیو و فقدان تنظیم چندمتغیره در این مطالعه، وضعیت p53 نباید به تنهایی برای راهنمایی جراحی آگزیلاری یا جایگزینی رویه‌های استاندارد استیجینگ مورد استفاده قرار گیرد. بلکه ممکن است به عنوان یک نشانگر کمکی عمل کند که مکمل شاخص‌های پیش‌آگهی تثبیت شده است، اما جایگزین آن‌ها نمی‌شود.

همچنین تأکید بر این نکته حائز اهمیت است که در این مطالعه p53 جهش یافته به صورت عملیاتی بر اساس بیش‌بینی هسته‌ای شناسایی شده با ایمونوهیستوشیمی، با استفاده از کات آف $\leq 5\%$ تعریف شد. ایمونوهیستوشیمی یک جایگزین عملی برای جهش زیربنایی TP53 است اما نمی‌تواند به طور مطمئن تمام الگوهای جهش یافته را از نوع وحشی (wild-type) متمایز کند؛ برخی جهش‌های برشی یا پوچ (null) منجر به از دست رفتن کامل رنگ آمیزی می‌شوند و تجمع p53 وحشی ممکن است در پاسخ به

هیستولوژیک بالاتر و تومورهای پیشرفته‌تر مرتبط است، به ویژه در بیماری مثبت از نظر Her-2 [۲۱]. به طور مشابه، پان و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که در سرطان پستان سه منفی، مثبت بودن p53 و Ki-67 بالا هر دو به شدت با درجه بالاتر همبستگی داشتند و به طور مستقل با بقای بدون عود و بقای کلی بدتر مرتبط بودند [۲۰]. این داده‌ها به طور کلی از این مفهوم حمایت می‌کنند که ناهنجاری‌های p53 تمایل دارند با تومورهای تمایز نیافته و بیولوژیک تهاجمی همراه باشند.

در مقابل، مطالعه حاضر علی‌رغم نسبت عددی بالاتر موارد مثبت p53 در تومورهای درجه ۳، هیچ ارتباط آماری معناداری را میان بیان p53 جهش یافته و درجه هیستولوژیک نشان نداد. چندین عامل ممکن است مسئول این عدم تطابق باشند. درجه هیستولوژیک می‌تواند تحت تأثیر زیرنوع‌های مولکولی سرطان پستان (لومینال A/B، مثبت HER2 و سه منفی)، تغییرات در سایر ژن‌های درون‌زا و سرکوب‌گر تومور، و همچنین عوامل میزبان و محیط میکرو قرار گیرد [۲۲، ۶]. نمونه‌های ما همچنین شامل اکثریت تومورهای درجه بالا بود که ممکن است تنوع درجه را کاهش داده و توانایی تشخیص تفاوت‌های آماری معنادار را محدود کرده باشد. علاوه بر این، ما قادر نبودیم تحلیل‌های خود را بر اساس زیرنوع ذاتی طبقه بندی کنیم یا تعاملات بالقوه میان وضعیت p53، Ki-67 و پروفایل گیرنده را که در مطالعات قبلی نشان داده شده است که رابطه میان p53 و درجه را تعدیل می‌کنند، بررسی کنیم [۲۱، ۲۰]. با در نظر گرفتن این موارد، این ملاحظات پیشنهاد می‌کنند که عدم وجود ارتباط معنادار در داده‌های ما ممکن است بازتاب دهنده توان محدود و ناهمگونی اندازه‌گیری نشده باشد تا عدم وجود هرگونه رابطه بیولوژیک زیربنایی میان تغییرات p53 و درجه هیستولوژیک.

پیامدهای بالینی

پیامدهای بالینی این ارتباط به ویژه در مدیریت سرطان پستان مرتبط هستند. ارتباط مشاهده شده میان بیان p53 جهش یافته و متاستاز غدد لنفاوی نشان می‌دهد که ایمونوبیانی p53 ممکن است بازتاب دهنده فنوتیپ تومور تهاجمی‌تر با بار گره‌ای بالاتر باشد. با این حال، از آنجا که وضعیت p53 و درگیری غدد لنفاوی در همان نمونه‌های جراحی ارزیابی شدند، وضعیت p53 باید همراه با عوامل

طور گسترده استفاده می‌شود، IHC یک جایگزین ناقص برای وضعیت موتاسیونی TP53 است و ممکن است منجر به طبقه‌بندی نادرست مثبت کاذب و منفی کاذب شود [۹]. ما همچنین قادر به تمایز بین الگوهای رنگ‌آمیزی متمایز p53 (بیش‌بیانی، از دست دادن کامل، وحشی) نبودیم که ممکن است پیامدهای بیولوژیک و پیش‌آگهی متفاوتی داشته باشند [۸]. چهارم، اطلاعات تفصیلی در مورد زیرنوع‌های مولکولی ذاتی به طور سیستماتیک ثبت نشده بود که توانایی ما را برای کاوش تعاملات بالقوه میان بیان p53، وضعیت گیرنده و درجه هیستولوژیک محدود می‌کرد [۲۰، ۲۲]. در نهایت، این یک مطالعه تک‌مرکزی بود که در یک بیمارستان ارجاع سطح سه (tertiary referral hospital) با نمونه‌ای نسبتاً کوچک و غالب بودن تومورهای مثبت از نظر گره و درجه بالا انجام شد، که ممکن است تعمیم‌پذیری یافته‌ها به جمعیت‌های گسترده‌تر سرطان پستان را محدود کند.

نتیجه‌گیری

این مطالعه یک همبستگی مثبت قوی را میان بیان p53 جهش‌یافته و متاستاز غدد لنفاوی در بیماران مبتلا به سرطان پستان نشان داد. در مقابل، هیچ ارتباط معناداری میان بیان p53 جهش‌یافته و درجه هیستولوژیک مشاهده نشد. توصیه می‌شود که پژوهش‌های آینده از طرح مطالعه آینده‌نگر (prospective) استفاده کنند تا دقت و کامل بودن داده‌های بالینی و پاتولوژیک ارتقا یابد. علاوه بر این، استفاده از تحلیل تصویر دیجیتال برای ارزیابی p53 توصیه می‌شود تا عینیت و قابلیت اعتماد نتایج بهبود یابد.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

- Smolarz B, Nowak A, Romanowicz H. Breast Cancer-Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature). *Cancers (Basel)*. 2022;14(10):2569. doi:10.3390/cancers14102569
- Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel R, Soerjomataram I, et al. Global

استرس سلولی رخ دهد [۹، ۸]. در نتیجه، نتایج ما باید به عنوان ارتباطات میان ایمونوبیانی p53 و وضعیت گره‌ای تفسیر شوند، نه به عنوان همبستگی‌های قطعی ژنوتیپ- فنوتیپ. با این وجود، شواهد فزاینده مبنی بر اینکه p53 جهش‌یافته می‌تواند به عنوان یک محرک سرطان‌زا عمل کند و تومورهای حاوی جهش TP53 ممکن است مستعد استراتژی‌های درمانی هدفمند، از جمله عواملی که کارکرد p53 وحشی را بازیابی می‌کنند یا تجزیه p53 جهش‌یافته را تقویت می‌کنند، بر ارزش ترجمه‌ای بالقوه بهتر مشخص کردن تغییرات TP53 در سرطان پستان تأکید می‌کند [۲۳، ۱۶].

محدودیت‌ها

این مطالعه دارای چندین محدودیت مهم است. اول، طراحی مقطعی بازنگر بر داده‌های ثانویه استخراج شده از پرونده‌های پزشکی و بلوک‌های پارافینی بایگانی متکی بود. چنین رویکردی مستعد مستندسازی ناقص و طبقه‌بندی نادرست است و هرگونه استنباط در مورد توالی زمانی یا علیت بین تغییرات p53 و متاستاز غدد لنفاوی را غیرممکن می‌سازد. دوم، تحلیل‌ها بر پایه آزمون‌های تک‌متغیره کای‌اسکوئر و همبستگی بودند. کوواریت‌های کلینیکوپاتولوژیک کلیدی مانند اندازه تومور، مرحله TNM تفصیلی، زیرنوع مولکولی، وضعیت ER/PR و HER2، شاخص Ki-67، وضعیت یائسگی و درمان‌های سیستمیک به شکلی در دسترس نبودند که امکان مدل‌سازی چندمتغیره قوی را فراهم کند. در نتیجه، اختلاط باقی‌مانده (residual confounding) توسط این عوامل پیش‌آگهی تثبیت‌شده را نمی‌توان رد کرد [۳، ۹]. سوم، طبقه‌بندی p53 جهش‌یافته صرفاً بر اساس بیش‌بیانی ایمونوهیستوشیمی با یک نقطه برش (cut-off) واحد بود، بدون توالی‌یابی تأییدی TP53. اگرچه در عمل بالینی به

- cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2024;74(3):229–63. doi:10.3322/caac.21834
- Harbeck N, Penault-Llorca F, Cortes J, Gnant M, Houssami N. Breast cancer. *Nat*

- Rev Dis Prim. 2020;5(1):66. doi:10.1038/s41572-019-0111-2
4. Zhang Y, Li J, Fan Y, Li X, Qiu J, Zhu M, et al. Risk factors for axillary lymph node metastases in clinical stage T1-2N0M0 breast cancer patients. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(40):e17481. doi:10.1097/md.00000000000017481
 5. Kalli S, Semine A, Cohen S, Naber S, Makim S, Bahl M. American Joint Committee on Cancer's Staging System for Breast Cancer, Eighth Edition: What the Radiologist Needs to Know. *Radiographics*. 2020;38(7):1921–33. doi:10.1148/rg.2020190067
 6. Dooijeweert C van, Diest P van, Ellis I. Grading of invasive breast carcinoma: the way forward. *Virchows Arch*. 2022;480(1):33–43. doi:10.1007/s00428-021-03183-8
 7. Marvalim C, Datta A, Lee S. Role of p53 in breast cancer progression: An insight into p53 targeted therapy. *Theranostics*. 2023;13(4):1421–42. doi:10.7150/thno.77532
 8. Freed-Pastor W, Prives C. Mutant p53: One name, many proteins. *Genes Dev*. 2022;36(15):881–902. doi:10.1101/gad.349665.122
 9. Abubakar M, Guo C, Koka H, Sung H, Shao N, Guida J, et al. Clinicopathological and epidemiological significance of breast cancer subtype reclassification based on p53 immunohistochemical expression. *NPJ Breast Cancer*. 2020;5(20). doi:10.1038/s41523-020-00151-4
 10. Dash S, Sahu A, Toppo A. p53 Expression in Breast Carcinoma and Its Association with Tumor Aggressiveness. *J Datta Meghe Inst Med Sci Univ*. 2021;16(2):266–72.
 11. Rana M, Rana A, Khara U. Expression of p53 and p16 in Carcinoma Breast Tissue: Depicts Prognostic Significance or Coincidence. *Cureus*. 2021;13(11):e19395. doi:10.7759/cureus.19395
 12. Zhang F. Relationship between expression of p53 protein in breast cancer and axillary lymph node metastasis. *Clin Surg Oncol*. 2024;3(4):100067. doi:10.1016/j.cso.2024.100067
 13. Zhang F. Relationship between p53 protein and ER, PR status in breast cancer tissue. *Cancer Treat Res Commun*. 2025;43(100895). doi:10.1016/j.ctarc.2025.100895
 14. Darling H. Basics of statistics – 4 : Sample size calculation (ii): A narrative review. *Cancer Res Stat Treat*. 2020;3(4):817–28. doi:10.4103/crst.crst_101_20
 15. Wihandani D, Wiryanthini ID, Yani M, Remitha NI, Sadvika IS, Indrakusuma A. Correlation of CD44 Protein Expression with Larger Tumor Size and Advanced Stage of Breast Cancer Patients. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2024;25(12):4175–80. doi:10.31557/apjcp.2024.25.12.4175
 16. Tang Q, Su Z, Gu W, Rustgi A. Mutant p53 on the Path to Metastasis. *Trends Cancer*. 2020;6(1):62–73. doi:10.1016/j.trecan.2019.11.006
 17. Chen Y, Horigome E, Fujieda M, Handa T, Katayama A, Ito M, et al. Mutant TP53 modulates metastasis of triple negative breast cancer through adenosine A2b receptor signaling. *Oncotarget*. 2022;9(77):34554–66. doi:10.18632/oncotarget.25984
 18. Park M, Kim D, Ko S, Kim A, Mo K, Yoon H. Breast Cancer Metastasis: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci*. 2022;23(12):6806. doi:10.3390/ijms23126806
 19. Noguchi M, Kitagawa H, Kinoshita K, Thomas M, Miyazaki I, Saito Y, et al. The relationship of p53 protein and lymph node metastases in invasive breast cancer. *Surg Today*. 1994;24(6):512–7. doi:10.1007/bf00311841
 20. Pan Y, Yuan Y, Liu G, Wei Y. P53 and Ki-67 as prognostic markers in triple-negative breast cancer patients. *PLoS One*. 2017;24(12):e0172324. doi:10.1371/journal.pone.0172324
 21. Ding L, Zhang Z, Xu Y, Zhang Y. Comparative study of Her-2, p53, Ki-67 expression and clinicopathological characteristics of breast cancer in a cohort of northern China female patients. *Bioengineered*. 2017;8(4):383–92. doi:10.1080/21655979.2017.1284725
 22. Salih M, Higgs A, Eed E. Prognostic Significance of p16 Protein Expression in Breast Cancer. *In Vivo*. 2022;36(1):336–40. doi:10.21873/invivo.12809
 23. Zhu G, Pan C, Bei J, Li B, Liang C, Xu Y, et al. Mutant p53 in Cancer Progression and Targeted Therapies. *Front Oncol*. 2020;10:595187. doi:10.3389/fonc.2020.595187