

Association of P53 Immunohistochemical Expression with Other Breast Cancer Histopathological Features

Alaa Talib Dawod^{1*}, Ali Hassan Abood¹

¹ Faculty of Sciences, University of Kufa, Najaf, Iraq

Receive: 8/7/2022
Accepted: 26/8/2022

*Corresponding Author:
ella.talib1@gmail.com

Ethics Approval:
Not applicable

Abstract

Introduction: Breast cancer is the most common malignant tumor in women. *P53* is the most frequently altered gene in breast cancer. This study aimed to evaluate the correlation of the immunohistochemical expression of *P53* protein with age and histopathological variables in breast cancer patients.

Method: This cross-sectional study was conducted on 40 women with breast cancer referred to the Middle Euphrates Unit for Cancer Research, Najaf, Iraq, from January 2019 to April 2021. Pathologists from different diagnostic centers in Najaf province examined tumor histopathological characteristics, including histological type, grade of tumor, expression of the *p53* protein, and ERBB2 (HER2/neu) on 40 blocks of paraffin-fixed breast tumor samples. The association between *p53* expression and each of the other variables was assessed using the chi-square test.

Results: Most participants were in the age group 50-59 years (47.5%). The highest percentage of the *p53* protein positivity was found in the age group ≥ 50 years (75%), tumor grade 2, 3 (50%, 33.3%), invasive ductal carcinoma (91.7%), and HER2-negative group (75%). The expression of *p53* was not significantly correlated to any of the investigated variables.

Conclusion: It may be possible to use *p53* immunohistochemical expression to predict treatment response or disease progression in breast cancer. However, the value of examining *p53* in the follow-up periods of patients or using it in treatment protocols requires more studies.

Keywords: Breast cancer, HER2/neu, *p53*.

Introduction

Breast cancer is the most common cancer in women worldwide, with 1.7 million new cases diagnosed yearly (1). The most often altered gene in breast cancer is *TP53*, encoding tumor protein p53. About 80% of individuals with triple-negative and basal-like breast cancers have a mutated p53 gene (2). The normal p53 gene functions as a tumor suppressor, but the mutated p53 acts as a dominant transforming oncogene (3). Because the absence of mutations tends to result in a stable protein that accumulates in tumor cells, initial clinical investigations mainly employed histopathology to identify the p53 protein. The importance of mutant p53 protein activation in breast cancer as a predictor of treatment response or tumor progression has been investigated in some studies. In Iraq, the immunohistochemical expression of p53 protein in female breast cancer patients has not yet been evaluated. Therefore, this study aimed to assess the correlation of immunohistochemical (IHC) expression of p53 with age and histopathological variables in female breast cancer patients.

Materials and Methods

This cross-sectional study was conducted on 40 Iraqi breast cancer patients referred to the Middle Euphrates Unit for Cancer Research from January 2019 to April 2021. The inclusion criteria were being 34-75 years old and having confirmed invasive breast cancer. The data used were provided to the researchers without the patients' names and under the supervision of the Middle Euphrates Unit for Cancer Research, University of Kufa.

The IHC expression of the p53 protein was investigated using 40 tissue block sections

of breast carcinoma fixed with formalin and paraffin. The tissue sections were examined by expert pathologists from different diagnostic laboratories in Najaf province using a microscope with 10x and 40x magnification. Histological grading and size of tumor were also documented for each case. In the present study, IHC was done using a monoclonal mouse anti-human p53 protein immunohistochemistry kit (Autostainer Link 48, Dako, Germany).

Statistical Analysis

The chi-square test was used to examine the association of the p53 protein expression with age, histological type, tumor grade, and HER2 expression. The data were analyzed using SPSS software at a significance level of 0.05.

Results

As shown in Table 1, most of the participants were aged 50-59 years (47.5%), married (90%), and with a bachelor's degree (40%).

The expression of p53 protein and its relation to age and different histopathological variables is shown in Table 2. The highest percentage of p53 expression was found in the age group ≥ 50 (75%). In the invasive ductal carcinoma group, the expression of p53 protein was more frequent than in the invasive lobular carcinoma histopathology subtype (91.7% vs. 8.3%). The highest percentage of p53-positive samples was found in grade 2 and 3 tumors (50% and 33.3%). Of the 16 samples positive for HER2 receptors, 3 samples (18.75%) were positive for p53, which was lower than that in HER2-negative cases (37.5%). The positive expression of p53 protein was not significantly correlated to any of the investigated variables.

Table 1: Participants Demographic Characteristics

Variable		Frequency (%)
Age, y	<40	2 (5)
	40-49	10 (25)
	50-59	19 (47.5)
	≥60	9 (22.5)
Job	Self-employment	4 (10)
	Employee	11 (27.5)
	Housewife	25 (62.5)
Monthly income	Low	11 (27.5)
	Medium	23 (57.5)
	High	6 (15)
Education	Lower than diploma	7 (17.5)
	Diploma	12 (30)
	Higher than diploma	21 (52.5)
Marital status	Single	4 (10)
	Married	36 (90)

Table 2: P53 Expression in Breast Cancer in Different Age and Histopathological Groups

Variables	p53 Expression		P Value
	Positive N (%)	Negative N (%)	
Age, y			
<40	1 (8.3)	1 (3.6)	0.54
40-49	2 (16.7)	8 (28.6)	
50-59	5 (41.7)	14 (50)	
≥60	4 (33.3)	5 (17.8)	
Histopathological type			
IDC ¹	11 (91.7)	21 (75)	0.396
ILC ²	1 (8.3)	7 (25)	
Tumor grade			
1	2 (16.7)	8 (28.6)	0.537
2	6 (50)	15 (53.6)	
3	4 (33.3)	5 (17.8)	
HER2 status			
Positive	3 (25)	13 (46.4)	0.297
Negative	9 (75)	15 (53.6)	

Discussion

The current study's findings revealed higher expression of p53 in older patients: the age group ≥50 years showed the highest percentage of p53 protein expression, with no significant correlation between p53 protein expression and age ($P=0.54$). A study on 62 breast cancer patients showed that p53 protein expression rates in participants aged <40 and ≥40 years were 78% and 58%, respectively ($P > 0.05$) (4).

This difference may be due to the age distribution of the study population and different sample sizes in our and other studies.

We found a positive expression of p53 in 34.4% of invasive ductal carcinomas, which was consistent with Albederi et al. (32.2%) (5). Also, in the current study, expression of p53 was observed in 12.5% of invasive lobular carcinoma samples. While Middleton et al. reported positive expression of p53 in 3% of cases of invasive lobular carcinomas (6).

¹ Invasive ductal carcinoma

² Invasive lobular carcinoma

Lobular carcinoma can be identified more by its immunohistochemical characteristics, which can be distinguished morphologically. According to Albederi et al. (5), there is no more than 50% p53 positivity for lobular carcinoma. These differences in p53 positive expression in histological types between the current findings and other research could indicate the underlying biological mechanisms and fundamental differences between the studied populations. Also, considering that our study was conducted on 40 people with breast cancer, it is suggested that this issue be evaluated on different populations with a larger sample size in the future.

In this study, the maximum percentage of p53 positive expression was found in grade 2 and 3 tumors, with the lowest rate in grade 1 (16.7%) with no statistically significant difference between p53 immunoexpression and tumor grade ($P=0.537$). In a similar study, positive expression of p53 was observed in 16.5% of grade 3 and 11% of grade 2 tumors, which indicated a direct correlation between increased tumor grade and p53 protein expression (7). The association of p53 with higher tumor grade may reflect it as a poor prognostic factor.

This study's results indicated that expression of p53 was more likely in HER2-negative tumors (37.5%), but no statistically significant association was

found between these two factors. In another study on 7226 breast cancer patients, p53 protein expression frequency was different in breast cancer subtypes, so it was the lowest in luminal A subtypes and the highest in triple-negative and HER2 enriched subtypes ($P<0.01$). However, the positive expression of this protein was higher in HER2-negative tumors than in HER2-positive tumors (75.3% vs. 24.7%) (8). Evaluating the correlation of p53 protein expression to tumor cell receptors in categories may not show conclusive results, and this relationship should be assessed in breast cancer subtypes where the effects of all three receptors are investigated. One of this study's limitations was the lack of examination of this protein expression in different subtypes of breast cancer, which is recommended to be explored in the future.

Conclusion

The association of the highest positive expression percentage of p53 protein with older age, ductal histological type, and higher grade of the tumor may introduce it as a poor prognostic factor in breast cancer. However, the value of examining p53 in the follow-up periods of patients or its use in treatment protocols remains to be elucidated.

References

1. Takeshita T, Torigoe T, Yan L, Huang JL, Yamashita H, Takabe K. The impact of immunofunctional phenotyping on the malfunction of the cancer immunity cycle in breast cancer. *Cancers*. 2020; 13(1):110.
2. Synnott N, Murray A, McGowan P, Kiely M, Kiely P, O'donovan N, et al. Mutant p53: a novel target for the treatment of patients with triple-negative breast cancer? *International journal of cancer*. 2017; 140(1): 234-46.

3. Hu J, Cao J, Topatana W, Juengpanich S, Li S, Zhang B, et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy: direct and indirect strategies. *Journal of hematology & oncology*. 2021;14(1):1-19.
4. Dash SS, Sahu A, Toppo A. p53 Expression in Breast Carcinoma and Its Association with Tumor Aggressiveness. *Journal of Datta Meghe Institute of Medical Sciences University*. 2021; 16(2): 266.
5. Albederi FM, Yassin A, UK P. Immunohistochemical study of breast carcinoma in old age Iraqi women by application of BRCA1 and P53. *KUFA MEDICAL JOURNAL*. 2012; 15(1).
6. Middleton L, Palacios D, Bryant B, Krebs P, Otis C, Merino M. Pleomorphic lobular carcinoma: morphology, immunohistochemistry, and molecular analysis. *The American journal of surgical pathology*. 2000; 24(12):1650-6.
7. Al-Joudi F, Iskandar Z, Rusli J. The expression of p53 in invasive ductal carcinoma of the breast: a study in the North-East States of Malaysia. *Medical Journal of Malaysia*. 2008; 63(2):96-9.
8. 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*. 2019; 5(1):1-9.

ارتباط بیان پروتئین P53 با سایر مشخصات هیستوپاتولوژی در مبتلایان به سرطان پستان

علا طالبی داود^{۱*}، علی حسن عبود^۱

^۱ دانشکده علوم، دانشگاه کوفه، نجف، عراق

چکیده

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۰۷/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۶

* نویسنده مسئول:

rajabi_raheleh@yahoo.com

مقدمه: سرطان پستان شایع‌ترین تومور بدخیم در زنان است. P53 ژنی است که اغلب در سرطان پستان تغییر کرده است. هدف از این مطالعه بررسی رابطه بیان ایمونوهیستوشیمی پروتئین P53 با سن و انواع متغیرهای هیستوپاتولوژی (نوع بافت شناسی سرطان مجرای و لوبولار، درجه تومور و گیرنده HER-2) در مبتلایان به سرطان پستان مراجعه کننده به مرکز سرطان فرات میانه در دانشگاه کوفه بود.

روش بررسی: مطالعه حاضر بر روی ۴۰ بیمار زن عراقی مبتلا به سرطان پستان ۳۴-۷۵ ساله که از ۲۹ دی ماه ۱۳۹۷ تا ۱۸ فروردین ۱۴۰۰ تشخیص داده شده بودند، انجام شد. مشخصات آسیب شناسی تومور مانند نوع بافت شناسی، درجه تمایز، بیان پروتئین P53 و Her2 neu در نمونه های ثابت شده با پارافین توسط پاتولوژیست های مراکز مختلف استان نجف مورد بررسی قرار گرفت. بیان P53 با سن و نوع بافت شناسی، درجه تومور و گیرنده HER-2 مقایسه شد. تحلیل آماری با استفاده از آزمون Chi square انجام شد.

یافته‌ها: بیشتر شرکت کنندگان سن ۵۰-۵۹ سال (۴۷/۵٪) داشتند. بیشترین میزان بیان پروتئین P53 در گروه سنی ≥ 50 سال (۷۵٪)، درجه II و III تومور (۵۰٪ و ۳۳/۳٪)، سرطان مجرای تهاجمی (۹۱/۷٪) و تومورهای HER-2 منفی (۷۵٪) یافت شد. بیان مثبت P53 با هیچ یک از متغیرهای مورد بررسی ارتباط معنی دار نداشت.

نتیجه‌گیری: شاید بتوان از بیان ایمونو هیستوشیمی P53 به عنوان یک عامل پیش بینی کننده پاسخ به درمان یا پیشرفت بیماری در سرطان پستان استفاده نمود. با این حال ارزشمندی بررسی P53 در دوره‌های پیگیری بیماران یا بکارگیری آن در پروتکل‌های درمانی نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، HER-2، P53

مقدمه

سرطان پستان شایع ترین تومور بدخیم در زنان و عامل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه است. این بیماری با ۱/۷ میلیون مورد جدید در هر سال، شایع ترین سرطان در زنان در سراسر جهان است (۱).

ژنی که اغلب در سرطان پستان تغییر می‌کند TP53 است. در میان تقریباً ۸۰٪ افراد مبتلا به سرطان پستان سه گانه منفی و basal-like، ژن P53 جهش یافته است (۲). پروتئین ۵۳ (P53) یک فسفوپروتئین هسته‌ای با جرم مولکولی ۵۳ کیلو دالتون است و پروتئین نوع معمول P53 در طیف وسیعی از سلول‌های طبیعی یافت می‌شود، اما نیمه عمر بسیار کوتاهی در حد دقیقه دارد (۳). در حالت طبیعی خود به عنوان یک سرکوب کننده تومور عمل می‌کند، اما P53 جهش یافته به عنوان یک انکوژن تبدیل کننده غالب عمل می‌کند (۴). ژن P53 انسانی در کروموزوم ۱۷ در بازوی کوتاه آن یافت می‌شود (۵). یک ارتباط بین سرطان پستان و ناهنجاری‌های ژنتیکی در ژن‌ها و ژن‌های هدف وجود دارد که اغلب با پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی^۱ (SNPs) مرتبط هستند و یکی از این ژن‌ها سیگما ۳-۳-۱۴ است (۶) که برای اولین بار در اپیتلیوم سنگفرشی کشف شد و نشان داده شده است که در تعداد کمی از رده‌های سلولی سرطان پستان تنظیم می‌شود و بعداً کشف شد که یک هدف رونویسی مستقیم برای P53 است و باعث حفظ یک G2 می‌شود (۷، ۸). مانند اکثر انواع سرطان‌ها، تقریباً تمام جهش‌های نادرست در سرطان پستان در آمپلیکون‌های ۵-۸ (۸۱٪) قرار

دارند. بسیاری از تغییرات ایجاد شده در برخی قسمت‌های آن به عنوان ناهنجاری‌های ساب کلونال یا شاخه‌ای، رویکردهای خوبی برای درمان سرطان هستند.

بر اساس یافته‌های قبلی، تغییرات در P53 کلونال و اولین رویداد در حداقل چندین تومور پستان است. در نتیجه، تغییرات P53 در سرطان پستان می‌تواند قبل از درگیری مجاری ایجاد شود. علاوه بر این، از آنجایی که تغییرات مشابهی در تهاجم‌های درجا و مجاور با تومور یکسان شناسایی شده است، هر دو شکل بیماری احتمالاً منبع یکسانی دارند. همچنین به عنوان یک راهکار برای درمان سرطان پستان، P53 معیوب دارای ویژگی‌های جذاب متعددی است (۹). از مزایای P53 معیوب به عنوان یک عامل شیمی درمانی در سرطان پستان این است که در حدود ۹۰٪ از افراد مبتلا به متاستاز استخوانی تغییر می‌کند. در حال حاضر افراد مبتلا به متاستاز چنین اندامی هیچ درمان موثری ندارند. در نهایت، جهش‌های P53 حداقل در چندین سرطان پستان کلونال هستند و باید در تمام سلول‌های بدخیم سرطان پستان بیان شوند. علیرغم جذابیت بالقوه آن به عنوان یک هدف درمان بیماری، P53 جهش یافته مدتها تصور می‌شد که غیرقابل دسترس است. برخی داروها P53 جهش یافته را مجدداً فعال می‌کنند، ویژگی‌های نوع جهش نیافته آن را بازیابی و اثر ضد سرطانی را در سیستم‌های مدل پیش بالینی بیان کننده P53 جهش یافته واسطه‌گری می‌نمایند. این موضوع به شدت با P53 جهش یافته یا سطوح بالای پروتئین P53 درون‌زا مرتبط است، به این معنی که جهش‌های P53 ممکن است به عنوان نشانگر زیستی برای پیش بینی پاسخگویی به چنین مولکولی استفاده شوند (۱۰).

¹ Single Nucleotide Polymorphisms

به تجمع پروتئین پایدار در سلول‌های تومور می‌شود، عمدتاً تحقیقات بالینی اولیه از هیستوپاتولوژی برای شناسایی پروتئین P53 استفاده می‌کنند. با این حال، بر اساس اطلاعات ما، ارتباط بیان ایمونوهیستوشیمی پروتئین P53 در زنان مبتلا به سرطان پستان با سایر مشخصات هیستوپاتولوژی هنوز در عراق ارزیابی نشده است. لذا در این مطالعه ارتباط بیان ایمونوهیستوشیمی پروتئین P53 با سن و انواع متغیرهای هیستوپاتولوژی (نوع بافت شناسی، درجه تومور و بیان HER-2) در زنان مبتلا به سرطان پستان مهاجم مراجعه کننده به واحد تحقیقات سرطان فرات میانه، دانشگاه کوفه، بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه مقطعی حاضر بر روی ۴۰ بیمار زن عراقی با تشخیص سرطان پستان مراجعه کننده مرکز سرطان فرات میانه انجام شد. معیار ورود به مطالعه شامل سن ۳۴ تا ۷۵ سال و سرطان تهاجمی پستان بود. بازه تشخیص سرطان در کلیه بیماران از دی ۱۳۹۷ تا فروردین ۱۴۰۰ بود. طبق مطالعه Shoichi و همکاران (۱۵)، فراوانی بیان مثبت پروتئین P53، ۰/۴۶ بود که با در نظر گرفتن میزان خطای ۵٪ و دقت ۱۶/۰ حجم نمونه لازم ۳۶ نفر برآورد شد. در نهایت ۴۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان وارد مطالعه شدند. قبل از شروع مطالعه از کلیه افراد واجد شرایط، رضایت نامه آگاهانه اخذ گردید. به منظور رعایت مسائل اخلاقی، داده‌های مورد استفاده، بدون نام بیماران و تحت نظارت مرکز سرطان فرات میانه در اختیار محقق قرار گرفت.

مشخصات جمعیتی و بالینی افراد با استفاده از یک چک لیست ثبت و جمع‌آوری گردید. بیان ایمونوهیستوشیمی پروتئین P53 به عنوان پیامد

وجود گیرنده‌های خاص سطح سلول، مانند گیرنده استروژن (ER)، گیرنده پروژسترون (PR) و گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی انسانی ۲ (HER2)، سرطان پستان را به بسیاری از زیر گروه‌های مولکولی HER-2^۲ تقسیم می‌کند (۱۱). چرخه سلولی شامل تکثیر سلولی، بقای سلولی و آپوپتوز توسط HER-2 تنظیم می‌شود و در هر کروموزوم، سلول‌های طبیعی یک نسخه از ژن HER-2 را دارند. از سوی دیگر سلول‌های سرطان پستان ممکن است حاوی ۲۵ تا ۵۰ نسخه باشند که منجر به افزایش بیان پروتئین HER-2 و مقدار گیرنده‌های HER-2 در سطح سلول‌های تومور می‌شود (۱۲). جهش HER-2 در ۷۱٪ موارد سرطان پستان یافت می‌شود و زیر گروه HER-2، ۱۰ تا ۱۵٪ از کل سرطان‌های پستان را تشکیل می‌دهد. این زیر گروه با فقدان ژن‌های مرتبط با ER، بیان قوی ژن‌ها بر گیرنده HER-2، جابه‌جایی همزمان^۳ و در نتیجه افزایش بیان همزمان^۴ با یک پروتئین دیگر از GRB7^۵ و بیان بالای ژن‌های مرتبط با تکثیر متمایز می‌شود. این زیرگروه لیگاند ندارد، اما یک شریک دیمریزاسیون مطلوب برای سه گیرنده دیگر در خانواده است (۱۳). هنگامی که گیرنده‌ها (همو/هترو) جفت می‌شوند، آبشارهای پیام‌دهی تیروزین کیناز در پایین دست ایجاد می‌شود که باعث تکثیر سلولی، مهاجرت، تهاجم و بقا می‌شود (۱۴).

اهمیت فعال‌سازی پروتئین P53 جهش‌یافته در سرطان پستان به عنوان یک عامل پیش‌بینی‌کننده پاسخ به درمان یا وضعیت پیشرفت تومور در برخی از تحقیقات مورد بررسی قرار گرفته است. از آنجایی که وجود جهش، منجر

^۲ HER2-enriched

^۳ Co-localization

^۴ Co-amplification

^۵ Growth factor receptor-bound protein 7

آزمایش میکروسکوپی:

میکروسکوپ نوری به منظور بررسی تغییرات در سلول‌های رنگ‌آمیزی شده بافت پستان نشاندار شده با آنتی‌بادی P53 موجود در هسته سلول‌های توموری، استفاده شد. برخی از نتایج با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین Optika تصویرسازی شدند.

تحلیل آماری:

ارتباط بین بیان پروتئین P53 با سن و متغیرهای هیستوپاتولوژی از جمله نوع بافت شناسی، درجه تومور و بیان HER-2 با استفاده از آزمون Chi square مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و در سطح معنی داری ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

در این مطالعه ۴۰ نفر از زنان مبتلا به سرطان پستان تهاجمی مورد بررسی قرار گرفتند. بیشتر افراد در سن ۵۰ تا ۵۹ سال (۴۷/۵٪)، متأهل (۹۰٪) و با تحصیلات کارشناسی (۴۰٪) بودند (جدول ۱). بیان P53 در زنان بیمار مبتلا به سرطان پستان تهاجمی و ارتباط آن با متغیرهای سن و هیستوپاتولوژی مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. میزان بیان مثبت پروتئین P53 در گروه سنی ≥ 50 سال (۷۵٪) بود. بیان مثبت پروتئین P53 در سرطان مجرای تهاجمی بیشتر از سرطان لوبولار تهاجمی بود (۹۱/۷٪) در برابر ۸/۳٪) بود. بیشترین میزان بیان مثبت پروتئین P53 در درجه II و III بیماری دیده شد. از بین ۱۶ تومور HER-2 مثبت، در ۳ مورد (۱۸/۷۵٪) بیان P53 نیز مثبت و در ۸۱/۲۵٪ بیان منفی بود. همچنین از ۲۴ موردی که HER2 منفی بودند، ۹ مورد (۳۷/۵٪) بیان پروتئین P53 مثبت و ۶۲/۵٪ بیان منفی داشتند.

مطالعه با استفاده از برش کارسینومای پستان زنانه فیکس شده با فرمالین و پارافین توسط پاتولوژیست‌های متخصص آزمایشگاه‌های مختلف تشخیصی استان نجف بررسی شد. نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از نمونه برداری با سوزن True cut، نمونه برداری اکسیژونال، جراحی حفظ پستان یا برداشت کامل پستان جمع آوری و در ظروف حاوی فرمالین ۱۰٪ (۱۰۰ میلی لیتر فرمالین در ۹۰۰ میلی لیتر آب) ثابت شده بودند. سپس مجموعه‌ای از فرایندها در مراحل متوالی روی آنها انجام شد.

مقاطع بافتی توسط پاتولوژیست‌های متخصص از مراکز مختلف تشخیصی استان نجف با میکروسکوپ (Human Type) و بزرگنمایی ۱۰x و ۴۰x مورد بررسی قرار گرفتند. بافت‌هایی که بدخیم تشخیص داده شدند ۴۰ بلوک بودند. درجه بندی بافتی و اندازه تومور نیز برای هر مورد ثبت شد، چهل بلوک از بافت بدخیم در بررسی ایمونوهیستوشیمی گنجانده شد.

روش ایمونوهیستوشیمی:

ایمونوهیستوشیمی در بافت شناسی برای تشخیص وجود نشانگرهای پروتئینی خاص که می‌تواند به طبقه بندی و تشخیص دقیق تومور کمک کند، استفاده شد. به طور کلی هرگونه تشخیص ایمنی در دو مرحله انجام می‌شود، مرحله اول شامل اتصال آنتی‌بادی‌ها با آنتی ژن هدف و مرحله دوم تشخیص و رؤیت این اتصال است که معمولاً توسط سیستم کروموزنیک آنزیمی انجام می‌شود. در مطالعه حاضر از کیت ایمونوهیستوشیمی مونوکلونال موشی P53، ساخت شرکت Dako Autostainer آلمان استفاده شد.

جدول ۱: مشخصات جمعیتی شرکت کنندگان در مطالعه

متغیر	تعداد (%)
سن (سال)	<۴۰ (۵)
	۴۰-۴۹ (۲۵)
	۵۰-۵۹ (۴۷/۵)
	≥۶۰ (۲۲/۵)
شغل	آزاد (۱۰)
	کارمند (۲۷/۵)
	خانه دار (۶۲/۵)
درآمد ماهانه	کم (۲۷/۵)
	متوسط (۵۷/۵)
	زیاد (۱۵)
تحصیلات	زیر دیپلم (۱۷/۵)
	دیپلم (۳۰)
	بالتر از دیپلم (۵۲/۵)
وضعیت تاهل	مجرد (۱۰)
	متاهل (۹۰)

جدول ۲: بیان P53 در سرطان پستان بر اساس متغیرهای سن و هیستوپاتولوژی

متغیر	بیان پروتئین P53		P-value
	مثبت تعداد (%)	منفی تعداد (%)	
سن	<۴۰ (۸/۳)	۱ (۳/۶)	۰/۵۴
	۴۰-۴۹ (۱۶/۷)	۸ (۲۸/۶)	
	۵۰-۵۹ (۴۱/۷)	۱۴ (۵۰)	
	≥۶۰ (۳۳/۳)	۵ (۱۷/۸)	
نوع آسیب‌شناسی بافتی	سرطان مجرای تهاجمی (۹۱/۷)	۲۱ (۷۵)	۰/۳۹۶
	سرطان لوبولار تهاجمی (۸/۳)	۷ (۲۵)	
درجه تومور	I (۱۶/۷)	۸ (۲۸/۶)	۰/۵۳۷
	II (۵۰)	۱۵ (۵۳/۶)	
	III (۳۳/۳)	۵ (۱۷/۸)	
HER-2	مثبت (۲۵)	۱۳ (۴۶/۴)	۰/۲۹۷
	منفی (۷۵)	۱۵ (۵۳/۶)	

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان دهنده افزایش بیان P53 با افزایش سن بود، بطوریکه گروه سنی ≥ 50 سال بیشترین درصد بیان پروتئین P53 را نشان داد هرچند ارتباط بیان این پروتئین با سن از نظر

آماري معنی‌دار نبود ($P=0/54$). در مطالعه مشابهی که بر روی ۶۲ بیمار مبتلا به سرطان پستان انجام شد، بیان پروتئین P53 در گروه سنی زیر ۴۰ سال ۷۸٪ و در افراد ۴۰ سال و بالاتر، ۵۸٪ بود و ارتباطی بین P53 و سن یافت نشد

است بنابراین پیشنهاد می‌شود این موضوع در آینده بر روی جمعیت‌های مختلف با حجم نمونه بزرگتر بررسی شود.

در این مطالعه، بیشترین نسبت بیان مثبت P53 در درجه II و III بیماری و کمترین این نسبت در درجه I بیماری (۱۶/۷٪) رخ داد اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود. در یک مطالعه مشابه ۱۶/۵٪ بیان مثبت P53 در درجه III تومور و ۱۱٪ در درجه II تومور مشاهده شده بود که نشان دهنده ارتباط مستقیم بین افزایش درجه تومور و افزایش بیان P53 بود (۱۷). نتایج مطالعه Shapochka و همکاران نیز نشان داد که تجمع P53 در تومورهای با درجه II و III نسبت به درجه I به میزان قابل توجهی بالاتر بود (۱۸) ($P=0/086$). وجود ارتباط بین P53 و درجه-های بالاتر سرطان پستان موید ارزش پیش آگهی دهنده ی این بیومارکر در بیان میزان وخامت بیماری می باشد.

بر اساس نتایج این مطالعه، بیان مثبت P53 بیشتر در تومورهای HER-2 منفی (۳۷/۵٪) مشاهده شد اما رابطه معنی دار آماری بین این دو فاکتور یافت نشد. در مطالعه مشابهی که بر روی ۲۶۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان انجام شد، بیان P53 در بیماران HER-2 مثبت بطور قابل توجهی بالاتر از بیماران HER-2 منفی بود (۱۹) ($P=0/001$). Abubakar و همکاران در مطالعه خود که با هدف ارزیابی ارتباطی بیان مثبت P53 در زیرگروه‌های مختلف سرطان پستان انجام شد بوده، ۷۲۲۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان دهنده تفاوت فراوانی بیان پروتئین P53 در زیرگروه‌های سرطان پستان بود بطوریکه در زیرگروه‌های لومینال A کمترین و در زیرگروه‌های سه‌گانه منفی و بیان بیش از حد

(۸). گرچه در مطالعه ما در گروه زیر ۴۰ سال بیان مثبت این پروتئین ۸/۳٪ بود اما با توجه به اینکه جمعیت مورد مطالعه، توزیع سنی همگونی نداشته است و در این زیرگروه سنی تنها در یک نفر بیان P53 مثبت بوده است بنابراین نمی توان گفت که بیان مثبت در گروه سنی جوانتر بیشتر است. از سوی دیگر نسبت به مطالعه مشابه ذکر شده، در مطالعه حاضر بیان P53 در گروه‌های سنی بالای ۴۰ سال به تفکیک ارزیابی شده است که می تواند برآورد دقیقتری از وضعیت بیان این پروتئین و ارتباط آن با سن باشد. با اینحال توصیه می‌شود ارتباط بیان پروتئین P53 با سن در مطالعات آینده در زیرگروه‌های برابر سنی مورد بررسی قرار گیرد.

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، بیان مثبت P53 در ۳۴/۴٪ از سرطان‌های مجرای مشاهده شد که مشابه ۳۲/۲٪ گزارش شده توسط Albederi و همکاران (۷) بود. همچنین بیان مثبت P53 در ۱۲/۵٪ از کارسینوم‌های لوبولار تهاجمی مشاهده شد. در حالی که Middleton و همکاران بیان مثبت P53 را در ۳٪ از موارد کارسینوم لوبولار تهاجمی گزارش کردند (۱۶). بر این اساس کارسینوم لوبولار را می‌توان بیشتر با مشخصات ایمونوهیستوشیمی آن شناسایی کرد که از نظر مورفولوژیکی قابل تشخیص است و طبق ادعای Albederi بیش از ۵۰٪ مثبت شدن P53 برای کارسینوم لوبولار وجود ندارد (۷). این تمایزات بیان مثبت P53 در انواع بافت‌شناسی بین یافته‌های فعلی و سایر تحقیقات می‌تواند مکانیسم‌های بیولوژیکی زمینه‌ای و تفاوت‌های واقعی بین جمعیت‌های مورد مطالعه را تا حدی تایید کند. با توجه به اینکه مطالعه حاضر بر روی ۴۰ نفر از مبتلایان به سرطان پستان انجام شده

توصیه می شود در آینده این موضوع مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به ارتباط بیان مثبت بالاتر P53 در گروه سنی بالاتر، سرطان مهاجم مجرای، درجه بالاتر بیماری می توان بیان مثبت P53 را به عنوان یک عامل پیشگویی کننده وخامت بالاتر سرطان پستان مطرح نمود. لیکن در بکارگیری آن در پروتکل‌های درمانی و پیگیری بیماران باید با احتیاط بیشتری عمل کرد و نیاز به مطالعات دقیقتری دارد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تعارض منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

HER-2 بیشترین مقدار بود ($P < 0.01$). در حالی که بیان مثبت این پروتئین در تومورهای با گیرنده HER-2 منفی نسبت به HER-2 مثبت بیشتر بود ($3/75\%$ در برابر $7/24\%$) بود (۲۰). به نظر می‌رسد که از بررسی ارتباط بین بیان پروتئین P53 با گیرنده‌های مولکولی سطح سلول توموری به صورت تفکیک شده نمی‌توان نتیجه گیری قطعی مبنی بر وجود ارتباط بین بیان این پروتئین با سایر گیرنده‌های سطح سلول داشت و می‌بایست این ارتباط در زیر گروه‌های سرطان پستان که اثر هر سه گیرنده مورد بررسی قرار می‌گیرد بررسی شود. یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم بررسی بیان این پروتئین در زیرگروه‌های مختلف سرطان پستان می باشد که

References

1. Takeshita T, Torigoe T, Yan L, Huang JL, Yamashita H, Takabe K. The impact of immunofunctional phenotyping on the malfunction of the cancer immunity cycle in breast cancer. *Cancers*. 2020; 13(1):110.
2. Synnott N, Murray A, McGowan P, Kiely M, Kiely P, O'donovan N, et al. Mutant p53: a novel target for the treatment of patients with triple- negative breast cancer? *International journal of cancer*. 2017; 140(1):234-46.
3. Bahreini F, Rayzan E, Rezaei N. microRNA-related single- nucleotide polymorphisms and breast cancer. *Journal of Cellular Physiology*. 2021; 236(3):1593-605.
4. Hu J, Cao J, Topatana W, Juengpanich S, Li S, Zhang B, et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy: direct and indirect strategies. *Journal of hematology & oncology*. 2021; 14(1): 1-19.
5. Mello SS, Attardi LD. Deciphering p53 signaling in tumor suppression. *Current opinion in cell biology*. 2018; 51:65-72.
6. Pitolli C, Wang Y, Mancini M, Shi Y, Melino G, Amelio I. Do mutations turn p53 into an oncogene? *International journal of molecular sciences*. 2019; 20(24):6241.
7. Albederi FM, Yassin A, UK P. Immunohistochemical study of breast carcinoma in old age Iraqi women by application of BRCA1 and P53. *KUFA MEDICAL JOURNAL*. 2012; 15(1):332-340.
8. Dash SS, Sahu A, Toppo A. p53 Expression in Breast Carcinoma and Its Association with Tumor Aggressiveness. *Journal of Datta Meghe Institute of Medical Sciences University*. 2021;16(2): 266-272.
9. Bai L, Zhu W-G. p53: structure, function and therapeutic applications. *J Cancer Mol*. 2006; 2(4): 141-53.

10. Borrero LJH, El-Deiry WS. Tumor suppressor p53: Biology, signaling pathways, and therapeutic targeting. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2021; 1876(1):188556.
11. Andrikopoulou A, Terpos E, Chatzinikolaou S, Apostolidou K, Ntanasis-Stathopoulos I, Gavriatopoulou M, et al. TP53 mutations determined by targeted NGS in breast cancer: a case-control study. *Oncotarget*. 2021; 12(21): 2206-2214.
12. Kashyap D, Garg VK, Sandberg EN, Goel N, Bishayee A. Oncogenic and tumor suppressive components of the cell cycle in breast cancer progression and prognosis. *Pharmaceutics*. 2021; 13(4):569.
13. Silwal-Pandit L, Vollan HKM, Chin S-F, Rueda OM, McKinney S, Osako T, et al. TP53 mutation spectrum in breast cancer is subtype specific and has distinct prognostic relevance. *Clinical Cancer Research*. 2014; 20(13): 3569-80.
14. Hayes DF. HER2 and breast cancer-a phenomenal success story. *New England Journal of Medicine*. 2019; 381(13):1284-6.
15. Kikuchi S, Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Nishiyama Y, Toyozumi Y, et al. Definition of p53 overexpression and its association with the clinicopathological features in luminal/HER2-negative breast cancer. *Anticancer research*. 2013; 33(9): 3891-7.
16. Middleton L, Palacios D, Bryant B, Krebs P, Otis C, Merino M. Pleomorphic lobular carcinoma: morphology, immunohistochemistry, and molecular analysis. *The American journal of surgical pathology*. 2000; 24(12):1650-6.
17. Al-Joudi F, Iskandar Z, Rusli J. The expression of p53 in invasive ductal carcinoma of the breast: a study in the North-East States of Malaysia. *Medical Journal of Malaysia*. 2008; 63(2):96-9.
18. Shapochka D, Zaletok S, Gnidyuk M. Relationship between NF-κB, ER, PR, Her2/neu, Ki67, p53 expression in human breast cancer. *Experimental oncology*. 2012; 34(4): 358-63.
19. 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.
20. 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*. 2019; 5(1):1-9.