

Artículo original

Invasión linfovascular y p53 mutado como factores predictores de metástasis ganglionares axilares en cáncer de mama

Lymphovascular invasion and mutated p53 as predictive factors of axillary lymph nodes metastasis in breast cancer

William Sánchez M,* Diego Vanegas S,* María Mercedes Mendoza**

RESUMEN

Introducción: Recientemente se han estudiado factores histológicos en el tumor primario de mama que permitan predecir el estado de los ganglios axilares. El objetivo de nuestro estudio fue analizar los factores histológicos clásicos del tumor y genéticos con estudio del gen supresor tumoral p53 como probables factores predictores de afección ganglionar metastásica en la axila por cáncer de mama.

Materiales y métodos: Este estudio analítico tipo Expost-Factor incluyó a 100 pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma de mama, a quienes se les realizó una cirugía mamaria con disección de axila. El análisis histopatológico correlacionó el valor predictivo de la invasión linfovascular del tumor y la mutación presente del gen p53, así como la probabilidad de tener metástasis axilares.

Resultados: El promedio de edad fue de 54.5 años. De 30 pacientes con invasión linfática, 24 (80%) presentaron metástasis a ganglios axilares; 16 de 70 casos sin invasión linfática tuvieron metástasis axilares ($p = 0.000008$). La invasión vascular solamente se presentó en 12 pacientes, sin diferencia estadística significativa para afección metastásica axilar ($p = 0.16$). En 18 pacientes hubo mutación del gen p53; de ellos, 15 presentaron metástasis axilares (83%), diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.0025$). Hubo valor predictivo positivo para infiltración ganglionar axilar del 83.3%. En los tumores sin mutación del gen, la correlación con la presencia de las metástasis axilares no fue predictiva.

Conclusiones: La invasión linfática y vascular asociada con el tumor primario son factores pronósticos adversos asociados con las metástasis ganglionares axilares. El gen p53 mutado

ABSTRACT

Introduction: Recently, it has been studied that histological factors in primary breast tumor are predictive of axillary node status. The aim of our study was to analyze the classical histological tumor factors and genetic study of the tumor suppressor gene p53 as likely predictors of metastatic axillary nodal involvement in breast cancer.

Materials and methods: This analytical study type -Factor Ex post included 100 patients diagnosed with breast adenocarcinoma, who were breast surgery was performed with axillary dissection. Histopathological analysis correlated the predictive value of lymphovascular invasion of tumor present and p53 gene mutation and the probability of axillary metastases.

Results: The average age was 54.5 years. Thirty patients with lymphatic invasion, 24 (80%) had metastases to axillary nodes. Sixteen of 70 cases without lymphatic invasion had axillary metastases ($p = 0.000008$). The only vascular invasion occurred in 12 patients; no statistical significant difference for axillary metastatic disease ($p = 0.16$). In 18 patients there was p53 gene mutation; of these, 15 had significant statistically axillary metastases (83%) ($p = 0.0025$). There were positive predictive value (PPV) for axillary lymph node infiltration 83.3%. In tumors without gene mutation, the correlation with the presence of the axillary metastases were not predictive.

Conclusions: Lymphatic and vascular invasion in the primary tumor associated are adverse prognostic factors associated with axillary lymph node metastases. The mutated p53 gene in the primary tumor is a PPV for axillary metastasis.

* Departamento de Cirugía, Servicio de Patología.

** Hospital Militar Central, Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia.

Correspondencia:

Dr. William Sánchez M

Transv 3 Núm. 49-00, quinto piso, Jefatura de Cirugía, Bogotá, Colombia. Teléfono: (57)-3153322811, fax: (571) 2158386

E-mail: sanchez.william@cablenet.co

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/revlatcir>

en el tumor primario es un valor predictivo positivo para las metástasis axilares.

Palabras clave: Cáncer de mama, factores predictivos, p53 mutación, invasión linfovascular, metástasis ganglionares.
Rev Latinoam Cir 2014;4(1):10-15

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es un verdadero problema de salud pública para los EUA. Una de cada nueve mujeres en ese país desarrolla la enfermedad, con una incidencia de 125.48 por cada 100,000 habitantes por año. Siendo la principal causa de muerte en mujeres con más de 45,000 muertes por año.¹

Con la occidentalización e influencia cultural estadounidense de nuestros países latinoamericanos, la epidemiología oncológica de Colombia se está comportando de una manera similar a la de EUA cada vez más. Exceptuando el cáncer gástrico que es la primera causa de mortalidad global en nuestro país (4,553 muertos en el año 2008). Hay una tendencia ascendente y marcada de presentación y mortalidad de cáncer de mama, colorrectal y pancreatobiliar. En el periodo comprendido entre 1998-2008 hubo oficialmente 19,473 muertes secundarias por cáncer de mama registradas en Colombia.²

En el Hospital Militar Central el diagnóstico del cáncer de mama a principios del año 2000 se realizaba en una etapa tardía (71% locorregionalmente avanzados), este fenómeno que es reflejo del comportamiento epidemiológico de la enfermedad en el país, es consecuencia de la ausencia de programas de tamizaje masivos que tienen como finalidad detectar la enfermedad en etapas preinvasivas o tempranas.³

A pesar de los recientes y vertiginosos avances en biología molecular y genética en cáncer de mama, aún en la actualidad los dos principales factores pronósticos que pueden predecir el comportamiento biológico y la supervivencia en el cáncer de mama son: el tamaño tumoral y el estadio ganglionar axilar.^{4,5} En el análisis multivariado la presencia de metástasis ganglionares axilares es el factor pronóstico de mayor importancia y continúa influyendo en la toma de decisiones sobre la selección de terapias complementarias (quimioterapia, hormonoterapia y radioterapia).⁵

Con el advenimiento de la técnica de ganglio centinela —que permite detectar el ganglio que refleja el estado general de la axila con una confiabilidad mayor al 95% de los casos— el papel de la disección linfática ganglionar etapificadora de la axila se empezó a cuestionar, y esto debido principalmente a su morbilidad asociada (linfedema, dolor, incapacidad motora, neoplasias asociadas, etc.). El papel de la disección axilar hoy está reservado exclusivamente

Key words: Breast cancer, predictive factors, p53 mutation, lymphovascular invasion, lymph node metastases.
Rev Latinoam Cir 2014;4(1):10-15

al aporte del mejor control regional de la enfermedad.⁵⁻⁷ Para evitar la morbilidad de la disección innecesaria de la axila, recientemente se han tratado de estudiar los factores histológicos en el tumor primario de la mama, los cuales permitan predecir con un alto grado de certeza el estado ganglionar axilar adicional a la información que aporta el estudio del ganglio centinela.

El objetivo de nuestro estudio es analizar los factores histológicos clásicos del tumor (invasión linfática y vascular) y el análisis genético con estudio del gen supresor tumoral p53 (que se encuentra íntimamente relacionado con el control de la regulación del ciclo celular, el crecimiento tumoral y de los fenómenos de apoptosis, transcripción y replicación celular), como probables factores predictores de la afección ganglionar metastásica en la axila por cáncer de mama.⁷⁻⁹

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio analítico tipo Expost-Factor¹⁰ que incluyó a 100 pacientes atendidos en el Hospital Militar Central con diagnóstico de adenocarcinoma de mama, en un periodo de tres años (1998-2000), a quienes se les haya realizado una cirugía mamaria con disección de axila y que tuvieran todo el material histopatológico para un segundo análisis.

Los criterios de inclusión fueron: 1) diagnóstico confirmado por histopatología de adenocarcinoma de mama, 2) paciente de primera vez, sin tratamientos quirúrgicos o médicos previos para el cáncer de mama, 3) cirugía mamaria con disección ganglionar axilar que involucra por lo menos los niveles I-II y 4) pacientes cuyas piezas de patología tuvieran material disponible para el análisis histopatológico y genético.

Las variables a analizar fueron: 1) histológicas; invasión linfática y vascular, 2) biogenéticas; análisis de p53 y 3) estadio ganglionar de la axila.

La secuencia de análisis de p53 se realizó mediante la técnica inmunohistoquímica, utilizando como anticuerpo primario el Mouse antihumano p53 Clone DO-7 Isotipo IgG2bKappa y anticuerpo secundario Antirabbit antimouse, Dako® (Figuras 1 y 2).

El grupo científico encargado del análisis del p53 y de las variables histológicas se encontraba ciego para las características clínicas, evolutivas y de etapificación de los tumores analizados.

Análisis por inmunohistoquímica de mutación del gen p53

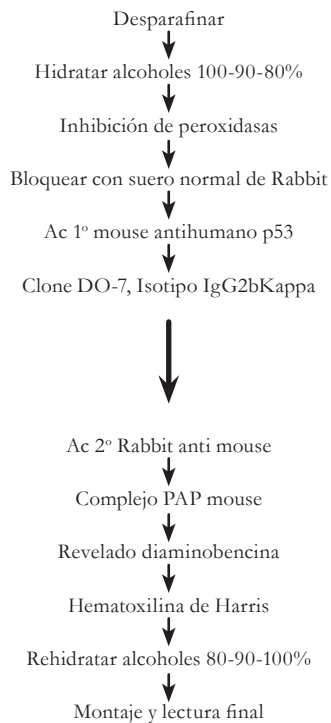


Figura 1. Secuencia de análisis por inmunohistoquímica de mutación del gen p53 en el cáncer de mama

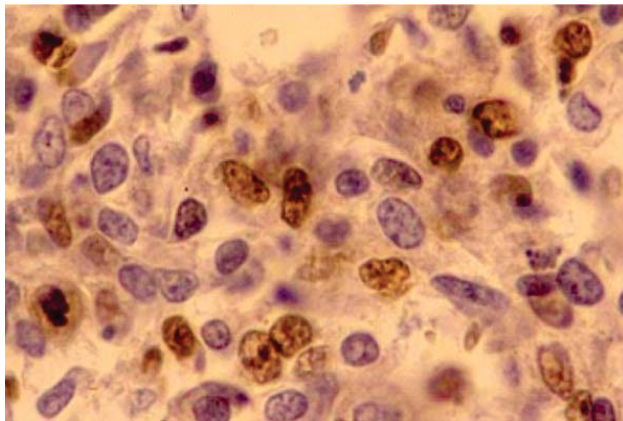


Figura 2. Imagen por inmunohistoquímica de mutación del gen p53 en cáncer de mama; las células color café muestran una alta positividad para la mutación del gen.

La evaluación estadística de la correlación entre las variables biogenéticas, histológicas y el estado ganglionar se hicieron aplicando las pruebas exactas de Fisher y χ^2 , con el programa Epi Info 2000. El valor predictivo positivo de p53 mutado para metástasis ganglionar se evaluó mediante la prueba de cribado con el programa Epi Info 2000.¹⁰

RESULTADOS

Se estudiaron 100 pacientes del sexo femenino con diagnóstico de adenocarcinoma de mama. El rango de edad fue de 32 a 78 años, con un promedio de 54.5 años. La localización más frecuente del tumor en relación con la anatomía por cuadrantes de la mama fue en el cuadrante superoexterno (77%), seguida de los cuadrantes superointernos (13%) y los cuadrantes inferiores con el 8% cada uno respectivamente.

El estadio de los tumores basado en la clasificación TNM¹¹ para todo el grupo fue: I:5, IIa:18, IIB:31, IIIa:22, IIIb:20 y IIIc:4. Es de destacar que el 77% de los tumores se consideraron como lesiones localmente avanzadas (IIB-IIIc) y solamente el 5% como lesiones tempranas menores de 2 cm (estadio I).

Como resultado del manejo mayoritario de tumores avanzados, la cirugía más frecuentemente realizada en el grupo de estudio fue la mastectomía radical modificada en un 81%, seguida de la cuadrantectomía con disección linfática axilar en el 19% de los casos.

En la evaluación de cada uno de los factores histológicos y biogenéticos del tumor como factores predictores de afección ganglionar metastásica axilar se encontró:

- 1) Invasión linfática: de 30 pacientes con tumores que tenían invasión linfática, 24 (80%) presentaron metástasis ganglionares axilares positivas; 17 de 70 pacientes con tumores sin invasión linfática presentaron metástasis ganglionares axilares ($p = 0.0000084$) (Cuadro I).
- 2) Invasión vascular: la invasión vascular solamente se presentó en 12 pacientes del grupo total, y no representó una diferencia estadística significativa para afección ganglionar metastásica axilar ($p = 0.16$).
- 3) Análisis de p53: se encontraron 18 pacientes con tumores que tuvieron mutación del gen p53 y de éstos, 15 presentaron metástasis ganglionares axilares (83%), representando una diferencia estadística significativa $p = 0.0025$. Con un valor predictivo positivo para la infiltración metastásica ganglionar axilar del 83.3%. En los tumores que no tenían mutación del gen, la correlación con la presencia de las metástasis ganglionares axilares no fue predictora (Cuadro II).

www.medigraphia.org.mx

DISCUSIÓN

La pregunta más frecuentemente hecha a los patólogos —una vez que se ha diagnosticado y operado el cáncer de mama— es por la positividad de metástasis ganglionares en la axila.¹² Esto es debido a que el hallazgo de metástasis ganglionares, el número de ganglios linfáticos afectados y su relación con el total de ganglios disecados representan el factor pronóstico más importante del comportamiento

Cuadro I. Correlación entre el hallazgo de invasión linfática en el tumor primario y la presencia de metástasis ganglionares axilares.

Invasión linfática <i>versus</i> ganglios linfáticos		
	Ganglio	
	Positivos	Negativos
Invasión	41	59
Positiva		
30	24	6
Negativa		
70	16	54

p = 0.0000084

Cuadro II. Correlación entre el hallazgo de mutación del gen p53 en el tumor primario y la presencia de metástasis ganglionares axilares.

p53 <i>versus</i> ganglios linfáticos		
	Ganglio	
	Positivos	Negativos
p53	41	59
Mutado		
18	15	3
No mutado		
82	29	53

p = 0.0025 VPP: 83.3%

biológico de la enfermedad y de la supervivencia del paciente, influyendo positivamente en la selección de terapias adyuvantes o neoadyuvantes.¹²⁻¹⁴

En la actualidad está demostrado que la actividad metastásica regional axilar positiva se asocia con una disminución de la supervivencia a cinco años entre el 28 al 40%.^{8,12-14} Basados en estudios randomizados y de metaanálisis, la mayoría de los centros mundiales especializados en el manejo del cáncer de mama recomiendan la aplicación de terapia adyuvante en todos los pacientes con ganglios linfáticos axilares positivos (macrometástasis), independientemente de otros factores pronósticos asociados, incluyendo al tamaño tumoral.¹⁴⁻¹⁸

La disección linfática axilar completa –que incluye los niveles I-II– es eficaz en garantizar el control regional de la enfermedad, presentando un porcentaje de recurrencia que oscila entre el 0 al 3%. Sin embargo, este procedimiento no ha demostrado con contundencia que tenga algún impacto significativo en la supervivencia global del paciente, sobre todo en axilas sin metástasis ganglionares. Este hecho asociado con la presencia de morbilidad como: linfedema crónico, infección de la herida quirúrgica, limitación funcional e inclusive neoplasias como el linfoangiosarcoma y el advenimiento de la tecnología del ganglio centinela y a un diagnóstico más temprano de la enfermedad, en la cual la probabilidad de presencia de metástasis ganglionares en axila es menor, han estimulado a la comunidad científica mundial a estudiar e identificar los factores tumorales que sean predictores del estadio ganglionar axilar, como es el

reciente reporte del estudio Z0011 del Colegio Americano de Cirujanos, en el que se determinó el valor pronóstico de la micrometástasis ganglionar para unos estadios y grupos específicos de cáncer mamario.^{5-7,19}

En nuestra serie la localización más frecuente del tumor fue el cuadrante superoexterno (77%), localización que es similar a la de la mayoría de las series reportadas.

El 77% de nuestras pacientes fueron etapificadas como estadios localmente avanzados, este fenómeno refleja el diagnóstico tardío de la enfermedad como consecuencia de la ausencia de programas masivos y bien estructurados de tamizaje en cáncer de seno; problema que es una constante en los países en desarrollo.

La invasión de conductos linfáticos y vasculares del tumor en la mama ha sido estudiada como factor predictor de la afección ganglionar metastásica de la axila.^{7,19,20} En nuestra serie, la invasión linfática se detectó en el 30% de los tumores y, de éstos, 24 (80%) presentaron metástasis ganglionares con una diferencia estadística muy significativa (p = 0.0000084) (Cuadro I).

La invasión vascular fue solamente detectada en el 12% de los tumores y no presentó una relación significativamente estadística (p = 0.16).

La identificación y diferenciación entre la invasión linfática y vascular puede ser difícil, controversial e inclusive puede presentar dificultades para su reproducción entre los patólogos, especialmente en los tumores menores de 1 cm y con componente *in situ*; esta dificultad puede estar dada, entre otras causas, a la presencia de artificios o fenómenos de retracción en la preparación del estudio histopatológico; por esta razón es mejor reportarla como invasión linfovascular.^{7,20} En nuestro estudio, considerando en conjunto la invasión de los conductos linfáticos y vasculares como un solo grupo, 31/42 pacientes presentaron metástasis ganglionares (74%).

Es indudable el valor predictivo de la invasión linfovascular para metástasis axilares, por ejemplo, Rosen y colaboradores encontraron una incidencia del 32% de metástasis ganglionares ocultas en pacientes previamente catalogados como negativos y que tenían infiltración linfovascular.²¹ En las series de Barth,²² Fein²³ y Chadha,²⁴ los cuales estudiaron a los pacientes con tumores T1-T2 y la relación con la infiltración linfovascular, el porcentaje de ganglios linfáticos positivos osciló entre el 46 al 64%.

El gen supresor tumoral p53 localizado en el cromosoma 17 (17p21) es una proteína altamente relacionada con los defectos genéticos asociados con las neoplasias malignas epiteliales.⁹ Éste tiene funciones en la regulación del ciclo celular, especialmente en la fase S y en los fenómenos de transcripción genética celular ligados a la síntesis y reparación del DNA (p21, mdm2, fos, myc, jun), también se encuentra íntimamente relacionado con el control de la apoptosis celular y los procesos de replicación celular

con la inhibición de enzimas como el PCNA y la sintetasa de timidina.^{4,7,9,25}

La mutación del gen p53 se presenta en cerca de la tercera parte de los cánceres de mama.⁴ En nuestro estudio el 18% de los tumores tenían mutación para el gen p53.

El gen p53 mutado se ha descrito como un factor de mal pronóstico en cáncer de mama, en especial como un factor adverso en la supervivencia.^{7,9,25} Chen y colaboradores reportaron un estudio de análisis de p53 en 57 pacientes con patología mamaria; ellos afirmaron que la mutación del gen p53 no se presenta en las lesiones benignas y que está implicada probablemente más en el proceso metastásico ganglionar que en el origen de la neoplasia.²⁶

El gen p53 no está mutado en la mayoría de los tumores mamaros, lo que determina una vía adicional o diferente en la carcinogénesis y desarrollo de esta neoplasia. Nuestro grupo de investigación reportó en el año 2007 un trabajo, analizando la correlación entre los polimorfismos del gen p53 en sangre periférica y en el tumor, así como la presencia de cáncer heredo-familiar de mama. De la evaluación prospectiva de 186 pacientes, se encontró que hay una importante asociación entre el genotipo Arg/Arg del codón 72 (OR:2.2) y del genotipo W/M del intrón 3 (OR:18) para desarrollar cáncer heredo-familiar de mama en la población colombiana.²⁷

Son pocas las investigaciones que se han realizado para analizar la correlación entre la mutación del gen p53 y la presencia de metástasis axilares.²⁸⁻³¹ En nuestra serie, la mutación del gen p53 presentó un valor predictivo positivo para metástasis axilares del 83%, con una diferencia estadística significativa ($p = 0.0025$). Este hallazgo afirma que la mutación del gen p53 probablemente se encuentra relacionada con la fase tardía de la carcinogénesis, y con una especial interacción en el proceso de implantación metastásica ganglionar.

La utilidad clínica práctica del uso de p53 en cáncer de mama como factor predictor de metástasis ganglionares axilares puede estar, por ejemplo, en el manejo de los pacientes con tumores tempranos o *in situ*; casos en los cuales con el advenimiento de la nueva tecnología de identificación del ganglio centinela, la disección ganglionar axilar es controversial, y en la selección e indicación de terapias adyuvantes o neoadyuvantes, pues definitivamente se trata de tumores biológicamente mucho más agresivos cuando tienen mutado el gen p53.

CONCLUSIONES

Con el análisis de este estudio nosotros podemos concluir en la serie del Hospital Militar Central lo siguiente:

- 1) La invasión linfática y linfovascular asociada con el tumor primario son factores pronósticos adversos

asociados con las metástasis ganglionares axilares ($p = 0.000084$).

- 2) El gen p53 mutado en el tumor primario es un factor predictivo positivo asociado con las metástasis ganglionares axilares (VPP = 83%).
- 3) Es necesario corroborar estas observaciones en un número más grande de pacientes para tener un mayor poder en la muestra estadística y que los resultados sean reproducidos o comprobados por otros grupos de estudio.

REFERENCIAS

1. Howlader N, Noone AM, Krapcho M et al (eds). SEER cancer statistics review, 1975-2010 [Internet]. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2013. Available in: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2010/
2. Sánchez MW. Mortalidad por cáncer en Colombia, datos oficiales 1998 a 2008. *Revista Colombiana Cirugía*. 2011;26:46-47.
3. Rincón J, Mendoza M, Vanegas D, Sánchez MW. Factores pronósticos en cáncer de mama. *Foro Quirúrgico Colombiano SCC*. 2001;38.
4. Thor AD, Moore II DA. Prognostic and preventive markers in breast cancer. In *Breast Cancer-ACS*. B.B Deckers Inc.; 2000:113-130.
5. Amersi F, Giuliano AE. Management of the axilla. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2013;27(4):687-702.
6. Giuliano AE, McCall L, Beitsch P et al. Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: the American College of Surgeons Oncology Group Z0011 randomized trial. *Ann Surg*. 2010;252(3):426-432.
7. Weidner N, Cady B, Goodson II W. Pathologic prognostic factors for patient with breast carcinoma. *Surg Oncol Clin North Am*. 1997;6(3):415-462.
8. Zakaria S, Pantvaitya G, Reynolds CA et al. Sentinel node positive breast cancer patients who do not undergo axillary dissection: are they different? *Surgery*. 2008;143(5):641-647.
9. Harris CC, Hollstein M. Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med*. 1993;329:1318-1327.
10. Campbell MJ, Machin D. *Medical statistics: a commonsense approach*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons; 1996:142-145.
11. Edge SB, Byrd DR, Compton CC et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York, NY: Springer; 2010:347-376.
12. Mamounas EP, Anderson SJ, Dignam JJ et al. Predictors of locoregional recurrence after neoadjuvant chemotherapy: results from combined analysis of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18 and B-27. *J Clin Oncol*. 2012;30(32):3960-3966.
13. Dings PJ, Elferink MA, Strobbe LJ, de Wilt JH. The prognostic value of lymph node ratio in node-positive breast cancer: a dutch nationwide population-based study. *Ann Surg Oncol*. 2013;20(8):2607-2614.
14. Glehner A, Wockel A, Gartlehner G et al. Sentinel lymph node dissection only *versus* complete axillary lymph node dissection in early invasive breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2013;8:812-825.
15. Rao R, Euhus D, Mayo HG, Balch C. Axillary node interventions in breast cancer: a systematic review. *JAMA*. 2013;310(13):1385-1394.
16. Rahman ZU, Buzdar AU, Singletary E, Hortobagay GN. Selection of systemic therapy: is axillary lymph node status important? *Semin Breast Dis*. 1998;1(3):157-166.

17. Fisher B, Constantino J, Redmond C et al. A Randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with lymph node negative breast cancer who have estrogen-receptor positive tumors. *N Engl J Med.* 1989;320:479-484.
18. Mackey JR, Martin M, Pienkowski T et al. Adjuvant docetaxel, doxorubicin, and cyclophosphamide in node-positive breast cancer: 10-year follow-up of the phase 3 randomised BCIRG 001 trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(1):72-80.
19. Ravdin PM. Can patient and tumor characteristics allow prediction of axillary lymph node status? *Semin Breast Dis.* 1998;1(3):141-145.
20. Lee AK, DeLellis RA, Silverman ML et al. Prognostic significance of peritumoral lymphatic and blood vessel invasion in node-negative carcinoma of the breast. *J Clin Oncol.* 1990;8(9):1457-1465.
21. Rosen PP, Saigo PE, Braun DW et al. Occult axillary lymph node metastases from breast cancer with intramammary lymphatic tumor emboli. *Am J Surg Pathol.* 1982;6:636-641.
22. Barth A, Craig PH, Silverstein MJ. Predictors of axillary lymph node metastasis in patients with T1 breast cancer. *Cancer.* 1997;79:1918-1922.
23. Fein DA, Fowble BL, Hanlon AL et al. Identification of women with T1 and T2 breast cancer at low risk of positive axillary nodes. *J Surg Oncol.* 1997;65:34-39.
24. Chadha M, Chabon AB, Friedman P et al. Predictors of axillary lymph node metastasis in patients with T1 breast cancer. *Cancer.* 1994;73:3350-3353.
25. Thor AD, Moore DH II, Edgerton SM et al. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1992;84:845-855.
26. Chen YH, Cai JJ, Lu YD. The relation between p53 expression and lymph node metastasis of breast cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 1994;16(4):266-268.
27. Pinto Y, Ibáñez M, Rangel N, Ramírez S, Vanegas D, Sanchez MW. Polimorfismo del gen p53 en cáncer mamario familiar en una población colombiana. *Revista Colombiana de Cirugía.* 2007;22(1):17-26.
28. Rosen RR, Lesser M, Arroyo C et al. p53 in node negatives breast carcinomas: An immunohistochemical study of epidemiologic risk factors, histologic features, and prognosis. *JCO.* 1995;13:821-830.
29. Noguchi M, Kitagawa H, Thomas M et al. The relationship of p53 protein and lymph node metastases in invasive breast cancer. *Surg Today.* 1994;24(6):512-517.
30. Vojtesek B, Kovarik J, Nenutil R et al. p53 protein overexpression associates with growth patterns rather than with metastasizing in operable breast cancer. *Neoplasma.* 1995;42(6):331-336.
31. Takashima T, Onada N, Ishikawa T et al. Proliferating cell nuclear antigen labeling index and p53 expression predict outcome for breast cancer patients with four or more lymph node metastases. *Int J Mol Med.* 2001;8(2):159-163.