



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

2019

TESI DOCTORAL

Universitat Autònoma de Barcelona

P53 I AFECTACIÓ LOCO- REGIONAL EN EL CÀNCER DE MAMA

Pau Nicolau i Batalla

TESI DOCTORAL

**P53 I AFECTACIÓ LOCO – REGIONAL
EN EL CÀNCER DE MAMA**

Autor: Pau Nicolau i Batalla

Directors: Maria del Mar Vernet Tomás, Ramon Carreras Collado

Departament de Pediatria, Ginecologia i Obstetrícia i Medicina
Preventiva

Universitat Autònoma de Barcelona, 2019

El camí del progrés no és ni ràpid ni fàcil.

Marie Curie 1867-1934

Certificat de Direcció:

Es certifica que Pau Nicolau i Batalla és l'autor del present treball per optar al grau de Doctorat, que porta per títol "**P53 I AFECTACIÓ LOCO – REGIONAL EN EL CÀNCER DE MAMA**", del Departament de Pediatria, Ginecologia i Obstetrícia i Medicina Preventiva, de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Barcelona, 9 d'abril de 2019.

Maria del Mar Vernet Tomás

Ramon Carreras i Collado

*Als meus pares,
per transmetre'm des de petit les ganes d'aprendre,
i a la Berta,
perquè no podria haver-hi millor companya de viatge.*

Agraïments:

Maria del Mar Vernet i Tomás

Cap de Secció de Ginecologia i Obstetrícia i Coordinadora Unitat Funcional de
Patologia Mamària Hospital del Mar de Barcelona

Professora Associada de la Facultat de Medicina de la UAB

Ramon Carreras i Collado

Cap de Servei Emèrit de Ginecologia i Obstetrícia Hospital del Mar de
Barcelona

Catedràtic del Departament de Pediatria, Ginecologia i Obstetrícia de la UAB

Josep Maria Corominas i Torres

Cap de Secció Emèrit d'Anatomia Patològica Hospital del Mar de Barcelona

Professor Titular de la Facultat de Medicina de la UAB

Maria Dolors Sabadell i Mercadal

Ginecologia i Obstetrícia Hospital del Mar i de la Vall d'Hebron de Barcelona

Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria

Xavier Duran i Jordà

Assessoria Metodològica i Bioestadística - IMIM

Francesc Macià i Guila

Cap de Secció Epidemiologia i Avaluació Hospital del Mar de Barcelona.
Coordinador Registre de Tumors.

Antoni Payá i Panades

Cap de Servei de Ginecologia i Obstetrícia Hospital del Mar de Barcelona
Professor Associat de la Facultat de Medicina de la UAB

Companyes i companys Ginecòlegs i d'Infermeria del Servei de i Obstetrícia i
de la Unitat Funcional de Patologia Mamària Hospital del Mar de Barcelona

Sumari

1. Introducció:	3
1.1. DEFINICIÓ	3
1.2. EPIDEMIOLOGIA	4
1.3. HISTÒRIA DE LA CIRURGIA DEL CÀNCER DE MAMA	6
1.4. CANVIS DE PARADIGMA EN ELS DIFERENTS TRACTAMENTS	8
1.5. EL CÀNCER DE MAMA: UNA MALALTIA HETEROGÈNIA	9
1.5.1. TNM I FACTORS BIOMOLECULARS	9
1.5.2. LES MUTACIONS A TP53	12
1.6. TRACTAMENTS ACTUALS	16
1.6.1 PERSONALITZACIÓ DELS TRACTAMENTS	17
1.6.2 ABORDATGE AXIL·LAR	18
2. Hipòtesi:	21
3. Objectius:	21
4. Materials i mètodes:	23
4.1. SUBJECTES DE L'ESTUDI	23
4.2. BAIXA I ALTA CÀRREGA TUMORAL AXIL·LAR	24
4.3. CLASSIFICACIÓ SUBTIPUS MOLECULARS	25
4.4. CONFIDENCIALITAT	26
4.5. ANÀLISI ESTADÍSTICA	26
4.6. MIDA MOSTRAL	27
5. Resultats:	28
5.1. RECLUTAMENT I ANÀLISI DESCRIPTIU	28
5.2. OBJECTIU 1: P53 I CÀRREGA TUMORAL AXIL·LAR	35

5.3.	OBJECTIU 2.1: FACTORS ASSOCIATS AMB LA CÀRREGA TUMORAL AXIL·LAR.....	36
5.4.	OBJECTIU 2.2: MIDA TUMORAL I CÀRREGA TUMORAL AXIL·LAR SEGONS P53	46
5.5.	OBJECTIU 2.3: ESTADI TUMORAL I NÚMERO DE FOCUS SEGONS P53.....	47
5.6.	OBJECTIU 2.4: TRACTAMENTS ADJUVANTS I P53	49
5.7.	OBJECTIU 2.5: P53 I RECIDIVES	54
5.8.	OBJECTIU 2.6: P53 I SUPERVIVÈNCIES	57
6.	Discussió	69
7.	Conclusions	82
8.	Bibliografia	87

1. Introducció:

1.1. DEFINICIÓ

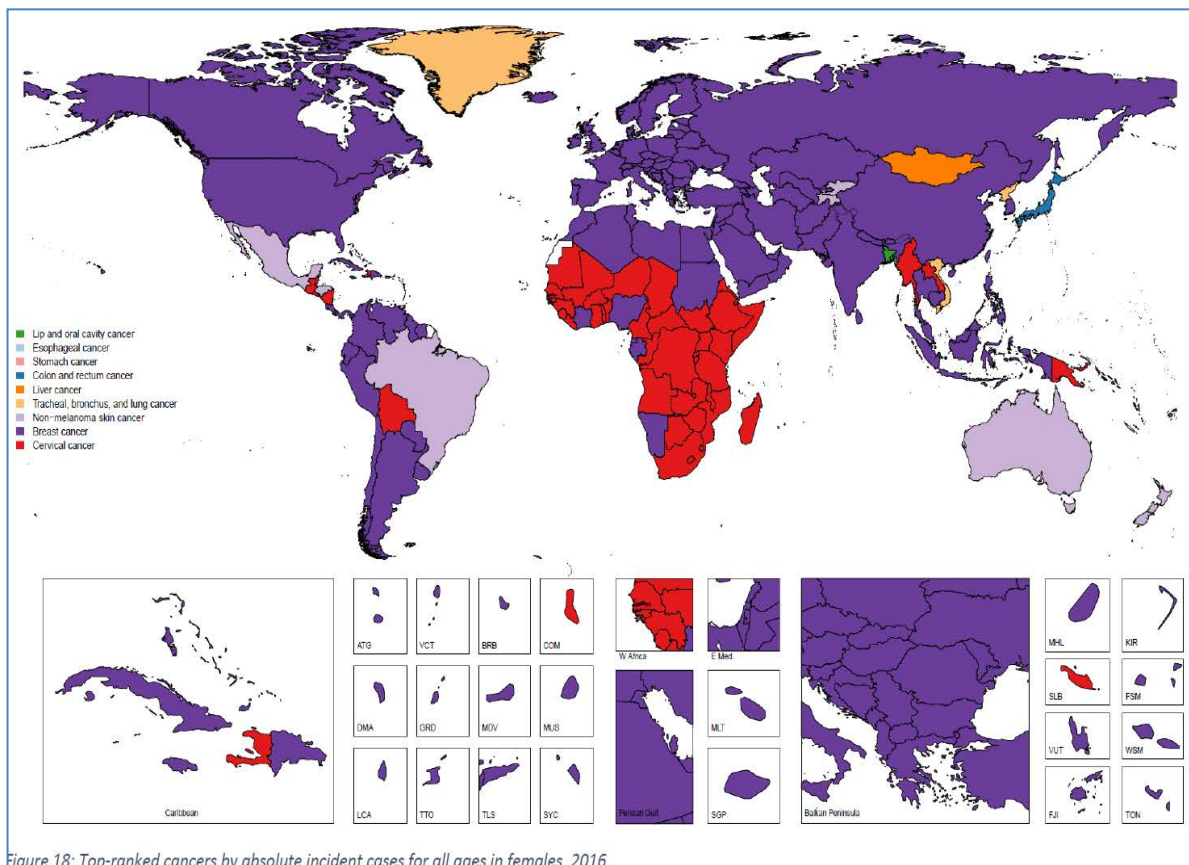
El càncer de mama és el procés neoplàsic que es produeix com a conseqüència de la proliferació descontrolada de les cèl·lules de la glàndula mamària degut a diferents tipus de mutacions, amb la infiltració subseqüent de la membrana basal d'aquestes. Aquest tipus de tumors es poden produir a nivell epitelial en els conductes o bé en els lòbuls, constituint el carcinoma ductal i lobel·lar de mama; com també a nivell mesenquimal de manera molt menys freqüent, constituint els sarcomes de mama. Els càncers de mama poden aparèixer sense donar cap símptoma, habitualment associats al seu cribratge, però també amb simptomatologia com a masses palpables, alteracions en el complex areola-mugró (CAM), amb símptomes inflamatoris de la pell, dolor, secreció pel mugró, o amb adenopaties axil·lars (1).

No hi ha una única causa associada a aquest tipus de càncer, sinó que es considera d'origen multifactorial en funció de diferents factors de risc: edat, sexe femení, antecedents familiars, obesitat, sedentarisme, consum de tòxics, antecedents reproductius (nul·liparitat, menarquia precoç, menopausa tardana, exposició a estrògens, manca de lactància materna), o lesions premalignes (2). Pel que fa a aquestes últimes, diferents tipus de lesions s'han associat a augment de risc de càncer invasiu, com el carcinoma ductal i lobel·lar in-situ, hiperplàsia ductal amb atípies, o la malaltia de Paget del mugró, així com d'altres lesions benignes proliferatives de risc com els papil·lomes, les atípies d'epiteli pla, les hiperplàsies lobel·lars amb atípies, les cicatrius radials, o els tumors Phyllodes, essent recomanable l'exèresi en totes elles per possibles lesions infiltrants subjacents associades, així com possibilitat de malignització en alguns casos (3).

1.2. EPIDEMIOLOGIA

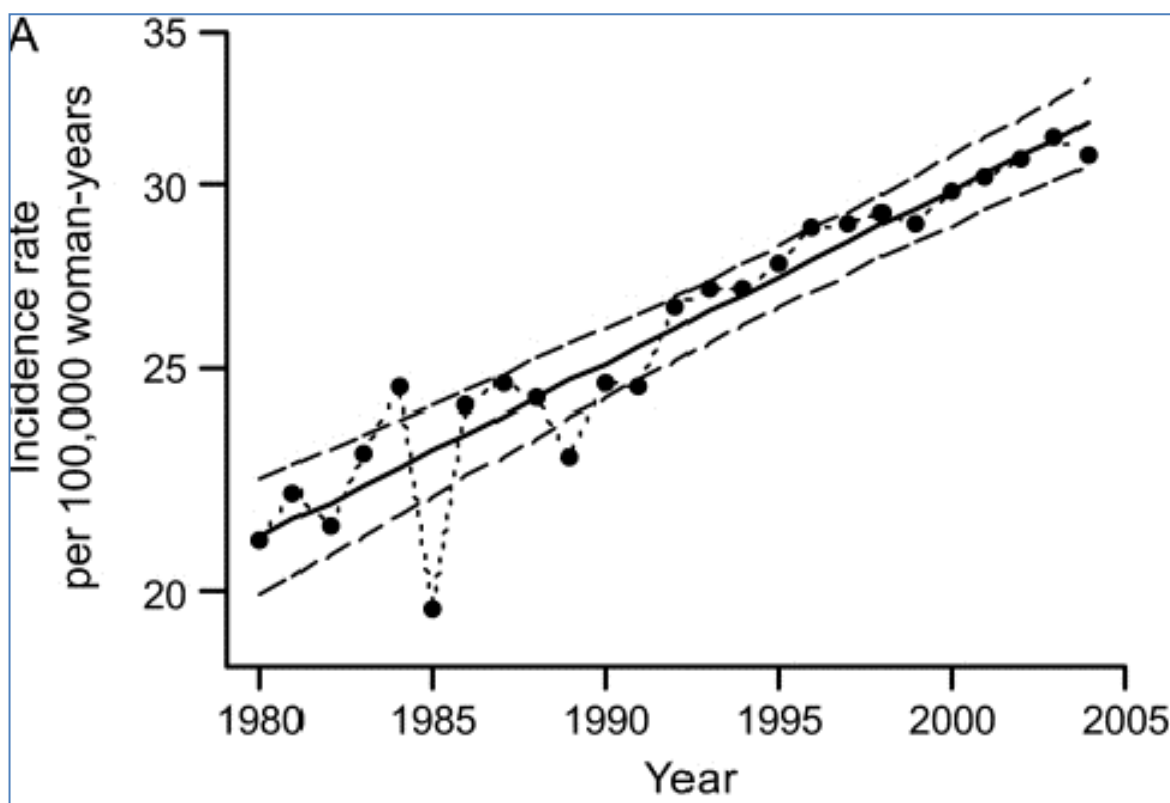
El càncer de mama és el càncer més freqüent en la dona. És dels tumors malignes amb la incidència més elevada (4). Es considera que aquesta va ser de 1.7 milions de casos al 2016 a nivell mundial, i va provocar 530000 morts (5) (figura 1).

Figura 1: Incidència dels diferents tipus de càncer en dones a nivell mundial el 2016



A Europa, 464000 dones van ser diagnosticades de càncer de mama al 2012 (6). En el 2017, la incidència a l'Estat Espanyol va ser de 26370 dones (7). En els darrers anys, aquesta ha anat en augment, sent actualment d'un 28% entre els càncers en la dona, degut probablement a múltiples factors (8). Des de la generalització dels programes de cribratges, la disminució de la fertilitat, o als canvis en els estils de vida en la nostra societat (més obesitat, més consum de tabac i alcohol, més sedentarisme) han pogut influenciar-hi. Aquest creixement és sobretot degut a l'augment de la incidència en la franja d'edat de dones més joves, de fins a 44 anys d'edat (9) (figura 2).

Figura 2: Incidència ajustada per edat de càncer de mama infiltrant durant el període 1980–2004 de les dones incloses en tots els registres Espanyols.



A Catalunya, s'estima que 4563 dones van ser diagnosticades d'un nou càncer de mama al 2017 (10). En el nostre centre, l'Hospital del Mar de Barcelona, la Unitat Funcional de Patologia Mamària diagnostica i tracta cada any més de 200 dones amb neoplàsia de mama (11).

1.3. HISTÒRIA DE LA CIRURGIA DEL CÀNCER DE MAMA

Hi ha constància sobre el càncer de mama des de l'Antic Egipte als s. XV-XVI aC. A l'Imperi Romà, autors com Celso, Leònidas o Galè descriuen l'amputació de la mama per tractar aquest càncer. L'Edat Mitjana, de manera anàloga a altres ciències, esdevé una època fosca per la medicina i la cirurgia a Europa, però fora d'ella com a l'Imperi Musulmà, el metge i cirurgià Abulcassis descriu al s.X el tractament amb cauterització dels tumors de la mama com a suport a la cirurgia, així com múltiples instruments quirúrgics. En el Renaixement es produeixen grans avenços en els coneixements anatòmics i concretament de la mama, de la mà de Leonardo da Vinci, o cirurgians com Vesali, Petit o Moore. Aquests, i altres descobriments com els de la fisiopatogènia en les infeccions de les ferides de Pasteur, ajuden a establir a finals del s.XIX les bases dels tractaments quirúrgics actuals (12).

La majoria d'avanços quirúrgics han ocorregut en els darrers 150 anys. Al 1882, W.S. Halsted defineix el paradigma de la progressió local, locoregional i a distància de les cèl·lules tumorals, així com de la tècnica de la Mastectomia Radical per extirpar completament la glàndula mamària, els músculs pectorals i els ganglis axil·lars (13). Posteriorment, a la 2a meitat del s.XX, altres autors com Patey o Madden estableixen la tècnica de la mastectomia radical modificada, preservant els músculs pectorals, tècnica encara utilitzada avui dia quan no és possible la cirurgia conservadora (14). Aquesta, es comença a descriure com un tractament òptim a la dècada dels 70 i 80 amb estudis randomitzats com el de Veronesi (15) o Fisher (16). Aquests resultats, es

confirmen observant la mateixa supervivència global quan s'afegeix radioteràpia a la cirurgia conservadora en aquells tumors en estadis inicials al cap de 20 anys de seguiment (17,18). Alguns treballs a partir del 2010, apunten que fins i tot en casos seleccionats inicials, la cirurgia conservadora tindria millor supervivència per l'efecte directe i indirecte de la radioteràpia, com en l'assaig clínic del grup holandès de Van Maaren (19), o més recentment, l'estudi de cohorts alemany del 2019 amb 7565 casos-contròls aparellats (20).

En les darreres dècades, el desenvolupament i les millores de la tècniques oncoplàstiques (21), la cobertura i perfeccionament dels programes de cribratge (22), o la possibilitat de noves indicacions per a esquemes de tractaments sistèmics neoadjuvants (23), han afavorit que la cirurgia conservadora sigui avui el tractament quirúrgic estàndard.

En l'axil·la, el gran avanç històric arriba als anys 90 i 2000, quan es comença a instaurar amb la mateixa supervivència l'estadiatge axil·lar desescalat a través de la biòpsia selectiva del gangli sentinella en aquelles pacients clínicament negatives (24–26), amb la mateixa supervivència i control regional.

La tècnica de la biòpsia selectiva del gangli sentinella consisteix en l'administració intratumoral o retroareolar d'un radiotraçador (actualment el més habitual és ^{99m}Tc) o altres colorants com el blau de metilè, el dia abans o unes hores abans de la cirurgia, que drena cap als territoris ganglionars més propers (sobretot les cadenes axil·lars, però també en la cadena de la mamària interna o altres regions toràciques o supraclaviculars). En el moment de la cirurgia, a través d'una sonda gamma detectora, es detecta aquest primer o primers ganglis radioactius que actuen com a sentinella, i s'extreuen per a anàlisi. Històricament, s'ha assumit, en el cas que aquest gangli sentinella fos negatiu, que la resta també ho són ja que la taxa de falsos negatius és inferior al 5%, i es va poder començar a evitar limfadenectomies (27,28). Aquesta tècnica

malgrat tenir menys efectes secundaris que la dissecció axil·lar clàssica, també s'ha associat a complicacions locals, precoces i tardanes, com la pèrdua de força o sensibilitat, canvis en la qualitat de vida, o l'afectació de determinats moviments de l'extremitat (29).

Per altra banda, la limfadenectomia (exèresi de les adenopaties axil·lars i la grassa circumdant dels nivells I i II de Berg, així com d'aquelles sospitoses de nivell III, respectant els paquets vasculo-nerviosos principals) (30), és una tècnica amb les seves aplicacions, però utilitzada cada vegada amb més restriccions degut als seus efectes adversos no desitjats, com el limfedema, les alteracions sensitives o les incapacitats funcionals (31).

1.4. CANVIS DE PARADIGMA EN ELS DIFERENTS TRACTAMENTS

Històricament doncs, s'havia considerat el càncer de mama com una malaltia localitzada, i per tant W. Halsted, i els antecessors i successius autors postulaven que amb una cirurgia radical es podia extirpar tota la malaltia. Defensaven que la disseminació de les neoplàsies es produïa sempre per contigüitat, i que les metàstasis a distància apareixien en fase tardana. Aquest paradigma, evoluciona a la 2a meitat del s.XX cap a una nova teoria, amb B. Fisher al capdavant que definia el càncer de mama com una malaltia sistèmica, i apareixen els tractaments adjuvants com la quimioteràpia (32).

En la primera dècada del s. XXI, s'observa que probablement la situació real consisteix en una posició intermèdia en funció del subtipus de càncer, i que la importància de la càrrega tumoral local i sistèmica poden divergir segons les característiques específiques de cada tumor. S'observa que el tractament loco-regional no només cura la malaltia local i disminueix el risc de recidives, sinó que també impacta sobre la supervivència (33), i es demostra que la disminució

de les recidives per la cirurgia i la radioteràpia també disminueix el número de morts futures atribuïbles a la malaltia. El càncer de mama doncs, és una malaltia heterogènia amb un comportament loco-regional i una capacitat de disseminació variables.

1.5. EL CÀNCER DE MAMA: UNA MALALTIA HETEROGÈNIA

1.5.1. TNM I FACTORS BIOMOLECULARS

De la mateixa manera que altres tumors, el càncer de mama es tracta d'una malaltia heterogènia i complexa. La seva morbi-mortalitat està directament relacionada amb múltiples factors biològics coneguts, com la mida del tumor, el subtipus histològic, el nombre de focus, la presència o absència d'adenopaties axil·lars, o en altres regions positives, o l'existència de metàstasis a distància. Algunes d'aquestes característiques, les que fan referència a factors anatòmics (T-mida tumoral de la lesió primària-, N-ganglis limfàtics regionals- i M-metàstasis-), confereixen la classificació TNM tradicional, creada per P. Denoix el 1943 (publicada el 1952), que intenta agrupar les neoplàsies segons la seva extensió loco-regional i a distància (34). Aquesta, ha estat actualitzada regularment, i per darrera vegada el 2017 amb la 8^a edició (35) (figura 3), que té l'objectiu d'ajudar al clínic a definir l'estadiatge loco-regional, diferenciant l'estat clínic en el diagnòstic, de l'anatomia patològica definitiva després de la cirurgia, o també en cas de neoadjuvència. És rellevant que a la última actualització del TNM es diferencia el TNM estrictament anatòmic, del pronòstic, que modifica el primer en funció de característiques biològiques del tumor que poden impactar-hi.

Amb totes aquestes característiques, s'estableix un pronòstic de la malaltia, es pot recomanar un tractament local i sistèmic, i es pot intercanviar informació

entre diferents professionals que diagnostiquen i tracten el càncer de mama de manera objectiva.

Figura 3: TNM 8ena edició (2017)

TABLE 2. American Joint Committee on Cancer Definition of Primary Tumor (T)—Clinical (cT) and Pathological (pT)

T CATEGORY	T CRITERIA
TX	Primary tumor cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumor
Tis (DCIS) ^a	Ductal carcinoma in situ (DCIS)
Tis (Paget)	Paget disease of the nipple NOT associated with invasive carcinoma and/or carcinoma in situ (DCIS) in the underlying breast parenchyma. Carcinomas in the breast parenchyma associated with Paget disease are categorized based on the size and characteristics of the parenchymal disease, although the presence of Paget disease should still be noted.
T1	Tumor ≤ 20 mm in greatest dimension
T1mi	Tumor ≤ 1 mm in greatest dimension
T1a	Tumor > 1 mm but ≤ 5 mm in greatest dimension (round any measurement from >1.0-1.9 mm to 2 mm)
T1b	Tumor > 5 mm but ≤ 10 mm in greatest dimension
T1c	Tumor > 10 mm but ≤ 20 mm in greatest dimension
T2	Tumor > 20 mm but ≤ 50 mm in greatest dimension
T3	Tumor > 50 mm in greatest dimension
T4	Tumor of any size with direct extension to the chest wall and/or to the skin (ulceration or macroscopic nodules); invasion of the dermis alone does not qualify as T4
T4a	Extension to the chest wall; invasion or adherence to pectoralis muscle in the absence of invasion of chest wall structures does not qualify as T4
T4b	Ulceration and/or ipsilateral macroscopic satellite nodules and/or edema (including peau d'orange) of the skin that does not meet the criteria for inflammatory carcinoma
T4c	Both T4a and T4b are present
T4d	Inflammatory carcinoma (see "Rules for Classification")

^aLobular carcinoma in situ is a benign entity and is removed from TNM staging in the American Joint Committee on Cancer (AJCC) Cancer Staging Manual, eighth edition.

TABLE 4. American Joint Committee on Cancer Definition of Distant Metastasis (M)

CATEGORIES FOR DISTANT METASTASES—CLINICAL AND PATHOLOGICAL (cM0, cM1, pM1)	
M CATEGORY	M CRITERIA
M0	No clinical or radiographic evidence of distant metastases ^a
cM0(i+)	No clinical or radiographic evidence of distant metastases in the presence of tumor cells or and no deposits no greater than 0.2 mm detected microscopically or by using molecular techniques in circulating blood, bone marrow, or other nonregional lymph node tissue in a patient without symptoms or signs of metastases
M1	Distant metastases detected by clinical and radiographic means (cM) and/or histologically proven metastases larger than 0.2 mm (pM)

^aNote that imaging studies are not required to assign the cM0 category.

TABLE 3. American Joint Committee on Cancer Definition of Regional Lymph Nodes—Clinical (cN) and Pathological (pN)

CATEGORY	CRITERIA
cN^a	
cNX ^b	Regional lymph nodes cannot be assessed (eg, previously removed)
cN0	No regional lymph node metastases (by imaging or clinical examination)
cN1	Metastases to movable ipsilateral level I and II axillary lymph node(s)
cN1mi ^c	Micrometastases (approximately 200 cells, larger than 0.2 mm, but none larger than 2.0 mm)
cN2	Metastases in ipsilateral level I and II axillary lymph nodes that are clinically fixed or matted; or in ipsilateral internal mammary lymph nodes in the absence of axillary lymph node metastases
cN2a	Metastases in ipsilateral level I and II axillary lymph nodes fixed to one another (matted) or to other structures
cN2b	Metastases only in ipsilateral internal mammary lymph nodes in the absence of axillary lymph node metastases
cN3	Metastases in ipsilateral infraclavicular (level III axillary) lymph node(s) with or without level I and II axillary lymph node involvement; or in ipsilateral internal mammary lymph node(s) with level I and II axillary lymph node metastases; or metastases in ipsilateral supraclavicular lymph node(s) with or without axillary or internal mammary lymph node involvement
cN3a	Metastases in ipsilateral infraclavicular lymph node(s)
cN3b	Metastases in ipsilateral internal mammary lymph node(s) and axillary lymph node(s)
cN3c	Metastases in ipsilateral supraclavicular lymph node(s)
pN^d	
pNX	Regional lymph nodes cannot be assessed (eg, not removed for pathological study or previously removed)
pN0	No regional lymph node metastasis identified or ITCs only
pN0(i+)	ITCs only (malignant cell clusters no larger than 0.2 mm) in regional lymph node(s)
pN0(mol+)	Positive molecular findings by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR); no ITCs detected
pN1	Micrometastases; or metastases in 1-3 axillary lymph nodes; and/or clinically negative internal mammary lymph nodes with micrometastases or macrometastases by sentinel lymph node biopsy
pN1mi	Micrometastases (approximately 200 cells, larger than 0.2 mm, but none larger than 2.0 mm)
pN1a	Metastases in 1-3 axillary lymph nodes, at least one metastasis larger than 2.0 mm
pN1b	Metastases in ipsilateral internal mammary sentinel lymph nodes, excluding ITCs
pN1c	pN1a and pN1b combined
pN2	Metastases in 4-9 axillary lymph nodes; or positive ipsilateral internal mammary lymph nodes by imaging in the absence of axillary lymph node metastases
pN2a	Metastases in 4-9 axillary lymph nodes (at least one tumor deposit larger than 2.0 mm)
pN2b	Metastases in clinically detected internal mammary lymph nodes with or without microscopic confirmation; with pathologically negative axillary lymph nodes
pN3	Metastases in 10 or more axillary lymph nodes; or in infraclavicular (level III axillary) lymph nodes; or positive ipsilateral internal mammary lymph nodes by imaging in the presence of one or more positive level I and II axillary lymph nodes; or in more than 3 axillary lymph nodes and micrometastases or macrometastases by sentinel lymph node biopsy in clinically negative ipsilateral internal mammary lymph nodes; or in ipsilateral supraclavicular lymph nodes
pN3a	Metastases in 10 or more axillary lymph nodes (at least one tumor deposit larger than 2.0 mm); or metastases to the infraclavicular (level III axillary lymph) nodes
pN3b	pN1a or pN2a in the presence of cN2b (positive internal mammary lymph nodes by imaging); or pN2a in the presence of pN1b
pN3c	Metastases in ipsilateral supraclavicular lymph nodes

En els anys 70 del s.XX es comencen a identificar altres factors bioquímics en els tumors de mama, com els receptors d'estrogen (RE), i per tant, a ser-ne conscient que es tracta d'una malaltia diversa també a nivell biològic (36). Més endavant, a la dècada dels 80, altres factors com els receptors de progesterona (RP) (37), la proteïna HER2 (38), o l'índex de proliferació tumoral determinada per Ki67 (39), s'han considerat determinants per distingir els diferents subtipus de tumors en la pràctica clínica. En aquest sentit, C. Perou amb el seu treball a l'any 2000 (40) es considera el pare de la biologia molecular del càncer de mama, identificant diferents subtipus moleculars intrínsecs en relació al seu perfil genètic. La dificultat i el cost que suposaria la caracterització gènica de cada tumor a la pràctica clínica diària ha fet que s'establissin equivalents immunohistoquímics (immunofenotips) dels subtipus intrínsecs, segons l'expressió molecular detectada a l'estudi immunohistoquímic. L'equivalència no és precisa, però la majoria d'Unitats de Patologia Mamària l'han adoptada per les decisions terapèutiques. En el consens de Sant Gallen de 2013, i posteriorment en els successius consensos, 4 diferents immunofenotips considerant els factors RE, RP, HER2 i Ki67, van ser establerts de manera anàloga als subtipus moleculars definits més d'una dècada abans: Luminals A, Luminals B, HER 2 positius, i Triple negatiu (41).

1.5.2. LES MUTACIONS A TP53

El gen supressor de tumors TP53, altrament conegut com el "Guarda del Genoma", és un factor de transcripció que una vegada activat participa en el cicle cel·lular i en el fenomen de l'apoptosi. Va ser descobert per primera vegada fa gairebé 40 anys (42). Quan apareixen mutacions en aquest gen, l'ADN no pot ser reparat i es perd la funció normal onco-supressiva, deixant de participar en el cicle cel·lular i la seva mort, així com en el seu metabolisme. Les mutacions en el gen que codifica aquesta proteïna s'han demostrat ja en estadis inicials de la carcinogènesi com a esdeveniment precoç en teixit sà circumdant al tumor invasiu (43). De la mateixa manera esdevenen troballes

precursoras per desenvolupar un nou càncer (44), considerant-se un firma genòmica de risc. Fins i tot, s'ha estudiat el paper de la p53 durant l'embaràs i lactància, podent considerar-se un precursor de risc futur de càncer quan es troba en la glàndula lactant, especialment en aquelles dones nul·líparas amb gestacions més tardanes (45).

Si les mutacions avancen, s'adquireixen noves propietats oncogèniques i angiogèniques afavoridores de la multiplicació tumoral (46). Aquestes mutacions "guanyadores" de funcions contribueixen a través de diferents mecanismes oncogènics. Realitzen funcions de proliferació, invasió cel·lular per fer metàstasis a distància, neovascularització, inhibició dels mecanismes de reparació tumoral, inflamació del microambient cel·lular, i adquisició de resistència a drogues (47). La majoria dels mutants de TP53 produeixen una proteïna, coneguda universalment amb el mateix nom, que pot ser llegida per tècniques d'immunohistoquímica en les cèl·lules cancerígenes. Aquesta, és més utilitzada en la pràctica clínica que la caracterització del gen al ser més estable en el temps davant l'estrès cel·lular. Altres mètodes diagnòstics com la detecció d'anticossos de p53 en sang perifèrica es troben en estudi i no són habituals en la pràctica clínica (48). El seu circuit de replicació és complex, i les mutacions poden ocórrer en múltiples dominis del gen (49). La majoria de mutacions són de tipus *missense*, és a dir, del canvi d'una base de l'ADN per un altra, amb el consegüent canvi d'aminoàcid per un altre. Habitualment succeeixen en els codons 248, 273, 175, 220, 245 (50), aminoàcids de la zona central de la proteïna, i coincideix en que són les de pitjor pronòstic (51). La mutació de TP53 és la que es troba més freqüentment en els diferents càncers, i és específicament detectada en el 23% dels càncers de mama (52). També s'ha descrit en tumors d'altres localitzacions com en sarcomes, leucèmies, o tumors del sistema nerviós central; així com associada a síndromes hereditàries amb alt risc de desenvolupar tumors a múltiples localitzacions com la síndrome de Li-Fraumeni (53).

P53+, definida de manera universal com una expressió de la proteïna igual o superior 10% en l'anàlisi immunohistoquímica, és habitualment associada a mal pronòstic en el càncer de mama (54), així com amb paràmetres com alt grau nuclear o mida més gran (55). Al ser considerat un marcador d'agressivitat, també és habitual constatar-ne més sobreexpressió en aquells carcinomes inflamatoris, observant la p53+ en el doble de casos que en càncers no localment avançats (56), en casos de càncers de mama associats a altres mutacions d'origen genètic com aquells tumors BRCA 1 i 2 (57), o en casos de pacients més joves (58) o en càncers de mama en homes (59).

La supervivència global i la supervivència lliure de malaltia en tumors luminals i p53+, són clarament inferiors que aquells amb p53- (60). Això podria ser explicat perquè les mutacions en la p53 en aquells càncers de mama amb RE i RP positius alteren més l'homeostasi cel·lular que quan els receptors hormonals són negatius, ja de per sí més agressius. També s'ha estudiat la relació entre la p53 i els tumors HER2+, observant la mutació de manera freqüent en aquests tumors més agressius i associant-se a pitjor pronòstic quan la p53+ és positiva (61). Finalment, una relació significativa també s'ha demostrat en càncers de mama Triple Negatius. En aquests tumors, la sobreexpressió de la p53 és més comuna que en els tumors luminals, fet esperat tenint en compte la seva innata agressivitat biològica (62). Mentre que les mutacions de la p53 es troben en el 12-29% de càncers de tipus Luminal, succeeixen en el 60-88% dels considerats Triple Negatius (63).

Amb la importància que prenen els nous factors moleculars en la caracterització del càncer de mama, en els darrers anys s'han desenvolupat plataformes multigèniques que prediuen diferents pronòstics i probabilitat de resposta a tractaments sistèmics segons els gens de cada tumor (64,65). P53 també ha estat estudiada com a marcador per predir la resposta a la quimioteràpia, especialment en aquells subtipus luminal inicials, sense càrrega axil·lar, per a decidir afegir o no altres tractaments sistèmics al tractament amb

hormonoteràpia (66). Alguns estudis apunten una major resposta a antraciclins que a taxans en neoplàsies p53+ (67). S'ha estudiat igualment la influència de la p53 com a biomarcador sobre la resposta a la immunoteràpia i a la quimioteràpia, en aquells tumors HER2 o triple negatius, no observant-se en aquest cas un impacte clar dels tractaments neoadjuvants en funció de l'estat de la p53 (68), ni tampoc en els tractaments adjuvants (69). Tenint en compte la resposta a la radioteràpia, tampoc s'ha demostrat diferències clares segons la p53 (70,71).

La p53, i el seu gen precursor TP53 (o altres reguladors "anti-cancer" que hi poden actuar, activadors o supressors, com MDM2, PRIMA-1, APR-246, COTI-2, Nutlins, CP-31398 o PK11007) han estat estudiats com a dianes de possibles tractaments directes en models in-vitro, però no s'ha demostrat encara cap efecte amb èxit in-vivo en càncer de mama en humans, així com tampoc s'ha quantificat la seva toxicitat (72,73). Sí que s'han començat a desenvolupar assajos clínics en fase I o II per tractaments diana de càncers p53+ en altres localitzacions (74).

En observar la taxa de recidives loco-regionals i a distància, la p53+ s'associa a una taxa de més alta de recidiva que en aquells càncers p53-; tant en cirurgies conservadores amb radioteràpia (75), com quan s'ha realitzat mastectomies, amb i sense radioteràpia (76). S'ha estudiat també àmpliament la capacitat de les mutacions en la p53 per generar metàstasis a distància, sent també aquestes més freqüents i més precoces quan la p53+ (77), bé directament a través de la destrucció de la integritat de les unions cel·lulars amb el pas de les cèl·lules tumorals al torrent sanguini, o bé activant indirectament altres factors afavoridors de la cascada metastàtica (78).

En la mateixa línia, els tumors p53+ s'associen a menor supervivència global i lliure de malaltia que els p53-. En anàlisis multivariants en diferents estudis, s'ha observat que quan la p53 és positiva hi ha entre 5 i 19.7 vegades menys supervivència global i entre 3.8 i 3.5 vegades menys supervivència lliure de malaltia (79,80).

Per aquests motius, algunes guies apunten la possibilitat d'individualitzar els programes de cribatge, augmentant-ne la freqüència i tipus de controls radiològics, amb recomanacions més específiques en aquelles pacients o agrupacions familiars amb la mutació p53+ coneguda, abans fins i tot de desenvolupar el càncer (81).

Pel que fa a la proliferació dels tumors, el principal biomarcador, el Ki67, és un marcador en contínua fase d'estudi. Actualment, degut a les discrepàncies existents en la seva caracterització, reproductibilitat per immunohistoquímica, i quantificació entre els diferents laboratoris, de manera general es diferencia entre alta i baixa proliferació sense haver un consens clar en la xifra llindar (82) malgrat històricament s'ha assumit el valor de 14%, inclòs, per diferenciar alta de baixa proliferació (41). S'ha observat una interacció entre p53 i Ki67. Els càncers de mama en estadis inicials que combinen p53+ i Ki67 elevada tenen significativament pitjor supervivència global i supervivència lliure de malaltia que aquells altres amb només un dels dos o cap marcador sobreexpressat (83). Els panells pronòstics amb aquests, i altres marcadors oncogènics com Rsf1 o Bcl2, hauran de ser estudiats per a clarificar la seva utilitat predictiva (84,85).

1.6. TRACTAMENTS ACTUALS

1.6.1 PERSONALITZACIÓ DELS TRACTAMENTS

El tractaments actuals del càncer de mama, especialment aquells d'abordatge sistèmic, són cada vegada més personalitzats. Es diferencien els tractaments loco-regionals (quirúrgics i amb radioteràpia), dels sistèmics (quimioteràpia, hormonoteràpia, immunoteràpia). Segons l'estadi inicial de presentació del tumor (precoç, localment avançat, o metastàtic), les seves característiques moleculars, així com segons les circumstàncies de cada pacient, les Unitats Multidisciplinars que tracten el càncer de mama decideixen idealment en els Comitès de Tumors quins d'aquests tractaments es recomanen, i en quin ordre, seguint els estàndards internacionals (86).

Malgrat que la personalització del tractament del càncer s'evidencia sobretot amb eines diagnòstiques i tractaments sistèmics dirigits (87), en l'àmbit quirúrgic també hi ha indicacions diferents segons les característiques dels tumors. Històricament s'ha tractat d'individualitzar el tractament local amb aspectes com els marges de seguretat en les cirurgies conservadores, o la necessitat o no de radioteràpia segons l'afectació axil·lar en funció del risc de recidiva post-mastectomia. Però avui dia se sap més clarament que els diferents subtipus intrínsecs tenen tendències divergents a fer tumors de mides diferents, més o menys risc de multicentricitat, més o menys probabilitat d'invasió limfo-vascular o d'afectació axil·lar. Per tant, com ja apunta la Dra Morrow el 2015, tindria també sentit personalitzar els tractaments quirúrgics segons l'immunofenotip (88), tenint en compte que el risc de recidiva loco-regional és diferent segons cada perfil (89).

En aquesta línia, una individualització de les lesions pre-malignes com el carcinoma in-situ segons el seu perfil immunohistoquímic (juntament amb altres factors com la mida, el grau histològic o la comedonecrosis), tractant-les amb cirurgia, afegint o no radioteràpia o hormonoteràpia, o simplement no operant-

les, pot esdevenir una opció de futur (90). Un altre aspecte per personalitzar el tipus de cirurgia segons la biologia del tumor seria la consideració dels marges adequats. Malgrat actualment hi ha consens en que és suficient que en els carcinomes infiltrants no hi ha hagi cèl·lules tumorals en contacte (“no ink on tumor”) (91), alguns estudis apunten la possibilitat de considerar marges ampliats segons el perfil molecular, tenint en compte els canvis diferents que es produeixen en el microambient del teixit sa circumdant a les diverses neoplàsies (92). Finalment, per controlar millor la malaltia a nivell loco-regional, futurs treballs hauran de determinar el tipus i la dosi de radioteràpia a aplicar (93), o fins i tot deixar d’irradiar carcinomes infiltrants en aquells perfils biomoleculars de millor pronòstic com els Luminal A (94).

1.6.2 ABORDATGE AXIL·LAR

En el tractament axil·lar del càncer de mama, molts canvis han esdevingut en els darrers anys en el seu abordatge. Cada cop més autors han aprofundit en la tècnica del gangli sentinella per tal d’ampliar-ne les indicacions. El 2011, amb l’aparició dels resultats de l’assaig clínic randomitzat Z0011 del Dr A. Giuliano (95), i posteriorment amb la publicació de l’estudi AMAROS (96) moltes Unitats han deixat de realitzar la limfadenectomia quirúrgica en aquells casos de cirurgia conservadora, amb només 1 o 2 ganglis sentinella positius (sense ruptura capsular ni infiltració de la grassa periganglionar), realitzant només irradiació axil·lar directa o indirecta respectivament, i per tant, amb menys morbiditat loco-regional. Des d’aleshores, esdevé cada cop més rellevant conèixer abans de la cirurgia si la pacient pot tenir alta o baixa càrrega axil·lar de cara a poder evitar la limfadenectomia, així com disposar d’aquells factors radiològics com les imatges de sospita ecogràfica (97), patològics com la biòpsia prèvia positiva (98), o moleculars com determinats subtipus intrínsecs com l’HER2+ (99), que puguin predir aquesta alta càrrega tumoral abans de la cirurgia per tal de decidir l’abordatge axil·lar.

En aquesta línia, hi ha prou evidència que determinats immunofenotips com els Luminal B-HER2+ i els HER2+ purs tenen més probabilitat de tenir alta càrrega axil·lar, és a dir, més probabilitat de tenir ganglis no sentinelles positius quan hi ha 1 o 2 ganglis sentinelles afectats (100), mentre que d'altres com els Triple Negatius tenen menys risc d'afectació axil·lar (101). Aquest fet, repetit en diferents estudis, podria ser explicat perquè, malgrat els Triple Negatius són considerats tumors més agressius, tenen menys tendència a fer invasió limfovascular, considerat un marcador subrogat de l'afectació axil·lar, i per tant a fer més metàstasis via hemàtica i no limfàtica (102,103). En definitiva, la classificació dels càncers de mama segons el subtipus molecular podria ser també un factor a tenir en compte per personalitzar el tipus de cirurgia axil·lar a realitzar.

En els darrers anys, diferents grups han intentat idear nomogrames predictius de la càrrega axil·lar. Un dels primers, i encara avui més conegut i utilitzat és el nomograma de l'Hospital Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (104), on s'intenta predir en funció de diferents factors (mida, subtipus histològic, grau nuclear, invasió limfovascular, multifocalitat, presència RE i nombre de ganglis sentinelles positius i negatius) la probabilitat de tenir altres ganglis no sentinelles infiltrats per cèl·lules cancerígenes quan el gangli sentinella està afectat, i per tant diferenciar aquelles axil·les amb baixa càrrega on no cal fer la limfadenectomia, d'aquelles amb alta càrrega tumoral. Posteriorment, altres grups han validat aquest i altres nomogrames amb les seves pròpies poblacions i els propis factors anatomo-patològics i moleculars, per tal de predir la càrrega axil·lar (105–108).

Considerant la p53 com un marcador molecular més a l'hora de definir la càrrega axil·lar, i per tant, poder decidir el tractament quirúrgic indicat, hi ha controvèrsia en la literatura sobre l'associació de la p53+ amb l'afectació

axil·lar. Mentre alguns estudis no han pogut demostrar una relació significativa (109,110), el nostre grup ha associat en estudis previs la sobreexpressió de la p53 en el tumor de la mama amb una menor afectació ganglionar axil·lar (111,112). Futurs estudis hauran de determinar si la presència o absència de la p53 podria ajudar a definir més acuradament la càrrega tumoral axil·lar, i per tant el pla terapèutic previst de manera global, o bé en determinats tipus de càncer de mama.

2. Hipòtesi:

El carcinoma invasiu de mama que expressa p53 presenta menys càrrega tumoral axil·lar que el carcinoma invasiu que no expressa p53.

3. Objectius:

. 1ari:

1- establir si la sobreexpressió de la proteïna p53 és un factor independent per a predir baixa càrrega tumoral axil·lar en aquells casos on s'ha realitzat cirurgia com a tractament primari, de manera global i/o per cada immunofenotip.

. 2aris:

2.1- establir quins altres factors anatomo-patològics (mida, subtipus histològic, grau histològic, invasió limfo-vascular, número de focus) i moleculars (receptors hormonals, ki67, HER2) prediuen la càrrega axil·lar en els casos de càncer de mama amb tractament quirúrgic inicial, considerats globalment i per cada immunofenotip.

2.2- establir si l'expressió de p53 prediu l'afectació axil·lar de manera diferent en funció de la mida tumoral.

2.3- observar si existeixen diferències pel que fa a l'estadi tumoral i el número de focus entre les neoplàsies p53+ i p53-, així com per cada immunofenotip.

2.4- observar si existeixen diferències en el tipus de tractament adjuvant entre els càncers que expressen p53 i els que no, globalment i per cada immunofenotip.

2.5- comparar la recidiva loco-regional entre càncers p53+ i p53-, així com el temps en que es produeix i amb quin nou immunofenotip.

2.6- comparar la supervivència lliure de malaltia i la supervivència global entre les neoplàsies p53+ i p53-, així com diferenciar-les específicament per cada immunofenotip.

4. Materials i mètodes:

4.1. SUBJECTES DE L'ESTUDI

La població d'estudi van ser totes aquelles dones de l'àmbit de referència del Parc de Salut Mar de Barcelona, diagnosticades i tractades de càncer de mama primari en la Unitat de Patologia Mamària del mateix centre entre 1 de Gener del 2000 i 30 de Setembre de 2014, amb el seguiment clínic posterior des de llavors. Les dades de les quals es van recollir al Registre de Tumors de la institució.

Es va realitzar un estudi retrospectiu analitzant els casos de càncer de mama invasius diagnosticats i tractats amb cirurgia amb intenció curativa en primera instància a l'Hospital del Mar de Barcelona, des del gener de 2000 al setembre de 2014. Es va utilitzar el registre existent de tumors, es van completar les dades que mancaven revisant les històries clíniques de manera individualitzada, es van analitzar paràmetres socio-demogràfics, anatomo-patològics, immuno-histoquímics, l'estadi tumoral i l'afectació axil·lar, els tractaments realitzats, així com el seguiment de totes aquests pacients.

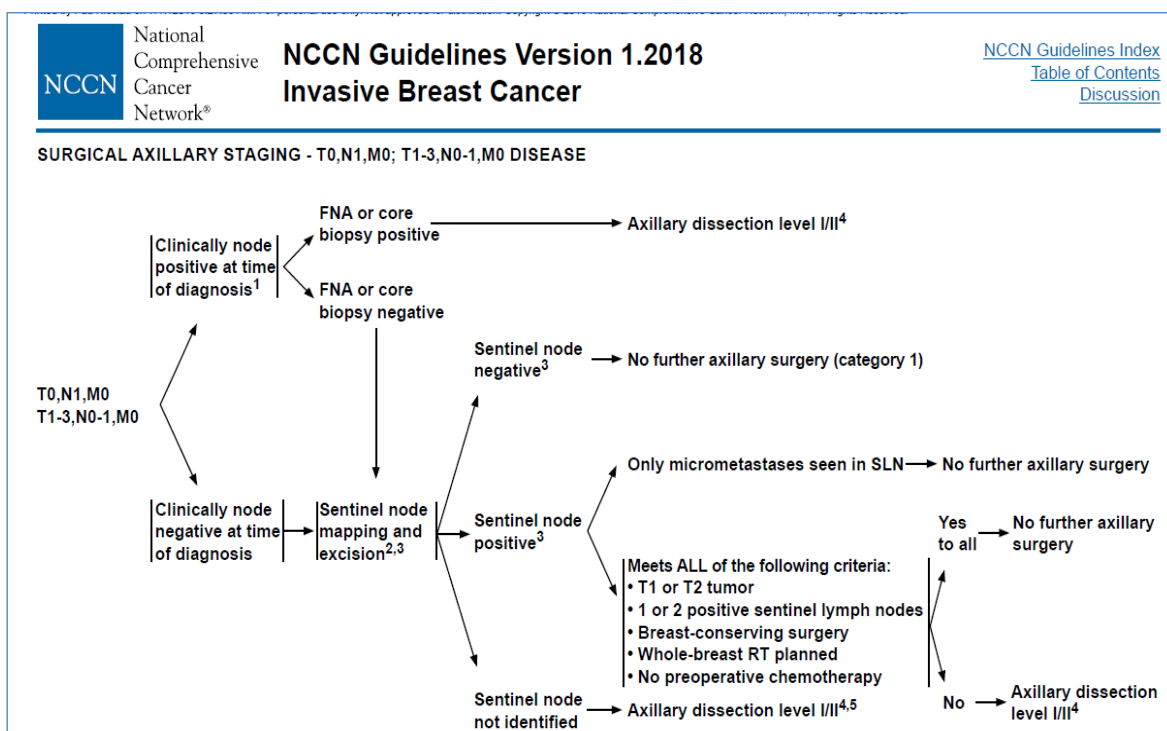
Com a criteris d'exclusió es van considerar:

- pacients no tractades a l'Hospital del Mar
- pacients amb carcinoma in-situ
- pacients que van rebre d'entrada quimioteràpia o altres tractaments no quirúrgics neoadjuvants
- pacients dels quals no disposàvem d'informe histològic i/o immuno-histològic tant del tumor primari com dels ganglis de l'axil·lar.

4.2. BAIXA I ALTA CÀRREGA TUMORAL AXIL·LAR

En el nostre treball, es va considerar baixa càrrega tumoral axil·lar quan hi ha 0, 1 o 2 ganglis axil·lars positius, i alta càrrega axil·lar quan hi havia 3 o més ganglis positius, comptant alhora els ganglis sentinella i els disseccionats si hi havia hagut limfadenectomia. Aquest valor llindar de discriminació va tenir en compte les noves evidències a partir de l'estudi Z0011 (95), així com moltes de les recomanacions internacionals (86) sorgides des de llavors i adoptades per Unitats de Patologia Mamària com la nostra (figura 4).

FIGURA 4: Algoritme d'abordatge axil·lar segons la NCCN.



4.3. CLASSIFICACIÓ SUBTIPUS MOLECULARS

Els immunofenotips del càncer de mama s'estipulen de cara a intentar reproduir en la pràctica clínica els diferents genotips moleculars establerts des de principis dels anys 2000 per Perou (40). En termes clínics, actualment s'accepten 4 immunofenotips que es volen aproximar als subtipus intrínsecs definits en les plataformes genòmiques: neoplàsies TRIPLE NEGATIVES (receptors estrògens –RE- i progesterona –RP- negatius, HER2 negatiu), neoplàsies HER 2 positives (HER2 sobreexpressat, Receptors hormonals -RH- negatius) i dos tipus de neoplàsies luminals; LUMINAL A (RE+, RP elevat, HER2 negatiu, baixa proliferació –Ki67 baix-) i LUMINAL B (RE+, RP baix i/o HER2+ i/o alta proliferació –Ki67alt-) (82). Entre el tumors Luminal B, en la pràctica assistencial, i per tant també en aquest treball, sovint es diferencien els Luminal B-HER2 negatius dels Luminal B-HER2 positius, tenint en compte que poden tenir diferents pronòstics al poder ser tractats de manera diferent (113).

Particularment en el nostre estudi, el Ki67 va ser un paràmetre que es va començar a recollir en els informes de Patologia, i per tant en la base de dades del Registre de Tumors, a partir de juny de 2007. Aquest és el motiu pel qual la diferenciació entre perfils Luminals A-like i B-like es va calcular a partir d'aquesta data, i tenint en compte el valor llindar de 14% (no inclòs) mesurat per immunohistoquímica per diferenciar baixa d'alta proliferació. Pel que fa al Receptor de Progesterona, es va considerar el valor de 20% (inclòs) per definir un RP elevat i per tant, diferenciar els perfils Luminals A-like dels B-like, tenint en compte les recomanacions de StGallen 2013 (41).

4.4. CONFIDENCIALITAT

Es va tractar d'un estudi retrospectiu utilitzant dades del registre de tumors. D'acord a les directrius nacionals i internacionals (codi deontològic, Declaració de Helsinki, Fortalesa, Brasil 2013), i la normativa legal sobre confidencialitat de dades (Reglament UE num 2016/679 del Parlament Europeu), es van tractar les dades personals procedint a l'anonimat mitjançant numeració amb un identificador de l'estudi, de manera que no va ser possible identificar la pacient.

En tractar-se d'un estudi retrospectiu de revisió de dades clíniques dels darrers 15 anys, sense incidir en el desenvolupament ni pronòstic de la malaltia o el tractament, i essent algunes de les pacients ja defallides o difícilment localitzables, no es va considerar possible ni oportú demanar el consentiment informat de les mateixes. Es va sol·licitar, i va ser acceptat, el certificat del Comitè Ètic d'Investigacions Clíniques del nostre centre, amb número 2015/6282/I.

4.5. ANÀLISI ESTADÍSTICA

Es va realitzar un anàlisi estadístic sobre les dades recollides per donar resposta a l'objectiu general i als objectius específics. Es van analitzar les dades de totes les pacients incloses a l'estudi i que no complien criteris d'exclusió, i es va fer un anàlisi de sensibilitat de les dades absents, que no es van imputar i es van deixar com a perdudes. Es va fer una descriptiva general de les variables d'estudi, i es van presentar les freqüències absolutes i relatives de las variables qualitatives, així com les mesures de tendència central i dispersió de les variables quantitatives. Es van presentar intervals de confiança al 95% per aquests resultats, considerant els p-valors significatius quan eren inferiors a 0.05.

L'anàlisi univariant de les variables qualitatives es va fer mitjançant χ^2 . L'anàlisi univariant de les variables quantitatives es va realitzar amb el test de Kruskal-Wallis o Rho de Spearman quan es va considerar adequat. De cara a l'avaluació de l'objectiu primari d'estudiar si la positivitat de p53 era un factor independent d'afectació axil·lar, es va realitzar un anàlisi multivariant (regressió lineal múltiple). Es van realitzar corbes de supervivència de Kaplan-Meier per cada variable dicotòmica de manera independent. Es van realitzar models de regressió-Cox per estimar les hazard ratios.

El software utilitzat serà SPSS Stata SE v15.1 (Texas, EUA).

4.6. MIDA MOSTRAL

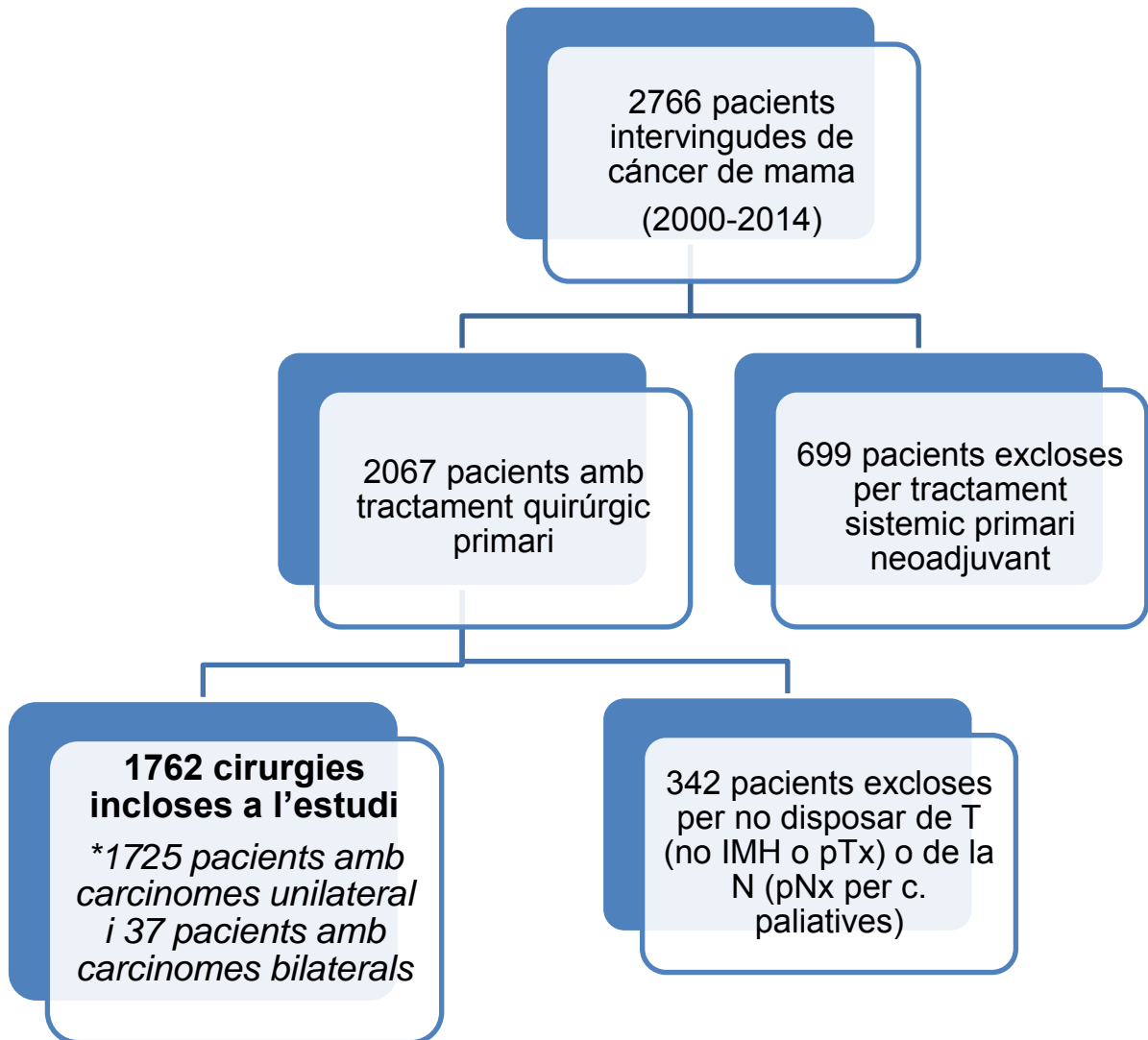
Es va estimar que la mostra necessària per determinar diferències en l'afectació loco-regional pel que fa als càncers p53+ dels p53- era de 120 subjectes, acceptant un risc alfa de 0.05 per una precisió de +/- 0.05 en un contrast bilateral. Es va considerar aquesta xifra perquè a l'utilitzar un test χ^2 per comparar 80 pacients p53 negatives com a predictor de positivitat en ganglis axil·lars respecte a 40 pacients p53+, es van trobar diferències significatives ($P \leq 0.05$) en el 25% dels casos.

5. Resultats:

5.1. RECLUTAMENT I ANÀLISI DESCRIPTIU

Durant el període d'estudi, 2766 pacients es van intervenir de cirurgia de càncer de mama infiltrant a l'Hospital del Mar. D'aquestes, es van excloure 699 dones per haver iniciat tractaments primaris sistèmics neoadjuvants. De les 2067 pacients restants, es van excloure aquelles de les quals no disposàvem de la informació immunohistoquímica del tumor primari o que eren tumors ocults (pTx), així com aquelles sense valoració axil·lar per tractar-se de cirurgies pal·liatives (pNx), resultant finalment 1725 pacients amb 1762 cirurgies (37 casos de carcinomes infiltrants bilaterals) subjectes de l'estudi (figura 5).

FIGURA 5: Reclutament estudi.



D'aquests 1762 casos pels quals es va realitzar l'estudi, 752 procedien del programa de cribratge de càncer de mama i 1010 casos a través d'altres vies (des de Consultes Externes, Servei d'Urgències, derivacions d'altres Centres d'Atenció Primària o centres especialitzats).

L'edat mitjana de les dones va ser de 61.32 anys [23-94]. La mida tumoral mitjana va ser de 18.91mm [1mm-162mm]. La mitjana de focus tumorals va ser de 1.2 [1-15]. Pel que fa al subtipus histològic, hi va haver 1422 casos (80.7%) de carcinoma infiltrant de tipus no especial, 174 casos (9.9%) de carcinoma lobel·lar, 21 casos (1.2%) de carcinoma tubular, i 145 casos (8.2%) d'altres tipus de carcinoma infiltrant.

Tenint en compte els diferents immunofenotips, 1506 casos (84.5%) eren subtipus Luminals, 79 casos (4.5%) eren Her2, i 177 (10.0%) eren Triple Negatiu. Entre els Luminals, hi havia 362 casos (20.5%) Luminals A, 569 casos (32.3%) Luminals B-HER2-, 137 casos (7.8%) Luminals B-HER2+, i 438 casos (24.9%) de Luminals (HER2-) indeterminats per no disposar del Ki67.

Dins dels immunofenotips, s'observava alta càrrega axil·lar més freqüentment en els tumors HER2+ (15.2%) i menys freqüentment en els Luminals A (**15.2% vs 5.2%, p=0.007**) (taula 1).

TAULA 1: Immunofenotips i càrrega tumoral axil·lar.

	Baixa càrrega (0, 1, 2 ganglis)	Alta càrrega (3 o més ganglis)
Luminals B HER2-	504 (88.6%)	65 (11.4%)
Luminals B HER2+	121 (88.3%)	16 (11.7%)
Luminals A HER2+	343 (94.8%)	19 (5.2%)
Triple negatiu	155 (87.6%)	22 (12.4%)

p=0.007

Hi havia globalment 600 casos de baix grau de diferenciació histològica o grau I, 563 casos de moderat grau o grau II, i 388 casos d'alt grau o grau III, essent més freqüent la bona diferenciació en els Luminals A (**56.4% de grau I vs 5.2% de grau III**) que en els Triple Negatiu (**7.9% de grau I vs 68.4% de grau III, p=0.001**).

Si es tenia en compte l' invasió limfo-vascular, hi ha 1218 casos (80%) sense invasió i 304 casos (20%) amb invasió, essent més freqüent la manca d'invasió en els Luminal A (**84.0% no invasió vs 9.7% invasió**), que en els HER2 (**60.8% no invasió vs 17.7% invasió**) o Triple Negatiu (**63.3% no invasió vs 23.7% invasió, p=0.01**).

Pel que fa a l'estadi tumoral, hi havia 983 casos (56.4%) d'estadi IA, 29 casos (1.7%) IB, 433 casos (24.9%) IIA, 185 casos (10.6%) IIB, 84 casos (4.8%) IIIA, 13 casos (0.7%) IIIB, 16 casos (0.9%) IIIC.

Diferenciant pels immunofenotips, es van observar diferències significatives d'estadi tumoral, essent més freqüents els estadis inicials en els subtipus Luminals que en els HER2+ i Triple Negatiu (**p=0.001**) (taula 2).

TAULA 2: Immunofenotips i estadi tumoral.

	Estadi I	Estadi II	Estadi III
Luminal A	249 (32.4%)	100 (22.3%)	13 (13.8%)
Luminal B-HER2-	322 (41.9%)	200 (44.5%)	43 (45.8%)
Luminal B-HER2+	71 (9.2%)	54 (12.0%)	11 (11.7%)
HER2+	43 (5.6%)	29 (6.5%)	6 (6.4%)
Triple Negatiu	84 (10.9%)	66 (14.7%)	21 (22.3%)

p=0.001

La mitjana de ganglis afectats va ser de 0.93 [0-30, desviació 2.73], havent-hi 1586 casos (90%) de baixa càrrega axil·lar amb 0, 1 o 2 ganglis positius, i 176 casos (10%) d'alta càrrega axil·lar amb 3 o més ganglis positius.

Les característiques generals de la població es resumeixen a la taula 3.

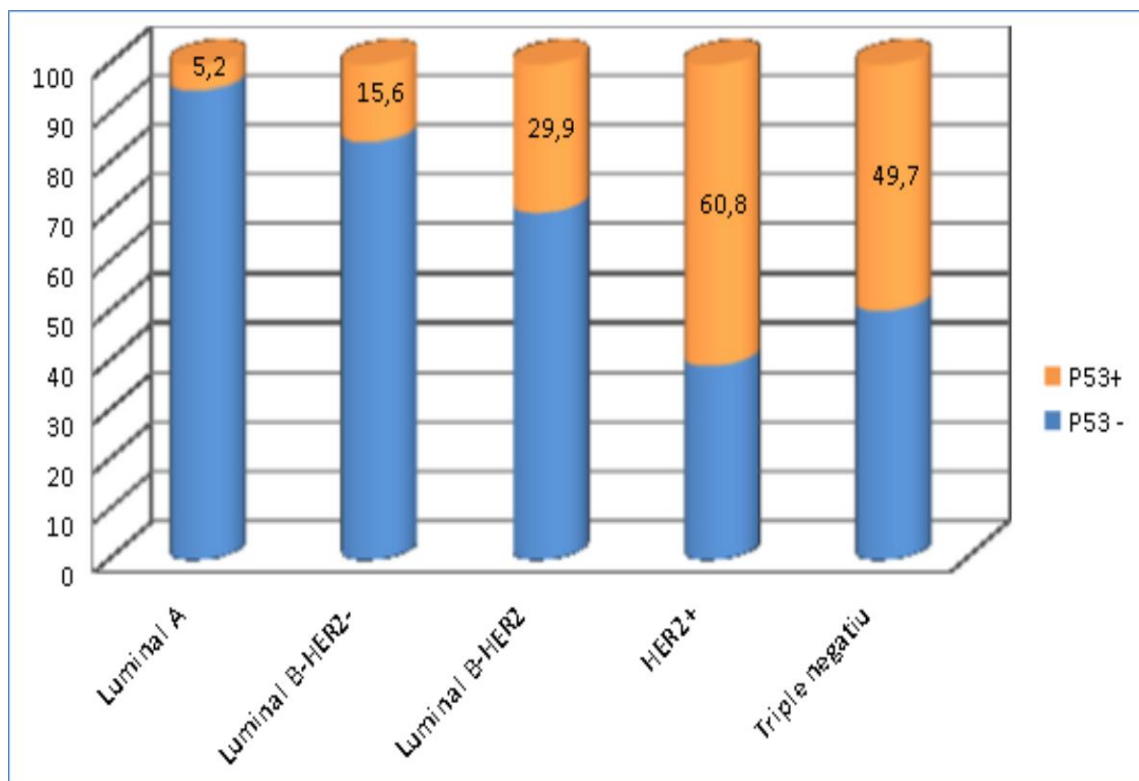
TAULA 3: Característiques descriptives de la població.

Subtipus histològic	. Tipus no especial . Tipus Lobel·lar . Tipus tubular . Altres tipus	1422 (80.7%) 174 (9.9%) 21 (1.2%) 145 (8.2%)
Immunofenotips	. Luminal A . Luminal B-HER2- . Luminal B-HER2+ . HER2+ . Triple negatiu . Luminals indeterminats	362 (20.5%) 569 (32.3%) 137 (7.8%) 79 (4.5%) 177 (10.0%) 438 (24.9%)
Grau histològic	. Grau I . Grau II . Grau III	600 (38.7%) 563 (36.3%) 388 (25.0%)
Invasió limfo-vascular	. No . Sí	1218 (80%) 304 (20%)
Número de focus	. Unifocals . Multifocals/Multicèntrics	1507 (85.5%) 254 (14.5%)
Estadi tumoral	. IA . IB . IIA . IIB . IIIA . IIIB . IIIC	983 (56.4%) 29 (1.7%) 433 (24.9%) 185 (10.6%) 84 (4.8%) 13 (0.7%) 16 (0.9%)
P53	. negativa . positiva	1433 (81.3%) 329 (18.7%)
Càrrega tumoral	. Baixa càrrega . Alta càrrega	1586 (90%) 176 (10%)

Quant a l'anàlisi descriptiu, pel que fa a l'objecte d'estudi, la p53, hi va haver 1433 casos (81.3%) amb tumors p53 negativa, i 329 casos (18.7%) de tumors p53 positiva, >0= a 10%. Si es diferenciava la p53 segons l'immunofenotip, hi havia 5.2% de Luminals A amb p53+, 15.6% Luminals B-HER2- amb p53+,

29.9% Luminals B-HER2+, 60.8% de HER2+ i 49.7% Triple Negatiu amb p53+ (figura 6).

FIGURA 6: Percentatge de p53+ en cada immunofenotip.



Finalment, pel que fa a la via d'arribada de la pacient a la Unitat Funcional, i la relació amb la p53, es van observar 752 casos (42.7%) que havien arribat a través del programa de Cribratge de Càncer de mama, i 1010 casos (57.3%) que havien arribat a través des d'Urgències o Consultes Externes. La p53+ s'associava de manera significativa més freqüentment a la via d'entrada a través d'aquesta darrera opció (**34.3% p53+ des de CCM vs 65.7% p53+ des d'altres vies, p=0.001**).

5.2. OBJECTIU 1: P53 I CÀRREGA TUMORAL AXIL·LAR

Considerant totes les neoplàsies globalment, es va observar una tendència inversa en la p53 quant a la càrrega axil·lar, essent més freqüentment positiva en aquelles neoplàsies amb baixa càrrega, malgrat no obtenir una significació estadística (19.1% vs 14.8%, $p=0.162$). No hi va haver diferències significatives tampoc en la p53 de manera global, si només es tenia en compte si l'aixella era patològicament negativa (0 ganglis afectes) o positiva (1 o més) (19.8% vs 16.4%, $p=0.092$).

Pel que fa als diferents immunofenotips, hi va haver diferències significatives pel que fa a la càrrega axil·lar en funció de la p53 en els subtipus Luminals en conjunt, essent més freqüentment positiva quan hi havia baixa càrrega que quan hi havia alta càrrega (**13.4% vs 7.0%, $p=0.031$**), especialment en aquells luminals (A i B) HER2- (**11.7% vs 4.8%, $p=0.017$**), així com específicament en els Luminals B HER2- (**16.9% vs 6.2%, $p=0.025$**). En aquests subtipus on les diferències eren significatives: quan la p53 era + en els Luminals en conjunt hi havia un 94.8% de casos amb baixa càrrega i un 5.2% de casos amb alta càrrega (**$p=0.031$**); i concretament en els subtipus Luminals B-HER2-, quan la p53 era +, hi haurà un 95.5% de casos amb baixa càrrega i un 4.5% de casos amb alta càrrega axil·lar (**$p=0.025$**).

No es van observar diferències en la càrrega axil·lar en els subtipus Luminal A, Luminal B-HER2+, HER2+ ni Triple Negatiu en funció de la p53 (taula 4).

TAULA 4: p53 i càrrega axil·lar en les diferents immunofenotips.

		Baixa càrrega (0, 1, 2 ganglis)	Alta càrrega (3 o més ganglis)	p
Luminals B HER2-	p53- p53+	419 (87.3%) 85 (95.5%)	61 (12.7%) 4 (4.5%)	0.025
Luminals B HER2+	p53- p53+	84 (87.5%) 37 (90.2%)	12 (12.5%) 4 (9.8%)	0.647
Luminals A	p53- p53+	324 (94.5%) 19 (100%)	19 (5.5%) 0 (0%)	0.292
HER2+	p53- p53+	26 (83.9%) 41 (85.4%)	5 (16.1%) 7 (14.6%)	0.852
Triple negatiu	p53- p53+	76 (85.4%) 79 (89.8%)	13 (14.6%) 9 (10.2%)	0.377

No hi va haver diferències significatives en la mediana de ganglis positius ($p=0.106$) o la distribució d'aquests ($p=0.114$) segons la p53 de manera global, ni per cap immunofenotip en particular.

5.3. OBJECTIU 2.1: FACTORS ASSOCIATS AMB LA CÀRREGA TUMORAL AXIL·LAR

Al valorar altres factors anatomo-patològics i moleculars, es va observar globalment de manera significativa associació amb alta càrrega axil·lar en els següents factors en l'estudi univariante: en el subtipus histològic quan aquest era lobel·lar (**16.7 lobel·lars vs 9.8% de carcinomes no especials en alta càrrega, $p=0.003$**), en la mida del tumor, quan aquests eren més grans (**4.8% de T1 vs 36.5% de T3 en alta càrrega, $p=0.001$**), en la invasió limfo-vascular

(4.9% negativa vs 31.6% positiva en alta càrrega, p=0.0001), en l'índex de proliferació o Ki67 **(5.8% baix vs 11.5% elevat en alta càrrega, p=0.002)**, en el grau histològic **(6.7% grau I vs 13.1% grau III en alta càrrega, p=0.006)**, i en el número de focus **(8.8% unifocals vs 16.9% multifocals/multicèntrics en alta càrrega, p= 0.001)**. No es va observar diferències en alta o baixa càrrega axil·lar quan s'analitzaven factors com els RE, RP o HER2 (taula 5).

TAULA 5: Anàlisi Univariant de Factors associats amb càrrega tumoral axil·lar de manera global.

Factors anatomo-patològics i moleculars	Baixa Càrrega Axil·lar	Alta Càrrega Axil·lar	p
P53 P53- P53+	1283 (89.5%) 303 (92.1%)	150 (10.5%) 26 (7.9%)	0.162
Subtipus histològic No especial Lobel·lar Tubular Altres tipus infiltrants	1283 (90.2%) 145 (83.3%) 20 (95.2%) 138 (95.2%)	139(9.8%) 29 (16.7%) 1 (4.8%) 7 (4.8%)	0.003
Mida tumoral T1 T2 T3	1169 (95.2%) 370 (80.4%) 47 (63.5%)	59 (4.8%) 90 (19.6%) 27 (36.5%)	0.001
Invasió limfo-vascular Absent Present No consta / no concloent	1158 (95.1%) 208 (68.4%) 220 (91.7%)	60 (4.9%) 96 (31.6%) 20 (8.3%)	0.001
Grau histològic Grau I Grau II Grau III No consta / no concloent	560 (93.3%) 502 (89.2%) 337 (86.9%) 187 (88.6%)	40 (6.7%) 61 (10.8%) 51 (13.1%) 24 (11.4%)	0.006
Número de focus Unifocals Multifocals/Multicèntrics	1387 (91.2%) 211 (83.1%)	133 (8.8%) 43 (16.9%)	0.001
Índex de proliferació Ki ≤ 14% Ki > 14%	453 (94.2%) 406 (88.5%)	28 (5.8%) 53 (11.5%)	0.002
Receptor estrogen RE- RE+	237 (86.8%) 1349 (90.6%)	36 (13.2%) 140 (9.4%)	0.055
Receptor progesterona RP- RP+	452 (88.8%) 1133 (90.5%)	57 (11.2%) 119 (9.5%)	0.283
Factor HER2 HER2 absent HER2 present	1398 (90.4%) 188 (87.0%)	148 (9.6%) 28 (13.0%)	0.120

Al realitzar l'anàlisi multivariant (taula 6), s'observaven com a factors independents significatius per predir alta càrrega tumoral la p53- ($p=0.029$), Ki67 > 14% ($p=0.04$), i l'invasió limfo-vascular ($p=0.001$).

TAULA 6: Anàlisi multivariant de factors associats amb la càrrega tumoral axil·lar de manera global.

Logistic regression						
Number of obs = 910						
LR chi2(10) = 99.30						
Prob > chi2 = 0.0000						
Log likelihood = -206.95098						

Alta Càrrega Axil·lar	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	

+-----						
P53						
NEG	1 (base)					
POS	.3991586	.1679828	-2.18	0.029	.174954	.9106828
Tipus AP						
carcinoma NST	1					
carcinoma lobel·lar	1.341533	.5710706	0.69	0.490	.5824488	3.089906
carcinoma tubular	2.51791	2.701898	0.86	0.389	.3073548	20.62721
Carcinoma infiltr altres	2960881	.2267556	-1.59	0.112	.0659992	1.328323
Infiltr_linfovasc						
0	1 (base)					
1	10.0306	2.738393	8.45	0.000	5.874154	17.12806
ki67						
NEG	1 (base)					
POS	1.822923	.532864	2.05	0.040	1.0279	3.23285
RE						
NEG	1 (base)					
POS	.6259729	.3270014	-0.90	0.370	.2248522	1.742665
RP						
NEG	1 (base)					
POS	1.179988	.4764956	0.41	0.682	.5347501	2.603782
ERBB2						
NEG	1 (base)					
POS	.9013982	.4219417	-0.22	0.824	.3601404	2.256116
Multifocalitat						
	1.1476	.134251	1.18	0.239	.9124595	1.443337

Pel que fa a l'anàlisi univariant d'aquests factors en cada immunofenotip (taules 7), es van observar algunes associacions significatives en cadascun d'ells. Ja s'ha comentat la relació de la p53 amb la baixa o alta càrrega en cada immunofenotip. Pel que fa als subtipus histològics, s'observava una relació significativa només en els Triple Negatius, on hi havia més carcinomes lobel·lars en alta càrrega i més carcinomes no especials en baixa càrrega (**p=0.001**). Pel que fa a la mida tumoral, s'observava significativament més alta càrrega en tumors T2 i T3 i més baixa càrrega en T1, en tots els immunofenotips. També l' invasió limfo-vascular es trobava més significativament present en els tumors amb alta càrrega axil·lar i absent en els tumors amb baixa càrrega en tots els immunofenotips. El grau histològic no predeia la càrrega axil·lar de manera significativa en cap immunofenotip. La multifocalitat/multicentricitat predeia alta càrrega axil·lar en els Luminals A (**p=0.028**) i Luminals B-HER2 negatius(**p=0.01**), així com la unifocalitat predeia baixa càrrega en aquests casos. Pel que fa a l'índex de proliferació cel·lular, s'observava una relació significativa amb baixa càrrega axil·lar quan aquesta era baixa en els Luminals B – HER2 negatius (**p=0.05**), i quan aquesta era alta en els Triple Negatius (**p=0.046**).

TAULES 7: Anàlisi Univariant de Factors associats amb càrrega tumoral axil·lar en cada immunofenotip.

		LUMINAL A			LUMINAL B – HER2 NEG			LUMINAL B – HER2 POS		
		Baixa Càrrega	Alta Càrrega	p	Baixa Càrrega	Alta Càrrega	p	Baixa Càrrega	Alta Càrrega	p
P53	P53- P53+	324 (94.5%) 19 (5.5%)	19 (100.0%) 0 (0%)	0.292	419 (83.1%) 85 (16.9%)	61 (93.8%) 4 (6.2%)	0.03	84 (69.4%) 37 (30.6%)	12 (75%) 4 (25%)	0.650
Subtipushistològic	No especial Lobel·lar Tubular Altre tipus infiltrants	284 (82.8%) 31 (9.0%) 5 (1.5%) 23 (6.7%)	13 (68.4%) 4 (21.1%) 1 (5.3%) 1 (5.3%)	0.189	407 (80.8%) 45 (8.9%) 8 (1.6%) 44 (8.7%)	53 (81.5%) 9 (13.8%) 0 (0%) 3 (4.6%)	0.300	100 (82.6%) 13 (10.7%) 2 (1.7%) 6 (5.0%)	15 (93.8%) 1 (6.3%) 0 (0%) 0 (0%)	0.670
Mida	T1 T2 T3	282 (82.2%) 55 (16.0%) 6 (1.7%)	9 (47.4%) 6 (31.6%) 4 (21.1%)	0.001	381 (75.6%) 109 (21.6%) 14 (2.8%)	23 (35.4%) 32 (49.2%) 10 (15.4%)	0.001	83 (68.6%) 36 (29.8%) 2 (1.7%)	5 (31.3%) 10 (62.5%) 1 (6.3%)	0.01
Invasió LV	Absent Present	294 (85.7%) 29 (8.5%)	10 (52.6%) 6 (31.6%)	0.001	390 (77.4%) 70 (13.9%)	19 (29.2%) 41 (63.1%)	0.001	76 (62.8%) 17 (14%)	4 (25%) 8 (50%)	0.001
Grau	Grau I Grau II Grau III	196 (57.1%) 87 (25.4%) 18 (5.2%)	8 (42.1%) 7 (36.8%) 1 (5.3%)	0.611	150 (29.8%) 197 (39.1%) 94 (18.7%)	17 (26.2%) 24 (36.9%) 16 (24.6%)	0.710	28 (23.1%) 38 (31.4%) 44 (36.4%)	1 (6.3%) 9 (56.3%) 6 (37.5%)	0.12
Focus	Unifocals Multif/Multicèntrics	297 (86.6%) 46 (13.4%)	13 (68.4%) 6 (31.6%)	0.028	438 (86.9%) 66 (13.1%)	49 (75.4%) 16 (24.6%)	0.01	97 (80.2%) 24 (19.8%)	13 (81.3%) 3 (18.7%)	0.92
Ki67	Ki ≤ 14% Ki > 14%	343 (100%) 0 (0%)	19 (100%) 0 (0%)	x	84 (23.5%) 274 (76.5%)	5 (10.9%) 41 (89.1%)	0.05	11 (20.4%) 43 (79.6%)	1 (20.0%) 4 (80%)	0.98
RE	RE- RE+	0 (0%) 343 (100%)	0 (0%) 19 (100%)	x	2 (0.4%) 502 (99.6%)	0 (0%) 65 (100%)	0.61	2 (1.7%) 119 (98.3%)	2 (12.5%) 14 (87.5%)	0.02
RP	RP- RP+	0 (0%) 343 (100%)	0 (0%) 19 (100%)	x	198 (39.4%) 305 (60.6%)	19 (29.2%) 46 (70.8%)	0.110	33 (27.3%) 88 (72.7%)	4 (25%) 12 (75%)	0.85
HER2	HER2- HER2+	343 (100%) 0 (0%)	19 (100%) 0 (0%)	x	504 (100%) 0 (0%)	65 (100%) 0 (0%)	x	0 (0%) 121 (100%)	0 (0%) 16 (100%)	x

		HER 2+			TRIPLE	NEGATIUS	
		Baixa Càrrega	Alta Càrrega	p	Baixa Càrrega	Alta Càrrega	p
P53	P53- P53+	26 (38.8%) 41 (61.2%)	5 (41.7%) 7 (58.3%)	0.852	76 (49.4%) 78(50.6%)	13 (59.1%) 9 (40.9%)	0.393
Subtipushistològic	No especial Lobel·lar Tubular Altrestipusinfiltrants	61 (91.0%) 1 (1.5%) 0 (0%) 5 (7.5%)	10(83.3%) 1 (8.3%) 0 (0%) 1 (8.3%)	0.376	123 (79.9%) 5 (3.2%) 0 (0%) 26 (16.9%)	15 (68.2%) 5 (22.7%) 0 (0%) 2 (9.1%)	0.001
Mida	T1 T2 T3	45 (67.2%) 18 (26.9) 4 (6.0%)	3 (25%) 6 (50%) 3 (25%)	0.012	101 (65.6%) 46 (29.9%) 7 (4.5%)	4 (18.2%) 13 (59.1%) 5 (22.7%)	0.001
Invasió LV	Absent Present	45 (67.2%) 8 (11.9%)	3 (25%) 6 (50%)	0.003	105 (68.2%) 27 (17.5%)	6 (27.3%) 15 (68.2%)	0.001
Grau	Grau I Grau II Grau III	6 (9.0%) 19 (28.4%) 38 (56.7%)	0 (0%) 1 (8.3%) 10 (83.3%)	0.265	14 (9.1%) 20 (13.0%) 104 (67.5%)	0 (0%) 3 (13.6%) 16 (72.7%)	0.518
Focus	Unifocals Multif/Multicèntrics	52 (77.6%) 15 (22.4%)	8 (66.7%) 4 (33.3%)	0.414	142 (92.2%) 12 (7.8%)	19 (86.4%) 3 (13.6%)	0.358
Ki67	Ki ≤ 14% Ki > 14%	6 (22.2%) 21 (77.8%)	0 (0%) 3 (100%)	0.361	9 (11.7%) 68 (88.3%)	3 (37.5%) 5 (62.5%)	0.046
RE	RE- RE+	67 (100%) 0 (0%)	12 (100%) 0 (0%)	x	154 (100%) 0 (0%)	22 (100%) 0 (0%)	x
RP	RP- RP+	67 (100%) 0 (0%)	12 (100%) 0 (0%)	x	154 (100%) 0 (0%)	22 (100%) 0 (0%)	x
HER2	HER2- HER2+	67 (100%) 0 (0%)	12 (100%) 0 (0%)	x	154 (100%) 0 (0%)	22 (100%) 0 (0%)	x

En l'anàlisi multivariant dels factors relacionats amb la càrrega axil·lar en cada immunofenotip (taules 8), es van confirmar algunes relacions significatives. En els diferents immunofenotips, es van valorar en l'anàlisi multivariant només la p53, l'invasió limfo-vascular, la mida, el grau nuclear i el número de focus. Altres factors com el Ki67, el subtipus histològic, RE, RP o la presència de HER2, no es van poder analitzar per no disposar de prous casos en els diferents immunofenotips.

En els Luminal A, es mantenia l'invasió limfo-vascular com a factor que predisposava a l'alta càrrega axil·lar (**p=0.01**), però no la mida (nom és els T3 però molt pocs casos) ni la multifocalitat/multicentricitat, com sí que s'observava en l'univariant.

En els Luminal B-HER2-, es mantenia l'invasió limfo-vascular (**p=0.001**), els T2 i T3 (**p=0.001 i 0.005**), i el grau nuclear II (**p=0.025**) com a factors associats significativament a alta càrrega axil·lar, i es perdia la significància en la p53 i la multifocalitat/multicentricitat.

En els Luminal B-HER2+, es tornava a repetir l'invasió limfo-vascular (**p=0.022**), i alguna mida com els T2 (**p=0.026**), com a factors predictius d'alta càrrega axil·lar.

En els tumors HER2+, l'invasió limfo-vascular (**p=0.005**) era l'únic factor que s'associava significativament a alta càrrega axil·lar. Respecte l'univariant, es perdia la significància en la mida.

En els Triple Negatiu, l'invasió limfo-vascular (**p=0.001**) i la mida (**T2 p=0.041 i T3 p=0.009**) eren els factors que predeïen alta càrrega axil·lar. Altres factors

associats significativament amb alta càrrega en l'anàlisi multivariant com els subtipus histològic i Ki67 no es van poder analitzar en aquest cas.

TAULA 8: Anàlisi multivariant de factors associats a alta càrrega tumoral en cada immunofenotip.

	LUMINAL A		LUMINAL B HER2-NEG		LUMINAL B HER2-POS		HER2+		TRIPLE NEGATIU	
	OR	p	OR	p	OR	p	OR	p	OR	p
P53 P53- P53+	Omesa	0.199	3.0660 1	0.065	2.3062 1	0.199	0.8889 1	0.915	1.4189 1	0.557
Mida T1 T2 T3	1 2.1385 269.068	0.313 0.013	1 3.2464 5.6363	0.001 0.005	1 5.4581 12.3509	0.026 0.109	1 5.1585 55.0823	0.132 0.179	1 3.8986 15.2446	0.041 0.009
Invasió LV Absent Present	1 6.3682	0.010	1 8.9098	0.001	1 4.8831	0.022	1 17.5358	0.005	1 8.3834	0.001
Grau Grau I Grau II Grau III	1 1.1253 1	0.870	1 .3740 .5733	0.025 0.256	1 3.3254 2.4405	0.309 0.466	1 0.4068 1	0.493	1 .9036 1	0.911
Focus	0.6447	0.433	1.1203	0.451	.6588	0.342	.5673	0.329	.5731	0.329

5.4. OBJECTIU 2.2: MIDA TUMORAL I CÀRREGA TUMORAL AXIL·LAR SEGONS P53

Pel que fa a la mida tumoral, hi va haver 1228 casos (69.7%) de tumors T1 (fins a 2cm), 460 casos (26.1%) de T2 (de 2.1cm a 5cm) i 74 casos (4.2%) de T3 (més de 5cm). En T2 i T3, la p53 era positiva més freqüentment que negativa, a diferència dels T1 (**p=0.001**) (taula 9).

TAULA 9: p53 i mida tumoral.

			pT			Total
			1,00	2,00	3,00	
p53	NEGATIVA	Recompte	1032	345	56	1433
		% en p53	72,0%	24,1%	3,9%	100,0%
	POSITIVA	Recompte	196	115	18	329
		% en p53	59,6%	35,0%	5,5%	100,0%
Total		Recompte	1228	460	74	1762
		% del total	69,7%	26,1%	4,2%	100,0%

P=0.001

En els Tumors fins a 2cm, quan la p53 era positiva hi havia un 98% de casos amb baixa càrrega axil·lar (**98% de p53+ en baixa càrrega vs 2% de p53+ en alta càrrega, p=0.048**). No s'observaven diferències significatives en canvi en T2 ni T3. La capacitat de predicció de la p53+ per a baixa càrrega axil·lar en T1 era significativa en els immunofenotips Luminals B (**19.5% de p53+ en baixa càrrega vs 9.9% de p53% en alta càrrega, p=0.035**), especialment en aquells Luminal B-HER2-, on quan la p53 era positiva hi havia un 95.5% de casos amb

baixa càrrega axil·lar i només un 4.5% de casos amb alta càrrega (**p=0.025**). No hi va haver diferències significatives de càrrega axil·lar segons la mida tumoral en Luminals A (p=0.292), HER2+ (p=0.852), Triple Negatiu (p=0.377) ni Luminals B-HER2+ (p=0.647) (taula 10).

TAULA 10: Mida tumoral i càrrega tumoral axil·lar segons p53 globalment.

Mida tumoral		Baixa Càrrega Axil·lar	Alta Càrrega Axil·lar	p
T1	p53-	977 (94.7%)	55 (5.3%)	0.048
	p53+	192 (98.0%)	4 (2.0%)	
T2	p53-	271 (78.6%)	74 (21.4%)	0.078
	p53+	99 (86.1%)	16 (13.9%)	
T3	p53-	35 (62.5%)	21 (37.5%)	0.749
	p53+	12 (66.7%)	6 (33.3%)	

5.5. OBJECTIU 2.3: ESTADI TUMORAL I NÚMERO DE FOCUS SEGONS P53.

Pel que fa l'estadi tumoral segons el TNM (taula 11), i agrupant els casos en les categories estadi I, estadi II i estadi III, es van observar diferències significatives entre les neoplàsies p53- i p53+, sent més freqüentment positiva en aquells estadis II i III que en estadis I (**p=0.003**).

TAULA 11: Estadi tumoral segons p53.

	Estadi I	Estadi III	Estadi III
P53-	852 (84.2%)	478 (77.3%)	92 (81.4%)
P53+	160 (15.8%)	140 (22.7%)	21 (18.6%)

P=0.003

No hi va haver diferències significatives en el número de focus en funció de la p53, essent multifocals i/o multicèntrics el 14.6% de casos on la p53 era negativa vs el 13.7% de casos quan la p53 era positiva (p=0.669).

Al diferenciar per immunofenotips, tampoc s'observaven diferències en el número de focus segons la p53 en cap d'ells (taula 12).

TAULA 12: Número de focus en cada immunofenotip segons la p53.

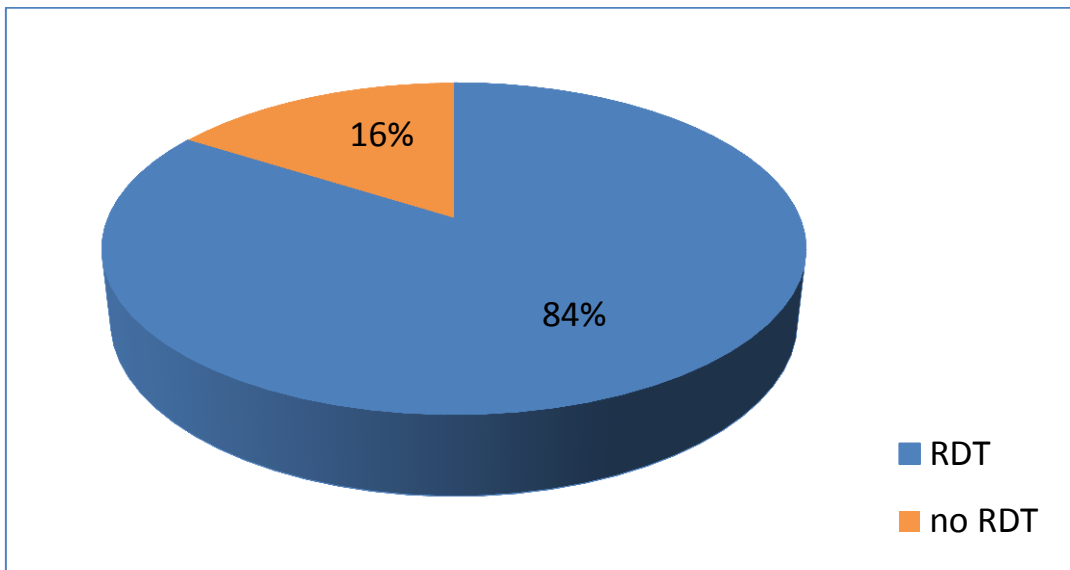
		Unifocals	Multifocals/ Multicèntrics	p
Luminals B HER2-	p53-	413 (86.0%)	67 (14.0%)	0.475
	p53+	74 (83.1%)	15 (16.9%)	
Luminals B HER2+	p53-	78 (81.3%)	18 (18.8%)	0.666
	p53+	32 (78.0%)	9 (22.0%)	
Luminals A	p53-	293 (85.4%)	50 (14.6%)	0.624
	p53+	17 (89.5%)	2 (10.5%)	
HER2+	p53-	22 (71.0%)	9 (29.0%)	0.405
	p53+	38 (79.2%)	10 (20.8%)	
Triple Negatiu	p53-	81 (91.0%)	8 (9.0%)	0.823
	p53+	92 (80.0%)	7 (8.0%)	

5.6. OBJECTIU 2.4: TRACTAMENTS ADJUVANTS I P53

Entre els tractaments adjuvants realitzats, 1477 casos (83.8%) van realitzar radioteràpia adjuvant (figura 7), 865 casos (49.1%) quimioteràpia adjuvant (figura 8), 1328 casos (75.4%) hormonoteràpia adjuvant (figura 9).

Pel que fa als tractaments amb radioteràpia, la p53 positiva va estar associada a més possibilitat de no realitzar tractament adjuvant que quan aquesta era negativa (**22.5% vs 14.7%, p=0.001**) (taula 13).

FIGURA 7: Tractaments amb Radioteràpia



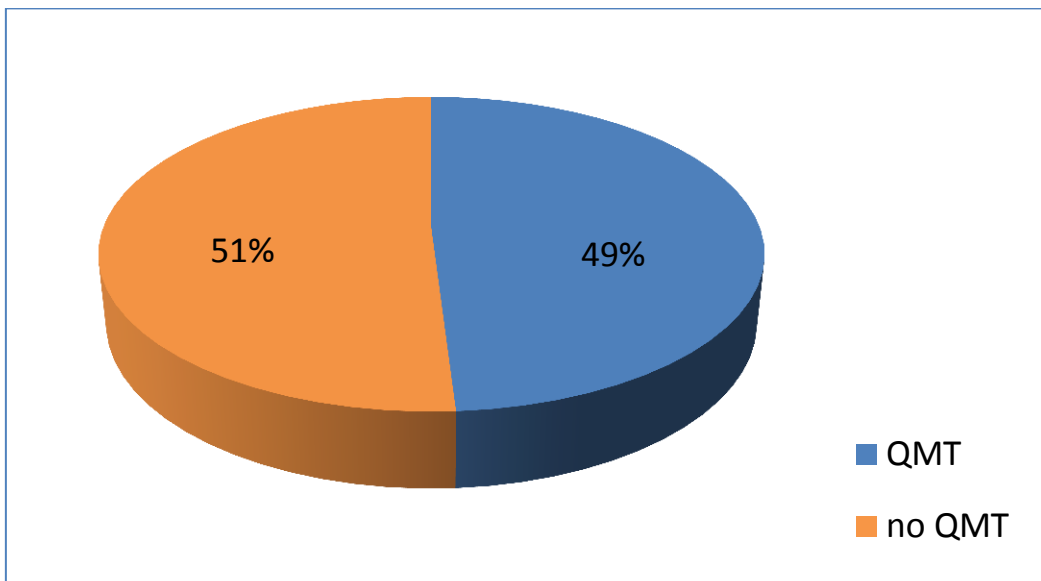
TAULA 13: P53 i tractament amb Radioteràpia

			RDT		Total
			No	Sí	
p53	NEGATIVA	Total	211	1222	1433
		%	14,7%	85,3%	100,0%
	POSITIVA	Total	74	255	329
		%	22,5%	77,5%	100,0%
Total			285	1477	1762
%			16,2%	83,8%	100,0%

P=0.001

Respecte els tractaments amb quimioteràpia, la p53 s'associava estadísticament a més possibilitat de tractament amb quimioteràpia que quan aquesta era negativa (**67.5 vs 44.9%, p=0.0001**) (taula 14).

FIGURA 8: Tractaments amb Quimioteràpia



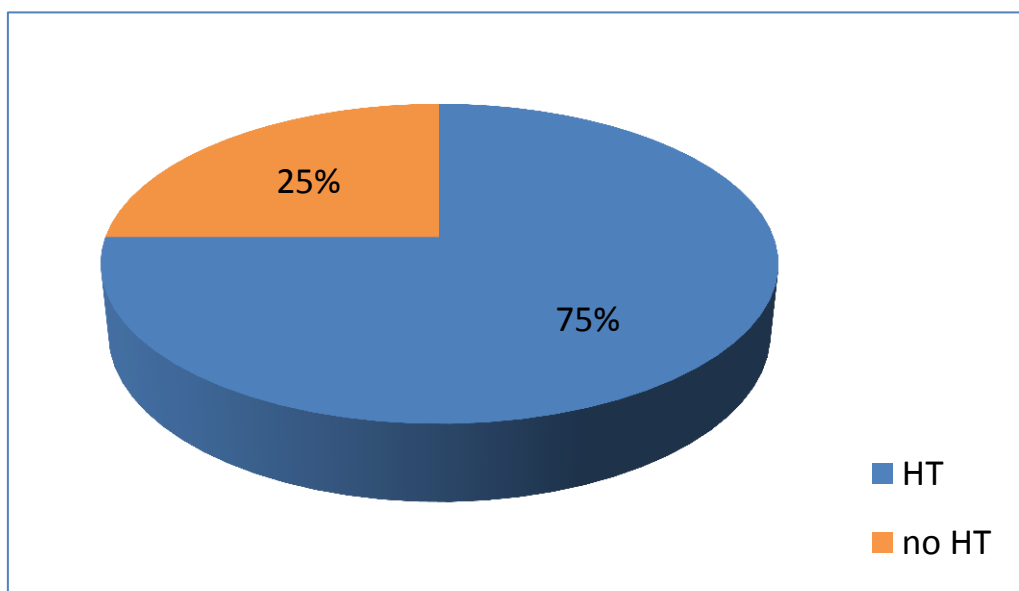
TAULA 14: P53 i tractament amb Quimioteràpia

			QMT		Total
			No	Sí	
p53	NEGATIVA	Total	790	643	1433
		%	55,1%	44,9%	100,0%
	POSITIVA	Total	107	222	329
		%	32,5%	67,5%	100,0%
Total			897	865	1762
%			50,9%	49,1%	100,0%

P=0.0001

Finalment, tenint en compte els tractaments sistèmics adjuvants amb hormonoteràpia, també s'observaven diferències significatives segons la p53, estant associada aquesta a menys freqüència de tractament quan era positiva (52% vs 80.7%, $p=0.0001$) (taula 15).

FIGURA 9: Tractaments amb Hormonoteràpia



TAULA 15: P53 i tractament amb Hormonoteràpia

			HT		Total
			NO	SÍ	
p53	NEGATIVA	Total	276	1157	1433
		%	19,3%	80,7%	100,0%
	POSITIVA	Total	158	171	329
		%	48,0%	52,0%	100,0%
		Total	434	1328	1762
		%	24,6%	75,4%	100,0%

P=0.0001

Al diferenciar per immunofenotips, només s'observava una associació en els Luminals B-HER2-, on aquells casos on la p53 era positiva hi havia significativament més probabilitat de realitzar quimioteràpia que en aquells Luminals B-HER2- amb p53 negativa (**64.0% vs 50.2%, p=0.016**) (taula 16).

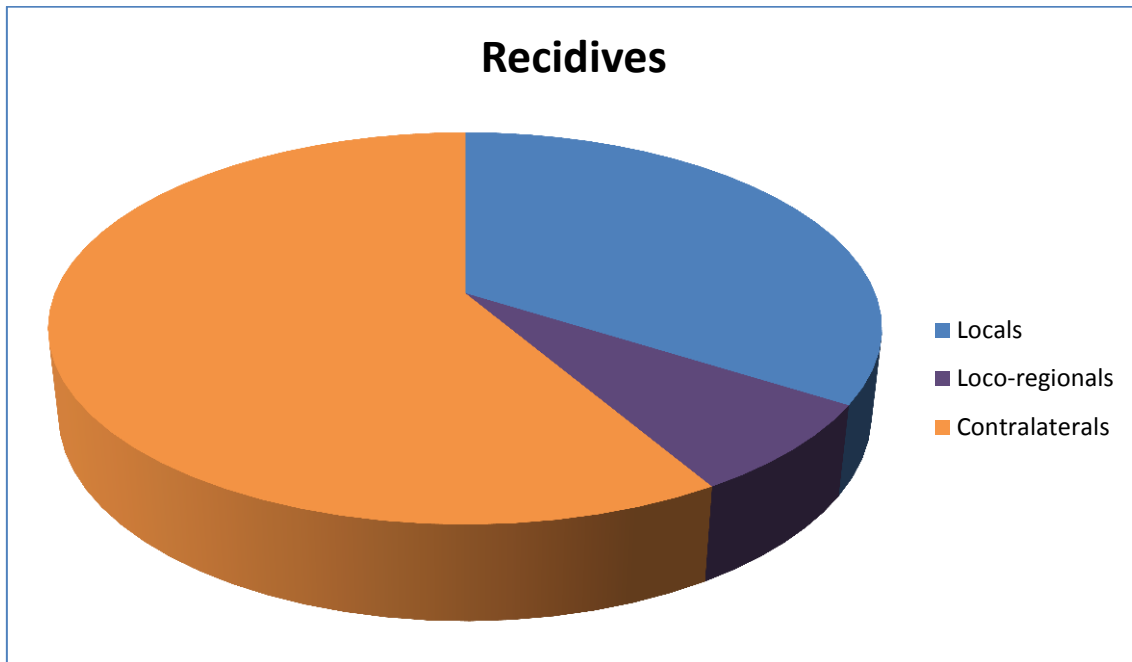
TAULA 16: Tractaments adjuvants i p53 en els diferents immunofenotips

		Radioteràpia	Quimioteràpia	Hormonoteràpia
Luminals A	p53-	307 (89.5%)	102 (29.7%)	331 (96.5%)
	p53+	16 (84.2%)	9 (47.4%)	18 (94.7%)
	P	0.469	0.105	0.687
Luminals B HER2-	p53-	430 (89.6%)	241 (50.2%)	423 (88.1%)
	p53+	75 (84.3%)	57 (64.0%)	79 (88.8%)
	P	0.145	0.016	0.864
Luminals B HER2+	p53-	77 (80.2%)	56 (58.3%)	77 (80.2%)
	p53+	31 (75.6%)	25 (61.0%)	33 (80.5%)
	P	0.546	0.773	0.970
HER 2+	p53-	24 (77.4%)	25 (80.6%)	0
	p53+	35 (72.0%)	33 (68.8%)	0
	P	0.653	0.243	
Triple Negatiu	p53-	67 (75.3%)	62 (69.7%)	0
	p53+	62 (71.3%)	69 (79.3%)	0
	P	0.547	0.142	

5.7. OBJECTIU 2.5: P53 I RECIDIVES

A l'analitzar la taxa de recidives loco-regionals i contralaterals tributàries de 2a cirurgia, es van observar 53 recidives (3% dels casos) durant el període d'estudi. D'aquestes, 18 casos (33.9%) eren recidives locals, 4 (7.6%) recidives loco-regionals en la mateixa mama i axil·la, i 31 casos (58.5%) recidives contralaterals en l'altra mama (figura 10). No s'han recollit en el registre de tumors les recidives en forma de metàstasis a distància.

FIGURA 10: Tipus de recidives.



La mitjana de temps en recidivar va ser de 77.8 mesos (6.5 anys), amb un rang de 16 mesos (2.3 anys) a 140 mesos (11.7 anys).

No hi va haver diferències significatives en la taxa de recidives de manera global segons la p53 en el conjunt de neoplàsies (2.9% de recidives en p53- vs 3.6% de recidives en p53+, $p=0.451$). La p53 era positiva en el 22.6% (12 casos) de les recidives, percentatge lleugerament superior al de les neoplàsies que no van recidivar (18.5%), malgrat no ser tampoc una diferència significativa ($p=0.451$).

A l'analitzar la taxa de recidives segons l'immunofenotip en funció de la p53, tampoc hi va haver diferències significatives en cap d'ells (taula 17).

TAULA 17: Recidives i p53 en els diferents immunofenotips

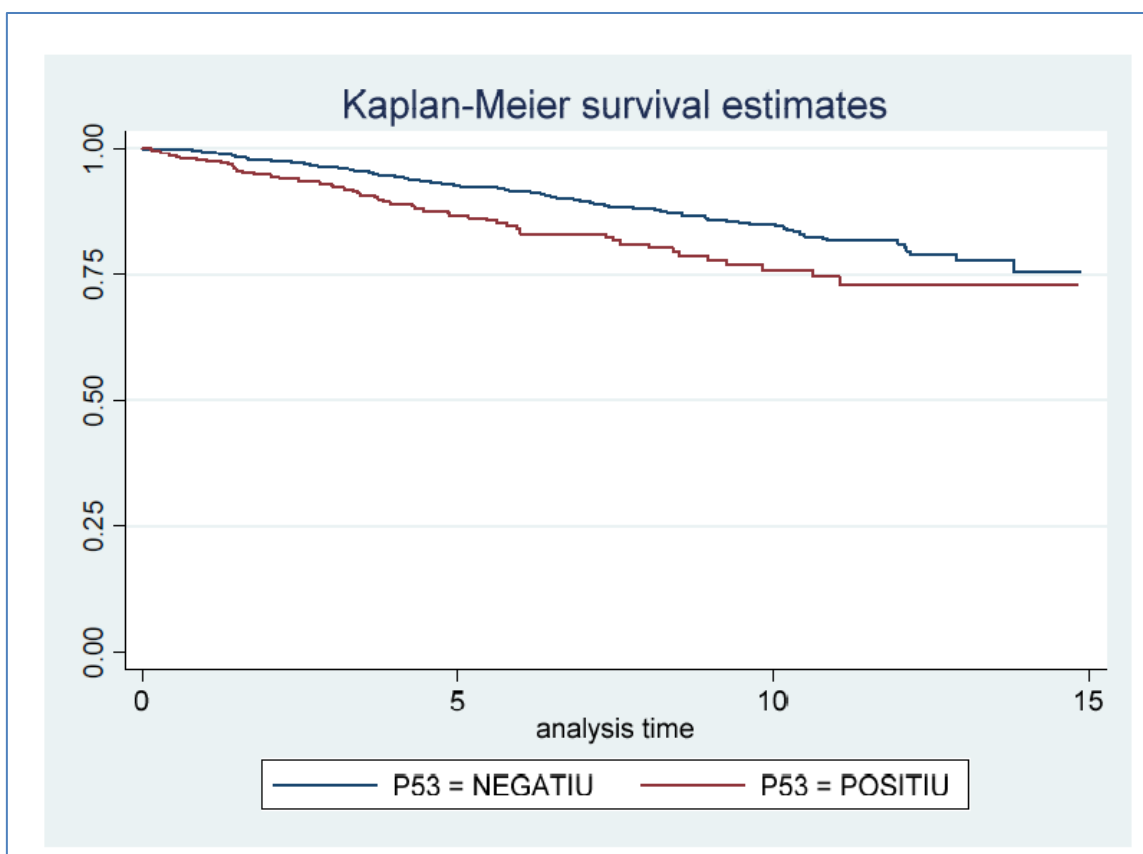
		No recidiva	Recidiva	p
Luminals B HER2-	p53-	475 (84.4%)	5 (83.3%)	0.945
	p53+	88 (15.6%)	1 (16.7%)	
Luminals B HER2+	p53-	93 (69.4%)	3 (100%)	0.252
	p53+	41 (30.6%)	0 (0%)	
Luminals A	p53-	338 (94.7%)	5 (100%)	0.596
	p53+	19 (5.3%)	0 (0%)	
HER2+	p53-	31 (40.8%)	0 (0%)	0.156
	p53+	45 (59.2%)	3 (100%)	
Triple Negatiu	p53-	89 (51.0%)	0 (0%)	0.150
	p53+	85 (48.9%)	2 (100%)	

En analitzar quin immunofenotip presentaven les recidives, s'observava 16 casos (30.2%) de Luminals A, 22 casos (41.5%) de Luminals B, 6 casos (11.3%) de HER2+ i 7 casos (13.2%) de Triples Negatiu. Tampoc hi va haver diferències significatives d'immunofenotip amb que van recidivar segons la p53 (p=0.93).

5.8. OBJECTIU 2.6: P53 I SUPERVIVÈNCIES

La supervivència global de les pacients amb càncer de mama durant el període d'estudi té un rang de 0 a 14 anys. En aquest temps, hi va haver 198 morts (11.98%). La supervivència global de les pacients p53+ va ser estadísticament pitjor que les p53- (**p=0.0018**) (Figura 11).

FIGURA 11: Supervivència global segons p53

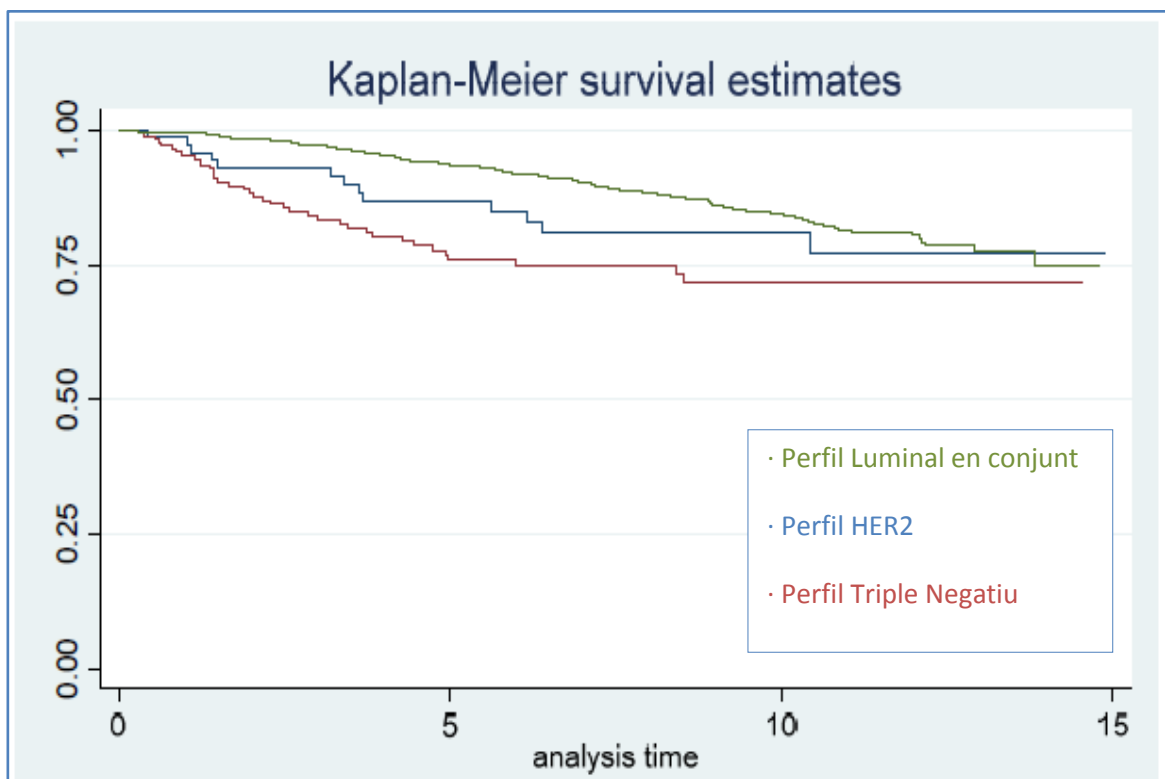


P=0.0018

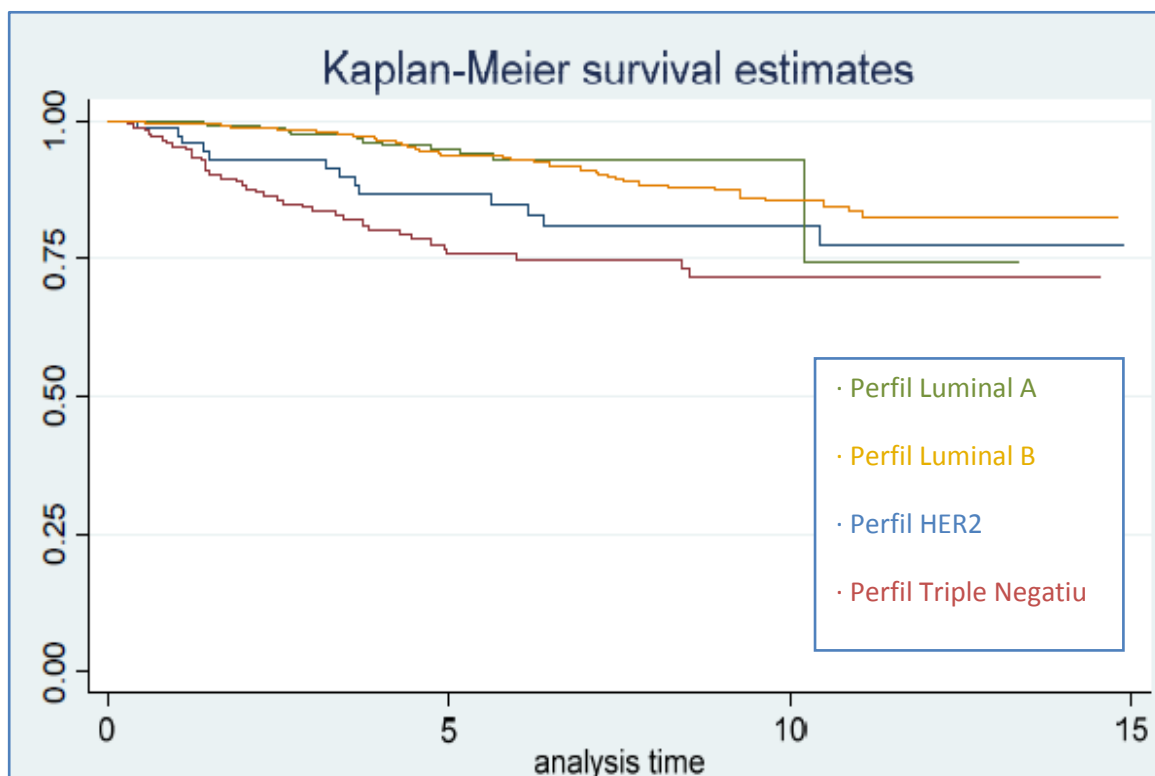
La mitjana de temps de vida quan hi va haver un 90% de supervivència de la població va ser de 6.8 anys (IC 95% = 5.7-7.9) en aquells casos amb neoplàsies p53- vs 3.7 anys (IC 95% = 2.8-5.2) en aquells casos de p53+ (**p=0.0018**).

Al comparar la supervivència global entre els diferents immunofenotips, també hi va haver diferències significatives entre aquelles neoplàsies Luminals en conjunt, amb millor supervivència, respecte les HER2+ o les Triple Negatives, amb la pitjor supervivència (**p=0.0001**), així com si es diferenciaven els diferents subtipus Luminals (**p=0.0001**) (figura 12).

FIGURES 12: Supervivència segons perfil molecular.



P=0.0001



P=0.0001

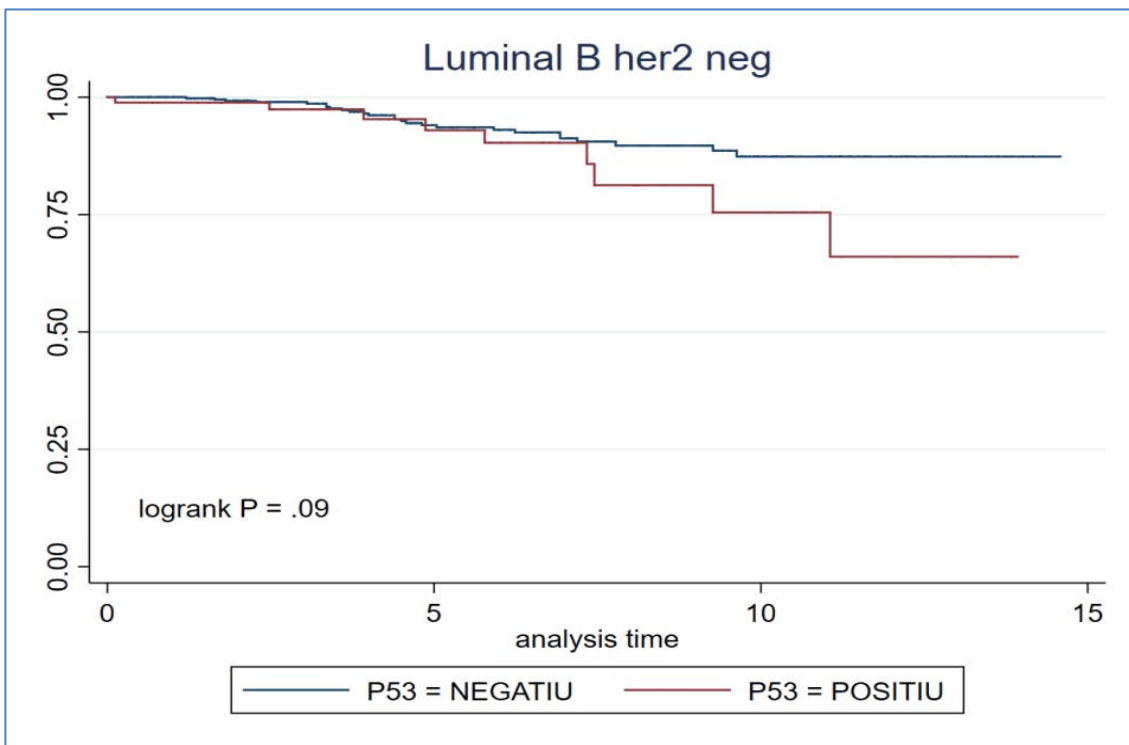
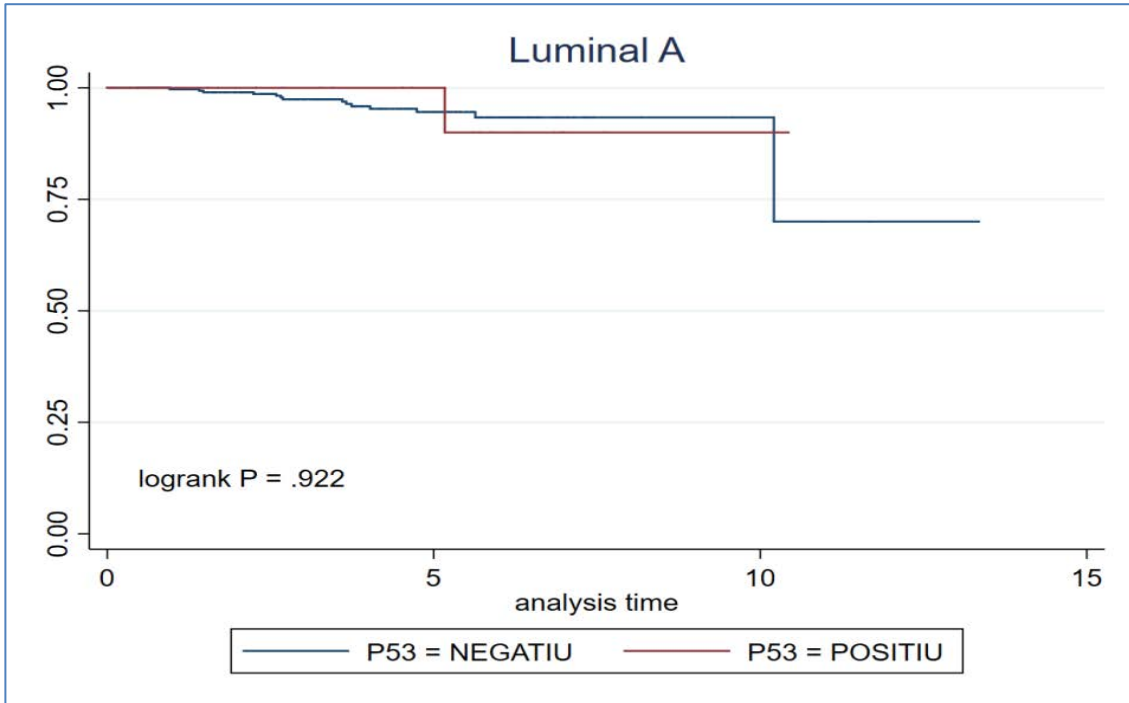
En l'anàlisi multivariant de la supervivència global (taula 18), els factors relacionats estadísticament amb pitjor supervivència van ser l'alta càrrega axil·lar (**p=0.0001**), l'edat (**p=0.0001**), i els subtipus Triple Negatiu (**p=0.0001**); augmentant 2.34 vegades la mortalitat respecte quan hi havia baixa càrrega axil·lar i 2.28 vegades respecte els immunofenotips Luminals, respectivament. La p53, en l'anàlisi multivariant, no va ser un factor significatiu per a predir pitjor supervivència globalment.

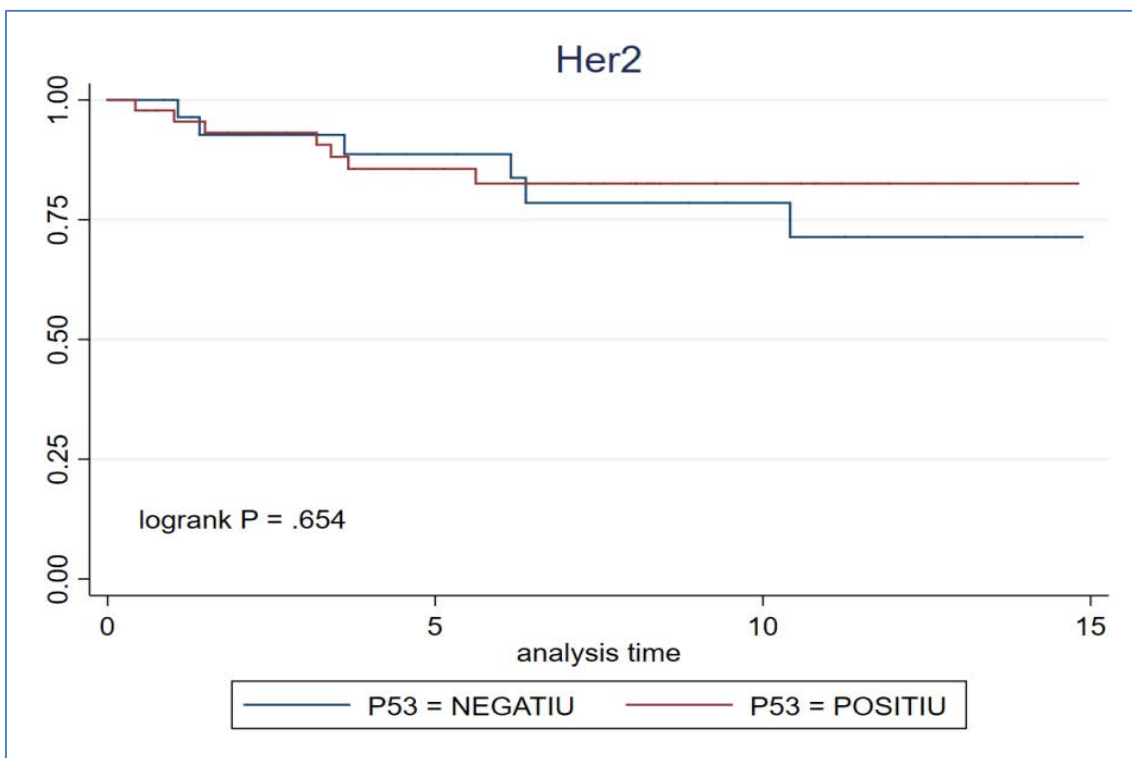
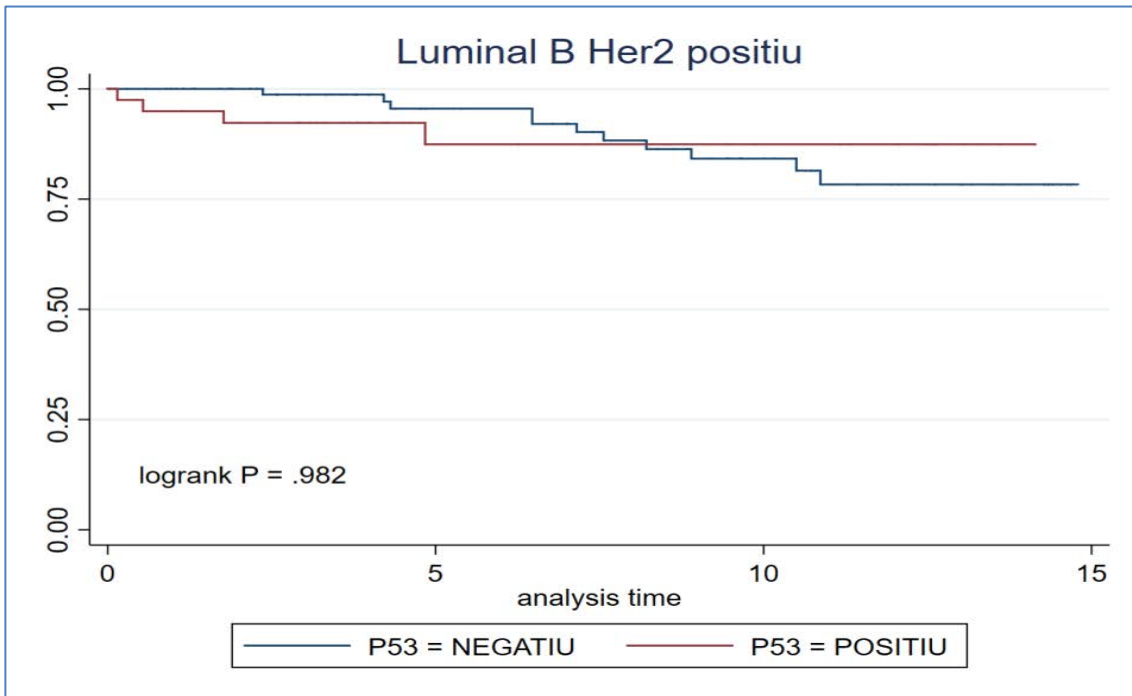
TAULA 18: Anàlisi multivariant de supervivència global.

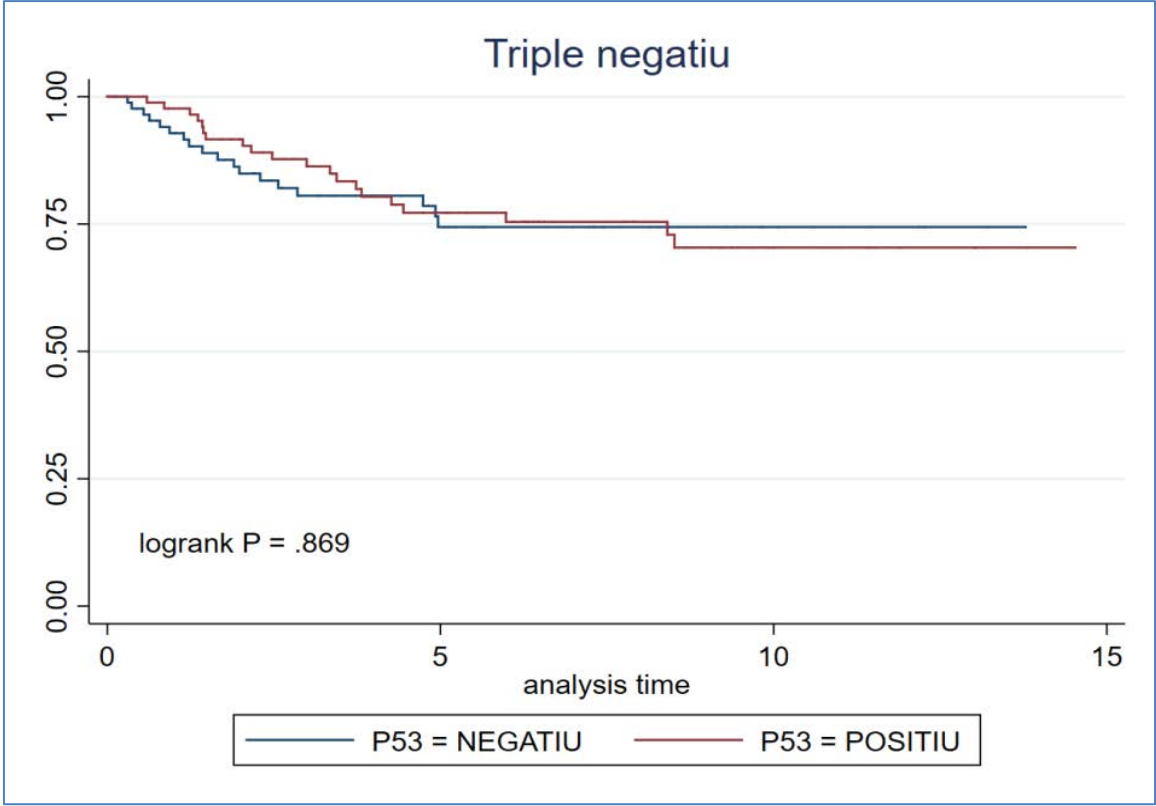
_t	Haz. Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
P53					
NEGATIU	1	(base)			
POSITIU	1.35339	.250644	1.63	0.102	.9414183 1.945642
Immunogrups					
0	1	(base)			
HER2	1.277241	.3908705	0.80	0.424	.7011032 2.326825
TRIPLEn	2.281894	.4708353	4.00	0.000	1.522869 3.419231
carrega_mes2					
0	1	(base)			
1	2.340599	.417057	4.77	0.000	1.650656 3.318924
EDAT	1.075588	.0070136	11.17	0.000	1.061929 1.089423

A l'observar la supervivència global en cada immunofenotip segons la p53, no es van observar diferències significatives en cap d'ells en funció d'aquest paràmetre, malgrat hi havia una tendència quasi significativa ($p=0.09$) en els Luminals B-HER2- (figures 13).

FIGURES 13: Supervivència en cada immunofenotip segons la p53.







El temps de supervivència mitjana en cada immunofenotip pel 90% de la població va variar del 1.4-2.2 anys en els Triple Negatiu a 5.2-10.2 anys en els Luminals A, segons fossin p53- o p53+. No va haver tampoc diferències significatives en aquest paràmetre en cap immunofenotip (taula 19).

TAULA 19: Temps de vida en cada immunofenotip segons la p53 pel 90% de supervivència de la població.

Immunofenotip		Mitjana de temps (anys)	p
Luminal A	P53-	10.2	0.922
	P53+	5.2	
Luminal B HER2-	P53-	7.8	0.09
	P53+	7.3	
Luminal B HER2+	P53-	7.6	0.982
	P53+	4.8	
HER2+	P53-	3.6	0.654
	P53+	3.4	
Triple negatiu	P53-	1.4	0.869
	P53+	2.2	

Pel que fa a l'anàlisi multivariant de factors associats amb pitjor supervivència en cada immunofenotip, es van analitzar la p53+, l'alta càrrega axil·lar i l'edat, de manera anàloga a l'estudi global de tota la població.

En els Luminal A, l'edat més gran ($p=0.001$) va ser l'únic factor associat a pitjor supervivència (taula 20).

TAULA 20: Anàlisi multivariant de factors associats amb pitjor supervivència en Luminal A.

Cox regression -- no ties						
No. of subjects =	361	Number of obs =	361			
No. of failures =	15					
Time at risk =	1446.2423					
Log likelihood =	-69.66238	LR chi2(3) =	13.57			
		Prob > chi2 =	0.0036			

_t	Haz. Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	

P53						
NEGATIU	1	(base)				
POSITIU	1.529361	1.615854	0.40	0.688	.1928274	12.12973
carrega_mes2						
0	1	(base)				
1	1.043299	1.01104	0.04	0.965	.1561442	6.970942
EDAT	1.083378	.0252739	3.43	0.001	1.034958	1.134064

En els Luminal B-HER2-, tant la p53+ ($p=0.042$), com l'alta càrrega axil·lar ($p=0.013$), com l'edat ($p=0.001$) predeien pitjor supervivència (taula 21).

TAULA 21: Anàlisi multivariant de factors associats amb pitjor supervivència en Luminal B-HER2-.

Cox regression -- Breslow method for ties						
No. of subjects =	564	Number of obs =	564			
No. of failures =	35					
Time at risk =	2900.618754					
Log likelihood =	-182.14318	LR chi2(3) =	18.49	Prob > chi2 =	0.0003	
_t	Haz. Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	

P53						
NEGATIU	1	(base)				
POSITIU	2.218312	.8701518	2.03	0.042	1.028328	4.78535
carrega_mes2						
0	1	(base)				
1	2.749799	1.120791	2.48	0.013	1.236971	6.112828
EDAT	1.053746	.0161376	3.42	0.001	1.022587	1.085854

En els Luminal B-HER2+, l'alta càrrega axil·lar ($p=0.026$) i l'edat ($p=0.003$) s'associaven de manera significativa a pitjor supervivència (taula 22).

TAULA 22: Anàlisi multivariant de factors associats amb pitjor supervivència en Luminal B-HER2+.

Cox regression -- Breslow method for ties						
No. of subjects =	137	Number of obs =	137			
No. of failures =	15					
Time at risk =	966.2696783					
Log likelihood =	-57.076597	LR chi2(3) =	15.32	Prob > chi2 =	0.0016	
_t	Haz. Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	

P53						
NEGATIU	1	(base)				
POSITIU	1.063834	.626831	0.11	0.916	.3352203	3.376119
carrega_mes2						
0	1	(base)				
1	3.562533	2.027468	2.23	0.026	1.167704	10.86888
EDAT	1.076031	.0264129	2.99	0.003	1.025488	1.129065

En els tumors HER2+, només l'edat predeia pitjor supervivència (**p=0.001**) (taula 23).

TAULA 23: Anàlisi multivariant de factors associats amb pitjor supervivència en HER2+.

Cox regression -- no ties						
No. of subjects =	79			Number of obs =	79	
No. of failures =	13					
Time at risk =	542.6584531					
Log likelihood =	-42.43875			LR chi2(3) =	18.97	
				Prob > chi2 =	0.0003	

_t	Haz. Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	

P53						
NEGATIU	1	(base)				
POSITIU	.7723607	.4404048	-0.45	0.651	.2526154	2.361459
carrega_mes2						
0	1	(base)				
1	.9960611	.6817784	-0.01	0.995	.2604116	3.809884
EDAT	1.112382	.0327004	3.62	0.000	1.050102	1.178356

Finalment, pel que fa als Triple Negatius, l'alta càrrega tumoral axil·lar (**p=0.001**) i l'edat (**p=0.001**) s'associaven a pitjor supervivència en l'anàlisi multivariant (taula 24).

TAULA 24: Anàlisi multivariant de factors associats amb pitjor supervivència en Triple Negatiu.

Cox regression -- Breslow method for ties						
No. of subjects =	177	Number of obs =	177			
No. of failures =	38					
Time at risk =	949.0020534					
Log likelihood =	-162.20204	LR chi2(3) =	40.30			
		Prob > chi2 =	0.0000			
_t	Haz. Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	

P53						
NEGATIU	1	(base)				
POSITIU	.8268164	.2708273	-0.58	0.562	.4351052	1.571172
carrega_mes2						
0	1	(base)				
1	4.412213	1.59797	4.10	0.000	2.169587	8.972964
EDAT	1.06774	.0147655	4.74	0.000	1.039188	1.097075

6. Discussió

La p53 en el càncer de mama és un factor més a l'hora de determinar el seu diagnòstic, pronòstic i la seva terapèutica. En el nostre treball, s'observa com la mutació en aquest gen, amb la sobreexpressió conseqüent de la seva proteïna, pot ajudar a definir un perfil específic de neoplàsia de mama.

Els tractaments actuals del càncer de mama es basen en 3 pilars fonamentals: cirurgia i radioteràpia per un control loco-regional òptim, alhora que tractaments sistèmics cada vegada més dirigits per minimitzar el risc de disseminació i la malaltia a distància. Al tractar-se no únicament d'una malaltia, sinó de diverses, el valor amb que es puguin ponderar cada un dels tractaments pot tenir una importància diferent en cada cas.

Pel que fa al camp quirúrgic, en l'era de la medicina personalitzada cada vegada pren més importància conèixer abans de la cirurgia els factors que poden predir l'extensió loco-regional, concretament la càrrega axil·lar. Són coneguts nombrosos factors anatomo-patològics, i darrerament també biomoleculars com el seu perfil immunohistoquímic. Els tumors Luminals B-HER2+ i HER2+ purs per exemple, amb els marcadors biomoleculars corresponents, estan associats a alta càrrega tumoral axil·lar (100,114). No hi ha un consens clar però, en definir quins d'aquests factors predictius són els més adequats per generalitzar-los quan s'han intentat validar en nomogrames amb poblacions diferents a les d'origen (115,116). Alguns, com el del MSKCC (104), semblen més adequats a l'aconseguir discriminar de manera més precisa si comparem les diferents eines entre elles (117). El nostre treball també pretén doncs contribuir humilment a definir aquesta baixa o alta càrrega axil·lar en la nostra població, de cara a poder individualitzar-ne la seva dissecció en un futur. Amb biòpsia selectiva del gangli sentinella, amb

limfadenectomies clàssiques, o fins i tot algun dia evitar també la BSGC en casos seleccionats (118), per no estar aquesta exempta de temps, costos i morbiditat (119). Altres conductes que també es podrien estandarditzar per tal de personalitzar encara més l'abordatge axil·lar seria la realització de limfadenectomies parcials adaptades amb diferents tècniques dirigides. Aquestes, pretendrien sobretot evitar els falsos negatius després de neoadjuvència amb ganglis positius d'entrada (120,121), però també tindrien possibles aplicacions en cirurgies com a tractament primari.

Existeixen alguns projectes en marxa actualment, com l'assaig clínic randomitzat TAXIS que es troba en fase de reclutament (122), o el treball també en marxa del nostre grup –estudi MUTAS- que pretén demostrar que realitzant només l'exèresi de certs ganglis dels nivells més inferiors, en aquelles pacients amb diagnòstic d'afectació axil·lar abans de la cirurgia, a través d'un triple marcatge (ganglis radiològicament sospitosos marcats en el diagnòstic, ganglis on hi dreni colorant el dia de la cirurgia, i ganglis sentinella que captin radioisòtop a nivell de medicina nuclear), es podria estalviar la limfadenectomia clàssica en alguns casos.

Per tots aquests motius, en aquest treball s'ha decidit incloure només aquells tumors de mama infiltrants amb tractament primari quirúrgic. Per evitar els possibles canvis que es poden observar després de tractaments sistèmics neoadjuvants, demostrats tant en els factors predictius moleculars com el Ki67 o la mateixa negativització que pot esdevenir amb la p53 (123); com en la disminució de la càrrega axil·lar (124), i per tant, la dificultat d'utilitzar-los com a predictius en un futur en cas de tractaments sistèmics enmig.

Pel que fa a la hipòtesi i a l'objectiu principal, s'ha observat la p53+ en un 18.7% dels casos intervinguts. Aquesta dada, així com els percentatges particulars en cada immunofenotip (5.2% en Luminals A, 15.6% en Luminals B-

HER2-, 29.9% en Luminals B-HER2+, 60.8% en HER2+ i 49.7% en Triple Negatiu) van en la línia dels registres existents mundials sobre p53 (52,63), així que es pot afirmar que els nostres resultats poden ser traslladables amb suficient precisió a altres centres.

En el nostre estudi, de manera global la p53+ no s'ha associat a baixa càrrega axil·lar en l'anàlisi univariant de manera significativa, però sí en el multivariant (**p=0.029**). Aquest fet, menys freqüent que la situació estadística habitual on una associació univariada entre dos factors pot resultar significativa però perdre la significància en l'anàlisi multivariant de tots els factors, es coneix com la paradoxa de Simpson (125). Aquesta, dona resposta al fet científic que en l'anàlisi de la relació de diferents factors, una tendència determinada esdevingui contrària al combinar-los entre ells. En qualsevol cas, aquest paràmetre podria, juntament amb d'altres, ajudar a predir la càrrega tumoral axil·lar, com a mínim en algun tipus de càncer de mama.

Avaluant la literatura existent entre aquella que no demostra associació entre p53+ i baixa càrrega axil·lar (a diferència dels nostres estudis previs on sí que s'observa una relació significativa), es constata que només existeixen quatre únics treballs clínics que han relacionat directament aquests dos factors. En un d'ells, la p53 era positiva de manera global en un 45.18% dels casos (109), un percentatge molt superior a la resta de treballs, i també al nostre (per tant, amb possibles biaixos de selecció). En els altres tres, malgrat sí que s'associa una tendència de p53+ i baixa càrrega tumoral axil·lar, no es demostren diferències significatives (55,110,126), però caldria tenir en compte que el número de pacients totals amb p53+ en aquests estudis és de 11, 130 i 48, és a dir, molt inferior a les 329 pacients p53+ del nostre treball. Per tant, l'evidència científica en aquest sentit fins ara era molt limitada.

Per altra banda, els nostres treballs previs demostren una associació molt significativa entre la p53+ i baixa càrrega tumoral axil·lar. En el treball de *Vernet et al* (111), un 96.6% dels casos amb p53+ tenien només 1 o 2 ganglis axil·lars afectes, sense altres ganglis no sentinelles infiltrats. En el treball previ de *Nicolau et al* (112), s'observava que analitzant retrospectivament 105 limfadenectomies com a tractament primari, la p53+ era l'únic factor biomolecular associat significativament a baixa càrrega axil·lar (a més d'altres factors de sospita o confirmació radiològica). En aquests casos, quan la p53 era positiva, en un 80% de les vegades hi havia només 1 o 2 ganglis infiltrats. Ambdues dades van en la línia a les del treball actual, on quan de la p53 és positiva hi ha més d'un 90% de casos amb baixa càrrega i menys d'un 10% d'alta càrrega axil·lar de manera global i en tots els immunofenotips.

En l'anàlisi de la capacitat de predicció de la p53 sobre la càrrega tumoral axil·lar en cada immunofenotip, s'observa una associació significativa únicament en aquells Luminals en general, així com específicament en Luminals B-HER2-. En aquests casos, quan la p53 és positiva, s'observa al voltant d'un 95% de casos amb baixa càrrega i només un 5% de casos amb alta càrrega axil·lar, unes diferències importants no només a nivell estadístic sinó també clínic. És a dir, que especialment en aquells tumors Luminals B-HER2 NEGATIUS, la p53 podria contribuir com un factor més a l'hora de predir la càrrega axil·lar, i per tant potser a decidir el tractament a recomanar a la pacient.

Si observem els diferents immunofenotips del nostre treball, de manera anàloga a la literatura els tumors que més freqüentment han generat alta càrrega tumoral axil·lar han estat els HER2+, seguits dels Triple Negatiu, Luminals B, i finalment els Luminals A, essent aquestes diferències significatives, i per tant, equiparables a altres treballs.

Altres factors a més de la p53 i el subtipus molecular, s'han observat associats a baixa o alta càrrega axil·lar, de manera global i en cada immunofenotip. Els factors que més freqüentment s'han associat a alta càrrega tumoral axil·lar, tant en l'anàlisi univariant com en el multivariant de manera global, han estat l'invasió limfo-vascular i l'alta proliferació cel·lular. Els dos (excepte el ki67 en tumors HER2+), es mantenen com a factors predictors d'alta càrrega tumoral axil·lar en tots els immunofenotips en els respectius anàlisis univariants, per tant, es podrien considerar clarament com a marcador subrogat d'alta càrrega en la nostra població. Un fet lògic fisiopatològicament, i repetit també en la literatura (127,128). En els anàlisis multivariants de cada immunofenotip, l'únic factor significatiu en tots ells que prediu alta càrrega axil·lar és l'invasió limfo-vascular (el ki67 no s'ha pogut estudiar en anàlisi multivariant per disposar de pocs casos en alguns subgrups).

Altres factors, com el grau histològic més elevat, els subtipus histològics lobel·lars o la multifocalitat, són indicadors d'alta càrrega tumoral axil·lar en l'anàlisi univariant de manera global, però perden majoritàriament la relació significativa quan es realitza l'anàlisi multivariant, o es diferencia per cada immunofenotip. Aquest fet, que sí que s'observa en la literatura (129), podria explicar-se per la reducció de casos estudiats quan s'analitza en les diferents categories.

És especialment rellevant determinar factors predictius i pronòstics en els immunofenotips Luminals B, doncs sovint són els que generen més dubtes a l'hora de prendre decisions terapèutiques malgrat ser curiosament els més freqüents, considerant-se al voltant d'un 40% dels càncers de mama (130), similarment al nostre estudi amb un 40.1% (malgrat probablement ser una proporció més elevada en la nostra població si consideréssim que entre els Luminals indeterminats podria haver també algun Luminal B). De manera diferent als Luminals A, clarament definits i de bon pronòstic, i als càncers de mama HER2+ i Triple Negatiu, amb pitjor supervivència però amb cada

vegada més tractaments sistèmics diana dirigits, els Luminals B són sovint un “calaix de sastre” on pot haver més dubtes en el benefici o risc dels diferents tractaments sistèmics. Aquests tumors, a diferència dels Luminals A, tenen una proliferació cel·lular més elevada, menys expressió dels RH i per tant menys probabilitat de resposta a tractaments amb hormonoteràpia, i en definitiva més agressivitat natural, un risc de recidiva loco-regional superior i pitjor pronòstic (131). En el nostre treball, a més de la p53+, altres factors com la mida tumoral petita, l'absència d'invasió limfo-vascular, l'unifocalitat i el Ki67 baix han predit baixa càrrega tumoral axil·lar de manera significativa en els Luminals B-HER2 negatius, així com també a més a més el baix grau nuclear en l'anàlisi multivariant. I per tant l'han distingit com un immunofenotip amb unes característiques específiques a l'hora de considerar l'afectació axil·lar. Aquest és un fet rellevant ja que fins ara la major part de la literatura que associava immunofenotips amb alta càrrega axil·lar eren aquells amb el component HER2 positiu (HER2+ purs i Luminal B-HER2+) (100,114).

Fins i tot en el nostre cas, els Luminals B-HER2- són els únics immunofenotips que de manera particular s'han associat de significativament a la possibilitat o no de tractaments adjuvants, en aquest cas amb més probabilitat de realitzar quimioteràpia quan la p53 és positiva que quan aquesta és negativa. Cal dir, que el fet no trobar tantes diferències significatives en els altres immunofenotips com els Luminal A, HER2+ i Triple Negatiu pot haver estat de nou per disposar de pocs casos a l'estratificar per grups.

Tots aquests aspectes podrien servir per elaborar nomogrames predictius de càrrega axil·lar, i per tant, cirurgies axil·lars més personalitzades, segons cada immunofenotip. És a dir, que determinats factors, com la p53+, l'invasió limfo-vascular, o el ki67 en un determinat subtipus, tinguessin un pes predictiu de càrrega axil·lar diferent en un altre subtipus, i per tant la proposta quirúrgica també fos diferent.

Pel que fa a la mida, s'observa de manera lògica que lesions més grans (T2 i T3) s'associen a alta càrrega axil·lar (**p=0.001**). També de manera anàloga a la literatura (55), la p53+ prediu una mida més gran de tumors, de manera global i en tots els immunofenotips significativament, donant-li aquest status de neoplàsies més agressives en el seu creixement. A l'observar com s'associa la mida amb la càrrega axil·lar segons la p53, es fa palès que aquesta mutació prediu baixa càrrega axil·lar només en T1 (**16.4% de p53+ en baixa càrrega vs 6.8% de p53+ en alta càrrega, p=0.048**). No s'observen diferències significatives en canvi en T2 ni T3. Aquesta capacitat de predicció de la p53+ per a baixa càrrega axil·lar en T1 és significativa sobretot en els immunofenotips Luminals B (**19.5% de p53+ en baixa càrrega vs 9.9% de p53+ en alta càrrega, p=0.035**), especialment en aquells Luminal B-HER2-, on quan la p53 és positiva hi ha un 95.5% de casos amb baixa càrrega axil·lar i només un 4.5% de casos amb alta càrrega (**p=0.025**). No hi ha diferències significatives de càrrega axil·lar segons la mida tumoral en funció de la p53 en Luminals A, HER2+, Triple Negatiu ni Luminals B-HER2+, esdevenint de nou un perfil immunofenotípic amb unes característiques específiques que fa que determinats factors puguin diferenciar-hi clarament la possibilitat de baixa amb alta càrrega tumoral axil·lar. El fet que la p53+ s'associï amb baixa càrrega axil·lar sobretot en tumors petits, especialment en alguns subtipus com els Luminal B-HER2 negatiu, podria contribuir també en un futur a seleccionar casos de cirurgies axil·lars personalitzades menys agressives quan el focus principal no supera els 2cm. Futurs estudis hauran de determinar si amb una "n" més elevada de T2 i T3, cada vegada més primàriament operables, sobretot aquells casos luminals (amb menys resposta a neoadjuvència) gràcies a les tècniques oncoplàstiques, es podrà observar també associacions significatives amb una menor o major càrrega axil·lar segons la p53. Cal dir que el 69.7% de neoplàsies del nostre estudi han estat T1, però que en la població "real" incloent la neoadjuvència, probablement la mitjana de la mida tumoral sigui més gran dels 18mm del nostre treball. Aquest fet té una certa importància doncs és conegut l'augment de recidives després de tècniques oncoplàstiques, especialment en aquells subtipus no luminals, o si coexisteixen altres factors com el grau histològic poc diferenciat o el carcinoma in-situ associat (132).

De la mateixa manera, és rellevant que l'estadi tumoral segons el TNM tradicional (més elevat en Luminals B, HER2+ i Triple Negatiu) es trobi associat de manera directament proporcional a la p53 ($p=0.001$), conferint altra vegada un perfil més agressiu de tumor quan aquesta és positiva. En canvi, crida l'atenció que la p53+ en el nostre treball no prediu més risc de multifocalitat/multicentricitat de manera general ni en cap immunofenotip, tal com sí descriuen altres autors (133), malgrat tenir en el nostre cas una proporció del 15% de lesions multifocals/multicèntriques, igual o inclús superior a la considerada habitual en la literatura (134).

Pel que fa als tractaments adjuvants, són notòries les indicacions generals en el nostre treball d'aquests tractaments respecte les descrites habitualment a la literatura, amb unes proporcions més elevades en el nostre cas de radioteràpia (83.8% en el nostre treball vs 57.3% descrites en estadis inicials des que s'implementa la cirurgia conservadora) (135). Aquesta evolució en les darreres dècades, també l'hem observat en el nostre centre, on en estudis previs a aquest treball de l'any 1990 al 2005, sobre un total de 4545 tractaments amb radioteràpia per càncer de mama amb finalitat curativa després de cirurgia, el percentatge va augmentar durant aquest període del 55 al 82%. Aquest fet és degut òbviament a l'augment de cirurgies conservadores de menys de la meitat de les intervencions als inicis dels anys 90, a tres quartes parts als darrers anys (136). També hem observat percentatges similars, inclús una mica menys elevats, de tractaments de quimioteràpia en el nostre treball respecte la literatura (49.1% en el nostre treball vs 65-70% abans de les plataformes multigèniques vs 48% amb plataformes) (137,138), i més elevades d'hormonoteràpia (75.4% en nostre treball vs 60-75% descrites en estadis inicials) (139), probablement tots ells per tractar-se de casos seleccionats menys agressius.

La sobreexpressió de la p53, s'associa significativament de manera global a més o menys possibilitat de realitzar cada un dels diferents tractaments adjuvants. Especialment en el cas de la quimioteràpia i l'hormonoteràpia, quan la p53 és positiva hi ha més de 20 punts percentuals de probabilitat de realitzar quimioteràpia (**67.5 vs 44.9%, p=0.0001**), o no realitzar hormonoteràpia (**52% vs 80.7%, p=0.0001**), esdevenint per tant un factor pronòstic amb implicacions clíniques. En la radioteràpia, tot i associar-se significativament a menys probabilitat de tractament quan la p53 és positiva (per possible augment de mastectomies en aquests casos), el valor absolut de la diferència és menys important. Aquest fet es podria explicar a l'haver un percentatge tant elevat de casos que de manera global han realitzat radioteràpia (**22.5% vs 14.7%, p=0.001**). En l'anàlisi dels tractaments en els diferents immunofenotips, es perden la majoria d'associacions significatives, de nou per la possible disminució del número de casos a l'estratificar-los en subgrups.

No s'ha estudiat en el nostre cas, com sí que hi ha articles a la literatura (67,69,85,140), si la p53 pot considerar-se un marcador predictiu a la resposta o resistència als diferents tractaments adjuvants, ja que no consta la taxa de fallida dels diferents tractaments sistèmics en el nostre registre de tumors, ni s'ha considerat un objectiu del nostre treball, bàsicament enfocat a nivell quirúrgic.

A l'avaluar la taxa de recidives loco-regionals i contralaterals, s'observa en primer lloc el baix número de casos malgrat el llarg seguiment (un 3% de casos), que comparat amb la literatura, tant en cirurgies conservadores amb un 10-15% als 10 anys (141), com en mastectomies amb un 9-21% en funció de si han fet radioteràpia o no (76) és clarament inferior a l'esperat. Aquest fet podria ser explicat per l'exclusió en el nostre estudi de molts casos HER2+ i Triple Negatiu, que han iniciat neoadjuvència, i que pot haver influenciat en la disminució del risc global. Quan s'ha analitzat la influència de la p53+ en la taxa de recidives, a diferència d'altres objectius del treball, no s'han demostrat

diferències significatives ni de manera global ni en cap immunofenotip. El baix nombre de recidives amb p53+ en els diferents immunofenotips (de 0 casos en els Luminals A, a 3 casos com a màxim en els HER2+) suggereixen que no el podem reconèixer com un factor predictiu en la nostra sèrie, a diferència de l'establert en la literatura (142).

Si s'estudia la supervivència global, s'observa que de manera anàloga a l'evidència científica (79,80) la p53+ prediu clarament un pitjor pronòstic de manera significativa. Aquest és un fet clínicament rellevant, i sovint difícil de comprovar en treballs mèdics duts a terme en una sola institució com la nostra amb una malaltia com el càncer de mama on hi ha pocs esdeveniments d'èxitus (en el nostre cas en 14 anys de seguiment menys d'un 12% de morts). El temps de vida mitja quan hi ha un 90% de supervivència de la població és de gairebé el doble en càncers p53- vs els p53+ (**6.8 anys vs 3.7 anys, p=0.0018**).

De manera anàloga a la literatura, en el nostre treball es confirma que els immunofenotips Luminals (tant en conjunt com si diferenciem entre Luminals A i B) tenen millor supervivència que els HER2+ o Triple Negatiu. Per tant, també en la nostra població, cal seguir aprofundint en la classificació del càncer de mama segons els subtipus moleculars de cara a establir protocols terapèutics i recomanacions de seguiment diferents, al tractar-se de malalties diferents. Altres factors relacionats estadísticament amb pitjor supervivència en l'anàlisi multivariant són l'alta càrrega axil·lar, de manera global (**p=0.0001**) i en els perfils Luminals B i Triple Negatiu, i l'augment d'edat de manera global (**p=0.0001**) i en tots els immunofenotips. La p53, en l'anàlisi multivariant, no és un factor significatiu per a predir pitjor supervivència de manera global, però sí en els Luminal B-HER2- (**p=0.042**), sent l'únic immunofenotip de nou amb diferències segons la p53.

Com a forteses d'aquesta tesi doctoral, cal tenir en compte que si bé la p53 ha estat estudiada en múltiples estudis oncològics de mama in-vitro (sobretot) i in-vivo (menys), no hem trobat cap estudi publicat amb una sèrie de casos amb la grandària de la nostra. Per tant, es pot afirmar que l'aportació del nostre treball al coneixement del càncer de mama és haver realitzat un dels estudis de cohorts clínics de p53 i càncer de mama amb una població estudiada més elevada (1762 casos), en comparació amb la majoria d'altres sèries que oscil·len entre 100 i 700 pacients (44,68,80,83,84,110,111).

Un altre aspecte important és el període de seguiment d'aquestes pacients. Actualment la mutació de la p53 es troba àmpliament estudiada, però a l'any 2000 quan es comença a recollir aquest paràmetre en els informes d'Anatomia Patològica del nostre centre era un factor biomolecular menys conegut universalment. Aquest fet ha permès determinar recidives i supervivències a molt més llarg termini que altres treballs similars, aconseguint seguiments de fins a 14 anys, mentre que els anàlegs en la literatura el seguiment de les pacients era aproximadament de 5 anys (79,80), a excepció d'un altre treball amb algun seguiment de fins a 18 anys però amb només 66 pacients (77).

El treball té també limitacions que aportaran alguns aspectes de millora per futurs treballs. Malgrat l'elevat nombre de població estudiada, és cert que a l'estratificar per immunofenotips hi ha algun subgrup amb poc nombre de casos. Aquesta pot ser alguna de les causes per les quals, com s'ha dit, no s'han pogut demostrar tantes diferències significatives en els subtipus Luminals A, HER2+ o Triple Negatiu, malgrat potser existir en la realitat. Aquest fet, especialment la baixa proporció de tumors HER2+ (4.5%) i Triple Negatiu (10.0%) respecte als percentatges habituals en la literatura (63), s'explicaria perquè molts dels tumors amb aquests immunofenotips més agressius inicien tractament primari sistèmic neoadjuvant, i per tant, han quedat parcialment exclosos del nostre estudi. Aquest biaix de selecció respecte la població general amb càncer de mama, inevitable per comprovar la nostra hipòtesi,

també pot haver condicionat, com ja s'ha dit, indirectament altres dades com en els tractaments adjuvants o la taxa de recidives.

Pel que fa al disseny i la metodologia, una altra limitació que ha impedit determinar variables com la supervivència lliure de malaltia ha estat la manca de recollida de les recidives en forma de metàstasi a distància en la base de dades del Registre de Tumors del nostre centre. Aquest fet podria tenir una especial transcendència si es té en compte que una de les teories per les quals la p53+ podria associar-se a menys càrrega axil·lar és perquè aquesta afavoreix noves propietats angiogèniques i oncogèniques que facilitarien el pas de les cèl·lules tumorals al torrent sanguini (46); per tant afavoriria les metàstasis a distància via hemàtica més que limfàtica (78), de manera anàloga a com s'ha associat amb el tumors Triple Negatiu (143).

És també important constatar com a limitació altres mancances en la recollida de dades com la ja esmentada impossibilitat de determinar els diferents tipus de neoplàsies Luminals fins al 2007 (438 casos) en no disposar del ki67, i per tant, no poder incloure-les en alguns dels diferents anàlisis dels subtipus Luminals, així com algun càlcul amb HER2+ i Triple Negatiu d'abans del 2007 on s'ha hagut d'excloure el paràmetre de la proliferació cel·lular d'algun anàlisi multivariant.

Finalment, no s'ha recollit ni per tant analitzat dades sobre el tipus de cirurgia sobre la mama i la seva relació amb l'expressió de p53. El motiu fonamental per a que no es fes és que l'objectiu principal de la tesi era establir la relació de l'expressió de p53 amb la càrrega tumoral axil·lar i mamària, però no amb els tipus de cirurgia. No s'han pogut establir per tant associacions en funció de si aquesta era conservadora o bé una mastectomia, malgrat poder intuir-ho indirectament per la relació de la p53+ amb menys possibilitat de radioteràpia; probablement perquè aquelles neoplàsies més agressives amb p53+ hagin

estat tributàries de més mastectomies al ser tumors més grans o multicèntrics (i per tant, menys adjuvència amb radioteràpia per menys cirurgies conservadores). També en aquesta línia, podria haver estat interessant conèixer la proporció de cirurgies conservadores amb marges afectats i necessitat de reintervenció segons la p53, per tal de poder recomanar més o menys ampliació de marges en funció d'aquest predictor, conjuntament amb d'altres. Aquests dos punts, el percentatge de cirurgies conservadores i mastectomies (així com les diferents opcions de mastectomia com les estalviadores de pell, i d'arèola mugró), i el percentatge de reintervencions de cirurgia conservadora per marges afectes segons la p53 (i altres factors), no s'han trobat descrits a la literatura, i ja són dues de les línies futures de treball de la secció quirúrgica de la nostra Unitat Funcional de Mama.

En definitiva doncs, des d'una visió eminentment clínica, aquesta tesi doctoral aprofundeix en el càncer de mama com a una malaltia heterogènia, on a més dels factors anatomo-patològics clàssics cada vegada pren més importància el seu perfil biològic, amb aspectes com els subtipus moleculars o biomarcadors com la p53. En l'era de la medicina cada vegada més personalitzada, els tractaments quirúrgics oncològics, i concretament l'abordatge de l'aixella segons la seva càrrega tumoral, han de poder individualitzar-ne les cirurgies en un futur, com ja es fa des de fa temps amb altres teràpies sistèmiques.

7. Conclusions

- 1- No s'ha pogut establir que la sobreexpressió de la proteïna p53 sigui un factor independent de manera global per a predir baixa càrrega tumoral axil·lar en l'anàlisi univariant en aquells càncers de mama on s'ha realitzat cirurgia com a tractament primari, malgrat haver-hi una tendència no significativa en que els tumors p53+ tenen menys afectació axil·lar. En canvi, en l'anàlisi multivariant incloent la resta de factors que poden modificar la càrrega axil·lar, sí que s'ha associat una p53+ a baixa càrrega axil·lar de manera significativa.

Al diferenciar per cada immunofenotip, hi ha diferències significatives pel que fa a la càrrega axil·lar en funció de la p53 en els subtipus Luminals en conjunt, essent més freqüentment positiva quan hi ha baixa càrrega que quan hi ha alta càrrega, així com específicament en els Luminals B HER2-. En aquests casos, quan la p53 és positiva, en els Luminals en conjunt hi ha un 94.8% de casos on hi haurà baixa càrrega i un 5.2% de casos on hi haurà alta càrrega; i concretament en els subtipus Luminals B-HER2-, quan la p53 és positiva hi haurà un 95.5% de casos amb baixa càrrega i un 4.5% de casos amb alta càrrega axil·lar.

No s'observen diferències en la càrrega axil·lar en els subtipus Luminal A, Luminal B-HER2+, HER2+ ni Triple Negatius en funció de la p53, malgrat haver en tots ells una tendència a la baixa càrrega axil·lar quan la p53 és positiva.

- 2- En l'estudi univariant, s'observa una associació significativa amb baixa càrrega axil·lar de manera global en els subtipus histològics no lobel·lars, en els tumors T1 inferiors a 2cm, en la manca d'invasió

limfo-vascular, en el grau histològic I, en el Ki67 igual o inferior a 14%, i en els tumors unifocals. No s'observen diferències en la càrrega axil·lar segons els RE, RP o HER2.

En l'anàlisi multivariant global, només la p53+, Ki67 \leq 14%, i la manca d'invasió limfo-vascular s'associen a baixa càrrega tumoral axil·lar de manera global.

Si diferenciem segons l' immunofenotip, s'observen més carcinomes lobel·lars en alta càrrega i més carcinomes no especials en baixa càrrega en els Triple Negatius. Pel que fa a la mida tumoral, s'observa significativament més alta càrrega en tumors T2 i T3 i més baixa càrrega en T1, en tots els immunofenotips, així com també en la infiltració limfo-vascular, que es troba més significativament present en els tumors amb alta càrrega axil·lar i absent en els tumors amb baixa càrrega en tots ells. També la multifocalitat/multicentricitat prediu alta càrrega axil·lar en els Luminals A i Luminals B-HER2 negatius, així com la unifocalitat prediu baixa càrrega en aquests casos. Pel que fa a l'índex de proliferació cel·lular, s'observa una relació significativa amb baixa càrrega axil·lar quan aquesta és baixa en els Luminals B – HER2 negatius, i quan aquesta és alta en els Triple Negatius.

En l'anàlisi multivariant de factors associats amb la càrrega axil·lar en cada immunofenotip, s'observa l'invasió limfo-vascular com l'únic que es manté significativament associat a alta càrrega tumoral en tots ells. En els Luminal B-HER2-, a més a més els T2 i T3 i el grau nuclear II s'associa a alta càrrega. En els Luminals B-HER2+ l'augment de mida es torna a associar amb alta càrrega, així com els Triple Negatius.

- 3- La p53+ prediu baixa càrrega axil·lar en tumors T1. No s'observen diferències en canvi en la càrrega axil·lar segons la p53 en T2 i T3. La capacitat de predicció de la p53+ per a baixa càrrega axil·lar en T1 és significativa en els immunofenotips Luminals B, especialment en aquells Luminal B-HER2-, on quan la p53 és positiva hi ha un 95.5% de casos amb baixa càrrega axil·lar i només un 4.5% de casos amb alta càrrega. No hi ha diferències significatives així en Luminals A, HER2+, Triple Negatiu ni Luminals B-HER2+.

- 4- Pel que fa l'estadi tumoral, s'observen diferències significatives de manera global entre les neoplàsies p53- i p53+, sent més freqüentment positiva en aquells estadis II i III que en estadis I.

No hi ha diferències significatives en el número de focus en funció de la p53 de manera global ni per cap immunofenotip.

- 5- Pel que fa als tractaments adjuvants, la p53 positiva està associada a més possibilitat de no realitzar tractament amb radioteràpia que quan aquesta és negativa. Respecte els tractaments amb quimioteràpia, la p53+ s'associa estadísticament a més possibilitat de tractament. Finalment, la p53+ també està associada de manera significativa a menys tractaments amb hormonoteràpia.

Si diferenciem segons l'immunofenotip, l'únic d'ells amb una associació significativa és el Luminal B-HER2-, on quan la p53 és positiva hi ha més probabilitat de realitzar quimioteràpia que quan aquesta és negativa.

6- La taxa de recidives durant el període d'estudi ha estat del 3%. D'aquestes, el 33.9% són recidives locals, el 7.6% són recidives loco-regionals en la mateixa axil·la, i el 58.5% són recidives contralaterals en l'altra mama. No hi ha diferències significatives en la taxa de recidives de manera global segons la p53 en el conjunt de neoplàsies. La p53 és positiva en el 22.6% de les recidives, percentatge lleugerament superior al de les neoplàsies que no han recidivat (18.5%), malgrat no ser tampoc una diferència significativa. A l'analitzar la taxa de recidives segons l'immunofenotip en funció de la p53, tampoc hi ha diferències significatives en cap d'ells.

7- La supervivència global de les pacients p53+ és estadísticament pitjor que les p53-. La mitjana de temps de vida quan hi ha un 90% de supervivència de la població és de 6.8 anys en aquells casos amb neoplàsies p53- vs 3.7 anys en aquells casos de p53+.

Al comparar la supervivència global entre els diferents immunofenotips, també hi ha diferències significatives entre aquelles neoplàsies Luminals en conjunt, amb millor supervivència, respecte les HER2+ o les Triple Negatives, amb la pitjor supervivència, així com si es diferenciaven els diferents subtipus Luminals. A l'observar la supervivència global en cada immunofenotip segons la p53, no s'observen diferències significatives en cap d'ells en funció d'aquest paràmetre, malgrat hi ha una tendència quasi significativa en els Luminals B-HER2-.

En l'anàlisi multivariant de la supervivència global, els factors relacionats estadísticament amb pitjor supervivència són l'alta càrrega axil·lar, l'augment d'edat, i els subtipus Triple Negatiu;

augmentant 2.34 vegades la mortalitat respecte quan hi ha baixa càrrega axil·lar i 2.28 vegades respecte els immunofenotips Luminals, respectivament. La p53, en l'anàlisi multivariant, no és un factor significatiu per a predir pitjor supervivència.

Si s'analitza a nivell multivariant els factors associats amb pitjor supervivència en cada immunofenotip, s'observa que en els Luminal A, l'augment d'edat és l'únic factor associat a pitjor supervivència. En els Luminal B-HER2-, tant la p53+, com l'alta càrrega axil·lar i l'augment d'edat prediuen pitjor supervivència. En els Luminal B-HER2+, l'alta càrrega axil·lar i l'edat s'associen de manera significativa a pitjor supervivència. En els tumors HER2+, només l'edat prediu pitjor supervivència. Finalment, pel que fa als Triple Negatius, l'alta càrrega tumoral axil·lar i l'edat més avançada s'associen a pitjor supervivència en l'anàlisi multivariant.

8. Bibliografía

1. SESPM. Manual de Práctica Clínica en Senología. 3rd ed. SESPM, 2015.
2. Gonzalez-Merlo J. Ginecología. 9th ed. Elsevier ISBN 8445824031, 9ª edición, 2014.
3. Rageth CJ, O'Flynn EAM, Pinker K, Kubik-Huch RA, Mundinger A, Decker T, et al. Second International Consensus Conference on lesions of uncertain malignant potential in the breast (B3 lesions). Breast Cancer Res Treat. 2019 Apr;174(2):279–96.
4. Who. WHO database. Accessible a:
<http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/20-Breast-fact-sheet.pdf>
5. Fitzmaurice C, Akinyemiju TF, Al Lami FH, Alam T, Alizadeh-Navaei R, Allen C, et al. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2016. JAMA Oncol. 2018 Nov;4(11):1553.
6. Europe. European network cancer register. Accessible a:
https://www.encl.eu/sites/default/files/factsheets/ENCR_Factsheet_Breast_2014.pdf
7. SEOM. Cancer España. Accessible a:
https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Las_Cifras_del_cancer_en_Espana2018.pdf
8. Galceran J, Ameijide A, Carulla M, Mateos A, Quirós JR, Rojas D, et al. Cancer incidence in Spain, 2015. Clin Transl Oncol. 2017 Jul;19(7):799–825.
9. Pollán M, Pastor-Barriuso R, Ardanaz E, Argüelles M, Martos C, Galcerán J, et al. Recent Changes in Breast Cancer Incidence in Spain, 1980–2004. JNCI J Natl Cancer Inst. 2009 Nov;101(22):1584–91.

10. Catalunya. Pla Director Oncologia. Accessible a: <http://canalsalut.gencat.cat/ca/salut-a-z/c/cancer>
11. Posso M, Macià F. Informe del Registre de Tumors de l'Hospital del Mar. 2018.
12. S. Ruiz de Aguirre; A. Villanueva Edo. Evolución del cáncer de mama a través de la historia. *Gac Médica Bilbao*. 2000;97:35–6.
13. Cameron JL. William Stewart Halsted. Our surgical heritage. *Ann Surg*. 1997 May;225(5):445–58.
14. Madden JL, Kandalaf S, Bourque RA. Modified radical mastectomy. *Ann Surg*. 1972 May;175(5):624–34.
15. Veronesi U, Saccozzi R, Del Vecchio M, Banfi A, Clemente C, De Lena M, et al. Comparing Radical Mastectomy with Quadrantectomy, Axillary Dissection, and Radiotherapy in Patients with Small Cancers of the Breast. *N Engl J Med*. 1981 Jul;305(1):6–11.
16. Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, Deutsch M, Fisher ER, et al. Twenty-Year Follow-up of a Randomized Trial Comparing Total Mastectomy, Lumpectomy, and Lumpectomy plus Irradiation for the Treatment of Invasive Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2002 Oct;347(16):1233–41.
17. Simone NL, Dan T, Shih J, Smith SL, Sciuto L, Lita E, et al. Twenty-five year results of the national cancer institute randomized breast conservation trial. *Breast Cancer Res Treat*. 2012 Feb;132(1):197–203.
18. Blichert-Toft M, Nielsen M, Düring M, Møller S, Rank F, Overgaard M, et al. Long-term results of breast conserving surgery vs. mastectomy for early stage invasive breast cancer: 20-year follow-up of the Danish randomized DBCG-82TM protocol. *Acta Oncol (Madr)*. 2008 Jan;47(4):672–81.
19. van Maaren MC, de Munck L, de Bock GH, Jobsen JJ, van Dalen T, Linn

- SC, et al. 10 year survival after breast-conserving surgery plus radiotherapy compared with mastectomy in early breast cancer in the Netherlands: a population-based study. *Lancet Oncol.* 2016 Aug;17(8):1158–70.
20. Corradini S, Reitz D, Pazos M, Schönecker S, Braun M, Harbeck N, et al. Mastectomy or Breast-Conserving Therapy for Early Breast Cancer in Real-Life Clinical Practice: Outcome Comparison of 7565 Cases. *Cancers (Basel).* 2019 Jan;11(2):160.
 21. Clough KB, Kaufman GJ, Nos C, Buccimazza I, Sarfati IM. Improving breast cancer surgery: a classification and quadrant per quadrant atlas for oncoplastic surgery. *Ann Surg Oncol.* 2010 May;17(5):1375–91.
 22. Román M, Quintana MJ, Ferrer J, Sala M, Castells X. Cumulative risk of breast cancer screening outcomes according to the presence of previous benign breast disease and family history of breast cancer: supporting personalised screening. *Br J Cancer.* 2017 May;116(11):1480–5.
 23. Alba E, Calvo L, Albanell J, De la Haba JR, Arcusa Lanza A, Chacon JI, et al. Chemotherapy (CT) and hormonotherapy (HT) as neoadjuvant treatment in luminal breast cancer patients: results from the GEICAM/2006-03, a multicenter, randomized, phase-II study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2012 Dec;23(12):3069–74.
 24. Krag DN, Julian TB, Harlow SP, Weaver DL, Ashikaga T, Bryant J, et al. NSABP-32: Phase III, randomized trial comparing axillary resection with sentinel lymph node dissection: a description of the trial. *Ann Surg Oncol.* 2004 Mar;11(3 Suppl):208S–10S.
 25. Veronesi U, Viale G, Paganelli G, Zurrada S, Luini A, Galimberti V, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: ten-year results of a randomized controlled study. *Ann Surg.* 2010 Apr;251(4):595–600.
 26. Bromham N, Schmidt-Hansen M, Astin M, Hasler E, Reed MW. Axillary treatment for operable primary breast cancer. *Cochrane database Syst*

Rev. 2017 Jan;1:CD004561.

27. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg.* 1994 Sep;220(3):391-8; discussion 398-401.
28. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, Viale G, Zurrida S, Bedoni M, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet.* 1997 Jun;349(9069):1864–7.
29. Belmonte R, Messaggi-Sartor M, Ferrer M, Pont A, Escalada F. Prospective study of shoulder strength, shoulder range of motion, and lymphedema in breast cancer patients from pre-surgery to 5 years after ALND or SLNB. *Support Care Cancer.* 2018 Sep;26(9):3277–87.
30. NIH consensus conference. Treatment of early-stage breast cancer. *JAMA.* 1991 Jan;265(3):391–5.
31. Erickson VS, Pearson ML, Ganz PA, Adams J, Kahn KL. Arm edema in breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst.* 2001 Jan;93(2):96–111.
32. Fisher B. From Halsted to prevention and beyond: advances in the management of breast cancer during the twentieth century. *Eur J Cancer.* 1999 Dec;35(14):1963–73.
33. Clarke M, Collins R, Darby S, Davies C, Elphinstone P, Evans V, et al. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet (London, England).* 2005 Dec;366(9503):2087–106.
34. Sobin LH. TNM: principles, history, and relation to other prognostic factors. *Cancer.* 2001 Apr;91(8 Suppl):1589–92.
35. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more

- “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin.* 2017 Mar;67(2):93–9.
36. Hilf R, Wittliff JL, Rector WD, Savlov ED, Hall TC, Orlando RA. Studies on certain cytoplasmic enzymes and specific estrogen receptors in human breast cancer and in nonmalignant diseases of the breast. *Cancer Res.* 1973 Sep;33(9):2054–62.
 37. Skinner LG. Progesterone Receptors in Normal and Neoplastic Tissues—Progress in Cancer Research and Therapy, Vol. 4. *Br J Cancer.* 1978;38(1):203.
 38. Yamada Y, Yoshimoto M, Murayama Y, Ebuchi M, Mori S, Yamamoto T, et al. Association of elevated expression of the c-erbB-2 protein with spread of breast cancer. *Jpn J Cancer Res.* 1989 Dec;80(12):1192–8.
 39. Kuenen-Boumeester V, Blonk DI, Van der Kwast TH. Immunocytochemical staining of proliferating cells in fine needle aspiration smears of primary and metastatic breast tumours. *Br J Cancer.* 1988 May;57(5):509–11.
 40. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000 Aug;406(6797):747–52.
 41. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2013 Sep;24(9):2206–23.
 42. Crawford L V, Pim DC, Gurney EG, Goodfellow P, Taylor-Papadimitriou J. Detection of a common feature in several human tumor cell lines—a 53,000-dalton protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981 Jan;78(1):41–5.
 43. Wang X, Stolla M, Ring BZ, Yang Q, Laughlin TS, Rothberg PG, et al.

- p53 alteration in morphologically normal/benign breast tissue in patients with triple-negative high-grade breast carcinomas: breast p53 signature? *Hum Pathol.* 2016 Sep;55:196–201.
44. Kabat GC, Kandel RA, Glass AG, Jones JG, Olson N, Duggan C, et al. A Cohort Study of p53 Mutations and Protein Accumulation in Benign Breast Tissue and Subsequent Breast Cancer Risk. *J Oncol.* 2011;2011:1–9.
 45. McGowan E, Lin Y, Hatoum D. Good Guy or Bad Guy? The Duality of Wild-Type p53 in Hormone-Dependent Breast Cancer Origin, Treatment, and Recurrence. *Cancers (Basel).* 2018 May;10(6):172.
 46. Brosh R, Rotter V. When mutants gain new powers: news from the mutant p53 field. *Nat Rev Cancer.* 2009 Oct;9(10):701–13.
 47. Shetzer Y, Molchadsky A, Rotter V. Oncogenic Mutant p53 Gain of Function Nourishes the Vicious Cycle of Tumor Development and Cancer Stem-Cell Formation. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016 Oct;6(10).
 48. Zhang J, Xu Z, Yu L, Chen M, Li K. Assessment of the Potential Diagnostic Value of Serum p53 Antibody for Cancer: A Meta-Analysis. Mittal B, editor. *PLoS One.* 2014 Jun;9(6):e99255.
 49. 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. *Clin Cancer Res.* 2014 Jul;20(13):3569–80.
 50. Walerych D, Napoli M, Collavin L, Del Sal G. The rebel angel: mutant p53 as the driving oncogene in breast cancer. *Carcinogenesis.* 2012 Nov;33(11):2007–17.
 51. Kim HW, Lee HM, Hwang SH, Ahn SG, Lee K-A, Jeong J. Patterns and Biologic Features of p53 Mutation Types in Korean Breast Cancer Patients. *J Breast Cancer.* 2014 Mar;17(1):1–7.

52. International Agency for Research on Cancer of WHO (IARC). TP53 database. Accessible a:
<http://p53.iarc.fr/>
53. Li FP, Correa P, Fraumeni JF. Testing for germ line p53 mutations in cancer families. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1(1):91–4.
54. Langerød A, Zhao H, Borgan Ø, Nesland JM, Bukholm IRK, Ik Dahl T, et al. TP53 mutation status and gene expression profiles are powerful prognostic markers of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2007;9(3):R30.
55. Radha RKN, P V, B K. Histopathology and Prognostic Indices of Carcinoma Breast with Special Reference to p53 Marker. *J Clin Diagn Res.* 2014 Jul;8(7):FC04-8.
56. Turpin E, Bièche I, Bertheau P, Plassa L-F, Lerebours F, de Roquancourt A, et al. Increased incidence of ERBB2 overexpression and TP53 mutation in inflammatory breast cancer. *Oncogene.* 2002 Oct;21(49):7593–7.
57. Gasco M, Yulug IG, Crook T. TP53 mutations in familial breast cancer: functional aspects. *Hum Mutat.* 2003 Mar;21(3):301–6.
58. Maru D, Middleton LP, Wang S, Valero V, Sahin A. HER-2/neu and p53 overexpression as biomarkers of breast carcinoma in women age 30 years and younger. *Cancer.* 2005 Mar;103(5):900–5.
59. Wang-Rodriguez J, Cross K, Gallagher S, Djahanban M, Armstrong JM, Wiedner N, et al. Male breast carcinoma: correlation of ER, PR, Ki-67, Her2-Neu, and p53 with treatment and survival, a study of 65 cases. *Mod Pathol.* 2002 Aug;15(8):853–61.
60. Coates AS, Millar EK, O’Toole SA, Molloy TJ, Viale G, Goldhirsch A, et al. Prognostic interaction between expression of p53 and estrogen receptor in patients with node-negative breast cancer: results from IBCSG Trials VIII and IX. *Breast Cancer Res.* 2012 Dec;14(6):R143.

61. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, Kataoka A, Kinoshita J, Hachitanda Y. Prognostic significance of the coexpression of p53 protein and c-erbB2 in breast cancer. *Am J Surg*. 2003 Feb;185(2):165–7.
62. Turner N, Moretti E, Siclari O, Migliaccio I, Santarpia L, D’Incalci M, et al. Targeting triple negative breast cancer: is p53 the answer? *Cancer Treat Rev*. 2013 Aug;39(5):541–50.
63. Cancer Genome Atlas Network DC, Fulton RS, McLellan MD, Schmidt H, Kalicki-Veizer J, McMichael JF, et al. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012 Oct;490(7418):61–70.
64. Yersal O, Barutca S. Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *World J Clin Oncol*. 2014 Aug;5(3):412.
65. Prat A, Ellis MJ, Perou CM. Practical implications of gene-expression-based assays for breast oncologists. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011 Dec;9(1):48–57.
66. Cornen S, Guille A, Adélaïde J, Addou-Klouche L, Finetti P, Saade M-R, et al. Candidate Luminal B Breast Cancer Genes Identified by Genome, Gene Expression and DNA Methylation Profiling. Creighton C, editor. *PLoS One*. 2014 Jan;9(1):e81843.
67. Bertheau P, Lehmann-Che J, Varna M, Dumay A, Poirot B, Porcher R, et al. p53 in breast cancer subtypes and new insights into response to chemotherapy. *Breast*. 2013 Aug;22 Suppl 2:S27-9.
68. Darb-Esfahani S, Denkert C, Stenzinger A, Salat C, Sinn B, Schem C, et al. Role of TP53 mutations in triple negative and HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. *Oncotarget*. 2016 Oct;7(42):67686–98.
69. Bae SY, Nam SJ, Jung Y, Lee SB, Park B-W, Lim W, et al. Differences in prognosis and efficacy of chemotherapy by p53 expression in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2018 Nov;172(2):437–

- 44.
70. Hamilton A, Piccart M. The contribution of molecular markers to the prediction of response in the treatment of breast cancer: a review of the literature on HER-2, p53 and BCL-2. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2000 Jun;11(6):647–63.
71. Kyndi M, Sørensen FB, Knudsen H, Alsner J, Overgaard M, Nielsen HM, et al. Impact of BCL2 and p53 on postmastectomy radiotherapy response in high-risk breast cancer. A subgroup analysis of DBCG82 b&c. *Acta Oncol*. 2008 Jan;47(4):608–17.
72. Kaur RP, Vasudeva K, Kumar R, Munshi A. Role of p53 Gene in Breast Cancer: Focus on Mutation Spectrum and Therapeutic Strategies. *Curr Pharm Des*. 2018 Dec;24(30):3566–75.
73. Duffy MJ, Synnott NC, Crown J. Mutant p53 in breast cancer: potential as a therapeutic target and biomarker. *Breast Cancer Res Treat*. 2018 Jul;170(2):213–9.
74. Zhang Q, Bykov VJN, Wiman KG, Zawacka-Pankau J. APR-246 reactivates mutant p53 by targeting cysteines 124 and 277. *Cell Death Dis*. 2018 May;9(5):439.
75. Turner BC, Gumbs AA, Carbone CJ, Carter D, Glazer PM, Haffty BG. Mutant p53 protein overexpression in women with ipsilateral breast tumor recurrence following lumpectomy and radiation therapy. *Cancer*. 2000 Mar 1;88(5):1091–8.
76. Zellars RC, Hilsenbeck SG, Clark GM, Allred DC, Herman TS, Chamness GC, et al. Prognostic Value of p53 for Local Failure in Mastectomy-Treated Breast Cancer Patients. *J Clin Oncol*. 2000 May 9;18(9):1906–13.
77. Payandeh M, Sadeghi M, Sadeghi E. Differences in Prognostic Factors between Early and Late Recurrence Breast Cancers. *Asian Pac J Cancer*

- Prev. 2015;16(15):6575–9.
78. Powell E, Piwnica-Worms D, Piwnica-Worms H. Contribution of p53 to metastasis. *Cancer Discov.* 2014 Apr;4(4):405–14.
 79. Sadighi S, Zokaasadi M, Kasaeian A, Maghsudi S, Jahanzad I, Kamranzadeh Fumani H. The effect of immunohistochemically detected p53 accumulation in prognosis of breast cancer; A retrospective survey of outcome. Coleman WB, editor. *PLoS One.* 2017 Aug;12(8):e0182444.
 80. Pan Y, Yuan Y, Liu G, Wei Y. P53 and Ki-67 as prognostic markers in triple-negative breast cancer patients. Coleman WB, editor. *PLoS One.* 2017 Feb;12(2):e0172324.
 81. Huszno J, Grzybowska E. TP53 mutations and SNPs as prognostic and predictive factors in patients with breast cancer. *Oncol Lett.* 2018 Jul;16(1):34–40.
 82. Curigliano G, Burstein HJ, Winer EP, Gnant M, Dubsy P, Loibl S, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol.* 2017 Aug;28(8):1700–12.
 83. Kobayashi T, Iwaya K, Moriya T, Yamasaki T, Tsuda H, Yamamoto J, et al. A simple immunohistochemical panel comprising 2 conventional markers, Ki67 and p53, is a powerful tool for predicting patient outcome in luminal-type breast cancer. *BMC Clin Pathol.* 2013 Feb;13(1):5.
 84. Ren J, Chen Q-C, Jin F, Wu H-Z, He M, Zhao L, et al. Overexpression of Rsf-1 correlates with pathological type, p53 status and survival in primary breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(9):5595–608.
 85. Bozovic-Spasojevic I, Ameye L, Paesmans M, Larsimont D, Di Leo A, Dolci S, et al. Prognostic, predictive abilities and concordance of BCL2 and TP53 protein expression in primary breast cancers and axillary

- lymph-nodes: a retrospective analysis of the Belgian three arm study evaluating anthracycline vs CMF adjuvant chemotherapy. *Breast*. 2014 Aug;23(4):473–81.
86. Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, Blair SL, Burstein HJ, Cyr A, et al. NCCN Guidelines Insights: Breast Cancer, Version 1.2017. *J Natl Compr Canc Netw*. 2017;15(4):433–51.
 87. Harbeck N, Salem M, Nitz U, Gluz O, Liedtke C. Personalized treatment of early-stage breast cancer: present concepts and future directions. *Cancer Treat Rev*. 2010 Dec;36(8):584–94.
 88. Morrow M. Rethinking the Local Therapy of Breast Cancer: Integration of Biology and Anatomy. *Ann Surg Oncol*. 2015 Oct;22(10):3168–73.
 89. Fragomeni SM, Sciallis A, Jeruss JS. Molecular Subtypes and Local-Regional Control of Breast Cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2018 Jan;27(1):95–120.
 90. Hosseini A, Khoury AL, Esserman LJ. Precision surgery and avoiding over-treatment. *Eur J Surg Oncol*. 2017 May;43(5):938–43.
 91. Moran MS, Schnitt SJ, Giuliano AE, Harris JR, Khan SA, Horton J, et al. Society of Surgical Oncology–American Society for Radiation Oncology Consensus Guideline on Margins for Breast-Conserving Surgery With Whole-Breast Irradiation in Stages I and II Invasive Breast Cancer. *Int J Radiat Oncol*. 2014 Mar;88(3):553–64.
 92. Lebya K, Garcia-Smith R, Swaminathan R, Jones A, Russell J, Joste N, et al. Towards a personalized surgical margin for breast conserving surgery-Implications of field cancerization in local recurrence. *J Surg Oncol*. 2017 Feb;115(2):109–15.
 93. Tsoutsou PG, Vozenin M-C, Durham A-D, Bourhis J. How could breast cancer molecular features contribute to locoregional treatment decision making? *Crit Rev Oncol Hematol*. 2017 Feb;110:43–8.

94. NCT01791829 C go. I, Active RS:, Sponsor:, (OCOG) OCOG. A Prospective Cohort Study Evaluating Risk of Local Recurrence Following Breast Conserving Surgery and Endocrine Therapy in Low Risk Luminal A Breast Cancer (LUMINA).
95. Giuliano AE, Hunt KK, Ballman K V, Beitsch PD, Whitworth PW, Blumencranz PW, et al. Axillary Dissection vs No Axillary Dissection in Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis. *JAMA*. 2011 Feb;305(6):569.
96. Donker M, van Tienhoven G, Straver ME, Meijnen P, van de Velde CJH, Mansel RE, et al. Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Oncol*. 2014 Nov;15(12):1303–10.
97. Caudle AS, Kuerer HM, Le-Petross HT, Yang W, Yi M, Bedrosian I, et al. Predicting the extent of nodal disease in early-stage breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2014 Oct;21(11):3440–7.
98. Vijayaraghavan GR, Vedantham S, Kataoka M, DeBenedictis C, Quinlan RM. The Relevance of Ultrasound Imaging of Suspicious Axillary Lymph Nodes and Fine-needle Aspiration Biopsy in the Post-ACOSOG Z11 Era in Early Breast Cancer. *Acad Radiol*. 2017 Mar;24(3):308–15.
99. Zheng J, Cai S, Song H, Wang Y, Han X, Wu H, et al. Positive non-sentinel axillary lymph nodes in breast cancer with 1-2 sentinel lymph node metastases. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Nov;97(44):e13015.
100. Gülben K, Berberoğlu U, Aydoğan O, Kınaş V. Subtype is a predictive factor of nonsentinel lymph node involvement in sentinel node-positive breast cancer patients. *J Breast Cancer*. 2014 Dec;17(4):370–5.
101. Crabb SJ, Cheang MCU, Leung S, Immonen T, Nielsen TO, Huntsman DD, et al. Basal breast cancer molecular subtype predicts for lower incidence of axillary lymph node metastases in primary breast cancer.

- Clin Breast Cancer [Internet]. 2008 Jun;8(3):249–56.
102. He Z-Y, Wu S-G, Yang Q, Sun J-Y, Li F-Y, Lin Q, et al. Breast Cancer Subtype is Associated With Axillary Lymph Node Metastasis. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Dec;94(48):e2213.
 103. Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2009 May;115(2):423–8.
 104. Van Zee KJ, Manasseh D-ME, Bevilacqua JLB, Boolbol SK, Fey J V, Tan LK, et al. A nomogram for predicting the likelihood of additional nodal metastases in breast cancer patients with a positive sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol*. 2003 Dec;10(10):1140–51.
 105. Hwang RF, Krishnamurthy S, Hunt KK, Mirza N, Ames FC, Feig B, et al. Clinicopathologic factors predicting involvement of nonsentinel axillary nodes in women with breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2003 Apr;10(3):248–54.
 106. Kuo Y-L, Chen W-C, Yao W-J, Cheng L, Hsu H-P, Lai H-W, et al. Validation of Memorial Sloan-Kettering Cancer Center nomogram for prediction of non-sentinel lymph node metastasis in sentinel lymph node positive breast cancer patients an international comparison. *Int J Surg* . 2013 Aug;11(7):538–43.
 107. Meattini I, Saieva C, Bertocci S, Francolini G, Zei G, De Luca Cardillo C, et al. Predictive Factors for Additional Non-Sentinel Lymph Node Involvement in Breast Cancer Patients with One Positive Sentinel Node. *Tumori J*. 2015 Jan 24;101(1):78–83.
 108. van den Hoven I, van Klaveren D, Voogd AC, Vergouwe Y, Tjan-Heijnen V, Roumen RMH. A Dutch Prediction Tool to Assess the Risk of Additional Axillary Non-Sentinel Lymph Node Involvement in Sentinel Node-Positive Breast Cancer Patients. *Clin Breast Cancer [Internet]*. 2016 Apr;16(2):123–30.

109. Kondov B, Kondov G, Spirovski Z, Milenkovic Z, Colanceski R, Petrusevska G, et al. Prognostic Factors on the Positivity for Metastases of the Axillary Lymph Nodes from Primary Breast Cancer. *PRILOZI*. 2017 Mar 1;38(1):81–90.
110. Shokouh TZ, Ezatollah A, Barand P. Interrelationships Between Ki67, HER2/neu, p53, ER, and PR Status and Their Associations With Tumor Grade and Lymph Node Involvement in Breast Carcinoma Subtypes: Retrospective-Observational Analytical Study. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Aug;94(32):e1359.
111. Vernet-Tomás M, Baños N, Sabadell D, Corominas J-M, Mestre-Fusco A, Suárez-Piñera M, et al. p53 expression in breast cancer predicts tumors with low probability of non-sentinel nodes infiltration. *J Obstet Gynaecol Res*. 2015 Jul;41(7):1115–21.
112. Nicolau P, Gamero R, Rodríguez-Arana A, Plancarte F, Alcántara R, Carreras R, et al. Imaging and pathology features to predict axillary tumor load in breast cancer. *J Obstet Gynaecol Res*. 2018;44(2).
113. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 Index, HER2 Status, and Prognosis of Patients With Luminal B Breast Cancer. *JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]*. 2009 May 20;101(10):736–50.
114. Wiechmann L, Sampson M, Stempel M, Jacks LM, Patil SM, King T, et al. Presenting features of breast cancer differ by molecular subtype. *Ann Surg Oncol*. 2009 Oct;16(10):2705–10.
115. van den Hoven I, Kuijt G, Roumen R, Voogd A, Steyerberg EW, Vergouwe Y. A head to head comparison of nine tools predicting non-sentinel lymph node status in sentinel node positive breast cancer women. *J Surg Oncol*. 2015 Aug;112(2):133–8.
116. Nadeem RM, Gudur LD, Saidan ZA. An independent assessment of the 7 nomograms for predicting the probability of additional axillary nodal metastases after positive sentinel lymph node biopsy in a cohort of British

- patients with breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2014 Aug;14(4):272–9.
117. Gur AS, Unal B, Ozbek U, Ozmen V, Aydogan F, Gokgoz S, et al. Validation of breast cancer nomograms for predicting the non-sentinel lymph node metastases after a positive sentinel lymph node biopsy in a multi-center study. *Eur J Surg Oncol*. 2010 Jan;36(1):30–5.
 118. Zhang J, Li X, Huang R, Feng W-L, Kong Y-N, Xu F, et al. A nomogram to predict the probability of axillary lymph node metastasis in female patients with breast cancer in China: A nationwide, multicenter, 10-year epidemiological study. *Oncotarget*. 2017 May;8(21):35311–25.
 119. Langer I, Guller U, Berclaz G, Koechli OR, Schaer G, Fehr MK, et al. Morbidity of sentinel lymph node biopsy (SLN) alone versus SLN and completion axillary lymph node dissection after breast cancer surgery: a prospective Swiss multicenter study on 659 patients. *Ann Surg*. 2007 Mar;245(3):452–61.
 120. Caudle AS, Yang WT, Krishnamurthy S, Mittendorf EA, Black DM, Gilcrease MZ, et al. Improved Axillary Evaluation Following Neoadjuvant Therapy for Patients With Node-Positive Breast Cancer Using Selective Evaluation of Clipped Nodes: Implementation of Targeted Axillary Dissection. *J Clin Oncol*. 2016 Apr;34(10):1072–8.
 121. Koolen BB, Donker M, Straver ME, van der Noordaa MEM, Rutgers EJT, Valdés Olmos RA, et al. Combined PET-CT and axillary lymph node marking with radioactive iodine seeds (MARI procedure) for tailored axillary treatment in node-positive breast cancer after neoadjuvant therapy. *Br J Surg*. 2017 Aug;104(9):1188–96.
 122. Swiss Group for Clinical Cancer Research. Tailored Axillary Surgery With or Without Axillary Lymph Node Dissection Followed by Radiotherapy in Patients With Clinically Node-positive Breast Cancer (TAXIS) (TAXIS).
 123. Peng J-H, Zhang X, Song J-L, Ran L, Luo R, Li H-Y, et al. Neoadjuvant chemotherapy reduces the expression rates of ER, PR, HER2, Ki67, and

- P53 of invasive ductal carcinoma. *Medicine (Baltimore)*. 2019 Jan;98(2):e13554.
124. Tadros AB, Yang WT, Krishnamurthy S, Rauch GM, Smith BD, Valero V, et al. Identification of Patients With Documented Pathologic Complete Response in the Breast After Neoadjuvant Chemotherapy for Omission of Axillary Surgery. *JAMA Surg*. 2017;152(7):665–70.
 125. Simpson EH. The Interpretation of Interaction in Contingency Tables. *J R Stat Soc*. 1951;Ser. B 13:238–41.
 126. Yenidunya S, Bayrak R, Haltas H. Predictive value of pathological and immunohistochemical parameters for axillary lymph node metastasis in breast carcinoma. *Diagn Pathol*. 2011 Mar;6:18.
 127. Rivers AK, Griffith KA, Hunt KK, Degnim AC, Sabel MS, Diehl KM, et al. Clinicopathologic Features Associated With Having Four or More Metastatic Axillary Nodes in Breast Cancer Patients With a Positive Sentinel Lymph Node. *Ann Surg Oncol*. 2006 Jan;13(1):36–44.
 128. Haroon S, Hashmi AA, Khurshid A, Kanpurwala MA, Mujtuba S, Malik B, et al. Ki67 index in breast cancer: correlation with other prognostic markers and potential in pakistani patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14(7):4353–8.
 129. Dihge L, Bendahl P-O, Rydén L. Nomograms for preoperative prediction of axillary nodal status in breast cancer. *Br J Surg*. 2017 Oct;104(11):1494–505.
 130. Metzger-Filho O, Sun Z, Viale G, Price KN, Crivellari D, Snyder RD, et al. Patterns of Recurrence and outcome according to breast cancer subtypes in lymph node-negative disease: results from international breast cancer study group trials VIII and IX. *J Clin Oncol*. 2013 Sep;31(25):3083–90.
 131. Li Z-H, Hu P-H, Tu J-H, Yu N-S. Luminal B breast cancer: patterns of recurrence and clinical outcome. *Oncotarget*. 2016;7(40):65024–33.

132. Rezai M, Kraemer S, Kimmig R, Kern P. Breast conservative surgery and local recurrence. *Breast*. 2015 Nov;24 Suppl 2:S100-7.
133. Sidoni A, Cavaliere A, Bellezza G, Del Sordo R, Angiero F, Gori S, et al. Coexpression of HER-2/neu and p53 in breast cancer identifies a subset with an aggressive biopathological profile. *Tumori*. 92(5):412–5.
134. Vera-Badillo FE, Napoleone M, Ocana A, Templeton AJ, Seruga B, Al-Mubarak M, et al. Effect of multifocality and multicentricity on outcome in early stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Jul;146(2):235–44.
135. Foroudi F, Tyldesley S, Walker H, Mackillop WJ. An evidence-based estimate of appropriate radiotherapy utilization rate for breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys [Internet]*. 2002 Aug 1;53(5):1240–53.
136. Algara López M, Sanz Latiesas X, Foro Arnalot P, Lacruz Bassols M, Reig Castillejo A, Lozano Galán J, et al. Use of radiation treatment units in breast cancer. Changes in the last 15 years. *Clin Transl Oncol [Internet]*. 2008 Jan;10(1):47–51.
137. Griggs JJ, Hawley ST, Graff JJ, Hamilton AS, Jagsi R, Janz NK, et al. Factors associated with receipt of breast cancer adjuvant chemotherapy in a diverse population-based sample. *J Clin Oncol*. 2012 Sep ;30(25):3058–64.
138. Hennigs A, Riedel F, Marmé F, Sinn P, Lindel K, Gondos A, et al. Changes in chemotherapy usage and outcome of early breast cancer patients in the last decade. *Breast Cancer Res Treat [Internet]*. 2016 Dec 15 [cited 2019 Apr 1];160(3):491–9.
139. Burstein HJ, Temin S, Anderson H, Buchholz TA, Davidson NE, Gelmon KE, et al. Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: american society of clinical oncology clinical practice guideline focused update. *J Clin Oncol*. 2014 Jul;32(21):2255–69.

140. He C, Li L, Guan X, Xiong L, Miao X. Mutant p53 Gain of Function and Chemoresistance: The Role of Mutant p53 in Response to Clinical Chemotherapy. *Chemotherapy*. 2017;62(1):43–53.
141. Nishimura R, Osako T, Nishiyama Y, Tashima R, Nakano M, Fujisue M, et al. Evaluation of factors related to late recurrence--later than 10 years after the initial treatment--in primary breast cancer. *Oncology [Internet]*. 2013;85(2):100–10.
142. Kim K, Chie EK, Han W, Noh D-Y, Park IA, Oh D-Y, et al. Prognostic value of p53 and bcl-2 expression in patients treated with breast conservative therapy. *J Korean Med Sci [Internet]*. 2010 Feb;25(2):235–9.
143. Mattes MD, Bhatia JK, Metzger D, Ashamalla H, Katsoulakis E. Breast Cancer Subtype as a Predictor of Lymph Node Metastasis according to the SEER Registry. *J Breast Cancer [Internet]*. 2015 Jun;18(2):143–8.