

Hubungan Ekspresi Survivin dengan Subtipe Molekular pada Karsinoma Payudara Invasif Tipe Tidak Spesifik

Luh Dewi Rahayu, I Gusti Alit Artha, Herman Saputra

*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar*

ABSTRAK

Latar belakang

Kanker payudara merupakan salah satu penyebab kematian pada wanita. Peran survivin, yaitu suatu protein penghambat apoptosis pada karsinogenesis payudara belum banyak diteliti. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan hubungan positif antara ekspresi survivin dengan subtipe molekular pada karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode observasional analitik potong lintang. Sampel penelitian adalah semua sediaan blok parafin penderita karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik yang diperiksa secara histopatologi dan subtipe molekular luminal, HER-2 positif dan *triple negative* yang diperiksa di Bagian/SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar sejak tanggal 1 Januari 2013 sampai 28 Februari 2015. Dilakukan pemeriksaan histopatologik, pembagian subtipe molekular serta pulasan imunohistokimia survivin pada 42 sampel. Hasil penelitian dianalisis dengan uji korelasi Lambda dan uji *chi-square*.

Hasil

Ekspresi survivin lebih tinggi dan berbeda bermakna ($p < 0,05$) pada subtipe molekular HER-2 positif dan "triple negative" dibandingkan subtipe luminal. Distribusi kasus karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik subtipe molekular luminal, HER-2 positif dan triple negative menunjukkan jumlah kasus terbanyak berada pada umur 40-49 tahun (45,2%).

Kesimpulan

Terdapat hubungan bermakna antara ekspresi survivin dan subtipe molekular karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik; sehingga dapat digunakan untuk menentukan prognosis.

Kata kunci: ekspresi survivin, karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik, subtipe molekular.

ABSTRACT

Background

Breast cancer is one of the leading cause of death in female. The role of survivin, which is an apoptotic inhibitor, in breast carcinogenesis is not well understood. The aim of this study was to know the correlation between survivin expression and molecular subtypes of invasive carcinoma of the breast, no special type.

Methods

The sample used was paraffin blocks from cases diagnosed as invasive carcinoma no special type at Departement of Anatomical Pathology Faculty of Medicine University of Udayana/Sanglah General Hospital Denpasar, from 1st January 2013 to 28th February 2015. Molecular subtyping was done based on immunostaining, as well as survivin staining. Lambda correlation test and chi-square test were performed

Results

Survivin expression was significantly higher in HER2 positive and triple negative as compared to the luminal subtype ($p < 0.05$). Most cases of luminal, HER2 positive and triple negative subtype were in 40-49 years old.

Conclusion

Significantly high survivin expression was found in the HER2 positive and triple negative as compare to luminal subtype, hence can be used as prognosis predictor.

Key words: invasive carcinoma of no special type of the breast, molecular subtypes, survivin expression.

PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah keganasan paling sering pada wanita diperkirakan 180.510 kasus baru kanker payudara dan 40.910 kematian karena kanker payudara (40.460 pada wanita dan 450 pada laki-laki) pada tahun 2007 di Amerika Serikat.¹ Berdasarkan data dari Badan Registrasi Kanker, Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia (IAP) pada tahun 2010, kejadian kanker payudara di Indonesia menempati peringkat pertama dengan proporsi sebesar 27,17%, dibandingkan dengan kanker leher rahim yang hanya 19,36% dari keseluruhan tumor ganas pada wanita.²

Perbedaan subtipe kanker payudara bukan hanya berdasarkan gambaran patologi seperti tipe histologi dan derajat histologi tetapi juga pada ekspresi molekular. Subtipe molekular merupakan salah satu faktor prognosis. Kanker payudara dibagi menjadi tiga subtipe molekular utama yaitu luminal, HER-2 positif dan *basal like* atau *triple negative*, yang mempunyai hubungan penting dengan gambaran klinis, respon terhadap terapi dan perjalanan penyakit. Subtipe molekular luminal mempunyai perjalanan penyakit yang lebih baik dibandingkan tipe lainnya. HER-2 positif dan *triple negative* mempunyai prognosis yang lebih buruk dalam lima tahun pertama setelah didiagnosis.^{3,4} Beberapa penelitian sedang dilakukan untuk menentukan kemungkinan survivin digunakan sebagai faktor prognosis.⁵

Kanker merupakan akibat dari suatu rangkaian perubahan genetik di mana sel normal berubah menjadi ganas ketika terjadi penghindaran terhadap kematian sel. Penekanan apoptosis adalah ciri khas dari kebanyakan kanker yang biasanya mempunyai ketidakstabilan genetik. Sesuai dengan hal tersebut, pada kanker ditemukan peningkatan ekspresi beberapa anggota keluarga *inhibitor of apoptosis protein* (IAP) dan ekspresi berlebihan dari IAP akan meningkatkan resistensi terhadap stimulus apoptosis pada banyak keganasan. Survivin adalah anggota dari keluarga gen *inhibitor apoptosis protein* (IAP), yang berfungsi menghambat apoptosis dan regulasi mitosis. Survivin terdiri 16,5 kD protein dari 142 asam amino, yang dikode oleh suatu gen tunggal yang berlokasi pada kromosom 17q25.⁶

Pada penelitian terbaru, ekspresi survivin ditemukan pada 70,7%-90,2% kasus karsinoma payudara dengan proporsi bervariasi.

Sebaliknya, pada jaringan payudara normal disekitarnya tidak mengekspresikan survivin. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang lain bahwa survivin terekspresi pada beberapa keganasan termasuk karsinoma payudara, tetapi tidak pada jaringan non neoplastik. Terdapat hubungan antara ekspresi survivin dengan faktor prognosis buruk seperti ukuran tumor yang besar, derajat diferensiasi histologi yang tinggi, metastase kelenjar getah bening, stadium tumor yang tinggi, status hormonal ER negatif dan PR negatif.^{7,8} Jha *et al.*, mengemukakan terdapat hubungan bermakna ekspresi survivin dengan stadium tumor, derajat diferensiasi histologi, status ER dan HER-2. Penelitian lain tidak menemukan hubungan bermakna antara ekspresi survivin dengan stadium klinis, ukuran tumor, derajat diferensiasi histologi, metastasis kelenjar getah bening dan reseptor hormonal (ER, PR) menggunakan analisis mRNA dan imunohistokimia.⁹

Berdasarkan subtipe molekular, survivin ditemukan pada ekspresi lebih rendah pada luminal dan lebih tinggi pada HER-2 positif serta *triple negative* sebagai tanda perilaku kanker payudara yang agresif dan mempunyai perjalanan penyakit yang buruk.⁸ Stres oksidatif yang tinggi akan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) yang akan menyebabkan kerusakan DNA sehingga akan menginduksi apoptosis dan menurunkan ekspresi survivin sehingga menyebabkan pembentukan kanker ER positif atau luminal.¹⁰ Mutasi TP53 dan ekspresi tinggi HER-2 akan menekan apoptosis dan meningkatkan ekspresi survivin sehingga terjadi proliferasi yang tidak terkontrol dan pertumbuhan kanker dengan HER-2 positif.¹¹ Mutasi TP53 dan inaktivasi BRCA1 akan meningkatkan ekspresi survivin dan terjadi resistensi apoptosis sehingga menyebabkan pertumbuhan kanker *triple negative*.¹²

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan hubungan positif antara ekspresi survivin dengan subtipe molekular pada karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian dengan menggunakan metode observasional analitik potong lintang. Penelitian dilakukan di Bagian/SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah sejak tanggal 2 Juli sampai 18 Agustus 2015. Sampel

penelitian adalah semua sediaan blok parafin penderita karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik yang diperiksa secara histopatologi dan subtipe molekular luminal, HER-2 positif dan *triple negative* yang diperiksa secara imunohistokimia di Bagian/SMF Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Unniversitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar, sejak tanggal 1 Januari 2013 sampai dengan 28 Februari 2015. Kriteria inklusi sampel adalah sediaan blok parafin yang berasal dari bahan biopsi atau operasi payudara yang mengandung cukup jaringan tumor karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik dan memenuhi kriteria pengelompokan subtipe molekular berdasarkan pemeriksaan imunohistokimia serta belum mendapat radioterapi, kemoterapi dan terapi hormonal. Sedangkan kriteria eksklusi sampel adalah sediaan blok parafin *frozen section* karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik serta blok parafin yang rusak atau berjamur.

Subtipe molekular adalah profil ekspresi protein pada karsinoma payudara yang dikelompokkan berdasarkan imunohistokimia dan klasifikasi molekular yaitu luminal (ER+ dan atau PR+, HER2- atau HER-2+), HER-2 positif (HER-2+, ER- dan atau PR-) dan *triple negative* (ER- dan atau PR-, HER2-).¹³ Interpretasi histomorfologi ini dilihat dengan pulasan Hematoksin dan Eosin (H&E), menggunakan mikroskop cahaya binokuler Olympus CX22. Interpretasi diawali dengan pembesaran lemah 40 kali untuk melihat arsitektur kelenjar kemudian dengan pembesaran kuat 400 kali untuk melihat morfologi inti. Interpretasi imunohistokimia ER positif adalah pulasan pada nukleus berwarna coklat $\geq 1\%$ sel-sel tumor. PR positif adalah pulasan pada nukleus berwarna coklat $\geq 1\%$ sel-sel tumor.¹⁴ HER-2 positif (+3) adalah terpulask penuh kuat pada membran $>10\%$ sel-sel tumor invasif.¹⁵

Preparat hasil pulasan Hematoksin dan Eosin (H&E) sesuai nomor-nomor yang telah dikumpulkan, dievaluasi ulang oleh peneliti dan dua dokter spesialis patologi untuk memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sehingga didapat tiga kelompok data yaitu karsinoma payudara invasive tipe tidak spesifik subtipe molekular luminal, HER-2 positif dan *triple negative*. Preparat yang sulit dievaluasi dilakukan potong ulang blok dan dipulas dengan pulasan rutin menggunakan Harris's hematoksin dan eosin. Setelah itu dilakukan pemotongan ulang blok parafin, untuk diwarnai dengan pewarnaan

imunohistokimia survivin dengan menggunakan antibodi primer monoklonal survivin dari Dako, dilusi yang optimal dan *antigen retrieval*. Pulasan survivin diamati secara semikuantitatif dengan mikroskop cahaya binokuler Olympus CX22 menggunakan pembesaran 40 kali untuk melihat distribusi sel yang terpulask positif, dan pembesaran 400 kali untuk melihat intensitas pewarnaan pada sel yang terpulask positif. Sel yang mengekspresikan survivin akan tampak berwarna coklat pada sitoplasma dan atau inti sel epitel ganas infiltratif. Penilaian ekspresi survivin dihitung pada sampel menggunakan metode skoring yang telah digunakan pada penelitian-penelitian internasional sebelumnya. Persentase dihitung berdasarkan sel-sel tumor yang positif, ditentukan paling sedikit pada lima area menggunakan pembesaran 400x dan ditandai oleh satu dari lima kategori berikut: 0: $<5\%$, 1: $5\%-20\%$, 2: $21\%-50\%$, 3: $51\%-75\%$ dan 4: $>75\%$. Intensitas pulasan dikelompokkan berdasarkan: (a) lemah, 1+; (b) sedang, 2+; dan (c) kuat, 3+. Persentase dari sel-sel yang positif dikalikan intensitas pulasan dengan skor akhir tiap kasus adalah dengan nilai antara 0 sampai dengan 12. Kasus dengan skor <1 disebut negatif dan skor ≥ 1 disebut positif. Setiap sediaan dinilai secara *blind* dan independen oleh 2 orang dokter spesialis patologi anatomik.⁸ Interpretasi ekspresi survivin dilakukan oleh peneliti dan dosen pembimbing tanpa mengetahui data klinikopatologi pasien. Kontrol positif berasal dari jaringan tumor karsinoma payudara invasif yang terpulask positif terhadap survivin.

Data-data pengamatan mikroskopik disajikan dalam bentuk tabel dan deskriptif. Dalam penelitian ini untuk mengetahui hubungan antara ekspresi survivin dengan subtipe molekular pada karsinoma payudara invasive tipe tidak spesifik dilakukan uji korelasi Lambda dan uji *chi-square* berdasarkan uji silang 3x2 dengan uji kemaknaan ditentukan pada $p < 0,05$. Pada penelitian ini, analisa statistik terhadap data penelitian dilakukan dengan menggunakan program komputer SPSS 16,0 *for windows*.

HASIL

Sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi terdiri atas 14 kasus karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik subtipe molekular luminal, 14 kasus karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik subtipe molekular

HER-2 positif dan 14 kasus karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik subtipe molekular *triple negative*. Karakteristik sampel penelitian disajikan dalam Tabel 1.

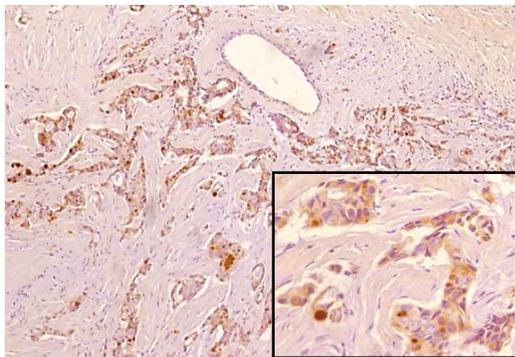
Tabel 1. Karakteristik sampel penelitian.

Umur	Subtipe molekular			Total n (%)
	Luminal n (%)	HER-2 positif n (%)	<i>Triple negative</i> n (%)	
Rerata±SD	52,50±7,80	52,79±7,72	45,00±11,40	50,10±9,63
30-39	0 (0)	0 (0)	4 (28,6)	4 (9,5)
40-49	6 (42,9)	6 (42,9)	7 (50,0)	19 (45,2)
50-59	5 (35,7)	6 (42,9)	1 (7,1)	12 (28,6)
60-69	3 (21,4)	1 (7,1)	1 (7,1)	5 (11,9)
70-79	0 (0)	1 (7,1)	1 (7,1)	2 (4,8)

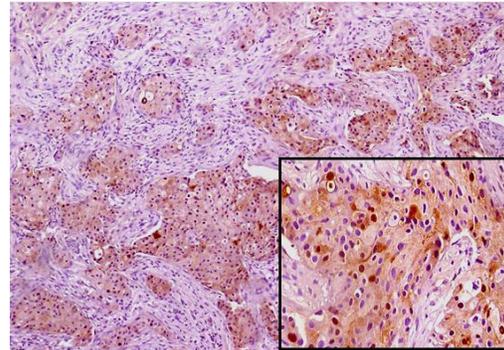
Untuk mengetahui hubungan antara ekspresi survivin dan subtipe molekular berdasarkan imunohistokimia, maka dilakukan uji korelasi Lambda berdasarkan uji silang 3x2 dan uji *chi-square* menunjukkan terdapat hubungan positif antara ekspresi survivin dengan subtipe molekular (koefisien korelasi (λ)=0,295; p=0,045; p<0,05) disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis hubungan antara ekspresi survivin dengan subtipe molekular.

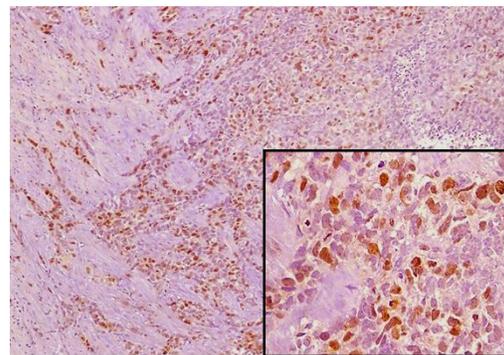
Subtipe molekular	Ekspresi survivin		Koefisien korelasi (λ)	p
	Positif n (%)	Negatif n (%)		
Luminal	9 (64,3)	5 (35,7)	0,295	0,045
HER-2 positif	13 (92,9)	1 (7,1)		
<i>Triple negative</i>	13 (92,9)	1 (7,1)		



Gambar 1. Ekspresi survivin positif pada subtipe molekular luminal. Survivin terpulas pada nukleus dan sitoplasma >75% sel ganas dengan intensitas kuat (insert IHK survivin, pembesaran 400x).



Gambar 2. Ekspresi survivin positif pada subtipe molekular HER-2 positif. Survivin terpulas pada nukleus dan sitoplasma >75% sel ganas dengan intensitas kuat (insert IHK survivin, pembesaran 400x).



Gambar 3. Ekspresi survivin positif pada subtipe molekular *triple negative*. Survivin terpulas pada nukleus dan sitoplasma >75% sel ganas dengan intensitas kuat (insert IHK survivin, pembesaran 400x).

DISKUSI

Sampel penelitian karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik ini menunjukkan rentang umur penderita yang bervariasi yaitu berkisar mulai dari umur 30 tahun sampai 74 tahun, dengan rerata umur 50,10±9,63 tahun dan jumlah terbanyak pada rentang umur 40-49 tahun (45,2%). Karsinoma payudara jarang terjadi pada wanita umur dibawah 25 tahun tetapi insidennya meningkat setelah umur 30 tahun. Umur rata-rata saat didiagnosis pada pasien karsinoma payudara invasif wanita kulit putih adalah 61 tahun, 56 tahun pada wanita *Hispanic*, dan 46 tahun untuk wanita Afrika-Amerika.¹³

Penelitian ini menggunakan 42 sampel yang dibagi menjadi tiga kelompok yaitu karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik subtipe luminal sebanyak 14 kasus (33,3%), subtipe HER-2 positif sebanyak 14 kasus (33,3%) dan subtipe *triple negative* sebanyak 14 kasus (33,3%). Luminal merupakan subtipe molekular yang paling sering ditemukan yaitu 65% dari populasi karsinoma payudara. Luminal dibedakan menjadi proliferasi rendah dan proliferasi tinggi, biasanya dengan derajat histologi yang rendah sampai sedang dan dengan mutasi BRCA2 pada subtipe molekular luminal proliferasi tinggi. HER-2 positif ditemukan pada 20% karsinoma payudara, dengan derajat histologi yang lebih tinggi, mempunyai ekspresi tinggi HER-2 dan mutasi TP53. *Triple negative* ditemukan pada 15% karsinoma payudara. *Triple negative* mempunyai derajat histologi yang tinggi serta mutasi pada BRCA1 dan TP53. HER-2 positif dan *triple negative* mempunyai prognosis yang lebih buruk dalam lima tahun pertama setelah di diagnosis.^{4,13,16}

Pada penelitian ini, ekspresi survivin yang positif dideteksi pada 83,3% kasus. Ekspresi survivin positif pada subtipe luminal sebanyak 64,3% (n=9), ekspresi survivin positif pada subtipe HER-2 positif 92,9% (n=13) dan ekspresi survivin positif pada subtipe molekular *triple negative* 92,9% (n=13). Uji korelasi lambda berdasarkan uji silang 3x2 dan uji *chi-square* didapatkan hubungan yang positif dan secara statistik bermakna antara ekspresi survivin dengan subtipe luminal, HER-2 positif dan *triple negative* pada karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik. Hal ini didukung pula dengan hasil rerata skor survivin pada subtipe luminal lebih rendah dibandingkan rerata skor survivin pada subtipe HER-2 positif dan *triple negative*.

Penelitian lain mendapatkan ekspresi survivin lebih tinggi pada karsinoma payudara *triple negative*, dibandingkan subtipe molekular lainnya.⁸ *Triple negative* merupakan subtipe molekular yang lebih agresif dan mempunyai prognosis yang lebih buruk dibandingkan subtipe molekular lainnya. Ekspresi survivin juga ditemukan lebih tinggi pada karsinoma payudara ER negatif dibandingkan ER positif.¹⁷ Penelitian lain menunjukkan ekspresi survivin berhubungan positif dengan derajat diferensiasi dan subtipe molekular HER-2 positif.¹⁸

Karsinoma payudara ER positif atau subtipe luminal mempunyai karakteristik stress

oksidatif yang tinggi. Stress oksidatif menyebabkan kerusakan DNA atau peroksidase lipid, ditemukan pada karsinoma payudara ER positif. Oksidasi NADPH dan mitokondria dapat menginduksi stress oksidatif dengan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) seperti *superoxide*, *hydrogen peroxide* dan *peroxynitrite* akan meningkatkan peroksidase lipid dan kerusakan DNA. Stress oksidatif yang tinggi akan menyebabkan apoptosis yang diperantarai mitokondria. Stress oksidatif yang tinggi akan menyebabkan menurunnya ekspresi survivin pada karsinoma payudara subtipe molekular luminal.¹⁰

Ekspresi berlebihan HER-2 akan menurunkan apoptosis melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik. HER-2 merupakan aktivator jalur PI3K-AKT yang berperan dalam menekan apoptosis. HER-2 akan mengaktifkan sinyal PI3K-AKT yang secara langsung akan menekan FOXO1/3a melalui fosforilasi. AKT juga akan menghambat TP53. Penekanan FOXO1/3a dan penghambatan TP53 akan meningkatkan ekspresi survivin dan menghambat apoptosis. Sehingga ekspresi survivin yang tinggi ditemukan pada karsinoma payudara subtipe molekular HER-2 positif.^{11,18}

Karsinoma payudara subtipe *triple negative* mempunyai karakteristik kehilangan PTEN, aktivasi jalur PI3K-AKT dan mutasi TP53 sehingga akan meningkatkan ekspresi survivin. Lebih dari 80% *carrier* mutasi BRCA1 adalah karsinoma payudara *triple negative*. Penderita dengan mutasi BRCA1 mempunyai gangguan dalam perbaikan DNA sehingga karsinoma payudara *triple negative* mempunyai derajat diferensiasi yang buruk, malignansi yang tinggi, lebih agresif dan perjalanan akhir penyakit yang buruk.^{19,20}

Pada 35 kasus dengan ekspresi survivin yang positif, didapatkan persentase, intensitas dan lokasi pulasan yang bervariasi. Survivin terpulas pada nukleus dan atau sitoplasma. Perbedaan fungsi protein survivin pada lokasi pulasan yang berbeda masih merupakan kontroversi. Penelitian sebelumnya menjelaskan perbedaan lokasi pulasan survivin dan hubungannya dengan prognosis. Disebutkan survivin mempunyai lokasi pada nukleus dan atau sitoplasma, dimana kedua lokasi ini berbeda secara immunohistokimia dan hanya survivin pada sitoplasma yang mengalami fosforilasi. Fosforilasi survivin diperlukan untuk

inhibisi apoptosis. Sedangkan survivin pada nukleus tidak mengalami fosforilasi sehingga ekspresi survivin pada nukleus berhubungan dengan prognosis yang lebih baik dan *favourable outcome*.^{8,21} Penelitian lain menyebutkan survivin yang berlokasi pada nukleus berfungsi untuk mengontrol pembelahan sel dan merupakan indikator prognosis yang buruk. Survivin pada sitoplasma yang berhubungan dengan fungsi anti apoptosis tidak mempunyai efek prognosis yang bermakna.²² Pada penelitian ini tidak mencari hubungan antara lokasi pulasan survivin dengan faktor prognosis.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan positif antara ekspresi survivin dengan subtipe molekular pada karsinoma payudara invasif tipe tidak spesifik yaitu ekspresi survivin ditemukan lebih rendah pada subtipe luminal dan lebih tinggi pada subtipe HER-2 positif dan *triple negative*. Survivin bisa digunakan sebagai penanda tingkat agresivitas tumor berdasarkan subtipe molekular sehingga bisa menentukan prognosis dan kemungkinan pemanfaatan survivin sebagai target terapi pada karsinoma payudara tipe tidak spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Teng LS, Zheng Y, Wang H. BRCA1/2 Associated Hereditary Breast Carcinoma. J Zhejiang University Science B. 2007; 9: 85-9.
2. Direktorat Jendral Pelayanan Medik. Kanker di Indonesia Tahun 2010, Data Histopatologik. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2010.
3. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Cellular Responses to Stress and Toxic Insult: Adaptation, Injury, and Death. Robbin and Cotran's Pathology Basic of Diseases. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2015.
4. Shubbar, E. Analysis of Novel Biomarkers for Unfavorable Breast Cancer Prognosis (tesis). Gothenburg: University of Gothenburg; 2012.
5. Lv, YG, Yu F, Yao Q, Chen JH, Wang L. The role of survivin in diagnosis, prognosis and treatment of breast cancer. J Thorac Dis. 2010; 2: 100-10.

6. Kelly RJ, Chavez AL, Citrin D, Janik JE, Morris JC. Impacting tumor cell-fate by targetting the inhibitor of apoptosis protein survivin. Mol Cancer. 2011; 10: 1-11.
7. Tsai WC, Chu CH, Yu CP, Sheu LF, Chen A, Chiang H, *et al*. Matriptase and survivin expression associated with tumor progression and malignant potential in breast cancer of chinese women: Tissue microarray analysis of immunostaining scores with clinicopathological parameters. Disease Markers. 2008; 24: 89-99.
8. Youssef NS, Hewedi IH, Raboh NM. Immunohistochemical expression of survivin in breast carcinoma: Relationship with clinicopathological parameters, proliferation and molecular classification. J Egyptian Nat Cancer Inst. 2008; 20: 348-57.
9. Goksel G, Taneli F, Uslu R, Ulman C, Coskun T, Kandiloglu AR. Serum HER-2/neu and survivin levels and their relationship to histological parameters in early-stage breast cancer. J Int Med Res. 2007; 35: 165-72.
10. Pervin S, Tran L, Urman M, Parveen M, Li SA, Chaudhuri G, *et al*. Oxidative stress specifically downregulates survivin to promote breast tumour formation. British J Cancer. 2013; 108: 848-58.
11. Carpenter RL, Lo HW. Regulation of apoptosis by HER-2 in breast cancer. J Carcinog Mutagen. 2013; S7:003: 1-6.
12. Blanchard Z, Paul BT, Craft B, Elshamy WM. BRCA1-iris inactivation overcomes paclitaxel resistance in triple negative breast cancers. Breast Cancer Res. 2015; 17: 1-18.
13. Lester SC. The Breast. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, editors. Robbin and Cotran's Pathology Basic of Diseases Eighth Edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2015. p.1043-71.
14. Choccalingam C, Rao L. Learning experience in immunohistochemical reporting of breast cancer at a Rural Tertiary Hospital in India: A comparison in initial and reviewed reporting of ER, PR, HER-2 status. The Internet J Pathol. 2013; 13: 1-7.
15. Rakha EA, Pinder SE, Bartlett JM, Ibrahim M, Starczynski J, Carder EP, *et al*. Update UK recommendation for HER-2 assessment in breast cancer. J Clin Pathol. 2014; 10: 1-7.

16. Wu Y, Sahin AA. Molecular Classification and Testing of Breast Carcinoma. In Hoda SY, Brogi E, Koerner FC, Rosen PP, editors. Rosen's Breast Pathology, Fourth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2014. p. 1337-49.
17. Debeb BG, Smith DL, Li L, Larson R, Xu W, Woodward WA. Differential effect of phosphorylation defective survivin on radiation response in estrogen receptor positive and negative breast cancer. *Plos One J.* 2015; 10: 1-14.
18. Cosgrave N, Hill AD, Young LS. Growth factor dependent regulation of survivin by C-myc in human breast cancer. *J Mol Endocrinol.* 2006; 37: 377-90.
19. Chen JQ, Russo J. ER α -negative and triple negative breast cancer: Molecular features and potential therapeutic approaches. *Biochim Biophys Acta.* 2009; 1796: 162-75.
20. Bertucci F, Finetti P, Birnbaum D. Basal breast cancer: A complex and deadly molecular subtype. *Current Mol Med.* 2012; 12: 96-110.
21. Jha K, Kumar M, Shukla VK, Pandey M. Survivin expression and correlation with clinico-pathological parameters in breast cancer. *World J Pathol.* 2012; 1: 23-30.
22. Joanna WS, Anna J, Ryszard W, Włodzimierz L, Maciej B, Czarnywojtek A, *et al.* Survivin-Prognostic Tumor Biomarker in Human Neoplasm-Review. *Ginecol Pol.* 2012; 83, 537-40.