

Meme Kanserinde Survivin İfadesinin Tamoksifen Direncine Etkisi

İsa Dede^{1*}, Hakan Akbulut², Ayça Karabörk², Şirin Çetin³⁺

¹Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı Hatay

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

⁴Tokat Gaziosman Paşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, Tokat

*Corresponding author: drdede@mynet.com

+Speaker: cetinsirin55@gmail.com

Abstract –Survivin antiapoptotik bir proteindir. Embriyonik yaşamda ve birçok tümördeyüksek düzeyde eksprese olmasına rağmen normal dokularda bulunmaz. Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malignitedir. Meme kanserinin standart tedavisi kemoterapi, estrogen reseptörü pozitif olan hastalarda endokrin tedavi ve HER-2 pozitif hastalıkta trastuzumab tedavilerinin birlikte veya ardışık uygulanmasıdır. Fakat bazı hastalarda endokrin tedaviye karşı direnç gelişmektedir.

Bu çalışmamızda amaç survivin ekspresyonunun tamoksifen direncine olan etkisini değerlendirilmiştir. 2004-2011 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim dalında meme kanseri tanısı ile adjuvan tamoksifen kullanan hastalar çalışmaya alındı. Tamoksifen duyarlı ve dirençli her iki grup da 25'er hasta incelendi. Survivin ekspresyonu survivin antikoları kullanılarak immunhistokimyasal olarak değerlendirildi. Nükleer vesitoplazmik survivin ekspresyonları boyanma yüzdesine göre derecelendirildi.

Tamoksifene dirençli grup da nükleer boyanma, tamoksifen duyarlı gruptakine göre anlamlı olarak daha fazla bulunurken (p=0.045). Sitoplazmik boyanma tamoksifen duyarlı grupda daha fazla fakat anlamlı bir fark bulunamadı (p=0.544).

Nükleer survivin overekspresyonunun, tamoksifen tedavi seçiminde bir belirteç olabileceğini düşünüyoruz. Ancak bu konunun daha fazla hasta sayısı ile yapılacak çalışmalar ile aydınlatılmasına ihtiyaç vardır. Survivin'in tamoksifenin indüklediği apoptozisi engelleyerek bu etkisini göstermiş olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler– : survivin, immunhistokimya, tamoksifen direnci

Role of Survivin Expression In Tamoxifen Resistance In Patient With Early Breast Cancer

Abstract-Survivin is an anti-apoptotic protein. Survivin is expressed during embryonic life and in many tumors but not in normal tissue. Breast cancer is the most common malignant tumor in women. Adjuvant tamoxifen is one of the basic endocrine treatment modalities for the operable patients with estrogen receptor positive breast cancer. However, some of the patients are resistant to tamoxifen.

In the current study we aimed to evaluate the role of surviving expression in tamoxifen resistance in patients with early breast cancer. A total of consecutive fifty patients with early breast cancer diagnosed and treated between 2004 and 2011 in Ankara University School of Medicine included in the study. Patients were divided into two groups namely tamoxifen resistant (25 patients) and tamoxifen sensitive (25 patients). Nuclear and cytoplasmic survivin expression was evaluated by immunohistochemical staining. The survivin expression level was regarded as low in patients with no or less than 5% staining.

The nuclear surviving expression was significantly higher in tamoxifen-resistant patients when compared to the sensitive ones (p=0.045). Though not significant, the cytoplasmic surviving staining was more prominent in tamoxifen-sensitive patients (p=0.544).

In conclusion, nuclear survivin expression seems to be related with tamoxifen resistance and a favorable prognostic factor in patients with early breast cancer.

Keywords; survivin, immunohistochemistry, tamoxifen resistance

GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen ve akciğer kanserinden sonra 2. sıklıkla ölüme neden olan kanserdir (1). Meme kanserinin ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde öncelikle östrojenler sorumludur. Östrojen hücre içine girdikten sonra çekirdekteki östrojen reseptörüne bağlanır. Bunun sonucunda çeşitli büyüme faktörleri uyarılır (2). Meme kanseri tanılı hastaların %66'sında bilinen bir risk faktörü yoktur (3). Meme kanserinin bilinen risk faktörleri arasında başlıca yaş, aile öyküsü, genetik faktörler, reproduktif etkenler, laktasyon, hormonal etkenler ve çevresel faktörler yer alır (4).

Meme kanserinde en önemli grup, östrojen ve progesteron reseptörü (ER ve PR) ekspresyen eden hormon duyarlı tümörlerdir. Bu tümörler tüm meme kanserli hastaların yaklaşık % 70'ini oluştururlar ve klinopatolojik olarak ER negatif tümörlerden farklıdırlar. Tümörde ER ve PR varlığı endokrin tedaviye cevabı gösterir ve hastalısız sağkalımın artmasını sağlar. Tamoksifen son 30 yıldır ER pozitif meme kanserli hastaların tüm sistemik tedavilerinde kullanılmaktadır. Ancak ER pozitif meme kanserli hastaların yaklaşık üçte biri tamoksifene cevap vermez veya direnç gelişir (5). Günümüzde tamoksifen direnci ile ilgili üç olası mekanizma üzerinde durulmaktadır. Metabolik direnç, intrinsik direnç ve kazanılmış dirençdir (6). ER ifadesinin kaybı, ER'de mutasyon olması, büyüme faktörünün sinyalinde artma olması gibi nedenler tamoksifen direncine artmaya neden olur (7). Hasta, metabolizmasındaki değişikliklerle tamoksifenin etkinliği değiştirilebilir ya da ER pozitif tümör tedaviye dirençlidir veya dirençli hale gelebilir (6).

Bununla ilgili suçlanan mekanizmalardan biri de yüksek survivin düzeyidir (7). Survivin anti-apoptotik bir proteindir. Çeşitli çalışmalarda bazı kanser türlerinde yüksek oranda saptanmıştır. Normal dokularda bulunmaz ve yalnızca embriyonik dokularda ve tümör hücrelerinde bulunur (8,9).

Bu çalışmada tamoksifen direnci olan hastalarda survivin ifadesinin immunohistokimyasal metodlarla değerlendirerek

tamoksifen direnci ile survivin ifadesi arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

MATERYAL VE METOD

2003- 2011 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bölümünde meme kanseri tanısı alan ve tamoksifen kullanan 50 hasta retrospektif olarak araştırıldı. Çalışmaya alınma kriterleri:

1. Operabl meme kanseri tanısı konmuş ve opere edilmiş olan,
2. Hormon reseptörü pozitif olan
3. Adjuvan tedavi olarak tamoksifen başlanmış ve hastalık nüksüne kadar veya nüks yok ise en az 3 yıl süreyle tamoksifen kullanmış olan,
4. Nüks gelişene kadar veya nüks yok ise en az 3 yıl süreyle takip edilmiş olan hastalar retrospektif olarak çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil etmeme kriterleri;

1. Metastatik meme kanseri olan,
2. Operasyondan sonraki ilk 6 ay içinde veya tamoksifen başlandıktan sonraki ilk 3 ay içinde nüks gelişen,
3. İkinci primer tümörü olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Hastalar 2 ayrı gruba ayrıldı. Birinci grup tamoksifen duyarlı hastalar olarak adlandırıldı. Bu grupta tamoksifen kullanan ve tamoksifen kesildikten sonraki 1 yıl içinde nüks gelişmeyen hastalar alındı. İkinci grup ise tamoksifen kullanırken ya da tamoksifen kesildikten sonraki 6 ay içinde nüks gelişen hastalar alındı. Her iki gruba belirlenen periyot içinde gelmiş olan hastalar hasta alım kriterleri doğrultusunda sıralı olarak alındı. Her bir grup 25'er hasta olacak şekilde hasta alım periyodu belirlendi.

Klinopatolojik değerlendirmeler: Hastaların yaş, ailede kanser öyküsü, kanser evresi, ameliyat tipi, hormonal durum, eşlik eden hastalıklar, aldığı kemoterapiler, radyoterapiler ve tamoksifen kullanım süresi kaydedildi.

Hastaların poliklinik ve patolojik kayıtları incelenerek varsa nüks tarihleri ve son kontrol tarihleri belirlendi. Son kontrol tarihinden itibaren 6 aydan daha uzun süre geçmiş olanlar telefonla

ulaşarak nüks ve sağkalım durumları belirlendi. Tüm veriler 1 Mayıs 2013 tarihi itibarıyla güncellendi.

Hastaların patoloji raporları incelenerek tümör boyutu, T evresi, nodal tutulum durumu, tümör greydi v.b parametreler kaydedildi.

Hastalara ait hematoksilen-eosin boyanmış preparatlar tek bir patolog tarafından yeniden değerlendirildi. Rutin deparafinizasyon ve rehidrasyon uygulamaları ile 4 mikron kalınlığında örnekler elde edildi. İmmunohistokimyasal boyama için 1:200 oranında sulandırılmış survivine karşı monoklonal antikor (Santa Cruz FL142) kullanıldı. İmmunohistokimyasal inceleme Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında deneyimli bir patolog tarafından yapıldı.

Survivin boyanması sitoplazmik ve nükleer olarak boyanan tümöral hücre oranına göre derecelendirildi. Boyanma olmayan veya %5 den az boyanan hücreler negatif, %5-25 arası (+), %25-50 arası (++), %50-75 arası (+++), ve %75 üzeri boyanma (++++) olarak kabul edildi. Survivin boyanma yoğunluğu hafif, orta, kuvvetli olarak sınıflandırıldı.

Boyanması %25 üzerinde olanlar yüksek ekspresyon %25 ve altında olanlar düşük ekspresyon olarak değerlendirildi.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Beş yıllık hastalısız ve genel sağkalım süreleri belirlendi. Tanı tarihinden itibaren ilk nüks gelişene kadar olan süre hastalısız sağkalım süresi ve tanıdan son kontrol tarihi ya da exitus oluncaya kadar geçen süre genel sağkalım süresi olarak belirlendi. Tüm sağkalım verileri 1 Mayıs 2013 tarihi itibarıyla güncellendi. Verilen istatistiksel analizde; kategorik verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi, sağkalım analizlerinde ise Kaplan-Meier sağkalım analizi SPSS paket programı kullanılarak gerçekleştirildi.

BULGULAR

Çalışmaya her iki grupta toplam 50 hasta alındı. Hastaların hepsi kadın idi. Tamoksifen duyarlı ve dirençli grubun her ikisi de 25 hastadan oluşuyordu. Tamoksifen dirençli grup da median yaş 57 (dağılım 31-79) idi. Tamoksifen duyarlı grup da median yaş 59 (dağılım 32-82) idi.

Hastaların medyan takip süresi 85 ay (dağılım 25-179)

Hastaların özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Hasta özellikleri

	Tmx duyarlı	Tmx dirençli	P
Hasta Sayısı	25	25	
Cinsiyet	Kadın	Kadın	
Yaş	59(32-82)	57(31-79)	0.436
Evre			
I	%32	%20	0.132
II	%56	%44	
III	%12	%36	
Operasyon tipi			
MRM	%72	%56	0.018
MKC	%28	%44	
Adjuvan KT alanlar(oran)	%85	%76	0.108
Adjuvan RT alanlar(oran)	%40	%52	0.088
Tamoksifen kullanma süresi ay (dağılım,ay)	48 (24-60)	36 (8-60)	0.002

Hastaların İHK olarak nükleer ve sitoplazmik survivin boyanma özelliklerine göre gruplara dağılımı Tablo 2’ de verilmiştir.

Tablo 2. Nükleer ve sitoplazmik survivin boyanma özellikleri

	Tamoksifen dirençli	Tamoksifen duyarlı	P
Nükleer survivin ekspresyonu	%56 (14/25)	%28 (7/25)	0.045

yüksek			
Sitoplazmik survivin ekspresyonu yüksek	%64 (16/25)	%72 (18/25)	0.544

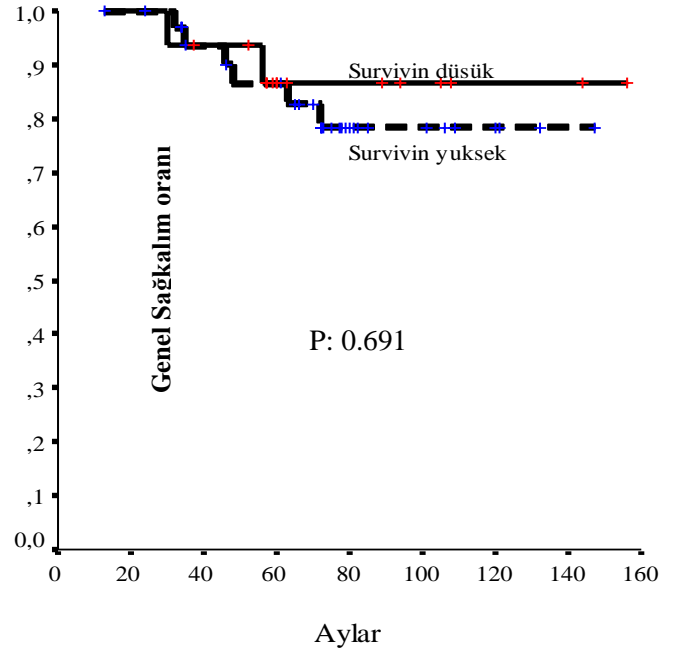
Tamoksifen dirençli grup da nükleer survivin ekspresyonu, tamoksifen duyarlı gruba göre daha yüksekti (p= 0.045).

Tablo 3. Tedavi sonuçları

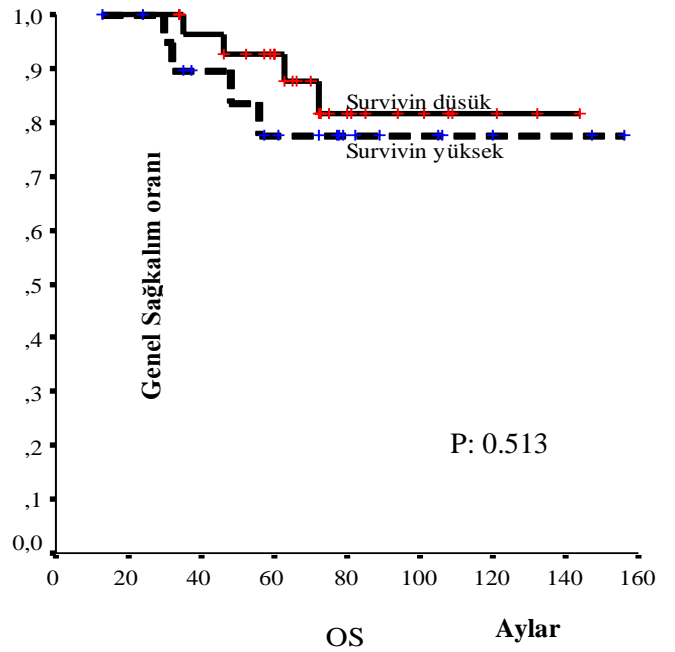
	Tamoksifen duyarlı	Tamoksifen dirençli	P
Nüks oranı	%0	%100	0.00001
5 yıllık sağkalım	%100	%71	0.001
5 yıllık DFS	%100	%60	0.001

Tablo 4. Survivin ekspresyonuna göre 5-yıllık sağkalım sonuçları

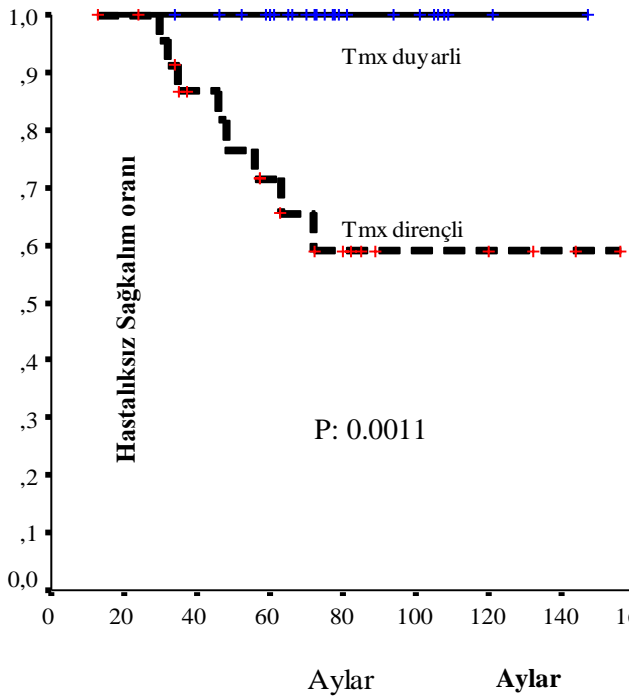
	Survivin yüksek	Survivin düşük	P
Nükleer boyanma	%77.5	%92.5	0.122
Sitoplazmik boyanma	%86	%82	0.440



Şekil 1. Sitoplazmik sürvivin ekspresyonu düzeyine göre (%25 ve altında olanlar düşük, üzerinde olanlar yüksek) genel sağkalım eğrileri



Şekil 2. Nükleer sürvivin ekspresyonu düzeyine göre (%25 ve altında olanlar düşük, üzerinde olanlar yüksek) genel sağkalım eğrileri



Şekil 3. Hastaların gruplara göre hastaliksız sağkalım eğrileri

TARTIŞMA

Kanser oluşumu ve gelişiminde apoptoz mekanizmasındaki bozukluklar önemli rol oynamaktadır. Apoptozis değişik aktive ve inhibe edici faktörler tarafından sıkı kontrol altında tutulan önemli bir olaydır. Kanserde ise antiapoptotik proteinler aracılığı ile apoptozisin inhibisyonu söz konusudur. Survivin bcl-2 ve diğer apoptozis inhibe eden proteinlerin (IAP) aksine farklılaşmasını tamamlamış normal yetişkin dokularda belirlenemeyen, ancak çeşitli kanser tiplerinde eksprese edilen bir proteindir. Diğer apoptozisi inhibe eden proteinlerde de bulunan BIR (Baculovirus IAP repeat) bölgesi ile kaspazlara bağlanarak etkisini göstermektedir (10).

Survivin overekspresyonu akciğer, meme, ösefagus, pankreas, mesane, uterus, servix, over, lenfoma, lösemi, nöroblastom, melanom, gastrik tümörler, kolon kanseri, oral kanserler, tiroid tümörleri, osteosarkom ve prostat kanserinde gösterilmiştir (11).

Tamoksifen nonsteroidal trifeniletlen türevidir ve selektif östrojen reseptör modülatörüdür, ER pozitif meme kanserinde pre ve post menopozal kadınlarda son 20 yılda kullanılan temel endokrin tedavidir. Ancak ER pozitif meme kanserli hastaların yaklaşık %40'ı tamoksifen tedavisine cevap vermezler .Ayrıca

tamoksifen sadece kısa bir süre için etkilidir ve tümörlerin çoğu tamoksifene 2-5 yıl içinde direnç kazanırlar (7).

Ryose Moriai ve ark. yaptıkları çalışmada hücre kültüründe survivinin tamoksifene karşı dirençte ki rolünü araştırmışlardır. MCF-7 meme kanseri hücrelerindeki tamoksifenin doza bağlı olarak apoptozis oranını artırdığı gösterilmiştir. Fakat survivin aşırı ifadesi olan hücrelerde apoptozis daha az olmaktadır. Daha önce kolon kanserinde survivin ekspresyonunu azaltan kolesterol sentezini bloke eden ilaçların tamoksifen ile kombine kullanılırsa tamoksifen direnci azalacağı gösterilmiştir (7,12).

Tamoksifenin indüklediği apoptozisde kaspaz 3, kaspaz-7, kaspaz-8 ve kaspaz-9 rol oynar. Survivin ise kaspaz-3 ve kaspaz-9 bloke ederek tamoksifen direncinde rol oynayabilmektedir (7).

AI-Joudi S F ve ark. yaptıkları çalışmada invaziv duktal karsinom ile survivin ekspresyonu arasındaki klinopatolojik ilişkiyi araştırmışlardır. Meme kanserinde nükleer boyanmanın iyi prognoza, sitoplazmik boyanmanın ise kötü prognoza işaret ettiğini bulmuşlardır (19). Fakat bizim çalışmamızda tamoksifen dirençli grup da nükleer boyanmanın daha yüksek olduğunu bulduk (p= 0.045). Bu bulgumuz nükleer survivin ifadesinin tamoksifen direnci için bir marker olabileceğini düşündürmektedir. Ancak hasta sayımızın az olması nedeniyle bu konuda daha fazla yorum yapabilmek için hasta sayısını artırılarak bu bulgunun teyid edilmesine ihtiyaç vardır.

Hong SE ve ark. yaptıkları çalışmada S6 (kinase) 1 (S6K1) inhibisyonunun MCF-7 hücrelerindeki tamoksifenin indüklediği apoptozisi arttırdığını gösterdiler. S6K1 inhibisyonunun survivin transkripsiyonunu azalttığı ve böylece tamoksifen direncini azalttığı gösterilmiştir (13).

Span PN ve ark. yaptıkları çalışmada, meme kanserli hastalarda survivin düzeyi yüksek olanlarda endokrin tedaviye iyi cevap vermedikleri, fakat kemoterapiye iyi cevap verdiklerini göstermiştir. Bunu da survivinin farklı fonksiyonlarına bağlamışlar (14).

Kumkum Jha ve ark. yaptıkları çalışmada, meme kanserinde survivin ekspresyonu, immunohistokimyasal metodla % 65.3, RT-PCR ile %93.6 bulmuşlardır. Survivin over ekspresyonunun HER-2 ve EGFR ekspresyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (15).

Jan-Show Chu ve ark. Yaptıkları çalışmada, meme kanserinde survivin ekspresyonu ile yüksek histolojik greyd, yüksek mitotik oran, p53 overekspresyonu ve bcl-2 arasında ilişki bulmuşlardır. Survivin ekspresyonu ile hasta yaşı, tümör boyutu, ER, PR, bax ekspresyonu arasında ilişki bulunmamıştır (16).

Shin-Ichi Yamashita ve ark. yaptıkları çalışmada, meme kanserinde survivin düzeyi ile hastaların klinopatolojik özelliklerini karşılaştırmışlar. Tümör (T1-T4) boyutu anlamlı olarak survivin ekspresyonu ile ilişkili bulunmuş. Nod-pozitiflerde, nod-negatiflere göre ve greyd 3 olanlarda, greyd 1 olanlara göre survivin düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuş. Evre 1 ve 2 olan meme kanserli hastalarda survivin düzeyi düşük olanlarda, yüksek olanlara göre anlamlı olarak hastaliksız sağkalım daha yüksek bulunmuş. Bu çalışmanın sonucunda erken evre meme kanserinde survivin ekspresyonunun rekürrensi gösteren bir belirteç olabileceği düşünülmüş (17).

Nermeen S. ve ark. yaptıkları çalışmada, meme kanserinde survivin ekspresyon oranını % 78.5 olarak bulmuşlar. Survivin ekspresyonu ile tümör boyutu, yüksek histolojik greyd, lenf nodu metastazı, ileri tümör evresi, MIB-1 ekspresyonu, ER negatif ve PR negatif arasında ilişki bulmuşlar. Triple negatif ve ER, PR negatif, HER-2 pozitif olanlarda luminal subtiplere göre survivin ekspresyonu daha fazladır (18).

Bizim çalışmamızda meme kanserli hastalarda survivin İHK olarak nükleer vesitoplazmik olarak boyandı. Tamoksifen dirençli grup da nükleer boyanma %56, tamoksifen duyarlı grup da %28 bulduk (p=0.045). Bu bulgu meme kanserli hastalarda nükleer survivin boyanma özelliklerinin tamoksifen tedavisi seçiminde bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ancak hasta sayımızın az olması nedeniyle bu bulgunun hem erken evre meme kanserinde ve hem de metastatik meme kanserli daha fazla hasta ile teyid edilmesi gerekmektedir. Ayrıca in-vitro çalışmalar ile survivin aşırı ifadesinin hangi mekanizmalar üzerinden tamoksifen direncinde rol oynayabileceğinin de araştırılmasında yarar vardır.

SONUÇLAR

1- Tamoksifen dirençli grupta sitoplazmik boyanma %64, tamoksifen duyarlı grupta %72 olarak bulundu (p=0.544).

2- Tamoksifen dirençli grupta nükleer boyanma %56, tamoksifen duyarlı grupta %28 olarak saptandı(p=0.045).

3- Tamoksifen duyarlı grupta nüks oranı %0 iken, tamoksifen dirençli grupta %100 olarak bulundu. Bu sonuç çalışmanın dizaynından kaynaklandığı için bu çalışmadan doğrudan elde edilebilecek bir sonuç değildir.

4- Tamoksifen duyarlı grupta 5 yıllık sağkalım %100 iken, tamoksifen dirençli grupta %71 idi. Fakat buradaki fark sadece survivin düzeyine bağlı değildi. Bu sonuç çalışmanın dizaynından kaynaklandığı için bu çalışmadan doğrudan elde edilebilecek bir sonuç değildir.

KAYNAKLAR

1. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005;365:1687-1717
2. Chang M, Liu H, Jordan VC. Hormone and Growth Factor Receptors. In: Donegan WL, Priatt J.S. (eds). *Cancer of the Breast*, 5th ed. Philadelphia: PA Saunders 2002;417-441.
3. Lacey JV Jr, Kreimer AR, Buys SS, Marcus PM, Chang SC, Leitzmann MF, Hoover RN, Prorok PC, Berg CD, Hartge P. Breast cancer epidemiology according to recognized breast cancer risk factors in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial Cohort, *BMC Cancer* 2009;9: 8
4. Tavasoli FA, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics: Tumours of the Breast and Female Genital Organs. pp. 9-112. Lyon, IARC Pres,2003.
5. Hrstka R, Brychtova V, Fabian P, Vojtesek B, Svoboda M. AGR2 predicts tamoxifen resistance in postmenopausal breast cancer patients. *Disease Markers* 2013; 35(4): 207-212 .
6. V. Craing Jordan and Bert W. O'Malley. Selective Estrogen Modulators and Antihormonal Resistance in Breast Cancer. *J of Clin Oncol* 2007; Decem vol 25, 5815-24.

7. Ryosuke M, Naoki T, Mikako M, Daisuke K, Naoki T Survivin plays as a resistant factor against tamoxifen-induced apoptosis in human breast cancer cells. *Breast cancer Res Treat* (2009) 117: 261-271.
8. Tetsuhisa Y, Nobuhiko T.: The role of survivin as a new target of diagnosis and treatment in human cancer. *Med Electron Microsc*, 2001; 34: 12-20.
9. Altieri DC.: Validating survivin as a cancer therapeutic target. *Nat Rev Cancer*, 2003; 3: 46-54.
10. Dario C. Altieri. Survivin in apoptosis control and cell cycle regulation in cancer. *Progress in Cell Cycle Research*, Vol. 5, 447-452, (2003) .
11. Zhang SQ, Qiang SY, Yang WB, Jiang JT, Ji ZZ Expression of survivin in different stages of carcinogenesis and progression of breast cancer. 2004; 23:697-700 Chinese.
12. EBCTOG: Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: An overview of the randomised trials. *Lancet* 365: 1687-1717, 2005.
13. Hong SE, Kim EK, Jin HO, Kim HA, Lee JK, Koh JS, Seol H, Kim JI, Park IC, Noh WC. S6K1 inhibition enhances tamoxifen-induced cell death in MCF-7 cells through translational inhibition of Mcl-1 and survivin. *Cell Biol Toxicol*. 2013 Aug; 29(4):273-82.
14. Span PN, Tjan-Heijnen VC, Manders P, Van Tienoven D, Lehr J, Sweep FC. High survivin predicts a poor response to endocrine therapy, but good response to chemotherapy in advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2006 Jul; 223-30.
15. Kumkum Jha, Mdula Shukla, Manoi Pandey. Survivin expression and targeting in breast cancer. *Surgical Oncology*. 2012; 21(2):125-131.
16. Jan-Show Chu, Jin-Yuh Shew, Chiun-Sheng Huang. Immunohistochemical analysis of survivin expression in primary breast cancers. *Journal of the Formosan Medical Association* 2005;103(12): 925-931.
17. Shin-Ichi Y, Yoshika M, Takashi K, Yoshio H, Toshihiko M, Satoshi I, Mirei K, Shinsuke T, Katsunobu K. Survivin Expression Predicts Early Recurrence in Early-stage Breast Cancer. *Anticancer Research*. 2007; 27:2803-2808.
18. Nermeen S, Youssef, Iman H. Hewedi, Nermine M. Immunohistochemical Expression of Survivin in Breast Carcinoma: Relationship with Clinopathological Parameters, Proliferation and Molecular Classification. *Journal of the Egyptian Nat. Cancer Inst*. 2008;20(4), 348-357.
19. Al-Joudi F S, Iskandar Z A, Hasnan J, Rusli J, Kamal Y, Imran A K, Ahmed M, Zakaria J. Expression of survivin and its clinicopathological correlations in invasive ductal carcinoma of the breast. *Singapore Med J* 2007; 48(7): 607-14.