

## Ekspresi Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9), HER-2/neu, dan Metastasis Kelenjar Getah Bening pada Karsinoma Payudara Duktal Invasif

Threeyana Ariyati Kadi, Faroek Hoesin

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga  
Surabaya

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Metastasis kelenjar getah bening merupakan faktor prognostik mayor terpenting dalam memprediksi kematian penderita karsinoma payudara. Peningkatan ekspresi HER-2/neu akan menambah buruk prognosis. MMP-9 berhubungan dengan invasi tumor ke stroma dan metastasis karena kemampuannya untuk mendegradasi membran basal. Menilai ekspresi HER-2/neu dan MMP-9 sebelum terjadi metastasis diharapkan berguna dalam menilai prognosis dan terapi yang diberikan sehingga dapat mencegah jumlah kematian penderita.

#### Metode

Penelitian menggunakan retrospektif dengan pendekatan *cross sectional analytic*. Penilaian dilakukan dari blok parafin penderita karsinoma payudara yang telah didiagnosis di RSUD. Dr. Soetomo mulai Januari 2011-Desember 2012 dan memenuhi kriteria. Kemudian dilakukan pulasan imunohistokimia dengan MMP-9. Hubungan ekspresi MMP-9, HER-2/neu, dan metastasis kelenjar getah bening pada karsinoma payudara dilakukan dengan uji statistik *Chi Square* ( $\chi^2$ ).

#### Hasil

Didapatkan 26 dari 40 kasus karsinoma payudara dengan metastasis KGB, 22 dari 26 kasus menunjukkan peningkatan ekspresi MMP-9 (3+ dan 2+), dan 10 kasus yang menunjukkan peningkatan ekspresi HER-2/neu (3+). Peningkatan ekspresi MMP-9 dijumpai pada 12 dari 17 kasus HER-2/neu positif. Uji hubungan antara ekspresi HER-2/neu dengan MMP-9 ( $p=0,583$ ) dan ekspresi HER-2/neu dengan metastasis KGB ( $p=0,435$ ) menunjukkan hubungan yang tidak bermakna. Sedangkan uji hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis KGB menunjukkan hubungan yang bermakna ( $p=0,011$ ).

#### Kesimpulan

Terdapat hubungan bermakna antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis KGB dan hubungan tidak bermakna antara ekspresi HER-2/neu dengan MMP-9 serta kejadian metastasis KGB pada karsinoma payudara.

**Kata Kunci** : HER-2/neu, metastasis KGB, MMP-9, karsinoma payudara.

### ABSTRACT

#### Background

Lymph nodes metastases is the important major prognostic factor in predicting breast cancer mortality. HER-2/neu overexpression will make worse prognosis. MMP-9 is related to tumor invasion and metastases by their capacity to degrade basement membrane. Assessing HER-2/neu and MMP-9 expression before metastases occur is expected to be useful for prognostic and therapeutic assessment that can prevent patient deaths.

#### Methods

A retrospective study with cross sectional analytic approach was done. Assessment was performed on paraffin blocks of breast cancer patients who were diagnosed in Dr. Soetomo Hospitals during January 2011-December 2012 and met the criteria. MMP-9 expression was analyzed immunohistochemically. The relation between MMP-9, HER-2/neu, and lymph node metastases was investigated by *Chi Square* ( $\chi^2$ ) tests.

#### Results

There were 26 out of 40 breast cancer cases with lymph nodes metastases, 22 of 26 cases with MMP-9 overexpression (2+ and 3+), and only 10 cases with HER-2/neu overexpression (3+). MMP-9 overexpression was 12 of 17 cases with positive HER-2/neu. There is statistically significant correlation between MMP-9 expression and lymph nodes metastases ( $p=0.011$ ); whereas there is no statistical significant correlation between expression of HER-2/neu and MMP-9 ( $p=0.583$ ) and between HER-2/neu expression and lymph nodes metastases ( $p=0.435$ ).

#### Conclusion

MMP-9 is significantly correlated with lymph nodes metastases. No significant relationship was found between HER-2/neu, MMP-9 and lymph nodes metastasis.

**Key words** : breast cancer, HER-2/neu, lymph nodes metastases, MMP-9.

## PENDAHULUAN

Karsinoma payudara masih merupakan penyebab kematian tertinggi wanita penderita kanker terutama pada usia 40-49 tahun di Amerika Serikat<sup>1</sup>; dan sekarang mulai menjadi masalah kesehatan di negara berkembang.<sup>2</sup> Di Indonesia dari data Badan Registrasi Kanker (BRK) tahun 1998, karsinoma payudara menempati urutan kedua setelah karsinoma leher rahim, dengan jumlah kasus 2.617. Menurut data di Surabaya didapatkan 1.984 kasus karsinoma payudara selama 5 tahun (1997-2001), juga menempati urutan kedua setelah karsinoma leher rahim.<sup>3</sup>

Berbagai parameter klinis, seperti ukuran tumor primer, metastasis kelenjar getah bening regional, derajat histologik tumor, dan metastasis jauh ke organ lain digunakan untuk menilai prognosis karsinoma payudara. Adanya metastasis kelenjar getah bening pada karsinoma payudara merupakan indikator agresifitas tumor. Prognosis juga akan bertambah buruk bila didapatkan peningkatan ekspresi HER-2/neu.<sup>4</sup>

Kematian penderita karsinoma payudara sering disebabkan oleh adanya invasi tumor ke jaringan stroma sekitar dan adanya metastasis. Peningkatan ekspresi dan aktivitas *matrix metalloproteinase* (MMP) berperan dalam progresifitas tumor, angiogenesis, invasi, dan metastasis. MMP telah banyak diteliti untuk dapat dipakai sebagai penanda tumor dan untuk memperkirakan metastasis pada penderita karsinoma payudara.

MMP atau *matrixin* merupakan kelompok struktur *endopeptidase* bebas yang mengandung MMP zink, berperan dalam degradasi *extracellular matrix* (ECM).<sup>5,6</sup> MMP dibagi dalam 5 sub kelompok, yaitu *gelatinase* (MMP-2, MMP-9), *matrilysin*, *collagenase* (MMP-1, MMP-13), *stromelysin* (MMP-10, MMP-12), dan *membrane-type* MMP (MT-MMP).<sup>7,8</sup> Banyak penelitian yang menunjukkan peran penting MMP, seperti MMP-2 dan MMP-9 yang berhubungan dengan invasi dan metastasis karsinoma payudara. Keduanya berperan dalam *remodeling* jaringan melalui ECM dengan degradasi membran basal dan merangsang angiogenesis.<sup>9</sup>

Pengaturan MMP diatur melalui 3 tingkatan, yaitu perubahan ekspresi gen, pengaktifan zimogen latent, dan penghambatan oleh *tissue-inhibitor matrix metalloproteinase* (TIMP).<sup>10</sup> Pada keadaan fisiologik ketiga faktor

tersebut akan bekerjasama dalam pengaturan MMP sedangkan gangguan pengaturan pada ketiga tingkatan tersebut berhubungan dengan progresifitas sel tumor. Bila terjadi ketidakseimbangan antara MMP dan TIMP dapat mengakibatkan terjadinya metastasis tumor.<sup>11</sup>

Peningkatan ekspresi HER-2/neu pada sel tumor berhubungan dengan progresifitas tumor dan peningkatan kemampuan invasi pada karsinoma payudara. Hal ini kemungkinan disebabkan timbulnya kemampuan untuk meningkatkan pengaturan MMP-9.<sup>12</sup>

Peningkatan HER-2/neu berperan dalam pengaturan induksi MMP-9 pada karsinoma payudara.<sup>9</sup> Beberapa penelitian menunjukkan adanya celah ekstraselular pada domain HER-2/neu akan menyebabkan aktifitas biologi dari reseptor tirosin kinase. Celah ECM pada reseptor permukaan ini terutama disebabkan oleh MMP. Kelompok MMP dianggap berperan dalam perpindahan sel, proliferasi, differensiasi, pertahanan *host*, dan angiogenesis. MMP-9 diketahui berperan dalam degradasi kolagen tipe IV dan penyebab penting terjadinya invasi jaringan pada karsinoma payudara.<sup>13</sup> Tetapi hubungan MMP-9 dengan HER-2/neu masih menjadi kontroversi, karena tidak semua penelitian yang ada menghasilkan adanya hubungan antara keduanya.

Secara klinis peningkatan ekspresi MMP-9 sebagai nilai prognostik pada karsinoma payudara masih belum diteliti dalam jumlah sampel yang besar. Peningkatan ekspresi MMP-9 dapat menyebabkan terjadinya metastasis dan peningkatan keganasan yang didukung oleh adanya peningkatan aktivitas angiogenesis. Metastasis pada karsinoma payudara seringkali melibatkan kelenjar getah bening regional. Metastasis tumor sendiri merupakan proses yang kompleks termasuk degradasi ekstraselular matriks, invasi ke limfe dan pembuluh darah, serta pertumbuhan di tempat lain dengan adanya angiogenesis. Sehingga diperlukan lebih banyak penelitian yang mendukung adanya hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan terjadinya metastasis kelenjar getah bening pada karsinoma payudara.

HER-2/neu merupakan protein transmembran yang terlibat dalam pengaturan proliferasi, differensiasi dan pertahanan sel. Amplifikasi gen HER-2/neu terjadi pada 15-30% karsinoma payudara dan berhubungan dengan agresifitas tumor serta prognosis yang buruk.

Walaupun peningkatan ekspresi *HER-2/neu* dapat menyebabkan kemampuan penyebaran limfatik dan metastasis sel tumor, bagaimana mekanismenya masih belum banyak diketahui dan masih perlu penelitian lebih lanjut.<sup>14</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi *MMP-9* dan *HER-2/neu* dengan kejadian metastasis kelenjar getah bening regional pada karsinoma payudara. Diharapkan bila diketahui adanya hubungan antara ekspresi *MMP-9* dan *HER-2/neu* pada karsinoma payudara dapat dijadikan bahan pertimbangan untuk menentukan prognostik dan terapi yang efektif serta deteksi dini sebelum terjadinya metastasis.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini bersifat retrospektif dengan pendekatan *cross sectional*. Digunakan 40 blok parafin diambil secara random dari 174 kasus karsinoma payudara dengan tindakan MRM di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD. Dr. Soetomo Surabaya selama periode Januari 2011 sampai Desember 2012. Kriteria inklusi yang digunakan, yaitu: 1) penderita karsinoma payudara dengan dokumen medis lengkap; 2) wanita; 3) diagnosis histopatologik karsinoma payudara duktal invasif; 4) status kelenjar getah bening aksila secara histopatologik; 5) telah dilakukan pemeriksaan imunohistokimia dengan antibodi *HER-2/neu*; 6) penderita belum mendapatkan kemoterapi. Kriteria eksklusi: jaringan blok parafin kurang untuk dilakukan pemeriksaan imunohistokimia.

Dipilih blok parafin yang mengandung cukup sel tumor dan dilakukan pulasan imunohistokimia dengan menggunakan *MMP-9 rabbit polyclonal antibody* (Booster Biological, Technology, LTD, USA) dengan pengenceran 1:100 dan diinkubasi selama satu malam. Ekspresi protein *MMP-9* dinilai secara mikroskop cahaya binokuler dan dibuat penilaian pada sitoplasma atau membran sel tumor. Sel tumor yang terpulas lebih dari 75% adalah positif sangat kuat(+++), 51-74% positif kuat(++), 10-50% sel terpulas positif(+) dan bila kurang dari 10% negatif<sup>1</sup>. Ekspresi *HER-2/neu* dinilai kembali berdasarkan skor *HercepTest* (DAKO) dianggap positif (3+) bila membran sel tumor terpulas lengkap >10%, *equivocal* (2+) bila membran sel tumor terpulas lemah >10%, dan negatif (1+ atau 0) bila membran sel terpulas sebagian

>10% atau tidak tercatat.<sup>5</sup> Semua penilaian pulasan dilakukan oleh 2 orang.

Data yang diperoleh dalam penelitian ini selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak *statistical package for the social sciences* (SPSS). Hubungan antara ekspresi *MMP-9*, *HER-2/neu* dengan kejadian metastasis dianalisis dengan menggunakan uji *Chi Square*( $\chi^2$ ) dan dilanjutkan dengan menghitung koefisien phi (tabel 2x2) dan koefisien kontigensi (tabel >2x2). Kemaknaan pada penelitian ini ditetapkan pada  $p < 0,05$ .

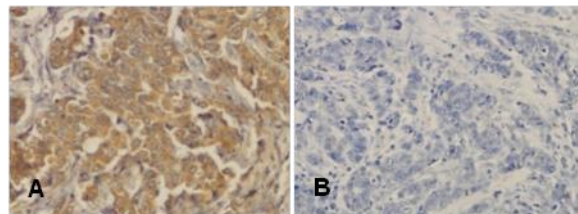
**HASIL**

Didapatkan 174 kasus yang memenuhi kriteria inklusi dari 200 kasus karsinoma payudara dengan tindakan MRM di RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Secara acak diambil 40 sampel dengan karakteristik usia, derajat histologik, ukuran tumor, dan metastasis KGB tercantum dalam Tabel 1.

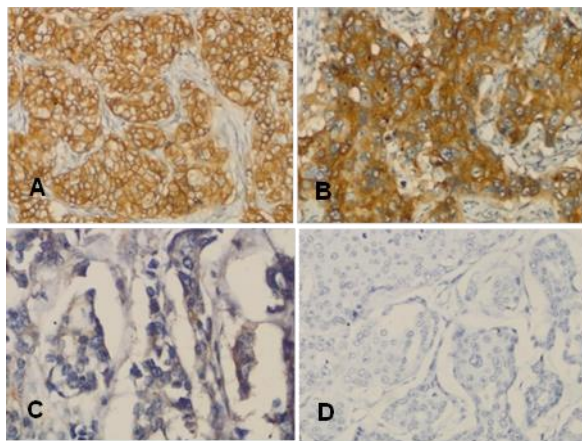
Tabel 1. Karakteristik sampel penelitian

Karakteristik	Kategori	Frekuensi
Usia (tahun)	≤ 35	2
	35-50	21
	> 50	17
Derajat histologik	1	8
	2	8
	3	24
Ukuran tumor	T1 (< 2 cm)	15
	T2 (2-5 cm)	21
	T3 (> 5 cm)	4
Metastasis KGB aksila	Positif	26
	Negatif	14
Ekspresi <i>MMP-9</i>	Positif	28
	Negatif	12
Ekspresi <i>HER-2/neu</i>	Negatif	20
	<i>Equivocal</i>	3
	Positif	17

Penderita terbanyak berusia antara 35-50 tahun (52,5%), derajat histopatologik terbanyak adalah derajat 3 (60%), ukuran tumor terbanyak adalah T2 (52,5%), dan didapatkan metastasis KGB aksila sebanyak 26 kasus (65%). Ekspresi *MMP-9* positif sebanyak 70% dan ekspresi *HER-2/neu* positif 42,5%. Ekspresi *MMP-9* dapat dilihat pada gambar 1 dan berbagai ekspresi *HER-2/neu* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. A. Ekspresi MMP-9 positif dan B. Negatif pada kasus karsinoma payudara (IHK,200X).



Gambar 2. A. Ekspresi HER-2/neu kontrol positif, B. Ekspresi HER-2/neu pada kasus karsinoma payudara: positif, C. *Equivocal*, dan D. Negatif (200X).

Tabel 2. Ekspresi MMP-9 dan HER-2/neu dengan kejadian metastasis KGB

	KGB Positif	KGB Negatif	p
Ekspresi MMP-9			
Positif	22	6	0,011
Negatif	4	8	
Ekspresi HER-2/neu			
Positif	10	7	0,435
<i>Equivocal</i>	3	0	
Negatif	13	7	

Ekspresi MMP-9 positif sebanyak 22 dari 26 kasus pada metastasis KGB, sedangkan pada KGB negatif didapatkan 6 dari 14 kasus. Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis KGB ( $p < 0,05$ ).

Sepuluh dari 26 kasus dengan metastasis KGB menunjukkan ekspresi HER-2/neu positif, dan hanya didapatkan 3 dari 26 kasus dengan ekspresi HER-2/neu *equivocal*. Ekspresi HER-2/neu positif dan negatif pada KGB negatif sama, yaitu masing-masing 7 dari 14 kasus. Ternyata terdapat hubungan tidak bermakna

antara ekspresi HER-2/neu dengan metastasis KGB ( $p > 0,05$ ).

Tabel 3. Hubungan ekspresi MMP-9 dengan HER-2/neu.

Ekspresi MMP-9	HER-2/neu			p
	Positif	<i>Equivocal</i>	Negatif	
Positif	12	3	13	0,583
Negatif	5	0	7	
Jumlah	17	3	20	

Hubungan ekspresi antara MMP-9 dan HER-2/neu menunjukkan hubungan yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Ada 12 dari 17 kasus HER-2/neu positif menunjukkan ekspresi MMP-9 positif. Semua ekspresi HER-2/neu *equivocal* mempunyai ekspresi MMP-9 positif. Ekspresi MMP-9 positif pada 13 dari 20 kasus HER-2/neu negatif.

**DISKUSI**

Karsinoma payudara mempunyai 2 faktor prognostik, yaitu faktor prognostik mayor merupakan penyebab kematian dari karsinoma payudara yang berhubungan dengan sistem staging *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) dan faktor prognostik minor, yaitu faktor yang berhubungan langsung dengan terapi, termasuk terapi berbasis molekul target.<sup>6,12</sup>

Faktor prognostik mayor meliputi karsinoma invasif atau in situ, metastasis jauh, metastasis KGB, ukuran tumor, invasi ke jaringan sekitar, dan peradangan. Sedangkan faktor prognostik minor adalah subtype histologik, derajat histologik, reseptor estrogen dan reseptor progesteron, ekspresi HER-2/neu, invasi limfovaskular, proliferasi sel, jumlah DNA abnormal, respon terhadap terapi neoadjuvant, dan profil ekspresi gen.

Kemampuan untuk menginvasi ke jaringan lain dan metastasis ke organ lain merupakan tanda karakteristik dari tumor ganas yang dapat menyebabkan morbiditas dan kematian penderita. Proses metastasis ini terjadi dalam 2 tahap, yaitu invasi matriks ekstraselular (ECM) dan kerusakan vaskular, sehingga terjadi kolonisasi tumor pada lokasi lain.<sup>12,15</sup>

Invasi ECM melalui beberapa tahap, yaitu hilangnya ekspresi *E-cadherin* yang menyebabkan ikatan antar sel menjadi longgar dan degradasi membran basal dan jaringan ikat interstitial karena enzim proteolitik (*matrix metalloproteinase/MMP*, *cathepsin D*, dan aktifator *plasminogen urikinase*).<sup>12</sup> Salah satu MMP

yang berperan dalam degradasi membran basal adalah MMP-9 penyebab kerusakan kolagen tipe IV (protein penyusun membran basal dan ECM terbanyak) dari epitel membran basal dan endotel, juga menghasilkan *vascular endotel growth factor* (VEGF). Peningkatan MMP akan diikuti dengan penurunan TIMP sehingga terjadi degradasi jaringan.<sup>10-12</sup> Beberapa penelitian baru telah menyimpulkan adanya hubungan antara peningkatan ekspresi MMP-9 dengan metastasis.<sup>16</sup>

Penelitian ini berusaha membuktikan hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan kejadian metastasis pada karsinoma payudara, dalam hal ini metastasis KGB aksila. Uji statistik menunjukkan hubungan yang bermakna antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis KGB pada kasus karsinoma payudara; hasil penelitian ini sama dengan beberapa penelitian lain.<sup>1,11,17-19</sup> Demikian pula pada penelitian Zhao S dkk menyimpulkan ada hubungan bermakna antara tingginya ekspresi MMP-9 dengan kejadian metastasis pada karsinoma payudara, derajat histologik dan ukuran tumor.<sup>20</sup>

Berbeda dengan penelitian Scorilas A dkk yang menyebutkan ekspresi MMP-9 tidak berhubungan dengan derajat histologik dan metastasis KGB,<sup>21</sup> penelitian ini justru mengemukakan hal sebaliknya, yaitu bahwa ekspresi MMP-9 dapat dijadikan faktor prognostik pada karsinoma payudara tanpa adanya metastasis KGB.

Salah satu faktor prognostik minor yang berhubungan langsung dengan terapi adalah peningkatan ekspresi *HER-2/neu*. (*HER-2/neu human epidermal growth factor reseptor 2 gene*) adalah suatu glikoprotein pada manusia yang bertanggung jawab dalam kelangsungan hidup sel dengan mengirim sinyal ke sel untuk mengontrol pertumbuhan, pembelahan, dan perbaikan sel terutama pada sel epitel.<sup>22</sup>

Pada karsinoma dengan *HER-2/neu* positif terdapat amplifikasi gen sehingga terdapat jumlah *copy* yang berlebihan dan akan mengirimkan pesan untuk pertumbuhan dan pembelahan sel yang sangat cepat dan agresif.<sup>23</sup> Peningkatan ekspresi *HER-2/neu* 90% berhubungan dengan amplifikasi gen 17q21 dan dapat dievaluasi melalui pemeriksaan imunohistokimia atau berdasarkan jumlah gen yang dikopi dengan menggunakan *fluorescence in situ hybridization (FISH)*). Ekspresi berlebihan ini berhubungan dengan prognosis yang buruk.<sup>22,24</sup>

Masih terdapat kontroversi mengenai peningkatan ekspresi *HER2* sebagai penanda prognosis. Beberapa penelitian menunjukkan peningkatan ekspresi *HER-2* berhubungan dengan prognosis yang buruk, sementara ada penelitian lain yang tidak sependapat.<sup>25</sup> Demikian pula mengenai hubungan antara ekspresi *HER-2/neu* dengan infiltrasi KGB masih terdapat perbedaan hasil dari beberapa penelitian. Penelitian Menard menyimpulkan bahwa ada kaitan yang kuat antara kadar *HER-2/neu* dengan grading, ukuran tumor, dan infiltrasi KGB.<sup>26</sup>

Penelitian ini menunjukkan terdapat hubungan tidak bermakna antara ekspresi *HER-2/neu* dengan metastasis KGB. Hal ini sesuai dengan penelitian Huang dkk, yang menyimpulkan tidak terdapat hubungan antara status *HER2* pada karsinoma payudara dengan usia, ukuran tumor, dan infiltrasi ke KGB, tetapi terdapat hubungan antara peningkatan ekspresi *HER-2/neu* dengan derajat histologik.<sup>27</sup> Demikian pula pada penelitian Nisa dkk yang menyebutkan peningkatan ekspresi *HER-2/neu* berhubungan dengan ukuran dan derajat histopatologik tumor, tapi tidak terlihat hubungan yang bermakna dengan metastasis KGB.<sup>28</sup>

Kontroversi ini memerlukan penelitian lebih lanjut, terutama dalam penilaian dan standarisasi teknik pemeriksaan. Kontroversi hasil penilain ini disebabkan oleh perbedaan standar penilaian *HER2*.

Penelitian ini menunjukkan hubungan tidak bermakna antara ekspresi MMP-9 dengan *HER-2/neu*; hal ini memerlukan penelitian lebih lanjut, dengan jumlah sampel yang lebih besar, karena beberapa penelitian lain menyebutkan peningkatan ekspresi *HER-2/neu* dalam proses invasi dan metastasis melalui peningkatan enzim proteolitik (MMP) dapat meningkatkan kemampuan metastasis tumor.

Penelitian Pellikaen JM dkk dan Kim IY dkk menyebutkan terdapat hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan ekspresi *HER-2/neu* pada karsinoma payudara.<sup>9,18</sup> Penelitian Sandra S dkk tidak mendapatkan perbedaan yang bermakna antara ekspresi MMP-9 dengan ekspresi *HER-2/neu*, baik pada KGB positif maupun negatif. Penelitian ini meneliti aktivitas MMP-9 dan MMP-2 pada karsinoma payudara, dan menghubungkannya dengan ukuran tumor, metastasis KGB, dan ekspresi hormon reseptor serta *HER-2/neu*.

Penelitian Decock J dkk, Daniele dkk, dan Sullu Y dkk juga menyimpulkan bahwa aktivitas MMP-9 tidak berhubungan dengan ekspresi HER-2/neu.<sup>29-31</sup> Zhao dkk menggunakan sampel penderita *triple negative* pada penelitiannya menghasilkan hubungan yang bermakna antara tingginya ekspresi MMP-9 dengan buruknya *progression-free survival* (PFS) dan *overall survival* (OS) sehingga menghasilkan prognostik yang buruk.<sup>20</sup> Hal ini menunjukkan bahwa pada ekspresi HER-2/neu negatif juga dapat menghasilkan ekspresi MMP-9 yang tinggi.

**KESIMPULAN**

Terdapat hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis KGB pada karsinoma payudara. Tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi HER-2/neu dengan MMP-9 dan metastasis KGB pada karsinoma payudara.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Sheng WZ, Qiang W, Hua YJ, Wang HQ, Ding XD, Yang F, *et al.* Prognostic significance of MMP-9 and TIMP-1 serum and tissue expression in breast cancer. *Int J Cancer.* 2008;122:2050-6.
2. Boyle P. International agency for research on cancer, WebMD Health News. 2010. Available from: [www.webmd.com/news/article](http://www.webmd.com/news/article).
3. Tjandra K. Sistem informasi rumah sakit, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Puskom.2010. Available from: [Publik@yahoo.co.id](mailto:Publik@yahoo.co.id).
4. Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology: breast, 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2004.
5. Duffy MJ, Maguire TM, Hill A, Dermott E, Higgins N. Metalloproteinases: role in breast carcinogenesis, invasion and metastasis. *Breast Cancer Res.* 2000; 2: 252-7.
6. Eiseler T, Doppler H, Yan IK, Goodison S, Storz P. Protein kinase D1 regulates matrix metalloproteinase expression and inhibits breast cancer cell invasion. *Breast Cancer Res.* 2009; 11: 1-12.
7. Nelson RA, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: Biologic activity and clinical implications, *J Clin Oncol.* 2000; 218: 1135-49.
8. Roopali R, Jiang Y, Marsha AM. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and

potential therapeutic targets in human cancer. *J Clin Oncol.* 2009; 27: 5287-97.

9. Pellikainen JM, Ropponen KM, Kataja VV, Kellokoski JK, Eskelinen MJ, Kosma VM. Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in breast cancer with a special reference to activator protein-2, HER2, and prognosis. 2004. *Clin Cancer Res.* 2004; 10: 7621-8.
10. Anita J, George T. The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis. *Pathol Oncol Res.* 2001; 7: 14-23.
11. Sandra S, Gordana K, Kristina G, Momcilo I, Jurisic V, Jovic V. Activity of MMP-2 and MMP-9 in sera of breast cancer patients. *Pathol Res Pract.* 2010;206:241-7.
12. Lester SC, Lester, CS. Robins and Cotran: Pathologic basis of disease: the breast. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2010.
13. Fatunmbi M, Shelton J, Aronica SM, MMP-9 increases HER-2/neu expression and alters apoptosis levels in human mammary epithelial cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2012; 135: 519-30.
14. Schoppmann SF, Tamandl D, Robert L, Jomrich G, Schoppmann A, Zwrtek R, HER-2/neu expression correlates with vascular endothelial growth factor-C, and lymphangiogenesis in lymph nodes-positive breast cancer. *Ann Oncol.* 2010; 21:955-60.
15. Carter D, Schnitt SJ, Millis RR. The Breast. In: Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology, 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
16. Haupt LM, Thompson EW, Trezise. *In vitro* and *in vivo* MMP gene expression localization by In situ-PR-PCR in cell culture and paraffin embedded human breast cancer cell line xenografts. *BMC Cancer.* 2006; 6: 1-10.
17. Hao L, Chunhui Z, Yuhua , Liang W, Yunbao L, Min Jin, *et al.* Recombination of CXCR4, VEGF, and MMP-9 predicting lymph node metastasis in human breast cancer. *Cancer Lett.* 2007; 253: 34-42.
18. Kim IY, Young YH, Wook KK, Moon A. Overexpression of ErbB2 induces invasion of MCF10A human breast epithelial cells via MMP-9. *Cancer Lett.* 2009;275:227-33.
19. Shah FD, Shuklah SN, Shah PM, Shuklah HK, Patel PS. Clinical significant of Matriks

- Metalloproteinase 2 and 9 in breast cancer. *Indian J Cancer*. 2009; 46: 194-202.
20. Zhao S, Zhang M, Tang D, Shi Q, Zu S. High expression of CD147 and MMP-9 is correlated with poor prognosis of triple-negative breast cancer (TNBC) patients. *Med Oncol*. 2013; 30: 335:1-8.
  21. Scorilas A, Karameris A, Arnogiannaki N, Ardavanis A, Bassilopoulos P, Trangas T, *et al*. Overexpression of matrix-metalloproteinase-9 in human breast cancer: a potential favourable indicator in node negative patients, cancer research campaign. *Br J Cancer*. 2001; 84: 1488-96.
  22. Birner. Evaluation of the United States Food and Drug Administration approved scoring and test system of HER-2/neu protein expression in breast cancer. *Clin Can Res*. 2001; 7: 1660-75.
  23. Osborne. Oncogenes and tumor suppressor genes in breast cancer; potential diagnostic and therapeutic application. *Oncologist*. 2004; 9: 361-77.
  24. Reese DM, Slamon DJ. HER-2/neu signal transduction in human breast and ovarian cancer. *Stem Cells*. 1997;15:1-8.
  25. Janet S. Winston, Ramanaryanan J, Levine E. HER-2/neu evaluation in breast cancer are we there yet? *Am J Clin Pathol*. 2004; 121:S33-49.
  26. Hamdani W. Profil gen HER-2/neu pada penderita KPD di Makassar. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar. 2004.
  27. Huang HJ, Neven P. Association between tumor characteristics and HER-2/neu by immunohistochemistry in 1362 woman with primary operable breast cancer. *J Clin Pathol*. 2005; 58: 611-16.
  28. Nisa A, Bhurgri Y, Raza F, Kayani N. Comparison of ER, PR & HER-2/neu (C-erb B2) reactivity pattern with histologic grade, tumor size and lymph node status in breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2008; 9: 553-6.
  29. Decock J, Hendrickx W, Wildiers H, Christiaens MR, Neven P, Drijkoningen M, *et al*. Plasma gelatinase levels in patients with primary breast cancer in relation to axillary lymph node status, HER-2/neu expression and other clinicopathological variables. *Clin Exp Metastasis*. 2005; 22: 495-502.
  30. Daniele A, Zito AF, Giannelli G, Divella R, Asselti M, Mazzocca A, Paradiso A, *et al*. Expression of Metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in sentinel lymph node and serum of patients with metastatic and non-metastatic breast cancer. *Anti Cancer Res*. 2010; 30: 352-8.
  31. Sullu Y, Demirag G, Yildirim A, Karagoz F, Kandemir. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 expression in invasive ductal carcinoma of the breast. *Pathol Res Pract*, 2011; 207: 747-53.