

Originalni rad

ZNAČAJ SURVIVINA (BIRC5) KAO BIOMARKERA U PREOPERATIVNOJ PROCENI KARDIOVASKULARNOG RIZIKA KOD NEKARDIOHIRURŠKIH OPERACIJA – SURVIVIN (BIRC5) KAO NOVI SRČANI BIOMARKER

Danica Marković¹, Tatjana Jevtović-Stoimenov², Mladan Golubović¹, Vladan Ćosić³, Anita Vuković¹, Milena Stojanović⁴, Aleksandar Nikolić⁴, Radmilo Janković^{1,5}

¹Centar za anesteziologiju i reanimatologiju, Klinički centar u Nišu, Niš, Srbija

²Katedra za biohemiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu, Niš, Srbija

³Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar u Nišu, Niš, Srbija

⁴Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu, Niš, Srbija

⁵Katedra urgentne medicine, Medicinski fakultet u Nišu, Niš, Srbija

Sažetak

Uvod: Survivin (BIRC5) je pripadnik familije proteina inhibitora apoptoze i ima izuzetno važnu ulogu u takozvanoj tački bez povratka ćelijske apoptoze. Već je dokazana uloga survivina u nastanku tumora i autoimunih oboljenja, međutim sve je više dokaza da je takođe senzitivna na postojanje prethodnog ishemijskog oboljenja srca. **Metode:** U ovu prospektivnu pilot studiju je uključeno 78 pacijenata koji su se pripremali za jednu od opsežnih nekardiohirurških operacija. Krv je uzorkovana unutar 7 preoperativnih dana, izdvojen je serum i zamrznut na -70°C. Merenje količine survivina u serumu je sprovedeno ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) metodom, a rezultati su očitavani na aparatu DIAREADER Elx800G. **Rezultati:** Pacijenti su bili prosečne starosti 71,46 ± 6,87 godina, dok je medijana survivina iznosila 4,56 (0,00–76,78) pg/ml. Survivin se pokazao kao odličan prediktor postoperativne smrtnosti ($P < 0,05$, ROC/AUC = 0,807). Pacijenti su zatim podeljeni u dve grupe, grupu pacijenata obolelih od tumora i grupu pacijenata koji nisu obolevili od tumora. U obe grupe je urađena statistička analiza podataka ($P > 0,05$, ROC/AUC = 0,782; $P < 0,05$, ROC/AUC = 0,825). Nakon isključivanja ekstremno visokih vrednosti, urađena je ponovna analiza podataka ($P < 0,001$, ROC/AUC = 0,831; $P < 0,05$, ROC/AUC = 0,825). **Zaključak:** Survivin je potencijalni srčani biomarker i njegova specifičnost

Autor za korespondenciju: Danica Marković, Josifa Pančića 6/50 18000 Niš, Niš, Srbija, Telefon: 065/281-14-11, E-mail: dani-ca-amm@medfak.ni.ac.rs

Original article

SIGNIFICANCE OF SURVIVIN (BIRC5) AS A BIOMARKER FOR THE ASSESSMENT OF PREOPERATIVE CARDIOVASCULAR RISK IN NON-CARDIAC SURGERIES – SURVIVIN (BIRC5) AS A NOVEL CARDIAC BIOMARKER

Danica Marković¹, Tatjana Jevtović-Stoimenov², Mladjan Golubović¹, Vladan Ćosić³, Anita Vuković¹, Milena Stojanović⁴, Aleksandar Nikolić⁴, Radmilo Janković^{1,5}

¹Center for anesthesiology and reanimatology, Clinical center in Niš, Niš, Serbia

²Biochemistry department, Medical school, University in Niš, Niš, Serbia

³Center for medical biochemistry, Clinical center in Niš, Niš, Serbia

⁴Medical school, University in Niš, Niš, Serbia

⁵Emergency medicine department, Medical school in Niš, Niš, Serbia

Summary

Introduction: Survivin (BIRC5) is a member of the inhibitor of apoptosis family of proteins and has a very important role in the so-called “point of no return” of cell apoptosis. The role of survivin in the development of tumors and autoimmune diseases has already been proven, however, there are increasing evidence that it is also sensitive to the existence of previous ischemic heart disease. **Methods:** This prospective pilot study included 78 patients who were preparing for one of the major non-cardiac surgeries. Blood was sampled within 7 preoperative days, serum was separated and frozen at -70°C. The level of survivin in serum was measured using the ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) method, and the results were read on DIAREADER Elx800G. **Results:** Patients of an average age of 71.46 ± 6.87 years had the median level of survivin 4.56 (0.00-76.78) pg/ml. Survivin has proven to be an excellent predictor of postoperative mortality ($P < 0.05$, ROC/AUC=0.807). Patients were divided into two groups, one group of patients who had cancer and a group of patients who didn't have cancer, and in both groups statistical analysis of the data was conducted ($P > 0.05$, ROC/AUC=0.782; $P < 0.05$, ROC/AUC=0.825;). After exclusion of extremely high values, the results in both groups were respectively: $P < 0.001$, ROC/AUC=0.831; $P < 0.05$, ROC/AUC=0.825. **Conclusion:** Survivin is a potential cardiac biomarker and its

Corresponding author: Danica Marković, Josifa Pančića 6/50 18000 Niš, Niš, Srbija, Telephone: 065/281-14-11, E-mail: dani-ca-amm@medfak.ni.ac.rs

i senzitivnost je dokazana čak i u grupi pacijenata koji nisu oboleli od bilo koje vrste tumora.

Ključne reči: *survivin protein; humani; apoptoza; biološki marker; infarkt*

Uvod

Rizik za nastanak perioperativnih komplikacija zavisi od preoperativnog stanja pacijenta, komorbiditeta (dokumentovana ili asimptomatska ishemijska bolest srca, disfunkcija leve komore, aritmije i oboljenje srčanih valvula) i hitnosti, opsežnosti, tipa i trajanja hirurške procedure (operacije koje su udružene sa produženim hemodinamskim i srčanim stresom)¹. Istraživanja ukazuju na to da u Evropi oko 30% pacijenata podleže opsežnim hirurškim procedurama u prisustvu kardiovaskularnog komorbiditeta. Širom sveta, opsežne nekardiohirurške operacije se povezuju sa stepenom mortaliteta između 0,8 i 1,5%, dok je oko 42% ovih dešavanja prouzrokovano kardiovaskularnim komplikacijama¹. Kada su u pitanju kardiovaskularne komplikacije, postoperativni nastanak hipertenzije, aritmije i srčane insuficijencije se uglavnom javlja dva dana nakon operacije, dok rizik od perioperativnog infarkta miokarda perzistira pet do šest dana nakon operacije².

Metode anesteziološke procene perioperativnog kardiovaskularnog (KVS) rizika uključuju, najpre, kliničke znake i iskustvo, kao i procenu funkcionalnog statusa putem određivanja metaboličkih ekvivalenata (MET)^{1,3}. Takođe, razvijeno je više skala procene rizika koje mogu pomoći anesteziologu, kao što su: Goldman, Detsky i Lee^{1,4-8}. Postoje i savremenije metode procene rizika za razvoj postoperativnih komplikacija, kao što su na primer American College of Surgeons National Surgical Quality Improvement Program (NSQIP) – kalkulator za predviđanje intraoperativnog/postoperativnog razvoja infarkta miokarda ili srčanog zastoja^{9,10}. Najnovije ESC/ESA preporuke ukazuju na poseban značaj biomarkera kao sredstva procene preoperativnog KVS rizika^{2,11}.

Novija istraživanja imaju za cilj uvođenje biomarkera apoptoze u paletu relevantnih biomarkera za određivanje KVS rizika, kao i za dijagnozu i terapiju KVS oboljenja. Evidentno je da apoptoza, pored nekroze, igra ključnu ulogu u patogenezi

specificity and sensitivity has been demonstrated even in the group of patients who were not suffering from any kind of tumor.

Key Words: *Survivin protein, human; Apoptosis; Biologic Marker; Infarction;*

različitih KVS oboljenja, usled gubitka potpuno diferenciranih kardiomiocita, te rano otkriće i najmanjeg njihovog oštećenja može ukazati na rizik od razvoja postoperativnih komplikacija. Apoptozu može pokrenuti aktivacija prve kaspaze u nizu i prekinuti njena deaktivacija, te je novi izazov odrediti takozvanu tačku bez povratka. Survivin (BIRC5) je pripadnik familije proteina inhibitora apoptoze (IAP) i igra ključnu ulogu u odlučivanju da li će do apoptoze ćelije doći ili ne, na taj način što inhibira kaskadu kaspaza. Učestvuje u ćelijskoj deobi, inhibiciji apoptoze i angiogenezi¹²⁻¹⁶. Identifikovan je kao glavni regulator neurogeneze, vaskulo-angiogeneze, hematopoeze i kardiogeneze¹⁷. Istraživanja su pokazala da survivin učestvuje u ćelijskoj deobi, u smislu kontrole stabilnosti mikrotubula i održavanja mitotskog vretena¹⁸. Survivin je mali molekul (142 rezidue) i kao i svi ostali pripadnici IAP familije, sadrži u sebi bacilovirusni IAP ponovak (BIR) domen, koji je uglavnom lociran na N-terminalnom delu proteina¹⁹. Za razliku od drugih inhibitora apoptoze, survivin je visoko specifičan za fetalno tkivo i obično nije prisutan u serumu odraslih ljudi²⁰, gde se javlja jedino ukoliko je kod pacijenata prisutan tumor ili autoimuna oboljenja. Novija istraživanja ukazuju i na to da je senzitivan na postojanje prethodnog ishemijskog oboljenja srca, jer se aktivira u cilju obnove tkiva i angiogeneze, putem promocije ekspresije VEGF^{13,20}.

Cilj

Cilj našeg istraživanja je bio da dokažemo da se marker apoptoze survivin (BIRC5) može koristiti u praksi kao validan preoperativni biomarker kardiovaskularnog rizika i postoperativnog mortaliteta.

Materijali i metode

Pacijenti

Sedamdeset i osam pacijenata, koji su se pripremali za jednu od velikih nekardiohirurških inter-

vencija, uključeno je u ovu prospektivnu pilot studiju. Pacijenti su operisani u jednoj od hirurških klinika Kliničkog centra u Nišu. Svi pacijenti su potpisali informisani pristanak.

Kriterijumi za uključivanje u studiju su bili: opsežna nekardiohirurška intervencija, opšta anestezija, starija dob od 55 godina i barem jedan od odabranih faktora rizika (hipertenzija, dijabetes melitus, hiperlipidemija, pušenje i pozitivna porodična anamneza za neko srčano oboljenje). Iz studije su bili isključeni pacijenti koji su podvrgnuti hitnim hirurškim procedurama i oni koji nisu bili u mogućnost da razumeju i potpišu saglasnost za učestvovanje u istraživanju.

Laboratorijske metode

Krv je uzorkovana unutar 7 dana pre operacije iz antekubitalne vene u serumske Vacuteiner epruvete. Nakon centrifugiranja, izdvojen je serum i zamrznut na -70°C , do sprovođenja testova.

Tabela 1: Osnovni demografski podaci pacijenata

POL	UKUPAN BROJ ISPITANIKA broj (procenat)	STAROST U GODINAMA aritmetička sredina \pm SD (opseg min–max)
Ženski	41 (52,56%)	71,36 \pm 6,35 (53–87)
Muški	37 (47,44%)	71,57 \pm 7,50 (51–83)
Ukupno	78 (100%)	71,46 \pm 6,87 (51–87)

Nakon prikupljanja svih uzoraka, rađena je analiza količine survivina u serumu pacijenata ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) metodom, koja podrazumeva kvantitativnu sendvič enzim imunoesej tehniku. Korišćeni kit, Human Survivin Quantikine ELISA Kit, R&D Systems, Minneapolis, MM, USA (DSVOO), bio je komercijalno dostupan. Nakon sprovođenja protokola preporučenog od strane proizvođača, optička gustina uzoraka je čitana na aparatu DIAREADER Elx800G (DIALAB, Austria). Rezultati su izračunati sa standardne krivulje, koja je konstruisana iz parametrijske logističke krivulje i predstavljeni u pg/ml seruma.

Detalji o pacijentima i njihov identitet nije bio poznat osobama koje su sprovodile eksperiment.

Statističke analize

U cilju evaluacije razlika između dve grupe, korišćen je T-test nezavisnih uzoraka, a ukoliko su grupe bile nehomogene korišćen je Mann-Whitney U test. Receiver operating characteristic (ROC) krivulje su konstruisane u cilju određivanja senzitivnosti i specifičnosti vrednosti survivina u predikciji postoperativne smrtnosti. ROC krivulje su korišćene u cilju određivanja najbolje „cut off” vrednosti. Statistički značajnim rezultatom se smatralo $P < 0,05$. Svi rezultati su statistički obrađeni u program SPSS 10.0 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL, USA) za Windows.

Rezultati

Ukupno 78 pacijenata je uključeno u studiju, od čega je 41 (52,56%) bilo ženskog, a 37 (47,44%) muškog pola. Pacijenti su bili prosečne starosti $71,46 \pm 6,87$ godina (Tabela 1).

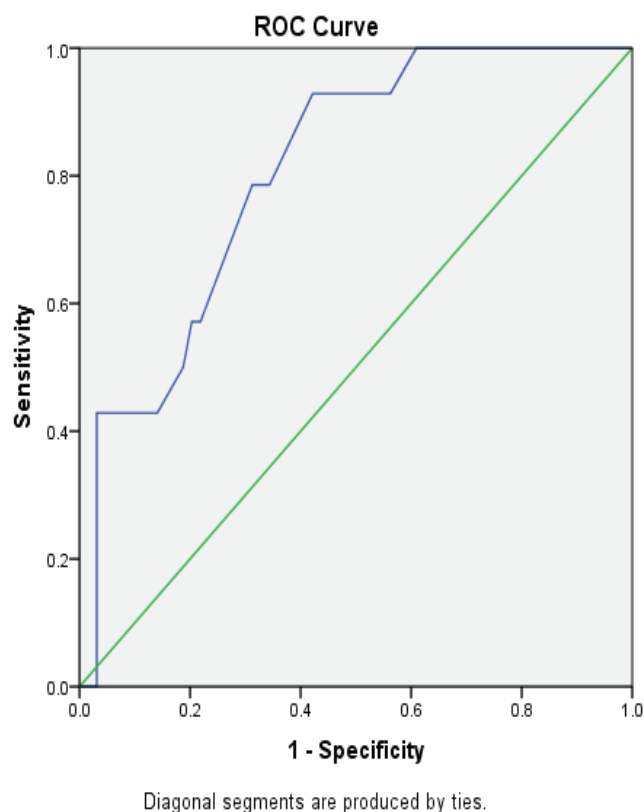
Medijana vrednosti survivina kod svih pacijenata je iznosila 4,56 (0,00–76,78 pg/ml). Kod žena je vrednost survivina iznosila 3,44 (0,00–76,78) pg/ml, dok je kod muškaraca iznosila 4,56 (0,00–43,44) pg/ml. U cilju poređenja vrednosti survivina u ove dve grupe, urađen je T-test za nezavisne uzorke, sa rezultatom $P = 0,485$ ($P > 0,05$).

Od ukupno 78 pacijenata, smrtni ishod, kao posledica postoperativnih komplikacija, dogodio se kod 14 (17,95%) pacijenata, dok je 64 (82,05%) pacijenata preživelo. Medijana vrednosti survivina u grupi kod koje se nije dogodio smrtni ishod je bila 2,33 (0,00–76,78 pg/ml), dok je u grupi kod koje se dogodio smrtni ishod bila 9,55 (1,22–27,89 pg/ml). Levinov test za jednakost varijansi je za rezultat imao $P = 0,367$ ($P > 0,05$), te se moglo zaključiti

da je varijabilnost u ove dve grupe slična. Pristupilo se analizi rezultata T-testom. T-test je pokazao da je $P = 0,020$ ($P < 0,05$).

Analiza putem receiver operating characteristic (ROC) krivulje je pokazala da je serumski nivo survivina koristan biomarker u predikciji smrtnog ishoda, kod pacijenata koji se pripremaju za velike nekardiohirurške operacije. Površina ispod krivulje je bila $AUC = 0,807$ (95% CI = 0,698–0,917, $P < 0,001$). Za „cut off” vrednost 6,22 pg/ml survivina, senzitivnost je iznosila 78,6%, dok je specifičnost iznosila 68,7% (Slika 1).

Slika 1: ROC krivulja koja opisuje odnos vrednosti sruvivina i postoperativne smrtnosti, dobijena kombinovanjem odnosa specifičnosti i senzitivnosti na različitim „cut off” vrednostima (površina ispod krivulje je 0,807)



S obzirom na činjenicu da je survivin dokazan biomarker prisustva tumora, pristupilo se proceni u kojoj meri je podatak da je pacijent obolio od tumora uticao na senzitivnost ovog biomarkera. Od ukupno 78 pacijenata 44 (56,41%) je imalo neku vrstu maligniteta, dok 34 (43,59%) nije imalo poznat malignitet. Medijana vrednosti survivina u grupi pacijenata obolelih od tumora je bila 5,11 (0,00–76,78) pg/ml, dok je u grupi bez tumora bila 3,44 (0,00–27,89) pg/ml.

Upoređene su vrednosti survivina u grupi sa i bez maligniteta. Levinov test je pokazao statističku značajnost, te se pristupilo izradi Mann Whitney U testa, koji je pokazao $P = 0,306$ ($P > 0,05$). ROC krivulja specifičnosti i senzitivnosti survivina u slučaju prisustva maligniteta je pokazala $AUC = 0,568$ (95% CI = 0,440–0,695, $P > 0,05$).

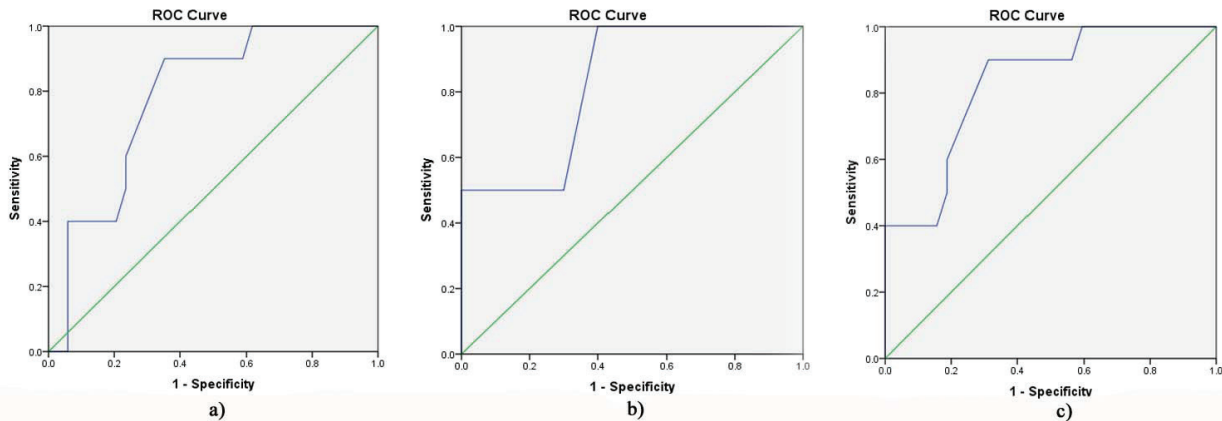
Nakon toga su pacijenti podeljeni u dve grupe, u prvoj grupi su bili pacijenti oboleli od tumora, a u drugoj pacijenti koji nisu bili oboleli od tumora. U svakoj grupi je upoređivan uticaj vrednosti serumskog survivina na smrtni ishod, postoperativno. Kada je u pitanju grupa pacijenata obolelih od tumora, T-test je pokazao da je $P = 0,267$ ($P > 0,05$). ROC krivulja je pokazala da je survivin koristan biomarker u predikciji smrtnog ishoda kod pacijenata obolelih od neke vrste tumora, a koji se pripremaju na velike nekardiohirurške operacije. Površina ispod krivulje je bila $AUC = 0,782$ (95% CI = 0,639–0,926, $P = 0,007$). Za „cut off” vrednost 5,11 pg/ml, senzitivnost je iznosila 90%, dok je specifičnost iznosila 61,8% (Slika 2).

Kada je u pitanju grupa pacijenata koji nisu bili oboleli od tumora, Levinov test je pokazao statističku značajnost, te je urađen Mann Whitney U test, koji je pokazao $P = 0,036$ ($P < 0,05$). ROC krivulja je pokazala da je survivin odličan biomarker u predikciji smrtnosti kod pacijenata koji nisu oboleli od tumora, a pripremaju se za neku od velikih nekardiohirurških operacija, $AUC = 0,825$ (95% CI = 0,629–1,000, $P = 0,037$). Za „cut off” vrednost 4,00 pg/ml, senzitivnost je iznosila 100%, dok je specifičnost iznosila 60% (Slika 2).

Statistička analiza nakon isključivanja ekstremno visokih vrednosti

S obzirom na činjenicu da je nakon određivanja srednje vrednosti i grafičkog prikazivanja u Box plotu (Slika 3) uočeno da postoje dve ekstremno visoke vrednosti (76,78 pg/ml i 43,44 pg/ml), ove vrednosti su izbačene iz statističke analize u cilju provere dobijenih rezultata. Nakon ovoga je u statističku obradu uključeno 76 pacijenata, 40 (52,63%) žena i 36 (47,37%) muškaraca. Prosečna starost je sada iznosila $71,49 \pm 6,94$ godina. Nakon ove korekcije, medijana vrednosti survivina je bila 4,00 (0,00–27,89) pg/ml. Medijana vrednosti survivina kod žena je bila 3,44 (0,00–26,78) pg/ml, dok je kod muškaraca bila 4,56 (0,00–27,89) pg/

Slika 2: Uporedni prikaz ROC krivulja kod pacijenata sa i bez tumora, pre i nakon izbacivanja ekstremno visokih vrednosti



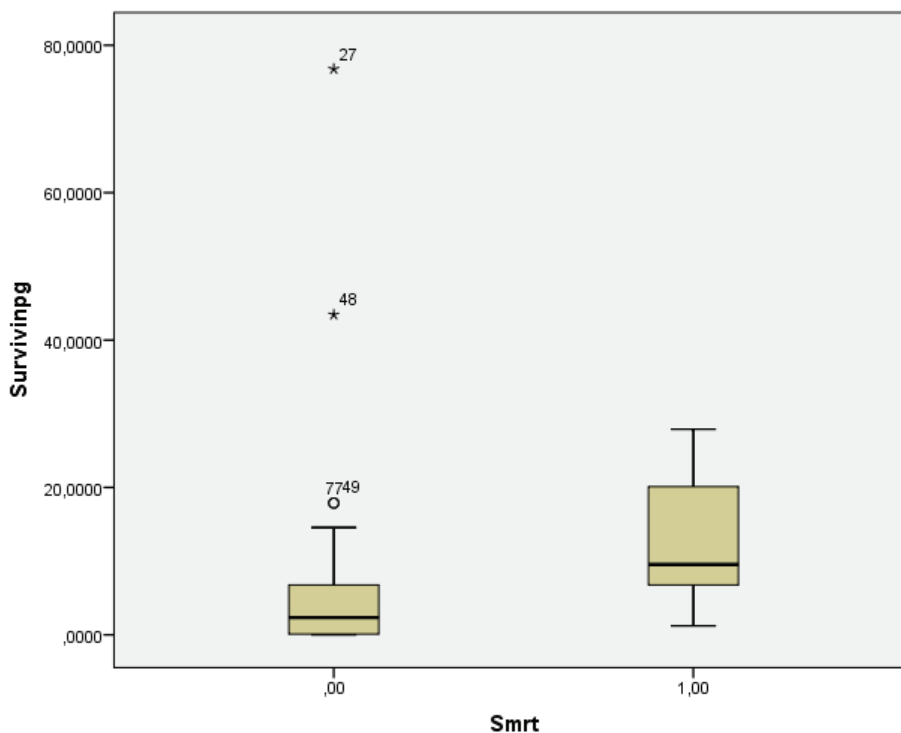
- a) ROC krivulja koja opisuje odnos vrednosti survivina i smrtnog ishoda u grupi pacijenata obolelih od neke vrste maligniteta, dobijena kombinovanjem odnosa specifičnosti i senzitivnosti na različitim „cut off” vrednostima. Površina ispod krivulje je 0,782.
- b) ROC krivulja koja opisuje odnos vrednosti survivina i smrtnog ishoda u grupi pacijenata koji nisu oboleli od neke vrste tumora, dobijena kombinovanjem odnosa specifičnosti i senzitivnosti na različitim „cut off” vrednostima. Površina ispod krivulje je 0,825.
- c) ROC krivulja koja opisuje odnos vrednosti survivina i smrtnog ishoda u grupi pacijenata koji su oboleli od neke vrste tumora, dobijena kombinovanjem odnosa specifičnosti i senzitivnosti na različitim „cut off” vrednostima, nakon isključivanja ekstremno visokih vrednosti. Površina ispod krivulje je 0,831.

ml. Za ove rezultate je takođe urađen T-test, koji nije pokazao statističku značajnu razliku vrednosti survivina između muškaraca i žena, $P = 0,482$ ($P > 0,05$).

Od ovog broja, smrt kao ishod postoperativnih komplikacija je nastala kod 14 (18,42%) pacije-

nata, dok je 62 (81,58%) pacijenta preživelo. Medijana vrednosti survivina u grupi u kojoj se nije dogodio smrtni ishod je bila 2,33 (0,00–17,89) pg/ml, dok je u grupi kod koje se dogodio smrtni ishod bila 9,55 (1,22–27,89) pg/ml. Levinov test je pokazao statističku značajnost, te je urađen

Slika 3: Box plot grafikon koji pokazuje distribuciju vrednosti survivina u serumu u grupi preživelih i u grupi umrlih



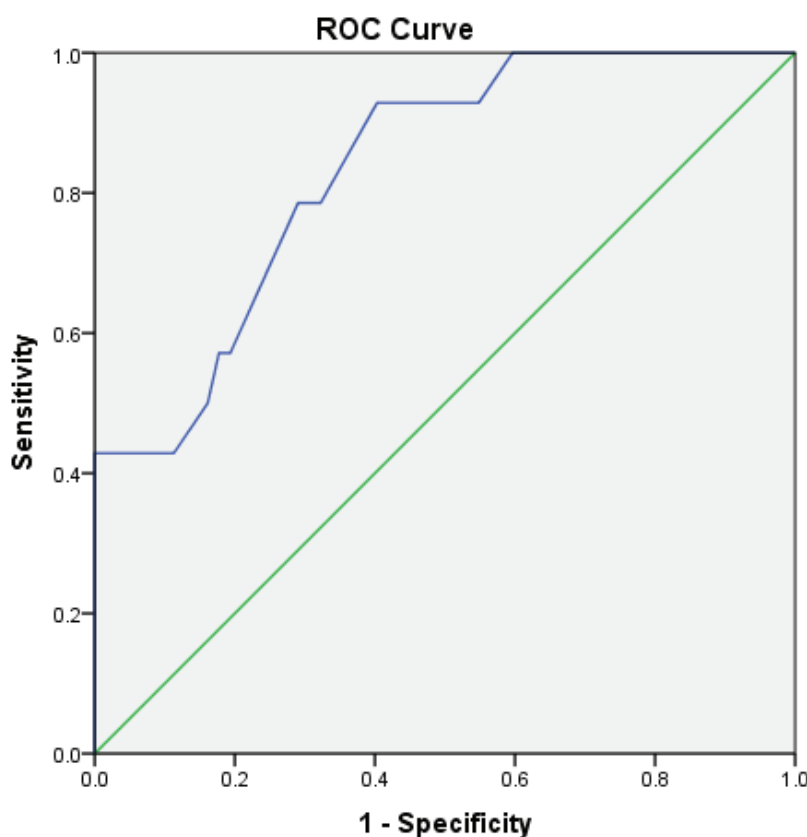
Survivin pg = vrednosti survivina izražene u pg/ml
,00 = preživeli,
1= umrli

Mann-Whitney U test, koji je pokazao $P = 0,0001$ ($P < 0,001$). Analiza ROC krivulje je ukazala na to da je survivin odličan prediktor smrtnosti kod pacijenata koji se pripremaju za nekardiohirurške operacije, $AUC = 0,834$ (95% CI = 0,727–0,940, $P < 0,001$). Za „cut off” vrednost 5,11 pg/ml senzitivnost je iznosila 78,6%, dok je specifičnost iznosila 67,7% (Slika 4).

ROC krivulje je pokazano da je survivin odličan biomarker u predikciji postoperativnog smrtnog ishoda kod pacijenata obolelih od tumora, $AUC = 0,831$ (95% CI = 0,696–0,967, $P = 0,002$). Za „cut off” vrednost 5,11 pg/ml senzitivnost je iznosila 90%, dok je specifičnost iznosila 65,6% (Slika 2).

Grupa pacijenata koji nisu oboleli od tumora je ostala ista kao i pre isključivanja ekstremno visokih vrednosti (Slika 2).

Slika 4: ROC krivulja koja opisuje odnos vrednosti survivina i postoperativne smrtnosti, dobijena kombinovanjem odnosa specifičnosti i senzitivnosti na različitim „cut off” vrednostima, nakon isključivanja ekstremno visokih vrednosti (površina ispod krivulje je 0,834)



Diagonal segments are produced by ties.

Od 76 pacijenata, ukupno 42 (55,26%) je imalo neku vrstu maligniteta, dok 34 (43,59%) pacijenta nije imalo malignitet. Medijana vrednosti survivina u grupi pacijenata obolelih od neke vrste tumora je bila 4,56 (0,00–26,78) pg/ml, dok je u grupi pacijenata koja nije obolela od tumora bila 3,44 (0,00–27,89) pg/ml.

Pacijenti su ponovo podeljeni u dve grupe, pacijente obolele od tumora i one koji nisu oboleli od tumora, upoređivana je korelacija vrednosti survivina sa smrtnim ishodom u obe grupe. Kada je u pitanju grupa pacijenata obolelih od tumora, Mann-Whitney U test je pokazao $P < 0,001$. Analizom

Diskusija

Glavni cilj ove pilot studije je bio da istraži ekspresiju survivina i njegovo prisustvo u serumu pacijenata, u cilju preoperativne procene kardiovaskularnih rizika. Činjenica je da se prognostička vrednost mnogih preoperativnih srčanih biomarkera krije u prethodnom oštećenju srčanog tkiva, te smo smatrali da po svojim fiziološkim i biohemijskim osobinama i survivin u budućnosti može biti uključen u paletu srčanih biomarkera. U akutnom infarktu miokarda ROS (reactive oxygen species) se nakupljaju u ishemijskom tkivu miokarda, po-

seбно nakon reperfuzije, direktno oštećuju ćelijsku membranu i izazivaju apoptozu. Međutim, ROS, takođe, stimulišu ekspresiju inflamatornih citokina (tumor nekrosis factor alfa TNF α , interleukin (IL)-1 beta I-6) u ishemijskom regionu²¹. Postoji sve više eksperimentalnih dokaza da oksidativni stres posredovan ROS-om igra glavnu ulogu u patogenezi obnove i remodelovanja miokarda u različitim kardiovaskularnim oboljenjima. Smatra se da se oksidativni stres razvija i u infarktom zahvaćenom i u infarktom nezahvaćenom miokardu, te da izaziva apoptozu kardiomiocita, inflamatorne/fibrogene odgovore i hipertrofiju²²⁻²⁴. Regenerativni kapacitet srčanih mišićnih ćelija odraslog čoveka je jako mali, te stoga lečenje infarktom zahvaćenog miokarda zavisi od ćelijskih događaja koji vode formiranju kolagenog ožiljka. Ovi događaji se dele u tri faze: inflamatornu fazu, proliferativnu fazu i fazu maturacije. U toku inflamatorne faze mrtve ćelije i ekstracelularni debris izazivaju inflamaciju, tokom proliferativne faze mononuklearne ćelije i subpopulacija makrofaga sekretuju faktore rasta, koji aktiviraju miofibroblaste i vaskularne ćelije u cilju što brže reparacije. Apoptoza mnogih reparativnih ćelija označava kraj proliferativne faze^{23,24,25}. Inflamatorni citokini regulišu preživljavanje i smrt ćelije putem eventualne stimulacije apoptoze kroz TNA-alfa receptor/kaspaza lančanu reakciju²¹. Survivin učestvuje u ovim procesima na sledeći način: oksidativni stres dovodi do signifikantne aktivacije survivina koji takođe dodatno pospešuje inflamaciju^{25,26}, kao i učešćem u procesu angiogeneze putem interakcije sa VEGF^{21,25}.

Još uvek nije poznat tačan put koji povezuje ekspresiju VEGF i survivina, međutim, istraživanja su dokazala da ekspresija survivina u ćelijama dovodi do pospešenog oslobađanja VEGF i formiranja krvnih sudova. Na ovaj način je dokazana pozitivna sprega koja povezuje ekspresiju survivina sa PI3K/Akt uvećanom ekspresijom β -catenin-Tcf/Lef, koja je zatim praćena sekrecijom VEGF i finalnom angiogenezom²⁷. Ma i saradnici su pokazali, na modelu zebrafish, da je survivin u procesu angiogeneze verovatno pod regulacijom VEGF²⁸. Ostaje da buduća istraživanja detaljnije dokažu koja je tačna povezanost ova dva proteina. Svakako stoji činjenica da u akutnoj fazi infarkta miokarda značajno oštećenje endotela nastaje u prvih 24 h nakon trombolize streptokinazom. Dokazano je da u prvih 24 h nakon nastanka infarkta miokarda

nastaju signifikantne promene u nivou VEGF receptora sFlt-1, ali ne i VEGF, dok značajne promene u nivou oba molekula nastaju kod pacijenata sa hroničnim infarktom miokarda, što ukazuje na to da aktivacija angiogeneze kod pacijenata sa infarktom miokarda nastaje kasnije²⁹. Ovim je pokazano da ekspresija survivina perzistira duže, te se može koristiti u preoperativnoj dijagnostici iako infarkt miokarda nije svež.

Survivin, na osnovu istraživanja, pokazuje potencijal u proangiogenoj terapiji nakon infarkta miokarda^{30,31}, proceni kvaliteta srca donora nakon preživljene hemoragije ili traumatske povrede mozga²⁵, kao i anti-apoptični terapeutik u slučaju srčane insuficijencije¹⁵.

S obzirom na to da je regulacija apoptoze glavni događaj u postinfarktnom remodelingu koji vodi do progresivnog gubitka miocita, Santini i saradnici su imunohistohemijski ispitivali ekspresiju survivina u peri-infarktним vijabilnim ćelijama kod 17 pacijenata, koji su umrli 1–30 nedelja nakon preživljenog akutnog infarkta miokarda. Istraživanje je ukazalo na to da je survivin eksprimiran u miocitima u peri-infarktnoj zoni i to u daleko većem procentu kod umrlih u odnosu na kontrolne. Stoga se smatra da je miokardna ekspresija survivina možda povezana sa preživljavanjem ugrožene zone miokarda i može indikovati bolji remodeling nakon akutnog infarkta miokarda³². Druga studija je na eksperimentalnom modelu pokazala da delecija survivina, specifična samo za srčane ćelije, rezultira prevremenim srčanim zastojem, te da survivin može biti obećavajući target protein za miokardnu regeneraciju³³. Ho i saradnici su ukazali na činjenicu da A83-01, inhibitor TGF β RI, pospešuje obnavljanje kardiomiocitnog tkiva nakon infarkta miokarda. U istraživanje su uključili i survivin, koji je direktno uticao na proliferaciju Nkx2.5+ populaciju kardiomioblasta i povećavao vijabilnost kultivisanih kardiomiocita. Takođe, dokazano je da je A83-01 pravio reverziju nishodne regulacije survivina u miocitima nakon nastalog oštećenja³⁴. Survivin poseduje potencijalno citoprotektivne efekte, kada je u pitanju doksorubicin – indukovana apoptoza kardiomiocita, preko mehanizama koji uključuju smanjenje nivoa fosforilacije p38 kinaze, oslobađanja mitohondrijalnog Smac i smanjene ekspresije Bcl-2 i CREB³⁵. Sve ovo je identifikovalo survivin kao novi potencijalni target protein za terapiju postinfarktne očuvanja

i remodelovanja, kao i najnoviji potencijalni srčani biomarker³².

Prethodno je dokazano da je nakon transdukcije survivina u kulturu kardiomioblasta miša *in vitro* moguće detektovati survivin u supernatantu ćelijske kulture, što potvrđuje mogućnost detekcije survivina u serumu pacijenata, nakon njegove povećane ekspresije u miokardnom tkivu, nakon preživljene ishemijske epizode³⁶. Zbog ove činjenice smo ispitivali nivo survivina u serumu pacijenata, jer je to svakako najefikasniji način identifikacije prisustva biomarkera u praksi.

U literaturi je pronađen podatak da survivin može biti prisutan u endometriju žena u toku normalnog menstrualnog ciklusa, tačnije u toku sekretorne faze, kao posledica višeg nivoa progesterona³⁷. Smatramo da naši rezultati nisu kompromitovani ovim podatkom, jer je prosečna starost žena u našoj studiji bila $71,36 \pm 6,35$ (53–87) godina.

Visoka stopa smrtnosti (17,95% pre i 18,42% nakon isključivanja ekstremno visokih vrednosti) se može objasniti činjenicom da su u našoj grupi ispitanika bili pacijenti koji pripadaju staroj životnoj dobi ($71,46 \pm 6,87$ godina), da je grupa ispitanika relativno mala, kao i da imaju veliki broj komorbiditeta, kao i sama činjenica da se pripremaju za opsežne nekardiohirurške operacije koje sa sobom nose izuzetno visok rizik.

Nivo survivina je pokazao statistički značajnu razliku između grupe kod koje se desio smrtni ishod kao posledica srčanih komplikacija i grupe koja je preživela. ROC-AUC je pokazao da se survivin može koristiti kao koristan biomarker („cut off” vrednost 6,22 pg/ml) u preoperativnoj predikciji smrtnosti sa visokom senzitivnošću i specifičnošću.

Survivin je prekomerno eksprimiran u većini tumorskih ćelija, ali ne u normalno diferentovanim tkivima³⁸. Pokazalo se da je visoka ekspresija survivina povezana sa progresijom tumora, rezistentnošću na terapiju, lošom prognozom i kratkim životnim vekom³⁹. Svakako, i učešće u procesu angiogeneze ga čini adekvatnim tumorskim biomarkerom⁴⁰. Različite studije su dokazale značaj survivina u: superficijalnom tumoru mokraćne bešike, tumoru želuca, tumorima ovarijuma, „non-small cell” tumoru pluća, urotelijanom tumoru, akutne i hronične limfoblastne leukemije, itd^{14,39,41–47}.

Upravo iz ovog razloga smo podelili pacijente

na dve grupe – grupu pacijenata sa tumorom i bez prisustva tumora. Vrednost survivina nije pokazala statistički značajnu razliku, a ROC-AUC je pokazao da je survivin jako loš biomarker u dijagnostici tumora kada su naši uzorci u pitanju. Nakon upoređivanja smrtnosti pacijenata sa vrednošću survivina u obe grupe, statistička značajnost je dobijena samo u grupi u kojoj su bili pacijenti koji nisu oboleli od tumora ($P < 0,05$). Površina ispod ROC krivulje je takođe pokazala da je survivin bolji prediktor smrtnosti u istoj grupi ($AUC = 0,825$) sa „cut off” vrednošću 4 pg/ml i jako visokom senzitivnošću.

Prisustvo transkripta izoformi survivina dokazano korelira sa progresijom tumora, dok je ekspresija pojedinih izoformi povezana sa lošijom prognozom kod pacijenata⁴⁸. Mahotka i saradnici su pokazali da se u slučaju ćelija tumora bubrega održava antiapoptična aktivnost survivin- $\Delta Ex3$ i smanjuje značajno ista aktivnost izoforme survivin-2B, te se smatra da postoji kompleksni regulacijski balans između različitih izoformi survivina i da taj balans ili njegovo narušavanje može dovesti do različitog odgovora ćelije na proapoptotski stimulus i u ćelijama tumora bubrega, kao i u svim ostalim tumorima⁴⁹. Ovakav podatak pokazuje da se različiti, kao i ekstremno visoki, rezultati mogu objasniti različitim vrstama i stadijumima tumora. Takođe, razlike u celularnoj lokalizaciji survivina (nuklearni, mitohondrijalni ili citoplazmatski), kao i eventualne dodatne funkcije ovog proteina mogu uticati na varijabilnost njegovih vrednosti⁵⁰. Autori Ahmed i saradnici su pokazali da su vrednosti survivina signifikantno veće kod pacijenata pre terapije ($35,28 \pm 10,71$ pg/ml, „cut off value” = 15,18 pg/ml), nego nakon terapije ($20,7 \pm 5,6$ pg/ml)³⁹. Survivin je u ovoj studiji pokazao veću korelaciju sa blastnim ćelijama koštane srži i drugim prognostičkim kriterijumima ALL, te se smatra da je ekspresija survivina povezana sa pospešivanjem agresije tumora. Zaključak studije je da je survivin potencijalni dijagnostički i prognostički faktor preživljavanja kod pacijenata obolelih od ALL, što može objasniti niže vrednosti survivina kod naših pacijenata („cut off value” = 5,11 pg/ml), koji su uglavnom pristupili operaciji nakon primene adekvatne terapije. Prisutna je i činjenica da su tumori pacijenata u našoj studiji bili operabilni i da nisu kod svih bile prisutne metastaze. Takođe, evidentno je da su granične vrednosti bile veće u grupi

sa tumorom, nego u grupi bez ovog oboljenja, što možda u budućim, opsežnijim studijama može pokazati da niže vrednosti ukazuju na verovatno odsustvo tumora i na činjenicu da prisustvo survivina u serumu označava kardiovaskularni rizik.

U različitim istraživanjima, medijana vrednosti survivina je pokazala veoma različite vrednosti. U slučaju „non-small cell“ tumoru pluća je bila 81,92 pg/ml⁴³, u slučaju tumora mokraćne bešike 17,7 pg/ml⁵¹, kod pacijenata u trenutku dijagnostikovanja malignog mezotelioma 4,1 pg/ml, nakon hemoterapije obolelih od malignog mezotelioma 73,1 pg/ml⁵⁰, u slučaju maligne efuzije pleure 844,17 pg/ml⁵², u slučaju prolaktinoma 19,04 pg/ml⁵³ i u slučaju hepatocelularnog karcinoma 0 pg/ml⁵⁴.

Ovakve varijacije u vrednostima dodatno objašnjavaju zašto smo dobili niže vrednosti survivina kod pacijenata obolelih od tumora, kao i zbog čega smo imali dve ekstremno visoke vrednosti (76,78 pg/ml i 43,44 pg/ml). Oba pacijenta sa ekstremno visokim vrednostima survivina su bila obolela od tumora želuca. Povezanost survivina i tumora želuca je odavno dokazana, pa čak je i nekoliko studija indikovalo da postoji povezanost između nivoa ekspresije survivina i ponašanja tumora. Oko 70–80% resektovanih tumora želuca imaju prisutne metastaze u limfnim nodusima⁵⁵. Zbog ovakvih činjenica se tumor želuca obično dijagnostikuje tek u uznapredovalim stadijumima i predstavlja veliki izazov za kliničare. Nakon operacije, stepen recidiviranja je 30–60%, zavisno od uznapredovalosti karcinoma, dok je petogodišnji nivo preživljavanja samo 20%. Kliničke studije ukazuju na činjenicu da je survivin pouzdan marker nepovoljnih događaja i smanjenog nivoa preživljavanja. Visoki nivo survivina korelira sa agresivnijim ponašanjem tumora i invazivnim kliničkim fenotipom, smanjenim odgovorom na hemoterapeutike, povišenim nivoom relapse i manjom stopom preživljavanja⁵⁶. Visoki nivoi survivina u našoj studiji mogu ukazivati na agresivniji stadijum tumora želuca kod ovih pacijenata. S obzirom na činjenicu da su pacijenti u našoj studiji praćeni samo do izlaska iz bolnice, ne možemo se izjasniti o povezanosti nivoa survivina i vremenu preživljavanja pacijenata.

Nakon isključivanja ekstremno visokih vrednosti survivina, ponovljena je kompletna statistika. Medijana vrednosti survivina u grupi pacijenata sa smrtnim ishodom je bila trostruko veća u poređenju sa grupom preživelih pacijenata, a između

ove dve grupe postojala je jako visoka statistička značajnost ($P < 0,001$). Analiza ROC krivulje je pokazala da je survivin izuzetno dobar biomarker za predikciju smrtnosti ($AUC = 0,834$), sa „cut off“ vrednošću 5,11 pg/ml i odličnom senzitivnošću i specifičnošću. Nakon podele na grupu pacijenata obolelih od maligniteta i grupu onih koji nisu oboleli od maligniteta, pokazana je statistička značajnost ($P < 0,001$) povezanosti vrednosti survivina i smrtnog ishoda kod pacijenata obolelih od neke vrste tumora. Površina ispod ROC krivulje je pokazala da je survivin odličan prediktor smrtnosti kod ovih pacijenata ($AUC = 0,831$) za graničnu vrednost 5,11 pg/ml (Slika 7). Rezultati su ostali isti u grupi pacijenata koji nisu oboleli od tumora, jer je bila nepromenjena.

Zaključak

- survivin je potencijalni srčani biomarker i njegova specifičnost i senzitivnost je dokazana čak i u grupi pacijenata koji nisu oboleli od bilo koje vrste tumora.
- Ograničenje survivina, kao srčanog biomarkera u preoperativnoj pripremi je činjenica da je visoko specifičan za tumore, te nije moguće koristiti ga izolovano u praksi, već samo u kombinaciji sa drugim visoko specifičnim srčanim biomarkerima.
- Studija je sprovedena u vidu pilot studije (uzorak od 78 pacijenata), te je potrebna opsežnija studija. Međutim, svakako je značajna činjenica da je po prvi put dokazana povezanost vrednosti survivina u serumu pacijenata sa predikcijom smrtnog ishoda kao posledice kardiovaskularnih komplikacija.
- Potreban je veći broj pacijenata da bi se odredila tačna granična vrednost survivina kao srčanog biomarkera.
- S obzirom na činjenicu da je granična vrednost survivina u grupi pacijenata obolelih od tumora bila veća u oba slučaja, možemo zaključiti da je moguće napraviti precizniju razliku između rezultata pacijenata sa i bez tumora.

Reference

1. The Joint Task Force on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Anaesthesiology (ESA). 2014 ESC/ESA Guidelines on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management. *Eur Heart J* 2014; 35:2383–431.

2. Goldman L. Cardiac risk and complications of noncardiac surgery. *Ann Surg* 1983; 98(6):780–91.
3. Upshaw J, Kieman MS. Preoperative cardiac risk assessment for noncardiac surgery in patients with heart failure. *Curr Heart Fail Rep* 2013; 10(2):147–56.
4. Goldman L. Cardiac risk and complications of noncardiac surgery. *Ann Intern Med* 1983; 98(4):504–13.
5. Goldman L, Caldera DL, Nussbaum SR et al. Multifactorial index of cardiac risk in noncardiac surgical procedures. *N Engl J Med* 1977; 297:845.
6. Detsky AS, Abrams HB, McLaughlin JR et al. Predicting cardiac complications in patients undergoing non-cardiac surgery. *J Gen Intern Med* 1986; 1(4):211–9.
7. Detsky AS, Abrams HB, Forbath N, Scott JG, Hilliard JR. Cardiac assessment for patients undergoing noncardiac surgery. *Arch Intern Med* 1986; 146:2131.
8. Lee TH, Marcantonio ER, Mangione CM et al. Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery. *Circulation* 1999; 100(10):1043–9.
9. Bilimoria KY, Liu Y, Paruch JL et al. Development and Evaluation of the Universal ACS NSQIP Surgical Risk Calculator: A Decision Aid and Informed Consent Tool for Patients and Surgeons. *J Am Coll Surg* 2013; 217(5):833–42.
10. Gupta PK, Gupta H, Sundaram A et al. Development and Validation of a Risk Calculator for Prediction of Cardiac Risk After Surgery. *Circulation* 2011; 124:381–7.
11. Mueller C. Biomarkers and acute coronary syndromes: an update. *Eur Heart J* 2014; 35:552–6.
12. Fernandez JG, Rodriguez DA, Valenzuela M et al. Survivin expression promotes VEGF-induced tumor angiogenesis via PI3K/Akt enhanced beta-catenin/Tcf-Lef dependent transcription. *Mol Cancer* 2014; 13:209.
13. Sanhueza C, Wehinger S, Castillo Bennett J, Valenzuela M, Owen GI, Quest AFG. The twisted survivin connection to angiogenesis. *Mol Cancer* 2015; 14:198.
14. Borbely AA, Murvao M, Szarka K et al. Survivin promoter polymorphism and cervical carcinogenesis. *J Clin Pathol* 2007; 60:303–6.
15. Lee PJH, Rudenko D, Kuliszewski MA et al. Survivin gene therapy attenuates left ventricular systolic dysfunction in doxorubicin cardiomyopathy by reducing apoptosis and fibrosis. *Cardiovasc Res* 2014; 101:423–33.
16. Liston P, Fong WG, Korneluk RG. The inhibitors of apoptosis: there is more to life than Bcl2. *Oncogene* 2003; 22:8568–80.
17. Delvaeye M, De Vriese A, Zwerts F et al. Role of the 2 zebrafish surviving genes in vasculo-angiogenesis, neurogenesis, cardiogenesis and hematopoiesis. *BMC Developmental Biology* 2009; 9:25.
18. Giodini A, Kallio M, Wall NR et al. Regulation of microtubule stability and mitotic progression by surviving. *Cancer Res* 2002; 62:2462–7.
19. Srinivasula SM, Ashwell JD. IAPs: whats in a name? *Mol Cell* 2008; 30:123–35.
20. Dobrzycka B, Mackowiak-Matejczyk B, Terlikowska KM, Kulesza-Bronczyk B, Kinalski M, Terlikowski SJ. Prognostic significance of pretreatment VEGF, surviving, and Smac/DIABLO serum levels in patients with serous ovarian carcinoma. *Tumour Biol* 2015; 36(6):4157–65.
21. Hori M, Nishida K. Oxidative stress and left ventricular remodeling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2009; 81(3):457–64.
22. Sun Y. Oxidative stress and cardiac repair/remodeling following infarction. *Am J Med Sci* 2007; 334(3):197–205.
23. Frangogiannis NG. Regulation of the inflammatory response in cardiac repair. *Circ Res.* 2012; 110:159–173.
24. Frangogiannis NG. The inflammatory response in myocardial injury, repair and remodeling. *Nat Rev Cardiol* 2014; 11(5):255–65.
25. Ozisik K, Ozisik P, Yildirim E, Misirlioglu M, Tuncer S. Expression of Antiapoptotic Survivin and Aven Genes in Rat Heart Tissue After Traumatic Brain Injury. *Transplantation Proc* 2006; 38:2784–7.
26. Maxia C, Perra MT, Demurtas P, Minerba L, Murtas D, Piras F, Corbu A, Gotuzzo DC, Cabrera RG, Ribatti D, Sirigu P. Expression of surviving protein in pterygium and relationship with oxidative DNA damage. *J Cell Mol Med* 2008; 12(6A):2372–80.
27. Fernández JG, Rodríguez DA, Valenzuela M et al. Survivin expression promotes VEGF-induced tumor angiogenesis via PI3K/Akt enhanced β -catenin/Tcf-Lef dependent transcription. *Mol Cancer* 2014; 13:209.
28. Ma ACH, Lin R, Chan PK et al. The role of surviving in angiogenesis during zebrafish embryonic development. *BMC Dev Biol* 2007; 7:50.
29. Chung NA, Lydakis C, Belgore F, Blann AD, Lip GY. Angiogenesis in myocardial infarction. An acute or chronic process? *Eur Heart J* 2002; 23(20):1604–8.
30. Cochrain C, Channon KM, Silvestre JS. Angiogenesis in the infarcted myocardium. *Antiox Redox Signal* 2013; 18(9):1100–13.
31. Conway EM, Zwerts F, Van Eygen V et al. Survivin-dependent angiogenesis in ischemic brain: Molecular mechanisms of hypoxia-induced up-regulation. *Am J Pathol* 2003; 163(3):935–46.
32. Santini D, Abbate A, Scarpa S et al. Surviving acute myocardial infarction: survivin expression in viable cardiomyocytes after infarction. *J Clin Pathol* 2004; 57:1321–4.
33. Levkau B, Schafers M, Wohlschlaeger J et al. Survivin determines cardiac function by controlling total cardiomyocyte number. *Circulation* 2008; 117:1583–93.
34. Ho YS, Tsai WH, Lin FC et al. Cardioprotective Actions of TGF β RI Inhibition Through Stimulating Autocrine/Paracrine of Survivin and Inhibiting Wnt in Cardiac Progenitors. *Stem Cells* 2015; 34(2):445–55.
35. Lee BS, Kim SH, Jin T et al. Protective effect of surviving in doxorubicin-induced cell death in H9c2 cardiac myocytes. *Korean Circ* 2013; 43:400–7.
36. Lee PJH, Rudenko D, Kuliszewski MA et al. Survivin gene therapy attenuates left ventricular systolic dysfunction in doxorubicin cardiomyopathy by reducing apoptosis and fibrosis. *Cardiovasc Res* 2014; 101(3):423–33.
37. Konno R, Yamakawa H, Utsunomiya H, Ito K, Sato S, Yajima A. Expression of surviving and Bcl-2 in the normal human endometrium. *Mol Human Rep* 2000; 6(6):529–34.
38. Sah NK, Khan Z, Khan GJ, Bisen PS. Structural, functional and therapeutical biology of surviving. *Cancer Lett* 2006; 244:164–71.

39. Ahmed MB, Shehata HH, Moussa M, Ibrahim TM. Prognostic significance of surviving and tumor necrosis factor- α in adult acute lymphoblastic leukemia. *Clin Biochem* 2012; 45:112–6.
40. Du J, Kelly AE, Funabiki H, Patel DJ. Structural basis for recognition of H3T3ph and Smac/DIABLO N-terminal peptides by human survivin. *Structure* 2012; 20:185–95.
41. Gazzaniga P, Gradilone A, Giuliani L et al. Expression and prognostic significance of LIVIN, SURVIVIN and other apoptosis-related genes in the progression of superficial bladder cancer. *Ann Oncol* 2003; 14:85–90.
42. Dobrzycka B, Mackowiak-Matejczyk B, Terlikowska KM, Kulesza-Bronczyk B, Kinalski M, Terlikowski SJ. Prognostic significance of pretreatment VEGF, surviving and Smac/DIABLO serum levels in patients with serious ovarian carcinoma. *Tumor Biol* 2015; 36:4157–65.
43. Naumnik W, Nilklinska W, Ossolinska M, Chyczewska E. Serum levels of HMGB1, surviving, and VEGF in patients with advanced non-small cell lung cancer during chemotherapy. *Folia Histochem Cytobiol* 2009; 47(2):703–9.
44. Duan L, Hu X, Jin Y, Liu R, You Q. Survivin protein expression is involved in the progression of non-small cell lung cancer in Asians: a meta-analysis. *BMC Cancer* 2016; 16:276.
45. Senoll S, Yildirim A, Ceyran B et al. Prognostic significance of survivin, β -catenin and p53 expression in urothelial carcinoma. *Bosn J Basic Med Sci* 2015; 15(4):7–14.
46. Troeger A, Siepermann M, Escherich G et al. Survivin and its prognostic significance in pediatric acute B-cell precursor lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2007; 92:1043–50.
47. Zeis M, Siegel S, Wagner A et al. Generation of cytotoxic responses in mice and human individuals against hematological malignancies using survivin-RNA-transfected dendritic cells. *J Immunol* 2003; 170:5391–7.
48. Noton EA, Colnaghi R, Tate S et al. Molecular analysis of surviving isoforms: Evidence that alternatively spliced variants do not play a role in mitosis. *The Journal of Biological Chemistry* 2005; 281(2):1286–95.
49. Mahotka C, Wenzel M, Springer E, Gabbert HE, Gerharz CD. Survivin- Δ Ex3 and surviving-2B: Two novel splice variants of the apoptosis inhibitor surviving with different antiapoptotic properties. *Cancer Res* 1999; 59:6097–102.
50. Goričar K, Koval V, Franko A, Dodil-Fikfak M, Dolčan V. Serum surviving levels and outcome of chemotherapy in patients with malignant mesothelioma. *Dis Markers* 2015; Article ID 316739.
51. Srivastava AK, Singh PK, Srivastava K et al. Diagnostic role of surviving in urinary bladder cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2013; 14(1):81–5.
52. Tian P, Shen Y, Wan C et al. Diagnostic value of surviving for malignant pleural effusion: a clinical study and meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(9):5880–7.
53. Dellal FD, Niyazoglu M, Gorar S et al. Serum surviving increases in prolactinoma. *J Clin Med Res* 2015; 7(4):248–52.
54. Jia X, Gao Y, Zhai D et al. Survivin is not a promising serological marker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Oncol Lett* 2015; 9(5):2347–52.
55. Jemal A, Siegel R, Ward E et al. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56:106–30.
56. Wang TT, Qian XP, Liu BR. Survivin: Potential role in diagnosis, prognosis and targeted therapy of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13(20):1784–90.