

# Expressão da proteína survivina em carcinoma ductal *in situ* de mama de alto e de baixo grau

Evaluation of survivin immunoreexpression in the differentiation of high- and low-grade breast ductal carcinoma *in situ*

Milca Cezar Chade<sup>1</sup>, Sebastião Piato<sup>1</sup>, Maria Antonieta Longo Galvão<sup>1</sup>, José Mendes Aldrighi<sup>1</sup>, Rômulo Negrini<sup>2</sup>, Evandro Falaci Mateus<sup>1</sup>, Enio Martins Medeiros<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Ciências Médicas, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

DOI: 10.1590/S1679-45082018AO4065

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar a imunoreexpressão da proteína survivina nos carcinomas ductais *in situ* de mama de baixo e de alto graus. **Métodos:** Fragmentos de tecido mamários obtidos por biópsia incisional e procedimentos cirúrgicos de 37 mulheres acometidas por carcinoma ductal *in situ* de mama foram subdivididos em dois grupos: Grupo A, formado por mulheres com carcinoma ductal *in situ* de baixo grau; e Grupo B, por mulheres com carcinoma ductal *in situ* de alto grau. A pesquisa de expressão da proteína survivina foi realizada pela técnica de imuno-histoquímica, utilizando-se anticorpo monoclonal clone I2C4. O critério de avaliação da imunoreexpressão da survivina baseou-se na porcentagem de células neoplásicas que apresentava coloração castanho-dourada. Considerou-se tal critério positivo quando a porcentagem de células apresentasse marcação  $\geq 10\%$ . **Resultados:** A proteína survivina apresentou-se expressa em 22 dos 24 casos de carcinoma ductal *in situ* de alto grau (78%), enquanto no Grupo A, de carcinoma ductal *in situ* de baixo grau ( $n=13$ ), apresentou-se positiva em apenas 6 casos (21,40%;  $p=0,004$ ). **Conclusão:** O índice de frequência de expressão da survivina foi significativamente mais elevado no grupo de pacientes com carcinoma ductal *in situ* de alto grau, quando comparado às do grupo com carcinoma ductal *in situ* de baixo grau.

**Descritores:** Proteínas inibidoras de apoptose; Carcinoma intraductal não infiltrante; Biomarcadores tumorais; Proteínas de neoplasias; Neoplasias da mama

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the expression of survivin protein in low- and high-grade ductal carcinoma *in situ*. **Methods:** Breast tissue fragments obtained by incisional biopsy and surgical procedures of 37 women with ductal carcinoma *in situ* of the breast were subdivided into two groups: Group A, composed of women with low-grade ductal carcinoma *in situ*, and Group B, women with high-grade ductal carcinoma *in situ*. Survivin protein expression test was performed by immunohistochemistry, using a monoclonal antibody clone I2C4. The criterion to evaluate survivin immunoreexpression was based on the percentage of neoplastic cells that presented brown-gold staining. This criterion was positive when the percentage of stained cells was  $\geq 10\%$ . **Results:** The survivin protein was expressed in 22 out of 24 cases of high-grade ductal carcinoma *in situ* (78%), whereas, in Group A, of low-grade ductal carcinoma *in situ* ( $n=13$ ), it was positive in only 6 cases (21.40%;  $p=0.004$ ). **Conclusion:** The frequency of expression of survivin was significantly higher in the group of patients with high-grade ductal carcinoma *in situ* compared to those in the low-grade ductal carcinoma *in situ* group.

**Keywords:** Inhibitor of apoptosis proteins; Carcinoma, intraductal, noninfiltrating; Biomarkers, tumor; Neoplasm proteins; Breast neoplasms

### Como citar este artigo:

Chade MC, Piato S, Galvão MA, Aldrighi JM, Negrini R, Mateus EF, et al. Expressão da proteína survivina em carcinoma ductal *in situ* de mama de alto e de baixo grau. *einstein* (São Paulo). 2018;16(1):eAO4065.

### Autor correspondente:

Milca Cezar Chade  
Rua Dr. Cesário Motta Júnior, 61  
3º andar – Vila Buarque  
CEP: 01221-020 – São Paulo, SP, Brasil  
Tel.: (11) 3367-7870  
E-mail: milcacmc@gmail.com

### Data de submissão:

25/4/2017

### Data de aceite:

22/8/2017

### Conflitos de interesse:

não há.

### Copyright 2018



Esta obra está licenciada sob  
uma Licença *Creative Commons*  
Atribuição 4.0 Internacional.

## I INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o segundo tipo de câncer mais frequente entre as mulheres.<sup>(1)</sup> A cada ano, cerca de 22% dos novos casos de câncer diagnosticados em mulheres são de mama. A incidência para câncer de mama nos Estados Unidos em 2016 foi de 231.840 casos, sendo que 60.290 (21,7%) foram diagnosticados como carcinoma ductal *in situ* (CDIS).<sup>(2)</sup> Em algumas séries de neoplasias não palpáveis, detectadas por meio de mamografia em programas de rastreamento, até 45% dos casos correspondem a CDIS.<sup>(3-5)</sup>

Interessante notar que, quando não tratados, os CDIS apresentam índices de risco entre 30 e 50% de progredir para carcinoma invasivo em 10 anos.<sup>(6,7)</sup> Todavia, ainda não se encontram perfeitamente elucidadas quais formas de lesão de CDIS progridem para doença invasiva ou evoluem de maneira indolente.

A melhor caracterização molecular e histopatológica do CDIS pode trazer informações adicionais para avaliação do prognóstico da doença, possibilitando a personalização da terapêutica adequada para cada paciente. Avanços nos estudos moleculares para a avaliação de risco e progressão das doenças pré-malignas têm ocorrido, porém, na prática clínica, eles ainda são modestos.<sup>(6-8)</sup>

Existem evidências de que a referida atividade apresenta-se significativamente mais acentuada em lesões CDIS do que em carcinoma invasivo.<sup>(9)</sup> Ao comparar CDIS, os de baixo grau exibem maior taxa de apoptose celular que os de alto grau.<sup>(9)</sup>

Tendo em vista que a proteína survivina possui importante atividade antiapoptótica, alguns pesquisadores vêm realizando estudos com o propósito de correlacionar sua expressão com a agressividade do câncer de mama.<sup>(10-15)</sup>

A atuação antiapoptótica da survivina pode se dar por meio de inibição direta das caspases efetoras 3 e 7, e da caspase iniciadora 9, as quais desempenham papel relevante no mecanismo da morte celular programada.<sup>(16)</sup> Outra forma de atuação antiapoptótica da survivina consiste na antagonização da atividade do segundo ativador mitocondrial de caspase/proteína de ligação (IAP - *inhibitor of apoptosis protein*) direta com baixo pI (Smac/DIABLO - *second mitochondria-derived activator of caspase/direct inhibitor of apoptosis-binding protein with low pI*). A proteína Smac/DIABLO, que é liberada da mitocôndria, liga e remove as IAP, proteínas inibidoras da apoptose de suas ligações inibitórias com as caspases, promovendo a apoptose. Desta forma, a survivina, ao inibir a ativação das caspases, aumentaria a sobrevivência celular, tanto de forma direta e/ou pela via Smac/DIABLO.<sup>(16)</sup>

Em relação à expressão da proteína survivina nas células neoplásicas, Youssef et al.,<sup>(17)</sup> observaram correlação inversa com o tamanho do tumor primário; além disso, a expressão dos receptores de estrógenos e de progesterona é diretamente proporcional ao tamanho da neoplasia e à expressão da survivina. Outros ensaios clínicos demonstraram, igualmente, que a survivina associa-se a prognóstico desfavorável e a menores taxas de sobrevivência livre de doença.<sup>(15,18)</sup>

Alguns estudos retrospectivos sobre câncer de mama mostraram que a proteína survivina constitui-se em importante marcador de agressividade e de prognóstico desfavorável, com consequente diminuição da sobrevivência global.<sup>(19,20)</sup> Os estudos de *microarray* de RNA mensageiro (RNAm) são consistentes com estes resultados, inclusive identificando a survivina como fator de risco associado ao câncer de mama.<sup>(21,22)</sup>

Em estudo sobre a correlação entre a expressão da survivina e o prognóstico, que envolveu 167 mulheres acometidas por câncer de mama nos estádios I, II e III, Tanaka et al.,<sup>(23)</sup> constataram que esta proteína mostrou-se expressa em 70% (118) dos tumores. Eles verificaram que a expressão da survivina foi o fator prognóstico mais consistente quando comparado com outras características prognósticas clinicopatológicas, incluindo tamanho do tumor, estágio clínico, comprometimento linfático, receptores hormonais e tipo histológico.

Em investigação publicada em 2007, Yamashita et al.,<sup>(10)</sup> relataram que a survivina é indicador de risco de recorrência do câncer de mama em estágio inicial. Okumura et al.,<sup>(24)</sup> publicaram, no ano seguinte, os resultados de estudo da expressão da proteína survivina, que envolveu 52 casos de CDIS puro e 28 casos de CDIS com áreas focais microinvasivas (CDIS-Mi), constatando que a expressão desta proteína foi significativamente mais elevada nos casos de CDIS-Mi do que naqueles com amostra de CDIS apenas.

Estudo realizado em nosso meio, para comparar a imunexpressão da proteína survivina em espécimes de carcinoma de mama triplo-negativo que, comumente, apresenta agressividade acentuada, com aquela de espécimes do tipo luminal A, cuja agressividade é reconhecidamente baixa, constatou expressão significativamente mais elevada nos espécimes com carcinoma triplo-negativo.<sup>(25)</sup>

## I OBJETIVO

Avaliar a expressão da proteína survivina nos carcinomas ductais *in situ* de mama de baixo e de alto grau.

## MÉTODOS

Para a realização deste estudo foram selecionados 37 fragmentos de peças cirúrgicas ou de materiais de biópsias provenientes de pacientes acometidas por CDIS de mama. Todas as pacientes foram assistidas no Setor de Mastologia do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia, entre 2014 e 2016. Foram selecionadas amostras com apenas CDIS de alto ou de baixo grau, sem lesões invasivas associadas e sem tratamento prévio.

O estudo teve prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do referido hospital, de acordo com preceitos éticos, com a Resolução 466/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde e com normas internas adicionais, número do protocolo 1674151, CAAE: 57764416.4.0000.5479.

Consoante os resultados dos exames histopatológicos, realizados no Departamento da Patologia, os espécimes foram estratificados nos Grupos A e B. No Grupo A, foram incluídos 13 casos de CDIS de baixo grau e, no Grupo B, foram verificados 24 casos de CDIS de alto grau.

Para a seleção dos espécimes de ambos os grupos, foram adotados os seguintes critérios de exclusão: associação de neoplasia com gravidez e lactação; uso prévio de quimioterapia ou hormonioterapia; realização prévia de radioterapia; e material não apropriado.

Para confirmar o diagnóstico das duas formas de CDIS, foi realizada a revisão dos exames histológicos, pelo mesmo examinador. Os CDIS de grau intermediário também foram excluídos.

Inicialmente cada um dos fragmentos foi conservado em bloco de parafina. De cada bloco, obteve-se um corte histológico com espessura de  $4\mu\text{m}$ , utilizando-se micrótomo rotativo. Os cortes foram corados pelo método da hematoxilina e eosina (HE), e a leitura deles foi feita com emprego de microscopia óptica comum de luz. A caracterização dos tipos histológicos ductal *in situ* de alto e de baixo grau foi realizada de acordo com o preconizado pela Sociedade Brasileira de Patologia.

A análise da expressão da proteína survivina foi realizada por meio de imunohistoquímica, em cortes de  $4\mu\text{m}$  de espessura, utilizando-se anticorpo monoclonal liofilizado de camundongo anti-humano, clone I2C4, classe de imunoglobulina-isótipo IgG2a Kappa. Cada um desses kits continha 1mL e foi diluído a 1/50. Apresentava pH de 6,0, sua recuperação foi por microndas e com tempo de incubação de 15 minutos.

A imunexpressão da survivina pelas células epiteliais do CDIS de mama ocorre tanto nos núcleos como no citoplasma, como pode ser visto na figura 1.

Por recomendação do fabricante, para a avaliação da imunexpressão da proteína survivina, utilizaram-se, como controle positivo, amostras de fragmentos teciduais de próstata, nas quais a coloração castanho-dourada é

observada de forma intensa no citoplasma e no núcleo das células. Na figura 2A, observa-se corte histológico de tumor de próstata com controle negativo e, na figura 2B, verifica-se controle positivo.

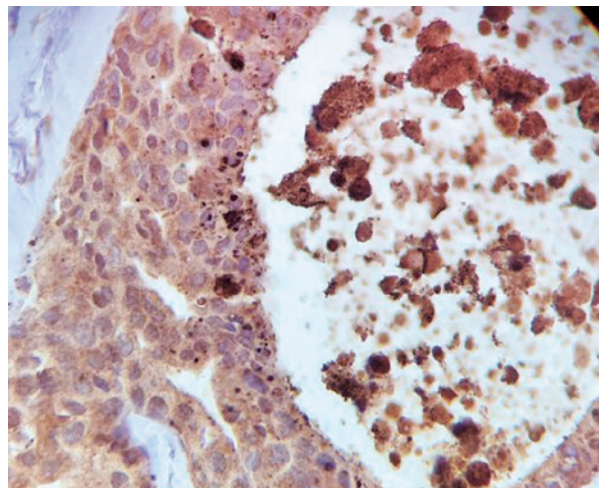


Figura 1. Núcleos e citoplasmas de células de carcinoma ductal *in situ* de mama marcados em castanho-dourado pelo anticorpo antissurvivina (400x).

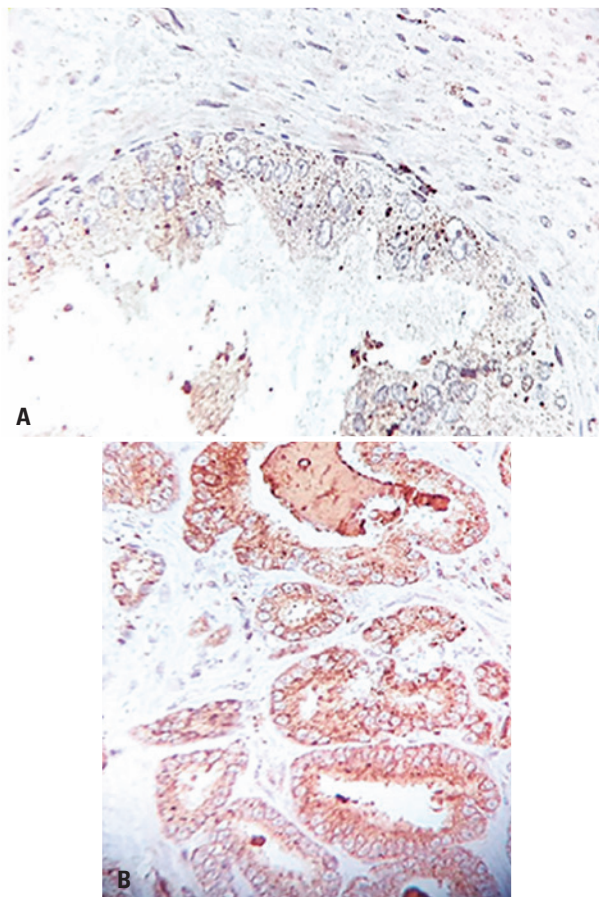


Figura 2. (A) Amostra de tumor de próstata considerado como controle negativo para reação antissurvivina (400x). (B) Amostra de tumor de próstata considerado como controle positivo para reação antissurvivina (400x)

A avaliação das reações imuno-histoquímicas foi realizada com auxílio de microscópio Nikon Eclipse E 400 de duas cabeças, por dois avaliadores independentes.

O critério de avaliação da expressão da proteína survivina baseou-se na porcentagem de células neoplásicas que apresentavam coloração castanho-dourada, tanto no núcleo ou no citoplasma. Considerou-se tal critério positivo quando a porcentagem de células presentes na amostra, que apresentava esta coloração, fosse  $\geq 10\%$ .<sup>(25)</sup>

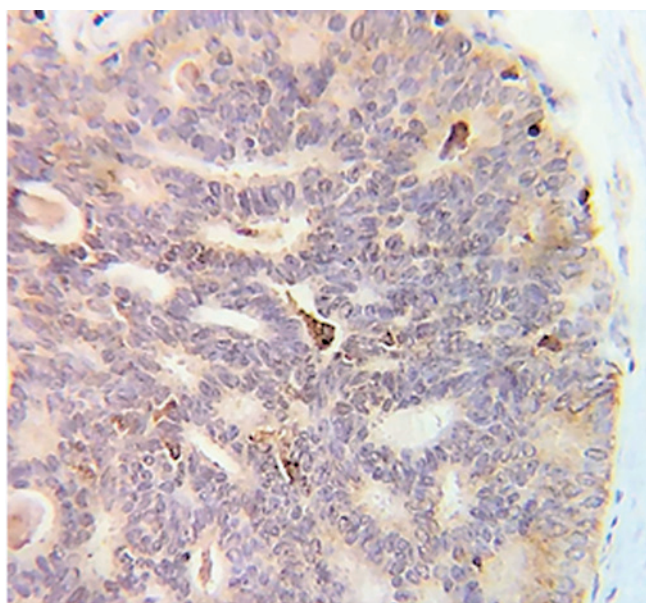
A fim de estratificar ainda mais o grau da positividade e negatividade das amostras marcadas pelo anticorpo antissurvivina, elas foram subdivididas da seguinte forma de classificação (Tabela 1).

Verificou-se que, em todas as lâminas consideradas positivas, os núcleos e os citoplasmas apresentaram-se igualmente positivos.

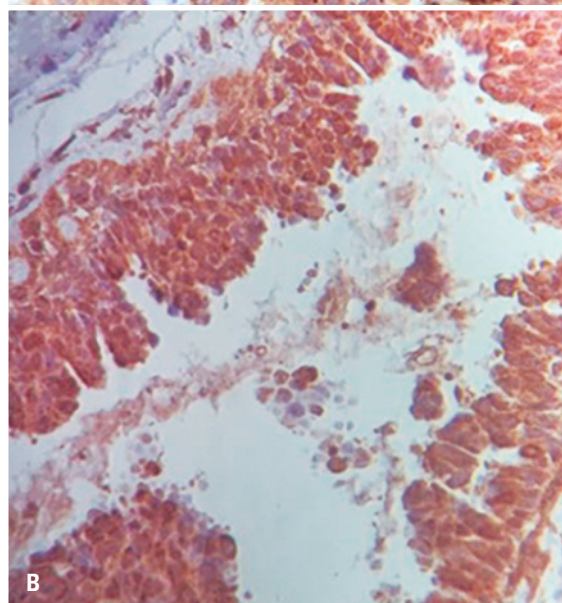
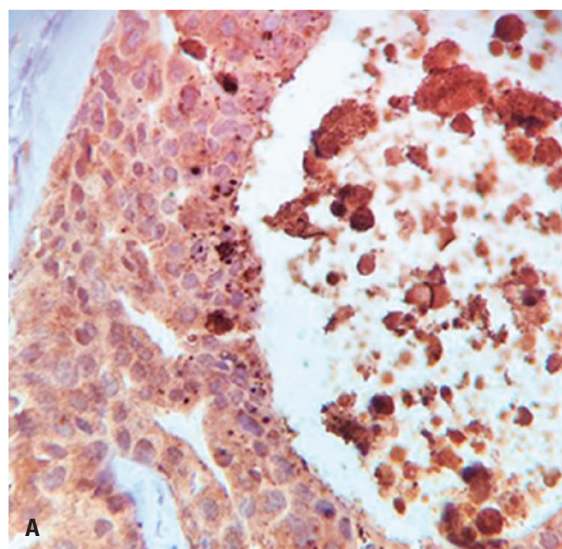
Na figura 3, está representado corte histológico de amostra de tecido de CDIS considerado negativo para reação antissurvivina e, na figura 4, é exposto corte histológico de tecido pré-maligno considerado positivo.

**Tabela 1.** Estratificação do grau de positividade e negatividade das amostras marcadas pela survivina

Survivina	
Negativo – 0	Positivo – 2
0 e 1 se $\leq 10\%$	2 e 3 se $> 10\%$



**Figura 3.** Amostra de carcinoma ductal *in situ* considerada negativa para reação antissurvivina (400x)



**Figura 4.** (A) Amostra de carcinoma ductal *in situ* de alto grau (com comedonecrose) considerada positiva para reação antissurvivina. (B) Amostra de carcinoma ductal *in situ* de alto grau considerada positiva para reação antissurvivina (400x)

### Análise estatística

Para a associação entre a variável survivina e os Grupos A e B, foi aplicado o teste exato de Fisher. Adotou-se o nível de significância de 5% (0,050) para a aplicação do teste estatístico. Quando o valor da significância calculada (p) for menor do que 5% (0,050) fica caracterizada diferença (ou relação) estatisticamente significativa. Quando o valor da significância calculada (p)  $\geq 5\%$  (0,050), a diferença (ou relação) é estatisticamente não significativa.

Foi utilizado também o teste da razão de verossimilhança para avaliar a estratificação dos dados.

Usamos a planilha eletrônica MS-Excel, em sua versão do MS-Office 2013, para a organização dos dados, e o pacote estatístico IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), em sua versão 23.0, para a obtenção dos resultados.

## RESULTADOS

A proteína survivina apresentou-se positiva em 22 dos 24 casos de CDIS de alto grau (78,6%), enquanto no grupo de 13 casos de CDIS de baixo grau, apresentou-se positiva em 6 (21,4%). Em 77,8% dos casos em que a survivina foi considerada negativa, verificou-se que se tratava de CDIS de baixo grau (Tabela 2).

A análise estatística evidenciou que a expressão da survivina foi significativamente mais elevada nos CDIS de alto grau, quando comparada nos de baixo grau ( $p=0,004$ ).

Na comparação entre positividade e negatividade da survivina, subdividida em zero, 1, 2 e 3, nos Grupos A e B, foi aplicado o teste da razão de verossimilhança, com o propósito de verificar possível diferença entre as quatro categorias da variável survivina, para a variável classificação do grau nuclear.

O resultado exposto na tabela 3 evidencia que a expressão da survivina foi significativamente mais elevada no CDIS de alto grau, quando comparada com CDIS de baixo grau, ao se estratificar seu grau de positividade ( $p=0,001$ ). Dentre os negativos, aqueles classificados como zero apresentam-se como de baixo grau em 100% das vezes; aqueles com classificação 1, com 60%. Os de alto grau, na classificação 3, apresentaram-se fortemente positivos em 84% dos casos.

**Tabela 2.** Comparação da positividade e da negatividade da survivina nos grupos carcinoma ductal *in situ* de alto e baixo grau

Survivina (positiva-negativa)	Classificação do grau nuclear n (%)	
	Baixo	Alto
Positiva	6 (21,40)	22 (78,60)
Negativa	7 (77,80)	2 (22,20)

Teste exato de Fisher:  $p=0,004$ .

**Tabela 3.** Comparação entre a positividade e negatividade da survivina, subdividida em zero, 1, 2 e 3 com os grupos com carcinoma ductal *in situ* de alto e de baixo grau

Survivina	Classificação do grau nuclear n (%)	
	Baixo	Alto
0 negativo	4 (100)	0
1 negativo	3 (60,00)	2 (40,00)
2 positivo	2 (66,70)	1 (33,30)
3 positivo	4 (16,00)	21 (84,00)

Teste exato de Fisher:  $p=0,001$ .

## DISCUSSÃO

As propostas sobre os procedimentos utilizados no tratamento do CDIS de mama são variáveis, desde aquelas consideradas insuficientes até as excessivas. Para se chegar a um consenso quanto às formas adequadas de tratamento dos CDIS, em suas variedades de baixo e alto grau, numerosos estudos relacionados com fatores preditivos têm sido desenvolvidos.

Os fatores prognósticos clássicos de CDIS de mama não predizem com acurácia a recorrência local da doença. A descoberta de biomarcadores moleculares tem desempenhado papel importante no prognóstico e nas decisões terapêuticas, incluindo tratamento conservador, mastectomia, radioterapia e hormonoterapia. Porém a percepção que persiste é a de que a utilização destes biomarcadores não tem sido suficiente para estabelecer o manejo ideal em relação ao CDIS.

Por tal motivo, foi proposta, recentemente, nova estratégia preditiva, que consiste em escore de recorrência e prognóstico para CDIS, modificado do Oncotype Dx (Genomic Health, Redwood City, CA, EUA). Certamente, esta proposta proporciona avanços que conduzem à seleção ainda melhor das pacientes, principalmente para terapias adjuvantes, podendo chegar à individualização da conduta terapêutica.<sup>(26)</sup>

Estudo de Davis et al.,<sup>(27)</sup> analisou um painel de biomarcadores (receptor de estrógeno, HER-2, Ki67, p53, ciclina D1, COX-2, caveolina-1, survivina e PPAR-g) e de fatores clínico e histológico dos CDIS, para determinar associações com a recorrência da doença. As variáveis analisadas no estudo realizado com 70 pacientes foram idade, tamanho do tumor, margem, grau das neoplasias *in situ*, presença de necrose e tipo histológico.

Levando em consideração os vários estudos que evidenciam o papel da survivina em carcinomas de diferentes órgãos, incluindo-se o de mama,<sup>(8,23)</sup> quanto à carcinogênese e, particularmente, quanto ao prognóstico e à sobrevida, os proponentes do referido escore incluíram, em seu algoritmo, o gene desta proteína, entre outros relacionados às neoplasias.

Apesar das evidências do relevante papel desempenhado pela survivina na carcinogênese mamária, e do reconhecimento de vários estudos de que ela constitui efetivo marcador de prognóstico e de sobrevida livre da doença, ainda se observa escassez de investigações envolvendo esta proteína. Esta escassez é particularmente notada em relação à lesão precursora do carcinoma invasivo de mama, que é o CDIS. Tal aspecto entendemos que tem grande relevância, no que se relaciona com a proteína survivina, e que consiste na possibilidade de se empregar terapia alvo baseada em sua ação inibitória.

Em estudo publicado em 2012, que envolveu indivíduos acometidos por leucemia linfoblástica, Tyner et al.,<sup>(28)</sup> constataram que o composto *sepantronium bromide* (YM-155) apresentou capacidade para inibir a ação da survivina, reduzindo a atividade dos linfoblastos. Kumar et al.,<sup>(29)</sup> verificaram que o YM-155 reverteu a resistência à cisplatina em pacientes acometidos por carcinoma de cabeça e pescoço, trazendo maior efetividade da quimioterapia. Em estudo prospectivo de pacientes afetados por mieloma múltiplo, de Haart et al.,<sup>(30)</sup> constataram remissão prolongada da doença com o uso do YM-155.

## CONCLUSÃO

A imunexpressão da proteína survivina foi significativamente mais elevada nas células epiteliais do carcinoma ductal *in situ* de mama de alto grau, quando comparada com os de baixo grau. Houve correlação significativa entre a imunexpressão da proteína survivina e a distinção entre os carcinomas ductais *in situ* de baixo e alto grau. Acreditamos que os resultados do presente estudo, ainda que realizado com amostra relativamente pouco numerosa, contribuem com o exaustivo esforço para se estabelecerem ferramentas adicionais, que melhorem a objetividade na distinção entre os graus de carcinomas ductais *in situ*, corroborando, desta forma, um melhor manejo terapêutico do carcinoma *in situ* de mama.

## REFERÊNCIAS

- Frasson AL, Garcia GN, Millen E, Zerwes FP, Brenelli F, Urban C, et al. Carcinoma Ductal *in situ*. In: Millen E, Frasson A, Novita G, editor. Doenças da Mama. Guia de bolso baseado em evidências. São Paulo: Atheneu; 2013. p. 151-6.
- Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2016: Incidência de Câncer no Brasil [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2016 [citado 2017 Ago 18]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016>
- Collins LC, Laronga C, Wong JS. Breast ductal carcinoma *in situ*: Epidemiology, clinical manifestations, and diagnosis [Internet]. UpToDate; 2017 [cited 2017 Aug 17]. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/breast-ductal-carcinoma-in-situ-epidemiology-clinical-manifestations-and-diagnosis?search=breast-ductalcarcinoma-in-situ-epidemiology-clinical-manifestations-and-ampsource=search\\_result&selectedTitle=1~150&usag e\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/breast-ductal-carcinoma-in-situ-epidemiology-clinical-manifestations-and-diagnosis?search=breast-ductalcarcinoma-in-situ-epidemiology-clinical-manifestations-and-ampsource=search_result&selectedTitle=1~150&usag e_type=default&display_rank=1)
- Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol*. 2011;22(8):1736-47.
- Collins LC, Laronga C, Wong JS. Ductal carcinoma *in situ*: treatment and prognosis [Internet]. UpToDate; 2018 [cited 2017 Aug 17]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/ductal-carcinoma-in-situ-treatment-and-prognosis>
- Mardekian SK, Bombonati A, Palazzo JP. Ductal carcinoma *in situ* of the breast: the importance of morphologic and molecular interactions. *Hum Pathol*. 2016;49:114-23. Review.
- Siziopikou KP. Ductal carcinoma *in situ* of the breast: current concepts and future directions. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(4):462-6. Review.
- Kawasaki H, Altieri DC, Lu CD, Toyoda M, Tenjo T, Tanigawa N. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998;58(22):5071-4.
- Okada H, Mak TW. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumor cells. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(8):592-603. Review.
- Yamashita S, Masuda Y, Kurizaki T, Haga Y, Murayama T, Ikei S, et al. Survivin expression predicts early recurrence in early-stage breast cancer. *Anticancer Res*. 2007;27(4C):2803-8.
- Hinnis AR, Luckett JC, Walker RA. Survivin is an independent predictor of short-term survival in poor prognostic breast cancer patients. *Br J Cancer*. 2007;96(4):639-45.
- Athanassiadou AM, Patsouris E, Tsiplis A, Gonidi M, Athanassiadou P. The significance of survivin and nectin-4 expression in the prognosis of breast carcinoma. *Folia Histochem Cytobiol*. 2011;49(1):26-33.
- Ambrosini G, Adida C, Sirugo G, Altieri DC. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene targeting. *J Biol Chem*. 1998;273(18):11177-82.
- Altieri DC. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. *Oncogene*. 2003;22(53):8581-9. Review.
- Coumar MS, Tsai FY, Kanwar JR, Sarvagalla S, Cheung CH. Treat cancers by targeting survivin: just a dream or future reality? *Cancer Treat Rev*. 2013;39(7):802-1. Review.
- Li F, Brattain MG. Role of the Survivin gene in pathophysiology. *Am J Pathol*. 2006;169(1):1-11. Review.
- Youssef NS, Hewedi LH, Abd Raboh NM. Immunohistochemical expression of survivin in breast carcinoma: relationship with clinicopathological parameters, proliferation and molecular classification. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2008;20(4):348-57.
- Son BH, Choi JS, Lee JH. Prognostic values of KAI1 and survivin expression in an infiltrating ductal carcinoma of the breast. *Pathology*. 2005;37(2):131-6. Erratum in: *Pathology*. 2005;37(4):331.
- Martins AN. Resposta clínica do carcinoma ductal de mama localmente avançado à quimioterapia neoadjuvante com antracíclicos, consoante a expressão da proteína survivina nas células do tumor [tese]. São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2010.
- Rexhepaj E, Jirstrom K, O'Connor DP, O'Brien SL, Landberg G, Duffy MJ, et al. Validation of cytoplasmic-to-nuclear ratio of survivin as an indicator of improved prognosis in breast cancer. *BMC Cancer*. 2010;10(1):639.
- Lee CW, Simin K, Liu Q, Plescia J, Guha M, Khan A, et al. A functional notch-survivin gene signature in basal breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2008;10(6):R97.
- Yamanaka K, Nakata M, Kaneko N, Fushiki H, Kita A, Nakahara T, et al. YM155, a selective survivin suppressant, inhibits tumor spread and prolongs survival in a spontaneous metastatic model of human triple negative breast cancer. *Int J Oncol*. 2011;39(3):569-75.
- Tanaka K, Iwamoto S, Gon, G, Nohara T, Iwamoto M, Tanigawa N. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2000;6(1):127-34.
- Okumura Y, Yamamoto Y, Zhang Z, Toyama T, Kawasoe T, Ibusuki M, et al. Identification of biomarkers in ductal carcinoma *in situ* of the breast with microinvasion. *BMC Cancer*. 2008;8:287.
- Martins AN. Expressão da proteína survivina nos subtipos triplo negativo e luminal A do carcinoma do tipo não especial de mama [tese]. São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2014.
- Solin LJ, Gray R, Baehner FL, Butler SM, Hughes LL, Yoshizawa C, et al. A multigene expression assay to predict local recurrence risk for ductal carcinoma *in situ* of the breast. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105(10):701-10.
- Davis JE, Nemesure B, Mehmood S, Nayi V, Burke S, Brzostek SR, et al. Her2 and Ki67 biomarkers predict recurrence of ductal carcinoma *in situ*. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016;24(1):20-5.
- Tyner JW, Jemal AM, Thayer M, Druker BJ, Chang BH. Targeting survivin and p53 in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2012;26(4):623-32.
- Kumar B, Yadav A, Lang JC, Cipolla MJ, Schmitt AC, Arradaza N, et al. YM155 reverses cisplatin resistance in head and neck cancer by decreasing cytoplasmic survivin levels. *Molec Cancer Ther*. 2012;11(9):1988-98.
- de Haart SJ, van de Donk NW, Minnema MC, Huang JH, Aarts-Riemsens T, Bovenschen N, et al. Accessory cells of the microenvironment protect multiple myeloma from T-cell cytotoxicity through cell adhesion-mediated immune resistance. *Clin Cancer Res*. 2013;19(20):5591-601.