

## ESTUDIO DE LOS NIVELES BASALES DE SURVIVINA Y OTROS MARCADORES PARA LA PREDICCIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA PLEURODESIS CON TALCO EN DERRAMES PLEURALES MALIGNOS

E. Arellano Orden<sup>1,2</sup>, B. Romero Romero<sup>1</sup>, V. Sánchez López<sup>1,2</sup>, J. Martín Juan<sup>1</sup>, F. Rodríguez Panadero<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

<sup>2</sup>CIBER de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.

Estudio financiado por Beca Fundación Neumosur 13/2013.

**Resumen:** la survivina se encuentra sobre-expresada en tumores, y podría ser un buen biomarcador diagnóstico y pronóstico en derrames pleurales malignos.

**Objetivo:** estudiar la concentración de survivina en pacientes con derrame pleural maligno sometidos a pleurodesis con talco, relacionarla con el resultado de ésta y comparar sus resultados con otros marcadores como pH, glucosa y LDH en líquido pleural.

**Métodos:** se han incluido 84 pacientes con derrame pleural maligno (32 con cáncer de mama, 25 de pulmón y 27 mesoteliomas) sometidos a toracoscopia y pleurodesis con talco. Se recogieron muestras de líquido pleural antes (basal) y 24 horas después de la pleurodesis, y en ellas se midieron los niveles de survivina, pH, glucosa y LDH. También se estudió la carga tumoral en la pleura y la re-expansión del pulmón tras la toracoscopia y pleurodesis.

**Resultados:** la presencia de niveles basales de survivina >30 pg/mL se asoció a alto índice de fracaso de la pleurodesis ( $p = 0,002$ ), y superó en poder predictivo a pH ( $p = 0,004$ ), glucosa ( $p = 0,005$ ) y LDH ( $p = 0,013$ ).

**Conclusión:** la survivina juega un poderoso papel como marcador pronóstico en derrames pleurales malignos, y se suma a otros marcadores clásicos como pH, glucosa y LDH, que están asociados a la agresividad tumoral.

**Palabras clave:** derrame pleural maligno, talco, pleurodesis, survivina.

STUDY ON THE BASELINE LEVELS OF SURVIVIN AND OTHER MARKERS TO PREDICT THE RESULTS OF PLEURODESIS WITH TALC IN MALIGNANT PLEURAL EFFUSIONS

**Abstract:** Survivin is found to be overexpressed in tumors and could be a good diagnostic and prognostic biomarker in malignant pleural effusions.

**Objective:** To study the concentration of survivin in patients with a malignant pleural effusion who undergo pleurodesis with talc, associate it with the result of the procedure and compare the results with other markers like pH, glucose and LDH in pleural liquid.

**Methods:** 84 patients with malignant pleural effusion (32 with breast cancer, 25 lung cancer and 27 mesotheliomas) who underwent thoracoscopy and pleurodesis with talc were included in the study. Pleural liquid samples were taken before (baseline) and 24 hours after the pleurodesis, measuring the levels of survivin, pH, glucose and LDH. The tumor burden in the pleura and the re-expansion of the lung after thoracoscopy and pleurodesis were also studied.

**Results:** The presence of baseline levels of survivin >30 pg/mL was associated with a high rate of pleurodesis failure ( $p = 0.002$ ) and surpassed the predictive power of pH ( $p = 0.004$ ), glucose ( $p = 0.005$ ) and LDH ( $p = 0.013$ ).

**Conclusion:** Survivin plays a powerful role as a prognostic marker in malignant pleural effusions and joins other classic markers like pH, glucose and LDH, which are associated with tumor aggression.

**Keywords:** malignant pleural effusion, talc, pleurodesis, survivin.

Recibido: 29.08.2019. Aceptado 21.10.2019

Dra. Elena Arellano Orden.

[elena\\_arellano8@hotmail.com](mailto:elena_arellano8@hotmail.com)

## INTRODUCCIÓN

La presencia de derrame pleural maligno (DPM) implica la existencia de una enfermedad neoplásica avanzada en la que el tratamiento curativo no es posible, y la terapia se orienta a paliar los síntomas (disnea) provocados por el derrame pleural mediante la introducción en la cavidad pleural de un agente esclerosante para inducir la sínfisis entre la pleura visceral y la parietal (pleurodesis), o mediante la implantación de un catéter intrapleural que permita la evacuación del líquido cuando sea necesario<sup>1-3</sup>. El estudio de varios marcadores nos podría ayudar a predecir *a priori* el fallo de la pleurodesis, y a elegir alternativamente la implantación de un catéter en esos casos<sup>1</sup>.

Para conseguir una sínfisis pleural completa se requiere la aposición de ambas hojas pleurales (visceral y parietal) tras una adecuada reexpansión pulmonar (factor mecánico), pero en el éxito de la pleurodesis están implicados otros factores biológicos, entre los que se encuentran la inflamación y otros no bien identificados, en los que se incluye la carga tumoral en el espacio pleural<sup>2</sup>.

El talco es uno de los agentes sinfisantes más comunes y eficaces<sup>3, 4</sup>, y algunos estudios han demostrado que puede inhibir la angiogénesis relacionada con la progresión tumoral<sup>5</sup>, y también inducir apoptosis tras su aplicación intrapleural<sup>6,7</sup>.

La apoptosis es un mecanismo clave para mantener la población celular en los tejidos, y su desregulación está implicada en la transformación de las células normales a malignas<sup>8, 9</sup>. Existen proteínas que inhiben la apoptosis (IAPs)<sup>10,11</sup>, y entre ellas se encuentra la survivina, que se sobreexpresa en tumores<sup>12</sup> y podría ser un potencial biomarcador<sup>13</sup>.

Junto a otros biomarcadores conocidos (pH, glucosa, LDH, *LENT score*) en el presente estudio hemos investigado los niveles de survivina en el líquido pleural de pacientes con DPM antes y después de la realización de toracoscopia, y se han relacionado con el resultado de la pleurodesis con talco.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Población:** en este estudio se han incluido 84 pacientes con DPM sometidos a pleurodesis con talco mediante toracoscopia, desde Enero 1993 hasta Mayo 2008, siguiendo un procedimiento descrito previamente en detalle<sup>14</sup>. La confirmación de neoplasia pleural mediante biopsia y la realización de pleurodesis fueron criterios de inclusión imprescindibles. Este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de nuestra institución, y todos los

pacientes incluidos firmaron el correspondiente consentimiento informado.

**Datos clínicos:** de cada paciente se recogieron los datos demográficos y el resultado de la pleurodesis, definido según el Consenso de la *European Respiratory Society/American Thoracic Society*<sup>15</sup>. Todos los pacientes fueron seguidos hasta el exitus o -en algún caso excepcional con cáncer de mama y muy buena respuesta a pleurodesis y quimioterapia- hasta 22 años después de la toracoscopia. La pleurodesis se consideró como fallida si el derrame pleural recidivó en algún momento durante el seguimiento de los pacientes.

La reexpansión pulmonar se evaluó (sin conocimiento del resultado de la pleurodesis por los evaluadores) mediante radiografías seriadas en los tres primeros días tras la toracoscopia, y se calificó como completa, parcial o fallida. La determinación de la carga tumoral en el espacio pleural se realizó durante la exploración toracoscópica, siguiendo una escala previamente publicada por nuestro grupo<sup>16</sup>. Se consideró que la pleura visceral tenía alta carga tumoral cuando presentaba lesiones tumorales difusas en su superficie (escala => 2 sobre un máximo de 3)

Para la determinación del *LENT score* se incluyeron los valores de LDH (*L*), el índice ECOG de calidad de vida (*E*), el cociente neutrófilos/linfocitos en el líquido pleural (*N*), y el tipo de tumor (*T*)<sup>4</sup>.

**Cuantificación de los niveles de survivina en líquido pleural:** se obtuvieron muestras de líquido pleural en todos los pacientes antes (basal) y 24 horas después de la toracoscopia-pleurodesis. Las muestras se centrifugaron y los sobrenadantes se congelaron hasta su análisis. Los niveles de survivina se determinaron mediante ELISA (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), según las instrucciones del fabricante, y los restantes marcadores se determinaron siguiendo los protocolos de laboratorio habituales.

**Análisis estadístico:** las variables clínicas son expresadas como medias y desviaciones típicas o frecuencias absolutas y relativas, según lo apropiado. Las comparaciones entre dos grupos de variables continuas se hicieron mediante la prueba *t* de Student o la U de Mann-Whitney (dependiendo de las características de la muestra). Para comparaciones entre varios grupos se realizó análisis de varianza (ANOVA), precedido por la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas. Cuando el test de homogeneidad de varianzas falló se usó el test de Kruskal-Wallis para variables continuas y  $\chi^2$  para variables categóricas.

Las correlaciones entre variables continuas se hicieron mediante coeficiente  $r$  de Pearson o Rho de Spearman, dependiendo del tipo de distribución de la muestra. El análisis estadístico se hizo mediante el paquete estadístico SPSS versión 20.0 (SPSS, IBM Corporation, Somers, NY, USA).

## RESULTADOS

*Pacientes:* las características generales de los 84 pacientes con DPM incluidos en el estudio se resumen en la Tabla 1. De ellos, 32 tenían cáncer de mama, 25 de pulmón y 27 mesotelioma (20 epiteliales, 4 sarcomatosos y 3 mixtos)

*Niveles de survivina en líquido pleural:* los niveles de survivina fueron significativamente mayores en las muestras obtenidas 24 horas después de la pleurodesis con talco comparados con los basales (medidos en muestras tomadas mediante toracocentesis en el mismo día de la toracoscopia, previamente a su realización) (Tabla 1).

Los pacientes con cáncer de mama tenían concentraciones mayores de survivina basal que aquéllos con cáncer de pulmón o mesotelioma, aunque no encontramos diferencias significativas entre los distintos tipos de tumores.

*Pleurodesis y factores mecánicos:* la pleurodesis fue efectiva en el 62% de los casos en la serie global. Desglosando los resultados por tipos de tumor, fue completa sólo en 50% de los cánceres de pulmón, 72% en mama y 60% en mesoteliomas (Tabla 1) Si se consiguió reexpandir el pulmón totalmente, la pleurodesis fue completa en el 69% de esos casos, y sólo en el 29% de los casos en que no se logró la reexpansión pulmonar total ( $p = 0,008$ ) (Figura 1)

La carga tumoral global en la cavidad pleural, y en la pleura visceral en particular (observada durante la exploración toracoscópica), fue ligeramente superior en los pacientes con mesotelioma, pero sin diferencias significativas ( $p = 0,088$ ).

En presencia de alta carga tumoral en la pleura visceral, la pleurodesis fue eficaz sólo en 42% de los casos frente a 66% en los pacientes con menor carga tumoral ( $p < 0,034$ ) (Figura 2)

*Pleurodesis y factores biológicos:* los niveles de pH, glucosa y LDH en líquido pleural se han asociado clásicamente a una mayor agresividad tumoral, que a su vez se ha relacionado con mayor tasa de fracasos en la pleurodesis. En la Tabla 1 se presentan los niveles de estos marcadores en muestras *basales* de líquido pleural (tomadas inmediatamente antes de realizar la toracoscopia y pleurodesis con talco)

Mediante análisis de curvas ROC se determinaron los mejores puntos de corte para pH y glucosa (Figura 3) y para LDH y survivina basales

en el líquido pleural (Figura 4), y los mejores puntos de corte fueron 7,20 para pH, 60 mg/dL para glucosa, 1.000 U/L para LDH y 30 pg/mL para survivina basal. Usando esos puntos de corte, en las figuras 5 A-D se muestran las diferencias significativas observadas en relación con el éxito de la pleurodesis:

- *pH en muestras basales de líquido pleural:* se consiguió una pleurodesis completa en sólo 14% de los pacientes con  $pH \leq 7,20$ , frente a 59% en los casos con pH más alto ( $p = 0,004$ ) (Figura 5-A) La mediana del pH basal fue inferior en mesotelioma que en los demás casos (7,27 vs 7,34, respectivamente), aunque las diferencias no llegaron a ser significativas.

- *Glucosa en muestras basales de líquido pleural:* pleurodesis completa en sólo 30% de los pacientes con glucosa  $\leq 60$  mg/dL, frente a 66% de los casos que la tenían más elevada ( $p = 0,005$ ) (Figura 5 - B). La mediana de la glucosa basal fue inferior en los pacientes con mesotelioma, comparados con los restantes casos (60 mg/dL vs 79 mg/dL, respectivamente), aunque las diferencias no fueron significativas ( $p = 0,078$ )

- *LDH en muestras basales de líquido pleural:* Pleurodesis completa en sólo el 30% de los casos con  $LDH \geq 1000$  U/L, frente a 70% en los pacientes que la tenían más baja ( $p = 0,013$ ) (Figura 5 - C)

*Niveles de survivina en líquido pleural en relación con el resultado de la pleurodesis:*

los pacientes con niveles más altos de survivina basal presentaron peores resultados de la pleurodesis: 7 pg/mL de mediana en pleurodesis eficaz frente a 30 pg/mL en los casos fallidos ( $p = 0,001$ )

Se consiguió pleurodesis completa en el 33% de los pacientes que tenían la survivina basal por encima de 30 pg/mL, frente a 68,5% en aquéllos con valores más bajos ( $p = 0,002$ ) (figura 5 - D). Aunque los niveles de survivina basal y postalco fueron menores en mesotelioma que en los restantes casos, las diferencias no fueron significativas.

*Relación entre factores mecánicos y biológicos y su influencia sobre la pleurodesis:*

con el objetivo de investigar posibles asociaciones entre factores mecánicos (reexpansión pulmonar, carga tumoral) y biológicos (marcadores arriba reseñados) relacionados con la pleurodesis en nuestro estudio, en la Tabla 2 se muestran las correlaciones obtenidas. Es interesante destacar la marcada relación negativa entre la carga tumoral y los niveles de pH y glucosa en el líquido pleural ( $p$

< 0,001), y la correlación positiva entre los niveles de LDH y la carga tumoral en la pleura.

Los niveles de survivina basal y 24 horas tras la aplicación de talco presentaron una estrecha correlación negativa con el tiempo de seguimiento de los pacientes tras la pleurodesis ( $p < 0,001$  y  $p = 0,001$ , respectivamente), y con la supervivencia acumulada desde el comienzo de los síntomas pleurales. Por otro lado, el incremento de los niveles de survivina 24 horas tras la aplicación del talco respecto a los niveles basales (*ratio*) mostró

correlación positiva con la carga tumoral en la pleura visceral ( $p = 0,035$ ).

El *LENT score* se relacionó con el seguimiento de los pacientes a partir de la pleurodesis (Rho de Spearman = -0,310 ( $p = 0,019$ ), con los valores de LDH en líquido pleural (que están implícitos en el propio índice):  $r = 0,435$  ( $p = 0,001$ ), y con las proteínas totales en el líquido pleural (Rho de Spearman = -0,299 ( $p = 0,026$ ), pero no observamos ninguna correlación significativa con la carga tumoral ni con otros factores investigados en nuestro estudio.

	PULMON (n = 25)	MAMA (n = 32)	MESOTELIOMA (n = 27)	
EDAD (años) (media±SEM)	65 ± 2,6	58 ± 1,9	62 ± 1,9	N.S.
LENT SCORE (media±SEM)	3,6 ± 0,2	2,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	P < 0,001
Survivina basal (media±SEM) (pg/mL) (mediana, rango)	41 ± 14 7,3 (1 – 233)	107 ± 69 15,6 (1 – 2226)	23 ± 5 13,8 (1 – 90)	N.S.
Survivina 24 hrs Post-talco (pg/mL) (media±SEM) (mediana, rango)	117 ± 19 109 (1 – 316)	208 ± 65 97 (1 – 1984)	144 ± 38 51 (0,11 – 271)	N.S.
CARGA TUMORAL EN PLEURA (0-9) (media±SEM)	5,6 ± 0,3	5,4 ± 0,3	6,1 ± 0,3	N.S.
CARGA TUMORAL EN PL. VISCERAL (0-3) (media±SEM)	1,9 ± 0,12	1,6 ± 0,14	1,8 ± 0,12	N.S.
pH en L. pleural (media±SEM)	7,30 ± 0,02	7,31 ± 0,02	7,27 ± 0,02	N.S.
Glucosa en L. pleural (mg/dL) (media±SEM)	79 ± 12	72 ± 5	57 ± 8	N.S.
LDH en L. pleural (U/L) (media±SEM)	1463 ± 446	1054 ± 341	1047 ± 233	N.S.
Proteínas en L. pleural (g/dL) (media±SEM)	3,8 ± 0,23	3,8 ± 0,13	4,2 ± 0,28	p = 0,019
PLEURODESIS COMPLETA	50%	72%	60%	N.S.
REEXPANSION PULMONAR COMPLETA	25%	27%	23%	N.S.
SEGUIMIENTO (mediana y rango) (meses)	4,8 (0,13 – 40,5)	13 (0,57 – 259)	9 (0,03 – 100)	N.S.
SUPERVIVENCIA ACUMULADA (*) (mediana y rango) (meses)	8,6 (2,1 – 42,5)	19,1 (2,4 – 262)	18,3 (1,7–106)	p = 0,038

Tabla 1. Parámetros biológicos relacionados con los resultados de la pleurodesis en los tres tipos de tumores pleurales estudiados.

LENT score = Índice pronóstico (ver Referencia 4)

\* Supervivencia acumulada = Meses transcurridos desde el comienzo de los síntomas pleurales hasta el final del seguimiento.

SEM = Error estándar de la media. N.S. = No significativo.

	CARGA TUMORAL EN LA CAVIDAD PLEURAL	CARGA TUMORAL EN LA PLEURA VISCERAL
Survivina basal en líquido pleural	Rho = 0,174 (p = 0,115, N.S.)	0,215 (p = 0,051)
Survivina en líquido pleural 24 hrs. Post-talco	Rho = 0,231 0,036)	0,243 (p = 0,027)
Ratio Survivina 24 hr/Survivina basal	N.S.	0,232 (p = 0,035)
pH en líquido pleural basal	Rho = -0,587 (p < 0,001)	-0,484 (p < 0,001)
Glucosa en líquido pleural basal	- 0,499 (p < 0,001)	-0,302 (p < 0,001)
LDH en líquido pleural basal	0,453 (p < 0,001)	0,397 (p = 0,001)
SEGUIMIENTO a partir de la pleurodesis	-0,231 (p = 0,036)	-0,306 (p = 0,005)
SUPERVIVENCIA ACUMULADA (*)	N.S.	-0,265 (p = 0,015)

Tabla 2. Correlaciones significativas entre parámetros mecánicos y biológicos implicados en la pleurodesis en derrames pleurales malignos (Rho de Spearman).

\* Supervivencia acumulada = Meses transcurridos desde el comienzo de los síntomas pleurales hasta el final del seguimiento.

## DISCUSION

En el presente estudio hemos medido los niveles de survivina antes y después de la aplicación de talco mediante toracosopia en pacientes con DPM, y observamos un aumento (no significativo) de los niveles de survivina tras la aplicación del talco respecto a los niveles basales. Estudios previos han sugerido que la aplicación de talco induce apoptosis<sup>9-11,17</sup>.

Algunos autores han estudiado la expresión y la concentración de survivina en derrames pleurales malignos y benignos, sugiriendo un potencial papel de esta proteína como biomarcador diagnóstico en DPM<sup>18</sup>. Otros autores han relacionado los niveles de survivina en sangre con el diagnóstico y pronóstico en pacientes con cáncer<sup>19</sup>, y Lan y colaboradores demostraron que la expresión de survivina (ARNm) en el líquido pleural está inversamente relacionada con la supervivencia de los pacientes<sup>20</sup>.

En un estudio publicado recientemente por nuestro grupo, mostramos que los niveles altos de survivina son útiles para predecir el fracaso de la pleurodesis y se asocian con corta supervivencia<sup>21</sup>. En el presente estudio hemos comparado la survivina con otros parámetros clásicos como pH, glucosa, LDH y *LENT score*,

y los resultados otorgan a la survivina un papel preponderante. Nuestros resultados muestran que los niveles elevados de survivina basal están muy significativamente relacionados (p = 0,002) con el fracaso de la pleurodesis, lo cual sugiere que es el mejor biomarcador (de todos los investigados en el presente estudio) para decidir qué pacientes con DPM serían buenos candidatos para la realización de pleurodesis.

*Factores mecánicos vs factores biológicos en la pleurodesis:* además de resaltar el papel que juega la survivina, el presente estudio nos ayuda también (combinando la investigación de factores mecánicos y biológicos) a entender algunos de los mecanismos implicados en la pleurodesis en derrames pleural malignos.

Clásicamente se ha considerado que el éxito o fracaso de la pleurodesis dependía en gran medida de la perfecta aposición de las hojas visceral y parietal de la pleura, que permitiría la creación de una sínfisis extensa e impediría la re-acumulación del líquido en la cavidad pleural. Si bien esto es cierto en parte, ya que la obtención de una reexpansión pulmonar total estuvo asociada al éxito de la pleurodesis en 69% de nuestros casos, también es cierto que la pleurodesis falló en el 29% de los casos en los que el pulmón se había re-expandido completamente, lo que implica la participación de otros procesos biológicos no bien conocidos. La asociación

observada entre el incremento de los niveles de survivina 24 horas después de la aplicación de talco en la cavidad pleural y la carga tumoral en nuestro estudio apoyan el papel que la propia biología tumoral juega en este proceso. Algunos factores específicos a tener en cuenta serían los siguientes:

- *Agresividad tumoral.* A pesar de ser éste un aspecto complejo y multifactorial en la biología de un tumor, en nuestro presente estudio disponemos de algunos elementos que apoyan su papel en el fracaso de la pleurodesis. La estrecha correlación que hemos observado entre los niveles de pH y glucosa en el líquido pleural con los resultados de la pleurodesis por un lado (figuras 5-A y 5-B), y la también estrecha asociación entre esos parámetros con la carga tumoral en la pleura (Tabla 2) nos reafirma en el papel que juegan como marcadores de agresividad tumoral<sup>22</sup>, que en buena medida está ligada a los mecanismos de glicolisis anaerobia que poseen muchos tumores marcadamente agresivos<sup>23</sup>. Esto ocurre muy frecuentemente en mesotelioma pleural avanzado, que presentó niveles de pH y glucosa claramente más bajos que los otros tipos de tumores incluidos en nuestro estudio (Tabla 1), aunque las diferencias no llegasen a ser estadísticamente significativas.

- *Fibrinolisis local.* Teniendo en cuenta la potente capacidad fibrinolítica que exhiben algunos tumores, es muy posible que la presencia de hiperfibrinólisis local tras la inducción de pleurodesis conduzca al fracaso de ésta, y trabajos previos de nuestro grupo apuntan en ese sentido<sup>24, 25</sup>.

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones, entre las que se encuentran el relativamente bajo número de pacientes y la ausencia de otros tipos de tumores con afectación pleural, cuya inclusión podría haber ampliado los horizontes de nuestras conclusiones.

Por otro lado, nuestros resultados abren la perspectiva de investigar si la adición de algún agente capaz de inhibir la acción de la survivina podría inducir una mayor tasa de apoptosis tumoral cuando se combinara con la aplicación intrapleural de talco, y nuestro grupo está trabajando actualmente sobre esta hipótesis.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que unos niveles elevados de survivina en el líquido pleural juegan un poderoso papel como marcador pronóstico en derrames pleurales malignos, y se suma a otros marcadores clásicos como pH, glucosa y LDH, que están asociados a una marcada agresividad tumoral.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Clive AO, Kahan BC, Hooper CE et al. Predicting survival in malignant pleural effusion: development and validation of the LENT prognostic score. *Thorax* 2014; 69: 1098–104.
2. Rodríguez Panadero F, Montes Worboys A. Mechanisms of pleurodesis. *Respiration* 2012; 83 (2): 91-8.
3. Rodríguez Panadero F, Romero Romero B. Management of malignant pleural effusions. *Curr Opin Pulm Med.* 2011 Jul; 17 (4): 269-73.
4. Clive AO, Jones HE, Bhatnagar R et al. Interventions for the management of malignant pleural effusions: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016; (5): CD010529. doi:0.1002/14651858.CD010529.pub2.
5. Nasreen N, Mohammed KA, Brown S et al. Talc mediates angiostasis in malignant pleural effusions via endostatin induction. *Eur Resp J* 2007; 29 (4): 761-9.
6. Acencio MM, Vargas FS, Marchi E et al. Pleural mesothelial cells mediate inflammatory and profibrotic responses in talc-induced pleurodesis. *Lung* 2007; 185 (6): 343-8.
7. Nasreen N, Mohammed KA, Dowling PA et al. Talc induces apoptosis in human malignant mesothelioma cells in vitro. *Am J Resp Crit Care Med* 2000; 161 (2 Pt 1): 595-600.
8. Hopkins Donaldson S, Cathomas R, Simoes-Wust AP et al. Induction of apoptosis and chemosensitization of mesothelioma cells by Bcl-2 and Bcl-xL antisense treatment. *Intern J Cancer.* 2003; 106 (2): 160-6.
9. Narasimhan SR, Yang L, Gerwin BI et al. Resistance of pleural mesothelioma cell lines to apoptosis: relation to expression of Bcl-2 and Bax. *Am J Physiol.* 1998; 275(1): L165-71. doi: 10.1152/ajplung.1998.275.1.L165.

11. Reed JC. Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol* 2000; 157 (5): 1415-30.
12. Kiechle FL, Zhang X. Apoptosis: biochemical aspects and clinical implications. *Clin Chim Acta*. 2002; 326 (1-2): 27-45.
13. Park DS, Hwang KE, Shim H et al. Elevated survivin is associated with a poor response to chemotherapy and reduced survival in lung cancer with malignant pleural effusions. *Clin Exp Metastasis*. 2012; 29 (2): 83-9.
14. Duffy MJ, O'Donovan N, Brennan DJ et al. Survivin: a promising tumor biomarker. *Cancer Lett*. 2007; 249 (1): 49-60.
15. Rodriguez Panadero F. Medical thoracoscopy. *Respiration* 2008; 76 (4): 363-72.
16. Antony VB, Loddenkemper R, Astoul P et al. Management of malignant pleural effusions. *Eur Respir J*. 2001; 18: 402-19.
17. Sanchez-Armengol A, Rodriguez-Panadero F. Survival and talc pleurodesis in metastatic pleural carcinoma, revisited. Report of 125 cases. *Chest*. 1993; 104: 1482-5.
18. Lee P, Sun L, Lim CK et al. Selective apoptosis of lung cancer cells with talc. *Eur Resp J*. 2010; 35 (2): 450-2.
19. Chen S, Wang Y, An L et al. The diagnostic value of survivin in malignant pleural effusion: a meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2015; 441: 142-7.
20. Gorgun D, Secik F, Midilli K et al. Diagnostic and prognostic significance of survivin levels in malignant pleural effusion. *Respir Med*. 2013; 107 (8): 1260-5.
21. Lan CC, Wu YK, Lee CH et al. Increased survivin mRNA in malignant pleural effusion is significantly correlated with survival. *Jpn J Clin Oncol*. 2010; 40 (3): 234-40.
22. Arellano Orden E, Romero Romero B, Sánchez-López V et al. Survivin is a negative prognostic factor in malignant pleural effusion. *Eur J Clin Invest*. 2018; 48 (4). doi: 10.1111/eci.12895
23. Rodriguez Panadero F, López Mejias J. Low glucose and pH levels in malignant pleural effusions. Diagnostic significance and prognostic value in respect to pleurodesis. *Am Rev Respir Dis*. 1989; 139: 663-7.
24. Chiche J, Brahimi-Horn MC, Pouyssegur J. Tumour hypoxia induces a metabolic shift causing acidosis: a common feature in cancer. *J Cell Mol Med*. 2010; 14: 771-94.
25. Rodriguez Panadero F, Segado A, Martin Juan J et al. Failure of talc pleurodesis is associated with increased pleural fibrinolysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 785-90.
26. Psathakis K, Calderon Osuna E, Romero Romero B et al. The neutrophilic and fibrinolytic response to talc can predict the outcome of pleurodesis. *Eur Respir J* 2006; 27: 817-21.