

# Proteína Hsp27 y otros marcadores moleculares en el cáncer de Tiroides (Hsp27, TPO, P53 y K167 en el cáncer de Tiroides)

Cabrera Galván, J.J.<sup>1</sup>; Santana Santana J.R.<sup>1</sup>; Perez Alonso E.<sup>1</sup>; Perez Correa P.<sup>1</sup>; Medina Ortega, C.<sup>1</sup>; Novoa Mogollón, J.<sup>1</sup> y Ciocca, D.<sup>2</sup>

1. Servicios de Anatomía Patológica, Cirugía y Endocrinología del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Complejo Hospitalario Materno Insular.

2. Unidad de Patología. Centro de Reproducción y Lactancia (LARLAC), Mendoza. Argentina.

## Resumen:

Este trabajo analiza si la expresión de hsp 27 tiene utilidad en el diagnóstico o el pronóstico del cáncer de Tiroides humano. Dicha expresión se correlaciona con factores de proliferación celular como Ki-67 y p53, y por otra parte con la expresión de la hormona tiroperoxidasa (TPO) con capacidad reguladora de la síntesis de las hormonas tiroideas.

## Palabras clave:

hsp 27, carcinomas de tiroides, pronóstico, diagnóstico, Ki-67, p53 y TPO (tiroperoxidasa).

## Introducción

La mayoría de los tumores malignos de la glándula tiroides se clasifican como papilares, foliculares, medulares e indiferenciados o anaplásicos, presentando cada uno de ellos diferencias morfológicas<sup>(1)</sup>. La clasificación correcta del cáncer de tiroides es de gran valor para determinar los protocolos terapéuticos y para la evolución y el control de los pacientes. En general los carcinomas papilares son menos agresivos que los foliculares, mientras que éstos tienden a dar metástasis por vía hematogena a distancia (hueso y pulmón) entre otros sitios<sup>(2,3)</sup>. Los carcinomas medulares originarios de las células C o parafooliculares, son menos frecuentes y tienen un porcentaje

más alto de mortalidad que los carcinomas diferenciados papilares y foliculares<sup>(4)</sup>. Por último, los pacientes con carcinomas indiferenciados presentan el peor pronóstico y seguimiento. Ahora bien, el pronóstico individual de los pacientes con cáncer de tiroides depende de varios factores que hoy día, se basan en aspectos clínicos y anatomopatológicos<sup>(2,4)</sup>.

En el presente estudio, hemos analizado el valor diagnóstico y pronóstico de la proteína hsp 27 en muestras de biopsias de pacientes operados de carcinomas papilares, foliculares, medulares e indiferenciados tiroideos. En nuestra opinión, este es el primer trabajo sobre este campo de la proteína hsp 27 en el cáncer tiroideo.

Hsp 27 es un miembro de la familia de proteínas "heat shock" (choque térmico), que participan en numerosas interacciones proteína-proteína, actuando como chaperonas (acompañantes) moleculares en su conjunto, en mecanismos de activación-inactivación y en el tráfico y degradación de diversas proteínas<sup>(5,6)</sup>. Concretamente hsp 27 se le ha relacionado con la inhibición del mecanismo de polimerización de la actina<sup>(7)</sup>, en la modulación de p21<sup>(8)</sup> y en la resistencia a la apoptosis. Recientemente, hsp 27 ha sido relacionada con la resistencia citotóxica en la quimioterapia<sup>(10)</sup>. La utilidad de hsp 27 como factor pronóstico ha sido estudiada en varios tipos de carcinomas como el de mama, ovario, próstata e hígado<sup>(11,15)</sup>. En el presente trabajo hemos estudiado la expresión de hsp 27 por técnicas inmunohistoquímicas en tejidos de biopsia obtenidos de pacientes operados por cáncer de tiroides, con un seguimiento completo de varios años. La expresión de hsp 27 se comparó con otros marcadores moleculares que tienen valor para el pronóstico del cáncer: Ki-67 (marcador de proliferación celular), p53 (su marcaje por inmunohistoquímica demuestra la mutación de p53) y la peroxidasa tiroidea (TPO).

## Material y Métodos

Hemos estudiado un total de 34 pacientes cuyas características

## Correspondencia:

Juan José Cabrera Galván  
Unidad de Anatomía Patológica  
Departamento de Morfología  
Facultad de Medicina. ULPGC  
Apartado número 550 Las Palmas de Gran Canaria  
Email: jcabrera@dmor.ulpgc.es

Histología	Edad (rango)	Sexo	Tratamiento	TNM	Evolución
<i>Papillar (n=10)</i> BD1: 10	41 (12-62)	H: 8 V :2 In: 1	Lo, 131I: 4 T , 131I: 5 T3N0M0: 5 T4N1M0: 2 In: 1	T1N0M0: 1 T2N1M0: 1 Pu M: 1 (cured)	ST: 17y (13-21) LE: 10 (100%)
<i>Folicular (n=10)</i> BD: 6 MD: 4	46 (28-72)	H: 8 V: 2	Lo, 131I: 8 Th, 131I: 2 T4N0M0: 1 T4N0M1: 1	T2N0M0: 3 T3N0M0: 5 Pu/ Hu M: 2 Muerte: 1 Cancer mama: 4	ST: 17y (11-21) LE: 8 (80%)
<i>Medular (n=5)</i> Amiloide: 3	44 (23-58)	H: 2 V: 3 T: 1 T, Qu: 1 T,131I, Ra, Qu:1	Lo: 1 Lo, 131I: 1 T3N1M0: 2	T2N1M0: 1 T3N0M0: 2 Ra: 4 (80%)	ST: 9 y (2-16) LE: 1 (20%)
<i>Indiferenciado (n=9)</i> Escamoso: 2	69 (53-78)	H: 7 V: 2 Ti, Ra: 1 Re Ci: 1 Re Ci, 131I, Ra: 1 Re Su, Ch: 1	Ti, 131I: 2 Ti, La: 3 T4N0M1: 2 T4N1M1: 2 T4N?M0: 1	T4N0M0: 3 T4N1M0: 1 In: 1	ST: 8 m (0-18m) Muerte: 8 (90%)

BD: bien diferenciado; MD: moderadamente diferenciado; H: Hembra; V: varón; Lo: lobectomía; Ti: tiroidectomía; In: indeterminado; Qui: quimioterapia; Ra: radioterapia; Re: reductiva; Ci: Cirugía; La: laringuectomía; ST: supervivencia total; a: años; m: meses; LE: libre de enfermedad; Pu: pulmón; M: metástasis; Hu: Hueso; ER: enfermedad regional.

**TABLA 1**  
Principales características clínicas de los pacientes con carcinoma de tiroides.

clínicas principales se pueden observar en la tabla numero 1. Todos los pacientes fueron tratados en el Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. El diagnóstico histológico se hizo de acuerdo con los criterios de la OMS<sup>(16)</sup>. Los bloques de biopsia fueron obtenidos del banco de tumores tiroideos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Insular que contiene información de los pacientes sobre sexo, edad, diagnóstico histológico, tipo histológico, dimensiones del tumor, afectación de ganglios linfáticos, extensión regional del tumor, presencia de metástasis a distancia, tratamientos y seguimiento. Los tumores foliculares y papilares se obtuvieron de casos consecutivos in-

tervenidos desde 1976, mientras que los tumores medulares e indiferenciados se obtuvieron del banco completo de tumores. Los tejidos fueron fijados en formaldehído tamponado al 10 % e incluidos en parafina. Para este estudio, se obtuvieron cortes seriados de un grosor de entre 5-6  $\mu\text{m}$  y se tiñeron con hematoxilina y eosina para la reevaluación tumoral y se procesaron para técnicas inmunohistoquímicas.

Las técnicas inmunohistoquímicas se llevaron a cabo con los siguientes anticuerpos íprimarios con una incubación de una hora:

a) anticuerpo monoclonal contra el antígeno Ki-67 (Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK) a una dilución de 1:100

- b) anticuerpo monoclonal contra hsp27 humana (Novocastra) a dilución de 1:200  
c) anticuerpo monoclonal contra p53 (Novocastra) a dilución de 1:50  
d) anticuerpo monoclonal contra hsp 70 (Novocastra) a dilución de 1:100  
e) anticuerpo monoclonal MoAb47 contra TPO (cedido por Dra. C. De Micco, Marseilla, Francia) a dilución de 1:50.

Además en los casos en los que el diagnóstico histológico presentó dificultades, como en los carcinomas indiferenciados y medulares, se realizaron técnicas inmunohistoquímicas para Tiroglobulina y Calcitonina, usando anticuerpos monoclonales contra Tiroglobuli-

na humana (Dako Corporation, Carpintería, CA) a dilución de 1:200 y anticuerpo policlonal contra Calcitonina (BioGenex, San Ramón, CA) a dilución de 1:200. Se realizó un protocolo de recuperación antigénica mediante olla a presión y posteriormente se colocaron los portas en fosfato buffer salino, pH 7.4 y los anticuerpos contra Ki-67 y p53 (Sigma Diagnostics, St. Louis, MO). El complejo ABC Complex HRP kit (Dako) fue seguido de revelado con Diaminobenzidina 3'-5' (DAB), lavado, contraste con hematoxilina, deshidratación y montaje con DPX.

Las inmunotinciones se evaluaron por dos investigadores distintos (JJG-G, DRC) de forma independiente, sin conocer los datos clínicos; el grado de coincidencia fue del 94% y los casos discrepantes se resolvieron por consenso. La inmunotinción fue valorada en todas las preparaciones del tumor con un "score" establecido de acuerdo a la proporción de células positivas teñidas: <1%=0; 1-10%=1; 11-33%=2; 33-66%=3 y >66%=4. Un "score" para intensidad de la inmunotinción se estableció, igualmente: tinción negativa=0; tinción débil=1; tinción moderada=2 y tinción fuerte=3. Los "scores" para el porcentaje y la intensidad de la tinción se combinaron de acuerdo con la literatura publicada (10). Se realizaron estudios estadísticos para t-student, regresión lineal y correlación de Pearson usando el programa estadístico Prism (Graph Pad Software, San Diego, CA); considerándose como valor significativo  $p < 0.05$ .

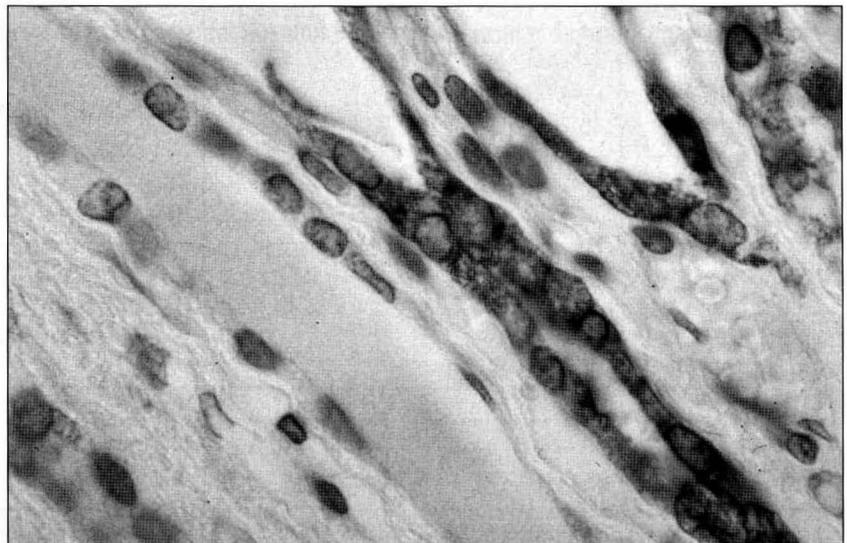
**Resultados**

Hemos estudiado, con fines comparativos, la expresión de hsp 27 en el tejido tiroideo normal que rodea a las lesiones tumorales. En la glándula tiroidea "normal" la expresión de hsp 27 varió de acuerdo a la proximidad del tumor (Tabla 2). En los folículos normales distantes al tumor hsp 27 se detecta claramente en el citoplasma de los tireocitos (Fig.1A). La células C o para-foliculares no expresaron la hsp 27. Las glándulas que mostraban tiroiditis tuvieron una expresión relativamente alta mientras que en las glándulas con bocio coloide la hsp 27

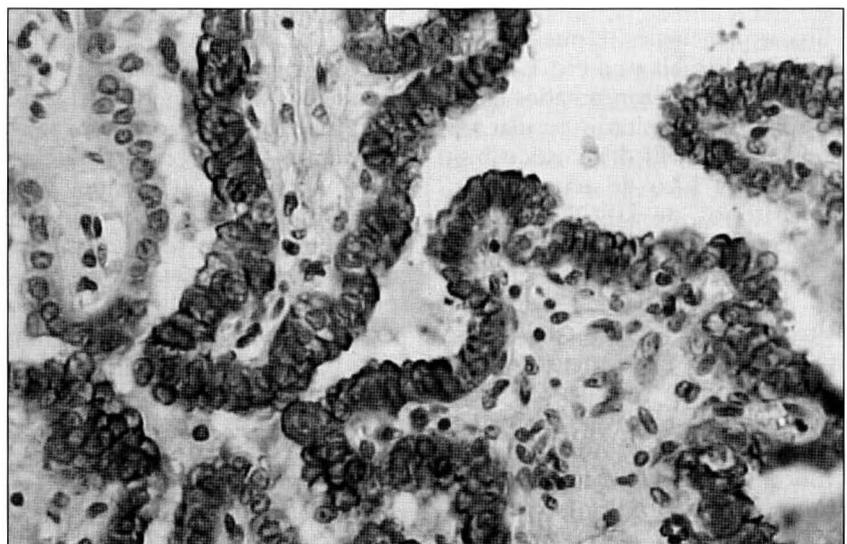
Histología	Nº de casos	Hsp27 <sup>1</sup> (rango)
Normal (distante al tumor)	5	1.2 (0+0 to 2+2)
Normal (cercano al tumor)	5	4.8 (2+1 to 2+4)
Tiroiditis (cercano al tumor)	5	4.6 (1+1 to 1+4)
Bocio Parenquimatoso (cercano al tumor)	11	2.5 (0+0 to 2+4)

Principales valores de intensidad y proporción y scores (ver M y M).

**TABLA 2**  
Expresión de Hsp27 en tiroides normal o tumoral.



**FIGURA 1A**  
Tiroides "normal" en un área próxima a un carcinoma folicular con expresión positiva para hsp27 a nivel citoplásmico.



**FIGURA 1B**  
Carcinoma papilar mostrando abundantes células positivas para hsp27 a nivel citoplásmico.

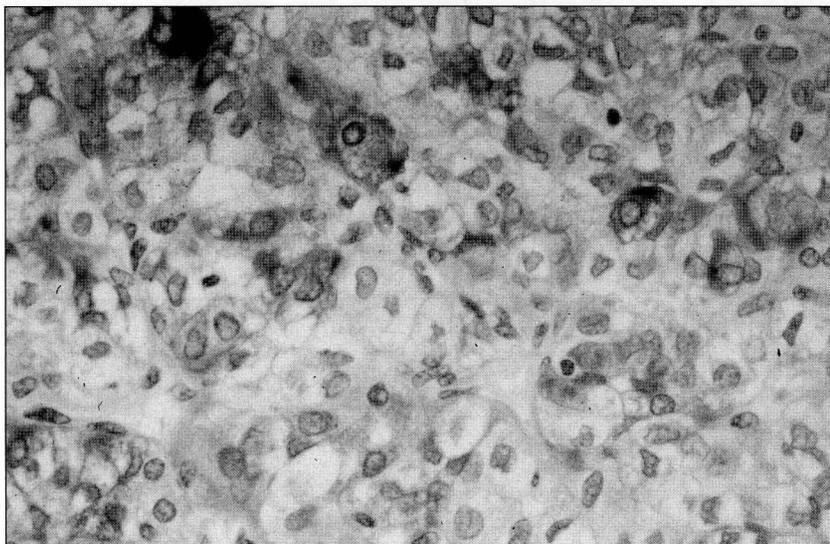
Caso #	Hsp27 <sup>1</sup>	TPO	Ki-67	p53	Seguimiento
<b>Carcinomas Papilares</b>					
1	1.9	0	0	0	ST <sup>2</sup> : 21y, LE
2	6.0	3.1	0	0	ST: 21y, LE
3	3.6	2.6	0	0	ST: 20y, LE
4	5.5	3.8	0	0	ST: 20y, LE
5	5.0	5.0	0	0	ST: 17y, LE
6	3.4	5.0	0	0	ST: 17y, LE
7	4.7	4.0	0.6	0	ST: 14y, LE
8	5.2	4.5	0.6	0	ST: 14y, LE
9	5.8	2.3	0.8	0	ST: 14y, LE
10	2.4	0	0	0	ST: 13y, Lu M (curado), LE
Media:	4.35	3.0	0.2	0	ST:17
<b>Carcinomas Foliculares</b>					
1	4.9	5.0	0	3	ST <sup>2</sup> : 20y, LE
2	5.3	5.3	0	3	ST: 20y, LE
	4.6	0	0	0	ST: 20y, LE
4	6.0	1.4	0	0	ST: 19y, LE (BC)
5	4.2	3.9	0	0	ST: 17y, LE (BC)
6	2.0	1.5	0	0	ST: 17y, LE (BC)
7	5.2	3.0	0	3	ST: 16y, LE (BC)
8	1.3	4.1	2	0	ST: 16y, LE
9	4.3	1.9	0	0	ST: 12y, Pu/Hu M, m
10	5.0	2.9	0	0	OS: 11y, Bo M
Media:	4.28	2.9	0.2	0.9	OS: 17y

Medias valores de intensidad y proporción de scores.

ST: supervivencia total; LE: libre enfermedad; Pu: pulmón; Hu: hueso; M: metastasis; m: muerte.

**TABLA 3**

Expresión de los marcadores moleculares en carcinomas papilares y foliculares.



**FIGURA 1C**

Observe la presencia de tinción débil de hsp27 a nivel citoplásmico en células tumorales esparcidas de carcinoma folicular.

mostró niveles bajos (Tabla 2). En los carcinomas papilares, la hsp 27 se expresó en muchos casos con una intensidad de forma débil (score 1) o bien moderada (score 2); la proporción de células teñidas varió desde un 10% (score 1) a mas del 66% (score 4) (Tabla 3). La expresión de hsp 27 fue heterogénea en las células tumorales, apareciendo zonas con moderada a fuerte inmunotinción que alternaban con otras de tinción débil o con ausencia de proteínas (Fig. 1B). La tabla 3 también muestra la expresión de TPO, Ki-67 y p53 en los carcinomas papilares. La TPO se expresó en el 80% de estos tumores, mientras que en muchos de éstos no mostraban inmunotinción para Ki-67 y ninguno mostró tinción positiva para p53.

La hsp 27 también se expresó en los carcinomas foliculares (Tabla 3). En muchos de estos casos, hsp 27 mostró una intensidad débil (score 1) y la proporción de células teñidas varió en un rango desde el 10% hasta mas del 66% (Fig. 1C). Los índices o niveles de expresión de hsp 27 en los carcinomas foliculares fueron similares a los hallados en los carcinomas papilares (media 4.28 y 4.3 respectivamente). La TPO se expresó en el 90% de los carcinomas foliculares (1D), mientras Ki-67 y p53 se observaron raramente (Tabla 3). Los niveles e índices de expresión de TPO fueron similares en los carcinomas foliculares y papilares (media 2.9 y 3.0).

Los carcinomas medulares expresaron escasamente el hsp 27, muchas veces con intensidad débil (score 1) y en pocas células (score 1 o 2) (Tabla 4). De hecho, dos tumores que previamente se habían clasificado como medulares mostraron expresión de hsp 27 en numerosas células, esto propició la reevaluación de estos casos. De esta forma por técnicas inmunohistoquímicas dichos tumores se reclasificaron como carcinomas foliculares, los cuales mostraron fuerte inmunotinción para tiroglobulina, siendo excluidos del presente estudio. Los carcinomas medulares presentaron menores niveles de expresión de hsp 27 que los papilares o foliculares ( $p < 0.01$ ). La figura 1E muestra inmunotinción para hsp 27 en un caso de carcinoma medular. La TPO estuvo ausente o careció de reactividad en los carcinomas medulares y mostró in-

munotinción negativa o baja para Ki-67 y p53 (Tabla 4).

Los carcinomas indiferenciados mostraron ausencia o escasa presencia de expresión de hsp 27 (Fig. F), excepto en los casos en los que se encontraron áreas de metaplasia escamosa (Tabla 4). La figura 1G muestra un carcinoma indiferenciado con fuerte inmunotinción para hsp 27 en un área de metaplasia escamosa. Por otra parte, la expresión de hsp 27 decreció significativamente en los carcinomas indiferenciados comparados con los papilares y foliculares ( $p < 0.02$ ). La TPO se expresó únicamente en un caso de carcinoma indiferenciado con niveles bajos, mientras que Ki-67 y p53 eran positivos de forma significativa (Tabla 4) (Fig. 1H). El análisis estadístico reveló que el carcinoma indiferenciado contenía de forma significativa menores inmunotinción para la TPO ( $p = 0.001$ ), alta y positiva para Ki-67 ( $p < 0.03$ ) y alta para p53 ( $p < 0.02$ ) en relación a los carcinomas papilares y foliculares. El análisis estadístico también reveló buena correlación entre la expresión de hsp 27 y TPO ( $p < 0.005$ ) cuando se compararon la totalidad de los 34 tumores.

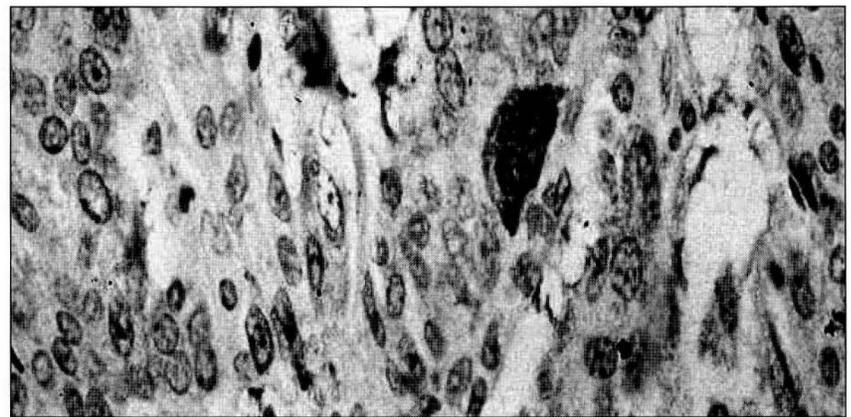
**Discusión**

El objetivo principal del presente estudio fue examinar el valor diagnóstico y pronóstico de hsp 27 en diferentes tipos histológicos de carcinomas tiroideos. Hsp 27 presentó niveles de expresión diferentes de acuerdo con el tipo histológico de carcinoma tiroideo. Niveles relativamente altos de hsp 27 se encontraron en el carcinoma papilar y folicular, mientras que estos niveles fueron bajos en el medular e indiferenciado. El escaso nivel de hsp 27 expresado en el carcinoma medular tuvo un valor diagnóstico que permitió la reevaluación de dos casos que habían sido incluidos previamente en el grupo de los carcinomas medulares y que, dada la alta expresión de hsp 27 que mostraron, permitió su reubicación en el grupo de los foliculares tras la correspondiente reevaluación. Creemos que con fines diagnósticos la propuesta del uso de la tiroglobulina y calcitonina es más útil que la hsp 27. Ahora bien, hsp 27 podría usarse en el pronóstico de la enfermedad, y en este aspecto puede alertarnos sobre un diagnóstico erró-

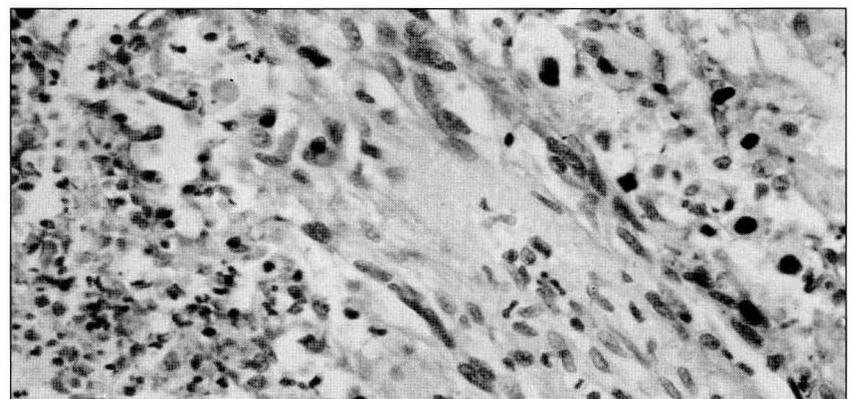
Caso #	Hsp27 <sup>1</sup>	TPO	Ki-67	p53	Seguimiento
<i>Carcinomas Medulares</i>					
1	1.9	0	0	0	ST: 16y, RL
2	2.7	0	0	0	ST: 14y, RL
3	2.2	0	3.4	0.2	ST: 6y, RL
4	0.4	0	2.8	0.2	ST: 5y, RL
5	3.4	0	2.5	0	ST: 2y, LE
Media:	2.1	0	1.7	0.08	ST: 8.6y
<i>Carcinomas Indiferenciados</i>					
1	0	0	2.8	5.7	ST: 2m, m+
2	3.0	0	0.4	0	ST: 10m, m+
3	3.0 <sup>3</sup>	0	4.1	4.0	ST: 15m, m+
4	1.0	0	5.9	6.3	ST: 18m, m+
5	0	0	4.9	0	ST: 1m, m+
6	4.0 <sup>3</sup>	0	4.0	4.8	ST: 0m, m+
7	0	0	3.0	0	ST: indeterminado
8	6.0 <sup>3</sup>	0	0	4.0	ST: 12m, m+
9	3.0	3	5.0	3.0	OS: 3m, m+
Media:	2.2	0.3	3.3	3.08	ST: 7.6m

Medias valores de intensidad y proporción de scores.

**TABLA 4**  
Expresión de los marcadores moleculares en carcinomas medulares e indiferenciados.



**FIGURA 1E**  
Sólo algunas células tumorales aisladas positivas para hsp27 en un carcinoma medular.



**FIGURA 1F**  
Inmunotinción negativa para hsp27 en un carcinoma indiferenciado.

neo de carcinoma medular. Los carcinomas medulares estudiados fueron de pacientes sin una historia clínica familiar de cáncer y no habían desarrollado hiperparatiroidismo y/o feocromocitomas durante su seguimiento. Por consiguiente estos casos se consideraron como carcinomas medulares esporádicos.

Los pacientes con carcinoma medular de tiroides mostraron un comportamiento clínico heterogéneo, para lo cual se utilizaron diversos factores pronósticos. Nuestro trabajo ha realizado una aproximación inicial en el significado pronostico de la hsp 27. Hemos encontrado que en las biopsias de pacientes con carcinomas papilares y foliculares (pacientes con una mejor supervivencia y tiempo libre de enfermedad) presentaron una mayor expresión de hsp 27 que los pacientes con carcinoma medular, de forma significativa.

Los niveles bajos de expresión de hsp 27 se encontraron también en los carcinomas indiferenciados. Los pacientes con carcinomas indiferenciados tuvieron peor pronóstico y baja supervivencia. Por ello, es claro que la expresión de hsp 27 desciende con el incremento de la dediferenciación de las células tumorales y que la presencia de esta proteína está correlacionada con una mejor supervivencia de los pacientes. Puede ser de mucho interés examinar mayor número de carcinomas papilares y foliculares para correlacionar la expresión de hsp 27 con el seguimiento de los pacientes.

El presente estudio también reveló que la hsp 27 es un excelente marcador de la metaplasia escamosa. En estudios previos, la hsp 27 ha sido asociada con la metaplasia escamosa. Las células escamosas son altamente diferenciadas, pero en algunos tumores, como sucede en el cáncer de tiroides, estas células escamosas se han observado en neoplasias indiferenciada que han tenido un crecimiento durante un considerable lapso de tiempo, siendo en estos pacientes el pronostico y la

evolución peores. En este sentido, la hsp 27 es útil para demostrar la presencia de focos escamosos o $\neq$ , en otros casos, la casi completa conversión de células de adenocarcinoma en otras de carcinoma escamoso.

Se ha descrito por métodos bioquímicos que la TPO oscila de acuerdo con la funcionalidad del tireocito. De esta forma en procesos morbosos la TPO es muy abundante en la enfermedad de Graves y baja en las tiroiditis como la de Hashimoto. La actividad de la TPO se pierde en los tumores menos diferenciados en torno a un 50%. El

uso del anticuerpo Ab47 contra la TPO, sigue esta pauta disminuyendo su reacción cuando se incrementa el grado de dediferenciación. La malignidad del tumor conlleva cambios en la concentración de TPO. No obstante en nuestro trabajo, los carcinomas foliculares son bien diferenciados mientras que en algunos papilares las áreas de diferenciación folicular son bastante amplias lo que puede incrementar los niveles de TPO. En nuestra opinión se requiere ampliar el número de tumores estudiados para la TPO.

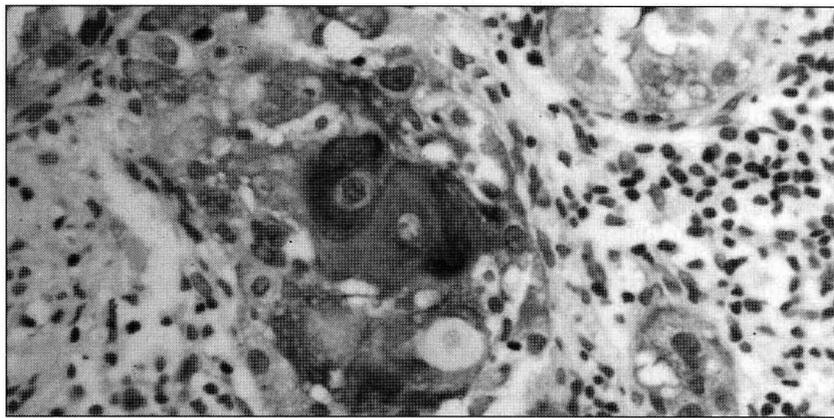


FIGURA 1G

Nótese la presencia de inmunotinción para hsp27 en acúmulos celulares con metaplasia escamosa en un carcinoma indiferenciado.

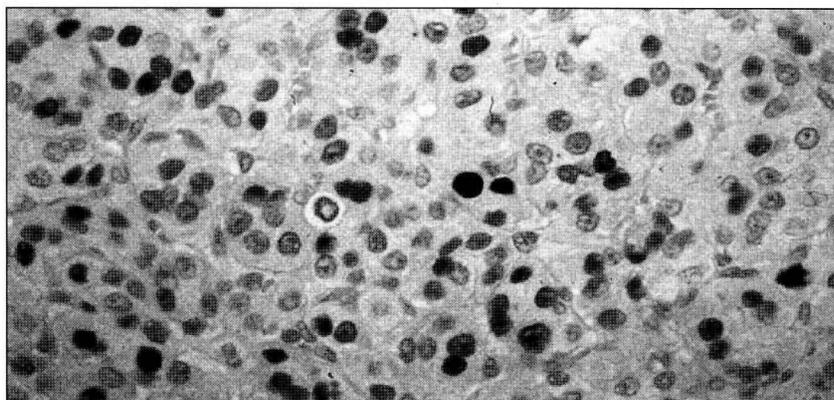


FIGURA 1H

Muchas células tumorales positivas para p53 a nivel nuclear en carcinoma indiferenciado. En todas las preparaciones se reveló la inmunotinción con diaminobendicina. Se usó la hematoxilina para contrastar los núcleos. Los aumentos se marcan con: x.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. LiVolsi VA. Surgical Pathology of the Thyroid. Vol. 22 in the series Major Problems in Pathology. Philadelphia: W.B. Saunders, 1990, pp. 131-274.
2. Akslen LA, LiVolsi VA. Prognostic significance of histologic grading compared with subclassification of papillary thyroid carcinoma. Cancer 2000;88:1902-8.
3. Zidan J, Kassem S, Kuten A. Follicular carcinoma of the thyroid gland: prognostic factors, treatment, and survival. Am J Clin Oncol 2000;23:1-5.
4. Kebebew E, Ituarte PHG, Siperstein AE, Duh Q-Y, Clark OH. Medullary Thyroid carcinoma. Clinical characteristics, treatment, prognostic factors, and comparison of staging system.

5. Ciocca DR, Oesterreich S, Chamness GC, MacGuire WL, Fuqua SAW. Biological and clinical implications of heat shock protein 27000 (Hsp27): a review. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:1558.
6. Fink AL, Goto Y. *Molecular Chaperones in the Life Cycle of Proteins. Structure, Function, and Mode of Action*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1998.
7. Miron T, Vancompernelle K, Vandekerckhove J, et al. A 25-kD inhibitor of actin polymerization is a low molecular mass heat shock protein. *J Cell Biol* 1991;114:255-61.
8. Park SH, Osawa Y, Lee Y-S, Tokino T, Takada Y, Hiramata T, et al. Hsp25 regulates the expression of p21 through multiple mechanisms. *Proc AACR* 2000;41:588.
9. Samali A, Cotter TG. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis. *Exp Cell Res* 1996;223:163-70.
10. Vargas-Roig LM, Gago FE, Tello O, Aznar JC, Ciocca DR. Heat shock protein expression and drug resistance in breast cancer patients treated with induction chemotherapy. *Int J Cancer (Pred Oncol)* 1998;79:468-75.
11. Oesterreich S, Hilsenbeck SG, Ciocca DR, Allred DC, Clark GM, Chamness GC, et al. The small heat shock protein HSP27 is not an independent prognostic marker in axillary lymph node-negative breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 1996;2:1199-206.
12. Ciocca DR, Green S, Elledge RM, Clark GM, Pugh R, Ravdin P, et al. Heat shock proteins hsp27 and hsp70: lack of correlation with response to tamoxifen and clinical course of disease in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer (A Southwest Oncology Group study). *Clin Cancer Res* 1998;5:1263-6.
13. Geisler JP, Geisler HE, Tammela J, Wiemann MC, Zhou Z, Miller GA, et al. Heat shock protein 27: an independent prognostic indicator of survival in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 1998;69:14-6.
14. Storm FK, Mahvi DM, Gilchrist K. Hsp-27 has no diagnostic or prognostic significance in prostate or bladder cancers. *Urology* 1993;42:379-82.
15. King K-L, Li A F-Y, Chau G-Y, Wu C-W, Huang C-L, Lui W-Y. Prognostic significance of heat shock protein-27 expression in hepatocellular carcinoma and its relation to histologic grading and survival. *Cancer* 2000;88:2464-70.
16. Hedinger C, editor. *World Health Organization histological typing of thyroid tumors*. Berlin: Springer Verlag, 1988.