

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Histokimya ve İmmünohistokimya Laboratuvar Deneyimi[‡]

Şükrü Oğuz ÖZDAMAR*, Figen BARUT**, Banu DOĞAN GÜN***,
Burak BAHADIR***, Gamze NUMANOĞLU***, Sacide ÇOLAK****,
Hava GÖKÇE****

✓ Histokimya, varlığı araştırılan kimyasal bileşiğin bir seri kimyasal olaylar sonucunda görülebilir hale getirilmesi, immünohistokimya da doku ve hücrelerde, antijenik epitoplara özgül antikorlar ile belirlenmesi esasına dayanır. Bu çalışmanın amacı, tanılara ulaşmamızda önemli araçlar olan histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerin doğru tanı verilmesindeki katkılarını araştırmaktır.

Ocak 2003-Aralık 2005 tarihleri arasında Patoloji Anabilim Dalı'mızda 1050 benign ve 506 malign 1556 tümör olgusundan, histokimya ve/veya immünohistokimya uygulanan 383'ü tümör ve 102'si tümör dışı lezyon tanısı alan toplam 485 olguya ait materyal incelenmiştir. Bu lezyonlarda kesin tanıya yönlendiren 184 olguya uygulanmış 317 histokimya, 485 olguya uygulanmış 1781 immünohistokimya yöntemi tekrar değerlendirilmiştir.

Uygulanan teknikler sonucunda 485 olgunun 155'i epitelyal (%32.0), 49'u hematopoetik (%10.1), 20'si vasküler (%4.1), 13'ü nöroendokrin (%2.7), 8'si melanositik (%1.7) neoplazmlar; 47'si yumuşak doku neoplazmı (%9.6), 20'si santral sinir sistemi (%4.1) ve 20'si periferik sinir kılıfı tümörleri (%4.1), 43'ü metastatik (%8.9), 7'si andiferansiye (%1.4) neoplazmlar, 1'i diğer tümörler (%0.2) ve 102'si de tümör dışı lezyon (%21.1) tanılarını almıştır. Histokimya uygulaması, %60.7 oranıyla tümör dışı lezyonlarda en fazla izlenmektedir. Hematopoetik, nöroendokrin ve andiferansiye tümörler ile periferik sinir kılıfı tümörlerinin ve tümör dışı lezyon tanısı alan olguların tamamına immünohistokimya uygulanmıştır. 317 histokimyasal uygulamanın %39.8'si tümör dışı lezyonlara, 1781 immünohistokimya uygulamasının %32.3'ü epitelyal neoplaziler için kullanılmıştır. Histokimya ve immünohistokimya'nın tanıya yardımcı olma oranları sırasıyla, tümör dışı lezyonlarda %38.8 ve %65.5 iken, epitelyal neoplazilerde %43.9 ve %56.0 bulunmuş, vasküler neoplazilerde %80.0 ve %82.6 ile en yüksek oranda izlenmiştir.

Histokimyasal testler en sık tümör dışı lezyonlara, neoplastik lezyonlar içinde ise en çok epitelyal tümörlere uygulanmış; immünohistokimyasal yöntemler de en sık epitelyal tümörlerin ayırıcı tanısında kullanılmıştır. Her iki laboratuvar yönteminin birlikte kullanımıyla kesin tanıya yardımcı olan anlamlı pozitif sonuçlar en fazla vasküler tümörlerde saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Histokimyasal yöntem, immünohistokimyasal yöntem, epitelyal tümör

[‡] Çalışma, 18. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Onkolojik Patoloji'de (Çeşme-Altinyunus, - 07-11 Mayıs 2006) poster bildiri olarak sunulmuştur.

* Prof.Dr., ** Öğr.Gör.Dr., *** Yrd.Doç.Dr., **** Araş.Gör. Dr., Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, ZONGULDAK

✓ **Zonguldak Karaelmas University Medical Faculty Department of Pathology
Histochemistry and Immunohistochemistry Laboratory Experience**

Histochemistry is based on, to become apparent for a chemical compound which is looked for the presence, as a result of consecutive chemical reactions, where as immunohistochemistry is based on, determination of antigenic epitops with specific antibodies, in tissue or cells. The aim of this study is to investigate contributions of histochemical and immunohistochemical methods for accurate diagnosis, which are very important diagnostic tools.

Total 485 specimens, where 383 cases diagnosed as tumor and 102 cases as non tumor, stained with histochemical and/or immunohistochemical methods which were referred to Department of Pathology, between January 2003–December 2005, were evaluated, among 1556 tumor cases which 1050 are benign and 506 malign. 317 histochemical staining for 184 cases, 1781 immunohistochemical staining for 485 cases which orientate the accurate diagnosis for these lesions, are reevaluated.

By the help of these staining, the diagnosis of 485 cases reported as following: 155 epithelial (32.0%), 49 hematopoietic (10.1%), 20 vascular (4.1%), 13 neuroendocrine (2.7%), 8 melanocytic (1.7%) neoplasm, 47 soft tissue neoplasm (9.6%), 20 central nervous system (4.1%) and 20 peripheral nerve sheath tumors (4.1%), 43 metastatic (8.9%), 7 undifferentiated (1.4%) neoplasm, 1 other tumors (0.2%) and 102 non-tumoral lesions (21.1%). Histochemical staining used mostly with non-tumoral lesions with the rate of 60.7%. Immunohistochemical staining used for all of the cases with the following diagnosis: Hematopoietic, neuroendocrine and undifferentiated tumors, peripheral nerve sheath tumors and non-tumoral lesions. 39.8 percentage of 317 histochemical staining used for non-tumoral lesions, meanwhile 32.3 percentage of 1781 immunohistochemical staining for epithelial neoplasm. The contribution rate of appropriate histochemical and immunohistochemical staining for accurate diagnosis is 38.8% and 65.5% for non-tumoral lesions and 43.9% and 56.0% for epithelial neoplasm respectively, the higher rates encountered with for vascular neoplasm with 80.0 and 82.6 percentage.

Histochemical staining were frequently used for non-tumoral lesions and also used mostly for epithelial tumors among the neoplastic lesions, whereas immunohistochemical methods were mostly used in differential diagnosis for the epithelial tumors. Significant positive results which contribute to the accurate diagnosis, determined mostly in the vascular tumors, with the use of both laboratory methods together.

Key words: *Histochemical method, immunohistochemical method, epithelial tumor*

GİRİŞ

Histokimyasal reaksiyon; dokuda ve hücrede bulunması beklenen yerde varlığı araştırılan çeşitli organik/inorganik maddelerin, bir seri kimyasal olaylar sonucunda renkli bir bileşik olarak çöktürülmesi ile görünür hale getirilmesi esasına dayanır^(1,2). Böylece, protein-amino asitler, nükleik asit/nükleoproteinler, karbonhidratlar, mukoproteinler, lipidler, aldehydler ve ketonlar, enzimler, pigmentler, inorganik oluşumlar ve çeşitli kimyasal bileşikler histolojik kesitlerde gösterilebilir^(1,3).

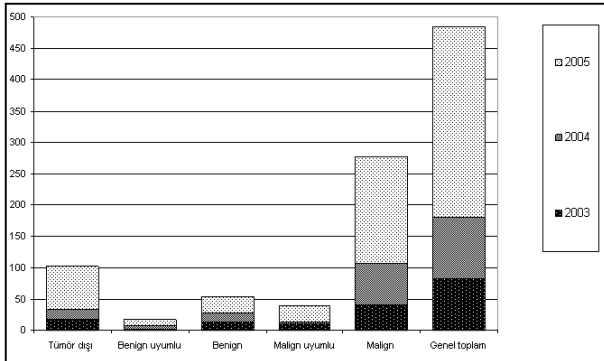
İmmünohistokimyasal yöntem ise dokulardaki ve hücrelerdeki antijenlerin ortaya çıkartılması veya görülür hale getirilmesi amacıyla, antijenik epitoplara özgül antikorla işaretlenmesi ile karakterizedir. Bu yöntem-

de, antijen-antikor reaksiyonu temel alınır⁽¹⁻⁵⁾ İmmünohistokimyasal teknik, bir dokunun belli bir antijeni eksprese edip etmediğini, yanısıra o dokudaki belli hücrelerin antijenik durumunu ve mikroanatomik yerleşimini de gösterir^(2,4).

Sonuçlar açısından duyarlılık ve özgüllük farklılıkları yanı sıra tanısal patoloji uygulamalarında bu tekniklerin seçiminde, kullanımında ve yorumlanmasında laboratuvarlar arasında değişkenlik gözlenmektedir. Bu çalışmada patoloji tanılarımız ile tanılara ulaşmamıza yardımcı olan histokimya ve immünohistokimya verilerimizi inceleyerek, bu testlerin tanıların verilmesindeki rollerini araştırmak ve daha ileri çalışmalara temel oluşturmak amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

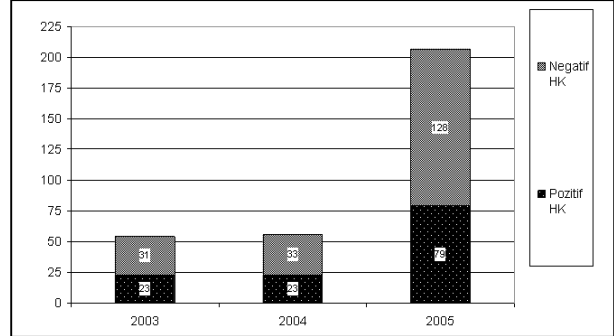
Bu çalışmada, Ocak 2003 ile Aralık 2005 tarihleri arasında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1050 benign ve 506 malign 1556 tümör olgusundan, histokimya ve/veya immünohistokimya uygulanan 383'ü tümör ve 102'si tümör dışı lezyon tanısı alan toplam 485 olguya ait material incelenmiştir. Olgular tümör dışı lezyon (n:102), benign neoplaziyle uyumlu (n:12), benign neoplazi (n:54), malign neoplaziyle uyumlu (n:39), malign neoplazi (n:278) olarak 5 gruba ayrılmıştır (Grafik 1). Bu 1556 tümör ve 102 tümör dışı lezyonlarda histomorfolojiye yardımcı olarak kullanılan ve kesin tanıya yönlendiren 184 olguya (%11.0) uygulanmış 317 adet histokimyasal (Grafik 2); 485 olguda (%29.2) kullanılmış 1781 adet immünohistokimyasal yöntem (Grafik 3) tekrar değerlendirilmiştir.



Grafik 1. Histokimya-immünohistokimya uygulanan olguların yıllara göre dağılımı.

BULGULAR

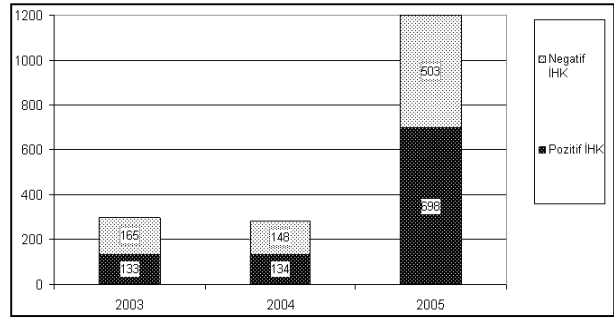
Malign neoplaziler başta olmak üzere tanıları kesinleşmemiş 383 tümör olgusuyla beraber 102 tümör dışı lezyon tanısı alan toplam 485 olguya histokimya ve/veya immünohistokimyasal teknikler uygulanmıştır. Uygulanan bu yöntemler sonucunda olgular epitelyal (%32.0), hematopoetik (%10.1), vasküler (%4.1), nöroendokrin (%2.7), melanositik (%1.7) neoplazmlar; yumuşak doku neoplazmı (%9.6), santral sinir sistemi (%4.1) ve periferik sinir kılıfı tümörleri (%4.1), metastatik (%8.9), andiferansiye (%1.4) neoplazmlar, diğer tü-



Grafik 2. Uygulanan histokimyasal yöntemin (n:317) yıllara göre dağılımı.

Negatif HK: Tanıya yardımcı olmayan histokimyasal yöntem

Pozitif HK: Tanıya yardımcı histokimyasal yöntem



Grafik 3. Uygulanan immünohistokimyasal yöntemin (n:1781) yıllara göre dağılımı

Negatif İHK: Tanıya yardımcı olmayan immünohistokimyasal yöntem

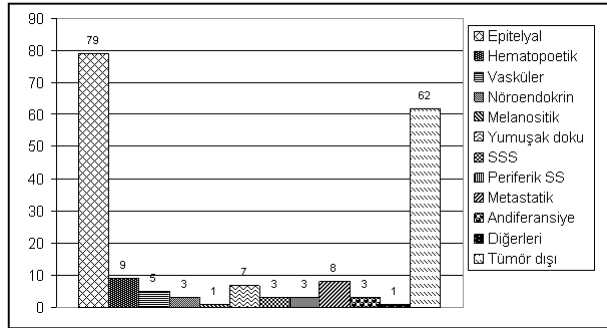
Pozitif İHK: Tanıya yardımcı immünohistokimyasal yöntem

mörler (%0.2) ve tümör dışı lezyon (%21.1) tanımlarını almıştır (Tablo I).

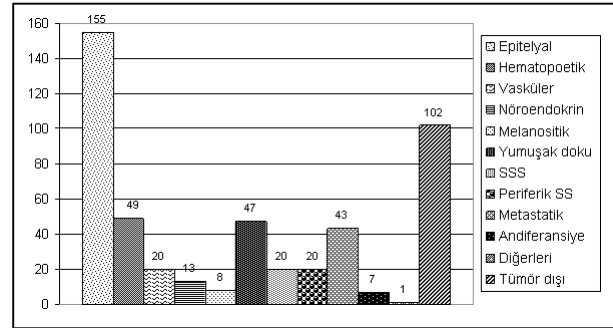
Yöntemlerin olgular içindeki dağılımları incelendiğinde; toplam 184 olguya uygulanan histokimyasal yöntem, %42.7 oranıyla en fazla epitelyal tümörlerde (n:79) olmak üzere, %4.6 ile hematopoetik (n:9), %2.6 ile vasküler (n:5), %1.6 ile nöroendokrin (n:3), %1.1 ile melanositik (n:1) neoplazmlarda; %3.7 ile yumuşak doku neoplazmlarında (n:7), %1.6 ile santral sinir sistemi (n:3) ve %1.6 ile periferik sinir kılıfı tümörlerinde (n:3), %4.2 ile metastatik (n:8), %1.6 ile andiferansiye (n:3) neoplazmlarda, %1.1 ile diğer tümörlerde (n:1) ve %33.6 ile tümör dışı lezyonlarda (n:62) izlenmektedir (Grafik 4). İmmünohistokimyasal yöntem ise Tablo I'de belirtilen 485 olgunun tamamına uygulanmış olup, olguların tanıları-

Tablo I. Olguların Uygulanan Yöntemler Sonucunda Aldıkları Tanılarına Göre Dağılımı.

Tanılarına göre olguların dağılımı	Tümör dışı lezyon	Benign	Benign uyumlu	Malign uyumlu	Malign	Toplam
Epitelyal tümörler	-	8	4	143	-	155 (%32.0)
Hematopoetik tümörler	-	-	1	26	22	49 (%10.1)
Vasküler tümörler	-	10	-	5	5	20 (%4.1)
Nöroendokrin tümörler	-	2	2	9	-	13 (%2.7)
Melanositik tümörler	-	1	-	7	-	8 (%1.7)
Yumuşak doku tümörü	-	15	5	20	7	47 (%9.6)
SSS tümörleri	-	7	-	12	1	20 (%4.1)
Periferik SS tümörleri	-	10	-	9	1	20 (%4.1)
Metastatik tümörler	-	-	-	40	3	43 (%8.9)
Andiferansiye tümörler	-	-	-	7	-	7 (%1.4)
Diğer tümörler	-	1	-	-	-	1 (%0.2)
Tümör dışı lezyonlar	102	-	-	-	-	102 (%21.1)
Genel Toplam	102	54	12	278	39	485 (%100)



Grafik 4. Histokimyasal yöntem uygulanan olguların (n:184) tanılarına göre dağılımı.



Grafik 5. İmmünohistokimyasal yöntem uygulanan olguların (n:485) tanılarına göre dağılımı.

na göre dağılımları incelendiğinde en fazla %32.0 ile epitelyal tümörlerde (n:155) ve %21.1 ile tümör dışı lezyon (n:102) tanısı alan olgularda gözlenmektedir (Grafik 5).

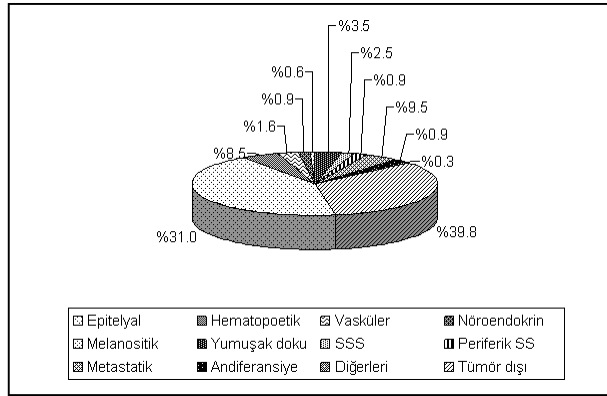
Histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntem, laboratuvarımızda tümör ve tümör dışı lezyon tanısı alan olguların tamamına uygulanmamıştır. Yöntemlerin, laboratuvarımızda tanı alan 1556 tümör ve 102 tümör dışı lezyon olgularına göre dağılımlarına bakıldığında histokimyasal yöntemin en fazla %60.7 (62/102) oranıyla tümör dışı lezyonlara uygulandığı izlenmektedir.

Bunu %42.8 (3/7) ile andiferansiye tümörler takip etmektedir. En düşük %0.6'yla (1/168) melanositik neoplazmlar da gözlenmektedir. Bunların dışında, %8.2 epitelyal tümörlere (79/960), %18.3 hematopoetik (9/49), %9.6 vasküler (5/52), %23.0 nöroendokrin (3/13) neoplazmlara; %3.8 yumuşak doku neoplazmlarına (7/181), %8.6 santral sinir sistemi (3/35) ve %15 periferik sinir kılıfı tümörlerine (3/20), %17.4 metastatik (8/46) neoplazmlara ve %4 diğer tümörlere (1/25) histokimyasal yöntem uygulanmıştır. Hematopoetik (49), nöroendokrin (13) ve andi-

feransiye tümörler (7) ile periferik sinir kılıfı tümörlerinin (20) ve tümör dışı lezyon tanısı alan olguların tamamına (102) immünohistokimya uygulanmış olup, bunu %93.4 (43/46) oranı ile metastatik tümörler ve %57.1 (20/35) ile santral sinir sistemi tümörleri izlemektedir. Epitelyal tümörlerin %16.1'ine (155/960), vasküler tümörlerin %38.5'ine (20/52), melanositik neoplazmların %4.8'ine (8/168), yumuşak doku neoplazmlarının %26.0'sına (47/181) ve diğer tümörlerin %4'üne (1/25) immünohistokimyasal yöntem uygulanmıştır.

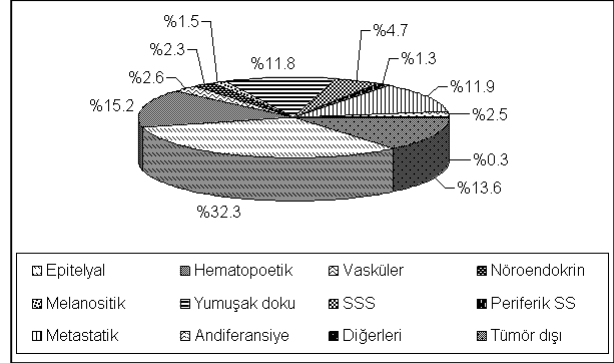
Üçyüzyedi histokimyasal uygulamanın, %39.8'si (126/317) en fazla tümör dışı lezyonlara (Grafik 6); 1781 immünohistokimya uygulamasının %32.3'ü (576/1781) epitelyal neoplazilere ve %13.6'sı (241/1781) tümör dışı lezyonlara uygulanmıştır (Grafik 7).

Histokimya ve immünohistokimya yöntemlerinin tanıya yardımcı olma oranları sırasıyla,

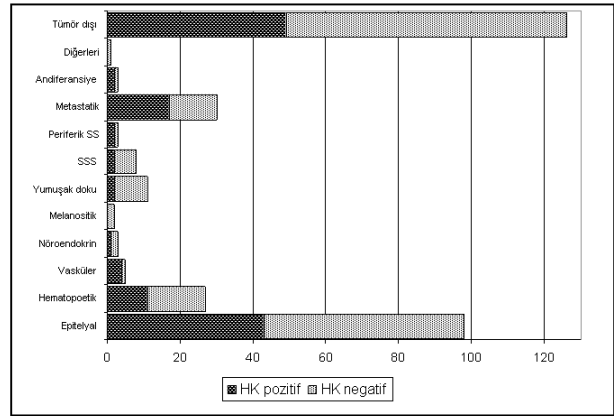


Grafik 6. Uygulanan histokimyasal yöntemin (n:317) olguların tanılarına göre dağılımı.

tümör dışı lezyonlarda %38.8 (49/126) ve %65.5 (158/241), epitelyal neoplazilerde %43.9 (43/98) ve %56.0 (322/576) bulunmuş olup, vasküler neoplazilerde %80.0 (4/5) ve %82.6 (38/46) ile en yüksek oranda izlenmiştir. Melanositik neoplazmlar ve diğer tümörler grubundaki lezyonlarda histokimyanın tanıya yardımcı olmadığı, immünohistokimyanın ise %55.5 (15/27) ve %33.3 (2/6) oranında tanı verilmesinde katkı sağladığı saptanmıştır (Grafik 8, 9).



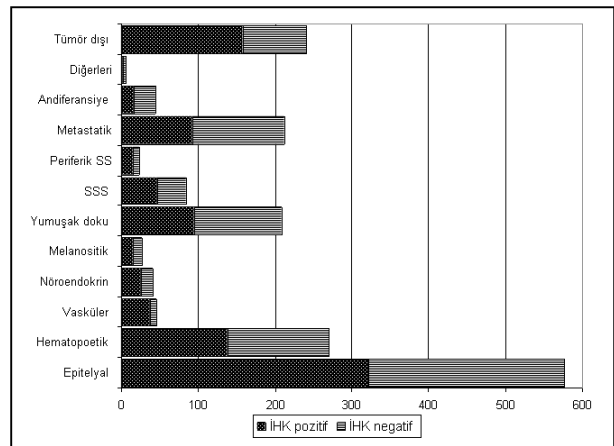
Grafik 7. Uygulanan immünohistokimyasal yöntemin (n:1781) olguların tanılarına göre dağılımı.



Grafik 8. Uygulanan histokimyasal yöntemin (n:317) tanıya yardımcı olma oranı.

HK negatif: Tanıya yardımcı olmayan histokimyasal yöntem

HK pozitif: Tanıya yardımcı histokimyasal yöntem



Grafik 9. Uygulanan immünohistokimyasal yöntemin (n:1781) tanıya yardımcı olma oranı.

IHK pozitif: Tanıya yardımcı immünohistokimyasal yöntem

IHK negatif: Tanıya yardımcı olmayan immünohistokimyasal yöntem

Olguların %92.8'inde tanısal, %6.6'sında prognostik ve %0.6'sında ise hem tanısal hem de prognostik amaçlı immünohistokimyasal yöntem uygulanmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Patoloji pratiğinde, tanıya ulaşmanın başlıca dayanağı olan histomorfolojik özelliklerin yanı sıra, bazen çalışmamızda da görüldüğü gibi olguların tanıları kesinleştirmek için yardımcı teknikler kullanılır. Geçmişte, histokimyasal yöntemler daha yaygın olarak kullanılırken; son zamanlarda antikor spektrumunun genişlemesinden ve yüksek duyarlılığından dolayı immünohistokimyasal yöntemler daha çok tercih edilmektedir⁽⁵⁾. Ayrıca, gelişen tekniklere bağlı olarak, özellikle parafin gömülü dokularda immünoperoksidaz yöntemin kullanılmaya başlanması sonrasında fonksiyonel morfoloji için geniş bir alan yaratılmıştır^(6,7). Son yıllarda, laboratuvarlarda uygulanan immünohistokimyasal teknik, tanı için kuvvetli bir araç haline gelmiştir⁽⁸⁾. Histokimyasal ve immünohistokimyasal teknikler birlikte kullanıldığında doğru tanıya yaklaşım oranı artabilir. Bununla beraber, immünohistokimyasal olarak kolaylıkla gösterilemeyen ancak histokimyasal tekniklerle belirlenebilen doku özellikleri de mevcuttur⁽⁵⁾. Çalışmamızda histokimyasal testlerin en sık tümör dışı lezyonlara, neoplastik lezyonlar içinde ise epitelyal tümörlere uygulandı; immünohistokimyasal yöntemlerin ise en sık epitelyal tümörlerin ayırıcı tanısında kullanıldığı ortaya çıkmıştır.

Tümör tanısına yardımcı olan çok sayıda monoklonal ve poliklonal antikorun kullanıldığı immünohistokimyasal yöntemlerde, bazı antijenlerin veya antijen gruplarının ekspresyonu, belirli bazı tümörler için karakteristiktir (Tablo II). Bazı olgularda histokimyasal/immünohistokimyasal bulgular morfolojik görünüm ile çelişkili olabilir veya morfolojik görünümü desteklemeyebilir. Bu yöntemler yorumlanırken, tanısal yeterlilikleri, olası yanlış pozitiflik ve negatiflik gibi durumların

Tablo II. Spesifik Antikorların Tümörlere Göre Ekspresyonları.

Antikorlar	Ekspresyon gösterdiği tümörler
Sitokeratinler (CK)	Karsinomlar, epiteloid sarkom, sinovyal sarkom, bazı anjiosarkomlar ve leiomyosarkomlar, mezotelyoma, ekstrarenal rabdoid tümör
Vimentin	Sarkomlar, melanom, bazı karsinomlar ve lenfomalar
Desmin	Benign ve malign düz ve çizgili kas tümörleri
Glial fibrillary acidic protein (GFAP)	Gliomalar ve bazı schwannomalar
Nörofilamentler	Nöroblastik tümörler
Pan-muscle actin	Benign ve malign düz ve çizgili kas tümörleri, myofibroblastik tümörler ve psödötümörler
Smooth muscle actin (SMA)	Benign ve malign düz kas tümörleri, myofibroblastik tümörler ve psödötümörler
Miyojenik nükleer proteinler (Myojen, MyoD1)	Rhabdomyosarkom
S100 protein	Melanom, benign ve malign periferik sinir kılıfı tümörleri, kırıkdam tümörleri, normal yağ dokusu, Langerhans hücreleri
Epithelial membrane antigen (EMA)	Karsinomlar, epiteloid sarkom, sinovyal sarkom, bazı sinir kılıfı tümörleri (perinöroma), menenjiomalar, anaplastik büyük hücreli lenfoma
CD31	Benign ve malign vasküler tümörler
Von Willebrand factor Factor VIII-related (antigen)	Benign ve malign vasküler tümörler
CD34	Benign ve malign vasküler tümörler, soliter fibröz tümör, hemanjioperistoma, epiteloid sarkom, dermatofibrosarkom protüberans
CD99 (MIC2 gen ürünü)	Ewing sarkomu/primitif nöroektodermal tümör, bazı rhabdomyosarkomlar, bazı sinovyal sarkomlar, lenfoblastik lenfoma, mezenşimal kondrosarkom, küçük hücreli osteosarkom
CD45 (Leucocyte common antigen)	Lenfoma
CD30 (Ki-1)	Anaplastik büyük hücreli lenfoma
CD68	Makrofajlar, fibrohistiyositik tümörler, granüler hücreli tümörler, çeşitli sarkomlar, melanomalar, karsinomlar
Melanozom-spesifik antijen (HMB-45, Melan-A, tirozinaz, mikrofalmin transkripsiyon faktör)	Melanom, anjiomyolipom, berrak hücreli sarkom, melanositik schwannoma

göz önünde bulundurulması gerekir. Histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemler, bugün için belirli koşullarda yol gösterici olan ve morfolojik tanıyı destekleyen tekniklerdir^(5,8).

Histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerin tanıya yardımcı olma oranları, gösterilmek istenen kimyasal bileşiğe uygun reaksiyonun ve antijenik epitopa özgül antikorun kullanılmasına bağlıdır. Çalışmamızda bu iki laboratuvar yönteminin birlikte uygulanmasıyla kesin tanıya yardımcı olan anlamlı pozitif sonuçlar, spesifik belirleyicilerin kullanılmasına bağlı olarak en fazla vasküler tümörlerde saptanmıştır.

Geliş Tarihi : 29.06.2006

Yayına kabul tarihi : 31.10.2006

Yazışma adresi :

Dr. Figen BARUT

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi

Patoloji Anabilim Dalı

67600 Kozlu / ZONGULDAK

Tel. : 0372 261 02 43 / 4443

Faks : 0372 261 01 55

e-posta: figenbarut@yahoo.com

KAYNAKLAR

1. Üstünel İ. Histokimya ve temel elemanları, Demir R (ed.) Histolojik Boyama Teknikleri, Ankara, Palme, 2001; 195-225.
2. Rosai J. Special techniques in surgical pathology In: Rosai J (ed.) Rosai and Ackerman's Surgical Pathology (9th ed), V. 1. Philadelphia, Mosby, 2004; 37-91.
3. Mills B. Immunohistochemistry. In: Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH. (ed.) Laboratory Methods in Histotechnology, Armed Forces Institute of Pathology, Washington DC, 1992; 247-255.
4. Korgun E.T. İmmünohistokimya uygulamaları ve örnek protokoller, Demir R (ed.) Histolojik boyama teknikleri, Ankara, Palme, 2001; 285-305.
5. Weiss SW, Goldblum JR. Approach to the diagnosis of soft tissue tumors. In: Weiss SW, Goldblum JR (ed.) Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. (4th ed), St. Louis, Mosby, 2001; 189-197.
6. Shi SR, Cote RJ, Taylor CR. Antigen Retrieval Techniques: Current Perspectives, J Histochem Cytochem 2001; 49: 931-937.
7. Shi SR, Key ME, Karla KL. Antigen Retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: An enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. J Histochem Cytochem 1991; 39: 741-748.
8. Folpe AL, Gown AM. Immunohistochemistry for analysis of soft tissue tumors. In: Weiss SW, Goldblum JR (ed.) Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. (4th ed), St. Louis, Mosby, 2001; 199-245.