

## افتراق هیستوپاتولوژیک کندروما و کندروسارکومای خوب تمایز یافته با استفاده از

### نشانگر BCL-2 به روش ایمونوهیستوشیمیایی

دکتر نوشین جلایر نادری\*، دکتر فرخ تیرگری\*\*، دکتر مهدی عاشوری\*\*\*، دکتر محمدجواد خرازی فرد\*\*\*\*، دکتر اعظم نجاتیان\*\*\*\*\*

#### چکیده

**سابقه و هدف:** کندروما و کندروسارکوما با درجه تمایز بالا، نمای هیستوپاتولوژیک بسیار مشابهی دارند. علیرغم این شباهت، ماهیت بیولوژیک این دو تومور متفاوت است. اشتباه در تشخیص دقیق پاتولوژیک این دو ضایعه سبب می‌شود طرح درمان بیماران با اشکال مواجه شود و در صورت تشخیص اشتباه، ناخواسته بیماران تحت جراحی وسیع قرار گیرند. در این زمینه، نقش نشانگرهای ایمونوهیستوشیمیایی در تشخیص افتراقی تومورهای غضروفی مورد توجه می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی افتراق هیستوپاتولوژیک کندروما و کندروسارکومای با درجه تمایز بالا با استفاده از نشانگر Bcl-2 به روش ایمونوهیستوشیمیایی و بدست آوردن *Cut off point* مناسب بود.

**مواد و روشها:** مطالعه حاضر به روش توصیفی-تحلیلی گذشته‌نگر انجام گرفت. جامعه آماری پرونده‌های هیستوپاتولوژیک با یگانگی بخش پاتولوژی انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی تهران در محدوده سال‌های ۱۳۷۰ تا ۱۳۸۵ بود. از میان پرونده‌های مذکور، تمامی موارد تشخیص داده شده با عناوین کندروما و کندروسارکوما با تمایز خوب جدا شدند. ۶ عدد کندروما و ۱۱ عدد کندروسارکوم با تمایز خوب در مطالعه وارد شدند. بلوک‌های پارافین این نمونه‌ها تحت رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی با نشانگر Bcl-2 قرار گرفتند. شاخص رده‌بندی هر تومور بدین ترتیب محاسبه گردید: تعداد سلول‌های تومورال رنگ شده تقسیم بر ۱۰۰۰ کندروسیت. میانگین شاخص رده‌بندی گروه‌های کندروما و کندروسارکوما محاسبه شد. آزمون T جهت آنالیز آماری مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. یافته‌ها: میانگین شاخص رده‌بندی در گروه کندروما  $17/72 \pm 7/12$  و در گروه کندروسارکوما  $37/19 \pm 12/32$  بود. اختلاف معناداری بین میانگین شاخص رده‌بندی دو گروه مشاهده شد ( $p=0/004$ ). سطح زیر منحنی ROC برابر  $0/886$  واحد به دست آمد. میزان *Cut off point* برابر ۳۰ با ویژگی ۱۰۰٪ و حساسیت ۸۱/۸٪ به عنوان *Cut off point* مناسب در نظر گرفته شد. نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که Bcl-2 نشانگر مناسبی در تشخیص افتراقی کندروما از کندروسارکوم با تمایز خوب می‌باشد.

**کلید واژگان:** کندروما، کندروسارکوم با تمایز خوب، Bcl-2

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۹/۶ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۲/۱۵ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۸۹/۳/۱۰

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹، ۱۵۳-۱۴۸

#### مقدمه

بقایای غضروفی در قدام ماگزیلا، سمفیز، کرونیوید و کندیل به وجود می‌آیند (۱). کندروسارکوما تومور بدخیم غضروفی با رشد آهسته، به صورت موضعی مهاجم و دارای پتانسیل عود می‌باشد (۲).

کندروما توموری خوش‌خیم متشکل از غضروف هیالین بالغ می‌باشد که عمدتاً استخوان‌های کوتاه دست و پا را درگیر می‌کند. بافت غضروفی این تومور از کندروسیت‌های کوچک حاوی هسته‌های کوچک شکل می‌گیرد. کندروماهای فکین از

Hameetman و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کرده‌اند که Bcl-2 نشانگری مفید در تشخیص افتراقی بین استئوکندروما و کندروسارکوما می‌باشد. بیان این نشانگر ارتباطی با اندازه تومور، سن و جنس بیماران نداشته است (۶).

ارتباط بین افزایش بیان Bcl-2 با افزایش درجه هیستوپاتولوژیک کندروسارکوما نیز نشان داده شده است (۷،۸).

هدف از این مطالعه افتراق هیستوپاتولوژیک کندروما و کندروسارکوما با درجه تمایز بالا با استفاده از نشانگر Bcl-2 به روش ایمونوهیستوشیمیایی و به دست آوردن Cut off point مناسب بود.

### مواد و روشها

مطالعه حاضر به روش توصیفی-تحلیلی گذشته‌نگر انجام گرفت. جامعه آماری، پرونده‌های هیستوپاتولوژیک و بلوک‌های پارافینه فیکس شده در فرمالین بایگانی بخش پاتولوژی انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی تهران در محدوده سال‌های ۱۳۷۰ تا ۱۳۸۵ بود. نمونه‌گیری به روش نمونه‌گیری آسان صورت پذیرفت. از میان پرونده‌های مذکور، تمامی موارد تشخیص داده شده با عناوین کندروما و کندروسارکوما با تمایز خوب جدا شدند. لام‌های مقاطع هیستوپاتولوژیک این ضایعات مورد بازبینی مجدد قرار گرفتند. در این بررسی لام‌هایی که از مقطع مناسب بافتی از نظر اندازه و مقدار بافت غضروفی برخوردار بودند و ثبوت مناسب داشتند، انتخاب شدند. ۶ عدد کندروما و ۱۱ عدد کندروسارکوم با تمایز خوب در مطالعه وارد شدند. بلوک پارافینه این نمونه‌ها تحت رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی با نشانگر Bcl-2 قرار گرفتند. بررسی ایمونوهیستوشیمیایی به روش بیوتین-آویدین انجام شد.

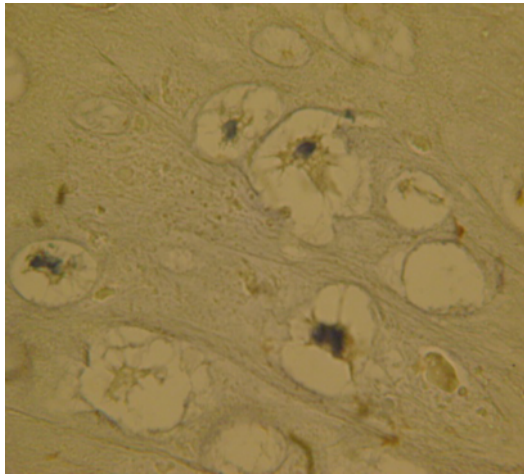
پس از تهیه مقاطع بافتی از بلوک‌های پارافینه، حذف پارافین مقاطع بافتی انجام و نمونه‌ها با پروکسید هیدروژن به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شدند. سپس، نمونه‌ها در محلول بافری سیترات با pH=۶ قرار داده شده و در مایکروفر جهت بازیافت آنتی‌ژن حرارت داده شدند. در ادامه، آنتی‌بادی مونوکلونال اولیه Bcl-2 (BCL-2 code: RTU-BCL-2 clone: Dako, 2/100/D7، به مدت ۱ ساعت روی مقاطع اثر داده شد. آنتی‌بادی ثانویه استرپتاویدین HRP و دی‌آمینوبنزیدین هر کدام به مدت ۱۰ دقیقه به طور متوالی بر روی نمونه‌ها اثر داده شدند. در بین مراحل فوق، مقاطع

سلول‌های تومورال در این تومور بافتی غضروفی تولید می‌کنند که درجات متغیری از بلوغ و سلولاریته دارد. کندروسارکوم براساس نمای هیستوپاتولوژیک به سه درجه طبقه‌بندی می‌شود. هر چه نمای بافت تومورال به غضروف طبیعی شبیه‌تر باشد، درجه هیستوپاتولوژیک تومور بالاتر است. ماتریکس غضروفی کندروسارکوم درجه یک حاوی کندروبلاست‌هایی است که شباهت بسیار زیادی به بافت طبیعی دارند، به طوری که تمایز بین کندروما و تومور بدخیم با تمایز خوب را بسیار مشکل می‌کند (۱).

کندروما و کندروسارکوما با درجه تمایز بالا، علیرغم تفاوت‌های بیولوژیک نمای بافت شناختی بسیار مشابه‌ای دارند. وجود کندروبلاست‌های دوهسته‌ای و بزرگ را وجه تمایز هیستوپاتولوژیک این دو تومور می‌دانند (۱). این تمایز در بیوپسی‌های انسیزنال که تنها به بررسی قسمتی از ضایعه می‌پردازد، تشخیص میکروسکوپیکی قطعی را امکان‌پذیر نمی‌کند، به همین دلیل تشخیص افتراقی پاتولوژیک بین کندروما و کندروسارکوم با تمایز خوب همچنان مورد بحث است و در دسترس داشتن شاخصی که به وسیله آن بتوان با اطمینان بیشتر این دو تومور را از یکدیگر بازشناخت، از ارزش بسیاری برخوردار خواهد بود. عدم تشخیص به موقع و صحیح این دو ضایعه جبران‌ناپذیر خواهد بود به طوری که تشخیص اشتباه یک کندروسارکوما به جای یک کندروما سبب جراحی وسیع‌تر و از دست رفتن بخشی از اندام یا تشخیص یک کندروسارکوم با درجه تمایز بالا به جای کندروما سبب عود و پیشرفت تومور می‌شود. با در نظر داشتن آنکه این دو ضایعه از نظر هیستوپاتولوژیک بسیار شبیه هستند، بدست آوردن Cut off point یک شاخص مناسب به پاتولوژیست کمک می‌کند تا با اطمینان بیشتری این دو ضایعه را از هم تشخیص دهد.

مطالعات نشان داده‌اند ژن‌های القا کننده مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در بروز سرطان دخیلند. ژن‌های Bcl-2 بخش بزرگی از ژن‌های تنظیم کننده آپوپتوزیس را تشکیل می‌دهند (۳). آپوپتوزیس روندی چندمرحله‌ای است و Bcl-2 نقشی مستقل در بیان آن ایفا می‌کند. نقش این ژن در ایجاد برخی از بیماری‌ها مشخص شده است (۴).

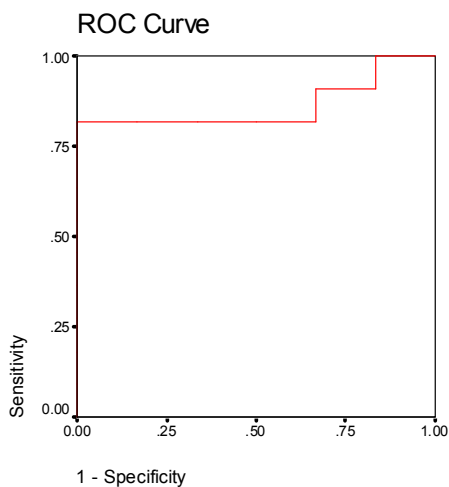
Amling و همکاران (۱۹۹۸) افزایش قابل ملاحظه بیان Bcl-2 و PTHrP را در کندروسارکوم در مقایسه با انکندروما نشان دادند. ایشان دریافتند که سطح بیان این پروتئین‌ها با درجه بدخیمی تومورهای غضروفی مرتبط است (۵).



تصویر ۲- هسته کندروسیت‌ها در یک کندروسارکومای خوب تمایز یافته که دارای رنگ‌پذیری قهوه‌ای تیره نسبت به نشانگر BCL-2 می‌باشند.

#### یافته‌ها

میانگین شاخص رده‌بندی در گروه کندروما  $17/72 \pm 7/12$  و در گروه کندروسارکوما  $37/19 \pm 12/22$  بود. اختلاف معناداری بین میانگین شاخص رده‌بندی دو گروه مشاهده شد ( $p=0/004$ ). جدول یک شاخص رده‌بندی گروه‌های کندروما و کندروسارکومای خوب تمایز یافته را نشان می‌دهد. سطح زیر منحنی ROC برابر  $0/886$  واحد به دست آمد (نمودار ۱)، که با مقایسه نقاط متناظر در این منحنی میزان Cut off point برابر ۳۰ با ویژگی ۱۰۰٪ و حساسیت ۸۱/۸٪ به عنوان Cut off point مناسب در نظر گرفته شد.



نمودار ۱ - سطح زیر منحنی ROC

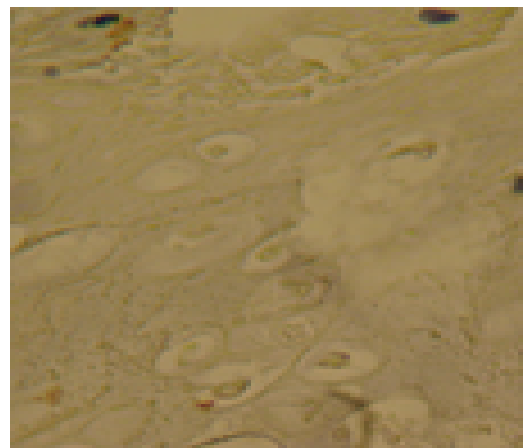
به وسیله PBS شستشو شدند. رنگ همتوکسیلین به عنوان رنگ‌آمیزی زمینه استفاده شد. سلول‌های لنفوسیت به عنوان نمونه کنترل مثبت در نظر گرفته شدند.

شمارش سلولی مقاطع رنگ‌آمیزی شده با میکروسکوپ نوری ZEISS (آلمان) و با درشت‌نمایی ۱۰۰۰ برابر با روغن ایمرسیون انجام شد. در هر مقطع، تعداد ۱۰۰۰ سلول غضروفی شمارش شدند. سلول غضروفی باید دارای لاکونای مشخص بوده، در ماتریکس یکنواخت و بی‌شکل هیالین قرار می‌گرفت(۱).

در این زمینه، سلول‌هایی با هسته قهوه‌ای تیره شمارش شدند (اشکال ۲ و ۱). شمارش سلولی به صورت کور انجام گرفت و هر نمونه دو بار شمارش شد. از آنجا که هدف حصول شاخص رده‌بندی (Labelling Index) بود، بدون توجه به تعداد مقاطع میکروسکوپی، ۱۰۰۰ سلول تومورال شمرده شد(۹).

شاخص رده‌بندی براساس فرمول شاخص رده‌بندی=تعداد سلول‌های تومورال رنگ شده/۱۰۰۰ کندروسیت محاسبه گردید.

میانگین شاخص رده‌بندی گروه‌های کندروما و کندروسارکوما محاسبه شد. آزمون T جهت آنالیز آماری مطالعه مورد استفاده قرار گرفت.  $p < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.



شکل ۱- کندروسیت‌ها، فاقد رنگ‌پذیری نسبت به نشانگر BCL-2 می‌باشند. تصویر به یک تومور کندروما تعلق دارد.

جدول ۱- شاخص رده بندی گروه‌های کندروما و کندروسارکوم با تمایز خوب

ضایعه	شاخص										
کندروما	۲۰	۲۲/۱۱	۱۲/۱۴	۸/۳۶	۲۱/۵۶	۲۲/۲۱					
کندروسارکوم با تمایز خوب	۴۱/۴۴	۳۸/۰۵	۱۹/۲۸	۵۵/۸۶	۱۰/۱۵	۴۰/۶۹	۳۹/۹۲	۴۲	۴۱/۹۳	۳۶/۹۱	۴۲/۸۵

## بحث

دهنده کاهش معنی‌دار بیان Bcl-2 بود. این یافته نشان دهنده اثر این ماده در ممانعت از رشد سلول‌های کندروسارکوم می‌باشد (۲۲).

Chen و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان دادند که پروتئین Programmed Cell Death 5 (PDCD5) سلول‌های کندروسارکوم را به سیس پلاتین حساس کرده، سبب ممانعت از رشد سلولی و کاهش بیان Bcl-2 می‌شود (۲۳). این یافته‌ها بیانگر آنست که نشانگر Bcl-2 توانایی نمایش تغییرات بدخیمی در سلول‌های کندروسیت را دارد.

در بررسی Hameetman و همکاران (۲۰۰۵) Bcl-2 با ویژگی ۹۵٪ و حساسیت ۷۵٪ در تشخیص استئوکندروما از کندروسارکوما موفق عمل نمود. ارزش پیشگویی مثبت در این مطالعه ۸۴٪ بود. ایشان Bcl-2 را نشانگر مفیدی در تشخیص افتراقی این دو ضایعه می‌دانند (۴).

Bovée و همکاران (۲۰۰۰) بدون آنکه ویژگی و حساسیت نشانگر Bcl-2 را در تشخیص افتراقی استئوکندروما از کندروسارکوما بیان کنند، گزارش کردند که بیان Bcl-2 در کندروسارکوما افزایش می‌یابد و این افزایش با بالا رفتن درجه هیستوپاتولوژیک تومور مرتبط است (۸).

Amling و همکاران (۱۹۹۸) نیز بیان بیشتر نشانگر Bcl-2 در کندروسارکوم در مقایسه با کندروم را نشان دادند. ایشان در این مطالعه اشاره‌ای به ویژگی و حساسیت نشانگر Bcl-2 در تشخیص افتراقی این دو ضایعه نکردند (۵).

یافته‌های مطالعه حاضر با یافته‌های مطالعات فوق همخوانی دارد. در این بررسی‌ها، افزایش بیان Bcl-2 در ضایعه بدخیم در مقایسه با تومور خوش‌خیم نشان داده شده است. ویژگی و حساسیت بدست آمده در این مطالعه به یافته Hameetman و همکاران (۲۰۰۵) (۶) بسیار نزدیک است. بالا بودن این معیار نشان می‌دهد که Bcl-2 می‌تواند نشانگر مناسبی در تشخیص افتراقی کندروسارکوم از کندروم باشد. از آنجا که Bcl-2 نوعی پروتئین ممانعت کننده از

یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده اختلاف آماری معناداری بین میانگین شاخص رده‌بندی کندروما و کندروسارکوم با تمایز خوب در بررسی ایمونوهیستوشیمیایی نشانگر Bcl-2 بود. میزان Cut off point برابر ۳۰ با ویژگی ۱۰۰٪ و حساسیت ۸۱/۸٪ بدست آمد. این بدان معنا است که اگر میانگین شاخص رده‌بندی برابر ۳۰ یا بیشتر از آن باشد، آن ضایعه با احتمال ۸۱/۸٪ کندروسارکوم خوب تمایز یافته و اگر میانگین کمتر از ۳۰ باشد با احتمال ۱۰۰٪ کندروما است.

روش‌های متفاوتی جهت افتراق کندروما و کندروسارکوما به خوبی تمایز یافته پیشنهاد شده‌اند. در این میان خصوصیات بافت‌شناسی و مورفولوژیک سلول‌ها، مشخصات بالینی، هیستوشیمیایی، رادیوگرافیک، سیتوژنتیک و فوق ساختاری بررسی شده‌اند (۱۵-۱۰، ۱). نشانگرهایی همانند CM6, PTHrP, IHH, Ki-67, PTHLH و P21 نیز به عنوان معیارهای قابل استفاده جهت افتراق این دو ضایعه مطرح شده‌اند (۱۸-۱۶، ۵).

از میان تمامی این روش‌ها، ایمونوهیستوشیمیایی روشی مناسب برای تشخیص افتراقی این دو ضایعه است.

Bcl-2 ژنی دخیل در روند آپوپتوزیس است و بررسی بیان آن با روش ایمونوهیستوشیمیایی به خوبی قابل بررسی می‌باشد. یافته‌های این تحقیق نشان داد که نشانگر Bcl-2 مارکر مناسبی جهت تشخیص افتراقی کندروم و کندروسارکوم با تمایز خوب است.

Rozeman و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که بیان Bcl-2 در بخش غضروفی کندروسارکوما که تمایز خود را از دست داده در مقایسه با کندروسارکوم محیطی ثانویه کمتر است (۱۹).

بیان Bcl-2 در تومورهای بدخیم غضروفی در مطالعات دیگر نیز بررسی شده است (۲۱، ۲۰).

Tang و همکاران (۲۰۱۰) روی اثر اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات بر رشد و آپوپتوز سلول‌های کندروسارکوم نشان

ایمونوهیستوشیمیایی Bcl-2 مشاهده شد. این یافته بیانگر آن است که Bcl-2 در تشخیص افتراقی کندروم از کندروسارکوم با تمایز خوب نشانگر مناسبی است.

#### سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه شاهد انجام گرفته است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشکده دندانپزشکی شاهد تشکر می‌گردد.

آپوپتوز می‌باشد، می‌توان انتظار داشت بیان آن در یک تومور بدخیم افزایش یابد. یافته‌های بدست آمده در مورد نقش Bcl-2 در ارتباط با روند بدخیمی تومورهای کندروئید هنوز اندک است و به مطالعات بیشتری در خصوص تفاوت بیان Bcl-2 در تشخیص افتراقی کندروم از کندروسارکوم در ارتباط با سن و جنس بیماران نیاز است.

#### نتیجه گیری

اختلاف آماری معناداری بین میانگین شاخص رده‌بندی کندروما و کندروسارکوم با تمایز خوب در بررسی

#### References

1. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE: Oral and maxillofacial pathology. 3rd Ed. China: WB Saunders Co. 2009;14:656-666.
2. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN: Robbins Basic pathology. 8<sup>th</sup> Ed. China: Saunders Elsevier Co. 2007;21:814-815.
3. Kumar V, Abbas AK, Fausto N: Pathologic basis of disease. 7<sup>th</sup> Ed. China: Elsevier Saunders Co. 2004;7:306.
4. Zamzami N, Brenner C, Marzo I, Susin SA, Kroemer G: Subcellular and submitochondrial mode of action of Bcl-2 like oncoproteins. Oncogene 1998;16:2265-2282.
5. Amling M, Pösl M, Hentz MW, Priemel M, Delling G: PTHrP and Bcl-2: essential regulatory molecules in chondrocyte differentiation and chondrogenic tumors. Verh Dtsch Ges Pathol 1998;82:160-169.
6. Hameetman L, Kok P, Eilers PH, Cleton-Jansen AM, Hogendoorn PC, Bovée JV: The use of Bcl-2 and PTHLH immunohistochemistry in the diagnosis of peripheral chondrosarcoma in a clinicopathological setting. Virchows Arch 2005;446:430-437.(Epub 2005 Mar 3).
7. Rozeman LB, Hameetman L, Cleton-Jansen AM, Taminiau AH, Hogendoorn PC, Bovée JV: Absence of IHH and retention of PTHrP signalling in enchondromas and central chondrosarcomas. J Pathol 2005;205:476-482.
8. Bovée JV, Van den Broek LJ, Cleton-Jansen AM, Hogendoorn PC: Up-regulation of PTHrP and Bcl-2 expression characterizes the progression of osteochondroma towards peripheral chondrosarcoma and is a late event in central chondrosarcoma. Lab Invest 2000;80:1925-1934.
9. Bubendorf L, Sauter G, Moch H, Schmid HP, Gasser TC, Jordan P, et al: Ki67 labelling index: an independent predictor of progression in prostate cancer treated by radical prostatectomy. J Pathol 1996;178:437-441.
10. Flemming DJ, Murphey MD: Enchondroma and chondrosarcoma. Semin Musculoskelet Radiol 2000;4:59-71.
11. Gajewski DA, Burnette JB, Murphey MD, Temple HT: Differentiating clinical and radiographic features of enchondroma and secondary chondrosarcoma in the foot. Foot Ankle Int 2006;27:240-244.
12. Geirnaerd MJ, Hermans J, Bloem JL, Kroon HM, Pope TL, Taminiau AH, et al: Usefulness of radiography in differentiating enchondroma from central grade 1 chondrosarcoma. AJR Am J Roentgenol 1997;169:1097-104.
13. Mirra JM, Gold R, Downs J, Eckardt JJ: A new histologic approach to the differentiation of enchondroma and chondrosarcoma of the bones. A clinicopathologic analysis of 51 cases. Clin Orthop Relat Res 1985;201:214-237.

14. Kusuzaki K, Murata H, Takeshita H, Hirata M, Hashiguchi S, Tsuji Y, et al: Usefulness of cytofluorometric DNA ploidy analysis in distinguishing benign cartilaginous tumors from chondrosarcomas. *Mod Pathol* 1999;12:863-872.
15. Weiner SD: Enchondroma and chondrosarcoma of bone: clinical, radiologic, and histologic differentiation. *Instr Course Lect* 2004;53:645-649.
16. Helfenstein A, Frahm SO, Krams M, Drescher W, Parwaresch R, Hassenpflug J: Minichromosome maintenance protein (MCM6) in low-grade chondrosarcoma: distinction from enchondroma and identification of progressive tumors. *Am J Clin Pathol* 2004;122:912-918.
17. Ranty ML, Michot C, Le Pessot F, Hellot MF, Biga N, Dujardin FH, et al: PAS inclusions, immunoreactive tenascin and proliferative activity in low-grade chondrosarcomas. *Pathol Res Pract* 2003;199:29-34.
18. Rozeman LB, Hameetman L, Cleton-Jansen AM, Taminiou AH, Hogendoorn PC, Bovée JV: Absence of IHH and retention of PTHrP signalling in enchondromas and central chondrosarcomas. *J Pathol* 2005;205:476-482.
19. Rozeman LB, de Bruijn IH, Bacchini P, Staals EL, Bertoni F, Bovee JV, Hogendoorn PC: Dedifferentiated peripheral chondrosarcomas: regulation of EXT-downstream molecules and differentiation-related genes. *Mod Pathol* 2009;22:1489-1498. (Epub 2009 Sep 4).
20. Daugaard S, Christensen LH, Hogdall E: Markers aiding the diagnosis of chondroid tumors: an immunohistochemical study including osteonectin, bcl-2, cox-2, actin, calponin, D2-40 (podoplanin), mdm-2, CD117 (c-kit), and YKL-40. *Acta Pathologica, Microbiologica Et Immunologica Scandinavica* 2009;117:518-525.
21. Machado I, Giner F, Mayordomo E, Carda C, Navarro S, Llombart-Bosch A: Tissue microarrays analysis in chondrosarcomas: light microscopy, immunohistochemistry and xenograft study. *Diagn Pathol* 2008;15;3 Suppl 1:S25.
22. Tang GQ, Yan TQ, Guo W, Ren TT, Peng CL, Zhao H, et al: (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis and suppresses proliferation by inhibiting the human Indian Hedgehog pathway in human chondrosarcoma cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010 Feb 2. [Epub ahead of print]
23. Chen C, Zhou H, Xu L, Xu D, Wang Y, Zhang Y, et al: Recombinant human PDCD5 sensitizes chondrosarcomas to cisplatin chemotherapy in vitro and in vivo. *Apoptosis* 2010 Mar 27. [Epub ahead of print]