

# HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ALANINDA AKADEMİK TARTIŞMALAR

Editör: Prof.Dr. Sema TİMURKAAN

**yaz**  
yayınları

# **Histoloji ve Embriyoloji Alanında Akademik Tartışmalar**

**Editör**

Prof.Dr. Sema TİMURKAAN

**yaz**  
yayınları

2026

**Histoloji ve Embriyoloji Alanında  
Akademik Tartışmalar**

Editör: Prof.Dr. Sema TİMURKAAN

---

**© YAZ Yayınları**

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

---

E\_ISBN 978-625-8996-87-6

Haziran 2026 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3  
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

[www.yazyayinlari.com](http://www.yazyayinlari.com)

[yazyayinlari@gmail.com](mailto:yazyayinlari@gmail.com)

## İÇİNDEKİLER

**Hesaplamalı Histolojide Güncel Metodolojiler:**

**Araçlardan Analitik Modellere .....1**

*Nur ELAGÜL TOMBUL*

**Commonly Used Markers in Immunohistochemistry ....21**

*Salih ERAT*

*"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."*

# **HESAPLAMALI HİSTOLOJİDE GÜNCEL METODOLOJİLER: ARAÇLARDAN ANALİTİK MODELLERE**

**Nur ELAGÜL TOMBUL<sup>1</sup>**

## **1. GİRİŞ**

Günümüz akademik çalışmalarında dijital histoloji ve histopatoloji, geleneksel mikroskopik incelemelerin ötesine geçerek tamamen veri odaklı bir disipline dönüşmüştür. Devasa boyutlardaki "Tam Slayt Görüntüleme" teknolojisinin gelişmesiyle birlikte, insan gözünün algı kapasitesini aşan mikroskopik detayların analizi, ancak yapay zeka ve ileri bilgisayarlı görü algoritmalarıyla mümkün hale gelmiştir. Bu bölümde histolojik görüntü analizinin akademik dünyada neden vazgeçilmez bir araştırma alanı olduğu, doku morfolojisinden anlamlı veriler elde etmek için kullanılan temel ekosistem bileşenleri üzerinden ele alınmaktadır. Çalışma boyunca, gigapiksel ölçeğindeki görüntülerin işlenmesinden derin öğrenme modellerinin optimizasyonuna kadar uzanan teknik metodoloji, hastane rutininden ziyade akademik bir iş analitik akışının yapı taşları olarak incelenmektedir.

## **2. GELENEKSEL HİSTOPATOLOJİK ANALİZ**

Yapay zeka teknolojilerinin yaygınlaşmasından önceki süreçte, histolojik görüntülerin akademik ve klinik analizi büyük ölçüde uzman histolog ve patoloğların görsel yorumlamalarına ve

---

<sup>1</sup> Dr. Öğr. Üyesi, İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ORCID: 0000-0001-5962-5935.

manuel morfometrik ölçümlerine dayanmaktaydı. Bu dönemde araştırmalar, yarı-kantitatif olarak adlandırılan ve gözlemciler arası değişkenliğe oldukça açık olan skorlama sistemleri üzerinden yürütülmüştür. 1990'ların sonu ve 2000'lerin başında dijitalleşmenin ilk adımlarıyla birlikte, "Geleneksel Bilgisayarlı Görü" yöntemleri literatürde yerini almaya başlamıştır. Bu çerçevede araştırmacılar, histolojik doku özelliklerini tanımlamak maksadıyla matematiksel olarak önceden belirlenmiş öznitelikleri kullanmışlardır.

İlgili dönemde mikroskobik analizlerdeki altın standart, uzmanların mikroskop başında gerçekleştirdiği manuel hücre sayımları olmuştur. Ancak bu metodolojinin sınırlılıkları literatürde net bir biçimde dokümante edilmiştir. Dünyanın önde gelen referans laboratuvarları arasında dahi, manuel Ki-67 proliferasyon indeksinin değerlendirilmesinde ciddi uyumsuzluklar olduğu saptanmış ve manuel görsel tahmin yerine objektif sayım metotlarına geçişin elzem olduğu vurgulanmıştır (Polley vd., 2013). Bu veriler, mikroskobik doku değerlendirmesinde objektif ve tekrarlanabilir bir teknolojik altyapıya duyulan ihtiyacın temel akademik kanıtları arasında yer almaktadır.

Derin öğrenme öncesi bilgisayarlı analiz sistemlerinde algoritmalar otonom özellik öğrenme kapasitesinden yoksun olup kural tabanlı yönergelere ihtiyaç duymaktaydı. Örneğin; dokunun yapısal özelliklerini ölçmek amacıyla doku (texture) analizleri tercih edilmiştir. Haralick (Haralick, Dinstein, & Shanmugam, 1973) tarafından literatüre kazandırılan Gri Seviye Eş-Oluşum Matrisi (Gray Level Co-occurrence Matrix - GLCM), doku sınıflandırmasının metodolojik temelini oluşturmuştur. Araştırmacılar dokuyu matematiksel birer matris olarak ele alıp kontrast ve homojenlik gibi istatistiksel parametreler üzerinden neoplastik dokuyu sağlıklı dokudan ayırt etmeyi amaçlamışlardır. Ayrıca hücre çekirdeklerinin tespiti ve segmentasyonu için havza

dönüşümü (watershed) veya eşikleme (thresholding) gibi klasik morfometrik algoritmalar kullanılmıştır. Ancak Veta ve ark. (Veta, Plum, Van Diest, & Viergever, 2014), dijital patolojideki bu geleneksel tekniklerin kapsamlı bir envanterini sunarak klasik yöntemlerin özellikle üst üste binmiş hücrelerin ayrıştırılması gibi karmaşık doku mimarilerinde ne denli yetersiz kaldığını bilimsel olarak ortaya koymuştur.

Sonuç olarak, geleneksel bilgisayarlı görü yöntemleri temel olarak üç ana kısıtlılık sebebiyle metodolojik bir doygunluk ve tıkanma noktasına ulaşmıştır:

- 1) Özellik Mühendisliği (Feature Engineering): Mevcut algoritmalar yalnızca insan algısıyla tanımlanabilen morfolojik özellikleri (şekil, boyut, renk uzayı vb.) çıkarabilmekteydi. Oysa kanser dokusuna ait spesifik prognostik işaretler, standart gözlem ile henüz tam olarak tanımlanamayan karmaşık hücresel paternlerde yer almaktaydı.
- 2) Ölçeklenebilirlik Problemleri: Klasik analiz yöntemleri ve manuel incelemeler, binlerce tüm slayt görüntüsünden (Whole Slide Image - WSI) oluşan büyük veri setlerinin işlenmesi süreçlerinde hesaplama maliyeti, süre ve iş gücü açısından yetersiz kalmıştır.
- 3) Varyasyona Karşı Hassasiyet: Laboratuvarlar arası histokimyasal boyama protokollerindeki farklılıklar ve aydınlatma artefaktları, dışsal verilere karşı oldukça kırılgan olan klasik algoritmaların performansını ve genellenebilirliğini ciddi ölçüde zedelemiştir.

Belirtilen bu kısıtlılıklar, el ile özellik çıkarımına (hand-crafted feature extraction) dayalı analitik sistemlerin yerini, büyük veri setleri üzerinden kendi özellik hiyerarşilerini otonom

olarak öğrenebilen derin öğrenme (deep learning) mimarilerine bırakması için gerekli bilimsel zemini hazırlamıştır.

### **3. AKADEMİK EKOSİSTEM**

Akademik bir çalışmada model mimarisinin ötesinde verinin yönetimi, işleme süreçleri ve kullanılan kütüphaneler, çalışmanın metodolojik geçerliliği ve tekrarlanabilirliği açısından kritik öneme sahiptir. Yer gerçekliği verisinin oluşturulmasından, gradyanların hesaplandığı teknik katmana kadar uzanan bu süreç şu araçlar üzerinde şekillenmektedir:

#### **3.1. Anotasyon ve Dijital Analiz Platformları**

Derin öğrenme modellerinin eğitimi için gerekli olan yüksek nitelikli etiketli veri setleri, gelişmiş dijital patoloji platformları aracılığıyla oluşturulur:

- QuPath: Bankhead ve ark. (Bankhead vd., 2017) tarafından geliştirilen bu yazılım, biyomedikal görüntü analizinde standart bir ekosistem haline gelmiştir. Bio-Formats entegrasyonu sayesinde farklı mikroskop formatlarını desteklemesi ve yerleşik havza (watershed) tabanlı hücre tespiti ile StarDist gibi derin öğrenme modellerine izin veren esnek altyapısı, akademik tercih edilebilirliğini artırmıştır. Ayrıca Groovy tabanlı betikleme arayüzü (derleme gerektirmeyen, hızlı, esnek ve özlü kodlar yazma süreci - scripting), analiz süreçlerinin standardize edilmesini sağlayarak akademik çalışmalarda şeffaflık ve tekrarlanabilirlik sunar.
- ASAP (Automated Slide Analysis Platform): Özellikle yüksek çözünürlüklü WSI verilerinde büyük ölçekli poligon çizimleri ve bu anotasyonların maske verisine dönüştürülmesi süreçlerinde kritik rol oynar. Yazılım,

hiyerarşik XML formatındaki anotasyon verilerini piksel segmentasyon maskelerine dönüştürerek evrimsel sinir ağları (CNN) eğitimi için bir köprü işlevi görür (Litjens & Computational Pathology Group, 2018).

### **3.2. Programlama Çatıları ve Düşük Seviyeli Kütüphaneler**

Verinin modele giriş yaptığı ve matematiksel optimizasyonun gerçekleştiği teknik katmanı temsil eder.

- PyTorch ve MONAI: Dinamik hesaplama grafiği yapısı nedeniyle akademik literatürde baskın olan PyTorch (Paszke vd., 2019), tıbbi görüntüleme için özelleşmiş MONAI (Medical Open Network for AI) (Cardoso vd., 2022) ile desteklenmektedir. MONAI, histopatolojiye özgü veri artırma ve transformasyon kütüphaneleriyle modelin genellenebilirliğini artırır.
- OpenSlide ve PyVips: Gigapiksel düzeyindeki WSI dosyaları belleğe doğrudan sığmadığı için (Goode, Gilbert, Harkes, Jukic, & Satyanarayanan, 2013), bu kütüphaneler görüntüyü "on-the-fly" (gerektiği anda) diskten okumayı sağlar. Bu kütüphaneler, veri yükleyici mimarilerinin temel taşını oluşturarak verimli bellek yönetimine olanak tanır.

Ayrıca eğitim süreçlerinin izlenebilirliği ve hiperparametre optimizasyonu için Weights & Biases gibi deney yönetim araçları, akademik şeffaflık açısından iş akışına dahil edilmektedir.

### **3.3. Veri Yönetimi, Standartlaştırma ve Kıyaslama İçin Veri Setleri**

WSI verilerinin devasa boyutları nedeniyle, görüntülerin analiz edilebilir küçük karelere (patches/tiles) bölünmesi ve

ardından DICOM veya OME-TIFF gibi standartlara dönüştürülmesi, veri yönetiminin temelini oluşturur. Çalışmanın evrenselliği ve başarı kriterleri, veri formatlarının standartlaşması ve açık veri setleriyle kıyaslanmasıyla ölçülür.

- DICOM ve OME-TIFF: Çok merkezli projelerde veri paylaşımını mümkün kılmak adına görüntüler standart formatlara dönüştürülür. Radyolojide uzun süredir standart olan DICOM, günümüzde dijital patolojide de birleşik bir dil oluşturmaya başlamıştır (Besson vd., 2019; Linkert vd., 2010).
- TIGER ve Camelyon Veri Setleri: Açık erişimli bu veri setleri (Bejnordi vd., 2017), algoritmaların performansını kanıtlamak ve literatürdeki diğer çalışmalarla objektif kıyaslamalar yapabilmek için altın standart kıyaslama niteliği taşımaktadır.

#### **4. GÖRÜNTÜ ÖN İŞLEME STRATEJİLERİ**

Histolojik ve patolojik görüntülerle çalışırken karşılaşılan en büyük teknik engel, verinin devasa boyutları ve laboratuvarlar arası varyasyondur. Derin öğrenme modellerinin gigapiksel düzeyindeki WSI verilerini işleyebilmesi için verinin hem boyutsal hem de görsel olarak standardize edilmesi gerekir.

- 1) Yama çıkarma (patch extraction / tiling) ve doku segmentasyonu: WSI, devasa boyutları nedeniyle standart bir grafik işlemci (GPU) belleğine doğrudan sığmaz. Bu teknik kısıtlılığı aşmak için görüntüler, genellikle 256x256 veya 512x512 piksellik "yama" (patch) adı verilen alt birimlere bölünür.

Doku tespiti: Slaytın büyük bir kısmı tanısal değeri olmayan boş alanlardan (beyaz alan) oluşur. Hesaplama maliyetini minimize etmek amacıyla düşük çözünürlüklü

görüntüler üzerinde bir eşikleme (thresholding) maskesi oluşturulur ve yalnızca doku içeren bölgelerden örnekleme yapılır.

Örtüşmeli örnekleme (Overlapping): Kenar etkilerini azaltmak ve yama sınırlarında kalan hücre bütünlüğünü korumak amacıyla, yamalar genellikle belirli bir yüzdeyle (örneğin %10-%25) üst üste gelecek şekilde kesilir.

- 2) Renk normalizasyonu ve leke varyasyonu: Farklı laboratuvarlardaki boyama süreleri, kimyasal markalar veya tarayıcı kalibrasyonları, aynı dokunun farklı renk histogramlarına sahip olmasına neden olur. Bu durum, modelin genellenebilirliğini bozan en temel problemlerden biridir.
- Metematiksel metotlar (Macenko ve Reinhard): Geleneksel olarak kullanılan bu yöntemler, görüntünün renk matrisini istatistiksel olarak bir referans slayt ile eşitlemeye çalışır. Macenko yöntemi, hematoksilin ve eozin (H&E) gibi temel boyaların bileşenlerini ayrıştırarak optik yoğunluk düzeyinde bir standardizasyon sağlar (Macenko vd., 2009; Reinhard, Ashikhmin, Gooch, & Shirley, 2001).
- Modern Yaklaşım (Deep Stain Normalization): Son yıllarda, Üretken Çekişmeli Ağlar (CycleGAN) gibi mimariler kullanılarak bir laboratuvarın gelen görüntülerin stilini, modelin daha önce gördüğü bir laboratuvarın stiline transfer etmek akademik çalışmalarda standart hale gelmiştir (Shaban, Baur, Navab, & Albarqouni, 2018). Bu yöntem, geleneksel metotların aksine histolojik doku morfolojisini ve dokusunu (texture) bozmadan sadece renk dağılımını

optimize ederek modellerin farklı merkezlerden gelen verilere karşı dayanıklılığını artırır.

- 3) Gürültü azaltma ve otonom kalite kontrol: WSI işlemleri ve histolojik preparat hazırlık aşamaları doğası gereği dışsal hatalara oldukça açıktır. Doku katlanmaları, odak dışı bulanıklıklar, hava kabarcıkları veya lam üzerindeki kalem işaretleri gibi artefaktlar, derin öğrenme modellerinin yanlış öznitelikler öğrenmesine ve performansının ciddi şekilde düşmesine neden olur. Bu tür gürültülü verilerin modele girmeden önce ayıklanması, eğitim stabilitesi açısından kritik bir ön işleme adımıdır.
  - HistoQC: Bu araç, akademik iş akışlarında standart bir kalite kontrol mekanizması olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Janowczyk, Zuo, Gilmore, Feldman, & Madabhushi, 2019). HistoQC, WSI üzerindeki artefaktlı bölgeleri otonom olarak tespit ederek maskeler. Bu sayede, kusurlu veya bulanık yamalar eğitim setinden çıkarılır. Böylece hem modelin yanlış veriyle beslenmesi engellenir hem de hesaplama kaynakları sadece tanınal değeri olan doku alanları için harcanmış olur.
- 4) Veri artırma stratejileri: Derin öğrenme modellerinin ezberlemesini önlemek ve genellenebilirliğini artırmak için eğitim verisi sentetik olarak çoğaltılır. Ancak histopatolojide veri artırma, standart bilgisayarlı görü uygulamalarından farklı olarak doku morfolojisinin ve spesifik boyama özelliklerinin (örn. H&E) biyolojik anlamlılığının korunmasını gerektirir. Bu kapsamda akademik çalışmalarda standartlaşmış temel teknikler şunlardır:

- Geometrik artırmalar ve uzamsal deformasyonlar: Doku kesitlerindeki hücreler mikroskop altında yönelimden bağımsız bir doğaya sahiptir. Bu nedenle 90, 180 ve 270 derecelik döndürme ile ayna yansımaları standart olarak uygulanır. Ek olarak, mikrotomla doku kesimi sırasındaki fiziksel yırtılma ve bozulmaları simüle etmek amacıyla uygulanan “Elastik Deformasyonlar”, modelin hücresel şekil varyasyonlarına karşı yapısal direncini artırır.
- Renk ve parlaklık manipülasyonları (color jittering): Modelin laboratuvarlar arası boyama farklılıklarına hassasiyet geliştirmesini engellemek için eğitim aşamasında görüntülere renk uzayı manipülasyonları uygulanır. Özellikle H&E kanallarının optik yoğunluk değerlerine rastgele değişimler (jitter) eklenerek, modelin pembe-mor tonlarındaki in vitro dalgalanmalara karşı bağışıklık (robustness) kazanması sağlanır (Tellez vd., 2019).

## **5. HÜCRESEL SEGMENTASYON YAKLAŞIMLARI VE DERİN ÖĞRENME MİMARİLERİ**

Ön işleme adımlarıyla standardize edilen doku yamalarından anlamlı biyolojik verilerin elde edilmesi, histolojik yapıların piksel düzeyinde sınırlandırılmasını sağlayan segmentasyon algoritmaları ile gerçekleştirilir. Kanseri gibi doku mimarisinin bozulduğu durumlarda hücrelerin yoğun şekilde bir araya toplanması ve üst üste binmesi, bu aşamada doğru yaklaşımın seçilmesini zorunlu kılar.

## **5.1. Semantik ve Örnek Segmentasyonunun Kıyaslanması**

Segmentasyon probleminin doğası, çıkarılmak istenen bilginin türüne göre iki farklı analitik çerçevede ele alınır:

- 1) Semantik segmentasyon: Görüntüdeki her bir pikseli belirli bir biyolojik sınıfa (örn. çekirdek, stroma veya arka plan) atar. Ancak aynı sınıfa ait bitişik hücreleri birbirinden ayırt edemez. Temas halindeki tüm çekirdekleri tek bir birleşik maske olarak etiketler. Bu durum, hücre sayımından ziyade toplam tümör alanının hesaplanması gibi alan bazlı ölçümlerde tercih edilir.
- 2) Örnek segmentasyonu: Semantik sınıflandırmaya ek olarak, aynı sınıfa ait olan her bir yapıyı benzersiz birer otonom nesne olarak tanımlar ve sınırlarını izole eder. Özellikle hücre yoğunluğunun yüksek olduğu histolojik kesitlerde üst üste binen hücrelerin tek tek sayılabilmesi ve her bir çekirdeğe ait morfolojik ölçümlerin yapılabilmesi için kritik bir öneme sahiptir.

## **5.2. Segmentasyon Görevlerinde Kullanılan Temel Mimariler**

Hücresel düzeyde yüksek doğruluk oranlarına ulaşmak amacıyla akademik iş akışlarında standartlaşmış temel yapılar şunlardır:

- U-Net: Tıbbi görüntü segmentasyonunun temel taşı ve altın standardı olarak kabul edilmektedir. Sahip olduğu kodlayıcı-kod çözücü (encoder-decoder) yapısı ve uzamsal özellikleri kaybetmemeyi sağlayan atlamalı bağlantıları sayesinde nispeten küçük veri setleriyle dahi yüksek başarı oranları sunan bu

mimari, Ronneberger ve ark. tarafından geliştirilmiştir (Ronneberger, Fischer, & Brox, 2015).

- StarDist: Hücre çekirdeklerini yıldız-dışbükey poligonlar olarak modelleyen bu yenilikçi yaklaşım Schmidt ve ark. tarafından literatüre kazandırılmıştır (Schmidt, Weigert, Broaddus, & Myers, 2018). Geleneksel sınırlayıcı kutu tabanlı yaklaşımların aksine StarDist, histopatolojik görüntülerde sıklıkla karşılaşılan birbirine yapışık hücre kümelerinin yüksek hassasiyetle ayrıştırılmasında klasik yöntemlerden belirgin şekilde daha başarılı sonuçlar vermektedir.

## **6. DERİN ÖZNETELİK ÇIKARIMI VE KARAR MEKANİZMALARI**

Ön işleme ve standardizasyon aşamalarından geçerek optimize edilen piksellerin, klinik ve biyolojik olarak anlamlandırılabilir sonuçlara dönüştürülmesi derin öğrenme mimarilerinin öznetelik çıkarım (feature extraction) kapasitesine dayanmaktadır. Veriden öğrenilen bu matematiksel temsiller, doku morfolojisine dair karar mekanizmalarının temelini oluşturur.

### **6.1. Evrişimli Sinir Ağları ve Görsel Dönüştürücüler**

Güncel akademik literatür, histopatolojik görüntülerin analizinde iki temel mimarinin karakteristik özelliklerine ve bu mimarilerin hibrit kullanım potansiyellerine odaklanmıştır:

- Evrişimli Sinir Ağları (CNN): Uzun yıllardır bilgisayarlı görünün altın standardını oluşturan mimarilerdir (örn. ResNet, EfficientNet) (He, Zhang, Ren, & Sun, 2015). Paylaşımlı ağırlıklar ve kısıtlı alıcı alanlar sayesinde hücre sınırları, granüler yapılar

ve çekirdek atipisi gibi yerel öznelikleri yakalamada yüksek analitik başarı gösterirler.

- Görsel Dönüştürücüler (Vision Transformers - ViT): Tıbbi görüntüleme bir paradigma değişimi yaratan bu yaklaşım, Dosovitskiy ve ark. tarafından literatüre sunulmuştur (Dosovitskiy vd., 2020). CNN'lerin kısıtlı alıcı alan handikapını aşan ViT mimarisi, Öz-Dikkat (Self-Attention) mekanizması sayesinde görüntünün farklı bölgeleri arasındaki (örn. uzaktaki bir tümör hücresi ile çevresel damar yapısı arasındaki) ilişkileri ve bağlamsal özellikleri etkili bir biçimde modeller.

## **6.2. Derin Öznelik Temsili**

Kapsamlı WSI analizlerinde, modellerin rastgele ağırlıklarla sıfırdan eğitilmesi hem hesaplama maliyetini artırır hem de aşırı öğrenme riskini beraberinde getirir. Bu nedenle modern iş akışlarında iki temel yaklaşım öne çıkmaktadır:

- Transfer öğrenmesi: ImageNet gibi devasa doğal görüntü veri setlerinde önceden eğitilmiş modellerin ağırlıkları dondurulur ve bu ağırlar, histolojik yamalardan matematiksel öznelik vektörleri çıkarmak için birer araç olarak kullanılır.
- Öz-denetimli öğrenme (self-supervised learning - SSL): Modelin, herhangi bir insan etiketine (anotasyona) ihtiyaç duymadan, milyonlarca histoloji yaması üzerinden doku benzerliklerini ve yapısal temsilleri kendi kendine öğrendiği gelişmiş bir yaklaşımdır. SimCLR (Chen, Kornblith, Norouzi, & Hinton, 2020) ve DINO (Caron vd., 2021) gibi mimarilerle uygulanan SSL, patolojiye özgü temel modeller geliştirilmesine olanak tanımaktadır.

### **6.3. Çok Ölçekli Öğrenme Stratejileri**

Rutin klinik pratikte bir patoloğun teşhis koyarken mikroskop objektifini değiştirmesi—örneğin, doku mimarisini değerlendirmek için 10x büyütme, hücresel atipiyi incelemek için ise 40x büyütme geçmesi—gibi (Hashimoto vd., 2020), derin öğrenme algoritmaları da çoklu çözünürlük seviyelerinden beslenmelidir. Modern ağlar, aynı doku alanına ait farklı çözünürlükteki yamaları eşzamanlı olarak işleyip bağlamsal bilgileri birleştirerek karar verir. Bu çok ölçekli entegrasyon, akademik çalışmalarda model doğruluğunu ve güvenilirliğini en çok artıran tekniklerden biridir.

## **7. ZAYIF DENETİMLİ ÖĞRENME VE ÇOKLU ÖRNEK ÖĞRENİMİ**

Gigapiksel düzeyindeki WSI verileri üzerinde hücre veya doku bazlı piksel düzeyinde etiketleme yapmak, klinik uzmanlar için sürdürülebilir olmayan bir iş gücü ve zaman maliyeti yaratır. Bu sorunu aşmak amacıyla, sadece klinik patoloji raporlarından elde edilen slayt düzeyinde veya hasta düzeyinde kaba etiketlerin (örneğin; "bu slaytta tümör mevcut") kullanıldığı Zayıf Denetimli Öğrenme stratejileri, güncel akademik literatürün en ileri cephesini oluşturmaktadır. Bu alandaki standart analitik çerçeve ise Çoklu Örnek Öğrenimi (Multiple Instance Learning - MIL) metodolojisi üzerine inşa edilmiştir.

Standart tam denetimli öğrenmenin aksine, MIL probleminde modele verilen tekil yamaların hiçbirinin etiketi bilinmez. Bunun yerine istatistiksel bir modelleme yapısı. Tüm histolojik slayt bir "torba" olarak kabul edilir. Bu slayttan ön işleme aşamasında çıkarılan binlerce hücresel yama ise torbanın içindeki "örnekler" olarak tanımlanır. MIL varsayımına göre eğer torbanın içinde tanısal kriteri karşılayan en az bir tane pozitif örnek (kanser hücresi) varsa, o torba bütün olarak "pozitif"

etiketlenir. Torbanın "negatif" (sağlıklı) sınıfında yer alabilmesi için içindeki tüm örneklerin istisnasız negatif olması gerekmektedir.

Ancak erken dönem MIL uygulamaları, torba içindeki örnekler arasından en yüksek skoru alanı seçmek gibi basit kümeleme işlemlerine dayanmaktadır. Ancak günümüzde Ilse ve ark.'nın (Ilse, Tomczak, & Welling, 2018) ortaya çıkardığı, Lu ve ark. tarafından geliştirilen (Lu vd., 2021) ve literatürde paradigma değişimi yaratan Dikkat Tabanlı MIL (Attention-based MIL) mimarileri önem kazanmıştır. Bu mekanizmada model, slaytın nihai teşhisi için hangi yamaların (örneğin atipik hücre çekirdekleri veya tümör infiltrasyon alanları) daha yüksek öngörüselle değere sahip olduğunu kendi kendine öğrenir. Model, tanısal önemi yüksek olan yamalara daha yüksek "dikkat ağırlıkları" atayarak bunları karar sürecinde ön plana çıkarır. Bu mimarinin akademik çalışmalardaki en büyük avantajı, sadece yüksek doğruluk oranları sunması değil aynı zamanda yüksek ağırlık alan yamaların dikkat haritaları olarak görselleştirilmesine imkan tanıyarak derin öğrenmenin kara kutu problemini çözmesi ve modele açıklanabilirlik kazandırmasıdır.

## **8. SONUÇ**

Hesaplamalı histopatoloji, geleneksel morfolojik incelemeleri yüksek başarılı analitik süreçlere dönüştürerek patolojide yeni bir çağ başlatmıştır. Bu çalışmada incelenen metodolojik temeller, dijital bir slaytın piksellerinden klinik bir öngörüye uzanan karmaşık bir yapının her aşamasının, kendine özgü teknik zorluklar ve akademik çözüm yaklaşımları barındırdığını göstermektedir.

Gelecek perspektifinde, bu disiplinin klinik rutine tam entegrasyonu ve akademik geçerliliği için iki kritik olgu ön plana çıkmaktadır. Bunlardan birincisi açıklanabilirlik ve güven

konusudur. Derin öğrenme modellerinin kara kutu doğası, tıbbi karar verme süreçlerinde hala bir engel teşkil etmektedir. Dikkat Tabanlı MIL gibi mimariler, modelin odaklandığı bölgeleri görselleştirerek bu soruna bir çözüm sunsa da modellerin biyolojik olarak yorumlanabilir öznitelikler üzerinden karar vermesi, önümüzdeki dönemin en önemli araştırma başlıklarından biri olacaktır. İkincisi ise veri verimliliği ve az veri ile öğrenme hususudur. Nadir görülen hastalıklar veya kısıtlı anotasyon imkanları, dijital patolojide veri azlığı problemini doğurmaktadır. Bu noktada öz-denetimli öğrenme ve transfer öğrenmesi stratejileri, devasa veri setlerine duyulan ihtiyacı minimize ederek, kısıtlı veriden yüksek genellenebilirlik çıkarma potansiyeli taşımaktadır. Histopatolojiye özgü geliştirilen temel modeller, bu sorunun aşılmasında anahtar rol oynayacaktır.

Sonuç olarak QuPath ve ASAP gibi platformlarla başlayan, U-Net ve Vision Transformer gibi mimarilerle şekillenen bu teknolojik ekosistem, sadece bir yardımcı araç değil patolojiyi moleküler düzeydeki değişimleri görsel paternler üzerinden okuyabilen hassas tıp disiplininin bir parçası haline getirmektedir. Metodolojik standartlaşma ve açıklanabilirlik ilkeleri korunduğu sürece, hesaplamalı histopatoloji akademik araştırmaların ötesine geçerek kanser tanı ve tedavi protokollerinin ayrılmaz bir parçası olacaktır.

## **KAYNAKÇA**

- Bankhead, P., Loughrey, M. B., Fernández, J. A., Dombrowski, Y., McArt, D. G., Dunne, P. D., ... Hamilton, P. W. (2017). QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Scientific reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-017-17204-5>
- Bejnordi, B. E., Veta, M., Van Diest, P. J., Van Ginneken, B., Karssemeijer, N., Litjens, G., ... Venâncio, R. (2017). Diagnostic Assessment of Deep Learning Algorithms for Detection of Lymph Node Metastases in Women With Breast Cancer. *JAMA*, 318(22), 2199-2210. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2017.14585>
- Besson, S., Leigh, R., Linkert, M., Allan, C., Burel, J. M., Carroll, M., ... Swedlow, J. R. (2019). Bringing Open Data to Whole Slide Imaging. *Digital Pathology : 15th European congress, ECDP 2019, Warwick, UK, April 10-13, 2019 : proceedings. European Congress on Digital Pathology (15th: 2019: Warwick, England), 2019, 3-10.* [https://doi.org/10.1007/978-3-030-23937-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-23937-4_1)
- Cardoso, M. J., Li, W., Brown, R., Ma, N., Kerfoot, E., Wang, Y., ... Feng, A. (2022). MONAI: An open-source framework for deep learning in healthcare. *Geliş tarihi gönderen* <https://arxiv.org/pdf/2211.02701>
- Caron, M., Touvron, H., Misra, I., Jegou, H., Mairal, J., Bojanowski, P., & Joulin, A. (2021). Emerging Properties in Self-Supervised Vision Transformers. *Proceedings of the IEEE International Conference on Computer Vision*, 9630-9640. <https://doi.org/10.1109/ICCV48922.2021.00951>
- Chen, T., Kornblith, S., Norouzi, M., & Hinton, G. (2020). A Simple Framework for Contrastive Learning of Visual

Representations. 37th International Conference on Machine Learning, ICML 2020, PartF168147-3, 1575-1585. Geliş tarihi gönderen <https://arxiv.org/pdf/2002.05709>

Dosovitskiy, A., Beyer, L., Kolesnikov, A., Weissenborn, D., Zhai, X., Unterthiner, T., ... Houlsby, N. (2020). An Image is Worth 16x16 Words: Transformers for Image Recognition at Scale. ICLR 2021 - 9th International Conference on Learning Representations. Geliş tarihi gönderen <https://arxiv.org/pdf/2010.11929>

Goode, A., Gilbert, B., Harkes, J., Jukic, D., & Satyanarayanan, M. (2013). OpenSlide: A vendor-neutral software foundation for digital pathology. *Journal of Pathology Informatics*, 4(1), 27. <https://doi.org/10.4103/2153-3539.119005>

Haralick, R. M., Dinstein, I., & Shanmugam, K. (1973). Textural Features for Image Classification. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, SMC-3(6), 610-621. <https://doi.org/10.1109/TSMC.1973.4309314>

Hashimoto, N., Fukushima, D., Koga, R., Takagi, Y., Ko, K., Kohno, K., ... Takeuchi, I. (2020). Multi-scale Domain-adversarial Multiple-instance CNN for Cancer Subtype Classification with Unannotated Histopathological Images. *Proceedings of the IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 3851-3860. <https://doi.org/10.1109/CVPR42600.2020.00391>

He, K., Zhang, X., Ren, S., & Sun, J. (2015). Deep Residual Learning for Image Recognition. *Proceedings of the IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2016-December, 770-778. <https://doi.org/10.1109/CVPR.2016.90>

- Ilse, M., Tomczak, J. M., & Welling, M. (2018). Attention-based Deep Multiple Instance Learning. Proceedings of the 35th International Conference on Machine Learning, 2127-2136. PMLR. Geliş tarihi gönderen <https://proceedings.mlr.press/v80/ilse18a.html>
- Janowczyk, A., Zuo, R., Gilmore, H., Feldman, M., & Madabhushi, A. (2019). HistoQC: An Open-Source Quality Control Tool for Digital Pathology Slides. JCO clinical cancer informatics, 3(3), 1-7. <https://doi.org/10.1200/CCI.18.00157>
- Linkert, M., Rueden, C. T., Allan, C., Burel, J. M., Moore, W., Patterson, A., ... Swedlow, J. R. (2010). Metadata matters: access to image data in the real world. The Journal of cell biology, 189(5), 777-782. <https://doi.org/10.1083/JCB.201004104>
- Litjens, G., & Computational Pathology Group. (2018). ASAP - Automated Slide Analysis Platform (Radboud University Medical Center). Geliş tarihi 03 Mayıs 2026, gönderen ASAP - Automated Slide Analysis Platform [Software] website: <https://computationalpathologygroup.github.io/ASAP/>
- Lu, M. Y., Williamson, D. F. K., Chen, T. Y., Chen, R. J., Barbieri, M., & Mahmood, F. (2021). Data-efficient and weakly supervised computational pathology on whole-slide images. Nature Biomedical Engineering 2021 5:6, 5(6), 555-570. <https://doi.org/10.1038/s41551-020-00682-w>
- Macenko, M., Niethammer, M., Marron, J. S., Borland, D., Woosley, J. T., Guan, X., ... Thomas, N. E. (2009). A method for normalizing histology slides for quantitative analysis. Proceedings - 2009 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to

- Macro, ISBI 2009, 1107-1110.  
<https://doi.org/10.1109/ISBI.2009.5193250>
- Paszke, A., Gross, S., Massa, F., Lerer, A., Bradbury, J., Chanan, G., ... Chintala, S. (2019). PyTorch: An Imperative Style, High-Performance Deep Learning Library. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 32. Geliş tarihi gönderen <https://arxiv.org/pdf/1912.01703>
- Polley, M. Y. C., Leung, S. C. Y., McShane, L. M., Gao, D., Hugh, J. C., Mastropasqua, M. G., ... Nielsen, T. O. (2013). An international Ki67 reproducibility study. *Journal of the National Cancer Institute*, 105(24), 1897-1906. <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJT306>
- Reinhard, E., Ashikhmin, M., Gooch, B., & Shirley, P. (2001). Color transfer between images. *IEEE Computer Graphics and Applications*, 21(5), 34-41. <https://doi.org/10.1109/38.946629>
- Ronneberger, O., Fischer, P., & Brox, T. (2015). U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation. *Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*, 9351, 234-241. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-24574-4\\_28/SAVE-RESEARCH](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24574-4_28/SAVE-RESEARCH)
- Schmidt, U., Weigert, M., Broaddus, C., & Myers, G. (2018). Cell Detection with Star-convex Polygons. *Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*, 11071 LNCS, 265-273. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-00934-2\\_30](https://doi.org/10.1007/978-3-030-00934-2_30)
- Shaban, M. T., Baur, C., Navab, N., & Albarqouni, S. (2018). StainGAN: Stain Style Transfer for Digital Histological

Images. Proceedings - International Symposium on Biomedical Imaging, 2019-April, 953-956. <https://doi.org/10.1109/ISBI.2019.8759152>

Tellez, D., Litjens, G., Bándi, P., Bulten, W., Bokhorst, J. M., Ciompi, F., & van der Laak, J. (2019). Quantifying the effects of data augmentation and stain color normalization in convolutional neural networks for computational pathology. *Medical Image Analysis*, 58. <https://doi.org/10.1016/j.media.2019.101544>

Veta, M., Pluim, J. P. W., Van Diest, P. J., & Viergever, M. A. (2014). Breast cancer histopathology image analysis: a review. *IEEE transactions on bio-medical engineering*, 61(5), 1400-1411. <https://doi.org/10.1109/TBME.2014.2303852>

## **COMMONLY USED MARKERS IN IMMUNOHISTOCHEMISTRY**

**Salih ERAT<sup>1</sup>**

### **1. INTRODUCTION**

Immunohistochemistry (IHC) is an important immunostaining technique that combines the principles of histology, immunology, and biochemistry to detect specific antigens and proteins in tissue sections through the use of specific antibodies. The method not only demonstrates the presence of proteins but also provides information regarding their localization and distribution within tissues, thereby offering significant advantages in diagnostic pathology. Due to its high sensitivity and specificity, compatibility with conventional light microscopy, and cost-effectiveness, IHC is widely employed in the diagnosis of neoplasms, infectious diseases, neurodegenerative disorders, and various muscular diseases (Mebratie & Dagnaw, 2024).

Although the foundations of IHC are based on the discovery of antigen–antibody reactions, the modern era of the technique began in 1941 when Albert Coons and colleagues demonstrated tissue antigens by labeling antibodies with fluorescent dyes. In subsequent years, the development of enzyme-labeled detection systems and the introduction of monoclonal antibody technology by Köhler and Milstein in 1975 enabled the routine application of IHC in diagnostic pathology (Ortiz Hidalgo, 2021).

---

<sup>1</sup> Izmir Bakırçay University, Menemen Vocational School, Department of Veterinary Medicine, ORCID: 0000-0003-4413-6041.

Today, IHC serves as an important diagnostic tool, particularly for the detection of microorganisms that are difficult to culture or exhibit intracellular localization and plays a critical role in the pathological evaluation of infectious diseases (Oumarou Hama et al., 2022). Furthermore, the introduction of antigen retrieval techniques, advanced detection systems, and high-affinity antibodies has made it possible to obtain reliable results from formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue samples. In modern pathology, IHC has become an indispensable method for tumor classification, the evaluation of prognostic and predictive biomarkers, the indirect assessment of genetic alterations, and the identification of patients who may benefit from targeted therapies (Leong et al., 2010).

## **2. THE CONCEPT OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS**

Immunohistochemical markers can be defined as proteins or antigenic structures that can be detected by antibodies within tissues or cells and serve as indicators of specific cellular identities, functional states, or pathological processes. Based on their biological significance, markers can be classified into several categories, including structural proteins that indicate cellular lineage, proliferation markers that reflect cell growth and division, hormone receptors, oncogenes and tumor suppressor genes, enzymes, and tumor-associated antigens (Duraiyan et al., 2012).

The diagnostic value of a marker is primarily assessed in terms of its sensitivity and specificity. Since no single marker provides absolute sensitivity and specificity, immunohistochemical markers are rarely used in isolation in routine pathology practice. Instead, they are typically applied as complementary panels that combine multiple markers to improve

diagnostic accuracy (Selves et al., 2018). This approach minimizes the likelihood of false-positive and false-negative results and enables more reliable diagnostic interpretations when integrated with histomorphological findings.

### **3. MARKERS USED FOR THE DETERMINATION OF CELLULAR AND TISSUE ORIGIN**

Particularly in poorly differentiated or undifferentiated tumors, where morphological examination alone may be insufficient, a standard immunohistochemical screening panel is applied to determine the tissue lineage of the neoplastic cells, such as carcinoma, sarcoma, lymphoma, melanoma, or germ cell tumor. Traditionally, this basic panel consists of cytokeratin (CK) for carcinomas, S100 protein for melanocytic lesions, vimentin for mesenchymal sarcomas, and CD45 (leukocyte common antigen, LCA) for lymphoid neoplasms (Selves et al., 2018).

Vimentin is an intermediate filament protein constitutively expressed in mesenchymal cells; however, because of its limited specificity, it is generally considered more useful as an exclusionary marker than as a definitive diagnostic indicator. Conversely, a vimentin-negative tumor is unlikely to represent a sarcoma, lymphoma, or melanoma, with only a few exceptions such as alveolar soft part sarcoma (Selves et al., 2018). In the identification of lymphoid lineage, positivity for LCA (CD45) and/or vimentin in combination with negative staining for S100 and cytokeratin is associated with high sensitivity and specificity. Nevertheless, loss of CD45 expression has been reported in certain hematologic malignancies, including lymphoblastic leukemias and plasma cell neoplasms; therefore, confirmation with second-line markers such as CD3 and CD20 may be required.

Markers indicating organ-specific differentiation are also included within this category. In hepatic neoplasms, for example, hepatocyte paraffin 1 (Hep Par-1) and arginase-1 are commonly used to demonstrate hepatocellular differentiation, whereas oncofetal proteins such as glypican-3 and alpha-fetoprotein are evaluated as indicators of malignant transformation. Arginase-1 has been reported to exhibit higher sensitivity than Hep Par-1, particularly in poorly differentiated hepatocellular carcinomas (Takahashi et al., 2021).

#### **4. ORGAN- AND TUMOR-SPECIFIC MARKERS**

Once the primary tumor category has been established using broad-spectrum immunohistochemical screening panels, a second-tier approach employing more specific antibodies directed against particular organs or tumor types is implemented. One of the most common applications of this strategy is the identification of the primary site in metastatic carcinomas of unknown primary origin (CUP). The combined evaluation of cytokeratin 7 (CK7) and cytokeratin 20 (CK20) represents the first and most widely used algorithm for subclassifying carcinomas. This immunophenotypic profile can then be supplemented with organ-specific transcription factors such as thyroid transcription factor-1 (TTF-1) for lung and thyroid tumors, caudal-type homeobox 2 (CDX2) for gastrointestinal tumors, GATA-binding protein 3 (GATA3) for breast and urothelial carcinomas, and paired box gene 8 (PAX8) for renal, gynecologic, and thyroid neoplasms, thereby enabling a highly probable determination of the tissue of origin (Selves et al., 2018).

For the identification of metastatic tumors of breast origin, immunohistochemical panels commonly include estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), GATA3, mammaglobin, and gross cystic disease fluid protein-15

(GCDFP-15). The use of these markers in combination reflects the fact that no single marker provides sufficient sensitivity and specificity when used alone. Similarly, in hepatic pathology, the distinction between hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma requires the combined assessment of hepatocellular markers together with biliary epithelial markers such as CK7 and CK19 (Takahashi et al., 2021).

Organ-specific markers also play a crucial role in gynecologic pathology. For example, inhibin, calretinin, forkhead box protein L2 (FOXL2), and steroidogenic factor-1 (SF-1) are frequently used for the diagnostic confirmation of ovarian granulosa cell tumors. In addition to their diagnostic utility, certain markers, including CD56, GATA-4, and SMAD3, have also been reported to possess prognostic significance (Jung et al., 2023).

## **5. PROGNOSTIC AND PREDICTIVE MARKERS**

Prognostic markers are used to predict the natural course and clinical outcome of a disease independent of treatment, whereas predictive markers estimate the likelihood of response to a specific therapy. This distinction has become increasingly important with the introduction of targeted therapies into clinical practice (Taylor, 2014). Classical prognostic indicators include Ki-67 as a measure of proliferative activity, p53 expression patterns as an indicator of tumor suppressor gene alterations, and BCL-2 as a regulator of apoptosis, all of which provide valuable information regarding tumor biology and disease progression.

One of the earliest and most well-established examples of a predictive immunohistochemical marker is HER2 testing, which was approved by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) in 1998 to predict response to trastuzumab therapy. This development represented a major shift in the role of

immunohistochemistry, transforming it from a simple “special stain” into a standardized, semi-quantitative diagnostic assay (0, 1+, 2+, 3+). The success of HER2 testing has served as a prototype for many subsequent companion diagnostic assays developed in oncology (Taylor, 2014).

In contemporary practice, programmed death-ligand 1 (PD-L1) immunohistochemical testing, used to guide patient selection for immune checkpoint inhibitor therapy, represents one of the most recent and simultaneously most controversial examples of predictive biomarker application. Because PD-L1 expressions can be assessed using different antibody clones (such as 22C3, 28-8, SP142, and SP263) and varying cut-off thresholds, inter-assay variability presents a significant challenge for clinical interpretation. Despite these methodological limitations, PD-L1 expression remains the most widely validated predictive biomarker for response to immune checkpoint inhibitors (Vranic & Gatalica, 2023). In malignancies such as melanoma, similar limitations have been reported for PD-1/PD-L1 axis-based companion diagnostic approaches, and ongoing research continues to explore novel biomarkers based on the tumor microenvironment, peripheral blood, and genetic mutation profiles (Wang et al., 2024).

## **6. THE USE OF MARKER PANELS IN DIAGNOSTIC PATHOLOGY**

The fact that a single marker rarely provides a definitive diagnosis necessitates a panel-based approach in routine pathology practice. When encountering a poorly differentiated or undifferentiated tumor, the standard algorithmic strategy involves first identifying the major tumor category using a broad-spectrum screening panel (CK, S100, vimentin, LCA), followed by a second-tier, organ-specific panel selected according to the initial

findings for further sub-classification (Selves et al., 2018). This stepwise approach is particularly advantageous in specimens with limited tissue availability, such as fine-needle aspiration samples, as it allows for efficient and judicious use of diagnostic material.

An important consideration in panel design is the possibility of aberrant antigen expression. For instance, some carcinomas may lose cytokeratin expression while concurrently exhibiting vimentin co-expression; conversely, certain mesenchymal or hematopoietic tumors may aberrantly express epithelial markers (Selves et al., 2018). Therefore, immunohistochemical results should always be interpreted in conjunction with morphological findings, and excessive reliance on a single marker should be avoided in favor of an integrated diagnostic approach.

## **7. ADVANTAGES, LIMITATIONS, AND RECENT ADVANCES IN IMMUNOHISTOCHEMISTRY**

The major advantages of immunohistochemistry (IHC) include its applicability to formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue samples, relatively low cost, wide laboratory availability, and the ability to evaluate results at the cellular level while preserving tissue architecture (Magaki et al., 2019). However, it is also well recognized that IHC is a highly variable technique influenced by multiple pre-analytical, analytical, and post-analytical factors, including antibody clone selection, fixation time, antigen retrieval protocols, staining platforms, and pathologist interpretation. This lack of standardization may lead to inter-laboratory and even inter-observer variability, particularly in predictive testing applications (Taylor, 2014; Vranic & Gatalica, 2023).

In recent years, two major parallel developments have emerged to overcome these limitations. The first is multiplex

immunohistochemistry/immunofluorescence techniques, which allow simultaneous evaluation of multiple markers on a single tissue section. These approaches preserve the spatial distribution of different cellular populations within the tumor microenvironment while providing a level of informational complexity that cannot be achieved with conventional single-plex chromogenic IHC.

The second major advancement is the integration of digital pathology and artificial intelligence–assisted image analysis tools. These systems support pathologists by enabling automated quantification of staining intensity, cell counting, and scoring, thereby improving diagnostic consistency and reproducibility. Although these technologies hold significant promise for enhancing diagnostic accuracy, challenges related to algorithm generalizability and clinical validation remain important barriers to widespread implementation (Harms et al., 2023).

In summary, the future role of IHC is expected to evolve from a traditional “special stain” approach toward a more quantitative and reproducible paradigm of tissue-based immunoassays, often referred to as in situ proteomics (Taylor, 2014).

## **8. CONCLUSION**

Immunohistochemistry remains one of the cornerstones of modern diagnostic pathology, with a broad range of applications extending from the determination of cellular and tissue origin to organ-specific diagnostic confirmation, prognostic assessment, and predictive testing for therapy selection. Because a single marker is rarely sufficient for definitive diagnosis, current practice consistently requires a panel-based approach integrated with morphological evaluation. As illustrated by HER2 and PD-

L1, the role of IHC in predictive medicine is steadily increasing; however, this expansion simultaneously highlights the growing need for standardization across laboratories and testing platforms.

Recent advances such as multiplex immunohistochemistry and digital pathology combined with artificial intelligence-based image analysis hold significant potential to enhance both the diagnostic power and reproducibility of the method. Nevertheless, careful validation studies are still required to ensure the safe and reliable integration of these innovations into routine clinical practice.

## REFERENCES

- Duraiyan, J., Govindarajan, R., Kaliyappan, K., & Palanisamy, M. (2012). Applications of immunohistochemistry. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 4(Suppl. 2), S307–S309.
- Harms, P. W., Frankel, T. L., Moutafi, M., Rao, A., Rimm, D. L., Hernandez, S., Jour, G., Hollmann, T. J., Walk, E., & Vaickus, L. J. (2023). Multiplex immunohistochemistry and immunofluorescence: A practical update for pathologists. *Modern Pathology*, 36(7), 100197.
- Jung, D., Almstedt, K., Battista, M. J., Seeger, A., Jäkel, J., Brenner, W., & Hasenburg, A. (2023). Immunohistochemical markers of prognosis in adult granulosa cell tumors of the ovary: A review. *Journal of Ovarian Research*, 16, 49.
- Leong, T. Y., Cooper, K., & Leong, A. S. (2010). Immunohistology—Past, present, and future. *Advances in Anatomic Pathology*, 17(6), 404–418.
- Magaki, S., Hojat, S. A., Wei, B., So, A., & Yong, W. H. (2019). An introduction to the performance of immunohistochemistry. *Methods in Molecular Biology*, 1897, 289–298.
- Mebratie, D. Y., & Dagnaw, G. G. (2024). Review of immunohistochemistry techniques: Applications, current status, and future perspectives. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 41(3), 154–160.
- Ortiz Hidalgo, C. (2021). Immunohistochemistry in historical perspective: Knowing the past to understand the present. In M. T. Lorincz (Ed.), *Immunohistochemistry and immunocytochemistry: Methods and protocols* (pp. 17–31). New York, NY: Springer.

- Oumarou Hama, H., Aboudharam, G., Barbieri, R., Lepidi, H., & Drancourt, M. (2022). Immunohistochemical diagnosis of human infectious diseases: A review. *Diagnostic Pathology*, 17(1), 17.
- Selves, J., Long-Mira, E., Mathieu, M.-C., Rochaix, P., & Ilié, M. (2018). Immunohistochemistry for diagnosis of metastatic carcinomas of unknown primary site. *Cancers*, 10(4), 108.
- Takahashi, Y., Dungubat, E., Kusano, H., Ganbat, D., Tomita, Y., Odgerel, S., & Fukusato, T. (2021). Application of immunohistochemistry in the pathological diagnosis of liver tumors. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5780.
- Taylor, C. R. (2014). Predictive biomarkers and companion diagnostics. The future of immunohistochemistry: “In situ proteomics,” or just a “stain”? *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 22(8), 555–561.
- Vranic, S., & Gatalica, Z. (2023). PD-L1 testing by immunohistochemistry in immuno-oncology. *Biomolecules and Biomedicine*, 23(1), 15–25.
- Wang, Z., Zou, X., Wang, H., Hao, Z., Li, G., & Wang, S. (2024). Companion diagnostics and predictive biomarkers for PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors therapy in malignant melanoma. *Frontiers in Immunology*, 15, 1454720.

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ALANINDA  
AKADEMİK TARTIŞMALAR

**yaz**  
yayınlari

YAZ Yayınları  
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3  
İscehisar / AFYONKARAHİSAR  
Tel : (0 531) 880 92 99  
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com