

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Farklı Histolojik Boyama Yöntemlerinin Kıkırdak Dokusunda Karşılaştırılması

Esra ŞEN¹, Şahin A. SIRMALI²

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Görükle Kampüsü, Bursa, Türkiye.

² SANKO Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Şehitkamil, Gaziantep, Türkiye.

ÖZET

Günümüzde kıkırdak doku bileşenlerini göstermek için kullanılan bazı temel boyama yöntemleri vardır ve istenilen amaç doğrultusunda iyi sonuç vermektedirler. Ancak, bu yöntemlerin her biri kullanılabilirlik açısından bir takım dezavantajlara da sahiptir. Bu nedenle %10'luk formalinde fikse edilen dokulardan alınan kesitler, rutin sitolojik vaginal smear boyamasında kullanılan Shorr boyası ve bununla birlikte on farklı teknikte boyandı. Böylece gerek bu yöntemlerin ve gerekse Shorr boyama yönteminin avantaj ve dezavantajları kıyaslanabildi. Sonuç olarak, dezavantajları en aza indirecek ve araştırmacıların istediği boyama süresi, girilen farklı solüsyon sayısı ve maliyet açısından daha ekonomik olan Shorr boyasının kıkırdak doku bileşenlerini ışık mikroskopik düzeyde oldukça iyi gösteren bir boyama yöntemi olacağı kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Kıkırdak boyama yöntemleri. Shorr boyama. Tavşan.

Comparison of Different Histological Staining Methods in Cartilage Tissue

ABSTRACT

At the present time there are some basic staining techniques that used to detect the cartilage tissue components and these techniques show sufficient results for the aimed purpose. However, each of these methods also has some disadvantages in terms of feasibility. Therefore we stained the sections collected from the tissues that were 10% formalin fixed with Shorr, routinely used in cytological vaginal smear staining, and with other nine different techniques. Thus we had the opportunity to compare the advantages and disadvantages of Shorr and other staining techniques. As a result, we are of the opinion that Shorr staining which is more affordable in terms of staining duration, the number of solutions and cost, will minimize the disadvantages therefore Shorr is a better staining technique for cartilage tissue in presentation of lighting microscope.

Key Words: Staining procedures of cartilages. Shorr staining. Rabbit.

Günümüzde klasik histoloji teknikleri kitaplarında ışık mikroskopik düzeyde kıkırdak doku bileşenlerinin demonstrasyonunda birçok yöntem önerilmektedir.¹⁻⁵ Ancak bu yöntemlerin birtakım koşullara (boyama süresi, kullanılan kimyasal miktarı ve maliyeti gibi) gereksinme göstermeleri, araştırmacıları daha kullanışlı yeni yöntemler geliştirmeye yöneltmiştir. Literatürde, farklı tip kıkırdak dokusu ve onlara ait bileşenleri göstermede kullanılan yöntemlere rastlanmaktadır.⁶⁻¹² Belirli prosedüre oturmuş boyama yöntemleri klasik teknik kitaplarında kıkırdak doku için ortaya

konulmuştur. Yöntemlerin avantaj ve dezavantajları göz önüne alındığında, modifikasyonlarla geliştirilmeye çalışılması da kaçınılmazdır. Gelişen teknolojiler boyamaların hızla ve düşük maliyetlerle sonuca gitmesi, rutinde histolojik ve/veya patolojik numuneleri değerlendirmeyi kolaylaştırmaktadır. Kıkırdak dokusu tipleri fiksatif seçimi ve boyama yöntemi gibi faktörleri en aza indirecek modifikasyonlar günümüzde kıkırdak doku demonstrasyonunda önem arz etmektedir. Ancak araştırmacılar ya bu yöntemleri modifiye edebilmek ya da bu yöntemlerin yerine geçecek daha kullanışlı yöntemler bulabilmek için bir çaba içindedirler. Bu çabaların başlıca nedenleri; boyama süresini kısaltmak, rutin fiksatif olan %10 formalin ya da nötral formalinde fikse edilmiş parçaları da boyayabilmek, sabitleştirmeye ya da farklılaştırmaya gerek duymamak ve boyamayı tek bir solüsyonda gerçekleştirmektir. Sonuçta daha ekonomik ve kullanışlı bir boyama yöntemi bulabilmek, esas amaçtır.

Geliş Tarihi: 04.Aralık.2019
Kabul Tarihi: 02.Ocak.2020

Dr. Esra ŞEN
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Görükle Kampüsü, Bursa, Türkiye.
Tel.: 0537 703 35 45
E-posta: esra89sen@gmail.com.tr

Bu çalışmada; %10 formalinde fikse edilen dokularda, daha önce parafin kesitlerde kıkırdak boyamak için denenmemiş olan, Shorr ile tek bir solüsyonda sabitleştirmeye ve farklılaştırmaya gerek duyulmadan kıkırdak doku bileşenleri gösterilmeye çalışıldı. Ayrıca klasik boya yöntemleri de uygulanarak, kullanılan boyanın avantaj ve dezavantajları belirlenmeye çalışıldı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada 4 adet dişi ve 4 adet erkek Yeni Zelanda beyaz tavşanı¹³ kullanıldı. Bursa Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden 'B.30.ULU.0.8Z.00.00/83' sayılı etik kurul kararı ile temin edilen deneklere anestezik madde (Ketamin HCl ve Xylazin, 35/5 mg/kg dozda) cerrahi işlem uygulanacağı sırada tek seferde intra-muskuler olarak verildi ve anestezisi altındaki hayvanların hiyalin ve elastik kıkırdak örnekleri alındı. Elde edilen dokular %10 formalin¹ solüsyonunda bir hafta süreyle fikse edildi. Fiksasyon tamamlandıktan sonra rutin doku takibi¹ uygulandı ve parafin bloklar döküldü. Parafin bloklardan kızaklı mikrotomda 7µ kalınlığında alınan kesitler lamlara yapıştırıldı ve daha sonra aşağıdaki boyama yöntemleri uygulandı:

1. Harris'in Hematoksilin-Eosin (HE) Boyama Yöntemi¹,
2. van Gieson Boyama Yöntemi²,
3. Masson Trikrom Boyama Yöntemi¹,
4. Safranin O Boyama Yöntemi¹²,
5. Mallory'nin Aniline Blue Boyama Yöntemi²,
6. Alcian Blue 8GX Boyama Yöntemi³,
7. Toluidine Blue O Boyama Yöntemi⁴,
8. Tamponlu Azure Eosin Boyama Yöntemi⁴,
9. Thionin Boyama Yöntemi⁴,
10. Shorr Boyama Yöntemi⁵.

Boyanmış preparatlar entellan ile kapatılıp Zeiss Primo Star mikroskobunda incelenip değerlendirildi ve Olympus BX50 mikroskobuna takılı Olympus DP71 kamera ile fotoğrafları çekildi.

Bulgular

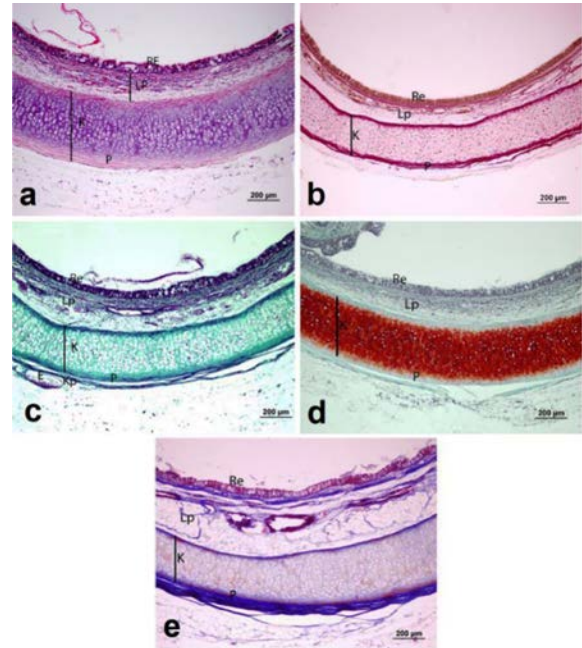
HE ile boyanan preparatlarda; çekirdekler mor, sitoplazma pembe boyanırken, kıkırdak matriks heterojen bazofil görüldü. Kıkırdak matriksteki teritoryal alan koyu mor boyanırken, interteritoryal alanın daha açık mor renkteydi. Kollajen iplikçikler, elastik lifler ve kas yapıları pembe tonlarında boyandı. Perikondrium pembe renkte görüldü. Epitel hücre çekirdekleri mor boyanırken, bu hücrelerin sitoplazmaları pembe boyandı. Damar duvarı koyu pembeyken, eritrositler kırmızı tonlarda boyandı (Şekil 1a).

van Gieson'un demirli hematoksilinle birlikte kullanıldığı yöntemle boyanan preparatlarda; kıkırdak matriks soluk pembe görüldü. Kıkırdak matriksi teritoryal alan ve interteritoryal alanlar olarak ayırt edildi. Perikondrium kırmızı tonlarında boyandı. Hücre çekirdekleri siyah, sitoplazma ise sarı-kahverengi tonlarında boyandı. Damar duvarı ve eritrositlerin sarı boyandığı görüldü (Şekil 1b).

Masson's trikromu ile boyanan preparatlarda; çekirdek koyu mor boyanırken, sitoplazma daha açık mor-pembe tonlarında boyandı. Kıkırdak matriksi yeşil tonlarında görüldü. Perikondrium turkuaz mavimsi yeşil tonlarında boyandı. Epitel hücre çekirdekleri koyu mor boyanırken, sitoplazması daha açık mor-koyu pembe tonlarında görüldü. Damar duvarı ve kas mor-koyu pembe tonlarında görülürken, lümendeki eritrositler pembe tonlarında boyandı (Şekil 1c).

Safranin O yöntemiyle boyanan preparatlarda çekirdek siyahımsı renkte boyandı. Kıkırdak matriksinin turuncudan kırmızıya değişen tonlarda, kas, damar duvarı, eritrosit yapılarının mavimsi yeşil renkte boyandığı görüldü (Şekil 1d).

Mallory'nin Aniline Blue boyama yönteminde Zenker fiksatif² önerilirken çalışmamızda %10'luk formalin fiksatifini kullanılmasına karşın sağlıklı bir boyama elde edildi. Çekirdek kırmızı renkte boyandı. Kıkırdak matriks mavinin çeşitli tonlarında boyanırken, perikondriumun yoğun mavi boyandığı görüldü (Şekil 1e).



Şekil 1.

Farklı histolojik boyamaların kıkırdak dokusunda karşılaştırılması.

- a) HE boyaması. b) van Gieson boyaması. c) Masson Trikrom boyaması. d) Safranin O boyaması. e) Mallory'nin Aniline Blue boyaması. Kıkırdak (K); Perikondrium (P); Lamina propria (Lp); Respiratuar epitel (Re). Trakea, x10 büyütme.

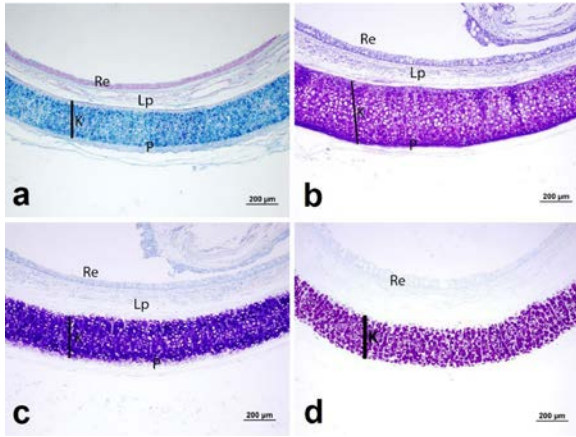
Kıkırdak Dokusunda Farklı Boyama Yöntemleri

Alcian Blue 8GX ve Nuklear Fast Red'in birlikte kullanıldığı boyama yöntemiyle; kıkırdak matriksinin turkuaz renkte boyandığı, çekirdeklerin ise kırmızı boyandığı görüldü (Şekil 2a).

Toluidine Blue O boyanan preparatlarda kıkırdak matriksi metakromatik boyanırken, çekirdek ve sitoplazmanın soluk mavi boyandığı, bazı preparatlarda ise boyanma olmadığı görüldü. Teritoryal matriks yoğun bir boyanma gösterirken, interteritoryal matriksin soluk boyandığı görüldü (Şekil 2b).

Tamponlu Azure Eosin boyama yönteminin de Toluidine Blue O ve Thionin yöntemlerindeki gibi kıkırdak matriksi menekşe moru boyarken, çekirdek ve sitoplazmayı mavi renkte boyadığı görüldü (Şekil 2c). Tamponlu Azure-Eosin boyasının; Thionin boyasına göre daha canlı renklere bir boyama sağladığı görüldü.

Thionin ile boyanan preparatlarda da kıkırdak matriks metakromatik boyanırken, çekirdeğin mavi ve sitoplazmanın soluk mavi-mor boyandığı, bazı preparatlarda ise boyanma olmadığı görüldü (Şekil 2d).

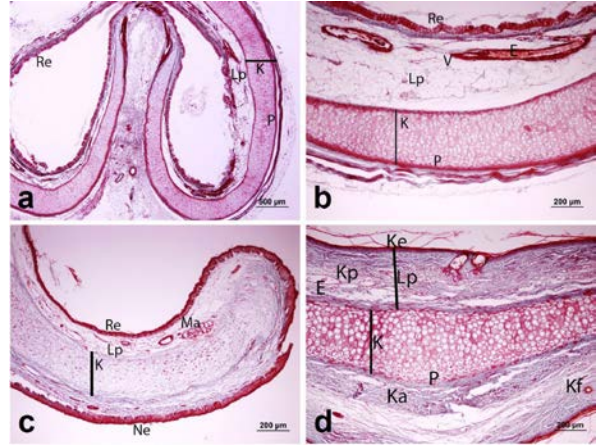


Şekil 2.

Farklı histolojik boyamaların kıkırdak dokusunda karşılaştırılması.

a) Alcian Blue 8GX boyaması. b) Toluidine Blue O boyaması. c) Tamponlu Azure E boyaması. d) Thionin boyaması. Kıkırdak (K); Perikondrium (P); Lamina propria (Lp); Respiratuar epitel (Re). Trakea, x10 büyütme.

Shorr yöntemiyle boyanan preparatlarda çekirdek kırmızı tonlarında boyanırken sitoplazma turuncu-kahverengi tonlarda boyandı. Kıkırdak matriksinde teritoryal alanın yeşil, interteritoryal alanların kahverengi, perikondriumun ise yeşil boyandığı görüldü. Damar duvarı açık kahverengi tonlarında boyanırken, lümendeki eritrositler turuncu görüldü. Epiteldeki hücrelerin çekirdekleri siyahımsı görülürken, sitoplazması kiremit kırmızısı-kahverengi tonlarında boyandı (Şekil 3).



Şekil 3.

Shorr boyamasının kıkırdak dokusunda karşılaştırılması.

a) Shorr boyaması, Trakea, x4 büyütme. Kıkırdak (K); Perikondrium (P); Lamina propria (Lp); Respiratuar epitel (Re). b) Shorr boyaması, Trakea, x10 büyütme.

Kıkırdak (K); Perikondrium (P); Lamina propria (Lp); Ven (V); Eritrosit (E); Respiratuar epitel (Re). c) Shorr boyaması, Epiglottis, x10 büyütme. Kıkırdak (K); Kıkırdak matriksi (Km); Perikondrium (P); Lamina propria (Lp); Müköz asinus (Ma); Respiratuar epitel (Re); Non-keratinize çok katlı yassı epitel (Ne). d) Shorr boyaması, Aurikular kıkırdak, x10 büyütme.

Kıkırdak (K); Perikondrium (P); Lamina propria (Lp); Kapiller (Kp); Eritrosit (E); Kas (Ka); Kıl folikülü (Kf); Keratinize çok katlı yassı epitel (Ke).

Tartışma ve Sonuç

Kıkırdak dokusunu oluşturan doku bileşenlerini farklı bir boyama yöntemiyle gösterebilmek amacıyla tavşanların farklı dokularından kıkırdak yapıları alındı. Konu ile ilgili çalışmacıların ortak amacı; hızlı ve doğru sonuç alabilecek bir boyama yöntemi bulmak olduğundan çalışmalarında fiksatif olarak nötral formalin ve Zenker fiksatifini kullanmışlardır. Ancak bizim çalışmalarımızda %10 formalin kullanıldı. Çalışmada şimdiye kadar kıkırdak dokusunda uygulanmamış bir boya kullanılması nedeni ile boyanın sonuçlarını değerlendirebilmek ve kıyaslama yapabilmek amacıyla, klasik histoloji teknik kitaplarında kıkırdak doku bileşenlerini göstermek için önerilen boyama yöntemleri¹⁻⁵ referans olarak kullanıldı.

Bu yöntemlerden biri olan HE; yalnızca kıkırdak için değil, laboratuvarlarda diğer doku tiplerinde de genel amaçlı olarak yaygın kullanılan bir yöntemdir⁶. Bu yöntem¹ ile boyama sonucunda; çekirdeğin mavi-siyah renkte, hücre sitoplazması ve bağ dokusu elemanlarından kollajen lifler ve kas liflerinin aynı tonlarda boyandığı görüldü. Bu nedenle, kas ve bağ dokusunun birbirinden ayrımı güç olmaktadır. Yalnızca kas ve bağ dokusu için değil, tüm doku tipleri için

yapıları pembe, kırmızı ve turuncu tonlarında boyamaktadır. Shorr boyamamızda⁵ ise kas kahverengi, kollajen lifler yeşil boyandığından, iki yapı birbirinden kolayca ayırt edildi. Bu yöntemin HE'e göre en önemli avantajının boyanın tek bir solüsyonda yapılması ve HE boyama süresinin 1/20'si kadar bir sürede gerçekleştiği ortaya konuldu.

Bütünüyle en iyi bilinen bağ dokusu boyalarından biri olan van Gieson'un pikro fuksini⁴ ile boyama yapıldığında kollajenlerin pembeden kırmızıya değişen tonlarda boyanırken, kas ve eritrositlerin sarı boyandığı gözlemlenmiştir. Tek tek bulunan lifler pembe görülürken, yoğun lif demetlerinin ise koyu kırmızı boyandığı görülmüştür⁴. Bizim çalışmamızda ise van Gieson'un pikro fuksini ve Weigert'in demirli hematoksilen boyamasıyla², bunlara ek olarak çekirdeklerin siyahımsı boyandığı görüldü. Bu boyama kişilerin farklı amaçlar için kullanabileceği, kollajenlerin kolay bir şekilde ayırt edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. van Gieson boyası Verhoeff yöntemi ile benzerlik göstermektedir⁴. Verhoeff'un elastik dokular için kullanılan Hematoksilen ve van Gieson'un pikro fuksini boyamasının tek avantajı elastik ve kollajen liflerin tatmin edici bir şekilde ayırt edilebilmesidir⁴. Bu boyamayla⁴ elastik lifler siyah boyanırken, kollajen liflerin kırmızı boyandığı ve çekirdeğin ise siyahımsı boyandığı gösterilmiştir. Kalın liflerin iyi bir şekilde gösterildiği ancak ince olanların farklılaştırma sırasında sık sık kaybedildiği belirtilmiştir. van Gieson'un Fast Green modifikasyonu⁴ ile bağ dokuları ve kas yapılarının farklı renk ve tonlarda boyandığı gösterilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız Shorr yönteminin⁵ süresinin bu boyamanın süresinin yaklaşık 1/39'u kadar olduğu tespit edildi.

Masson'un Trikrom boyası¹ van Gieson boyası yerine tercih edilebilir bir yöntemdir. Masson'un trikrom boyaması sonucu; bağ dokusu ile kas liflerinin farklı renklerde boyandığı görüldü. Kollajen lifler yeşil boyanırken kas lifleri mor-eflatun renklerinde boyandı. Masson'un trikrom yönteminde birden çok solüsyon kullanılmaktadır ve farklılaştırma ve drene etme basamakları içermektedir. Ayrıca yaklaşık 30 dakika sürmektedir. Shorr boyamasının⁵ süresinin, bu sürenin 1/15'i kadar olduğu tespit edildi.

Safranin O boyası⁷; kondroitin sülfat ve keratan sülfat içeren sülfatlı glikozaminoglikan zincirlerinden oluşan proteoglikan içeriğini boyamaktadır. Yüksek proteoglikan içeriği nedeniyle Safranin O ile yoğun kırmızı boyanan kıkırdak, aktif kondrosit aktivitesini temsil etmektedir. Kıkırdak matriksindeki proteoglikan içeriğinin azalması nedeniyle kıkırdaktaki boyanma azalmaktadır. Bunlara ek olarak kalsifiye kıkırdağın ise parlak pembe boyandığı gösterilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları histopatolojik değerlendirmede genç ve yaşlı hastalara ait örneklerdeki kondrosit aktivitesi bakımından farklılıkları göstermiştir. Çalışmada, Safranin O boyası kullanılarak yaş arttıkça kondrosit

aktivitesinin azaldığı ve buna bağlı olarak kıkırdak matriksindeki proteoglikan içeriğinin azaldığı gösterilmiştir⁷. Yaptığımız Safranin O boyaması¹² sonucunda; çekirdeklerin siyah; kıkırdak matriksinin turuncudan kırmızıya değişen tonlarda; perikondrium, kas, damar duvarı, eritrosit yapılarının mavimsi yeşil renkte boyandığını görüldü. Bizim çalışmamızda Shorr boyamasının⁵, Safranin O boyama süresinin yaklaşık 1/15'i kadar olduğu görüldü.

Mallory'nin Aniline Blue boyama yönteminde² Zenker fiksatif önerilirken, çalışmamızda %10'luk formalin fiksatif kullanılmasına rağmen sağlıklı bir boyama elde edildi. Çekirdek; kırmızı renkte boyandı. Kıkırdak matriks mavinin çeşitli tonlarında boyanırken, kollajen liflerin yoğun mavi boyandığı görüldü. Bizim yöntemimizin⁵ süresinin bu boyama yönteminin süresinin yaklaşık 1/20'si kadar olduğu görüldü. Mallory'nin modifiye edilmiş bağ doku boyama yönteminde⁸ araştırmacılar; eritrositlerin asit fuksine daha iyi bağlanması amacıyla önce Zenker fiksatifinde daha sonra ise formalin ve Bouin sıvısında fikse etmişlerdir. Mallory'nin Aniline Blue boyama yöntemine ek olarak hematoksilen boyaması yapılmıştır. Mallory'nin Aniline Blue solüsyonunda; Aniline Blue, Orange G ve fosfotungstik asit tek bir solüsyon halinde kullanılırken, Mallory'nin modifiye edilmiş Aniline Blue boyama yönteminde araştırmacılar bu boyaları ayrı solüsyonlar halinde ayrı basamaklar olarak kullanmışlardır.

Alcian Blue 8GX⁹; araştırmacılar tarafından nonradyoaktif glikozaminoglikanların mikrogram miktarında ölçmek amacıyla kullanılan tetrakasyonik bir boyadır. Bu çalışmalarda glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar; düşük pH yoğunluklarında Alcian Blue yardımıyla çökelmektedir. Toluidine Blue histokimyasal çalışmalarda dokudaki proteoglikan yapılarını boyayan monokasyonik bir boyadır⁹. Nüklear Fast Red boyası¹⁰; yüksek kontrastlı karşıt boyama alanında kullanılan nüklear boyama yöntemidir. Ayrıca Nüklear Fast Red-alüminyum sülfat %0,1 çözeltisi ile parafin bölümlerinin yanı sıra kan ve kemik iliği yaymalarının da boyanabildiği gösterilmiştir. Alcian Blue 8GX ve Nüklear Fast Red'in birlikte kullanıldığı boyama yöntemiyle; kıkırdak matriksi ve bağ dokusu alanlarının turkuaz renkte boyandığı, çekirdeklerin ise kırmızı boyandığını görüldü³. Alcian Blue 8GX-Nüklear Fast Red boyama yönteminde birden çok solüsyon kullanıldığı ve boyama süresinin uzun olduğu görüldü. Bizim boyama yöntemimizin⁵; bu boyama yönteminin³ yaklaşık 1/18'i kadar olması ve daha çok renk tonuyla diğer yapıların da ayırt edilebilmesi nedeniyle daha avantajlı olduğu düşünüldü.

Toluidine Blue O boyası⁴; asidik maddelerdeki metakromatik boyamayı göstermektedir. Kıkırdak matriksi metakromatik boyanırken, çekirdek ve sitoplazmanın mavi boyandığı görüldü. Bu yöntemin boyama süresinin kısa olması ve boyamanın tek solüsyonda gerçek-

Kıkırdak Dokusunda Farklı Boyama Yöntemleri

leşmesi boyama yönteminin avantajları olarak düşünüldü. Ancak boyamanın kesitlerin sürekli mikroskop altında denetlenerek yapılması ve bazı dokular için özgün boyama göstermesi bu yöntemin dezavantajı olarak düşünüldü.

Tamponlu Azure Eosin boyama yönteminin⁴ de Toluidine Blue O ve Thionin yöntemlerindeki gibi kıkırdak matriksini menekşe moru boyarken, çekirdek ve sitoplazmayı mavi renkte boyadığı görüldü. Tamponlu Azure Eosin boya solüsyonunda kullanılan Azure A rutin bazofilik boya olan Hematoksilen'e göre birçok avantaja sahiptir. Metakromatik olduğu için belli yapıları boyar ve bu boyama Hematoksilen'den daha yoğundur. Azure A kesin bir şekilde kıkırdak dokusunu ve goblet hücrelerini tanımlamaktadır. Bu yöntemin başlıca dezavantajı boya solüsyonlarının her gün taze bir şekilde hazırlanması ve boyama süresinin genellikle bir saate kadar uzatılmasıdır¹¹. Bir başka metakromatik boya olan Thionin'in de Toluidine Blue boyasıyla boyama bakımından benzerlik gösterdiği görüldü. Kıkırdak matriksin metakromatik boyanırken, çekirdek ve sitoplazmanın mavi renkte boyandığı görüldü. Thionin'in Toluidine Blue O'ya göre daha zayıf boyama gösterdiği gözlemlendi.

Shorr yöntemiyle⁵ ise; hücre çekirdekleri kırmızı tonlarında boyanırken, sitoplazma turuncu-kahverengi boyandı. Kollajen iplikçikler iplikçikler çok net bir şekilde yeşil boyandı. Epitel kiremit kırmızısı-kahverengi tonlarında boyanması nedeniyle lamina propria ile arasındaki sınır belirlendi. Damar duvarları açık kahverengi tonlarında boyanırken, eritrositler ise turuncu olarak seçildi. Tavşan kulak kepçesinden alınan kesitlerde keratin yapısının turuncu renkte boyandığı görüldü. Shorr boyamamızla⁵ kıyasladığımızda diğer boyama yöntemlerinde birden çok solüsyon kullanılması, boyama basamağının çok olması ve bu basamakların uzun sürmesi nedeniyle bizim çalışmamızın daha avantajlı olduğu düşünüldü.

Shorr yöntemi^{5,14} bilindiği gibi vaginal smear boyaması için önerilen bir yöntemdir. Taranan literatürde Shorr yönteminin kıkırdak dokusunu göstermek için kullanıldığına rastlanmadı, ancak kas dokusunu göstermek amacıyla kullanıldığı ve parafin kesitler için önerildiği görüldü¹⁵. Önerdiğimiz Shorr yöntemi; formalin ile fikse edilen dokularda kullanılması, tek bir boya solüsyonu kullanılması, boya solüsyonunun olgunlaştırmaya ihtiyaç duymaması, sabitleştiriciye gerek olmaması, boyama esnasında farklılaştırma işlemi uygulanmaması, boya süresinin diğer boya yöntemlerine göre kısa olması, boyama esnasında belli bir ısı ortamına ihtiyaç duyulmaması, çoğu yöntemlere göre ekonomik oluşu ve boyama esnasında mikroskopla kontrol etmeye gerek göstermemesi nedenleriyle klasik histolojik boyama kitaplarında kıkırdak boyamak için kullanılan yöntemlere göre daha pratik ve kullanışlı gibi görünmektedir. Bu yöntemin; kıkırdak dokuda ortaya çıkacak patolojik olguların hücresel ve

matriks yönünden değerlendirilmesinde histopatolojik araştırmalara hız kazandırabileceği düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından Hızlı Destek Projesi kapsamında desteklenmiştir (HDP(T)-2013/42).

Kaynaklar

1. Bancroft JD, Stevens A. Theory and practice of histological techniques. 4th edition. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1996. 127-28.
2. Clark G. Staining procedures. 4th edition. Baltimore: London; 1981. 113-335.
3. Smith A, Bruton JA. Colour atlas of histological staining techniques (Wolfe medical atlases); 1977. 24-170.
4. Demir R. Histolojik boyama teknikleri. Ankara; 2001. 61-189.
5. Carleton HM. Carleton's histological technique. 4th edition. New York: Toronto; 1967. 382-383.
6. Ekicioğlu G, Özkan N, Şalvaazar E. Hematoksilen-Eozin (hematoxylin-eosin) (H&E). Aegean Pathol J 2005;2:58-61.
7. Lee JW, Mchugh J, Kim JC, Baker SR, Moyer JS. Age-related histologic changes in human nasal cartilage. JAMA Facial Plast Surg 2013;15(4):256-62.
8. Crossmon G. A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. The Anatomical Record 2005;69(1):33-38.
9. Terry DE, Chopra RK, Ovenden J, Anastasiades TP. Differential use of Alcian Blue and Toluidine Blue dyes for the quantification and isolation of anionic glycoconjugates from cell cultures: Application to proteoglycans and a high-molecular-weight glycoprotein synthesized by articular chondrocytes. Anal Biochem 2000;285(2):211-19.
10. Green FJ. The Sigma-Aldrich Handbook of Stains, Dyes and Indicators, Sigma- Aldrich Corporation, Wisconsin; 1991. 18-703.
11. Cross RF, Moorhead PD. An Azure and Eosin rapid staining technique. Can J Comp Med 1969;33(4):317.
12. Kahveci Z, Minbay FZ, Cavusoglu L. Safranin O staining using a microwave oven. Biotech Histochem 2000;75(6):264-68.
13. Öztuna V. Ortopedi ve travmatolojide kullanılan deneysel hayvan modelleri (Temel ilkeler, etik unsurlar ve modeller). TOTBİD 2007;6(1-2):47-55.
14. Storti-Filho A, Estivalet Svidizinski TI, Da Silva Souza RJ, De Mello IC, Da Costa Souza P, Lopes Consolaro ME. Oncotic colpocytology stained with Harris-Shorr in the observation of vaginal microorganisms. Diagn Cytopathol 2008;36(6):358-62.
15. Noyan S, Sırmalı ŞA. Shorr metodunun parafin kesitlere uygulanması. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1995;1-2:3:13-16.

