

Parafin Kesit Tekniğinde Doku Takibi

Melda Yardımoğlu*

ÖZET. Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarlarındaki deneysel çalışmaların sonuçlarını almamızda çok önemli işlemlerden olan "Doku takibi tekniği" incelendi ve tüm araştırmacılara faydalı olacağı ümit edilerek sunuldu.

Anahtar Kelimeler .Histoloji tekniği .doku takibi.

Tissue Processing on the Paraffin Sectioning Technique

SUMMARY. In this paper, tissue processing technique has been examined. It is one of the most important procedures which help us to get the results of experimental studies in Histology and Embriology laboratories. It has been presented to all researchers in the hope of contributing to them scientifically.

Key Words. Tissue processing .histological techniques.

Doku takibi, doku parçasının fiksasyonundan sonra mikrotomda kesilebilecek hale gelinceye kadar yapılan bir seri işlemleri kapsamaktadır. Doku takibinin amacı, ince kesit alınabilmesini sağlamak, dokuya ve mikrotom bıçağına zarar vermeyen sertlikte bir gömme ortamı oluşturmaktır¹.

I) Doku takibine geçmeden önce, fiksasyonun tamamlanması ve dokulardaki fiksatif kalıntılarının uzaklaştırılması gerekmektedir. Potasyum dikromat içeren fiksatifler ile fikse edilen dokular akar suda yıkanmalıdır. Bouin, % 10 formol saline, % 10 nötral formalin, formol sublime, susa, carnoy sıvısında fikse edilen dokular % 70-80 alkollere alınmalıdır^{1,2}.

II) Dokunun tüm suyu yavaş yavaş alınmalıdır. Dehidre edici solusyonlar hidrofilitir ve suyu tutarlar. Bu solusyonlar genelde çeşitli alkollerdir. Yoğunluğu giderek artan seriler halinde hazırlanırlar ve dehidrasyona düşük yoğunluktaki solüsyonlarla başlanır^{1,3}. Embriyonik dokular ve kistik yapılar için büzümeyi ve deformasyonu önlemek üzere, alkol ile dehidrasyona başlanması önerilmektedir^{1,2}. Absolu alkol bulunmadığı hallerde yerine isopropyl alkol kullanılabilir. Absolu alkolde en fazla 2-3 saat kalması gerektiği, aksi halde dokunun fazlaca sertleştiği bildirilmiştir³. Başlıca dehidran maddeler şunlardır. Ethanol, denatüre alkol, methanol, isopropyl alkol, aseton, dioxane, tetrahydrofuran^{1,2}.

III) Doku saydamlaştırılmalıdır. Çoğu

saydamlaştırıcı proteinle aynı kırılma oranında olduğu için dokular saydamlaşır¹. Saydamlaştırıcı hem daha önce kullanılan dehidranla, hem de daha sonra kullanılacak gömme materyali ile karışabilme özelliğinde olmalıdır. Dokudaki dehidran, saydamlaştırıcı madde ile yer değiştirir ve böylece doku gömülmeye hazırlanır^{1,2}. En çok kullanılan saydamlaştırıcılar: Xylene, toluene, chloroform, benzene, carbon tetrachloride, parafin, petrol, carbon disulphide, amyl acetate, methyl benzoate, methyl salicylate, sedir yağı, karanfil yağı, inhibisol. Xylene, en geniş kullanım alanına sahiptir^{1,3}. Fakat saydamlaştırma kontrol altında yapılmazsa dokuları chloroform'den daha fazla sertleştirir. Xylene, toluene, benzene gibi saydamlaştırıcıların parafin impregnasyonu sırasında uzalaştırılabilmesi zordur. Bu nedenle chloroform tercih edilmektedir². Saydamlaşma dokunun parlak görünüşü ile tanınır. Saydamlaştırıcı madde içinde fazla kalan dokuların sertleşip kesit alınırken parçalandığı belirtilmiştir. Bu nedenle saydamlaştırıcıda en fazla 1 saat tutulması önerilmiştir. Deri, uterus, tendon için sedir yağının dokuyu sertleştirmedeği belirtilmiştir³.

IV) Doku gömme ortamına gömülmelidir. Gömme maddesinin, sıvı haldeyken dokuya kolayca penetre olması ve donmaya başlayınca da dokuya zarar vermeyecek ve rahatça kesilebilecek bir sertliğe erişmesi gerekmektedir. Gömme maddeleri parafin, celloidin, carbowax, gelatin olabilir^{1,2}. Parafin, yumuşak dokular için en uygun gömme ortamı olup çok daha çabuk bloklanır². Erime noktası 54-58°C olan parafin önerilmektedir. Erime noktası yükseldikçe parafinin sertliği artar. Parafine gömme (impregnasyon), dokunun etüvde erimiş parafin içerisinde oryantasyonudur; sıvı parafinin dokuya girip saydamlaştırıcı madde ile

* Araş. Gör. Dr.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji ABD

Geliş Tarihi: 15.2.1994

Kabul Tarihi: 3.9.1996

yer değiştirmesiyle başlar ve dokunun kesilmesi için uygun blok yapılmasıyla sona erer². Bu işlemde en az üç defa dokuların parafin içerisinden geçirilmesiyle sađlanır²⁻⁴. Doku toplam olarak etüvde 5-6 saat kalmalıdır³. Sinir ve deri gibi organlara parafin geç işlediğinden bunlarda süre uzatılabilir^{4,5}.

Parafin ısısının erime noktasından 5°C yukarı çıkması, dokularda bzlmelere ve sertleşmelere neden olur. İmpregnasyon yapılırken vakum uygulanması dokularda bulunan hava kabarcıklarını, gazları, saydamlaştırıcı maddenin dokulardan uzaklaştırılmasında faydalıdır. Aynı zamanda parafinin dokuların en derin bölgelerine kadar girişini sağlar^{2,5,6}.

Etüvde parafin serileri tamamlanan doku parçaları blok yapılır³. Blok yapılırken parçalar, sert parafin dökülmüş uygun blok kalıplarına sıcak bir pens yardımıyla yerleştirilir. Parçalar incelenmek istendikleri konuda ve kesilecek yüzleri aşağıya gelecek şekilde yerleştirilir^{1,3}. Blok kalıplarının kesit yüzlerinin aksi yüzüne de parafin tam donmadan etiketleri yapıřtırılır². Hemen sonra bloklar parafinin kristal büyüklüğünü küçültmek için soğuğa alınır^{1,2}. Parafin bloklar katılaştıktan sonra kalıplardan çıkarılır ve mikrotomda kesit almak üzere buzdolabında saklanabilir^{2,3,5,6}.

Sonuç olarak doku takibi fiksasyondan sonra suyunu giderme, saydamlaştırma ve gömme işlemleriyle ard arda devam eder. Bunlar için

değişik metodlar uygulanır. Dokuların bu metodlarla en uygun biçimde değerlendirilmesi ve kesit alınıp boyanabilmesi için her aşamada ayrıntılarıyla ve dikkatle bütün kurallara uyulmalıdır.

Dr. Melda YARDIMOĞLU

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

Histoloji ve Embriyoloji ABD

Tel: 4428006-08 / 21137-21281

16059 Görükle / BURSA

Kaynaklar

1. Gordon KC: Tissue processing. Theory and practice of histological techniques (2nd ed). Ed: Bancroft JD, Stevens A, Churchill Livingstone, 1982, p 41-60.
2. zer A: Doku metodları. Histoloji Tekniği Doktora Ders Notları, 1988, s 10-12.
3. Hatipoğlu T: Histoloji laboratuvar bilgisi. T.C. Ankara Üniversitesi Diyarbakır Tıp Fakültesi Morfoloji Kürsüsü, Diyarbakır, 1973, s 14-20.
4. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Ilgaz C, Grgn M: Histolojik teknikler. Histoloji laboratuvar kılavuzu. T.C. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (2. Bası, Sayı: 01), Ankara, 1990, s 13-14.
5. Drury RAB, Wallington EA: Carleton's histological technique (4th ed), Oxford University Press, 1967, p 46-66.
6. Thompson SM: Selected histochemical and histopathological methods. Springfield, Illinois, U.S.A., 1966, p 39-41.