

Histolojik Yöntemler

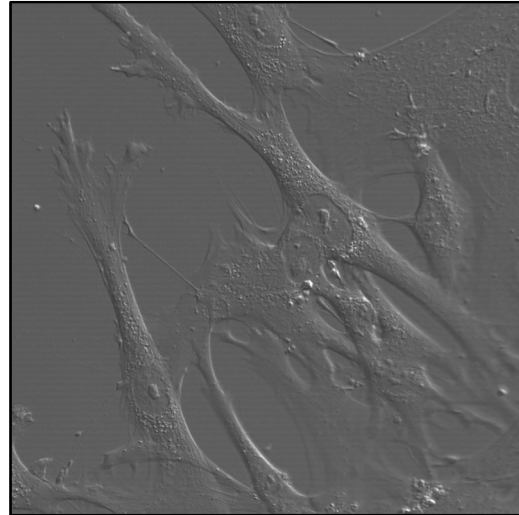
DR. ÖĞR. ÜYESİ Ferda Topal Çelikkan

Histolojik Teknik

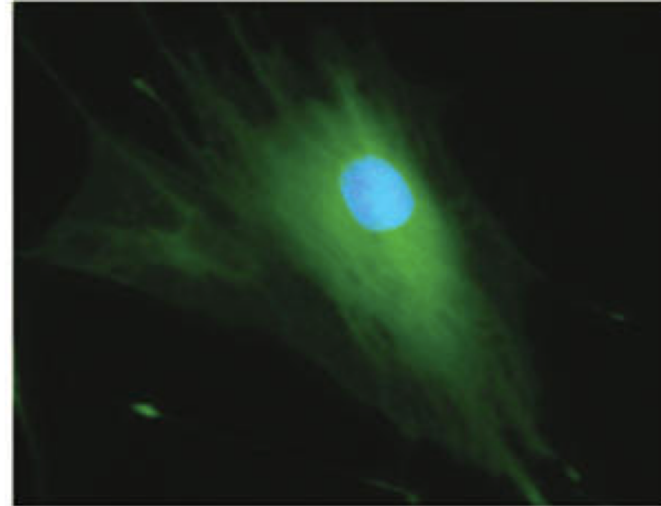
- ✓ Hücre ve hücrelerin oluşturduğu dokuların yapısal özelliklerinin mikroskop altında incelenebilir hale getirilmesini sağlayan preparat hazırlama yöntemlerine *histoloji tekniği* adı verilir.
- ✓ Hücre ve dokuları iki şekilde incelemek mümkündür.



CANLI



CANSIZ

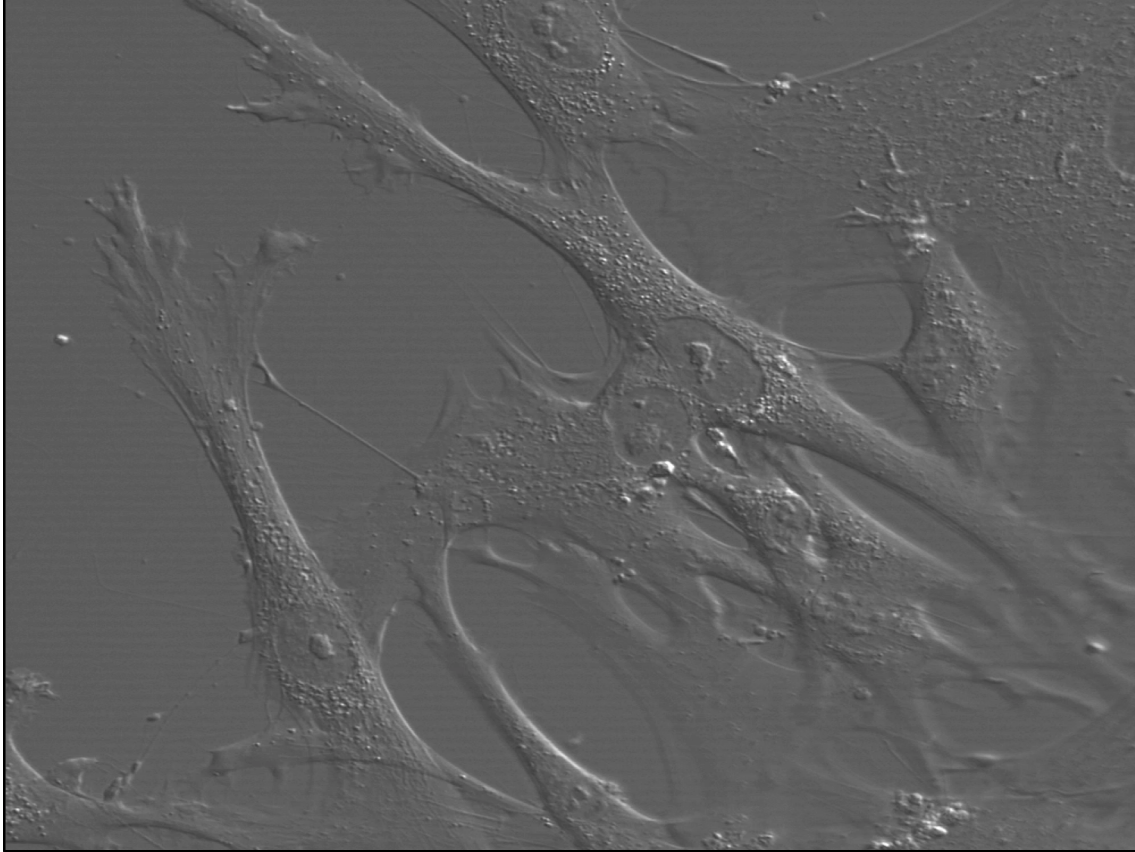


Canlı İnceleme

- ✓ Sıvı ortamda birbirinden ayrı duran hücreler (kan, lenf, sperm, beyin omurilik sıvısı, sinoviyal sıvı vb.)
- ✓ Dokular özel işlemlerle hücrelere ayrılarak izole hale getirilip hücreler incelemeye alınabilir
- ✓ Küçük memelilerin seröz zarları, ör: mezenter gibi ince zarlar

Canlı İncelemede

- ✓ Faz kontrast mikroskobu
- ✓ Hoffman Modülasyon Kontrast Mikroskobu
- ✓ Diferansiyel interferans mikroskop
- ✓ Vital boyalar (az toksik) Ör: Çini mürekkebi, tripan mavisi



İnsan göbük
kordonu
mezenkimal kök
hücreleri (hUC-
MSCs) (mediyum
içinde)

DIC'de, zaman
aralıklı görüntüleme;
Toplam 15 dk- 5 sn
aralıklarla görüntü
alındı

Cansız İnceleme

Tespit edilmiş ve boyanmış
ince doku kesitleri/hücreler
üzerinde yapılır

Hücreleri Mikroskobik İnceleme Yöntemleri

- ✓ Rutin preparat hazırlanması
- ✓ Özel tekniklerin uygulanması
- ✓ Mikroskobik incelemeler

Temel Aşamalar

- ✓ Tespit (fiksasyon)
- ✓ Yıkama
- ✓ Suyunu giderme (dehidratasyon)
- ✓ Saydamlaştırma
- ✓ Emdirme (embedding)
- ✓ Gömme (bloklama)
- ✓ Kesme
- ✓ Boyama
- ✓ Kapatma

Tespit

Hücreleri ve hücrelerarası materyali yaşamın durduğu andaki yapısal ve kimyasal durumunda sabitleştirir

Tespitin Amacı

- ✓ Zar yapısını sabitleştirip **otolizi önlemek**,
- ✓ Lipoproteinler, glikoproteinler, nükleoproteinler, karbonhidratlar, lipitler vb. maddeleri **sabitleştirmek**,
- ✓ Proteinlerde **koagülasyon ve çökme**,
- ✓ Dokuda **sertleşme ve kesilebilirlik**,
- ✓ **Boyanmanın kolaylaştırılması**,
- ✓ **Dokuyu korumak**

Tespit Yöntemleri

Kimyasal

Fiziksel

- ✓ Isı
- ✓ Dondurma
- ✓ Kurutma

Isı

- ✓ Proteinler koagüle olur, yağlar erir
- ✓ Büyük parçaların tesbitinde kullanılır
- ✓ Mikrodalgayla reaksiyon hızlandırılır

Dondurma (Freezing)

- ✓ Doku kalınlığı 2mm. 'den küçük olmalıdır
- ✓ Buz kristali oluşması kriyoprotektanlarla azaltılır. Ör: gliserol, dimetilsülfoksit, sükroz
- ✓ Sıvı azot (-196 °C), solid karbon dioksit (kuru buz) (-75 °C)

Tespiti Etkileyen Faktörler

- ✓ Tespit sıvısının amaca göre seçimi,
- ✓ Tespit sıvısının miktarı,
- ✓ Tespit sıvısının pH'sı,
- ✓ Tespit süresi (büyüklük, ısı, nitelik, diffüzyon gücü)

Tespit Teknikleri

- İmmersiyon
- Perfüzyon

Tespit sıvıları

- ✓ Formol veya Formalin; Proteinlerle **hidroksimetil köprüleri** oluşturur
- ✓ Gluteraldehit
- ✓ Aseton
- ✓ Osmiyum tetroksit
- ✓ Etil Alkol
- ✓ Bouin, Zenker vb.

Yıkama

✓ Tespitte kullanılan kimyasalların tortu ve çökeltilerini uzaklaştırmak için yapılır. Tespit türüne göre :

✓ Su

✓ %70-80 Alkol

Suyunu Giderme

- ✓ Dokudaki suyun uzaklaştırılmasını amaçlar. Düşük dereceden başlayarak yükselen konsantrasyonlarda **etil alkol** kullanılır

% 50>60>70>80>96>100

Saydamlaştırma

- ✓ Dokudaki alkollü çıkarıp gömme materyalinle yer değiştirebilen bir maddenin dokuya sokulması amaçlanır.
- ✓ Bu maddeler aynı zamanda ışık geçirgenliğini de arttırarak dokuyu şeffaflştırır.
 - ✓ ksilol
 - ✓ kloroform
 - ✓ butanol
 - ✓ metil benzoat
 - ✓ amyl asetat
 - ✓ karbon tetraklorür

Emdirme

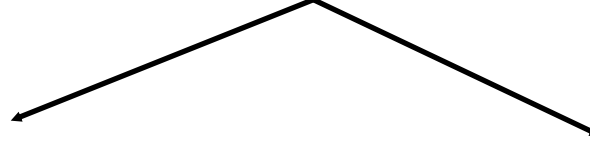
- ✓ Alkollü giderilmiş doku parçaları gömme materyaline alınır
 - ✓ parafin
 - ✓ jelatin, agar
 - ✓ epon
 - ✓ epoksi resin
 - ✓ selloidin, plastik maddeler

Gömmе-bloklama

Emdirme materyalin
içine almış parçalar
aynı materyal içinde
uygun pozisyonda
özel kalıplara
gömülür

Kesme

Mikrotom



Sliding

Bıçak hareket eder

Rotary

Blok hareket eder
(büyük bloklarda)

6-20 μm kalınlığında kesitler alınır



