

# POLİPEPTİT HORMON GÖSTERİMİ

Endokrin hücre granüllerindeki polipeptit hormonları birkaç yöntemle göstermek olasıdır.

## **Elektronmikroskopik Görünümler:**

İmmünohistokimyasal tekniklerle özel bir polipeptid içerdiği gösterilebilen granüllerin granül büyüklüğü, şekli ve densitesi olmak üzere özel bir ultrastrüktürel görünüme sahip olmaları ile tanınabilirler.

Ultrastrüktürel görünümle osmium kullanmadan aldehitte tespit edilip resine gömülmüş dokulardan alınan yarı ince-ince kesit tekniği kullanarak elde edilen immünohistokimyasal bulgular arasında korelasyon kurulabilir.

---

Yarı ince kesit 1-2 mikron olarak kesilir ardından birkaç tane ince kesit onun da ardından bir yarı ince kesit daha alınır.

Materyalin total kalınlığı 4 mikron olduğundan, hücre kesitlerin hepsinde de vardır.

Birinci kesit, pozitif hormon tayini oluşturan immunositokimyasal reaksiyonlar için kullanılır; aradaki ince kesitler nörosekretuar granül görünümünü tayininde, en son kesit ise (yarı-ince) immünolojik kontrol kesidi olarak kullanılır.

## Histokimyasal Teknikler:

---

Bu teknikler en iyi yarı- spesifik tekniklerdir.

Çalışmalar birkaç tekniği aynı anda uygulayarak ve sonuçlarını karşılaştırarak yapılmalıdır.

Özellikle de farklı argirofil yöntemler uygulanmalıdır.

Çünkü bazı polipeptid hormonlar, özel bir fiksatiftten sonra bir gümüş tekniği ile boyanırken, başka bir teknikle boyanmayabilir.



## İmmünohistokimyasal Yöntemler:

İmmünohistokimyasal teknikler kullanarak polipeptit hormonların gösterimi ile kesin tayin yapılır.

Aşağıdaki kriterler mutlaka yerine getirilmelidir.

1-Saflaştırılmış doğal veya sentetik antijen, hangi antipodiye karşı kullanılacaksa hazır olmalıdır.

Günümüzde birçok barsak hormonu için uygun antijenik materyal vardır.

---

2-İncelenecek doku, araştırılan polipeptid hormonun antijenik komponenti değişmeden kalacak şekilde muhafaza edilmelidir.

3-Diđer polipeptit hormonlarla yapısal olarak ilgili olan çapraz reaksiyonlar olmamalıdır. Tüm gerekli kontroller yapılmalıdır.

4-Ortaya çıkan herhangi bir antijen-antikor reaksiyonu hemen görülmelidir.

---

Eğer saf spesifik antibodiler varsa birinci problem fiksatifin seçimidir. Gastrin, insulin ve pankreatik glukagon için aldehit fiksasyonu uygundur ve parafine gömülmüş materyelde gösterilebilir. Dokunun freeze drying' inden sonra 55 derecede sir vapour faz fiksatif olarak cross-linking ajanı olan dietil pirokarbonat kullanarak sekretin,.



---

enteroglukagon, gastrik inhibitör polipeptid (GIP), APUD sistemde belirlenen yeni bir hormonun, antijenik determinantlarının fiksasyona duyarlılık yeteneği saptanmalı, uygun fiksasyon kullanılmalı ve antijen-antibodi kompleks için floresans mı yoksa peroksidaz tekniği mi kullanılacağına karar verilmelidir.

## İmmunofloresans Yöntemler:

Antijen gösterimi için kullanılan teknikler bir ya da iki basamaklı olabilir.

Bir basamaklı (direkt) tekniklerde antikor genellikle fluorescein isothiocyanan uygun bir fluorokrom ile konjuge olur.

İki basamaklı tekniklerde işaretlenmemiş antikorun (örneğin rabbit anti human gastrin) önce kriostatla alınmış kesitteki antijenle reaksiyona sokulur; daha sonra spesifik antikorun (örnek goat anti-rabbit IgG) ortaya çıktığı hayvanın serum IgG sine karşı işaretlenmiş bir antikor uygulanır.

Üretilen her spesifik antiserum için antiserumların uygun derişimlerinin çalışılmasına gereksinim vardır.



## İmmünoperoksidaz Yöntemler:

Bir işaretleyici olarak fluorokromdandan ziyade peroksidazın kullanımı bazı avantajlara sahiptir. Öncelikle, ışık mikroskopik preparatlarda daha kalıcıdır ve alalade bir ışık mikroskobu ile incelenebilir ve zıt boya da yapılarak histolojik ayrıntılar da aynı zamanda aynı kesitte değerlendirilebilir.

İkinci olarak, teknik aynı zamanda immunoelektron sitokimya da uygulanabilir, halbuki floresans teknikler bu tekniğe uygulanamaz

---

John D. Bancroft, Marilyn Gamble, Theory and Practice of Histological Techniques, 2007, Churchill Livingstone; 6 ed.

J. A. Kiernan;2009,Histotechnology: A Self-Instructional Text, American Society for Clinical Pathology; 3rd Ed.

Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques:  
Kim S Suvarna, Christopher Layton , John D. Bancroft  
(2012)

Ramazan Demir .Histolojik Boyama Teknikleri; (2012)

Emel Koptagel.»Işık Mikroskopik teknikler» Ders notları