

DOKU TAKİBİ

Dr.Yasemin Sezgin

- Dokuların mikroskopik incelemeye hazır hale getirmek amacı ile yapılan ve gömme ile sona eren işlemler dizisine doku takibi denir

Doku takibi 3 aşamadan oluşur;

Bunlar:

- Dehidrasyon
- Şeffaflandırma ve
- İnfiltrasyon (sertleştirme)'dur.

- Dehidrasyon fiksasyonu tamamlamış dokuların ilk takip aşaması olup parafin gibi sert maddelere dokuların gömülmesi için gereklidir çünkü sertleştirici maddeler su içeren dokulara infiltre olamazlar.

Başlıca dehidrasyon ajanları;

- **Alkoller:**

- Etil alkol: En sık kullanılan dehidrasyon maddesidir. Berrak, renksiz, kolay alev alabilen orta derecede toksik ve organik çözeltiler ile karışabilen bir sıvıdır. Hızlı etkili ve hidrofilik'dir (suyu seven).

- Denatüre alkol

- Metanol

- Isopropanol

- Bütanol

- **Aseton:** Renksiz, berrak, alev alabilen ve karakteristik kokulu bir dehidrasyon maddesidir.
- Aseton hızla buharlaşarak dehidrasyon yapmakta ve dokuları sertleştirmektedir. Etanol ve metanole göre çözücü etkisi daha fazladır, o nedenle özellikle yağlı dokuların takibinde dehidrasyon maddesi olarak kullanılmalıdır.
- **Genel çözücüler:** Dioksan, tersiyer bütanol, tetrahidrofuran

- **Şeffaflandırma (temizleme):**
Şeffaflandırıcı ajan olarak dehidrasyon maddesini temizleyebilen, sertleştirici madde ile geçimli olabilen ve dokuya nazik davranabilen maddeler seçilmelidir.

Başlıca şeffaflandırıcı maddeler;

- **Ksilen:**
- En sık kullanılan madde olup alev alabilen ve tehlikeli bir maddedir.
- Dokular uzun süre ksilende kalırsa sertleşme çok fazla olmaktadır.

- Diğer şeffaflandırma ajanları:
- Toluen
- Benzen
- Kloroform
- Esansiyel yağlar: Sedir yağı v.b
- Limonen
- Alifatik hidrokarbonlar: Alkenler
- Diğer ajanlar: Karbontetraklorid, karbon bisülfid, gazolin vb.

- ***İnfiltrasyon***
- Dehidrasyon ve şeffaflandırmadan sonra dokuların mikrotomda kesilebilmesi için sertleştirilmesi gereklidir.
- Bu aşamada amaç, dokudaki solüsyonların tutucu bir madde ile yer değiştirmesidir.
- Bu işleme “impregnasyon”-doyurma-denilmektedir.

- İnfiltrasyon işleminde en sık ve yaygın kullanılan madde parafin dir

Parafin

- kolay kullanılabilir olması,
- dokuya az zarar vermesi,
- kısa sürede bloklanabilmesi ve
- dokuya özel işlemlerin yapılmasını sağlaması nedeniyle tercih edilmektedir.

- Parafin, petrolden elde edilmektedir
- Parafinin özellikleri erime noktasına göre değişir çünkü erime noktası arttıkça parafin sertleşmektedir.
- Parafinin içine katılan bazı maddeler erime ısını değiştirir

- Patolojide kullanılması için ticari parafine bazı maddeler ilave edilmiştir. Bunlar:
- Balmumu → kristal boyutu, yapışmayı arttırır
- Kauçuk → kırılma direnci azaltır, kolay seri kesit sağlar
- Diğer mumlar → yumuşak kıvam, daha küçük kristal boyutu sağlar
- Plastikler → sertlik ve desteği arttırır

- Rutin işlemlerde kullanılan parafinin erime noktası 55-58°C'dir.
- İyi bir infiltrasyon için doku parafinde gerekli olan en kısa süre kalmalıdır
- çünkü fazla kalırsa dokuda sertleşme ve büzüşmeler olmaktadır

Bu nedenle

- Parafinin erime derecesi, kaliteli bir doku takibi için her gün kontrol edilmelidir.
- İyi bir infiltrasyon için doku takip işlemlerinde üç parafin kabı bulunmalıdır
- Son parafin kabında, temizleyici ajan kokusu alınmamasına dikkat edilmelidir.
- Bunun için kaplardaki parafin iş yüküne bağlı olarak sık sık değiştirilmelidir.

Parafine alternatif gömme maddeleri arasında

- Mumlar:
 - suda çözünen mumlar
 - ester yapısında mumlar
 - poliester yapısında mumlar
 - mikrokristalli mumlar
- Reçine yapısında mumlar
 - akrilik reçineler
 - epoksi reçineler
 - üre-formaldehid
- Diğer maddeler: Agar, jelatin, selloidin sayılabilir.

DOKU TAKİBİ İŞLEMİ
3 şekilde yapılabilir, Bunlar;

- Otomatik doku takibi
- El ile doku takibi (manuel)
- Mikrodalga doku takibidir.

Otomatik doku takibi

- Otomatik doku takibi genel olarak
 - açık sistem
 - kapalı sistem otomatik doku takibi olmak üzere ikiye ayrılır.
- Protokoller , laboratuvar ve cihazlar arasında farklılıklar göstermekle birlikte genellikle bir gecelik sürelerdedir.

El ile doku takibi

- El ile doku takibinin avantajları
- büyük parçalar için optimal zaman ayarlanabilmesi,
- küçük parçalarda zamanın kısaltılabilmesi
- takip makinesi bozuk veya elektrik kesik olduğunda kullanılabilmesi yanı sıra
- ekonomik olmasıdır.
- Elde doku takibinde kimyasal solüsyonların volümleri çok önemli olup bunlar dokunun en az 50 katı olmalıdır

Mikrodalga doku takip işlemi

- Mikrodalga doku takip işleminde ise dokuların tamponlu formalin içinde ışınlanmasını tek basamak etanol ile dehidrasyonu ve isopropanol ile temizlenmesi ve parafinizasyon takip eder.

➤ Doku takibini hızlandıran etkenler arasında;

- Dokuların 40-50 °C'de fiksasyonu
- Dehidrasyonun %95 etanol ile yapılması
- Hızlı etkili temizleyici ajan kullanılması
- Parafin vakum uygulaması
- Bütün aşamalarda çalkalama işlemi sayılabilir.