

# HİSTOTEKNOLOJİYE GİRİŞ ve TEMEL KAVRAMLAR

Dr. Yasemin SEZGİN

## ● Patoloji laboratuvarında incelenen materyaller

- > Tanısal amaçla gönderilen biyopsiler
- > Operasyon materyalleri
- > Otopsilerden elde edilen organ ve dokular
- > Araştırma materyalleri

- ⦿ **Biyopsi**, lezyon alanından tanı amacıyla alınan doku örnekleridir.

- **İnsizyonel biyopsi**, lezyonun sadece bir bölümünü içeren biyopsiler
- **Eksizyonel biyopsi**, lezyonun tümünün çıkarılması ile elde edilen biyopsiler
- **Endoskopik biyopsi**, mide, barsak, bronş gibi lümeni bulunan organlardan alınan biyopsiler

# Diğer materyaller;

- ◉ Organ materyalleri
  - > Rezeksiyon materyalleri; organın tümünün çıkarılması
  - > Organın bir bölümünün çıkarılması (lobektomi, mastektomi)
  
- ◉ İğne biyopsileri

# Histoteknoloji nedir?

- Dokuların mikroskop altında incelenebilir hale gelene kadar geçirdiği tüm işlemlere verilen isimdir.

Histoteknolojinin dođru bir Őekilde yųrųtųlebilmesi önemlidir

- Dokuların mikroskopik olarak doğru değerlendirilmesi ve doğru tanı verilmesi preparat kalitesine bağlıdır.

# Materyallerin Laboratuara Gönderilmesi ve Kabul

- ◉ Alınan doku kısa bir süre içinde laboratuara ulaştırılmalıdır.
- ◉ Doku asla kurumamalıdır.
- ◉ Mümkünse alındıktan hemen sonra fiksatif solüsyon içine konulmalıdır.
  - > Fiksatif seçimi patoloėun tercihine ve ek inceleme yöntemlerine göre deėiřebilir.
  - > Nötral tamponlanmış %10'luk formalin pek çok amaç için uygun bir fiksatiftir.



# Materyallerin Laboratuara Gönderilmesi ve Kabul

- ◉ Patoloji laboratuvarına gönderilecek materyaller cam, plastik veya metal kaplarda gönderilmelidir.
  - > Kapların ağzı geniş olmalı ve yeterli düzeyde fiksatif solüsyon içermelidir.
- ◉ Patoloji laboratuvarına ulařan her materyal istek formu ile gönderilmelidir.
  - > Bu formda materyalin niteliği, hasta ile ilgili bilgiler ve istenen inceleme ile ilgili bilgiler yer almalıdır.

Materyal laboratuara ulaştığı zaman dikkat edilecek işlemler şunlardır:

1. Formdaki bilgi = materyalin üzerindeki bilgi
2. Materyalin nitelik kontrolü
3. Protokol numarası
  - i. istek formu
  - ii. materyal kabı
4. Tespit edilmemiř materyale uygulanacak iřlemin hızla belirlenmesi

# Histoteknolojide temel basamaklar:

- Tespit
- Doku takibi
  - Dehidratasyon
  - Berraklaştırma
  - İnfiltrasyon
- Parafine gömülme – bloklama

# Histoteknolojide temel basamaklar:

- ◉ Mikrotom ile kesit alma
- ◉ Dokunun boyanması
- ◉ Montaj (kapatma)
- ◉ Frozen kesit
- ◉ Dekalsifikasyon

# TESPİT- FİKSASYON

- ◉ Doku takip işleminin ilk aşamasıdır.
- ◉ Kaliteli bir kesit elde edebilmek için önemlidir.
- ◉ Etkisini protein stabilizasyonu yaparak gerçekleştirir.
- ◉ Fiziksel ya da kimyasal ajanlar kullanılabilir.

- Fiksasyonun başlıca amaçları şunlardır:
  - > Otolizin ve bakteriyal hasarın önlenmesi
  - > Şekil ve hacim açısından sabitleştirilmesi
  - > Canlıdaki yapısının korunması
  - > Boyama işlemlerine elverişli hale getirilmesi

- İyi bir fiksatif dokuya nüfuz edici ve sertleştirici özellikte olmalıdır
- Seçilecek fiksatif patolojik lezyonun niteliğine göre değişir
- Dokunun içine konulduğu fiksatifin hacmi dokunun on katı kadar olmalıdır
- Dokunun her tarafı fiksatif ile temas etmelidir
- Fiksatif ile korunmuş doku dondurulmamalıdır

# DOKU TAKİBİ

- ◉ Dehidratasyon
- ◉ Berraklaştırma
- ◉ İnfiltrasyon



# Dehidrasyon

- Fiksasyonu tamamlanmış dokudan suyun uzaklaştırılması işlemidir.
- Genellikle etil alkol kullanılır.
- Süresi dokunun nitelik ve kalınlığına göre değişir.
- Denatüre alkol, aseton, dioksan gibi maddeler de dehidrasyon için kullanılır.

# Berraklaştırma

- ◉ Dehidrasyon maddesini temizleyebilen, sertleştirici madde ile geçimli olabilen maddeler ile yapılır.
- ◉ Dokunun saydam hale getirilmesidir.
- ◉ Bu ajanlar alkol ve parafin arasında geçiş maddesidir.
- ◉ Ksilen en yaygın kullanılan şeffaflandırıcı ajandır.

# İnfiltrasyon (Sertleştirme)

- ◉ Dokuların mikrotomla kesilebilmesi için sertleştirilmesidir.
- ◉ Dokudaki solüsyonlar tutucu bir madde ile yer değiştirir. (impregnasyon, doyurma)
- ◉ İmpregnasyon için yaygın olarak parafin kullanılır.

# Başarılı bir parafin impregnasyonunda;

1. Parafin banyosunda gerektiği kadar tutulmalı
2. Şeffaflandırıcı ajanın tamamen parafin ile yer değiştirmesi sağlanmalı
3. Doku parafinde fazla kalmamalı (sertleşme ve büzüşmeler olabilir) Bu süre dokunun yapısına ve kalınlığına göre değişir.
4. Parafinin erime derecesi her gün kontrol edilmeli

# Başarılı bir parafin impregnasyonunda;

- İyi bir infiltrasyon için doku takibinde 3 parafin kabı bulunmalı
- Parafin sık değiştirilmeli
- Parafinin sıcaklığı erime noktasını 4-5 °C'den fazla aşmamalıdır.

# PARAFİNE GÖMME- BLOKLAMA

- Dokuların uygun sertlikteki maddeler içine gömülmesi kesim işlemine uygun hale getirilmesi işlemidir
- Bloklama için kullanılan madde parafindir

# PARAFINE GÖMME- BLOKLAMA



# Bloklamada

- Kullanılacak parafin 58-60°C da erimiş durumda olmalıdır
- Doku takibinden çıkan kasetler sıcak hazneye yerleştirilir
- Blok kalıbının içine sıvı parafin konulur
- Dokular bloğun ortasına yerleştirilir
- Dokular gömüldükten sonra parafin hızla soğutulur



# KESİT ALMA İŞLEMİ

- Parafin blokların mikrotomda 3-5 mikron kalınlığında kesilmesi işlemidir
- Okunabilir bir preparat için iyi bir kesite gereksinim vardır
- Bu işlem deneyim ve konsantrasyon gerektirir

# KESİT ALMA İŞLEMİ



## Kesit alma işleminde sırasıyla;

- Blok sođutma
- Bıçağı tutucuya sabitleme ve bıçak açısını ayarlama
- Blok sabitleme
- Blok trařlama
- İnce kesit alma
- Kesiti suya bırakma
- Kesiti lama alma
- Lamı deparafinizasyon için sepete koyma

# BOYAMA

- Hücrenin nükleusunu sitoplazmadan ayıran boyalara genel doku boyaları denir.
- Nükleus-sitoplazma ayrımında kullanılan histolojik boyalar içinde en geniş kullanımı olan **hematoksilen-eozin (HE)** boyasıdır.
  - > Hematoksilen ...nükleus ..... mavi
  - > Eozin .....sitoplazma .....pembe, turuncu, kırmızı

HE boyama işlemi şu sırayla olur:

1. Deparafinizasyon
2. Hidrasyon
3. Boyama
4. Dehidrasyon
5. Saydamlaştırma
6. Kapatma (Montaj)

# KAPATMA

- Lamlardaki dokuların üzerine kapatma maddesi konulup ve lamelin kapatılmasıdır.
- Boyanın solmasını ve zamanla bozulmasını engeller.
- Kapatma materyali olarak Kanada Balsamı ve entellan kullanılır.

## İyi bir kapatma materyali;

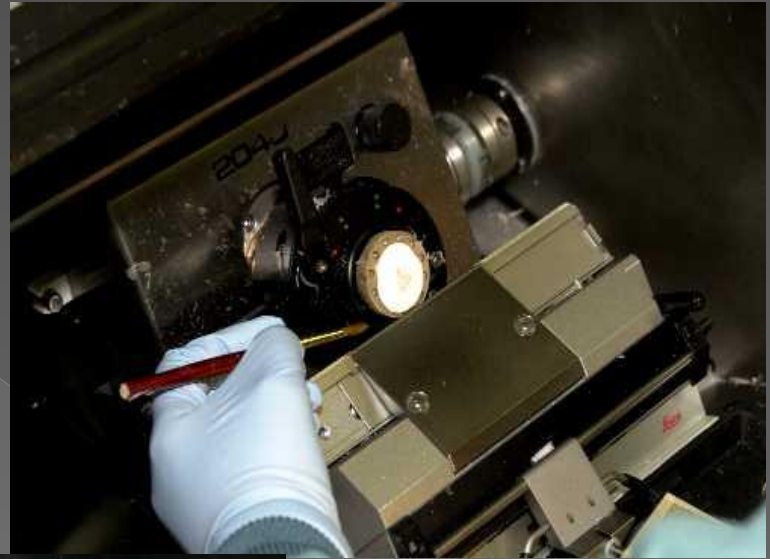
- ◉ Lam-lamel arasında akıcı olmalı,
- ◉ Doku ve doku boşluklarını doldurmalı,
- ◉ Hava kabarcığı bırakmamalı,
- ◉ Uygun olan en kısa sürede kurumalıdır.

# FROZEN KESİT

- Dokuların tesbit işlemine alınmadan vücuttan çıkarılır çıkarılmaz dondurulup kesilmesidir.
- Cryostat denilen aletler ile yapılır.
  - > içinde mikrotom bulunur
  - > bu makinalar -40C'a kadar soğutmalıdır
- Hasta anestezi altındayken cerrahın yapacağı ameliyata yön vermek için kullanılır.
- Preparat elde etmek 15-20 dakika sürer.



# FROZEN KESİT



# DEKALSİFİKASYON

- ◉ Kemik dokusu kalsiyum içeren kalsifiye bir dokudur
  - > içindeki kalsiyum nedeniyle serttir
  - > kesmeye dirençlidir
- ◉ Kemik dokusunu incelemek için içindeki kalsiyumun uzaklaştırılması gerekir.
- ◉ Bu işleme dekalsifikasyon denir.