

BAĞ DOKUSU BOYALARI

- Bağ dokusu vücudumuzdaki dört temel dokudan biridir.
- Görevi vücudumuzdaki diğer dokular ve organlar için yapısal ve metabolik destek sağlamaktır
- Bağ dokusu üç farklı bileşenden oluşur:
 - 1- Lifler,
 - 2- Hücreler,
 - 3- Amorf zemin maddesi
- Bu komponentler farklı bağ dokusu tiplerinde değişen miktarlardadır.
- Farklı bağ dokusu tipleri
 1. Genel bağ dokusu
 2. Kıkırdak doku
 3. Kan doku
 4. Yağ dokusu

1. Kollajen lifler:

En sık görülen ve dokuya dayanıklılık sağlayan liflerdir. Tek tek ya da demetler halinde bulunabilirler.

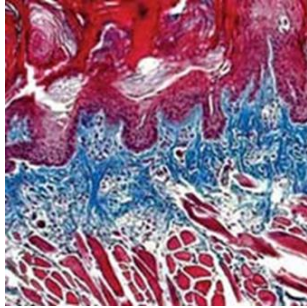
Tendon organ kapsülleri derinin dermis tabakasında yoğun olarak düzenlenmiş kollajen lifler bulunur.

Tip II kollajen hyalin ve elastik kıkırdığın yapısında bulunur.

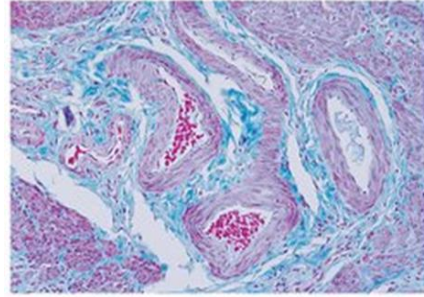
Bazal membranda bulunan tip IV kollajen PAS ile pozitif boyanır.

Kollajen çok eozonofiliktir ve ışık mikroskopuyla kolaylıkla görünebilir.

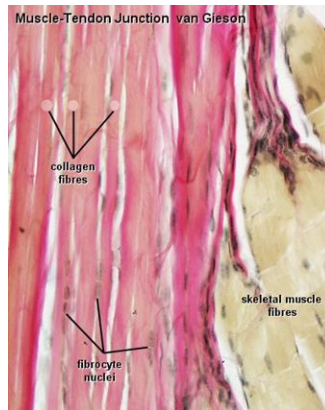
Kollajen masson ve gomori trikrom boyama teknikleriyle ve Van Gieson boyası ile gösterilmektedir.



Masson trichrome
Kolajen mavi



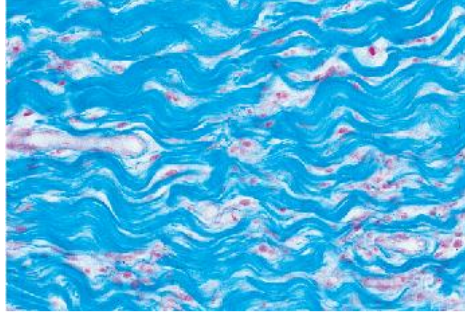
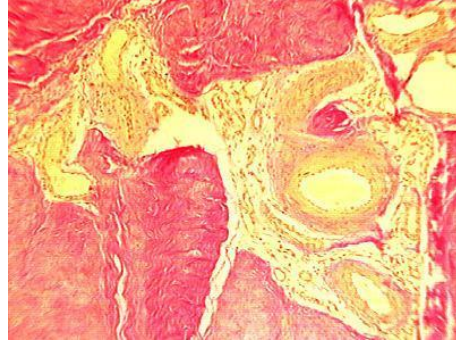
Gomori trichrome
kollajen yeşil



Van gieson boyama
kollajen pembe

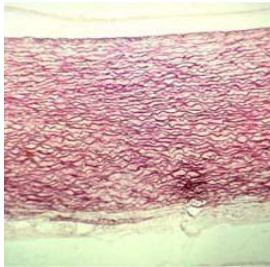
- **KOLLAJEN LİF BOYALARI**

- Van Gieson kollajeni kırmızı, epitel ve kası sarıya boyar
- Mallory boyası kollajeni **mavi**, kası sarı çekirdeği **koyu kırmızı** boyar.

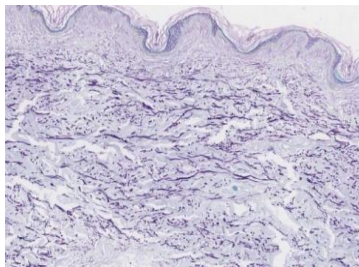


- **2.Elastik lifler:**

Çoğu bağ dokusunda bulunur. Solunum ve dolaşım sistemi gibi esneklik gerektiren dokularda bol miktardadır. Elastik lifler gerilmeye dayanıklıdır. Büyüklük ve düzenlenmesi dokular arasında farklılık gösterir.



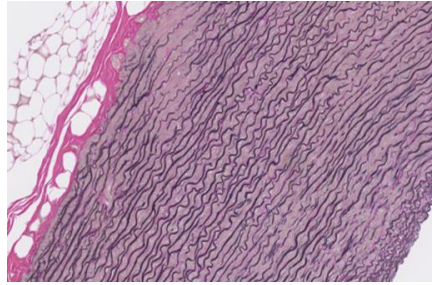
Orsein boyama



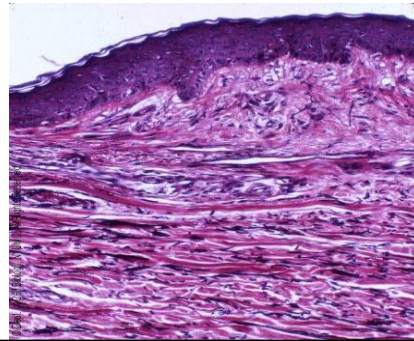
Gomori's Aldehyde Fuchsin for Elastic fibers

Elastik lifler genellikle hematoxilen eozin boyama boyasıyla görülmez, özel boyalar gerektirir.

Örneğin Verhoff demirli hematoxilen, weigert resorsin fuksin, orsein, gomori aldehit fuksin boyaları ile gösterilebilir.



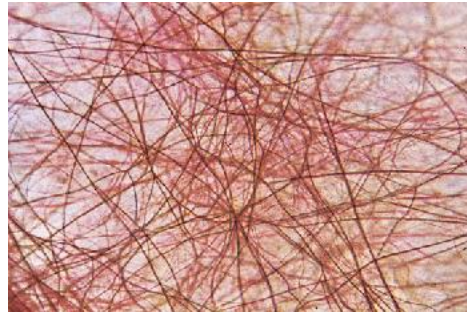
Verhoff's Van Gieson on aorta section



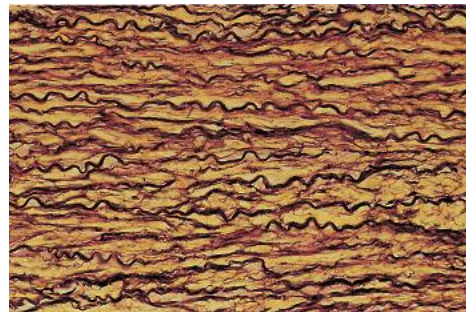
Weigert resorsin fuksin

- **ELASTİK LİF BOYALARI**

Orcein, elastik lifleri kahverengiye boyar

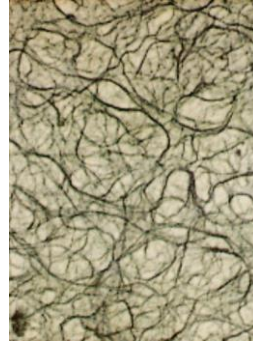
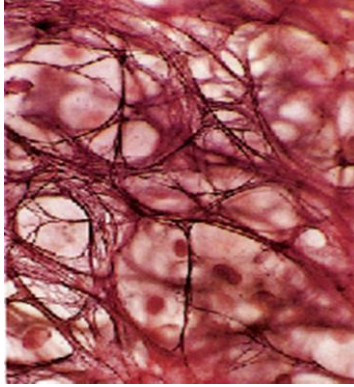


Verhoff, elastik lifleri siyah, laciverte boyar.

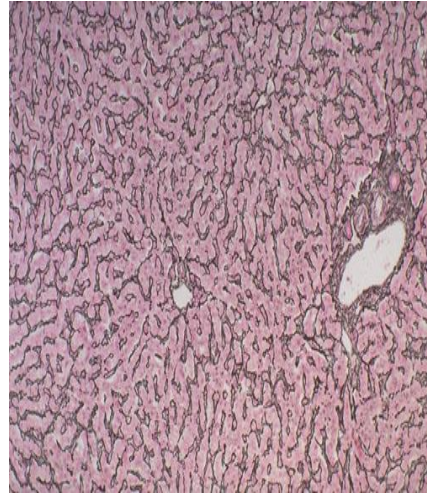


3.Retiküler lifler: Tip III kollajen yapısında olan retiküler lifler dalak, böbrek, akciğer ve akraciğerde bol miktarda bulunur.

Rutin hematoksilen eozin boyasıyla görülemez. Gümüşü adsorbe edebildikleri için arjirofilik boyanmayla gösterilebilir. Arjirofilik boyanma (gümüşleme), dokunun içinde kollajenden çok daha küçük ince bir ağ oluşturan retiküler liflerin gösterilmesini sağlar.

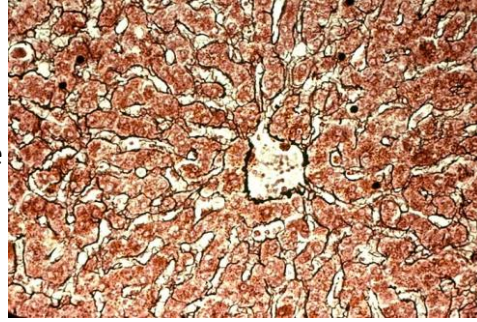


- Retikülin boyası karaciğer ve dalak gibi organlarda kullanılır. Arjirofilik olan retiküler lifler bu boya ile görülebilir.
- Retikülin boyası neoplazmaların büyüme paterninin gösterilmesinde de faydalıdır.

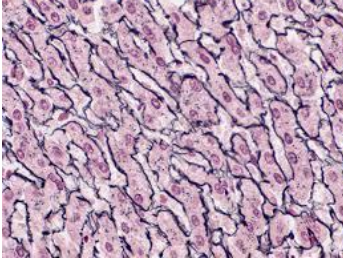


RETİKÜLER LİFLER

Retiküler liflerin değerlendirilmesi benign veya malign tümörlerde, kemik iliği ve karaciğer hastalıklarında önemlidir. En çok Gomori ve Gordon-Sweets gümüşleme teknikleri kullanılır.



GOMORİ
Retikulum: Gri / Siyah
Çekirdek: Pembe / Kırmızı

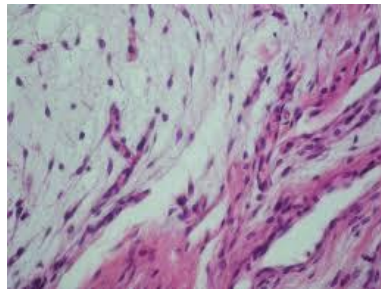


Gordon-Sweets

4.Temel bağ dokusu hücreleri:

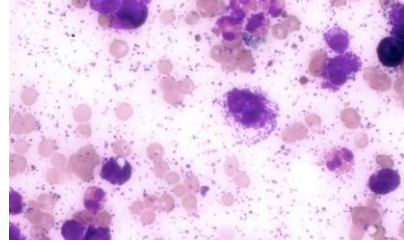
A.Fibroblastlar: Bağ dokusunun liflerini ve amorf maddeyi üreten en yaygın bağ dokusu hücresidir. Kollajen liflerinin arasında yassılaştırmış çekirdekleriyle ayırt edilebilir.

B.Mejanşimal hücreler: Nisbeten farklılaşmamış hücrelerdir. Fibroblastlardan ayırt edilmesi zordur.



Bağ dokusu hücreleri sıklıkla immünohistokimyasal tekniklerle belirlenir.

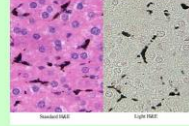
C. Mast hücreleri: Bol miktarda salgı granülleri içerir. Heparin ve histamin içeren salgı granülleri **toludin blue** ile metakromatik boyanır.



D. Makrofajlar: Büyük yiyici veya çöpçü hücreler. Sadece bağ dokusunda bulunmaz karaciğer lenfotik doku gibi başka dokularda da bulunur. Rutin histopatolojik yöntemlerle gösterilemez.

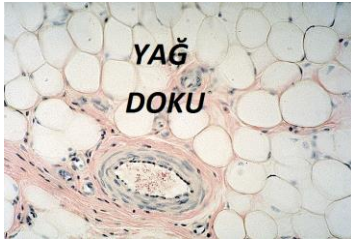
Karaciğerin immünolojik fonksiyonu

- Kupffer hücreleri, fagositoz, antikor oluşumu ve humoral savunmada rol oynarlar.

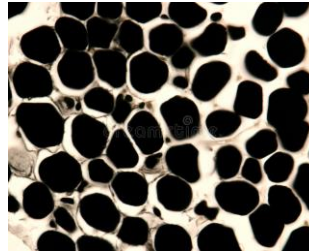


10

- E. Adipoz doku ve yağ dokusu hücreleri: Gevşek bağ dokusunun yağ sentezleyen ve depolayan hücreleridir. Vücudun bazı alanlarında daha fazla birikerek yağ dokusunu oluşturur. Bir yağ hücresindeki çekirdek hücrenin içinde yağ birikmesiyle kenara itilir ve yassılaşır. Basit yağlar parafin kesitlerde korunamaz. Frozenle kesilmiş özel tekniklerle gösterilebilir.



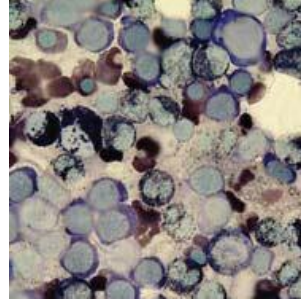
- H&E



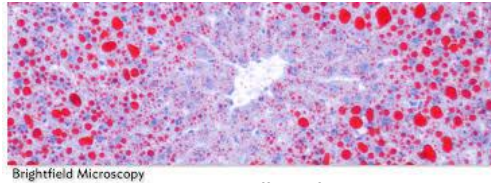
osmium tetroksit

Yağ için boyama teknikleri

- Yağ embolisi tanısı ve yağ hücre kökenli tümörlerin belirlenmesinde kullanılan Sudan Black B ve Oil Red O nötral lipitleri gösteren tekniklerdir



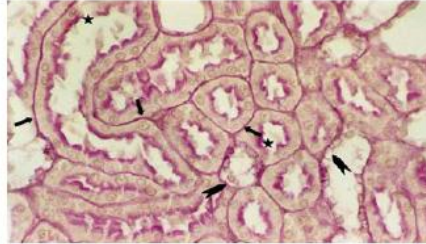
Sudan Black B



Oil Red O

Bazal Membran

- Bazal lamina olarak da adlandırılan bazal membran epitel dokunun hemen altında bulunur ve epitel dokuyu bağ dokusundan ayırır.
- Tip 4 kollajen, laminin ve proteoglikandan oluşur. Karbonhidratları demonstre eden tekniklerle gösterilebilir. Örneğin PAS (periodik asit shiff) bazal membranı göstermek için kullanılabilir.



Şekil 8. DM+Losartan grubunda tübül epitellerinin fırçası kenarlarında ayrılma ve bozulmalar (*), tübül bazal membranlarında kalınlaşma (→), glukojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübüller (◀). PAS X 20.

PAS (periyodik Asit Schiff)

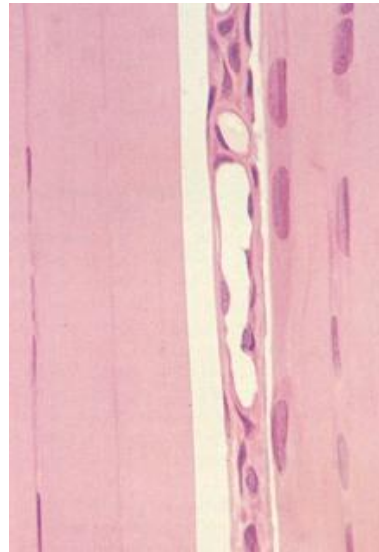
Hücrelerin karbonhidrat (glikozaminoglikanlar, mukopolisakkaritler, musinler..) içeriğinin gösterilmesinde kullanılan PAS ilk kez 1946 da McManus tarafından kullanılmıştır. Tümör tanısında, bazal membran kalınlığının değerlendirilmesinde, mantarların gösterilmesinde kullanılmaktadır.

PAS tekniği karbonhidratlar içindeki serbest aldehit grupları ile Schiff reaktifinin etkileşimine dayanmaktadır.



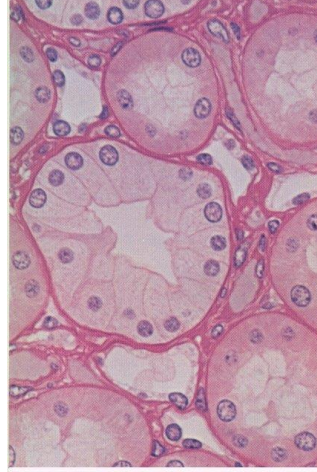
BAĞ DOKUSU BOYALARI

- Histoloji laboratuvarında genel olarak bağ dokusu lifleri ile hücreleri birbirinden ayırt etmenin en temel yolu **asidik boya** kombinasyonları ile dokunun boyanmasıdır.



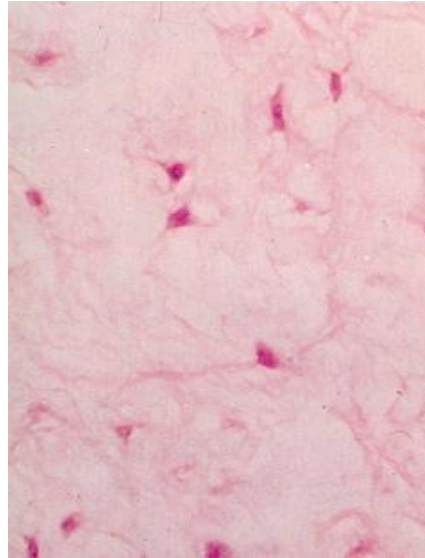
Asit boya kombinasyonları

- Boyaların farklı moleküler ağırlıklara ve boyutlara sahip olması, bunların dokuya diffüzyon oranlarına etki ettiği düşünülmektedir .
- Daha büyük boyalar ayrıca Van der Vals bağları da oluşturabilir.

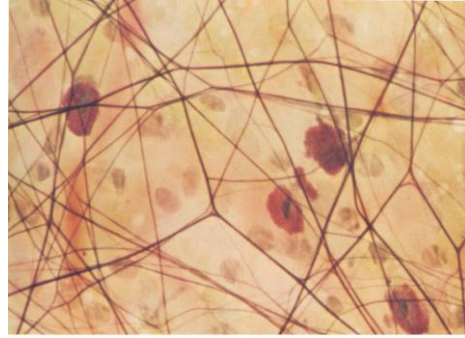


Kidney: basal lamina
PAS & H&E (High)

- İki asidik boya bir araya geldiğinde büyük boya küçük boyanın yerini almaya çalışacaktır.



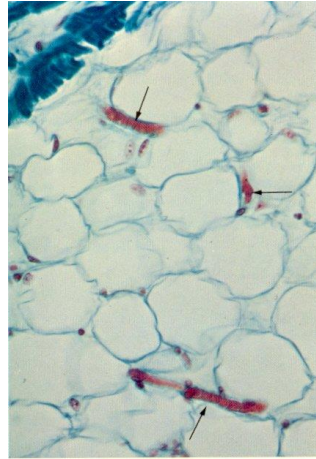
- Küçük boyalar daha açık boyanmaya meyilli iken büyük boyalar daha koyu boyanmaya meyillidirler



Loose areolar C.T. (spread)
H&E, orcein (High)

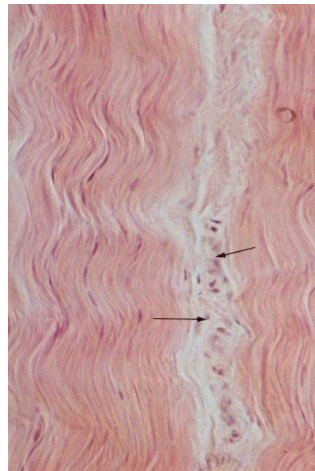
- Doku permeabilitesi mevcut protein miktarına ve proteinler arasındaki su oranına bağlıdır.
- Gevşek bağ dokusunda birçok sıvı aralıkları bulunur ve bundan dolayı bu bağ dokusu çok geçirgendir.
- Buna rağmen eritrositler, örneğin tamamen hemoglobin ile dolu olduğundan daha yoğundurlar.

- Diferansiyel asit boyamasının temelinde sadece küçük boyanın yoğun alanlara geçmesi vardır.
- Dolayısıyla eritrositler en **yoğun** doku olarak ele alınırsa en **küçük boya ile** boyanacaktır.



Adipose tissue
Mallory's (Med)

- Gevşek bağ dokusunda ise **büyük ve küçük** dokular boyama için yarışma halinde olacaklardır ve **büyük boya ağır** basacaktır.
- Dolayısıyla da **kollajen yalnızca büyük boya** ile boyanmış olacaktır.



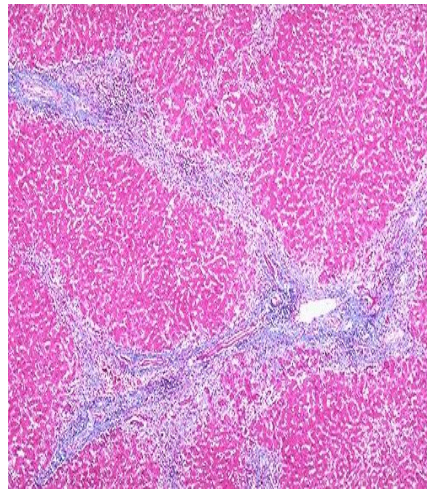
Tendon
(dense reg. C.T.)
H&E (Med)

Trikrom boyaları

- Bu boyalar, differensiyal boyaların bir çeşidi olarak **üç doku bileşenini** boyamak için **kombine edilmiş 3** farklı boyadan oluşurlar.
- Kas, İkolajen lifler, fibrin ve eritrositlerin gösterilmesi hedeflenmektedir.
- TESPİT: Formalinle tespit edilmiş dokuların pikrik asit ya da civa klorür ile takibe alınması parlaklığı artırır.
- Zenker
- Formalin civa,
- Boin
- Pikro civa alkol solüsyonları ile tespit trikrom boyamalar için uygundur.

Trikrom boyaları

- Trikromlar, doku lifleri ile doku aralıkları arasında çok iyi bir boyanma ayrımı yapabilirler.



MASSON TRİKROM YÖNTEMİ

Kollajenin arttığı hastalıklarda tanısız olarak kullanılabilir.

Böye ya da %10 nötral formalinle tespit, 4-5 um kalınlığında kesit

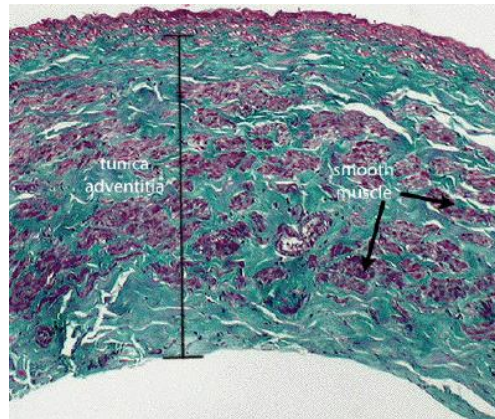
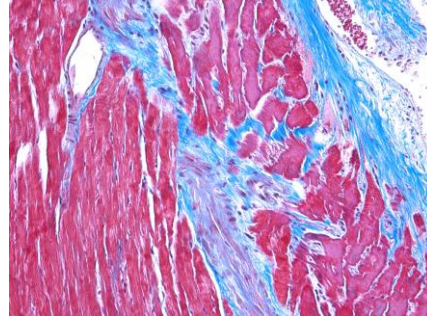
Weigert demir hematoksilen+Asit fuksin+Anilin mavisi ile yapılan üçlü boyamadır.

Kollajen: Mavi

Çekirdekler: siyah

Sitoplazma:kırmızı

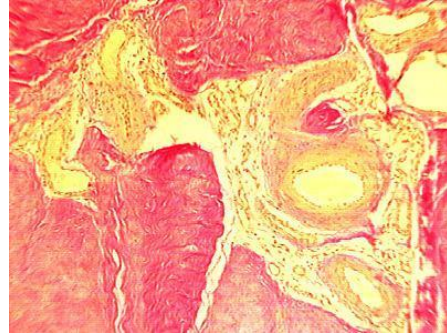
Kas lifleri: kırmızı



- Kollajenin yoğun olduğu dokularda anilin mavisi yerine light green ile de uygulanabilir.
- Kollajen lifler: Yeşil

Van Gieson Pikrik Asit-Asit Fuksin Tekniği

- Pikrik asit ortamın asidik pHsını ayarlarken asit fuksin kollajeni seçici olarak boyar.
- Özel tespit solüsyonu önerisi yoktur.
- Weigert demir hematoksilen+asit fuksin+ Van Gieson solüsyonu üçlü boyama temeline dayanır.



Kollajen: Parlak kırmızı
Çekirdekler: Siyah
Sitoplazma: Sarı
Kas lifleri: Sarı

Mallori'nin Trikrom Boyası

- Ekstraselüler matriks bileşenlerinin bağ dokusu hücre ve liflerinden ayırt edilmesini sağlayan iyi bir bağ dokusu boyasıdır.
- Anilin mavisi+asit fuksin+oranj G üçlü boyama prensibine dayanır.
- Kollajen lifler: Mavi
- Sitoplazma: Kırmızı
- Elastik lifler ve
- Eritrositler: Sarı

