



HİSTOLOJİK İNCELEMELER, HÜCRE

Doç.Dr.Şerife TÜTÜNCÜ

- 
- **Histoloji** kelimesi yalın hali ile “**doku bilimi**” anlamına gelir.
 - Histoloji derslerinin konuları ve işlevi göz önüne alınırsa, bu kavram dokuları oluşturan hücrelerin, dokuların ve dokuların oluşturduğu organların mikroskopik yapılarını inceleyen bir bilim dalı olarak tanımlanabilir.
 - Anatomi, Fizyoloji ve Patoloji.



Histolojik incelemeler yapabilmek için:

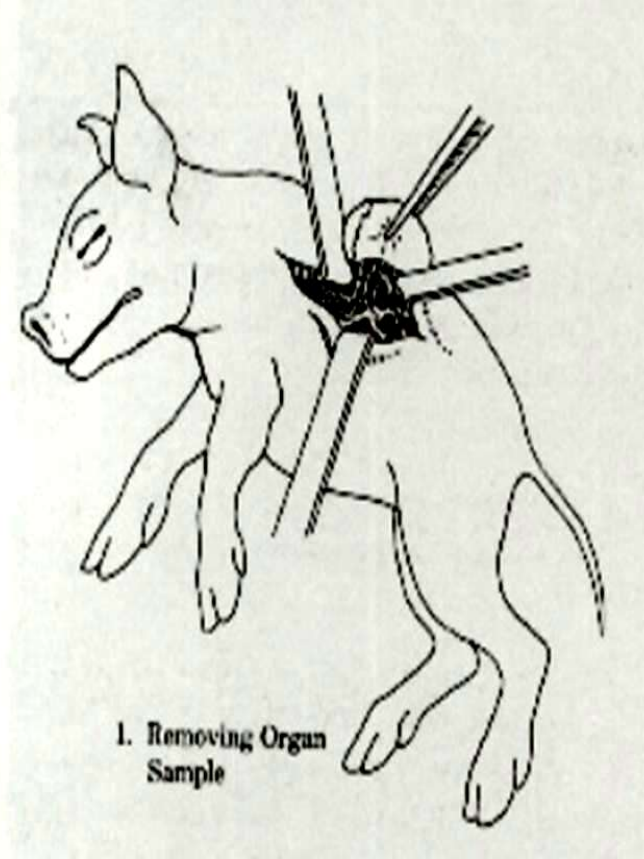
- **Histoloji Tekniği,**
- **Mikroskopi ve Mikrofotografi,** iki önemli basamağı oluşturur.

Histoloji Tekniği:

- Canlılardan alınan organ ve doku parçalarının ya da vücut sıvılarının incelenmesinde başvurulan önemli bir yöntemler zinciridir.
- Histoloji tekniğinde en önemli amaç, incelenecek materyalin sağlıklı ve canlı haldeki özelliklerinin saklanabilmesidir.

■ İncelenecek materyalin ama uygun olabilmesi için, materyalin canlıdan uygun operasyon koşullarında **aseps** ve **antisepsiye** özen gösterilerek alınması gereklidir.

■ **Asepsi** mikroorganizmaları bulaşmasını önlemek, **antiseptik** ise, çeşitli kimyasallarla mikroorganizmaların gelişmesini çoğalmasını önlemek anlamına gelir.



- 
- Kan, lenf, sperma gibi vücut sıvıları ve parmak arası membranı ile seröz membranlar **canlı (vital)** inceleme yöntemleri ile incelenebilir. Bu incelemeler için vital boyalar kullanılır. Vital boyalar az toksiktir.
 - **Asit vital boyalar:** Tripan mavisi, çini mürekkebi, lityum karmin.
 - **Bazik vital boyalar:** Metilen mavisi, toluidin mavisi, nötral red, krezil viyole.

- **Cansız(ölü)** incelemede birinci basamak **tespit(fikzasyon)dir.** Tespit ile postmortem değişiklikler, otoliz önlenir. Proteinler, bileşikler ve makromoleküller halinde çöktürülür.
- **Fiziksel tespit:** **Isı, kurutma** ve **dondurma** yoluyla sağlanan tespittir. Özellikle enzim ve lipid çalışmalarında bu yöntemlerden yararlanılır.
- **Kimyasal tespit:** Tespit ajanı olarak bilinen **kimyasal maddelerle** ya da kimyasal maddelerin bir araya gelmesi ile yapılır.

- **Perfüzyon tespiti:** Histolojik incelemeler için en iyi tespit yöntemidir.

Total perfüzyon; küçük hayvanlarda yapılır amaç, postmortem değişiklikler başlamadan tespit sıvısının narkozdaki hayvanın kalbinin sol ventrikulusuna verilerek uygun basınç ile bütün organ, doku ve hücrelere gitmesini sağlamaktır.

Parsiyal perfüzyon; büyük hayvanlarda yapılır. Sadece organ tespittir. Organa gelen damardan verilen tespit sıvısının organı dolaşıp, organdan çıkması hedeflenir.

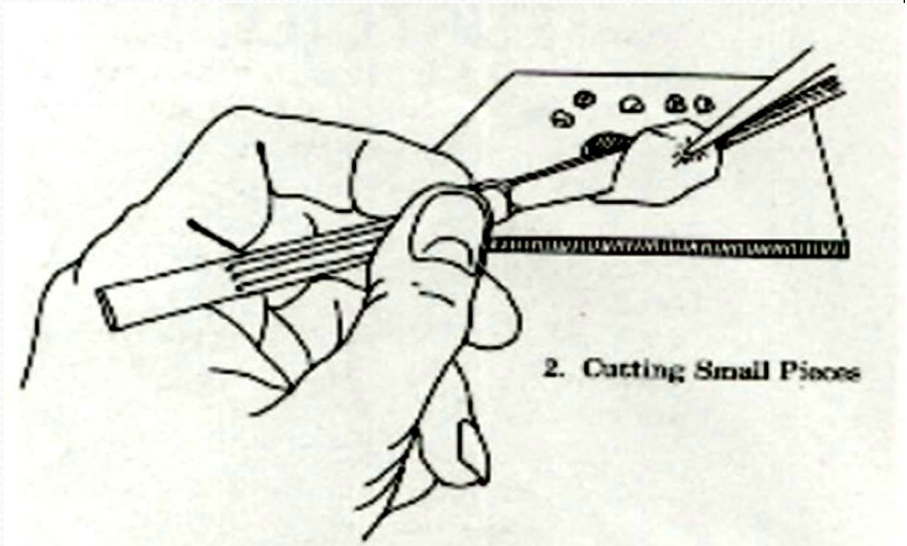
- **Daldırma tespiti:** Organ parçalarına uygulanan yöntemdir.

Narkoz halindeki bir canlıdan uygun operasyon yöntemlerine göre alınan organ parçasının, tespit solüsyonuna konmasıdır.

Yöntemin başarılı olması için organ parçalarının 1x1 cm den büyük olmaması gereklidir.

Histolojik Prosedür:

1. Tespit: Organ parçaları elastik, sert bir zeminde keskin bir bıçakla alınmalı, kanlı ya da bulaşık parçalar serum fizyolojikte yıkanarak süratle tespit solüsyonuna konulmalıdır. Tespit solüsyonu miktarı organ parçası hacminin en az 10 katı miktarda olmalıdır.



Önemli tespit ajanları:

- Formaldehid,
 - Asit pikrik,
 - Asit asetik,
 - Aseton,
 - Alkol,
 - Civa klorür,
 - Potasyum bikromat'tır.
-
- Bu ajanların biri ya da bir kaç birleşerek hücreyi, dokuları ve organları oluşturan 3 temel maddenin (proteinler, karbonhidratlar, yağlar) amaca uygun tespitini sağlarlar.

- Önemli tespit solüsyonlarından örnekler:

Formol-salin

%40 formaldehit	100 ml
Sodyum klorid	9 g
çeşme suyu	900 ml

Carnoy'un fiksatif

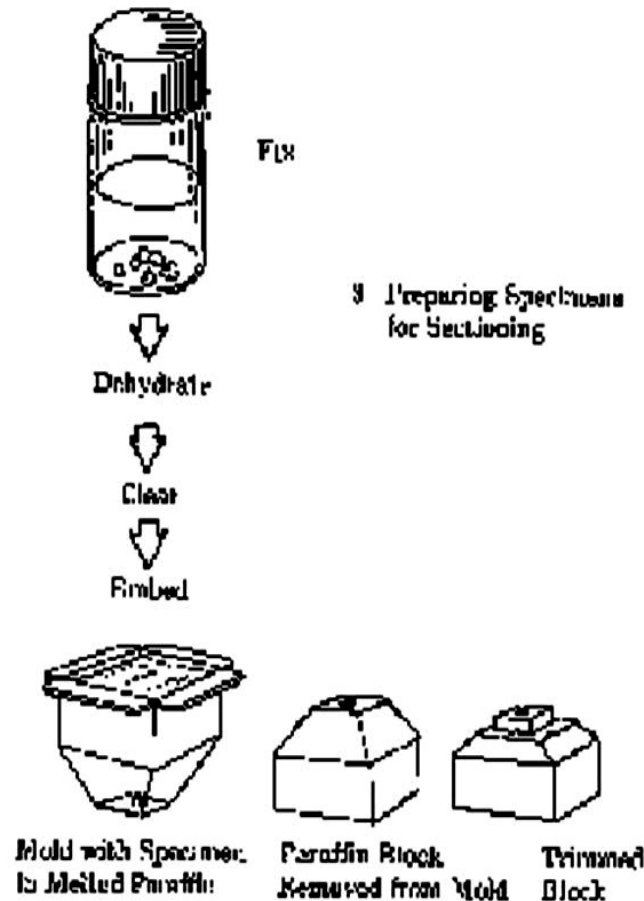
Absolu alkol	60 ml
Kloroform	30 ml
Glasiyal asetik asit	10 ml

- **2. Dehidrasyon:**

Tespit solüsyonları ya da yıkama sonucunda organ parçaları üzerinde kalan fazla suyun geri alınmasıdır. Dereceli alkollerle (% 70, 80, 96, 100) yapılır.

- **3. Parlatma:**

Ksilol, benzol gibi petrol türevleri ile organ parçasının parlatılmasıdır.



- **4. Gömme:**

55-60 °C eriyebilen parafinde organ parçalarının gömülüp bloklanmasıdır.

- **5. Kesit alma:** Mikrotom adı verilen özel araçlarla parafin bloklardan 5-7 μ kalınlığında kesitlerin alınmasıdır.



- **6. Kesitleri boyamaya hazırlama:** Bloklardan alınan parafinli kesitler, kırışıkları giderilip lamalar üzerine yapıştırılarak kurutulur.



7. Boyama: Boyamaya hazır kesitleri istenilen amaca uygun boyama yöntemi ile boyamak ve bu işlemden sonra kesit üzerinin bir lamel ile kapanmasıdır.

Asit boyalar: Eosin, asit fuksin, layt grin

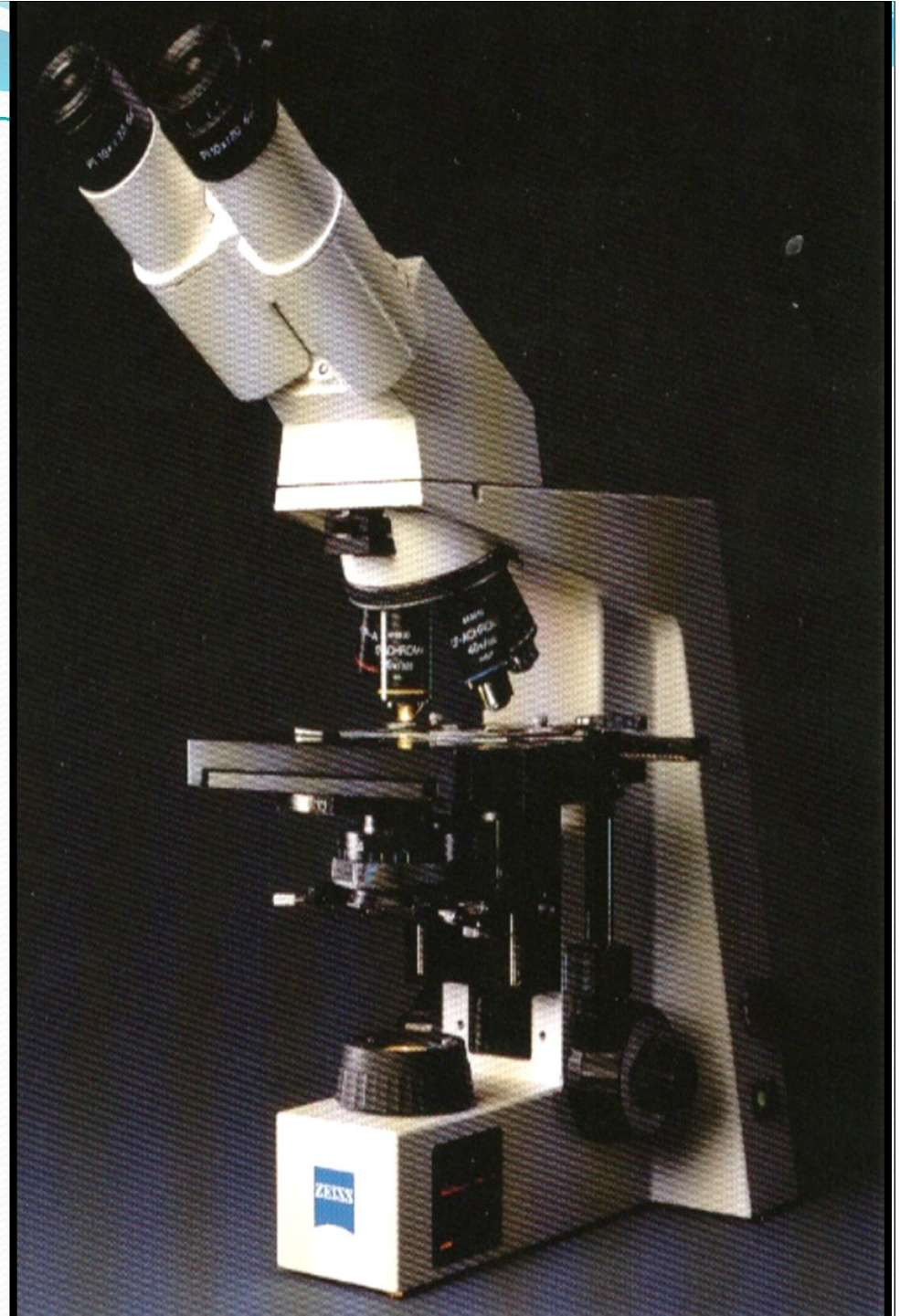
Bazik boyalar: Bazik fuksin, toluidin bleu, tiyonin, metilen bleu.





Mikroskopi ve Mikrofotografi:

- Mikroskoplar kullandıkları ışığın kaynağına göre sınıflandırılırlar.
- Işık Mikroskoplarında ayırım gücü $0.25-1 \mu$ arasında,
- Elektron-mikroskopunda $20-2 \text{ \AA}$ arasında değişir.



Işık Kaynağı: 4000-7600 Å dalga uzunluğunda görünen ışık,

4000 Å'dan daha kısa dalga uzunluğunda ultraviyole (mor ötesi) ışıkları,

7600 Å'dan daha büyük dalga uzunluğunda infraruj (kırmızı altı) ışıkları olarak sınıflandırılırlar.

Klasik ışık mikroskoplarında 4000-7600 Å uzunluğunda görünen ışık kullanılır.

Ayırım Gücü: Birbirlerinden kesin olarak ayrılabilen iki nokta arasındaki mesafedir. Bu mesafe ne kadar az ise, o mikroskop o kadar çok büyütebiliyor anlamı çıkar.

Mikroskop objektiflerinde 2 rakam göze çarpar.

- * Birincisi büyük yazılmıştır tam sayıdır

- * İkincisi küçük yazılmıştır.

Birinci rakam boyca büyötmeyi ikinci rakam sayıca açıklık ($n \cdot \sin \alpha$)'dır. n suda: 1.3, havada: 1, camda: 1.5'tir.

Eğer ayırım gücü formüle edilirse:

Ayırım Gücü (AG) = $\lambda : n \cdot \sin \alpha$ olarak tarif edilebilir.







lichtmikroskop.net





- 
- Işık ve elektron mikroskoplar bir kesit yüzündeki oluşumları incelerler.
 - Buna karşılık skaning elektron mikroskoplar bir kırık yüzeydeki oluşumları 3 boyutlu inceleme imkanına sahiptirler.
 - Işık mikroskoplarında ışık kaynağı bir ampul içindeki tungstenin akkor haline gelmesiyle oluşan ışın demeti, elektron mikroskoplarında ise yüksek voltajla vakumlu ortamda oluşan elektron partiküllerin demet haline getirilmesidir.

- Işık mikroskopları; “**klasik mikroskoplar**” ve özel bir amaca yönelik “**özel teknik mikroskoplar**” olmak üzere sınıflandırılırlar.
- **Özel Teknik Mikroskopları:**
 - * İmmersiyon mikroskobu,
 - * Faz kontrast mikroskobu,
 - * Ultraviyole mikroskobu,
 - * Floresans mikroskop ve
 - * **Polarizasyon mikroskobu** olmak üzere çeşitlere ayrılır. Ultraviyole mikroskobu ve polarizasyon mikroskopları daha çok fizikte kullanılır.

- **Klasik ışık mikroskoplar**, boyanmış yapıları inceleyen mikroskoplardır. Mikroskopun objektifleri ile obje arasında hava vardır o nedenle ayırım gücü sınırlıdır.
- **İmmersiyon mikroskoplarda** objektif ile obje arasına immersiyon yağı konulur ve bu nedenle ayırım gücü artar.
- **Faz kontrast mikroskoplar** boyanmamış materyalleri incelemeye kullanılan mikroskoplardır.
- **Fluoresans mikroskoplar** hücrelerdeki doğal ya da sonradan kazandırılan floresans veren maddeleri incelemeye ve bu şekilde hücre fonksiyonları ile ilgili bilgi edinmeye yararlar.

- Son yıllarda kullanılmaya başlayan **konfokal mikroskoplar** ışık mikroskoplarla skaning elektron mikroskoplarının kombinasyonu ile elde edilmiştir.
- Biyolojik materyallerde kullanılır.
- Histolojik incelemede objeler linear ölçümlerle de tarif edilirler.

1 Angstrom($\text{\AA}$) = 0.1 nanometre(nm)

10 Angstrom = 1.0 nanometre= milimikron(m μ)

1000 nanometre = 1.0 mikrometre(μm)= μ

1000 mikrometre = 1.0 milimetre(mm)

Histolojide Özel İnceleme Yöntemleri:

A) Histokimya: Dokularda ya da hücrelerde mevcut özel kimyasal yapıların (protein, lipid, polisakkarit, enzim, pigment ve vitaminler) lokalizasyonları bu yöntemle incelenir.

B) İmmunhistokimya: Hücre ve doku içinde bulunan bazı enzimlerin ya da makromoleküllerin lokalizasyonlarını incelemeye yardımcı olur. Sistem incelenecek olan bir makromeleküle karşı geliştirilmiş olan bir antikorun ortaya konulmasıdır.

C) Histootoradyografi: Histolojik kesitlerde mevcut radyoaktif elementlerin çıkardığı ışınların duyarlı fotoğraf filmleri ile tespitidir.

D) Doku kültürü: Organizmadan ayrılan hücre ve dokuların vücut dışında yaşatılmasını sağlayan yöntemdir.

- Histolojik incelemelerde mikroskopa yansıyan görüntü incelenen objenin biçimini yansıtmayabilir.

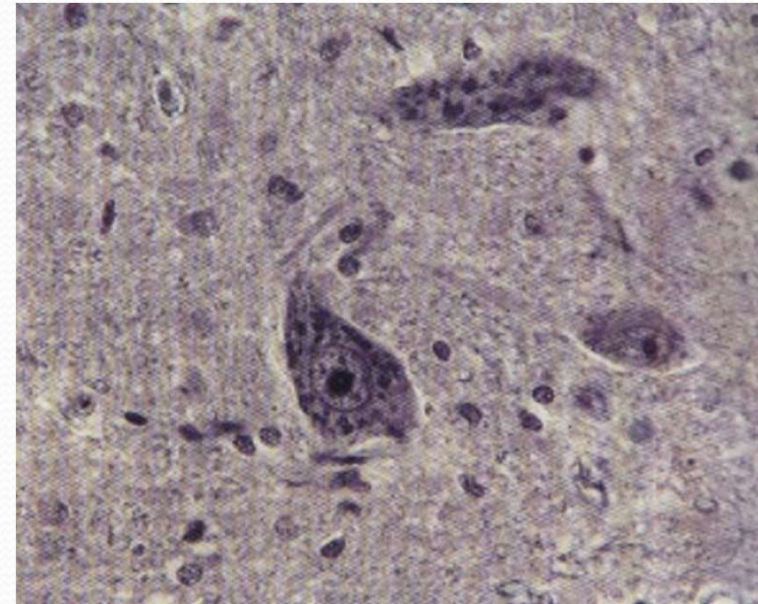
HÜCRE

- Organizmada özel yapı ve fonksiyona sahip olan, aldığı maddeleri kendine yararlı hale getirebilen, bölünüp çoğalabilen en küçük canlı birime hücre denir.
- Hücreler canlılığı devam ettirebilmek için dışarıdan aldıkları maddeleri ilkel unsurlarına parçalarlar, açığa çıkan enerjiyi kullanırlar
-katabolizma-
- Daha yüksek kuruluştta maddeler üretirler
- anabolizma- ikisin birden de
-metabolizma- denir.

- Memeli hayvanlar ve insanlarda en büyük hücreler **olgun yumurta hücreleri** (200μ)dir.

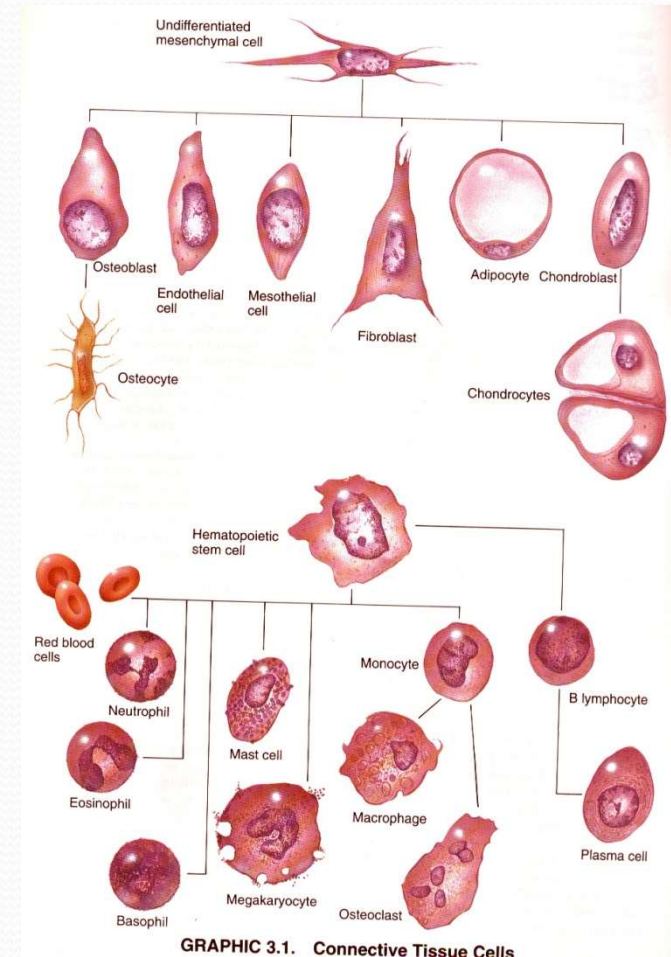
İkinci büyük hücreler sinir hücreleri- **motor nöronlar** (150μ),
aksonları ile beraber
uzunlukları 1.5 m'yi
bulur.

Hücreler genellikle
 $15-20\mu$ büyüklüğe
sahiptirler.

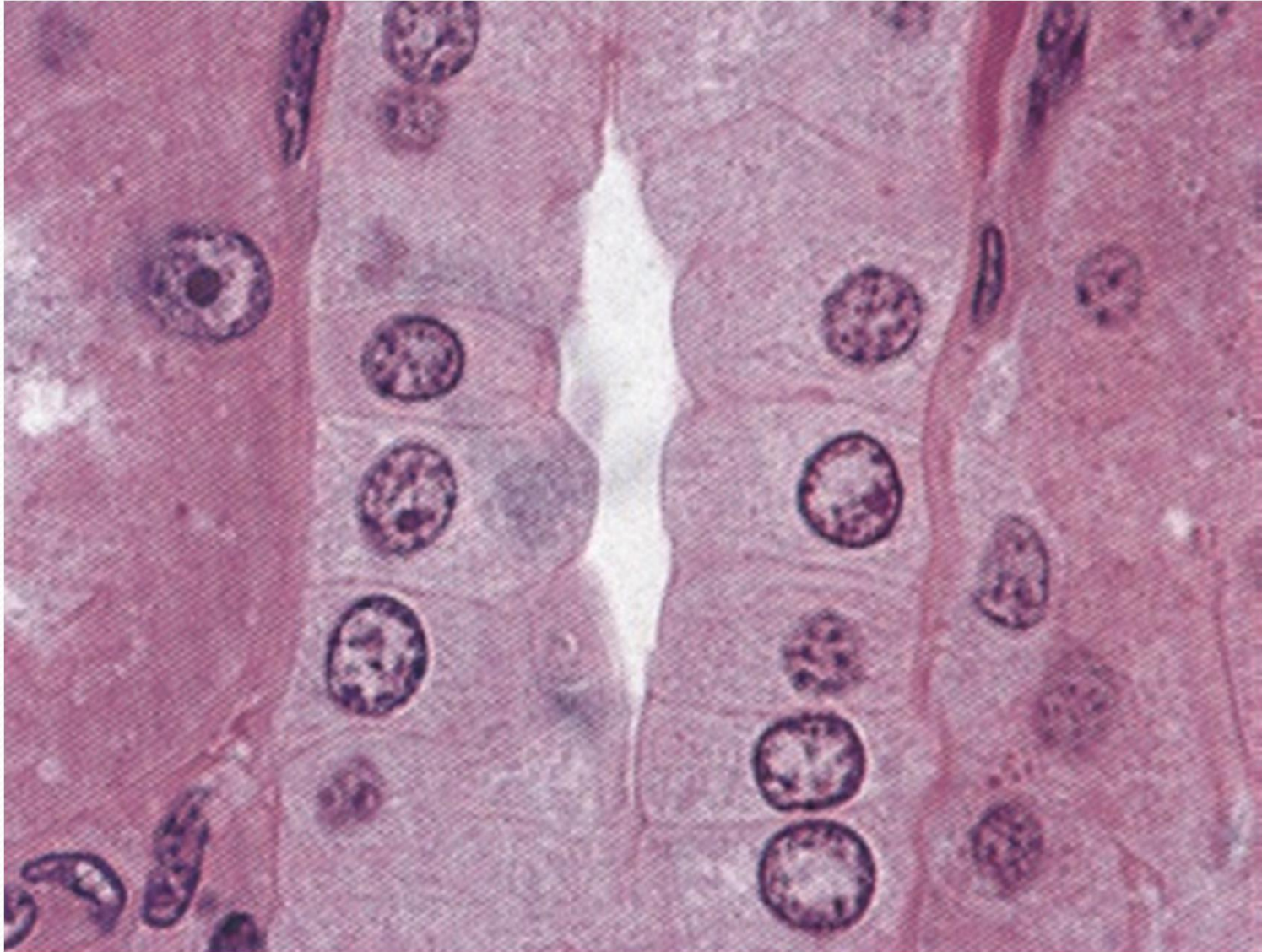


Hücrelerin şekilleri fonksiyonlarına göre farklılık gösterir.

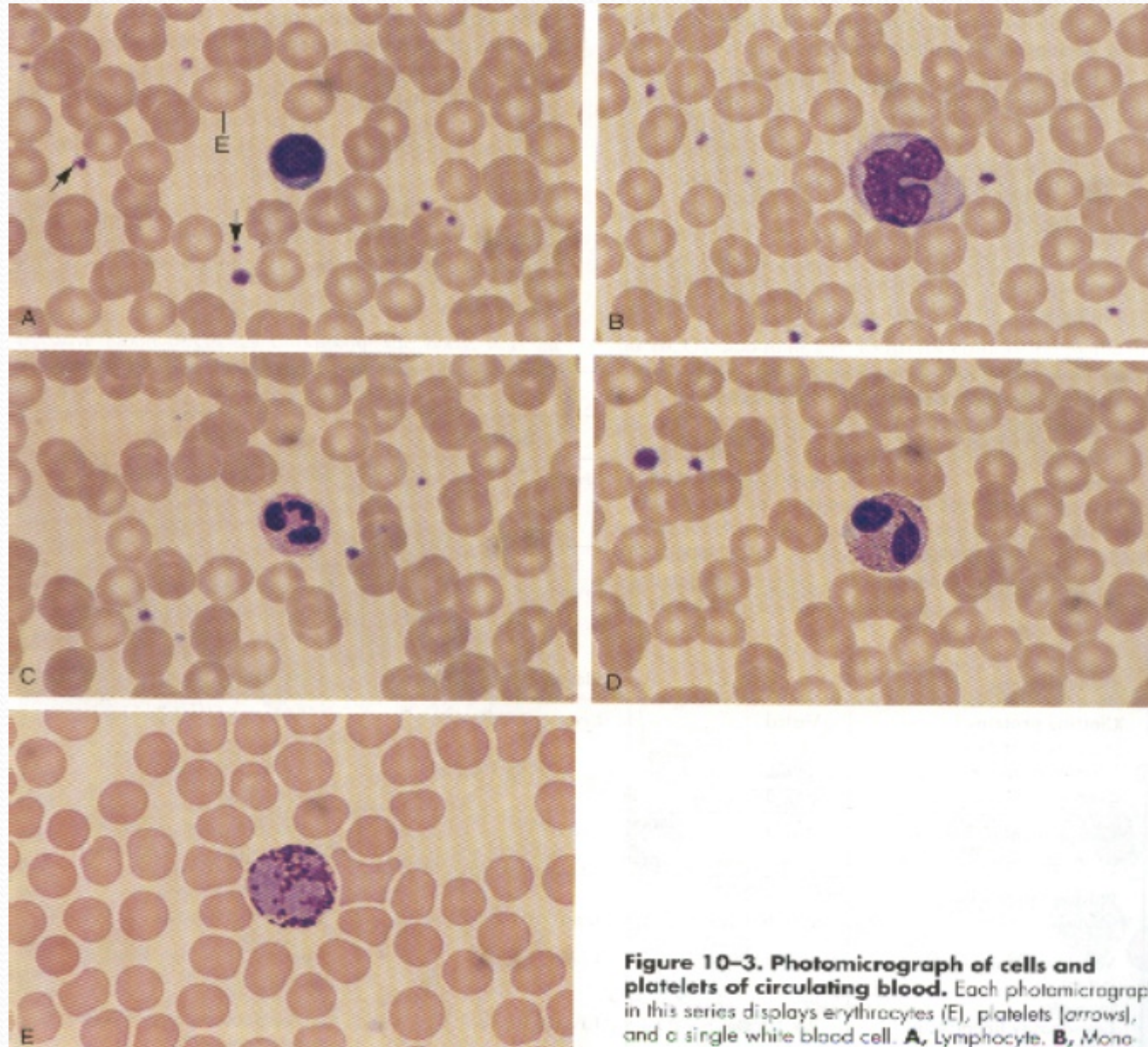
- * Yassı
- * kübik
- * prizmatik
- * piramidal
- * oval
- * yuvarlak
- * mekik
- * iplik ve
- * yıldız şekilli hücreler



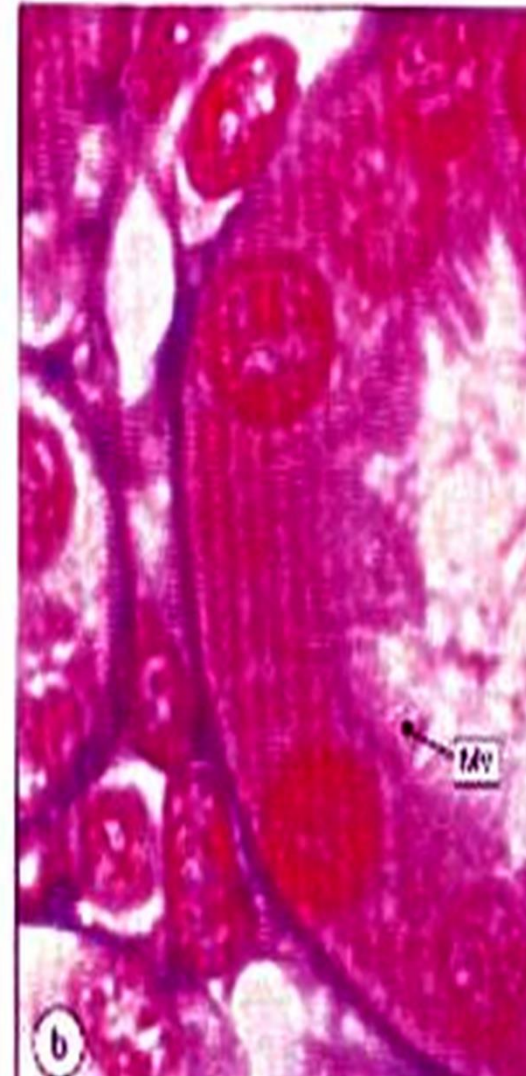
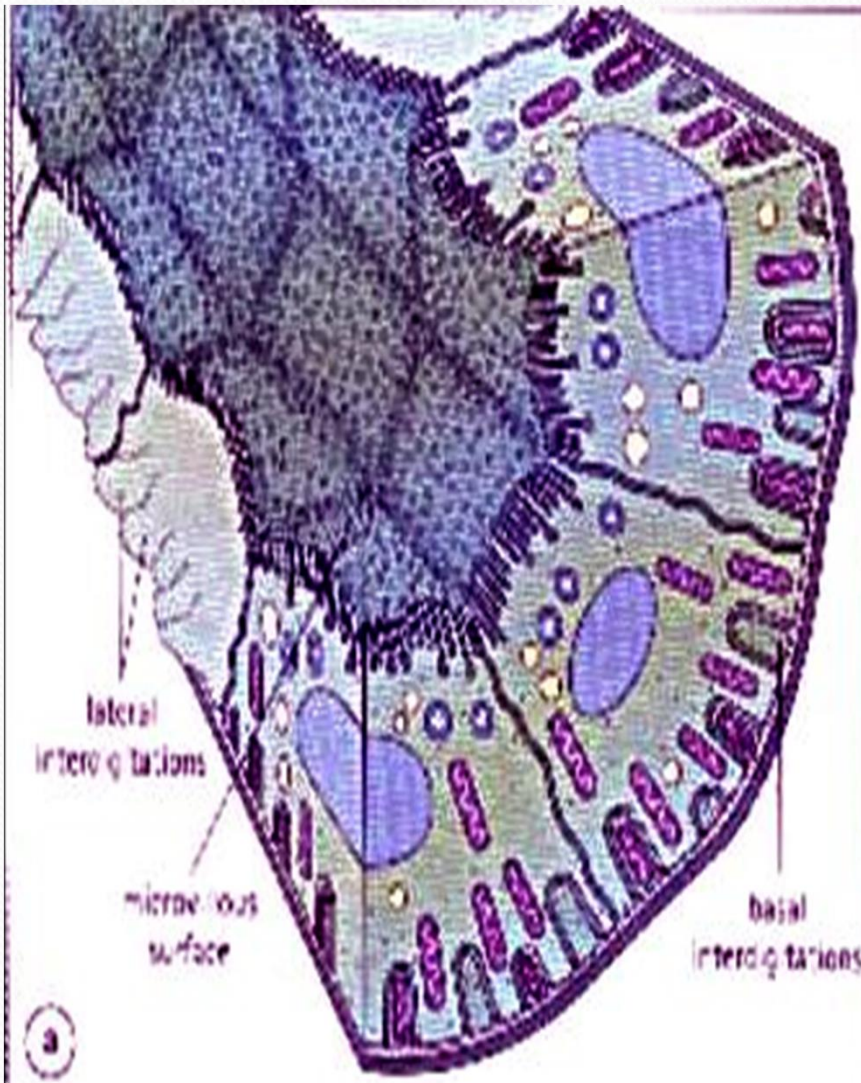
- K bik h creler,  riner sistemde bulunur.



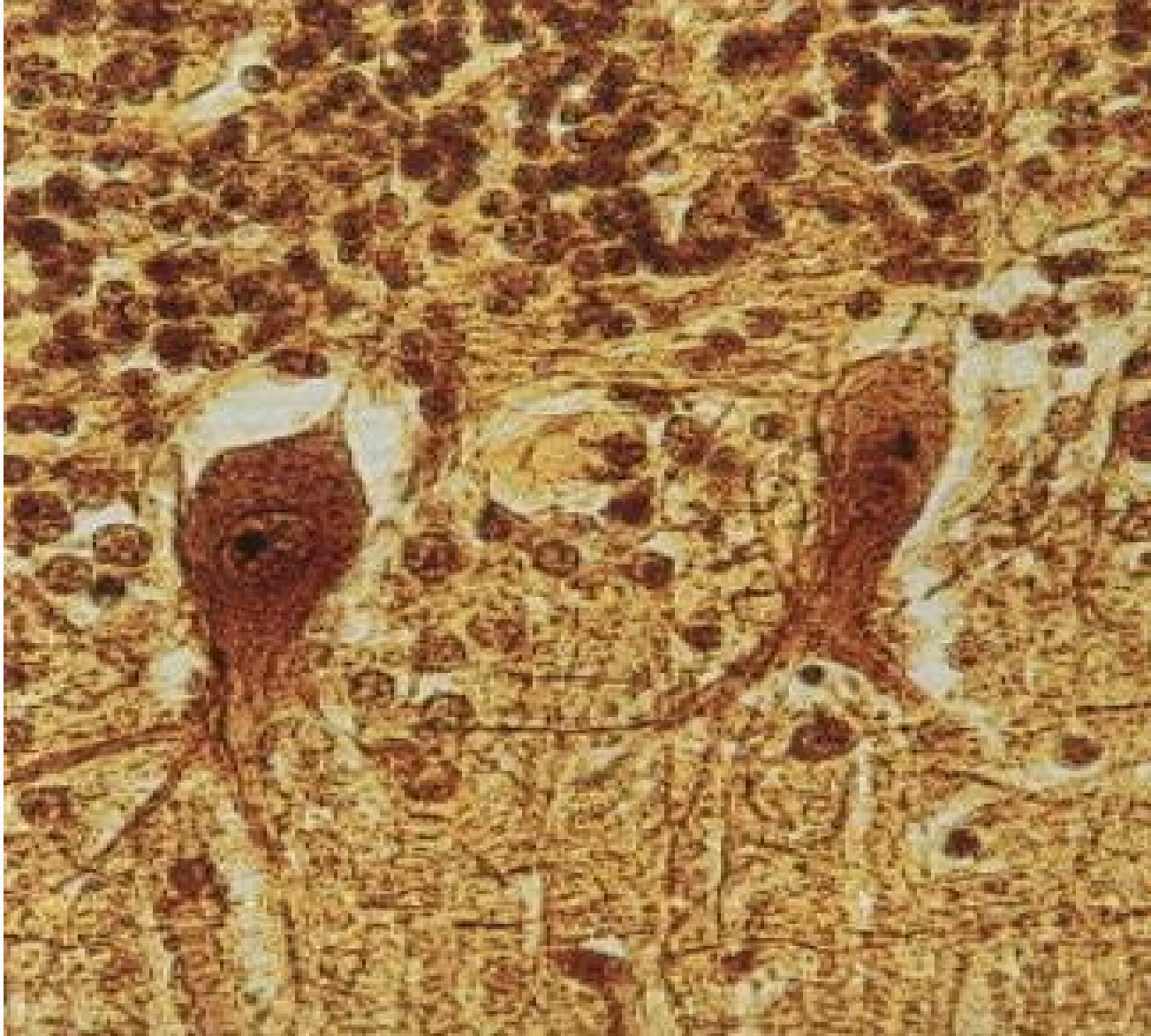
- Yuvarlak hücreler kan dokusunda bulunur.



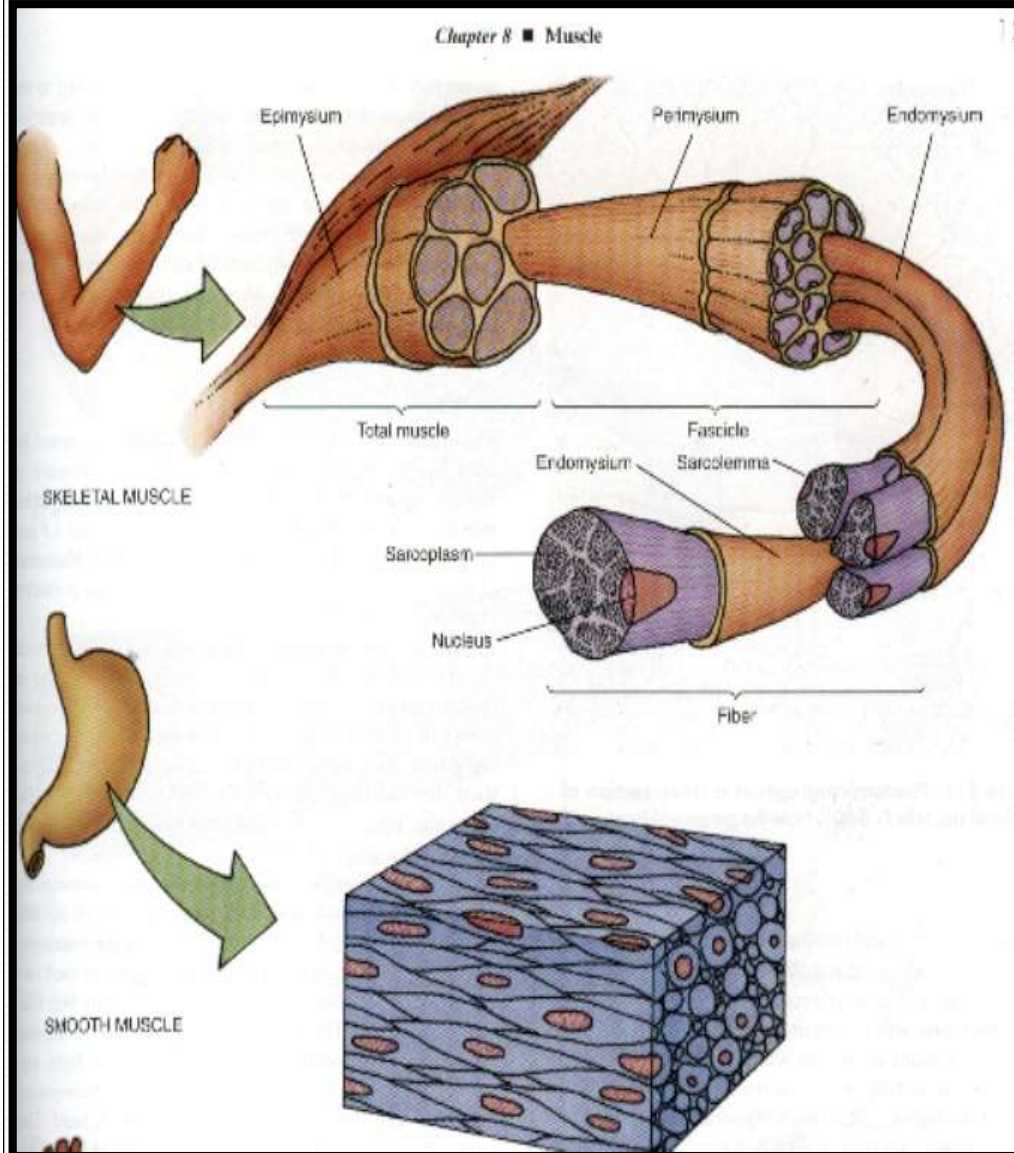
- Böbreklerde piramidal hücrelere rastlanır.



- Sinir dokuda duyu alış verişinde çok önemli olan uzantılı hücreler vardır.

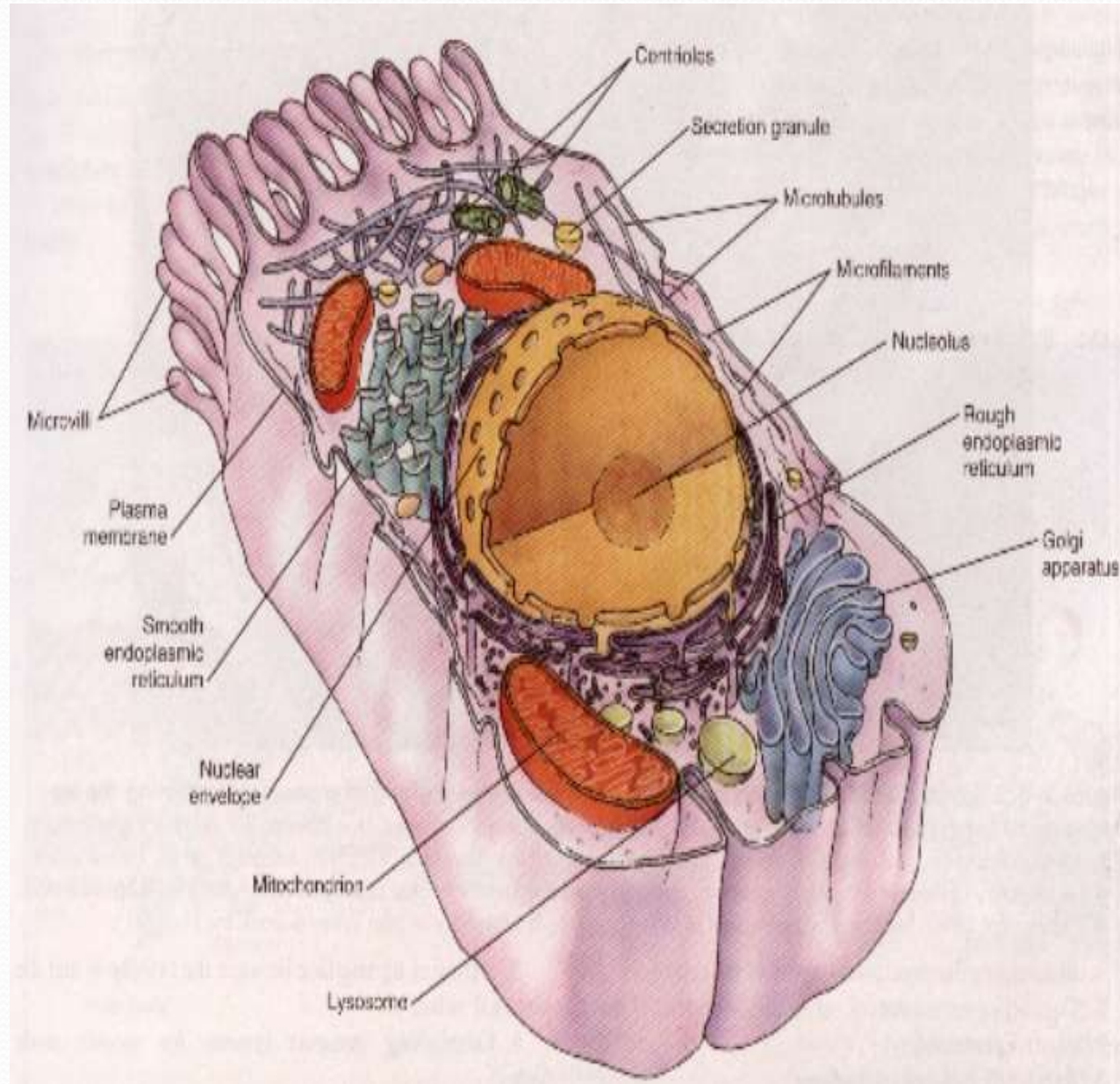


- Kas dokuda hücreler kontraksiyon yapabilmek için iplik şeklini almışlardır.

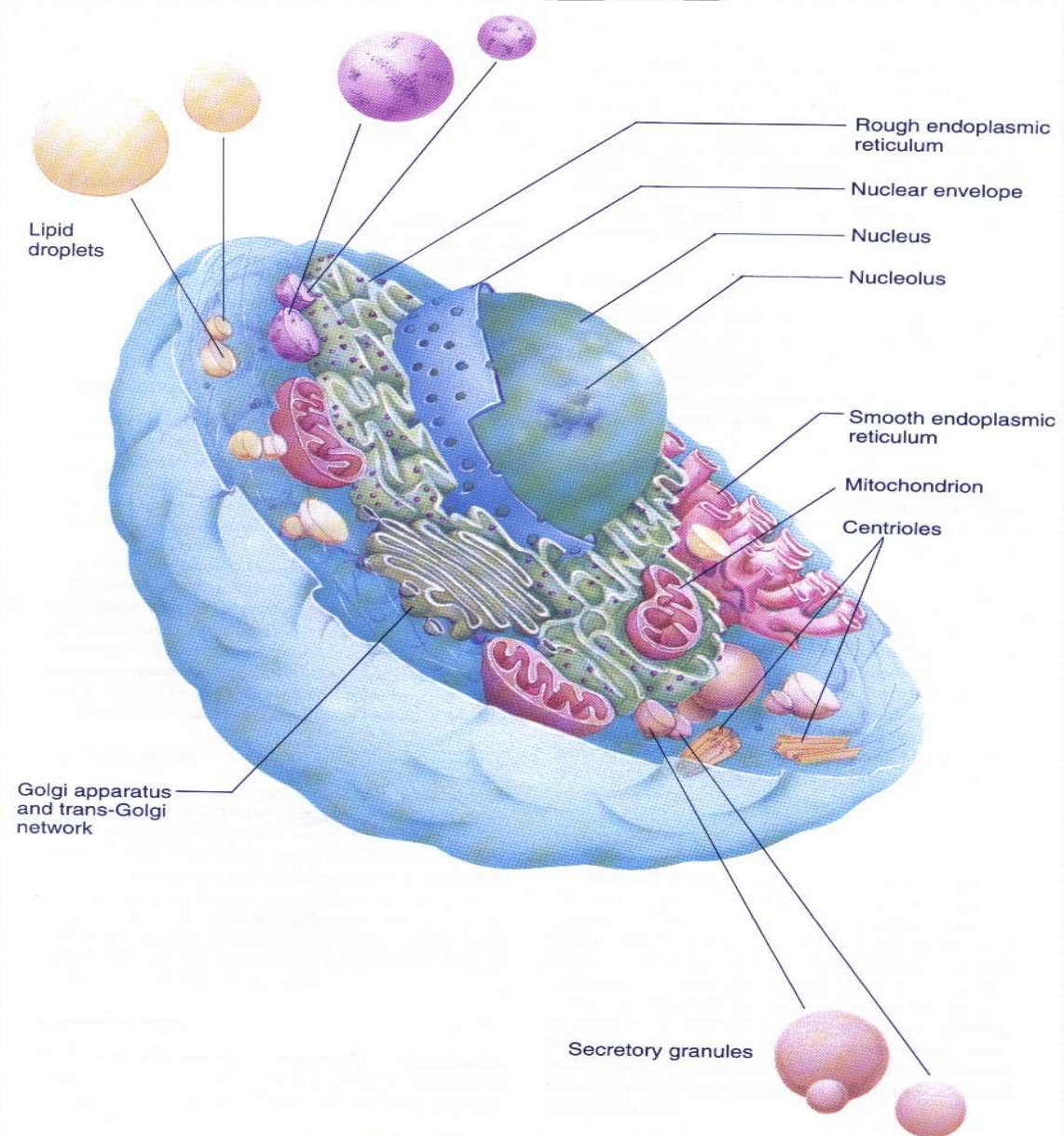


- 
- **Ökaryot** hücrelerde genetik materyal çekirdekte taşınır.
 - **Prokaryot** hücrelerde genetik materyal sitoplazma içinde taşınır (bakteriler, viruslar vb)

Ökaryot hücre:



Ökaryot hücre

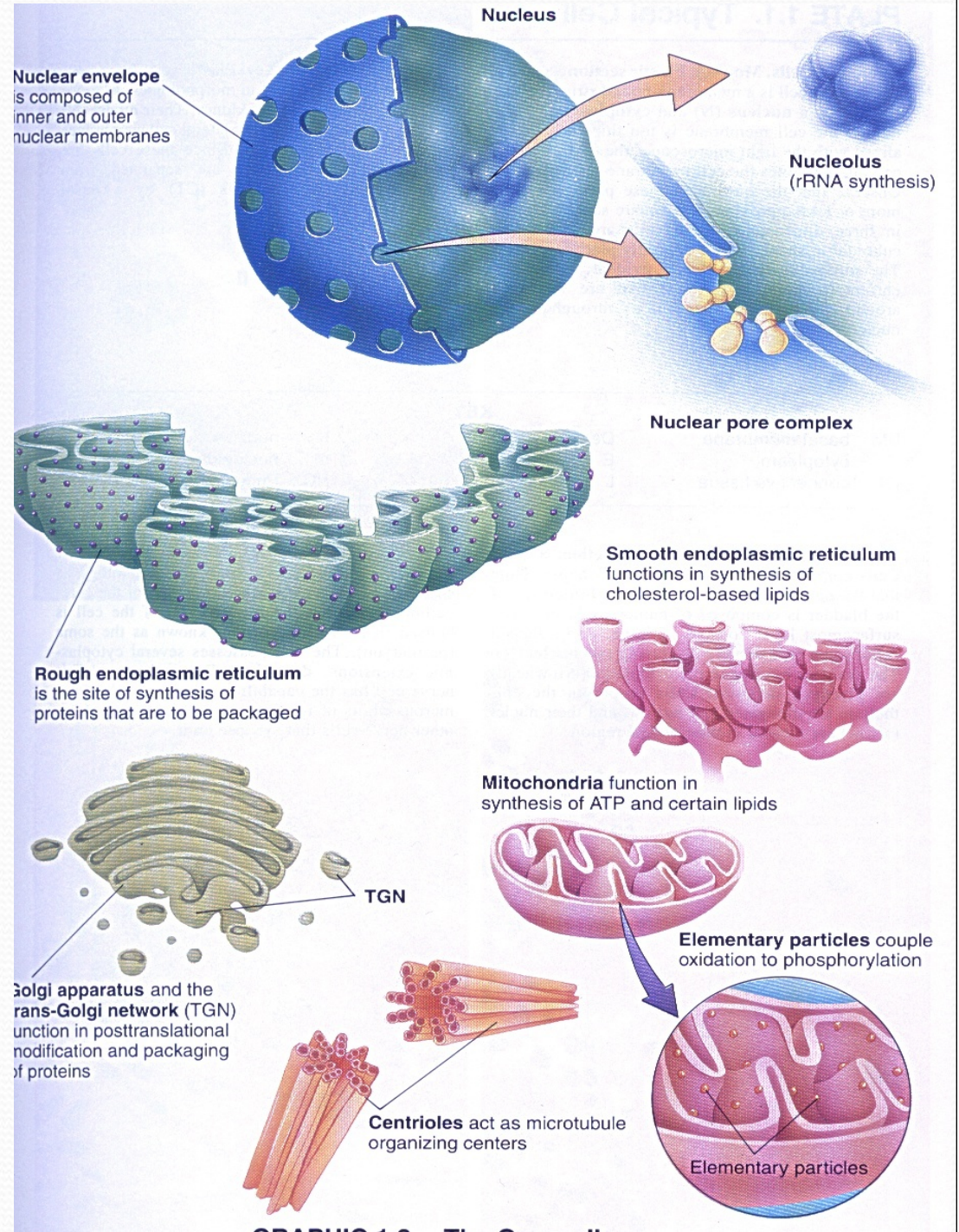


GRAPHIC 1.1. The Cell

- EM'de
- ökaryot hücre



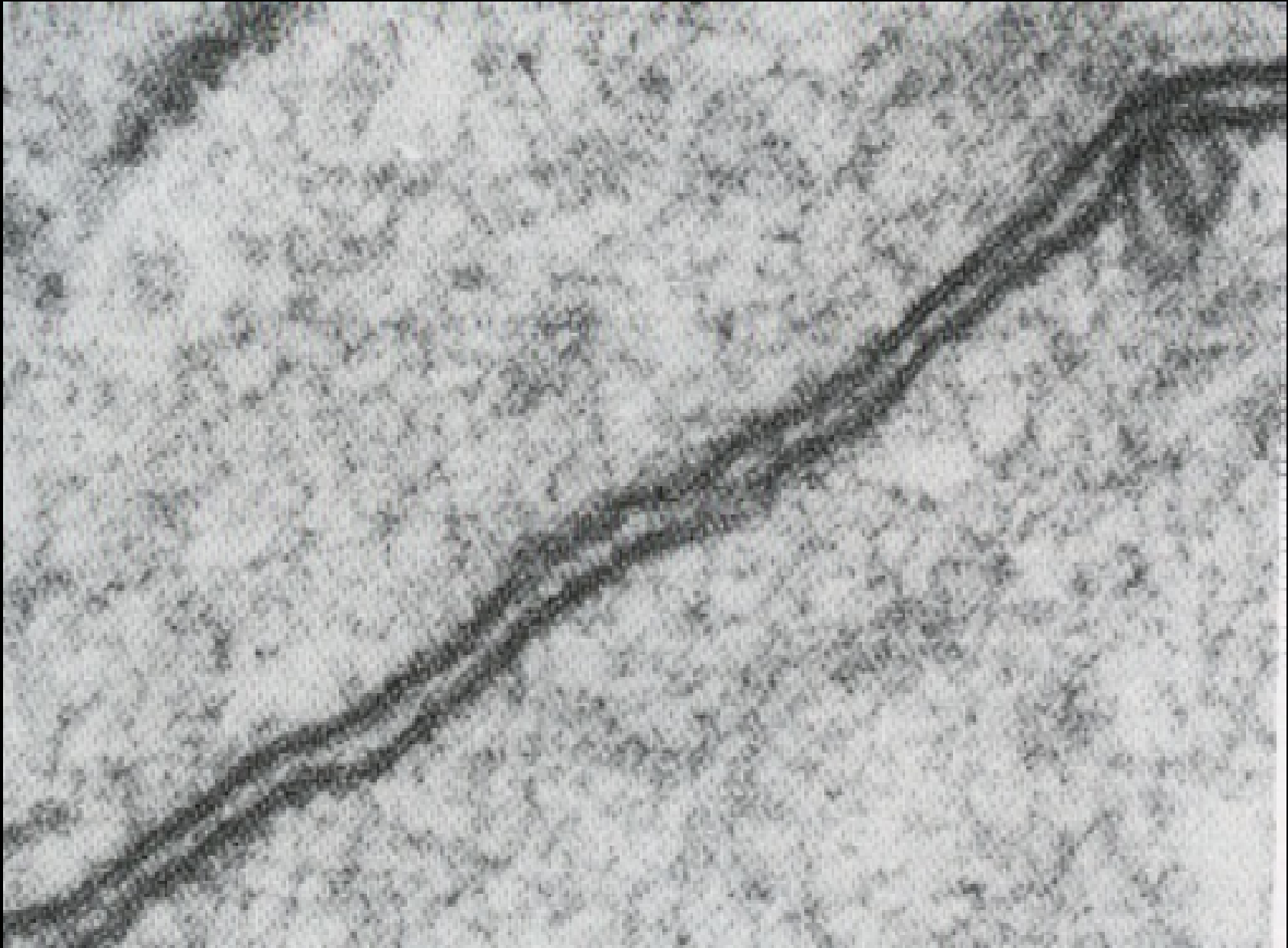
Çekirdeği ve sitoplazmik organelleri ile ökaryotik hücre



Sitoplazma:

- Hücrenin çekirdek dışında kalan kısmı:
Temel plazma (sitosol) ve
Şekli unsurlar'dan oluşur.
- Temel plazma pelte kıvamında kolloidal küttedir.
- %95'i su, proteinler; enzim halinde olanlar, yapı malzemesi olarak kullanılanlar, lipidler, karbonhidratlar ve diğer metabolik maddeler.

- Bütün maddeler suda çözünmüştür sitoplazma o nedenle mikroskopta yapı göstermez.
- **Yapısal proteinler:** İplik şekilli ve globüler.
- Bu proteinler;
 - * mikrofilamentleri (ipl.+globu.)
 - * mikrotubulusları (sadece globuler) oluşturur
- Globuler proteinler lipidlerle birleşerek;
membranları (hücre zarı, elementer membran, ünit membran) meydana getirirler.



EM'de ünit membran

- *Enzim niteliğindeki proteinler;*

- * glikolitik enzimler,

- * ATP'yi parçalayan ATPase gibi enzimler

- * Aminoasitleri aktifleştiren enzimler

bu gruptandır.

- Hücreler su alır yoğunlukları azalır – sol – haline geçer, su kaybeder – gel – haline geçerler.
Hücrelerde yaşla birlikte su oranı düşer

- Sitosolde asit baz dengesi pH: 7. 2-7.4'dür.

TEŞEKKÜRLER

