

HİSTOTEKNİKTE MODİFİYE MİKRODALGA METODU

Dr. M. Halit UMAR, M.D. PhD. (*) • Doç. Dr. H. Uğur PABUÇCUOĞLU(*)
Ş. Dilek ÖCAL, Tıbbi Teknolog (*)

ÖZET: Türkiye'de ilk kez olarak, laboratuvarımızda dokuların histolojik takibi Mikrodalga (MW) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmada, fare meme dokuları ve terimdeki fare embriyoları biopsi materialine eşdeğer olarak kabul edilmiş ve kullanılmıştır. Mikrodalga fırının en yüksek enerji düzeyinde çalıştırılmasının işlem süresini anlamlı şekilde kısalttığı ve doku işleminin de optimal şekilde gerçekleştiği saptanmıştır. Bulgularımız bu tanımlanan yöntemimizin rutin histopatolojik uygulamada güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

SUMMARY: Modified Microwave Method for histoprocessing. For the first time in Turkey, in our laboratory, histoprocessing has been performed by means of the MW technique. In this study, breast tissues and full-term embryos of the mice have been used assuming their equivalence to the biopsy materials. It is observed that the use of full power irradiation in MW-oven considerably shortened the processing time with optimal results. Our findings show that this method can be applied to routine histopathology with reliability.

GİRİŞ

Mikrodalga (MW) teknolojisinin rutin histoteknik işlemlere uygulanabileceği Dr. Mathilde BOON ve ekibince yapılan çalışmalarla gösterilmiş ve yine kendilerince yayınlanan bir kitapla bilim dünyasına sunulmuştur [1]. Türkiye'de ilk kez laboratuvarımızda, 1988 yılından bu yana rutin histopatolojik işlemler MW metodu ile yürütülmektedir. Tarafımızdan modifiye edilen teknik ile yapılan çalışmaların ön bulguları daha önce yayınlanmıştır [3].

Aradan geçen süre içinde tekniğimiz geliştirilerek standardize edilmiştir. Modifiye tekniğimiz son halini alırken deneysel çalışmalar da rutin çalışmalarımız ile paralel yürütülmüştür. Bu yayınimiz hem kısa dalga tekniğinin son şekli ile modifikasyonunu göstermek ve hem de uygulanım ile ilgili bilgileri deneysel material üzerinde sunmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

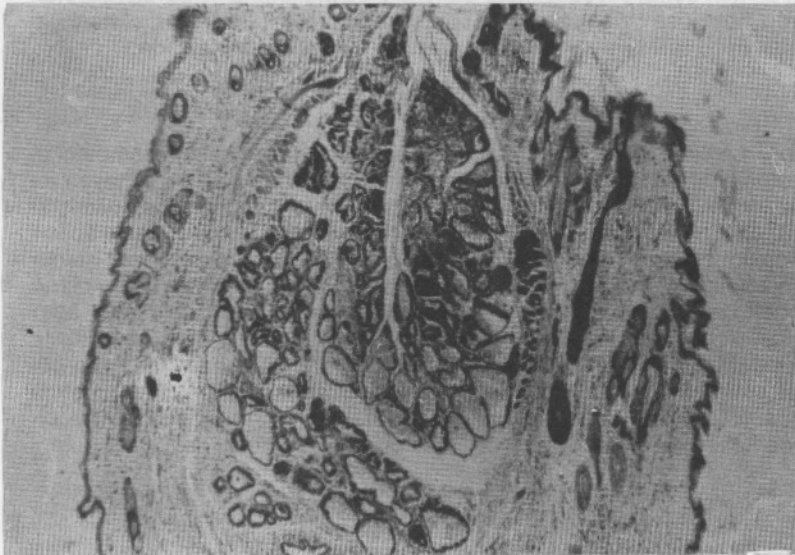
Deneylerimizde biri erkek 5 adet Swiss Albino Inbred fareden elde edilen meme dokuları ile 5 adet terimdeki fare embriyusu kullanılmıştır. Laktasyonda olan ve olmayan farelerin memeleri üzerlerindeki deri ile birlikte Punch Biopsi yöntemi ile ekstirpe edilmiştir. 5 fareden toplam 10 adet meme dokusu ile gebe farelerden vivi sectio yoluyla elde edilen 5 adet embriyo çalışmamızın gerecini oluşturmaktadır. Embryolar en bloque olarak işleme alınmışlardır. Kullandığımız MW fırın ev tipi olup Frigidaire makra ve USA malıdır. Dokuların ışınlaması 200 cc'lik cam kavanozlardaki solüsyonlar içinde gerçekleştirilmiş ve aşırı ısınmayı önlemek için ek olarak 2 cam kavanozdaki toplam 400 cc hacimde su da sıklıkla yenilenerek fırın içinde tutulmuştur. Solüsyon ısılarının 60°C'yi geçmemesine özen gösterilmiş, gereğinde solüsyon şişeleri soğuk su havuzuna daldırılarak aşırı ısınma önlenmiştir. Işınlama sırasında güç (Power) % 100 olarak uygulanmış ve fırın içinde metalik cisim bulunmamasına kesinlikle dikkat adelmıştır. Metodumuz aşağıdaki şekilde uygulanmıştır:

(*) Melis Patoloji Laboratuvarı, 1359 sokak No. 6/17, Alsancak, İZMİR

- 1- Yukarıda sözü edilen deneysel dokular Baker's Fiksatif içinde toplam 5 dakika süre ile ışınlandırılmıştır. Baker's Fiksatif: CaCl_2 tamponlu % 10'luk formalin solüsyonu.
- 2- Fiksasyonu takiben dokular alkol gradasyonlarına geçirilmiş ve bu işlem sırasında da sırayla % 70, % 80, % 90, % 96 ve absolü alkollerin her birinde 1 dakika 15 saniye süreyle ışınlandırılmışlardır. Absolü alkoldeki ışınlamayı takiben dokular 2 dakika daha bu alkol içerisinde bekletilmişlerdir.
- 3- İsoopropanol'a alınan dokular 1 dakika ışınlandırılmıştır.
- 4- Bu aşamadan sonra dokular etüvde bekletilen sıcak Ksilole alınarak 45 dakika süreyle şeffaflaşmaları için tutulmuşlardır.
- 5- Ksiloldeki şeffaflaşmayı 15 dakikalık Ksilol-Parafin banyosu izlemiştir.
- 6- Dokular Parafin eriğine alınarak 1 saat bırakılmışlardır.
- 7- Bloklan dokular AO Rotary Mikrotomda Disposable Blade kullanılarak 5 μ kalınlıkta kesilmiştir.
- 8- Kesitler deparafinizasyon sonrası Harris Hematoksileni ile MW fırında 1 dakika ışınlandırılarak boyanmış, Eozin boyası 15-30 saniye sürdüğünden bu şamada MW kullanılmamıştır.

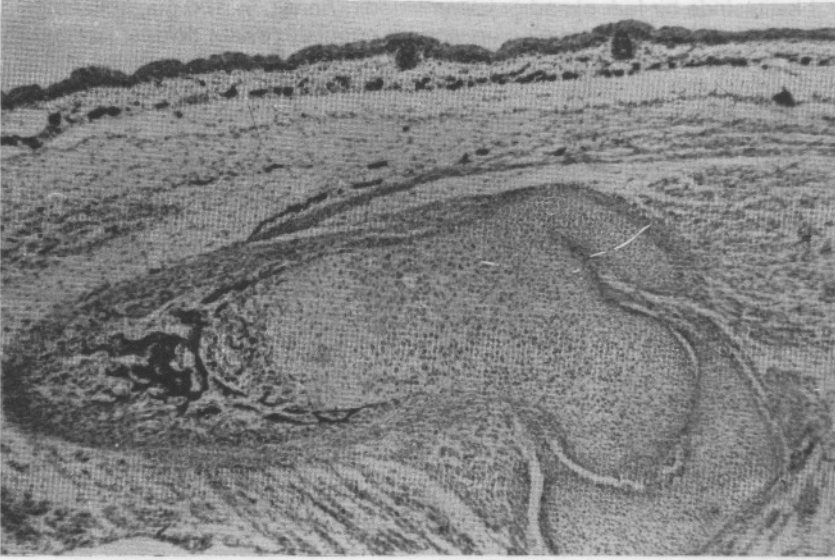
BULGULAR

- 1- Modifiye MW tekniği % 100 güç (Power) ile uygulanarak doku işlemi optimal şekilde gerçekleşmiştir.
- 2- MW tekniğinde % 100 güç kullanılması biopsi materialinin daha düşük güç kullanılarak takibine göre önemli bir zaman kazancı sağlamıştır.
- 3- Düşük veya yüksek güç kullanımı açısından preparatların kesit ve boyanma kalitelerinde değişme saptanmamış, ancak işlem süresindeki kısalma anlamlı bulunmuştur.
- 4- Özel olarak seçilen materiallerde bir arada yer alan değişik nitelikte ve kıvamdaki dokular arasında takip açısından fark görülmemiş ve doku işleminin homojen olarak gerçekleştiği gözlenmiştir.
- 5- Kesitlerin MW yardımıyla hematoksilende boyanması 1 dakika sürede optimal şekilde gerçekleşmiştir.



Resim1: Fare meme dokusu ve üzerindeki deri. HE x 10

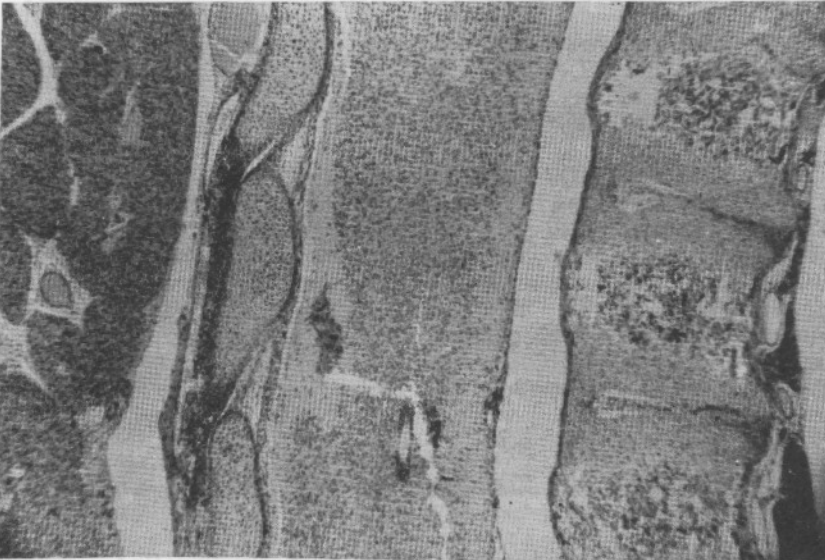
(The Turkish Journal of Pathology)



Resim 2:
Fare
embryos-
unda alt
ekstremité
dokuları.
HE x 2.5.

TARTIŞMA

Görüldüğü gibi dokuların histolojik etüd için hazırlanması MW tekniğiyle kısa bir sürede tamamlanmaktadır. Özellikle seçilen ve farklı kıvam ve nitelikteki dokuları taşıyan materiallerde işlemin homojen olarak gerçekleşmesi de MW'nin olumlu etkisini yansıtmaktadır (Resim 1,2,3). Fiksasyon ve dehidrasyon gibi histoteknikte uzun bir zamana gereksinime gösteren aşamaların süresindeki kısalma bu yöntemin belirgin bir üstünlüğüdür. Düşük güç kullanarak daha uzun bir sürede elde ettiğimiz sonuçlar ile [3] karşılaştırma yaptığımız



Resim 3:
Fare
embryo-
sunda
columna
vertebralis
ve medulla
spinalis.
HE x 2.5

mızda preparat kalitesinde bir fark olmadığı izlenmektedir. Ancak, % 100 güç kullandığımızda işlem süresindeki kısalma anlamlı olup yine bu enerji düzeyinin dokular üzerinde olumsuz bir etkisinin bulunmadığı saptanmaktadır. MW fırında ısı kontrolüne dikkat edildiği takdirde % 100 güç kullanmanın kesinlikle daha yararlı olduğunu görmüş bulunmaktayız. MW tekniği ile elde ettiğimiz preparatlarda klasik kitaplarda sözü edilen hiç bir artı-fakta rastlanmamıştır [2].

Bu deneysel çalışmalarda kullanılan dokular küçük biopsi materiallerine eşdeğer olarak düşünüldüğünde, toplam 2-2,5 saatlik bir sürede doku işleminin optimal olarak tamamlanması rutinde güvenle kullanılabileceğini göstermektedir. Biz bu çalışmalardan hareketle bu modifiye MW tekniğini rutin çalışmalarımızda kullanmakta ve önermekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Boon M.E., Kok L.P.: Microwave Cookbook of Pathology. The art of Microscopic Visualisation. Leyden. Coulomb Press. '1987).
2. Thompson S.W., Luna L.G.: An Atlas of Artifacts Encountered in the Preparation of Microscopic Tissue Sections. Springfield, Illinois. C.C. Thomas Publisher. p. 22-62 (1978).
3. Umar M.H., Pabuçcuoğlu H.U., İnce Ü., Falakalı S.: Mikroeletromagnetik Dalgaların Histotekniğe Uygulanması. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 28 4 (1989).