

Bölüm 9

HİSTOLOJİK DOKU TAKİBİNDE KULLANILAN TESPİT SOLÜSYONLARI (FİKSATİFLER)

Ferda TOPAL ÇELİKKAN¹

İbrahim ALPTEKİN²

Bilge SERDAROĞLU³

Fatma MERT⁴

Oya EVİRGEN⁵

Giriş

Tespit işlemi doku ya da hücrelerin canlılığını yitirdiği andan itibaren hücre içi yapıları ve hücreyi çevreleyen solüsyonunun stromanın yapısını korumak amacıyla gerçekleştirilir ¹. Tespit işlemi tespit doku içine difüzyon ile geçerek ortaya çıkardığı fiziksel ve kimyasal reaksiyonlar oluşturan kademeli ve karmaşık bir süreçtir ². Bu süreçte, hücre solid hale geçer ve yapısal detayları korunur ³. Tespit işlemi; hücre metabolizmasını durdurmak, hücrelerin enzimatik yıkımını ve dokuların otolizini engellemek; doku içerisindeki bakteri, virüs, mantar gibi mikroorganizmaların üremesini engellemek ve dokuları sertleştirmek için kullanılır^{2,4}.

Laboratuvar Uygulamalarında Farklı Tespit Solüsyonlarının Kullanımı ve Sonuçları

Tespit solüsyonları kimyasal yapılarına ve içeriklerine göre ya da hazırlanışında eklenen maddelerin sayısına göre farklı şekilde sınıflandırılırlar. Kimyasal yapılarına göre Aldehitler, Oksitleyici ajanlar, Alkol bazlı tespit solüsyonları ve metalik tespit solüsyonları olmak üzere dört ana tespit solüsyonu grubu şeklinde sınıflandırılırlar (Tablo 1'de). Aldehitler (formaldehit, glutaraldehit) ve Okside edici ajanlar (osmiyum tetroksit, potasyum permanganat) proteinleri çapraz bağlayarak etki eder. Alkol bazlı tespit solüsyonları proteinleri denatüre ederler. Civalı tespit solüsyonları merkürük klorid içerirler

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD ferdatopal@gmail.com

² Arş. Gör. Dr. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD ibrahimalptekin4221@gmail.com

³ Arş. Gör. Dr. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD blgrdr@gmail.com

⁴ Arş. Gör. Dr. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD f.mert417@gmail.com

⁵ Prof. Dr. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD oya.evirgen@gmail.com

SONUÇ

Sonuç olarak dokuların mikroskop altında detaylı ve doğru incelenebilmesi için tespit işlemi kritik bir süreçtir, tespit işleminde yapılan hatalar dokuda geriye dönüşü olmayan hasarlar oluşturabilir. Dolayısıyla, tespit işlemi nitelikli incelemeler yapabilmek için dikkat edilmesi gereken ilk ve en önemli basamaktır²⁰. İdeal bir tespit işleminin dokuyu sertleştirmesi, çürümeyi ve otolizi engellemesi ve dokunun yapısını koruması beklenir¹⁵. Bugüne kadar dokunun yapısını ve içindeki maddelerin birbiriyle etkileşimini değiştirmeyen ideal bir tespit solüsyonu bulunamamıştır. Bu yüzden tespit işlemi için dokuya uygun tespit solüsyonunun seçiminde avantajlı ve dezavantajlı yönleri dikkate alınmalıdır²⁹.

KAYNAKLAR

1. Grizzle WE. Special symposium: fixation and tissue processing models. *Biotech Histochem*. Oct 2009;84(5):185-93.
2. Thavarajah R, Mudimbaimannar VK, Elizabeth J, Rao UK, Ranganathan K. Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2012;16(3):400-405.
3. Rai R, Bhardwaj A, Verma S. Tissue Fixatives : A Review. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*. 2016;4(4):183-187.
4. Fox CH, Johnson FB, Whiting J, Roller PP. Formaldehyde fixation. *J Histochem Cytochem*. Aug 1985;33(8):845-53.
5. Sharma1 HSKABDGHSD, Tomar1 U. Fixation and Fixatives: Roles and Functions—A Short Review. *Dentistry | Dental Journal of Advance Studies*. August 29, 2019 2019;7:51-55. 2.
6. S. Kim Suvarna CL, John D. Bancroft. Fixation of tissues. *Bancroft's Theory and Practice Of Histological Techniques*. 2019:57.
7. Subasi Nuriye T. Formaldehyde Advantages and Disadvantages: Usage Areas and Harmful Effects on Human Beings. *Biochemical Toxicology - Heavy Metals and Nanomaterials*. 2020.
8. Suvarna JDBCLSK. Preparation of solutions. *Bancroft's Theory and Practice Of Histological Techniques*. 2019:589-590.
9. Rhodes A. 4 - Fixation of tissues. In: Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD, eds. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques (Seventh Edition)*. Churchill Livingstone; 2013:69-93.
10. Ross MH, & Pawlina, W. *Methods. Histology: A text and atlas : with correlated cell and molecular biology*. 7th edition ed. J. B. Lippincott Company; 2011:2-3:chap 1.
11. Perry C, Chung JY, Ylaja K, et al. A Buffered Alcohol-Based Fixative for Histomorphologic and Molecular Applications. *J Histochem Cytochem*. Jul 2016;64(7):425-40.
12. C. L. S. Kim Suvarna JDB. Safety and ergonomics 28 in the laboratory. *Bancroft's THEORY and PRACTICE of HISTOLOGICAL TECHNIQUES*. 2019:29.
13. Allegra A, Spatari G, Mattioli S, et al. Formaldehyde Exposure and Acute Myeloid Leukemia: A Review of the Literature. *Medicina (Kaunas)*. Sep 25 2019;55(10)
14. Bouvard V, Baan R, Straif K, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *The Lancet Oncology*. 2009;10(4):321-322.

15. Haque Z, Rahman MA, Khan MZI, et al. Alcohol-Based Fixatives can Better Preserve Tissue Morphology than Formalin. *Int j morphol.* 2020;38(5):1371-1375.
16. Bostwick D, al Annouf N, Choi C. Establishment of the formalin-free surgical pathology laboratory. Utility of an alcohol-based fixative. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 1994;118(3):298-302.
17. Ellenburg JL, Kolettis P, Drwiega JC, et al. Formalin Versus Bouin Solution for Testis Biopsies: Which Is the Better Fixative? *Clin Pathol.* Jan-Dec 2020;13:2632010x19897262.
18. Panzacchi S, Gnudi F, Mandrioli D, et al. Effects of short and long-term alcohol-based fixation on Sprague-Dawley rat tissue morphology, protein and nucleic acid preservation. *Acta Histochem.* Aug 2019;121(6):750-760.
19. Cabrera NC, Espinoza JR, Vargas-Jentsch P, Sandoval P, Ramos LA, Aponte PM. Alcohol-based solutions for bovine testicular tissue fixation. *J Vet Diagn Invest.* Jan 2017;29(1):91-99.
20. Singhal P, Singh NN, Sreedhar G, Banerjee S, Batra M, Garg A. Evaluation of Histomorphometric Changes in Tissue Architecture in Relation to Alteration in Fixation Protocol - An *In Vitro* Study. *J Clin Diagn Res.* Aug 2016;10(8):ZC28-32.
21. Bonds LA, Barnes P, Foucar K, Sever CE. Acetic acid-zinc-formalin: a safe alternative to B-5 fixative. *Am J Clin Pathol.* Aug 2005;124(2):205-11.
22. Travlos GS. Normal structure, function, and histology of the bone marrow. *Toxicol Pathol.* 2006;34(5):548-65.
23. Howat WJ, Wilson BA. Tissue fixation and the effect of molecular fixatives on downstream staining procedures. *Methods.* Nov 2014;70(1):12-9.
24. Eltoun I, Fredenburgh J, Myers RB, Grizzle WE. Introduction to the Theory and Practice of Fixation of Tissues. *Journal of Histotechnology.* 2001/09/01 2001;24(3):173-190.
25. Duman S, Sen S. Technical aspects in studying peritoneal morphology in animal models of peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* Feb 2009;29 Suppl 2:S40-4.
26. Timens W, Kamps WA, Rozeboom-Uiterwijk T, Poppema S. Haemopoiesis in human fetal and embryonic liver. Immunohistochemical determination in B5-fixed paraffin-embedded tissues. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1990;416(5):429-36.
27. Bultitude MF, Ghani KR, Horsfield C, Glass J, Chandra A, Thomas K. Improving the interpretation of ureteroscopy biopsies: use of Bouin's fixative. *BJU Int.* Nov 2011;108(9):1373-5.
28. Baloglu G, Haholu A, Kucukodaci Z, Yilmaz I, Yildirim S, Baloglu H. The effects of tissue fixation alternatives on DNA content: a study on normal colon tissue. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* Oct 2008;16(5):485-92.
29. Hewitt, S.M., et al., Tissue handling and specimen preparation in surgical pathology: issues concerning the recovery of nucleic acids from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Arch Pathol Lab Med,* 2008. 132(12): p. 1929-35.