

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

LABORATUVAR HİZMETLERİ

DOKU PREPARATI-1

Ankara, 2013

- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
- Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
- **PARA İLE SATILMAZ.**

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR	ii
GİRİŞ	1
ÖĞRENME FAALİYET-1	3
1. DOKULARIN TESPİTİ.....	3
1.1. Hücre.....	3
1.1.1. Hücre Morfolojisi	3
1.1.2. Hücre Çeşitleri.....	5
1.2. Doku.....	9
1.2.1. Dokunun Tanımı	9
1.2.2. Doku Çeşitleri.....	9
1.3. Doku Preparatı Hazırlama.....	18
1.4. Doku Numunelerinin Tespiti	24
1.4.1. Tespit Solüsyonları	26
1.4.2. Doku Numunelerinin Tespit Edilmesi	27
UYGULAMA FAALİYETİ	28
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	29
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	30
2. KEMİKLERDE DEKALSİFİKASYON.....	30
2.1. Dekalsifikasyon Metotları.....	30
2.1.1. Nitrik Asit I Metodu	31
2.1.2. Nitrik Asit II Metodu	31
2.1.3. Formik Asit-Sodyum Sitrat Metodu	31
2.1.4. Versenate (EDTA) Metodu.....	31
2.2. Dekalsifikasyon Son Noktasının Belirlenmesi.....	31
UYGULAMA FAALİYETİ	33
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	34
MODÜL DEĞERLENDİRME	35
CEVAP ANAHTARLARI.....	37
KAYNAKÇA	38

AÇIKLAMALAR

ALAN	Laboratuvar Hizmetleri
DAL/MESLEK	Tarım Laboratuvar Teknisyeni/ Tarım Laboratuvarı
MODÜLÜN ADI	Doku Preparatı-1
MODÜLÜN TANIMI	Bu modül, dokuların tespiti ve kemiklerde dekalsifikasyon ile ilgili bilgi ve becerileri içeren öğrenme materyalidir.
SÜRE	40/32
ÖN KOŞUL	
YETERLİK	Doku preparatı hazırlamak
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç Bu modül ile gerekli ortam, araç ve gereçler sağlandığında tekniğine uygun olarak dokuların tespiti ve kemiklerde dekalsifikasyon yapabileceksiniz. Amaçlar <ol style="list-style-type: none">1. Doku numunelerinin tespitini yapabileceksiniz.2. Kemiklerde dekalsifikasyon yapabileceksiniz.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Ortam: Laboratuvar ortamı Donanım: Tespit kapları, bisturi, pens, mezür, pipet, balon, terazi, çeker ocak, doku numunesi, saf su, formaldehit, kimyasal maddeler, dekalsifikasyon kapları, kemik testeresi
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modül içinde yer alan her öğrenme faaliyetinden sonra verilen ölçme araçları ile kendinizi değerlendireceksiniz. Öğretmen modül sonunda ölçme aracı (çoktan seçmeli test, doğru-yanlış testi, boşluk doldurma, eşleştirme vb.) kullanarak modül uygulamaları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek sizi değerlendirecektir.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Patoloji laboratuvarı; organ, doku ve hücrelerin normal yapılarını bozan, çıplak gözle ya da çeşitli mikroskoplarla görülebilen değişikliklerin; yani morfolojik lezyonların varlığının araştırıldığı laboratuvardır.

Bu modülde hücre ve dokular hakkında kısa bilgi verilmiştir. Patoloji laboratuvarı çalışmalarında, makroskopik tanımlama ve dokuların örneklenmesi basamağı hariç, tüm işlemlerde teknisyenlerin rolü çok önemlidir.

Bu modülde doku preparatı hazırlama ve dekalsifikasyon işlemlerini öğreneceksiniz.



ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Bu öğrenme faaliyetinde verilen bilgi ve becerilerle dokuların tespiti işlemini eksiksiz yapabileceksiniz.

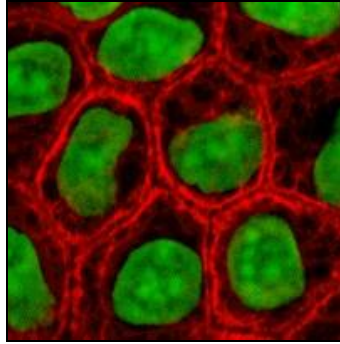
ARAŞTIRMA

- Patoloji laboratuvarlarına gelen materyal çeşitlerini, kontrol ve kabulünü gözlemleyiniz.
- Gözlemlerinizi arkadaşlarınızla paylaşınız.
- Patoloji laboratuvarının, diğer laboratuvarlardan farklılıklarını tartışınız.
- Histopatoloji ve sitopatoloji arasındaki farkları araştırınız.
- Konu ile ilgili çalışmalarınızı rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

1. DOKULARIN TESPİTİ

1.1. Hücre

Bir canlının yapısal ve işlevsel özelliklerini gösterebilen en küçük birimine hücre denir. Bölünüp çoğalabildiğinden her hücre farklı bir hücreden meydana gelir. Belirli bir süre işlevini yaptıktan sonra yaşlanır ve ölür. Hücrelerin yaşam süreleri oluşturdukları organizmanın ömründen bağımsızdır.



Resim 1.1: Mikroskopla bakıldığında hücrenin yapısı, keratin (kırmızı) ve DNA (yeşil)

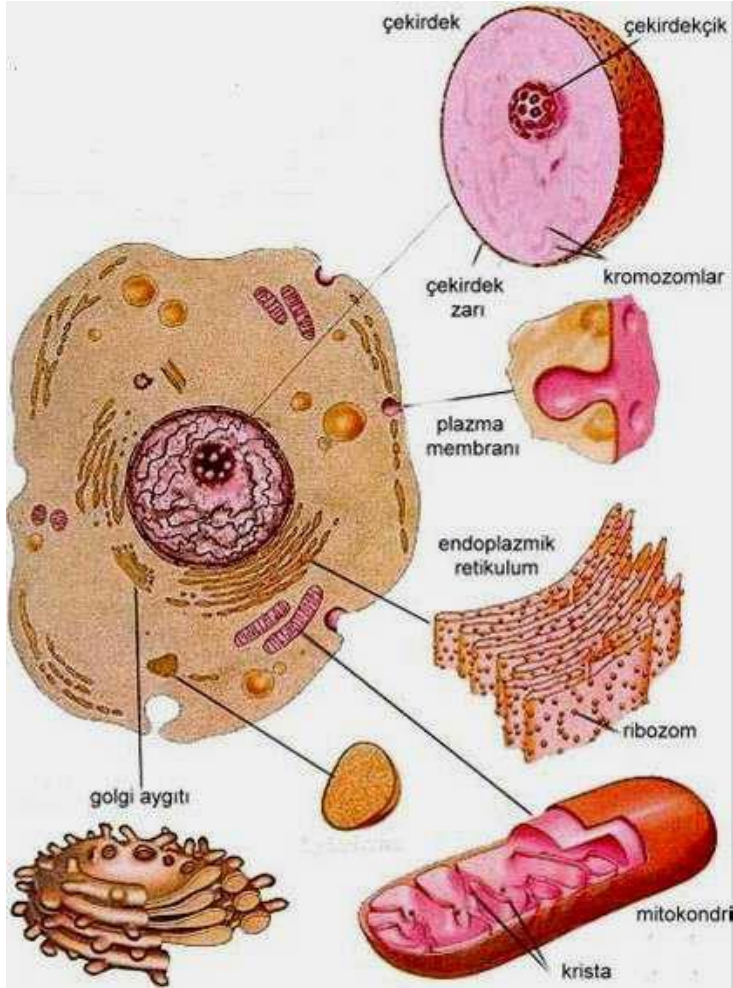
1.1.1. Hücre Morfolojisi

Hücrelerin şekilleri, boyları ve büyüklükleri birbirinden farklıdır. Yassı, yuvarlak, prizmatik, ipliksi, kübik, yıldız ve kirpiksi şekilde olanları vardır. En büyük hücre

kanatlılarda 4 cm'ye kadar ulaşan olgun yumurta hücresidir. En küçük hücre 3-4 mikron çapında olan sinir hücresidir. Bazı hücrelerin boyları birkaç mikron iken sinir hücresinin (nöron) boyu, uzantılarıyla birlikte 1,5 metreyi bulur. Organizmayı oluşturan hücrelerin çoğunluğu ortalama 15- 10 mikron çapındadır.

Hücrenin yapısında proteinler, lipidler, karbonhidratlar, enzimler, vitaminler, hormonlar ve pigmentler gibi organik maddeler ile su, potasyum, sodyum, kalsiyum, fosfor ve demir gibi inorganik maddeler vardır.

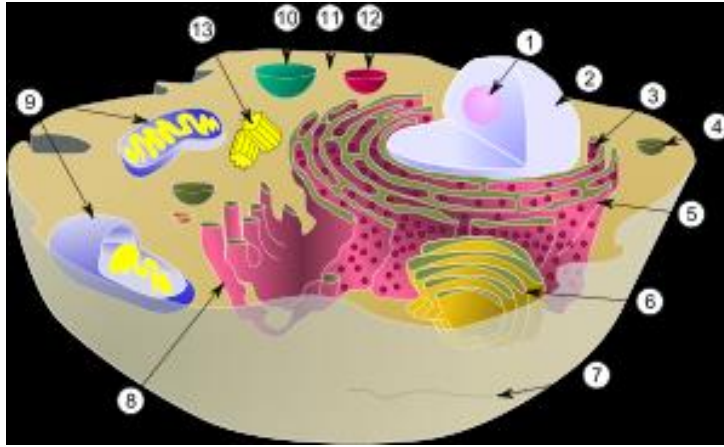
Hücre dış ortamdan madde alarak yaşamını sürdürebilir. Bünyesine aldığı maddelerin bir kısmını parçalayıp temel unsurlarına ayrılarak gereksinim duydukları enerjiyi açığa çıkarırlar bu olaya **katabolizma** denir. Diğer kısmını da daha yüksek kuruluştaki yeni maddelere dönüştürerek hücre içinde yapı malzemesi olarak kullanılırlar. Buna da **anabolizma** denir. Hücrenin katabolik ve anabolik fonksiyonlarının ikisine birlikte **metabolizma** denir.



Resim 1.2: Hücre yapısı

1.1.2. Hücre Çeşitleri

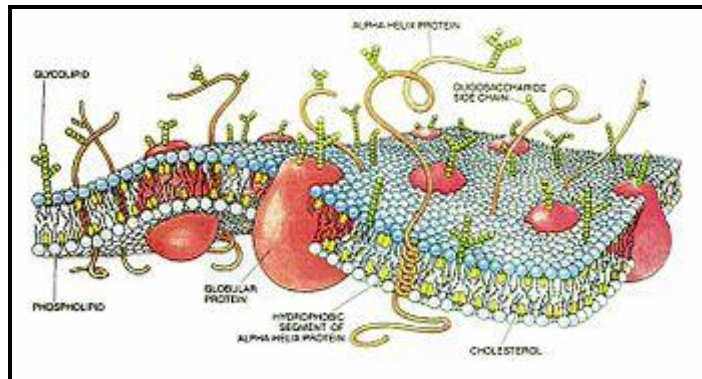
Hücreler, çoğunlukla bir zar içerisindeki sitoplazma ve çekirdekten meydana gelir. Ancak virüs ve bakteri gibi hücrelerin çekirdekleri yoktur. Sitoplazmalarında mitokondri gibi zarlı organeller yoktur. Kalıtım maddesi olan DNA sitoplazma içerisine dağılmış durumdadır. Ribozomları vardır. Bu hücrelerin hayati faaliyetleri sitoplazmada ve hücre zarında gerçekleşir. Bu hücelere **prokaryot hücreler**, oluşturdukları topluluklara da **prokaryotlar** denir. Bunlar dışındaki hücreler genetik materyalini çekirdeklerinde taşıdıklarından **ökaryot hücreler**, böyle hücrelerden meydana gelen organizmalara da **ökaryotlar** denir.



Resim 1.3: Ökaryotik bir hücrenin yapısı 1)Çekirdekçik 2) Çekirdek 3)Ribozom 4)Vezikül 5)Granüllü (Tanecikli)Endoplazmik Retikulum 6)Golgi Aygıtı 7)Sitoiskelet 8)Granülsüz (Düz) Endoplazmik Retikulum 9)Mitokondriler 10)Koful 11)Sitoplazma 12)Lizozom 13)Sentriyoller (Sentrozom))

➤ Hücre zarı

"Plazma zarı" da denir. Hücreyi dış ortamdan ayıran, seçici geçirgen canlı yapıdır. Hücreyi çevreleyen birim zar ortalama olarak 75 Angström (75×10^{-7} mm) kalınlığındadır. Hücre zarı protein, lipid ve az miktarda karbonhidrattan yapılmıştır.



Resim 1.4: Hücre zarının yapısı

- **Hücre zarının görevleri**
 - Sitoplazmayı çevreleyerek hücreye şekil verir ve dağılmasını engeller.
 - Madde alış verişini düzenler.
 - Osmotik dengenin düzenlenmesinde görev alır.
 - Salgı görevi vardır.
 - Enzimleri taşıyıcı görevi vardır.
 - Uyarı iletimi yapar.
 - Hücrelerin birbirlerini tanımasını sağlar.

➤ **Sitoplazma**

Hücre zarı ile çekirdek zarı arasında kalan hücre bölümüne denir. Sitoplazma inorganik maddeler (çeşitli iyonlar metal tuzları, asit ve bazlar), organik maddeler, (protein, yağ, karbonhidrat, nükleik asitler, hormonlar) ve %60-95 arasında değişen sudan ibarettir. Sitoplazmanın içerisinde çeşitli canlı yapılar (organeller) ve cansız yapılar (inklüzyon cisimcikleri) bulunur. Canlı hücre maddesine “**protoplazma**” denir. Protoplazma, yapı bakımından sitoplazma ve çekirdekten oluşur.

Büyük oranda sudan ibaret olduğu halde ne sıvı ne de katı özellik gösterir yani kolloidal yapıdadır. Sitoplazma çözünmüş ve dağılmış tanecikler içerir. Bu çözünen taneciklerin miktarı hücre türüne göre değişiklik gösterir. İçinde bulunan genel organeller şunlardır:

Yapı	Prokaryot Hücre	Bitki Hücresi	Hayvan Hücresi	Kısaca Görevi
Hücre zarı	Var	Var	Var	Madde alış-verişi ve sitoplazmayı ortamdaki ayırmak
Hücre çeperi	Var	Var	Yok	Koruma ve destek
Ribozom	Var	Var	Var	Protein sentezi
Mitokondri	Yok	Var	Var	Enerji (ATP) üretim merkezi
Plastitler	Yok	Var	Yok	Çeşitli pigmentleri taşımak, besin depo etmek
Klorofil	Var (bazılarında)	Var (çoğunda)		Fotosentez yapmak
Sentrozom	Yok	Yok (basit bitkilerde var)	Var	Hücre bölünmesinde görevli

Lizozom	Yok	Benzeri var	Var	Hücre içi sindirim yapmak
Golgi aygıtı	Yok	Var	Var	Hücre dışına salgı yapmak
Endoplazmik retikulum	Yok	Var	Var	Madde taşınması ve depolanması, lipid sentezi
Koful (Vakuol)	Yok	Var (büyük)	Var (küçük)	Geçici depolama birimi
Çekirdek	Yok	Var	Var	Hücresinin kalıtım ve yönetim merkezi
Çekirdekçik	Yok	Var	Var	DNA ve ribozom sentezi

Tablo 1.1: Hücrelerdeki farklı ve benzer yapılar

- **Endoplazmik Retikulum (ER):** Sitoplazmanın kesecikler halinde bulunan boşlukları, birbirleriyle birleşip kanalcıklar sistemini oluşturur. Oluşan bu kanalcıklar sistemine, endoplazmik retikulum denir. Bu kanal ve keseciklerin etrafı zarla çevrilidir. İçinde sıvı vardır bu sistemler bir uçlarıyla sitoplazmik zara, diğer uçlarıyla çekirdek zarına tutunur. Böylece hücre içinde ve dışında madde taşınmasında rol oynar. Endoplazmik retikulum üzerinde ribozom adlı organeller varsa *granüllü endoplazmik retikulum*, yoksa *granülsüz endoplazmik retikulum* adını alır.
- **Ribozom :** Ribozomlar hücre içi protein sentezler. Hücre içindeki en küçük organeldir. Granüllü yapılar olup 10- 20 nanometre çapındadır. Granüllü endoplazmik retikulum üzerinde sitoplazmada serbest halde bulunur.
- **Mitokondri :** 2-3 mikron uzunluğunda 0,5 mikron çapında elektron mikroskobuyla kolayca görülebilen elips biçiminde parçalardır. Sosis veya çomak biçimindedir. Mitokondrinin yapısında 2 zar bulunur. Hücrenin enerji meydana getirici üniteleridir. Hücre solunumunun sitrik asit devri (Krebs döngüsü) burada gerçekleşir. Organik moleküllerden kimyasal bağların kopmasıyla açığa çıkan enerji burada ATP şekline çevrilir. Mitokondriyalar çok aktif organel olduğu için hücrenin enerjiye ihtiyaç duyduğu bölgelere göç edebilirler. Buralarda birbirleriyle birleşerek büyüebilir ya da bölünerek çoğalabilirler. Mitokondriyaların bağımsız hareket etme ve bölünmeleri, matrikslerinde DNA ve RNA molekülleri taşımalarındandır.

- **Lizozom** : Hücrenin sindirim organelidir. Etrafları çift katlı lipit yapıda zarla çevrilidir. İçinde çeşitli enzimler bulunan lizozom bu enzimlerle hücrenin sindirim ve savunma görevini yapar. Birçok genetik hastalıkta lizozomal enzimlerin yokluğu gösterilmiştir; etkilenmiş hücrelerde sindirilemeyen materyal hücrenin genişlemesine ve normal hücresel işlevlerin bozulmasına neden olur.
- **Golgi aygıtı** : Golgi cisimciği, aygıtı ya da kompleksi, zarımsı tüp ve keseciklerin biraraya gelmesiyle meydana gelir. Genellikle çekirdeğe yakındır. Paketleme ve salgı görevi yapar. Salgı bezlerinin hücrelerinde sayıları daha fazladır.
- **Sentrozom** : Hücre çekirdeğine yakın yerleşen, silindir şeklinde, birbirine dik konumda olan kısa borucuktur. Hücrenin hareket merkezidir ve bölünme (mitoz bölünme) esnasında kromozomların tutundukları iplikçikleri yapar ve bu ipliklerin hareketlerini yönetir.
- **Mikrotubulus** : Mikro boşluklardır. Boşluklar proteinin alt birimlerinden oluşur. Sentrozom tarafından üretilir. Granül, vezikül ve mitokondrilerin taşınmasında rol oynar.
- **Mikrofibriller** : İpliksi oluşumlardır. Protein molekülünden oluşur. Kas, sinir ve epitel hücrelerinde bulunur. Buldukları yapıya göre adlandırılır. Mikrofibriller, kas yapıda bulunup kasılmayı sağlar. Nörofibriller, sinir hücresinde duyu iletimini, epitel hücrelerdeki tonofibriller de hücreler arası bağlantı yapar.
- **Silialar** : Hücrelerin bazılarında sitoplazma dışı doğru hareketli uzantılar yapar. Bunlara, silia denir. Epitel hücrelerin de iplik, kamçı, kuyruk ve kirpik şeklinde olanları vardır. Hücrede hareketi sağlar.

➤ **Hücre çekirdeği (Nükleus)**

Hücre çekirdeği yani nükleus, tanecikli ve lifli bir yapıya sahiptir. Hücreyi yönetir. Çekirdek zarı, nükleoplazma, kromozom ve çekirdekçikten oluşur. Çekirdek zarı iki tabaka halinde ve çok gözenekli bir yapıya sahiptir. Nükleoplazma ise çekirdeğin özü olup özellikle protein ve tuzlar içerir. İşlevi hücrenin yaşamını sürdürmek ve çalışmasını düzenlemektir. Çekirdek ölecek olursa, hücre de ölür. Çekirdek ayrıca hücre ana maddesi içindeki birçok küçük organelin birbirleriyle uyumlu olarak çalışmasını sağlar. Çekirdeğin hücre bölünmesinde rolü vardır. Rolü görevi hücre bölmesi olduğu için çekirdek çok önemlidir.

1.2. Doku

Çok hücreli canlılarda, yapı ve işlev yönünden birbirine benzeyen hücreler ile hücreler arası maddeden oluşan yapıya, **doku** denir. Bütün doku ve organlar, embriyonun üç germ tabakasından (ektoderm, endoderm ve mezoderm) meydana gelir.

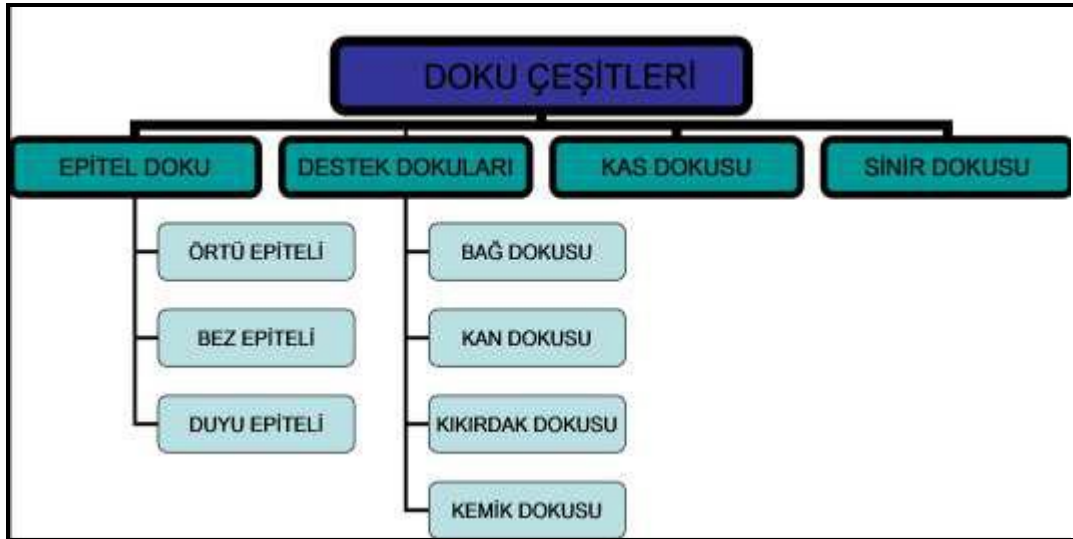
Dokuları oluşturan hücrelerin etrafında, yine bu hücrelerce sentezlenip salgılanan bir ara madde ile çevrilmişlerdir. Bu ara madde, yine dokuların özelliklerine göre değişik kıvamlarda bulunur. Örnek; kan dokusunda sıvı, kıkırdak dokuda jelimsi ve kemik dokusunda sert bir madde şeklinde bulunur. Ara madde, organik ve inorganik maddelerden meydana gelmiştir. Ayrıca ara maddede, doku hücrelerince sentezlenen dokunun destekliliğini ve dayanıklılığını artıran fibriller yer alır.

1.2.1. Dokunun Tanımı

Çok hücreli canlılarda, yapı ve işlev yönünden birbirine benzeyen hücreler ile hücreler arası maddeden oluşan yapıya **doku** denir.

1.2.2. Doku Çeşitleri

Dokular genel olarak dört grupta toplanır.



Şekil 1.1: Doku çeşitleri

➤ Epitel doku

Epitel doku, embriyonik hayatın gelişimi sırasında ektoderm ve mezoderm tabakasından köken alır. Vücudun içindeki ve dışındaki boşluklara bakan yüzeyleri sarar ve salgı bezlerinin esas kısmını oluşturur.

Epitel doku; örtü epiteli, bez epiteli ve duyu epiteli olmak üzere üç çeşittir.

- **Örtü epiteli** : Vücut boşluklarını ve dış yüzeyini örterek vücudu dış etkilerden korur. Solunum yollarının iç yüzeyinde bulunan tüysü uzantılar halindeki epitelyum hücreleri hareketleri ve mukus aracılığıyla solunum yollarına giren toz ve yabancı maddeleri, dışarı doğru itip uzaklaştırır. Örtü epitel hücreleri, bazal membranda dizilişlerine ve hücre biçimlerine göre sınıflandırılır.



Şekil 1.2: Örtü epitel çeşitleri

- **Salgı epiteli (bez epiteli)**: Salgı yapma görevini üstlenen epitelyum hücreleridir. Salgı dokusunu oluşturan hücreler, çeşitli küçük molokülleri kandan alarak onları hücre içi biyosentez mekanizmalarıyla daha karışık yapıya ürünler haline dönüştürür. Hücrelerin, oluşturdukları bu ürünleri kendi metabolizmasında kullanmayarak başka bölgelerde kullanılmak üzere dış ortama vermesine, *salgılama* (sekrasyon) denir. Salgılama işi için özelleşmiş hücre ve hücre gruplarına *salgı bezleri* denir. Salgının verildiği yere göre ekzokrin bezler (dış salgı bezleri) ve endokrin bezler (iç salgı bezleri) olmak üzere iki çeşit bez vardır.
 - **Endokrin bezler** : İç salgı bezini oluşturan hücrelerde kutuplaşma yoktur. Salgılarını, vücudun diğer bölgelerindeki hedef hücrelere ulaştırabilmek amacıyla kana veya lenf

dolaşımına veren bezlere denir. Salgılarına **hormon** denir. Örnek, Hipofiz, tiroid ve adrenal bezler.

- **Ekzokrin bezler:** Salgı yapan hücreler, ortalarında bir boşluk oluşturacak şekilde gruplaşır. Salgı bu boşlukta toplanır. Toplanan salgı gerekli yerlere gönderilir. Bu şekilde ürünlerini iç ya da dış yüzeye açılan kanallara boşaltan bezlere **ekzokrin bezler** denir. Örneğin tükrük bezleri.
- **Duyu epiteli :** Örtü epiteli içine yerleşmiş bulunan duyu hücreleri (reseptör hücreler) dış ortamdan gelen fiziksel, (işitme vb.) kimyasal, (koku, tat) mekaniksel (basınç) ve optik (görme) uyarıları alıp sinir uyarısı haline çeviren özelleşmiş hücrelerdir. Nöroepitel hücreler olarak da adlandırılan bu özelleşmiş hücreler, çevreden algıladıkları değişiklikleri sinir sistemine iletir.
- **Kassel epitel :** Kasılma özelliğine sahip epitelyum hücrelerdir. Kimi seröz ve müköz bez epitelyum hücrelerinin bazal yüzleri ile bazal membran arasındaki dar bölgeye yerleşmiş yassı hücrelerdir. Tükrük, gözyaşı, süt bezleri gibi dış salgı bezlerinde görülür.

➤ **Destek dokular**

Destek dokular; çeşitli yapıları birbirine bağlar, destek sağlar, yağ depolar, kan hücrelerini üretir, enfeksiyonlara karşı vücudu korur ve doku hasarlarında onarıma yardımcı olur. Kafada bulunan bazı destek dokular hariç tüm destek dokular embriyonik mezoderm tabakasından gelişir. Tüm destek dokularda, hücreler arası boşluğu dolduran zemin maddesi (matriks) doku hücreleri ve fibriller bulunur.

Bağ doku, kan doku, kıkırdak doku ve kemik doku olmak üzere dört çeşit destek doku vardır.

- **Bağ doku:** Bağ doku; dokuları organlara, organları sistemlere bağlayan yapıdır. Bu doku, matriks denen bir zemin maddesi ile bu ortamda yer alan hücreler ve fibrillerden oluşur.

Bağ doku, aşağıdaki şekilde belirtilen elamanları içerir.



Şekil 1.3: Bağ doku elemanları

Bağ doku; fibrillerinin sıkı veya gevşek düzenlenişine ve doku hücrelerinin veya matrikste bulunan elemanların yoğunluğuna göre aşağıdaki gibi sınıflandırılır.

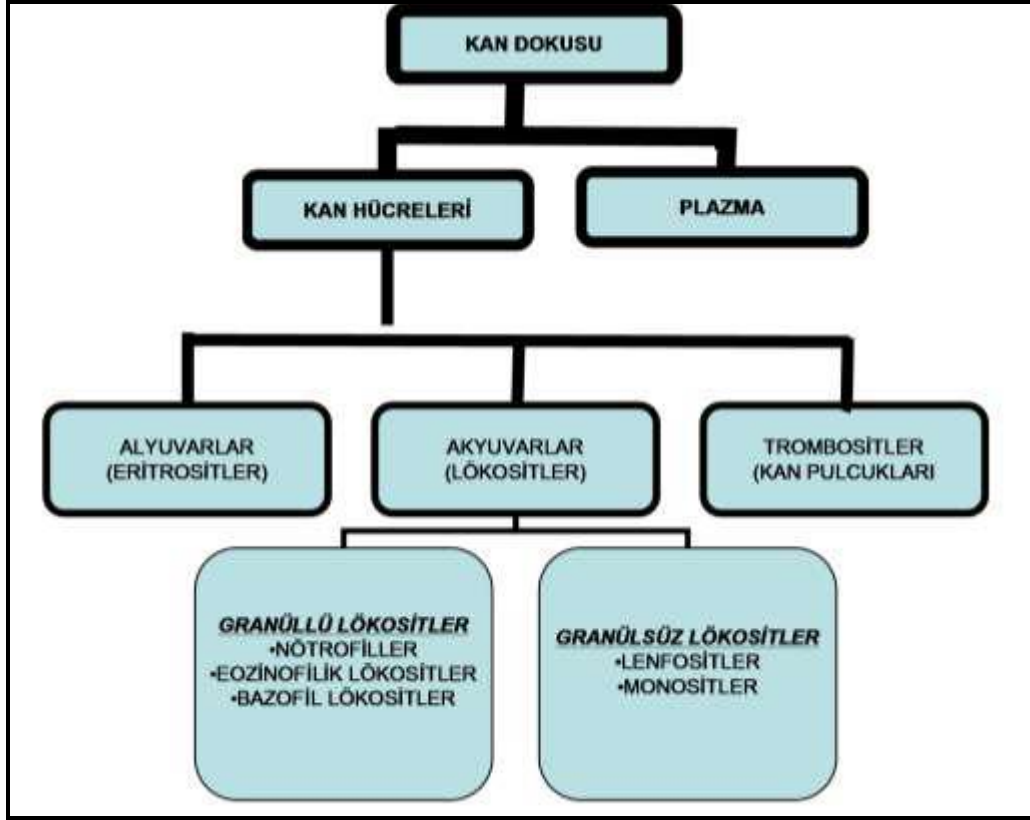


Şekil 1.4: Bağ dokusu çeşitleri

- **Kan dokusu** : Kan, hücreler arası maddesi sıvı olan bir destek doku çeşididir. Plazma adı verilen bu sıvı ortamda, çeşitli işlevleri yerine getiren; kan hücreleri, proteinler, (albumin, globulin ve fibrinojen) iyonlar halinde bulunur. Kan, vücut hücreleri ve dış ortam arasında madde taşınmasını gerçekleştirir ve sabit bir iç çevre oluşmasına katkıda bulunur. Kan hücreleri; alyuvarlar, (eritrositler) akyuvarlar (lökositler) ve kan pulcuklarıdır (trombositler)
 - **Eritrositler(Alyuvarlar):** Memelilerde yuvarlak (deve ve lamada oval şekilli), çekirdeksiz olan alyuvarlar, balık, kurbağa, sürüngen ve kuşlarda oval ve çekirdekli hücrelerdir. Kana kırmızı rengini verir. Yapılarında hemoglobin bulunur.

Hemoglobinin görevi, kan gazlarını (O₂ ve CO₂) bağlayarak gerekli yerlere taşımaktır. 1 mm³ kanda 4,5-5,5 milyon kadar eritrosit bulunur.

- **Lökositler(Akyuvarlar):** Grimsi beyaz renkte çekirdekli hücrelerdir. Büyüklükleri, 7-20 mikrondur. Yetişkin bir insanın 1 mm³ kanında 65000-10000, köpekte 9000, kedide 10000, atta 9000, sığırdan 8000, koyun ve keçide 12000, domuzda 15000, tavukta 28000'dir. Kanda; sayılarının artmasına **lökositoz**, azalmasına **lökopeni** denir. Lökositler, genelde vücudun savunma sistemi hücreleridir. Yapılarında granül taşıyıp taşımadıklarına göre sınıflandırılır. Granül taşıyanlara; **granülosit**, taşımayanlarına ise **agranülosit** denir.
- **Trombositler :** Trombositlerin görevi, kanın pıhtılaşma mekanizmasını aktive etmektir. Memelilerde çekirdeksiz olan trombositler, balık, kurbağa, sürüngen ve kuşlarda çekirdeklidir. Memelilerde çekirdek taşımadıkları için gerçek bir hücre sayılmaz. Sitoplazma parçacıkları şeklindedir. Bu nedenle bunlara memelilerde kan pulcukları (platelet'ler) denir. Şekli elemanların en küçüğüdür. Çapları 2-3 mikrondur. Kemik iliğinde bulunan megakaryosit denilen hücrelerin parçalanmasıyla oluşur. Trombositler 1 mm³ kanda 200-400 bindir. Sayılarının; 200 binin altına düşmesine **trombositopeni**, 400 binden fazla olmasına **trombositoz** denir.



Şekil 1.5: Kan dokusu hücreleri

- **Kıkırdak doku:** Kıkırdak doku, destek dokunun özel bir çeşididir. Kondrosit denen hücrelerden, jelimsi kıvamda ara maddeden (matriksten) ve bu matrikse gömülü halde bulunan fibrillerden meydana gelmiştir. Kondrositler, ara maddesi sentezinden sorumludur. Kondrositler lokuna veya kondroplast adı verilen boşluklarda 2-4'lü gruplar halinde bulunur. Diğer destek dokularında bulunan kan damarları ve sinirler kıkırdak dokusunda bulunmaz. Eklem yüzeylerini örten eklem kıkırdağı dışında kalan yerlerde, kıkırdağı dıştan kuşatan kompakt fibröz tipte Tip I kollajenden zengin perikondrum denen bir bağ dokusu kılıfıyla çevrilidir. Kan damarlarıyla getirilip buraya bırakılan besin maddeleri buradan difüzyon yoluyla hücrelere ulaşır. Kıkırdak dokunun genç hücrelerine **kondroblast**, olgun hücrelerine ise **kondrosit** denir. Kıkırdak doku üç gruba ayrılır. Bunlar;
 - **Hyalin kıkırdak :** Mavimsi beyaz renkte ışığa karşı yarı geçirgen görünümündedir. Organizmada en yaygın olarak görülen kıkırdak türüdür. Fetal iskeletinin kıkırdakları,

erişkinlerde, eklem bölgeleri kırıkdağı, burun, larinks, trakea, bronş, dış kulak vb. yerlerde bulunur.

- **Elastik kırıkdağ** : Hyalin kırıkdağtan daha saydamdır. Sarımsı renkte ve bükülebilme özelliğindedir. Kulak kepçesinde, dış işitme kanalı duvarında ve burun kanatlarında bulunur.
- **Fibröz kırıkdağ** : Grimsi – beyaz renklidir. Vücutta yoğun bağ dokusunun bazı bölgelerinde bulunur. Omurlar arası disklerde, kalça kemiklerinin birleşme yerinde, tendonların kemiklerle bağlantı bölgelerinde ve uyluk kemiği ligamentinde bulunur. Köpeklerde, kalp iskeletinde atrial ve ventriküler kalp kasını birbirine bağlamak üzere bulunur.
- **Kemik doku** : Destek dokular arasında gerçek anlamda destekleme görevi yapan dokudur. Diğer dokularda olduğu gibi hücreler, hücreler arası madde ve fibrillerden oluşur. Kemik matriksinde, kalsiyum fosfat ve kalsiyum karbonat gibi kemiğe sertlik veren mineral tuzlar ile kemiğin sağlam bir yapı kazanmasını sağlayan kollajen fibriller bulunur. Birkaç istisna dışında kemikler, periosteum denen özel bir bağ tabakasıyla çevrilidir. Kemikler şekillerine göre; uzun, kısa, yassı ve düzensiz olarak sınıflandırılır. Bu kemikler yapısal olarak süngerimsi kemik (spongiyöz kemik) ve sert kemik (dolgun kemik, kompakt kemik) olarak sınıflandırılır. Kemik dokusunun hücreleri osteoprogenitör, osteoblast, osteosit ve osteoklast hücrelerdir.
 - **Osteoprogenitör hücreler**: Kemik hücresi olma yönünde koşullanmış, mezenşim hücrelerdir. Hücreler kemiklerin normal büyümesi sırasında aktiftir. Erişkinlerde de hareketsiz dururken kemikte yaralanma ve kırıkların iyileşme bölgelerinde ve kemiğin içten yeniden düzenlenmesi sırasında aktive edilerek mitozla bölünüp çoğalırlar. Çoğalan bu hücrelerin bir bölümü, kemiği oluşturan osteoblastlara dönüşür.
 - **Osteoblastlar**: Kemik oluşumundan sorumlu hücrelerdir. Bu hücreler kemik matriksinin organik kısmını; yani kollajen fibrilleri, proteoglikanları, glikozaminoglikan ve glikoproteinleri salgılar.

- **Osteositler** : Kalsiyum tuzlarının birikmesiyle kireçleşmiş kemik matriksi içinde hapsolan osteoblastlara *osteosit* denir. Dolayısıyla osteositler, tamamen olgunlaşmış kemik hücrelerdir. Osteositlerin kemiğin diğer hücre tiplerine dönüşebilme özelliği vardır.
- **Osteoklastlar** : Kemiğin yeniden biçimlenme süresince çözünüp çevre dokularca emilmesinden sorumlu, çok çekirdekli hücrelerdir.

Sert kemikler içinde damarların yer aldığı iki kanal sistemi vardır. Bunlar, havers kanalı ve volkman kanalıdır.



Şekil 1.6: Kemik dokusu yapısal elemanları

➤ Kas doku

Kas, kimyasal enerjiyi kasılma ve gevşeme vasıtasıyla mekanik işe dönüştüren özelleşmiş bir dokudur. Kas hücrelerine *miyosit* adı verilir. Bu hücrelerin içinde kasılıp gevşeme özelliği gösteren, ince ipliksi, stoplazmik proteinler yer alır. Bunlara *miyofibril* veya *miyofilament* denir. Kas dokusu, yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre; düz kas, çizgili kas (iskelet kası) ve kalp kası olmak üzere üç çeşittir.



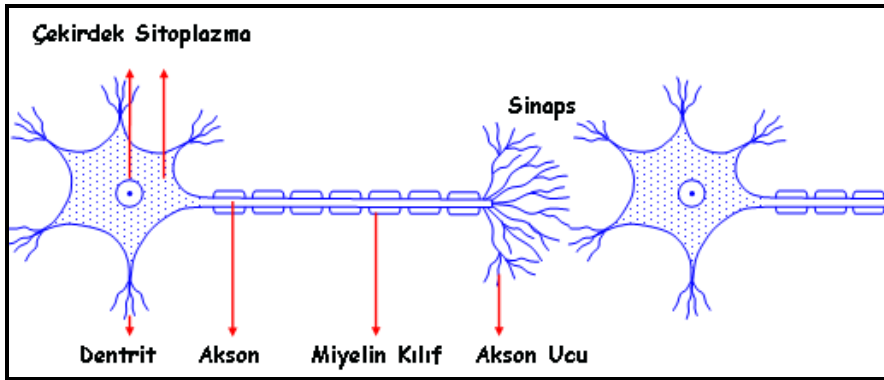
Şekil 1.7: Kas dokusu çeşitleri

- **Düz kas:** İçi boş organların duvarlarında bulunur. Mekik şeklinde tek çekirdek taşıyan hücrelerden oluşur. Otonom sinir sistem tarafından kontrol edilen düz kaslar istem dışı çalışır. Düz kaslar buldukları organların belli bir gerginlikte kalmalarını (tonus) sağlar.

- **Çizgili kas (iskelet kası) :**Çizgili kaslar kemiklere bağlı kaslardır. Çok çekirdekli silindirik yapıli hücrelerden oluşmuştur. Çizgili kas hücrelerinin miyofilamentlerinin düzenli yerleşim göstermesiyle kas çizgili görünür. İsteğe bağlı olarak çalışır.
- **Kalp kası:** Kalp kası, yalnız kalpte bulunur. Hücreler arası diskler aracılığıyla birbirine bağlanan, dallanma gösteren ve tek çekirdekli hücrelerden oluşur. Tek çekirdek içermesiyle kendine has özellikler gösterir. Kalp kası istek dışı çalışır. Miyofibrilleri enine çizgilenme gösteren kalp kası telleri, çizgili görünümünden dolayı iskelet kasına benzer.

➤ Sinir dokusu

Sinir hücrelerine **nöron** denir. Nöron gövdesine **perikaryon** adı verilir. Perikaryondan çıkan kısa uzantılara **dendrit**; uzun uzantılara **akson** denir. Nöronlar uyarıları dendritleri aracılığıyla alırlar. Alınan sinir uyarısı, hücrenin aksonlarıyla diğer sinir hücrelerine, kas hücrelerine veya salgı bezlerine iletilir. Uyarımların sinir hücresinden başka hücelere iletildikleri noktalara da **sinaps** denir.



Şekil 1.8: Nöron hücresi yapısı

Sinir dokusu hücreleri olan nöronlar yapılarına göre bir kutuplu, iki kutuplu; çok kutuplu ve yalancı bir kutuplu nöronlar işlevlerine göre duyu nöronları, ara nöronlar ve motor nöronlar olmak üzere sınıflandırılır.

Sinir sisteminin kendine özgü bağ dokusuna **nöroglia** denir. Altı çeşit nöroglia hücresi vardır. Bunlar;

- Astrositler hücreleri
- Oligodendrositler hücreleri
- Mikroglia hücreleri
- Ependim hücreleri

- Schwann hücreleri
- Satelit hücreleri (uydu hücreleri)

1.3. Doku Preparatı Hazırlama

Organizmadan alınan organ ve doku örneklerinin mikroskopta incelenecek hale gelinceye kadar geçen işlemin tümü histolojik teknikler olarak tanımlanır. Organ ve doku örnekleri yapılan bir seri işlemin sonunda mikroskopta incelenebilir hale gelir. Diğer taraftan histolojik incelemeler canlı ve cansız hastalıklı veya normal dokular ile hastalıklı veya normal vücut sıvı (genital sıvı, gözyaşı, tükürük) ve içerikleri (dışkı), doku kültürü gibi organik materyaller ya da toprak, taş gibi inorganik birçok materyal üzerinde yapılır.

➤ Canlı örnek incelemeleri

Canlı dokular çabuk bozuldukları için kısa sürede incelenmelidir. Canlı inceleme ya doğrudan faz kontrast mikroskop ya da vital veya supravital boyalar kullanılarak ışık mikroskop ile yapılır. Canlı inceleme yöntemlerinde çini mürekkebi, tripan mavisi gibi vital özel boyalar kullanılır. Buna karşın supravital boyama organizmadan çıkarılan ya da doku kültürü gibi çoğaltılan hücrelerin bulunduğu ortama boya maddesinin verilmesiyle olur. Nötral kırmızı, krezil viyoleto gibi boyalar bu amaçla kullanılır.

➤ Cansız örnek incelemeleri

Cansız doku, sıvı ve içeriklerin incelenmesi fiziksel (kaynatma, kurutma, dondurma) ve kimyasal (alkol, cıva, formalin) olarak tespit edilmiş ve boyanmış doku kesitleri üzerinde ya da dışkı gibi boyanmamış preparatlarda direkt olarak ışık mikroskopla yapılır. Diğer taraftan usulüne uygun şekilde alınan sivrisinek, kene, böcek gibi canlılar da tür tayini ve değişik amaçlarla stereo- mikroskopla direkt olarak incelenir. Ultrastrüktürel düzeyde incelemeler farklı işlemlerden geçirilerek elektron mikroskopta yapılır.

➤ Örnek alma ve makroskobik değerlendirme

Ölen hayvanlardan nekropsi (Hayvanların neden öldüğünü ortaya koymak ya da deneysel amaçla öldürülen hayvanlardaki bulguları saptamak amacıyla ölüm sonrası yapılan incelemeye denir.) sırasında, canlı hayvanlardan farklı biyopsi yöntemleriyle (delme, ince iğne, endoskopik) veya operasyon sırasında alınan organ ve doku örneklerinin alınmasında özellikle dikkat edilmesi gereken nokta otolizi (Ölümden sonra doku ve hücrelerin enzimatik olarak yıkıma uğrayıp kendi kendini eritip sindirmesine denir.) önlemektir.



Resim 1.5: Makroskopik çalışma

➤ **Örnek alma**

Nekropside makroskopik olarak lezyonlu organ ve dokulardan alınan örnekler şüphelenilen hastalık veya hastalıklara göre değişir. Eğer salgın bir hastalık söz konusu ise sistematik olarak tüm organ ve dokulardan laboratuvar incelemeleri için örnek toplanmalıdır. Farklı laboratuvar incelemeleri için alınacak örnekler de farklı saklama yöntemlerine göre alınarak ilgili laboratuvara gönderilir.



Resim 1.6: Doku ve organ numunesi

• **Mikrobiyolojik incelemeler**

Bu amaçla alınan örnekler steril ve olabildiğince yıpratılmadan taze bir şekilde plastik kutu veya naylon torba içerisine soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Kuru buz kullanışlı olmasına karşın bir takım sakıncalar içerir. Bunlar;

Bazı mikroorganizmalar özellikle bazı virüsler kuru buzdan açığa çıkan CO2 buharları sonu kısmen ya da tamamen yok olur. Bu nedenle alınan örnekler hava geçirmeyen bir kap içerisine konulmalıdır.

Ulaşımda oluşabilecek gecikme kuru buz kitlesinin tamamen buharlaşmasına neden olur. Bu da kutu içindeki ısıyı hızla yükseltir. Bu nedenle ayrı bir kutuya yerleştirilen örneklerin etrafına gazete kağıdı ve talaş konularak hava geçirebilecek şekilde kutuya yerleştirilir. Kuru buz bulunmadığı durumlarda aynı şekilde hava geçirmeyen kaba alınan örnekler, içerisinde buz bulunan bir termosun ortasına yerleştirilerek gerekli önlemler alınmış bir şekilde konulur. Alınacak örneklerin kullanılacağı kapların steril, vida kapaklı ve plastik olması tercih edilir.

- **Parazitolojik incelemeler**

Paraziter hastalıkların kesin tanısı için bunların parazitolog tarafından belirlenmesi gerekir. Uygun koşullarda bu belirleme taze olarak toplanmış parazitler üzerinde yapılır. Dış parazitler kadavra soğumaya başlayınca hayvandan ayrılır. Bu nedenle bu parazitlerin olgun, larva veya yumurtaları hayvanın ölümünden önce veya hemen sonra aranıp toplanmalıdır. Özellikle derinin kepekli veya kalınlaşmış bölgelerinden kazıntı alınmalıdır. Buralardan alınan örnekler olabildiğince çabuk incelenmelidir. Eğer yapılamıyorsa %5 formalin veya 70 derecelik etil alkolde tespit edilerek korunmalıdır. İç parazitlerin bazıları çıplak gözle seçilebildiklerinden organların incelenmesinde dikkatli olunmalıdır. Çoğunlukla sindirim kanalında, akciğerlerde, hava ve yemek borularında, karaciğerde, böbrekte, kalpte, kaslarda ve kanda rastlanır. Özellikle hayvanlarda rastlanan kan protozoonları için mutlak surette kan frotisi yapılmalıdır. Dışkı örnekleri olanaklı ise hemen incelenmelidir. Eğer laboratuvara gönderilecekse soğuk zincirde veya %10'luk sıcak formalin solüsyonunda tespit edilmelidir.

- **Kimyasal ve toksikolojik incelemeler**

Zehirlenmelerin hangi kimyasala ait olduğunun saptanması gerekir. Bu amaçla alınacak örnekler şüphelenilen zehre göre olmalıdır. Genellikle karaciğer, böbrek, mide ve bağırsak içerikleri büyük hacimlerde laboratuvara gönderilir. Bazen kan ve idrar örnekleri de gerekebilir. Alınan örnekler hiçbir koruma işlemi uygulanmadan temiz ve akmayan kavanozlara konulmalıdır. Örnekler antiseptiklerle temas etmemeli ve kimyasal koruyucular kullanılmamalıdır. Soğuk zincirde kısa sürede labotatuvara ulaştırılmalıdır.

- **Histopatolojik incelemeler**

Nekropsi sonrasında histopatolojik incelemeler için alınacak organ ve doku örnekleri şüphelenilen hastalığa göre değişmektedir. Eğer belirli şüphelenilen hastalık bulunmuyorsa lezyonlu olanlardan veya sistematik olarak tüm organ ve dokulardan örnek alınır. Örnek almada kullanılan bıçak, bisturi ve makas gibi kesici aletler keskin olmalıdır. Organ ve dokular üzerine uygulanacak kesitler baskı uygulanmadan süratli ve düzgün olmalıdır. Bloklar halinde kesilen dokuların otolizden belli ölçüde korunabilmesi için 0,5 cm'den fazla kalınlıkta olmamasına dikkat edilmelidir. Yeterli genişlik ve uzunlukta kesilen dokuların

kesit yüzleri birbirine paralel olmalıdır. Doku blokları çıplak gözle görülebilen patolojik ve bunlara komşu olan normal doku kısımlarını içermelidir.



Resim 1.17: Doku örneği

- **Sitopatolojik incelemeler**

Erken tanı ve etkin sağaltım için vücut sıvılarından (kan, vagina, mukus, idrar, tükürük) palpe edilebilir kitlelerden ince iğne aspirasyonu ile örnekler alınır. Bu örneklerden amaca uygun olarak lam üzerine direkt ya da indirekt yayma tekniği kullanılarak preparat hazırlanır. Kuduz hastalığının hızlı tanısında hayvan türüne bağlı olarak ilgili dokulardan (gevişgetirenlerden beyin kökü ve beyincik; etçilerde beyin kökü ve ammon boynuzu) alınan taze doku örnekleri lama basınçla dokundurularak (tuşe preparat) örnek alınır.



Resim 1.8: Sitolojik çalışma örnekleri Resim 1.9: Materyal yaymaları

- **Elektron mikroskopik incelemeler**

DeneySEL çalışmalarda elektron mikroskopik düzeydeki değişiklikleri veya saha çalışmalarında etkenleri (bakteri, virüs, protozoon) saptamak için doku örnekleri alınır. Bu amaçla alınan örnekler 0,5-1 mm³ gibi küçük boyutlarda olmalıdır. Etkenleri direkt olarak gözlemek için örneklerden hazırlanan süspansiyonlardan veya doku kültürleri karbon kaplı gridlere doğrudan değiştirilerek alınır.

- **Makroskopik değerlendirme**

Nekropsi sonrası veya farklı kliniklerden biyopsi materyali olarak gönderilen organ ve doku örneklerinin makroskobik olarak çıplak gözle değerlendirilmesi ve mikroskobik inceleme için alanlar belirlenmesi makroskobi odası olarak tanımlanan aydınlık ve iyi havalandırılmış bir odadır.



Resim 1.10: Mikroskobi çalışma kabini (güvenlik kabini)

Trimleme (Mikroskobik kesitler için organ ve dokuları keserek küçültme işlemine denir.) bu odanın içerisinde bulunan makroskobi kabininde yapılır. Bu kabinde ek bir aydınlatma ve havalandırmanın yanı sıra trimleme alanı, lezyonların veya tümoral kitlenin boyutlarını ölçmek için sabit bir cetvel, örneklerin konulduğu raflar, formalin tankı, çeşitli boyutlarda kesici aletler, küçük lezyonları değerlendirmek için büyüteç, doku kasetleri, etiket kutuları ile sıcak-soğuk su muslukları ve evyesinde kemik de öğütebilen bir öğütücü vardır.



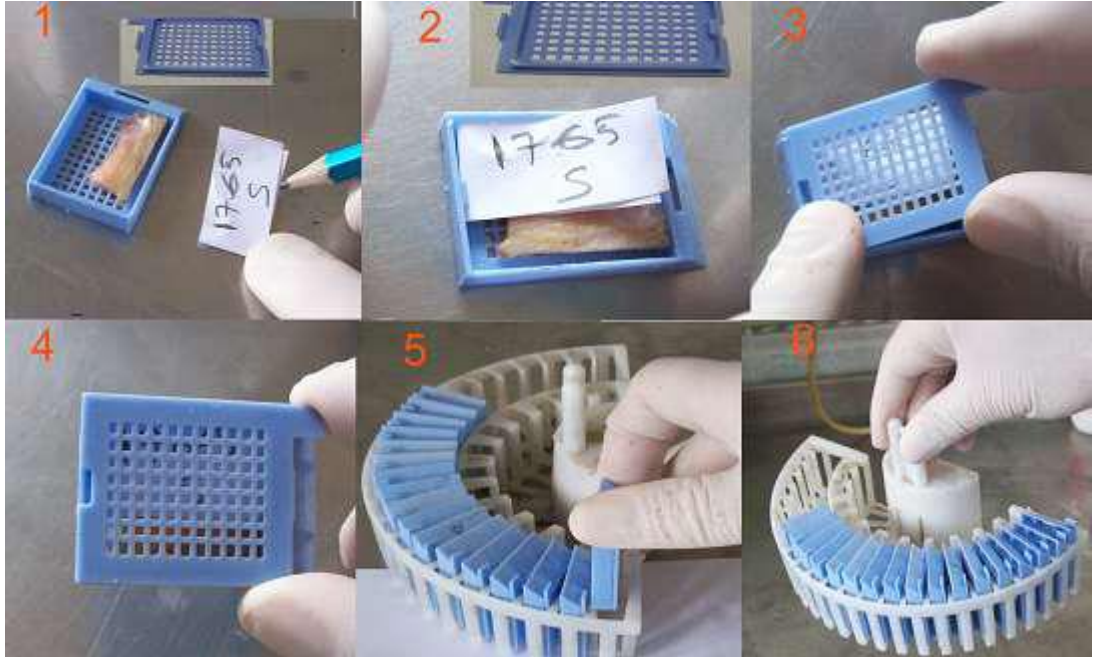
Resim 1.11: Doku kasetleri

Makroskobi odasında ayrıca buzdolabı, fotoğraf çekim düzeneği, tartı diğer tespit solüsyonları bulunur. Trimleme işlemi yapıldıktan sonra organ ve doku örnekleri kapsadıkları hacimle uyumlu olarak plastik kasete konularak tespit solüsyonuna atılır.



Resim 1.12: Dokuya kesit atılması

Resim 1.13: Doku örneğinin kasete alınması



Resim 1.14: Kasetleme

Eğer alınan doku örnekleri çok kanamalı ise birkaç saat tespit solüsyonunda kaldıktan sonra tespit solüsyonu değiştirilir. İyi bir tespit için doku kalınlığı 3-5 mm'yi geçmemelidir.



Resim 1.15: Makroskobik çalışmada doku örneğinin incelenmesi

Ancak bazı özel boyamalar için (spiroketler= leptospirozis) kesitler çok daha ince alınmalıdır. Alınan doku örneği içerisinde kireçlenmiş veya kemiksel yapılar bulunuyorsa dekalsifikasyon işlemi uygulanmalıdır.

1.4. Doku Numunelerinin Tespiti

Histopatolojik değerlendirmede yanılığara düşmemek için dikkatli ve iyi bir tespit işleminin yapılması gerekir. Fiksasyon işlemi fiziksel ve kimyasal yollarla yapılabilir. Kaynatma ile yapılan tespit hücresel yapılar üzerine yıkıcı etkisi olmasından dolayı günümüzde pek kullanılmamaktadır. Veteriner patolojide zorunlu hallerde kuduz gibi zoonoz hastalıkların hızlı tanısında bu tip tespitten yararlanılmaktadır. Kurutma ile tespit, kan ve kemik iliği yaymalarında kullanılır. Dondurma ile tespit, çözünür maddelerin (lipid, enzim) kaybını, hücresel yapıların yer değiştirmesini, kimyasal değişiklikleri, protein yıkılmasını en aza indirir. Diğer taraftan dondurma ile tespit, hücresel yapıların histolojik değerlendirmesi çok düzgün olmamakla birlikte hızlı tanıda kullanılır. Kimyasal tespit ise en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntemle alınan örnekler doğrudan tespit solüsyonuna atılır ya da hayvan anestezi altında iken organı besleyen atardamar yıkanır ve basınçla verilerek yapılır.

➤ Kimyasal tespit solüsyonları

- Aldehitler (formaldehit, glutaraldehit, glioksal)
- Okside ediciler (osmium tetroksit, potasyum permanganat, potasyum dikromat)
- Protein yıkılmayanlar ve pıhtılaştırıcılar (asetik asit, metil alkol, etil alkol)
- Diğer çapraz bağ oluşturanlar (karbodiimidler)
- Diğer (civa klorid, pikrik asit, aldehid içermeyenler) olmak üzere sınıflandırılırlar.

Histopatolojide tespit özel bir öneme sahiptir. Ancak hemen eklemek gerekir ki başarılı bir tespit işleminden sonra bunu izleyen aşamalarda aynı özen gösterilmezse iyi bir sonuca ulaşılamaz. Tespitte uygun koşullar çeşitli faktörlere bağlıdır.

➤ **Tespit solüsyonunun amaca göre seçimi**

Doku ve hücrelerin canlı hayattaki yapılarına en uygun şekilde tespit birinci derecede osmium tetroksit ikinci derece de ise formalindir. Bu iki tespit solüsyonunun proteinlerin yapısını bozmadan çok az bir çökelmeye neden olması iyi bir koruyucu olduğunu gösterir.

➤ **Tespit solüsyonunun miktarı**

Tespit solüsyonu ile bu solüsyon içerisine konulacak doku örneğinin oranı önemlidir. Tespit solüsyonuna fazla örnek konursa solüsyon içindeki kimyasallar yetersiz kalır ve uygun bir tespit oluşmaz. Bunun için 1:50- 1:100 oranı ile iyi sonuçlar alınır.

➤ **Tespit solüsyonunun pH'ı**

Genellikle hücre çekirdek ve stoplazması birbirine zıt pH değerlerinde iyi sonuç verir. pH asit olduğu için çekirdek stoplazmaya göre, alkali olduğunda ise stoplazma çekirdeğe göre daha iyi korunur.

➤ **Tespit süresi**

Doku örneklerinin tespit solüsyonu içerisinde bulundurulma süresini etkileyen çeşitli faktörler vardır. Bunlar;

- **Örneğin büyüklüğü** : Uygun büyüklükte alınan örnekler her taraftan tespit solüsyonuyla karşı karşıya olduğundan tespit solüsyonu doku örneğinin en derin kısımlarına bile otoliz şekillenmeden ulaşır.
- **Tespit solüsyonunun difüzyon gücü** : Tespit solüsyonlarının difüzyon gücü çeşitlidir. Osmik ve pikrik asitler çok yavaş yayılma gösterir. Buna karşın trikloroasetik asit, formalin ve asetik asit ise oldukça hızlı bir biçimde derinliğine etkilidir. Tespit solüsyonunun difüzyon gücü sadece solüsyona değil tespit edilen organ ve doku örneğinin yapısal ve fonksiyonel özelliğine de bağlıdır.
- **Ortamın ısısı** : Ortam ısısı düşük olduğunda tespit gecikir. Bu gecikme düşük ısıda difüzyon gücünün zayıflamasına bağlıdır.
- **Amaç** : Sürenin belirlenmesinde önemlidir.
- **Doku örneğinin yapısı** : Embriyonal dokular ve yumuşak dokular daha kısa sürede tespit edilirken sert dokular ya da organ kapsülleri daha uzun bir sürede tespit edilir.

➤ **Tespit uygulama teknikleri**

Tespit işleminde iki yöntem uygulanır.

- **İmmersiyon (daldırma):** Geniş ağızlı ve ağzı iyi kapanan kaplar içerisinde tespitin yapılmasıdır. Tespit edilecek organ ve doku örneklerinin bütün yüzeylerinin solüsyonla doğrudan temasının olması gerekir. Bu amaçla tespit kabının zeminine filtre kağıdı veya pamuk konur. Beyin gibi yumuşak dokuların tespitinde organın kaba asılarak zemine dokunmamasını ve her yüzünün tespit solüsyonuna temasının sağlanması gerekir. Tespit süresince kapların ara ara çalkalanması ve karıştırılması gerekir.
- **Perfüzyon (basınç uygulama) :** Deneysel çalışmalarda anestezi altında hayvanın kanı boşaltılarak hangi organdan örnek alınacak ise o organın atardamar sisteminden vücut ısısında düşük basınç altında izotonik solüsyon verilerek damar sistemi yıkanır. Daha sonra tespit solüsyonu aynı yolla verilerek organ çıkarılır ve tespit solüsyonuna alınır.

➤ **Tespit hataları (artefakt)**

Tespit işlemi hücreleri yaşamdaki şekil ve kimyasal yapılarına yakın olarak korumak olmasına karşın tespit solüsyonunun bizzat kendisi hata oluşturur. Bu genellikle patoloji laboratuvarlarında sık kullanılan formalin solüsyonunda uzun süre tespit edilen özellikle kandan zengin doku örneklerinin histolojilerinde gözlenir. Bunların patolojik şekillenen pigmentlerden ayırt edilmesi gerekir. Bu amaçla formalin pigmentini uzaklaştırmak için en etkili yol boyanmamış doku kesitlerinin alkolle doyurulmuş pikrik asit uygulamasıyla formalin pigmentini uzaklaştırmaktır.

1.4.1. Tespit Solüsyonları

Histolojik teknikler içerisinde en geniş yeri tespit aşaması tutar. Bu amaçla kullanılan maddeler çok çeşitlidir. Bunlar aseton, etil alkol, asetik asit gibi ya tek başlarına veya bir kaçı bir arada olmak üzere hazırlanan tespit solüsyonlarının içine girer.

- **Aseton:** Hızlı tanı amacıyla kullanılır. Suyu çekerek hücreyi büzer. Daha çok diğer tespit solüsyonlarının bileşimine katılır.
- **Etil alkol :** Etkisini aseton gibi hücredeki suyu çekerek yapar. Proteinlerin yapısını bozmaz. Özellikle karbonhidratlar için çok uygundur. Lipidler üzerine eritici etkisi vardır. Saf olarak kullanıldığında örnekler en fazla 5 mm kalınlığında olmalıdır.
- **Asetik asit :** Ender kullanılır ve iyi sonuç vermez. Diğer tespit solüsyonlarıyla birlikte kullanılır.
- **Formalin :** Tek başına kullanılabilirdiği gibi diğer tespit solüsyonlarının içine katılır. Bir kısım stok formalin (%37-40) 9 kısım su ile karıştırılır. Genel amaçlar için en bilinen tespit solüsyonudur. Tespit süresi oda sıcaklığında örneğin yapı ve boyutuna değişmekle birlikte 24 saattir.

➤ **Birkaç kimyasal içeren ve çok kullanılan tespit solüsyonları**

- **Nötral buffer formalin (%37-40 formaldehit 100 ml + distile su 900 ml + sodyum dihidrojen fosfat monohidrat 4 g + disodyum hidrojen fosfat anhidroz 6,5 g) :** Özellikle sinir sistemi dokularının tespitinde kullanılır. İdeal ve en çok kullanılan bir tespit solüsyonudur.
- **Carnoy'un tespit solüsyonu (saf etil alkol 60 ml + kloroform 30 ml + glasial asetik asit 10 ml) :** Dokulardaki glikojeni saptamak için tercih edilir. Tespit süresi 3-6 saattir.
- **Bouin'in tespit solüsyonu (pikrik asitin suda doymuş solüsyonu 75 ml + %40 formaldehit 25 ml + glasial asetik asit 5 ml) :** Kullanmadan hemen önce hazırlanmalıdır. Tespit süresi 1-3 gündür. Yıkama doğrudan %95'lik alkolle yapılır.
- **Zenker'in tespit solüsyonu (distile su 100 ml+ potasyum dikromat 2,5 g+cıva klorür 4-5 g+glasial asetik asit 5 ml sodyum sülfat 1 g):** Tespit süresi 4-24 saattir ve kontrollü yapılmalıdır. 8-10 saatten fazla tespit hücre çekirdeği boyanmasını azaltır. Mükemmel bir genel tespit solüsyonudur. Kısmen hızlı doku derinliklerine ulaşır. Tespit sonrası gece boyunca yıkanmalıdır.

1.4.2. Doku Numunelerinin Tespit Edilmesi

Hazırlanan yayma ve tuşe preparatlarda tespit ıslak ya da kuru olabilir. Islak tespit için hazırlanan preparat, çoğunlukla %96'lık etil alkolde 10 dakika bırakılarak yapılır. Bu tür tespitte antijenik yapılar iyi korunur. Ayrıca metanol ve aseton da tespitte kullanılabilir. Kuru tespitte hazırlanan preparat havada bırakılır ya da elle sallayarak veya fön makinesi kullanarak sıcak hava ile tespit hızlandırılır. Kuru tespitte dikkat edilmesi gereken nokta hazırlanan preparatın her tarafının aynı kalınlıkta olmasıdır. Eğer aynı kalınlıkta olmazsa kalın taraf kurumayacak, kolay kuruyan ince tarafta ise yapılarda artefaktlar oluşacaktır.

➤ **Elektron mikroskopide tespit**

Tespit sıvısı olarak birinci tespitte en çok stok solüsyonundan hazırlanmış %2,5'lik buffer glutaraldehit (%25 glutaraldehit stok solüsyon 10 ml + 0,1 mol/L kakodilat buffer pH: 7,4) ikinci tespitte ise sulu %2'lik osmium tetroksit (osmium tetroksit 1,0 g + distile/deiyonize su 50 ml) kullanılır. Elektron mikroskopta iyi bir tespit için parçanın boyu, solüsyonların yoğunluğu, pH ve ısı ile tamponun uygunluğu önemlidir. Bu amaçla alınacak doku örneklerinde otolizden kaçınmak için deneysel çalışmalarda mümkünse perfüzyondan hemen sonra alınması ve düz bir camda tespit solüsyonunun içerisinde trimlemesi yapılmalıdır. Tespit sıvılarında pH'nın nötr (7,2- 7,4) olması ve doku örneklerinin buzdolabı sıcaklığında (4°C) bırakılması önerilir. Ayrıca parafinde bloklanmış materyallerden de geri dönüş yapılarak elektron mikroskop için kesit alınabilir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Doku numunelerinin tespitini yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Tespit solüsyonu hazırlayınız.	➤ Analiz için gereken tespit solüsyonlarını hazırlayınız.
➤ Doku örneğinden yeterli büyüklükte parça alınız.	➤ Steril ortam koşullarına uyarak çalışınız.
➤ Doku parçasını küçük parçalar halinde kesiniz.	➤ Doku parçası kesme kurallarına uyunuz.
➤ Tespit solüsyonlarını tespit kaplarına aktarınız.	➤ Tespit kaplarının hacimlerini belirleyiniz.
➤ Dokuları tespit solüsyonları içine koyunuz.	➤ Doku tespit solüsyonu kurallarına uyunuz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyunuz ve doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi, kemik dokusunun temel maddesindeki inorganik öğelerin başında gelir?
A) Kalsiyum hidroksit
B) Magnezyum sülfat
C) Kalsiyum florid
D) Kalsiyum fosfat
2. Aşağıdakilerden hangisi, kemik oluşumundan sorumlu hücrelerdir?
A) Osteoblast
B) Osteosit
C) Osteoklast
D) Osteojenik hücreler
3. Kıkırdak dokunun olgun hücrelerine ne ad verilir?
A) Kondron
B) Akson
C) Kondrosit
D) Kondroblast
4. Nekropside örnek alırken hangi noktalara dikkat edilmez?
A) Örnek alırken kullanılan kesici aletler keskin olmasına
B) Örnekleme yapılacak kesitler baskı uygulanmadan süratli ve düzgün olmasına
C) Alınan örneğin kalınlığı 0,5 cm'den fazla olmasına
D) Örneklerde sadece patolojik alanlar bulunmasına
5. Aşağıdakilerden hangisi, en sık kullanılan ideal tespit solüsyonudur?
A) Nötral buffer formalin(%10)
B) Formalin(%37-40)
C) Bouin solüsyonu
D) Zenker solüsyonu

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Bu öğrenme faaliyetinde verilen bilgi ve becerilerle kemiklerde dekalsifikasyon işlemini yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Veteriner kliniğinin patoloji laboratuvarına giderek dekalsifikasyon incelemesini izleyiniz.
- Konu ile ilgili çalışmalarınızı rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

2. KEMİKLERDE DEKALSİFİKASYON

Patoloji laboratuvarına gelen kemik dokuları, mikrotomda kesit alınamayacak derecede serttir. Bu dokuların, mikrotomda kesit yapılacak duruma getirilmeleri gerekir. Bu amaçla kemik gibi sert dokuları asitler içinde bekletilerek dokudaki kalsiyum uzaklaştırılır ve doku kesit için uygun hale (yumuşatılması) getirilir. Bu işleme dekalsifikasyon denir.

Bazı nekropsi ve tümör materyallerinde (özellikle köpek meme tümörleri) veya kıkırdak ve kemik gibi sert dokuların tespit işlemi farklı teknik uygulamaları gerektirir. İlk olarak bu sert dokular içerisinde bulunan kalsiyumun uzaklaştırılarak dokunun yumuşatılması gerekir. Bu amaçla kullanılan kimyasal dekalsifikasyon solüsyonları etkilerini iki yolla yapar. İlki çözülebilir kalsiyum tuzları oluşturan asitlerle diğeri ise özellikle kalsiyum ve magnezyum iyonlarını bağlayan ajanlarla (etilendiamintetraasetik asit= EDTA) yapılır. Asit dekalsifikasyon solüsyonları da güçlü inorganik (hidroklorik, nitrik) ve zayıf organik asitler (formik, asetik ve pikrik) olarak ayrılır. Uygun büyüklüğe getirilen kemik doku, laboratuvardaki genel tespit solüsyonlarında tespit edildikten sonra amaca yönelik olarak yukarıda belirtilen farklı dekalsifikasyon solüsyonlarına aktarılır. Dekalsifikasyon yapılacak solüsyonun seçimi, işlemin sonucunun hızlı istenip istenmediğine, kapsadığı kalsiyum düzeyine ve istenen boyama özelliğine göre yapılır. Hayvan türü (köpek, tavuk) ve yaşı (genç, ergin) gibi faktörlerde dekalsifikasyon solüsyonunun seçiminde etkilidir. Dokuların boyanma özellikleri kullanılan dekalsifikasyon solüsyonlarının kapsadıkları asite ve dekalsifikasyonunun hızlı ya da yavaş oluşuna göre değişmektedir. Dekalsifikasyon esnasında karıştırıcı kullanılması kalsifikasyon süresini hızlandırdığı gibi solüsyonun her yöne eşit dağılmasını sağlar. Eğer yapılamıyorsa mümkün olan kısa sürelerde solüsyon değiştirilmelidir.

2.1. Dekalsifikasyon Metotları

Dekalsifikasyon metotları aşağıda açıklanmıştır.

2.1.1. Nitrik Asit I Metodu

%5-10'luk yoğunlukta önerilen basit sulu solüsyonları kullanılır. Hızlı dekalsifikasyon oluşturulursa da doku şişkinliğine ve 24-48 saatten uzun süre solüsyonda kalırlarsa dokuda ciddi yıkıma neden olurlar. Histokimyasal ve immunolojik boyamalar için uygun değildirler. Sulu nitrik asit %5-10 (Clayden 1952); (nitrik asit 5-10 ml + distile su= toplam 100 ml)- Perenyi'nin solüsyonu (Perenyl 1882); (%10 nitrik asit 40 ml + saf etil alkol 30 ml + %0,5 kromik asit 30 ml) en sık kullanılanlarıdır.

2.1.2. Nitrik Asit II Metodu

Aynı zamanda fiksasyon da yaptığı için dokuyu daha iyi korur.

2.1.3. Formik Asit-Sodyum Sitrat Metodu

Formik asit en sık kullanılanıdır. Asetik ve pikrik asitler doku şişmesine neden olur. Hızlı ve küçük kireçlenmeler için uygundur. Sulu formik asit (%90 stok formik asit5-10 ml+distile su= toplamı 100 ml)- Buffer formik asit (Evans&Krajian 1930); (%20 sulu sodyum sitrat 65 ml+ %90 stok formik asit 35 ml) en bilinen dekalsifikasyon solüsyonlarıdır.

2.1.4. Versenate (EDTA) Metodu

Yavaş işlem hızına sahiptir. Zaman uygun ise mükemmel bir dekalsifikasyon solüsyonudur. Doku yıkımı ve boyanma üzerine olumsuz etkisi yoktur. Formalin EDTA (Hilleman & Lee 1953); (EDTA disodyum tuzu 5,5 g+distile su 90ml+ %35-40 stok formaldehit 10 ml) en bilinenidir.

2.2. Dekalsifikasyon Son Noktasının Belirlenmesi

Dekalsifikasyonun durdurulması için dokunun kontrolü, esnekliğine bakılarak veya toplu iğne batırılarak yapılır. İğne zorlanmadan dokuya batıyorsa dekalsifikasyon tamamlanmış demektir. Şartlar uygunsa röntgeni çekilerek kontrol yapılabilir. Dekalsifikasyon solüsyonu içerisinde dokunun fazla kalması boyanma özelliklerini etkilediğinden kontrollü şekilde yapılan dekalsifikasyon işlemi hızla sonlandırılmalıdır. Sonlandırma ise %5'lik sodyum sülfatta 2-3 saat bekletilerek yapılır. Daha sonra dokular suda yıkanarak normal işleme geçilir.

➤ Dekalsifikasyon sonrası işlemler

Selüloz nitrat dehidratasyonu veya parafin işleminin 1. basamağındaki % 70'lik alkole dokular direkt olarak alınır. Eğer, frozen kesit preparatları yapılacaksa suda yıkanır ve depolayarak bekletmek için %10'luk formal-salin kullanılabilir.

Frozen kesitler, kemik ve kemik tümörleri için kullanışlıdır. Dekalsifiye kompakt kemiğin küçük parçaları dondurma mikrotomunda kesilir ve herhangi bir destek ortamına gerek yoktur. Ancak süngerimsi kemik trabeküllerinin ve kemik iliği hücrelerinin işlem

sırasında kaybolmaması için gömülebilir. Frozen kesit yöntemi ile daha çabuk preparasyon yapılabilir.

Parafin bloklara gömme, sakıncalarına rağmen kemik patolojisinde rutin metottur. Çift gömme, parafin ve selüloz nitrat kombinasyonu daha avantajlı bir gömme ortamıdır. Özellikle süngerimsi kemik gibi hem sert hem de yumuşak doku içeren yapılarda, plastik materyallerde bu çift materyale gömme gibi avantaj sağlarlar. Gömme ortamı seçildiğinde, dehidratasyondan sonra impregresyon iş-lemine geçilir. Gömme materyali ile kemikler gömülür. Otomatik doku takip makinası ile 16-24 saatlik kısa işlem spongios kemiğin küçük parçaları ve kemik iliği için uygun değildir. Parafin impregresyonu için vakum fırınının kullanılması önerilmektedir. Selüloz nitrat (celloidin veya LVN), kemikte 2 önemli amaç için kullanılan değerli bir gömme ortamıdır.

- Vertebralar gibi değişik yoğunluktaki geniş doku kitleleri ve femurun orta sütunu gibi dens, kortikal kemik preparasyonlarındaki kolaylığı,
- Orta kulaktaki daha hassas kemiksi yapılarda oluşan büzülme, biçim bozulmalarını önemli ölçüde azaltır. Bu avantajlarına karşın sürecin yavaşlığı ve kesit kalınlığının 15-20 mikron olması dezavantajlarıdır.

Kemik preparatları çok keskin bıçaklı ağır mikrotomla kesilir. Kesit kalınlığı 6-8 mikron olmalıdır. Alınan kesitlerin yapıstırıcılı bir lama alınması ve dikkatli olarak kurutulması gereklidir.

2.2.1. Kimyasal Metot

- Materyal tespit edilir. Tespitsiz materyal, dekalsifikasyon asitine alınmaz.
- Tespit işleminden sonra belirlenen uygun solüsyon (solüsyonlar %10'luk nitrik asit veya %10'luk Formik asit) içine alınır.
- Dekalsifikasyon sıvısı, dokudan 50-100 kat fazla hacimde olmalıdır.
- Dekalsifikasyon solüsyonu doku yumuşayınca kadar günlük değiştirilir.
- Aralıklarla kap karıştırılır.
- Bistüri ucu ile dokunun kontrolü yapılır. Dekalsifikasyon işlemi, doku bistüri ile kesilecek kıvama gelinceye kadar sürdürülür.
- Yumuşamış kemik dokusundan örnekler alınarak doku takip kasetine yerleştirilir ve doku takibe alınır. Kalan doku, tekrar formaldehit içinde saklanır.

UYGULAMA FAALİYETİ

Kemiklerde dekalsifikasyon yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Kemikleri küçük parçalar halinde kesiniz.	➤ Dekalsifikasyon ön hazırlıklarını yapınız.
➤ Dekalsifikasyon solüsyonlarını hazırlayınız.	➤ Solüsyonu tartım kurallarına ve yüzde oranlarına göre hazırlayınız.
➤ Kemik parçalarını dekalsifikasyon solüsyonu içine koyarak 24 saat bekletiniz.	➤ Doku materyalinin dekalsifikasyon solüsyonu içerisinde yeterli süre kalmasına dikkat ediniz.
➤ Dekalsifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol ediniz.	➤ Uygun kontrolleri yapınız.
➤ Dekalsifikasyon tamamlanmadıysa solüsyonu yenileyerek tekrar bekletiniz.	➤ Dekalsifikasyon tamamlanmamışsa uygulama tekrar edilir.
➤ Dekalsifikasyon gerçekleşinceye kadar 4. ve 5. basamakları tekrarlayınız.	➤ Dekalsifikasyonun gerçekleşmesi için gerekli özeni gösteriniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyunuz ve doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi dekalsifikasyon solüsyonunun seçiminde belirleyici değildir?
A) Sonucun hızlı istenip istenmediği
B) Örneğin alındığı hayvanın cinsiyeti
C) Örneğin alındığı hayvanın yaşı
D) Örneğin alındığı hayvanın türü
2. Bir kimyasal çözeltinin içine konan parçalara daha kolay işlemlerini sağlamak için, daha çok tespit, dekalsifikasyon gibi işlemleri hızlandırmak amacıyla kullanılan araçlara ne ad verilir?
A) Kesit ısıtıcı
B) Manyetik ve mekanik karıştırıcılar
C) Kriyostal
D) Mikrotom
3. Aşağıdakilerden hangisi güçlü inorganik asittir?
A) Formik asit
B) Asetik asit
C) Hidroklorik asit
D) Pikrik asit
4. Aşağıdakilerden hangisi zayıf organik asit değildir?
A) Formik asit
B) Asetik asit
C) Pikrik asit
D) Nitrik asit

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyunuz ve doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Doku işlenmesi sürecinin ilk ve önemli aşaması nedir?
A) Parafin emdirme
B) Dehidrasyon
C) Tespit
D) Saydamlaştırma
2. Aşağıdakilerden hangisi deneysel çalışmalarda en sık kullanılan tespit solüsyonudur?
A) Perfüzyonla formalin tespiti
B) Isı ile tespit
C) Kurutma ile tespit
D) İmmersiyonlu formalin tespiti
3. Hemoglobin hangi kan hücresinin stoplazmasında bulunur?
A) Akyuvar
B) Alyuvar
C) Trombosit
D) Lenfosit
4. Akyuvarların kanda artmasına ne ad verilir?
A) Lökositoz
B) Lökopeni
C) Fagasitoz
D) Polisitemi
5. Aşağıdakilerden hangisi akyuvarların görevidir?
A) Kanın pıhtılaşması
B) Oksijen taşınması
C) Vücudun savunma sistemi
D) Diyapedez
6. Kemik hücresi olma yönünde koşullanmış mezenşim hücrelerine ne ad verilir?
A) Osteoblastlar
B) Osteositler
C) Osteoprogenitör hücreler
D) Osteojenik hücreler
7. Aşağıdakilerden hangisi kemik yıkımından sorumlu hücrelere verilen addır?
A) Osteoblastlar
B) Osteoklastlar
C) Osteoprogenitör hücreler
D) Osteositler

8. Kıkırdak hücrelerinin kıkırdak dokuda yerleşmiş oldukları yarı sert matriks ile örtülü boşluklara ne ad verilir?
A) Lakun
B) Fossa kondralis
C) Kondroid
D) Kondroblast
9. Aşağıdakilerden hangisi, kıkırdak matriksinde bulunmaz?
A) II. Tip kollogen iplikler
B) Kondroitin sülfat
C) Hiyaluronik asit
D) Kan damarları
10. Aşağıdakilerden hangisi, doku örneklerinin tespit solüsyonu içinde bulunma süresini doğrudan etkilemez?
A) Örneğin büyüklüğü
B) Ortamın ısısı
C) Tespit solüsyonunun miktarı
D) Örneğin histolojik yapısı

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ-1'İN CEVAP ANAHTARI

1	D
2	A
3	C
4	D
5	A

ÖĞRENME FAALİYETİ-2'NİN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	B
3	C
4	D

MODÜL DEĞERLENDİRMENİN CEVAP ANAHTARI

1	C
2	A
3	B
4	A
5	C
6	C
7	B
8	A
9	D
10	C

KAYNAKÇA

- SÖNMEZ Gürsel, Rıfki HAZIROĞLU, Sevil VURAL, Günay ALÇIĞIR, Taci CANGÜL, Müfit KAHRAMAN, Özgür ÖZYİĞİT, Osman KUTSAL, **Temel Veteriner Patoloji**, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No: 2311, Açık Öğretim Fakültesi Yayını No: 1308 Eskişehir, Ağustos 2011.
- ÖZFİLİZ Nesrin, Hatice ERDOST, Levent ERGÜN, Asuman ÖZEN, **Temel Veteriner ve Embriyoloji**, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No: 2322, Açık Öğretim Fakültesi Yayını No: 1319 Eskişehir, Eylül 2011.
- AÇIKALIN Ergin, Cengiz BAYÇU, Firdevs GÜRER, Erinç ARAL, **Histoloji**, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:894, Eskişehir, 1995.
- AKAY M. Turan, **Genel Histoloji**, Yücel Ofset, Ankara, 1997.
- AKAY M. Turan, **Genel Histoloji Atlası**, Palme Yayıncılık, Ankara, 2004.
- ANDERSON W.A.D., Thomas M. SCOTTİ, **Kısa Patoloji**, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1986.
- ARSLAN Nuğran, **Histoloji ve Histopatoloji**, Çare Tek Bilim Eğitim Limited Şirketi, Ankara, 2001.
- CANDA Şerafettin, Tülay CANDA, **Temel Patoloji**, Dilek Basımevi, Sivas, 1988.
- DEMİR Ramazan, Selma YILMAZER, Melek ÖZTÜRK, İsmail ÜSTÜNEL, Necdet DEMİR, Emin TÜRKAY KORGUN, Gökhan AKKOYUNLU, **Histolojik Boyama Teknikleri**, Palme Yayıncılık, Ankara, 2001.
- KUMAR Vinay, Ramzi COTRAN, S. ROBBİNS, L STANLEY, **Temel Patoloji**, Nobel Yüce, İstanbul, 1994.
- TEL Nilüfer, Ülkü ÖNER, Özgül PAŞAOĞLU, **Patoloji**, T. C. Anadolu Üniversitesi Yayınları NO:495, Eskişehir, 1993.
- YENERMAN Münevver, **Genel Patoloji**, Cilt I, II, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Vakfı, 1994.