

*A.Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Kürsüsü*  
*Prof. Dr. Zihni Erençin*

## **ŞAPLI HEMATOKSİLENLERDEN DEMİRLİ HEMATOKSİLEN BOYAMALARINDA YARARLANMA METODU**

**Mahmut Sağlam\***

Sitoplazma ve bağdoku boyalarının çoğunluğu (P.A.S., Van Gieson, Mallory, Goldner vs.) asit karakterdedir. Bu tür boyalar kullanıldığında, hücrelerin çekirdeklerini şaplı hematoksilenlerle canlı bir şekilde demonstre etmek mümkün değildir. Çünkü bu boyalarda bulunan asitler, çekirdeklere bağlanan hematoksilenin kısmen erimesine ve böylelikle boya intensitesinin azalmasına sebep olurlar. Bu sakıncadan ötürü, adı geçen boya metodlarında, asitlere daha dayanıklı olan demirli hematoksilenlerden yararlanır.

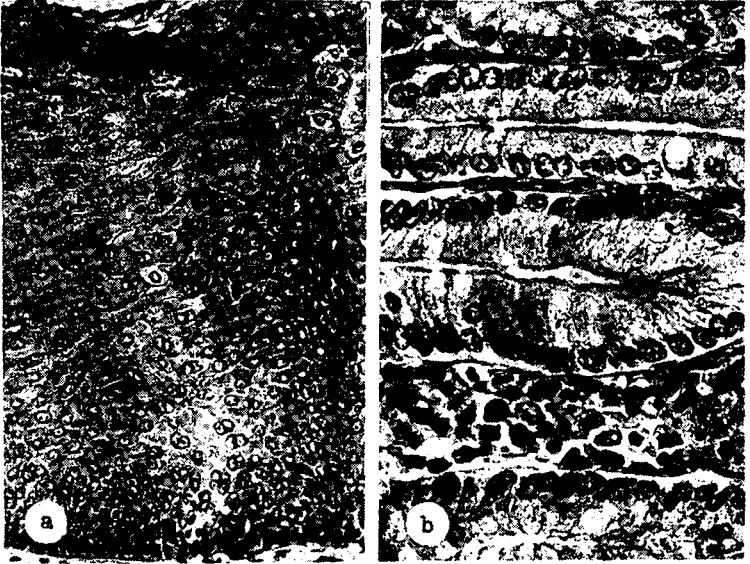
Demirli hematoksilenler arasında en yaygın olarak kullanılanı ve en güzel boyayanı, Weigert'in demirli hematoksilenidir. Ancak bu hematoksileni kullanmanın -diğer demirli hematoksilenlerde de olduğu gibi- bazı sakıncaları vardır, şöyle ki: Weigert hematoksilen dayanıklı değildir. Özellikle sıcak mevsimlerde kullanılabilme süresi 15-20 günü geçmemektedir. Ayrıca, boyama süresi, boyanın tazelik derecesine göre değişmektedir. Yeni hazırlanmış hematoksilenle 4 dakikada normal sonuç alınabildiği halde, boya eskidikçe bu süreyi 20 dakikaya kadar uzatmak gerekmektedir. Böyle olunca da Weigert hematoksilen, ancak tecrübeli ellerde standart bir sonuç verebilmektedir.

HÄGGQVİST (1933) ve KRUTSAY (1962) gibi araştırmacılar da demirli hematoksilen metodları geliştirmişlerdir. Bunlardan Haggqvist demirli hematoksileni, ROMEİS (1968)'in belirttiğine göre (s. 169), taze iken çekirdekleri maviye, eskidikçe de kahverengi-ne boyar. Şaplı bir hematoksilene, kullanılacağı zaman demir şapı katılmasıyla elde edilen Krutsay hematoksileni ise dayanıklı değildir.

\* A.Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Kürsüsü Doçenti, Ankara, Türkiye

Geliştirdiğimiz demirli hematoksilin metodu ise, şu kolaylıkları sağlamaktadır:

1. Boyamada, klâsik bir şaplı hematoksilin olan Harris hematoksilenden yararlanılmaktadır;
2. Boyama süresi kısadır (5 dakika);
3. Hematoksilin bozulmadan 4-6 ay dayanmakta; bu müddet boyunca boyama süresi aynı kalmaktadır (5 dakika);
4. Krômatin ve çekirdek zarı koyu mavi-siyah renk almakta, kesin sınırlarla belirlemekte (Şekil 1 a ve b) ve sitoplazma boyalarından etkilenmemektedir;



Şekil 1

Kutan bir mukozanın Lamina epithelialis'inden (a) ve ince barsakların Propria'sından (b) alınmış kesitler. Çekirdekler tarif edilen metoda göre boyanmışlardır.

a = 150 X, b = 300 X.

Fig 1

Micrographs of the epithelial sheat of a cutaneous mucous membrane (a) and of the lamina propria of small intestine (b). The nuclei were stained according to the method described.

a = 150 X, b = 300 X.

5. Hazırlanan hematoksilin, hem şaplı, hem de demirli hematoksilin olarak kullanılabilir;

6. Kullanılan sitoplazma boyaları, Weigert metoduna kıyasla daha geç solmaktadır.

Boyama prosedürü şu kademeleri kapsamaktadır:

1. Xylol'lerden ve dereceli alkollerden geçirilen kesitler distile suda 5 dakika yıkanır;
2. 1 % lik sulu demir klorür ( $FeCl_3$ ) ya da sulandırılmış Liquor sesci ferri chlorati'de (Liquor sesci f.c. 1 kısım, distile su 33 kısım) 5 dakika mordanlanır (hazırlanan eriyiklere 1 % oranında HCl katılmış olmalıdır. Asitlendirilen eriyikler defalarca kullanılabilir);
3. İki ayrı kaptaki distile suda iyice çalkalanır (akarsu kullanılmamalıdır);
4. Harris hematoksilende 5 dakika boyanır;
5. Çeşme suyunda çalkalanır ve asitli suda (HCl 0,25 ml + distile su 100 ml) dekolore edilir (boyama sonucu bağdokulu kısımlar viole renk alır; dekolorasyona, bu renk hemen hemen kayboluncaya kadar devam edilir);
6. Çeşme suyunda çalkalanır ve akarsu altında 10 dakika yıkanır.

Bu aşamada çekirdekler koyu mavi-siyah bir renk alırlar.

Bundan sonraki prosedür, kullanılacak sitoplazma boyasının türüne göre değişir. Örneğin CROSSMON'un (1937) triple boyası (Romcis, s. 371) yapılacaksa (bu boya, kasdoku, epiteldoku ve bağdokuyu ayrı ayrı renklerde boyar) aşağıdaki prosedür izlenir:

- a) Distile suda 5 dakika yıkanan kesitler, Acide fuchsin + Orange G solüsyonunda 5-10 saniye boyanır;
- b) Distile suda çalkalanır ve 3 % lük fosfotungstik asitte bağdoku dekolere edilir;
- c) Distile suda çalkalanır ve ikinci bir distile suda 1-2 dakika tutulur;
- d) Anilin mavisinde 30-60 saniye boyanır ve distile suda çalkalanır;
- e) 96 derecelik alkolden, absolü alkollerden ve xylol'lerden geçirilerek kapatılır.

Sonuç: Çekirdekler siyah; epiteller pembe; çizgili kaslar kırmızı; düzkaslar pembe; bağdoku mavi; alyuvarlar oranj.

Metod ayrıca dokuların diğer bütün trikrom boya ile (Mal-lory, Goldner vs.) boyanmalarında, Van Gieson, P.A.S., H.-E. ve diğer boya metodlarında, Weigert ayarında iyi sonuçlar vermektedir.

Önerdiğimiz hematoksilen metodunda, Harris hematoksilen yerine, diğer şaplı hematoksilenler de (Ehrlich, Delafield hematoksilenleri vs.) kullanılabilirler. Ancak bu hematoksilenlerin olgunlaşma ve boyama süreleri, Harris hematoksilenden çok daha uzundur.

### Ö z e t

Bu çalışmada, asit karakterde plazma ve bağdoku boyaları ile kombine olarak, demirli hematoksilenler yerine şaplı bir hematoksilen kullanmak denendi. Bilindiği gibi, hücre çekirdeklerinin keskin bir tablosunu elde edebilmek için, asit karakterde plazma ve bağdoku boyalarından önce demirli bir hematoksilen kullanmak gereklidir. Şaplı hematoksilenler kullanıldığında, müteakip boyalardaki asitler çekirdek boyasını zayıflatırlar.

Hernekadar Weigert'in demirli hematoksileni, demirli hematoksilenler arasında en iyisi ise de, onun da, boyama süresinin, olgunluk derecesine bağlı olarak değişmesi ve kısa zamanda bozulması gibi sakıncaları vardır.

Kesitleri asitli demir klörür ile mordanladıktan sonra, demirli hematoksilenler yerine Harris hematoksileni başarı ile kullanıldı. Harris hematoksileni kullanmanın, demirli hematoksilen kullanmaya kıyasla iki üstünlüğü görüldü: a) Boyama süresinin değişmeyişi (5 dakika), b) hematoksilenin boyama aktivitesinin 4 aydan fazla devam etmesi.

### S u m m a r y

#### **The Use of an Alum Hematoxylin as an Iron Hematoxylin**

In this study the use of an alum hematoxylin instead of iron hematoxylin in combination with the acidic plasma and connective tissue stains was tried. As well known, it is necessary to use an iron hematoxylin before acidic plasma and connective tissue stains in order to get a sharp picture of cell nuclei. In the case of alum hematoxylin the acids in the following stains cause to reduce the intensity of the nuclear stain.

In spite of the fact that the Weigert's hematoxylin is the best one among the iron hematoxylin, it -like the others- has the particular disadvantages of the variation of staining time depending on the degree of it's ripeness and of it's deterioration occurring in a short time.

After mordanting the sections with acidified iron chloride the Harris's hematoxylin has successfully been used in place of iron hematoxylin to achieve a sharp nuclear staining. The use of Harris's hematoxylin has two advantages over the iron hematoxylin methods. The staining time is limited to five minutes and the staining activity of the hematoxylin concerned lasts more than four months.

### Literatür

- 1 - **Crossmon, G.** (1937): *A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved.* Anat. Rec. 69: 33-38.
- 2 - **Håggqvist, G.** (1933): *Eisenchlorid hematoxylin.* Z.w.M. 50: 77-82.
- 3 - **Krutsay, M.** (1962): *The preparation of iron hematoxylin from alum hematoxylin.* Stain Technol., 37: 249.
- 4 - **Romeis, B.** (1968): *Mikroskopische Technik.* R. Oldenburg Verlag, München-Wien.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 18.11.1969 günü gelmiştir.