

**Patoloji laboratuvarını
kurduk: (Daha) İyi bir kesit
ve yayma için ne yapmalıyız?**

epd

8-9 Mayıs 2010, İZMİR

Ege Patoloji Derneği

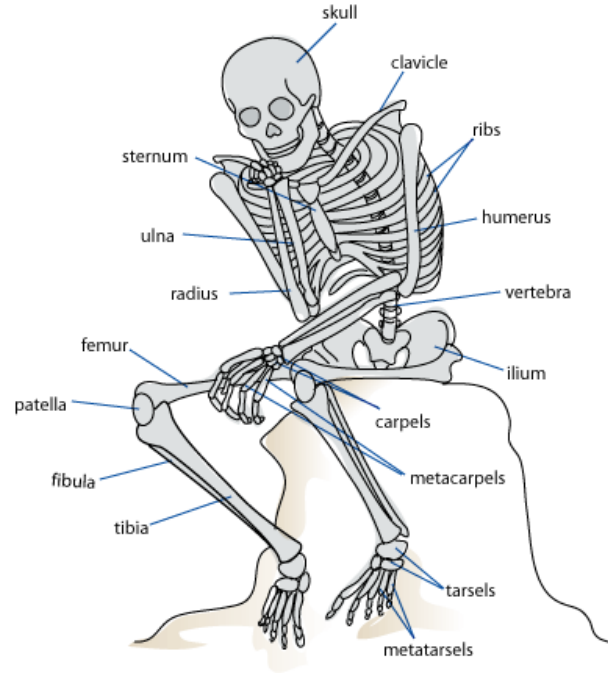
**Bu sunumda yer alan resimler yazarın izni
olmadan kullanılamaz.**

DEKALSİFİKASYON

Dr. Başak Doğanavşargil
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji A.D

KEMİK PATOLOJİSİ

Doğru histolojik değerlendirme=İyi doku takibi, kesit, boya



- Makroskopik alım teknikleri
- Doku takibinin farklılığı
- Sürekli yapım-yıkımın izlendiği dinamik bir doku olmasından kaynaklanan histolojik değerlendirme zorlukları

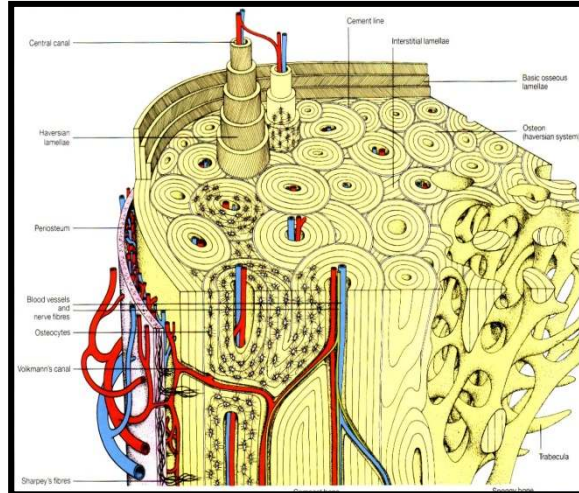
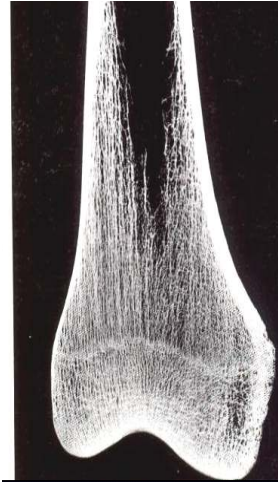
KEMİĞİN YAPISI

206 kemik.

Tübüler, yassı, kuboid

Kortikal-medüller kemik

(Kompakt-süngersi kemik)



Organik bileşen (%35)

Hücreler

Matriks proteinleri

İnorganik bileşen (%65)

Kalsiyum hidroksiapatit

Vücut Kalsiyumunun %99'u



KEMİK MAKROSKOPİSİ

Kemik içeren materyal tipleri

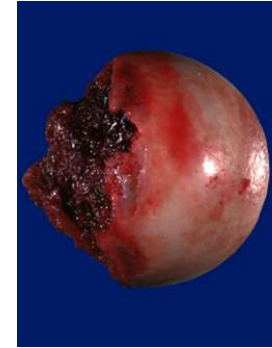
1-Kapalı biyopsiler; Kemik ve kemik iliği iğne biyopsileri (Tru-cut, Jam-Shidi)



2-Açık biyopsiler; (Kama biyopsiler ve kemik küretaj materyalleri)



3-Rezeksiyon materyalleri



4-Amputasyon materyalleri

Bir eklem bölgesini de içeren rezeksiyonlar



İçerdikleri dokuya göre materyal tipleri

Kompakt kemik dokuları

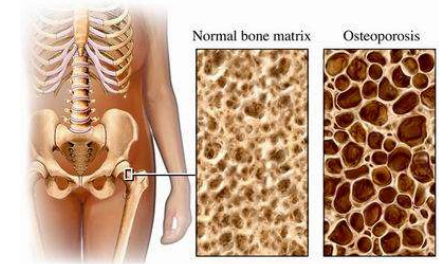
Kalın kortikal doku, mandibula, kafatası gibi az medülla içeren kemikler...

hiperostoz, osteom, sklerotik kemik lezyonlarına ait materyaller...



Süngerli kemik dokuları

Medullaya ait örnekler, küretaj materyalleri, kistik lezyonlara, osteoporotik kemiklere ait örnekler...

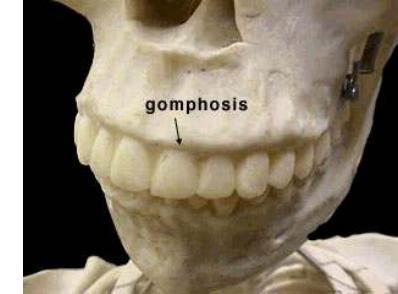


İçerdikleri dokuya göre materyal tipleri

Karma kemik-yumuşak doku içerenler
Kemik çevresi dokuyu, eklemi içeren tüm küretaj ve kapalı biyopsi materyalleri, rezeksiyonlar ve amputasyonlar...



Diş dokusu



Kalsifiye alan içeren kemik dışı materyaller
Kalsifiye tiroid nodülleri, myomlar, distrofik kalsifikasyon ya da heterotopik ossifikasyon içeren dokular



Kemik makroskopisine ilişkin notlar

İşlem sırası

Dokuyu koruma (kimyasal fiksasyon ya da dondurma),
Örnekleme (kesme)
Doku takibine-kesit almaya hazır hale getirme



Kesme!

Fiksasyon (%10 tamponlu formalin)

Kesme (örnekleme)

Dekalsifikasyon

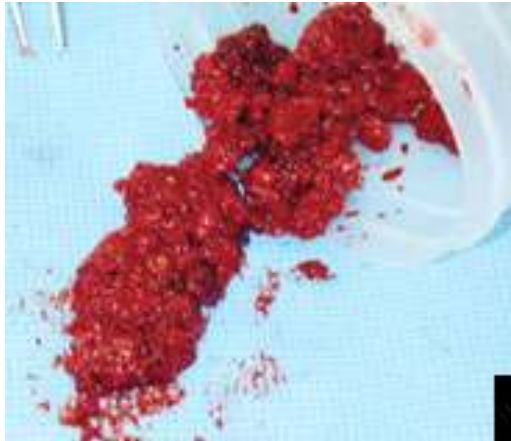
**TESPİT EDİLMEMİŞ VE KESİLMEMİŞ MATERYAL HİÇBİR ŞEKİLDE
DEKALSİFİKASYON SIVILARINA KONULMAMALIDIR!!!**

Kemik makroskopisine ilişkin notlar

Dokuları gruplandırma



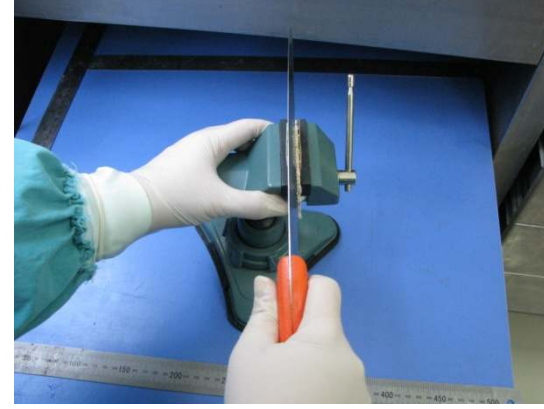
Kemik dokular: Renkli kaset



Kemik makroskopisine ilişkin notlar

Kesit kalınlığı

5 mm'nin altında olmalı.
Mümkün değilse dekalsifikasyon sonrası inceltilir.



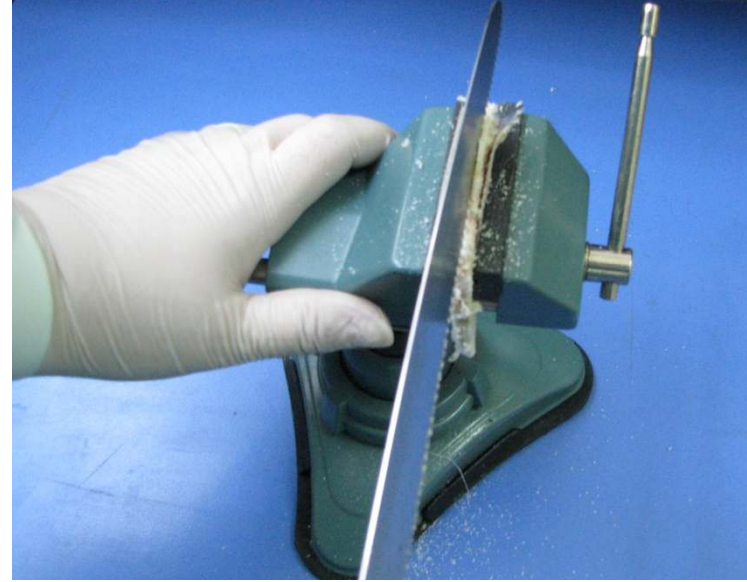
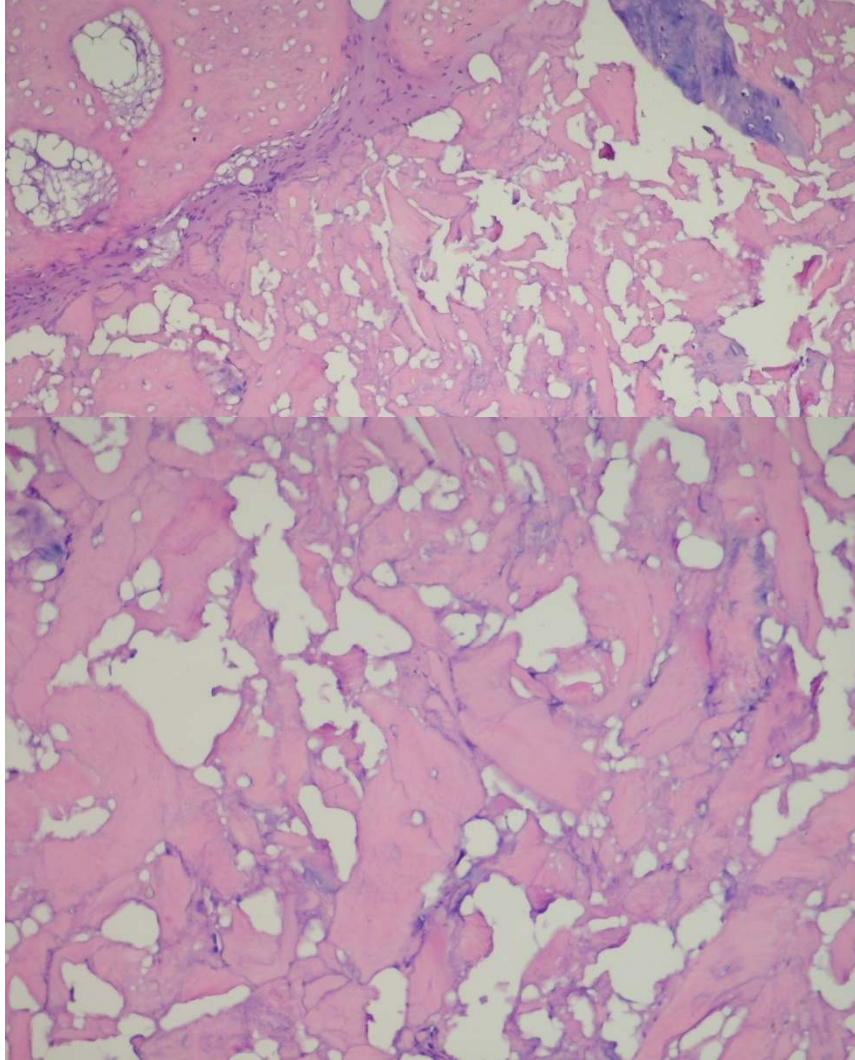
Boyut

Kasete sığacak boyutta alınmalı
Kemik, fiksasyondan sonra diğer dokular gibi büzülmez.
Kaset kenarlarında en az 1-2 mm boşluk kalmalı.



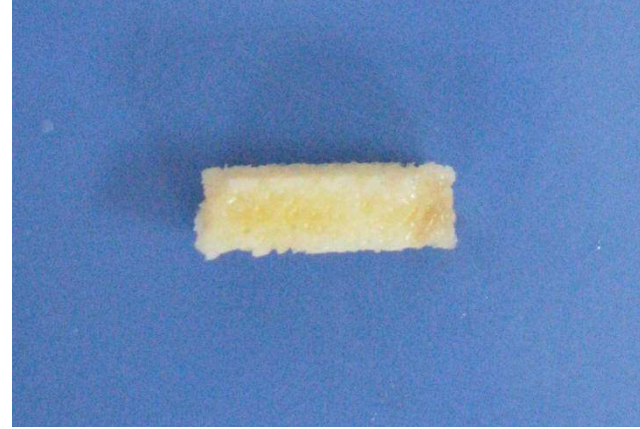
Kemik makroskopisine ilişkin notlar

Kemik talaşı



Kemik makroskopisine ilişkin notlar

Kemik talaşı



Kemik makroskopisine ilişkin notlar

Kemik çimentosu



Polimetil metakrilat (PMMA),
Asitte erimez. Ksilolde erir.



Patoloji pratiğinde yapılan hatalar içerisinde belki de en geri dönülmez olanı makroskopik değerlendirme ve fiksasyon hatalarıdır.

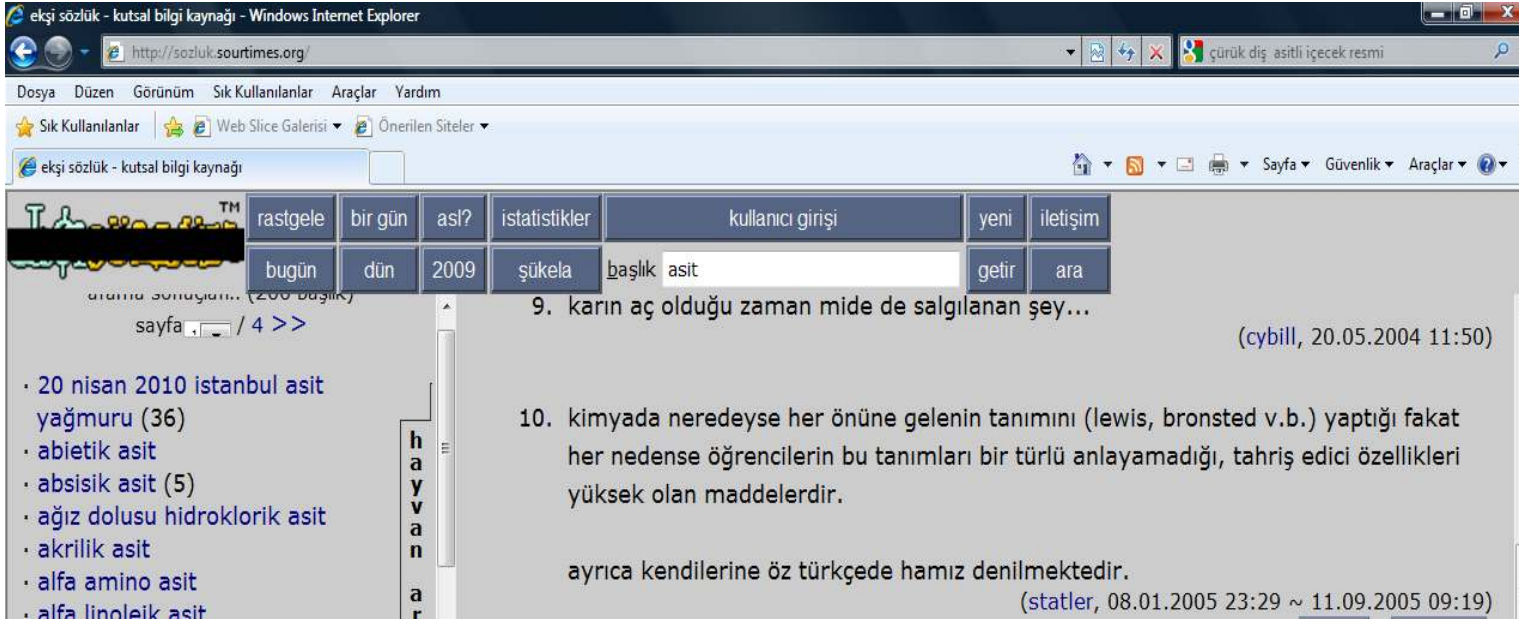
**TESPİT EDİLMEMİŞ VE KESİLMEMİŞ MATERYAL
HIÇBİR ŞEKİLDE DEKALSİFİKASYON SIVILARINA KONULMAMALIDIR!!!**

DEKALSİFİKASYON

Dekalsifikasyon sıvıları

1-Şelasyon yapıcılar: Kemikten kalsiyum iyonlarını çeker.
En sık ajan EDTA. Güvenli ancak yavaş.

2-Asitler: Kalsiyum iyon çözeltisi oluştururlar.



The screenshot shows a Windows Internet Explorer browser window with the address bar displaying 'http://sozluk.sourtimes.org/'. The page title is 'ekşi sözlük - kutsal bilgi kaynağı'. The search bar contains the word 'asit'. The search results are displayed in a list format. The first result is '20 nisan 2010 istanbul asit yağmuru (36)'. The second result is 'abietik asit'. The third result is 'absisik asit (5)'. The fourth result is 'ağız dolusu hidroklorik asit'. The fifth result is 'akrilik asit'. The sixth result is 'alfa amino asit'. The seventh result is 'alfa linoleik asit'. The search results are displayed on page 4 of 4. The detailed entry for 'asit' is shown below the search results. The entry is titled '9. karın aç olduğu zaman mide de salgılanan şey...' and is dated '20.05.2004 11:50' by user 'cybill'. The entry text reads: '10. kimyada neredeyse her önüne gelenin tanımını (lewis, bronsted v.b.) yaptığı fakat her nedense öğrencilerin bu tanımları bir türlü anlayamadığı, tahriş edici özellikleri yüksek olan maddelerdir. ayrıca kendilerine öz türkçede hamız denilmektedir.' The entry is dated '08.01.2005 23:29 ~ 11.09.2005 09:19' by user 'statler'.

DEKALSİFİKASYON

Asitler

Çözelti içerisinde tamamen ya da kısmen çözümlerine (hidrojen salmalarına) göre;

- Zayıf asitler
- Kuvvetli asitler

Kuvvetli ise, dekalsifikasyon hızı artar ancak doku bileşenlerinin ve boyanmanın bozulma riski de artar.

Zayıf asitler: Formik asit, pikrik asit, asetik asit, glasiyal asetik asit vb
Kuvvetli asitler: Nitrik asit ve hidroklorik asit vb.

Bileşik çözeltiler; Glasiyal asetik asit-formalin, formik asit-formalin, hidroklorik asit-formalin ve nitrik asit formalin, Morse sıvısı, Gooding ve Stewart sıvısı, Von Ebner sıvısı...

DEKALSİFİKASYON

Dekalsifikasyon sıvısının seçimi

İncelenecek materyale, boyaya, ne kadar hızlı sonuç alınmak istendiğine göre yapılmalıdır.

www.decal-home.com	COMPONENTS	CLASS
M.A.R.N. INC. LLC 100 NORTH 10TH STREET PHILADELPHIA, PENNSYLVANIA 19107 PHONE: 800.878.8844 WWW.DECAL-HOME.COM	Chemical Name Formic Acid EPA EPA	7700-38-5 79-07-1 44-82-8

Overlight Bone Decalcifier
Decal

www.decal-home.com	COMPONENTS	CLASS
M.A.R.N. INC. LLC 100 NORTH 10TH STREET PHILADELPHIA, PENNSYLVANIA 19107 PHONE: 800.878.8844 WWW.DECAL-HOME.COM	Chemical Name Formic Acid Formic Acid EDTA	7700-38-5 64-10-0 64-10-0 64-02-8

Formic Acid Decalcifier
Formical-4

www.decal-home.com	COMPONENTS	CLASS
M.A.R.N. INC. LLC 100 NORTH 10TH STREET PHILADELPHIA, PENNSYLVANIA 19107 PHONE: 800.878.8844 WWW.DECAL-HOME.COM	Chemical Name Nitric Acid	7700-38-5 7697-87-2

5% Nitric Acid Bone Decalcifier
Nitrical



Bu konuda önerilebilecek tek bir formül yoktur.

Her laboratuvarın, farklı amaçlar için kesit ve boya sonuçları ile kontrol ederek kendi deneyimini oluşturması esastır

DEKALSİFİKASYON

Dekalsifikasyon sıvısının seçimi

Genel amaçlı dekalsifikasyon

%20'lik formik asit-formalin çözeltisi

Kemik iliği biyopsisi, Nükleer detay, İHK gerektiren trucut...

Zayıf asitler; Glasiyal asetik, %10'luk formik asit

Narin dokular, deneysel çalışmalar

%10 EDTA

Kortikal kemik, sklerotik kemik, osteom, diş...

%7'lik nitrik asit veya HCL

(Çok sık kontrol edilmek koşulu ile!)

%8'lik stok Formik asit solüsyonu,

Hidroklorik asit-formik asit çalışma solüsyonu,

Morse Çözeltisi (%10'luk Sodyum sitrat, % 20'lik Formik Asit): İHK, İSH

DEKALSİFİKASYON

Dekalsifikasyon sıvısının hazırlanması



Bileşimin içerikleri, içinde çözüldükleri madde ve pH'sına ...dikkat edilmelidir.

EDTA'da bile pH'nın 7,5'u geçmesi doku boyanmasını olumsuz etkiler.

DEKALSİFİKASYON

Kuvvetli asitler



Çok hızlı sonuç verir.

Takip eden boyanma süreçlerini, örneğin osteoid boyanmasını olumsuz etkiler.

Dekalsifikasyon sırasında dokuda büyük kabarcıklar oluşur, dokuyu bozar.

Doku takibinde dehidratasyon öncesi sodyum sülfatla 12 saat nötralize edilirse olumsuz etkilerin kısmen önüne geçilebilir.

DEKALSİFİKASYON

Dekalsifikasyon süresinin belirlenmesi



Dokunun farklı bileşenlerine dikkat!

Fazla dekalsifiye edilmiş dokularda belirgin boyanma artefaktları görülür.

Az dekalsifiye edilmiş dokularda yeniden dekalsifikasyon, "bloкта dekalsifikasyon" denenebilir.

Zayıf asitte çok uzun süre tutmak,
Kuvvetli asitte süreyi uzatmak, az dekalsifiye etmekten daha kötü
ve geri dönüşsüz sonuçlara yol açar!!!

DEKALSİFİKASYON

Dekalsifikasyon sürecinin bitiminin kontrolü

Radyoloji

Ağırlık ölçümü

Kimyasal yöntemler

Pratikte en sık; dokuyu elle kontrol etmek, iğne batırmak
Sıvıda kabarcıkların (CO_2) olmaması



DEKALSİFİKASYON

Dekalsifikasyon sürecinin hızlandırılması

Çalkalamak, asiti sık değiştirmek

Hafif ısı artışı (37°C ' lik bir çözelti içinde bile masere olabilir!!!)

Mikrodalga, vakum, elektroliz, ultrason uygulaması

Özel olarak tasarlanmış dekalsifikasyon cihazları



Çalkalamak, asiti sık değiştirmek (debrileri uzaklaştırır, difüzyonu artırır)

DEKALSİFİKASYON

Dekalsifikasyon sonrası yıkama

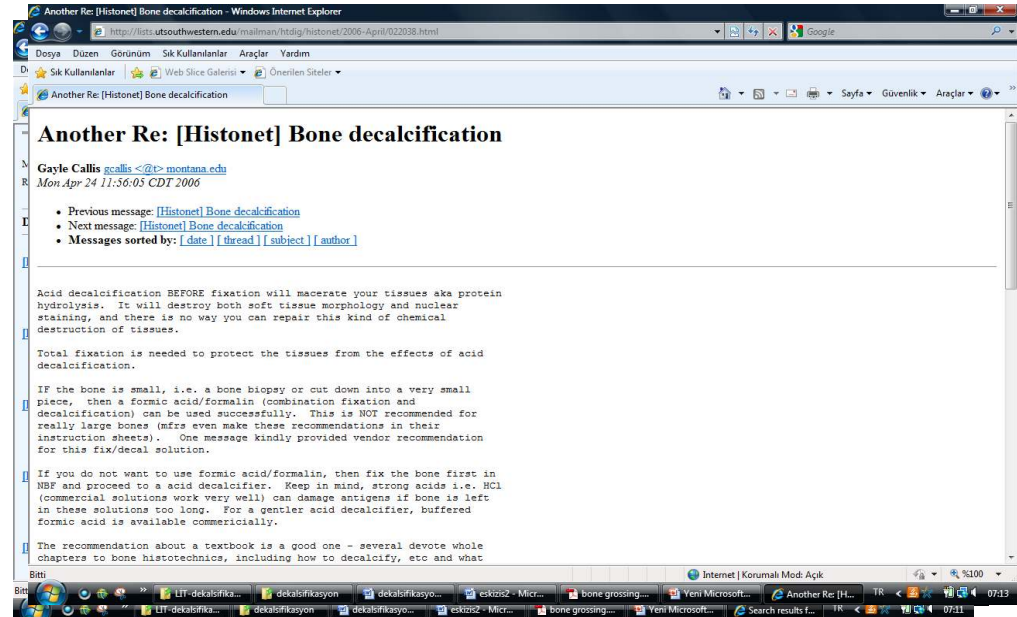
Yıkamak ya da yıkamamak☺

Talaşlardan kurtarır.

Doku takip cihazına asit sızmasını engeller.



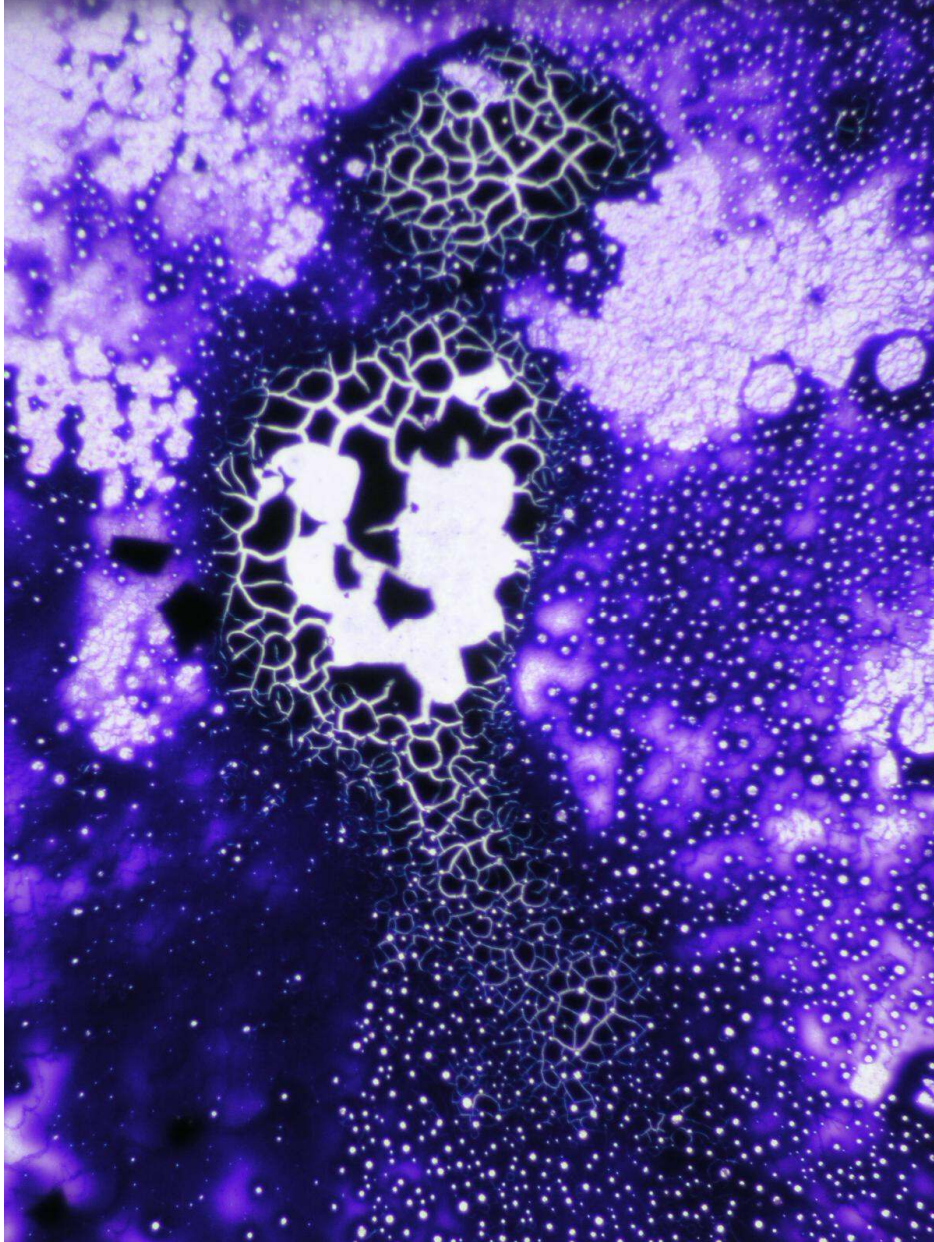
Tartışmalı konular



Patolojinin oldukça zorlu bir alanı olan kemik patolojisinde doğru tanı için iyi bir kesit ve boya, iyi bir kesit ve boya için de dengeli bir dekalsifikasyon süreci gereklidir.

Dekalsifikasyon her yönüyle kolay formüle edilemeyen bir süreçtir.

Her laboratuvarın kendi kesit ve boyalarını kontrol ederek uygun dekalsifikasyon sıvısını ve tekniğini bulması en doğrusudur.



Teşekkürler...