

HEMATOKSİLEN VE EOZİN: HİSTOPATOLOGLARIN ESKİMEYEN DOSTLARI

Hematoxylin and Eosin: Ageless Friends of Histopathologists

Emel Nacar¹, Ahmet Nacar²

¹Turgut Özal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Meslek Yüksek Okulu, ANKARA

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Hematoxylin-Eozin (HE) kombinasyonu rutin histopatolojik analizlerde en sık kullanılan boya kombinasyonlarından biridir. HE boyası hücre ve dokular hakkında pek çok temel bilgiye ulaşmamızı sağlar. Günümüzün son derece hızlı gelişen biyomedikal araştırma yöntemlerine karşın, HE boyama tekniği sadeliği, diğer pek çok teknikle karşılaştırıldığında düşük maliyetli oluşu, ileri teknik altyapı gerektirmeyişi ve kolay uygulanabilirliği ve kanser tanısındaki yeri ile yüzyılı aşkın bir süredir histopatologların en vazgeçilmez yardımcısıdır. Bu nedenle bu yazının amacı, HE boyasının günümüz histopatoloji laboratuvarındaki yerini vurgulayarak sürekli "yeni" olana yönlendirilen genç araştırmacılar için metodoloji seçiminde önemli bir hatırlatma yapmaktır.

Anahtar kelimeler: Hematoxylin eozin, histopatoloji laboratuvarı, kanser tanısı.

ABSTRACT

Hematoxylin and Eosin (HE) is the most frequently used dye combination in histopathological analysis. Despite rapidly developing biomedical research methods, HE staining is the most loyal helper of histopathologists since it is low priced, easy-to-apply, simple and has a very important role in cancer diagnosis. Therefore, the aim of the present article is to emphasize the place of HE in modern histopathology laboratory to warn young researchers that are always directed to the "new" in methodology choice.

Key words: Hematoxylin eosin, histopathology laboratory, cancer diagnosis.

Gönderme tarihi / Received: 31.03.2016 **Kabul tarihi / Accepted:** 04.06.2016

İletişim: Pof. Dr. Ahmet NACAR Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 06500, Altındağ/ANKARA

Tel: 0545 447 06 44 **E-posta:** anacar@hacettepe.edu.tr

GİRİŞ

Modern bilim baş döndürücü bir hızla ilerlerken, biyomedikal araştırmalar bu ilerlemenin en çarpıcı şekilde yaşandığı alanlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Araştırmanın konusu her ne olursa olsun, bulguların mikroskop altında görülebilir bir hale getirilmesi, çalışmaların en önemli unsurlarından birini oluşturmaktadır. Tarihsel gelişime baktığımızda mikroskopun bulunuşu bilimsel ilerleme için bir dönüm noktası olmuştur. Mikroskopun bilimsel araştırma enstrümanlarından biri olmasıyla birlikte, biyolojik materyallerin mikroskop altında görülebilir hale getirilebilmesi için bir dizi teknik geliştirilmiştir. Adına histolojik teknikler denilen ve biyolojik materyalin bozulmadan korunması, boyanması ve görüntülenmesini kapsayan bu işlemler yıllar içinde çok önemli gelişmeler kat etmiştir. Hücre ve doku ile ilgili bilgilerimiz arttıkça yeni doku takip ve görüntüleme teknikleri, boyaları ve mikroskoplar devreye girmiştir. 2014 yılı Nobel Kimya Ödülü'nün nanoskop denilen yeni bir görüntüleme yöntemine verilmesi, modern bilim toplumunun görmeye ne denli önem verdiğini açıkça göstermektedir.

Her ne kadar bilim baş döndürücü bir hızla ilerlese ve teknik gelişmeler son derece karmaşık yöntem ve enstrümanlar üretse de, yüz yıldan fazla geçmişi olan bir boya, bu yeni teknolojilere halen meydan okuyabilmektedir. Bu boya histopatologların vazgeçilmezi Hematoksilen-Eozin'dir (HE). Bu geleneksel boya kombinasyonunun yıllara nasıl meydan okudukları ve neden histopatologların vazgeçilmezleri olduklarına geçmeden önce onları biraz daha yakından tanıyalım.

Hematoxylin, Yunanca kan anlamına gelen Haimato ve ağaç anlamına gelen Xylon sözcüklerinden türetilmiştir. Hematoxylin, Güney Amerika bölgesinde yetişen Bakkam ağacının (Haematoxyton campechianum) kaynatılması ve kristalleştirilmesi ile elde edilir. Yerlilerin kullandığı bu doğal boyayı 1500'lü yıllarda İspanyol gezginler Avrupa'ya getirmişler ve Hematoksilen tekstil sanayinin en önemli maddesi haline gelmiştir (1).

Aktif boya okside formu olan hematein'dir ve bir mordant(boyanın boyayabilirliğini arttıran kimyasal madde) ile birleştirildiğinde dokuyu koyu maviden siyaha kadar bir renge boyar. 1865 yılında ise Bohmer mordant kullanarak dokuları hematoksilen ile başarıyla boyamıştır.

Eosin ise katrandan elde edilen sentetik turuncu-pembe renkli bir boyadır. Eosin sözcüğü Yunanca şafak ve şafak tanrısından gelmektedir. İlk olarak 1871'de sentez edilen Eosin 1876'da Dreschfeld ve Fischer tarafından ilk defa doku boyası olarak kullanılmış ve tanımlanmıştır. Hematoksilen ve eozini birlikte kullanan ilk kişi ise aynı tarihte Wissowzk yol muştur (2, 3).

HE kombinasyonu rutin histopatolojik analizlerde en sık kullanılan boya kombinasyonlarından biridir. Hematoksilen koyu mavi-mor renklidir ve nükleik asitleri halen tam olarak anlayamamış bir reaksiyonla boyar. Eozin pembedir ve non-spesifik bir şekilde proteinleri boyar. Tipik bir dokuda çekirdekler mavi-siyah renkte, sitoplazma ve hücre dışı madde pembenin farklı tonlarında boyanır. İyi fikse olmuş dokularda intranükleer detaylar belirgindir. Heterokromatinin farklı paternlerdeki yığılmaları ve yoğunlaşmaları hücrelere ve bazı kanser türlerine özgün görüntüler oluşturur. Çekirdekçik eozin ile

boyanır. Eğer bol miktarda poliribozom varsa, sitoplazmada belirgin bir mavi boyanma görülür. Golgi aygıtı, çekirdeğe yakın yerleşimli boya almamış bir alan olarak seçilir. Kısacası HE boyası hücre ve dokular hakkında pek çok temel bilgiye ulaşmamızı sağlar.

HE boyası histopatoloji laboratuvarlarında halen primer diyagnostik teknik olarak kabul edilmektedir. Pek çok malignensi tanısı HE boyamaya dayanmaktadır (4,5). Günümüzde çok sayıda bilimsel araştırmada ileri düzey tekniklerin yanında HE de yaygın olarak kullanılmaktadır (6-10). "Hematoxylin eosin" anahtar kelimelerini girerek Pubmed'de yapılan bir taramada, son 5 yıl içinde 6429 araştırmada HE boyası kullanıldığı görülmektedir. Son 10 yıl baz alındığında bu rakam 10041'e çıkmaktadır.

Günümüzün tüketim dünyası yeni olan her şeyi çok kısa sürede eskitip kullanılmaz hale getirirken, ilerlemenin en hızlı yaşandığı biyomedikal araştırmalarda nasıl olur da yüzyılı aşkın geçmişleri olan bu boyalar halen varlıklarını sürdürebilmektedirler? Bunun nedenleri arasında öncelikle bu boya kombinasyonunun yukarıda ifade edildiği gibi hücre ve dokular hakkında yeterli düzeyde genel bilgi sağlayabilmesi gelmektedir. Bununla bağlantılı olarak ikinci en önemli özelliği, bu etkinliği karşısında HE boyama tekniğinin sadeliği, diğer pek çok teknikle karşılaştırıldığında düşük maliyetli oluşu, ileri teknik altyapı gerektirmeyişi ve kolay uygulanabilirliğidir. Üçüncü olarak çok sayıda tespit maddesi ile uyumlu oluşu sayılabilir. Dördüncü olarak, Hematoksilen immünohistokimyasal ve hibridizasyon çalışmalarında da kullanılabilir. Beşinci olarak kanser tanısındaki yeri ve önemi

söylenbilir. Yani kanserli hücrenin en belirgin özelliklerinden biri olan çekirdek/sitoplazma oranındaki artış ve çekirdekte izlenen diğer bazı değişiklikler HE boyamada kolaylıkla göze çarpmaktadır. Aslında HE boyasının kanser tanısındaki bu önemli işlevi bile tek başına onu, yüzyılı aşkın yaşına rağmen, günümüzün en etkin histopatolojik boyama yöntemi yapmaktadır.

Bu yazının konusu olmamakla birlikte HE'nin yaşlılarından olan hatta bir kısmı itibarıyla HE'den yaşlı olan bazı konvansiyonel boyalar daha vardır. Prusya mavisini, PAS tekniği, Oilred O, Feulgen'in DNA boyası, kan yaymaları için halen altın standart olan May-Grünwald ve Gimza boyaları yüz yıllık ve üzeri geçmişleriyle modern histopatoloji pratiği içinde dimdik ayakta durmaktadırlar (11).

Daha yeni olanın her zaman daha iyi, etkin ve işlevsel olduğu algısının oluşturulmaya çalışıldığı günümüzde HE, sadeliği, düşük maliyeti, hazırlama ve kullanım kolaylığı ama bir o kadar da etkin oluşu ile farklı ve özgün bir yerde durmaktadır. Elbette yeni teknolojileri ve teknikleri reddetmiyoruz ancak vurgulamak istediğimiz şey günümüzün pahalı, karmaşık ve yeni olan araştırma metodlarına başvururken öte yandan daha düşük maliyetli ve etkin olabilecek eski ama eskimeyen yöntemlerden de yararlanıp yararlanamayacağımızı bir daha gözden geçirmeliyiz.

REFERANSLAR

1. Titford M. The long history of hematoxylin. *Biotech Histochem* 2005;80:73-8.
2. Titford M. A short history of histopathology technique. *J Histotechnol* 2006;29:99-110.
3. Titford M. Progress in the development of microscopical techniques for diagnostic pathology. *J Histotechnol* 2009;32:9-19.
4. Brown S. The science and application of Hematoxylin and Eosin staining. <http://mhpl.facilities.northwestern.edu/files/2013/10/6-5-2012.pdf>
5. Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, Zeller R. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH Protoc.* 2008 May 1;2008:pdb.prot4986.
6. Meydan S, Nacar A, Ozturk OH, Tas U, Kose E, Zararsiz I, et al. The protective effects of caffeic acid phenethyl ester against toluene-induced nephrotoxicity in rats. *Toxicology And Industrial Health* 2016;32:15-21.
7. Rifaioğlu MM, Sefil F, Gokce H, Nacar A, Dorum BA, Davarci M. Protective Effects Of Caffeic Acid Phenethyl Ester On The Dose-Dependent Acute Nephrotoxicity With Paraquat In A Rat Model. *Environmental Toxicology* 2015;30:375-81.
8. Nacar A, Karaboga I, Okuyan HM, Kaplan Sefil N, Nacar E, Motor S, et al. Investigation of the protective effect of erdosteine against cyclosporine-induced injury in rat liver with histological and biochemical methods. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2015;45:1390-5.
9. Aras M, Altaş M, Meydan S, Nacar E, Karcioğlu M, Ulutaş KT, et al. Effects of ebselen on ischemia/reperfusion injury in rat brain. *Int J Neurosci* 2014;124:771-6.
10. Kohyama M, Yabuki A, Ochiai K, Nakamoto Y, Uchida K, Hasegawa D, et al. In situ detection of GM1 and GM2 gangliosides using immunohistochemical and immunofluorescent techniques for auxiliary diagnosis of canine and feline gangliosidoses. *BMC Vet Res* 2016;12:67.
11. Musumeci G. Past, present and future: overview on histology and histopathology. *J Histol Histopathol.* 2014;1:5.