

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI (TIP)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

RUTİN DOKU BOYAMADA KULLANILAN
HEMATOKSİLEN VE EOZİN YERİNE SAFRAN, KURKUMİN
VE KİNA EKSTRAKTINDAN ELDE EDİLEN BOYALAR İLE
DOKULARIN BOYANMASI

Sümeyye TUNÇEL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN

AYDIN-2024

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen bana her koşulda destek olan, moral ve motivasyonumu yükselten çok değerli danışmanım sayın **Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN**'e çok teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı öğretim üyelerinden **Doç. Dr. Erkan GÜMÜŞ**, **Prof. Dr. Mehmet TURGUT** ve **Prof. Dr. Kemal ERGİN**'e teşekkürü bir borç bilirim.

Manevi desteğiyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, hayatım boyunca benim yanımda olan, benden desteğini esirgemeyen ve bana moral veren sevgili babam **İsmail TUNÇEL**, annem **Serpil TUNÇEL** ve kardeşim **Alperen Mert TUNÇEL**'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her zaman destek olan sevgili dönem arkadaşlarım **Nursevim KALKAN**, **Burak TOZUN** ve **Bilge YILMAZ**'a çok teşekkür ederim.

Manevi desteğiyle hayatımın her anında olduğu kadar yüksek lisans eğitimim boyunca da bana her koşulda destek veren kıymetli arkadaşım **Tuğba ÖZTÜRK KIRBAÇ**'a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana destek veren ve motivasyonumu yükselten sorumlu hemşirem **Ömer AKBURAK**'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Histokimyasal Boyalar	3
2.1.1. Kimyasal Boyalar	5
2.1.1.1. Hematoksilen ve Eozin.....	5
2.1.1.2. Periyodik Asit-Schiff (PAS) Boyası.....	7
2.1.1.3. Masson Trikrom Boyama	8
2.1.1.5. Immunohistokimya (IHC)	9
2.1.1.6. Gümüş Boyama	10
2.1.2. Doğal Boyalar.....	11
2.1.2.1. Hematoksilen.....	11
2.1.2.2. Safranin.....	12
2.1.2.3. Orcein	13
2.1.2.4. Karmin	14
2.2. Karaciğer	15
2.2.1. Karaciğer Anatomisi.....	15
2.2.2. Karaciğer Histolojisi.....	18
2.2.3. Karaciğer Embriyojisi.....	20
2.3. Dalak.....	22
2.3.1. Dalak Anatomisi	22
2.3.2. Dalak Histolojisi	23

2.3.3. Dalak Embriyolojisi.....	25
2.4. Pankreas.....	26
2.4.1. Pankreas Anatomisi	26
2.4.2. Pankreas Histolojisi	27
2.4.3. Pankreas Embriyoloji	30
2.5. Safran.....	31
2.6. Kurkumin.....	32
2.6. Kına	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Dokuların Hazırlanması.....	35
3.2. Doku Takibi, Bloklama ve Kesit Alma	35
3.3. Ekstraktların Hazırlanması	36
3.3.1. Kına Ekstraktının Hazırlanması.....	36
3.3.2. Kurkumin Ekstraktının Hazırlanması	37
3.3.3. Safran Ekstraktının Hazırlanması	38
3.4. Ekstraktların Mordant ile Birleştirilmesi.....	39
3.4.1. Safran Ekstraktının Mordant ile Birleştirilmesi	39
3.4.2. Kurkumin Ekstraktının Mordant ile Birleştirilmesi.....	40
3.5. Boyama Yöntemleri.....	41
3.5.1. Hematoksilen ve Eozin Boyama Prosedürü	41
3.5.2. Safran Boyama Prosedürü	42
3.5.3. Kurkumin Boyama Prosedürü	43
3.5.4. Kına Boyama Prosedürü.....	44
3.6. Boyama Gruplarının Oluşturulması	45
4. BULGULAR	46
4.1. Hematoksilen ve Eozin Boyama.....	46
4.1.1. Karaciğer Dokusu Hematoksilen ve Eozin Boyama	46
4.1.2. Pankreas Hematoksilen ve Eozin Boyama	47
4.1.3. Dalak Hematoksilen ve Eozin Boyama	48
4.2. Hematoksilen Boyama.....	49
4.2.1. Karaciğer Hematoksilen Boyama.....	49
4.2.2. Pankreas Hematoksilen Boyama	50
4.2.3. Dalak Hematoksilen Boyama	51
4.3. Kurkumin Boyama	52

4.3.1. Karaciğer Kurkumin ve Hematoksilen Boyama.....	52
4.3.2. Pankreas Kurkumin ve Hematoksilen Boyama	55
4.3.3. Dalak Kurkumin ve Hematoksilen Boyama	56
4.4. Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama	59
4.4.1. Karaciğer Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama	59
4.4.2. Pankreas Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama.....	60
4.4.3. Dalak Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama.....	62
4.5. Safran Ekstraktı ile Boyama	64
4.5.1. Karaciğer Safran ve Hematoksilen Boyama.....	64
4.5.2. Pankreas Safran ve Hematoksilen Boyama	65
4.5.3. Dalak Safran ve Hematoksilen Boyama.....	67
4.6. Safran ve Bakır II Sülfat ile boyama	69
4.6.1. Karaciğer Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama.....	69
4.6.2. Pankreas Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama.....	70
4.6.3. Dalak Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama.....	72
4.7. Kına Ekstraktı ile Boyama.....	74
4.7.1. Karaciğer Kına Boyama	74
4.7.2. Pankreas Kına Boyama.....	75
4.7.3. Dalak Kına Boyama.....	76
4.8. Kına ve Hematoksilen Boyama	78
4.8.1. Karaciğer Kına ve Hematoksilen Boyama	78
4.8.2. Pankreas Kına ve Hematoksilen Boyama.....	79
4.8.3. Dalak Kına ve Hematoksilen Boyama.....	81
5. TARTIŞMA.....	83
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	86
KAYNAKLAR.....	87
EKLER	103
BİLİMSEL ETİK BEYANI	104
ÖZ GEÇMİŞ.....	105

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat derece
Ag	: Gümüş
Cm	: Santimetre
CuSO ₄	: Bakır II Sülfat
Dk	: Dakika
Dna	: Deoksiriboz nükleik asit
Dpx	: Lam ve lamel yapıştırıcı
Gr	: Gram
Mm	: Milimetre
Pals	: Periarteriyel lenfatik kılıfları
PAS	: Periyodik asit schiff
pH	: Potansiyel hidrojen
Rna	: Ribonükleik asit
Sn	: Saniye
Usd	: Amerikan doları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Doku-Boya etkileşim türleri.....	4
Şekil 2. Karmin böceğinden ekstrakt elde edilmesi kurutma (a), Öğütme (b), Su ile karıştırma (c), Filtreleme (d), Ag nanostarları ve süpernatandan elde edilen numune ile alınan SERS spektrumu (e), Elde edilen numune (f).....	14
Şekil 3. Karaciğerin ön yüzü	16
Şekil 4. Karaciğerin arka yüzü	17
Şekil 5. Karaciğer dokusunda lobüller ve zonlar	20
Şekil 6. Karaciğerin erken gelişimi. 4 haftalık embriyonun orta kısmı (a), Periton boşluğunun genişlemesini gösteren embriyonun enine kesiti (b), 5 haftalık embriyonun sagittal kesiti (c), Dorsal ve ventral mezenterin oluşumundan sonra embriyonun çapraz kesiti (d).....	21
Şekil 7. Dalağın anatomik gösterimi	23
Şekil 8. Dalak dokusunda trabekül beyaz pulpa ve kırmızı pulpa	23
Şekil 9. Dalak kesiti	24
Şekil 10. Dalak organının gelişimi	26
Şekil 11. Pankreas anatomisi.....	27
Şekil 12. Pankreas anatomisi (a), Ekzokrin pankreas (b), Tek bir asinüs (c), Ekzokrin doku içerisindeki pankreatik adacık (d).....	28
Şekil 13. Pankreas embriyolojisi	31

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Karaciğer dokusu hematoksilin ve eozin boyama görüntüsü.....	6
Resim 2. PAS boyası ile boyanan karaciğer dokusu.....	7
Resim 3. Bağırsak duvarının iç kısmının masson trikrom ile boyanması.....	8
Resim 4. Tümör hücrelerinin IHC boyama yöntemi kullanılarak gösterimi	9
Resim 5. Gümüşleme metodu kullanılarak boyanan ön böbrek dokusunun hematopoetik alandaki retikulum ipliği görüntüsü	10
Resim 6. Haematoxylum Campechianum bitkisi ve odunu.....	11
Resim 7. Safran bitkisi	12
Resim 8. Rocella Tingtoria bitkisi	13
Resim 9. Langerhans adacığı histolojik görüntüsü	29
Resim 10. Crocus Sativus L. çiçeği ve stigması	31
Resim 11. Zerdeçal ve zerdeçal tozu.....	33
Resim 12. Taş kına.....	34
Resim 13. Taş kınanın hassas terazide tartılması (a), Taş kına çözeltisi (b).....	36
Resim 14. Kurkuminin hassas terazide tartılması (a), Kurkumin çözeltisi (b)	37
Resim 15. Safranın hassas terazide tartılması (a), Safran çözeltisi (b), Filtrelenmiş safran çözeltisi (c)	38
Resim 16. Bakır II Sülfat ve Safran çözeltisi (a), Çözeltinin filtrelenmiş hali (b).....	39
Resim 17. Bakır II Sülfat ve Kurkumin çözeltisi (a), Filtrelenmiş çözelti (b).....	40
Resim 18. Karaciğer dokusu (H&E boyama x20)	46
Resim 19. Pankreas dokusu (H&E boyama x20).....	47
Resim 20. Dalak dokusu (H&E boyama x20).....	48
Resim 21. Karaciğer dokusu (Hematoksilen boyama x20).....	49
Resim 22. Pankreas dokusu (Hematoksilen boyama x20).....	50
Resim 23. Dalak dokusu (Hematoksilen boyama x20).....	51
Resim 24. Karaciğer dokusu (Kurkumin ve Hematoksilin boyama x10)	52
Resim 25. Karaciğer epitel hücreleri (Kurkumin ve Hematoksilin boyama x20).....	53
Resim 26. Karaciğer dokusu; kupffer hücreleri (kurkumin ve hematoksilin boyama x40)	54
Resim 27. Pankreas dokusu (Kurkumin ve Hematoksilin boyama x20).....	55
Resim 28. Dalak dokusu (Kurkumin ve Hematoksilin boyama x10).....	56

Resim 29. Dalak dokusunda trabekül yapısı (Kurkumin ve Hematoksilen boyama x20)	57
Resim 30. Dalak dokusunda kırmızı pulpa yapısı (Kurkumin ve Hematoksilen boyama x20)	57
Resim 31. Dalak dokusu kırmızı pulpa ve trabekül yapısı (Kurkumin ve Hematoksilen boyama x40)	58
Resim 32. Karaciğer dokusu (Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20)	59
Resim 33. Pankreas dokusu (Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20).....	60
Resim 34. Pankreas dokusu (Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x40).....	61
Resim 35. Dalak dokusu (Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x10).....	62
Resim 36. Dalak dokusu beyaz pulpa ve trabekül yapısı (Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20).....	63
Resim 37. Karaciğer dokusu (Safran ve Hematoksilen boyama x20)	64
Resim 38. Pankreas dokusu (Safran ve Hematoksilen Boyama x10)	65
Resim 39. Pankreas dokusu (Safran ve Hematoksilen Boyama x20)	66
Resim 40. Dalak dokusu (Safran ve Hematoksilen Boyama x10)	67
Resim 41. Dalak dokusu (Safran ve Hematoksilen Boyama x20)	68
Resim 42. Karaciğer dokusu (Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20)	69
Resim 43. Pankreas dokusu (Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20).....	70
Resim 44. Pankreas dokusu (Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x40).....	71
Resim 45. Dalak dokusu (Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x10).....	72
Resim 46. Dalak dokusu (Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama) x20.....	73
Resim 47. Karaciğer dokusu portal alan (a), kordon yapıları (b) (Kına Boyama x20).....	74
Resim 48. Pankreas dokusu (Kına Boyama x20).....	75
Resim 49. Dalak dokusu (Kına Boyama x10).....	76
Resim 50. Dalak dokusu (Kına Boyama x20).....	77
Resim 51. Karaciğer Dokusu (Kına Boyama x20).....	78
Resim 52. Pankreas dokusu (Kına ve Hematoksilen boyama x20)	79
Resim 53. Pankreas dokusu (Kına ve Hematoksilen boyama x40)	80
Resim 54. Dalak dokusu (Kına ve Hematoksilen boyama x10)	81
Resim 55. Dalak dokusu (Kına ve Hematoksilen boyama x20)	82

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Hematoksilen ve Eozin Boyama Prosedürü	41
Tablo 2. Safran Boyama Prosedürü	42
Tablo 3. Kurkumin Boyama Prosedürü	43
Tablo 4. Kına Boyama Prosedürü	44
Tablo 5. Boyama Grupları	45



ÖZET

RUTİN DOKU BOYAMADA KULLANILAN HEMATOKSİLEN VE EOZİN YERİNE SAFRAN, KURKUMİN VE KİNA EKSTRAKTINDAN ELDE EDİLEN BOYALAR İLE DOKULARIN BOYANMASI

Tunçel S. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2024.

Amaç: Yapılacak olan bu çalışmada rutin doku boyama yöntemi olan hematoksilin ve eozin yerine safran, kurkumin ve kına ekstraktlarından elde edilen boyalarla dokularda boyama sağlayarak elde edilen boyaları günlük hayatta kullanılabilir hale getirmek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada; 4 haftalık yetişkin erkek Wistar albino rattan karaciğer, pankreas ve dalak dokuları alınarak doku takibi, bloklama ve kesit alma işlemlerinden sonra boyama işlemlerine geçilmiştir. Safran, kurkumin ve kına ekstraktları hazırlanarak karaciğer, pankreas ve dalak dokuları boyanmıştır.

Bulgular: Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen boyama görüntüleri hematoksilin ve eozin boyama görüntüleri ile karşılaştırılmıştır. Safran ve kurkumin ekstraktları ile boyanan dokularda karaciğerin fagositik sisteme ait olan kupffer hücreleri hematoksilin ve eozin boyamaya kıyasla net ve yoğun bir şekilde görülmüştür. Kına ekstraktı ile boyanan dokularda ise hepatositler ve hücre çekirdekleri izlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışma, safran, kurkumin ve taş kına ekstraktlarının histolojik doku boyamalarında hematoksilin ve eozin boyalarına bir alternatif olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Bu bağlamda, safran, kurkumin ve taş kına gibi doğal boyaların, geleneksel sentetik boyalar yerine kullanılması hem ekonomik açıdan hem de çevre açısından daha sürdürülebilir bir alternatif sunabilmektedir.

Anahtar kelimeler: Doku Boyama, Hematoksilin ve Eozin, Kına, Kurkumin, Safran

ABSTRACT

STAINING TISSUES WITH DYES OBTAINED FROM SAFFRON, CURCUMIN AND HENNA EXTRACT INSTEAD OF HEMATOXYLIN AND EOSIN USED IN ROUTINE TISSUE STAINING

Tunçel S. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Histology and Embryology Program, Master Thesis, Aydın, 2024.

Objective: In this study, it is aimed to dye the tissues with dyes obtained from saffron, curcumin and henna extracts instead of hematoxylin and eosin, which are routine tissue dyeing methods, and to make the obtained dyes usable in daily life.

Material and Methods: In this study; Liver, pancreas and spleen tissues from 4-week-old adult male Wistar albino rats were taken and staining was started after tissue tracking, blocking and sectioning procedures. Saffron, curcumin and henna extracts were prepared and liver, pancreas and spleen tissues were stained.

Results: The staining images obtained as a result of the studies were compared with hematoxylin and eosin staining images. In tissues stained with saffron and curcumin extracts, Kupffer cells belonging to the phagocytic system of the liver were seen clearly and intensely compared to hematoxylin and eosin staining. Hepatocytes and cell nuclei were observed in the tissues stained with henna extract.

Conclusion: This study showed that saffron, curcumin and stone henna extracts can be used as an alternative to hematoxylin and eosin dyes in histological tissue staining. In this way, the use of natural dyes such as saffron, curcumin and stone henna instead of traditional synthetic dyes can offer a more sustainable alternative both economically and environmentally.

Keywords: Curcumin, Henna, Hematoxylin and Eosin, Saffron, Tissue Staining

1.GİRİŞ

Günümüzde hayvan ve bitki dokularının ışık ya da elektron mikroskopunda incelenip ayırt edilebilmesi için dokuların kesit alınarak boyanması gerekmektedir. Bu amaçla histolojik preparatlar hazırlanırken çeşitli yöntemler kullanılarak boya maddeleriyle birlikte bir dizi işlemden geçer (Black, 2012; Anderson, 2011). Tüm dünyada histoloji ve patoloji laboratuvarlarında doku preparatları hazırlamak için sıkça hematoksilin ve eozin boyası kullanılmaktadır. Hematoksilin bazofilik yapıları boyayan bazik bir boya iken eozin ise asidofilik yapıları boyayan asidik bir boyadır (Chan, 2014; Fischer ve diğerleri, 2008). Hematoksilin bu formu ile boyama özelliğine sahip değildir. Hematoksilinin oksijen ile tepkimesi sonucunda oksitlenerek hematein haline dönüşmesi boyar özelliğe sahiptir (Avwioro, 2010; Marshall ve Horobin, 1972). Hematoksilin oksitlenerek hematein formu amfoteriktir ve asidik pH'da rengi kırmızı, bazik pH'da rengi mavi görünür (Titford, 2005). Hematoksilinin aktif bir boya maddesi olan hemateine dönüşmesi doğal ve yapay yollar olmak üzere iki yolla gerçekleşir. Hematoksilin doğal yolla hemateine dönüşürken 6 ila 8 hafta boyunca havaya ve güneş ışığına maruz bırakılır (Lalor ve Martin, 1959; Drury ve Wallington, 1980). Hematoksilinin doğal yollarla hemateine dönüşmesi çözeltinin kullanım ömrünün uzun olması açısından daha avantajlı bir yöntemdir. Hematoksilinin yapay yollarla hemateine dönüşmesi sürecinde ise sodyum iyodat, hidrojen peroksit, civa oksit ve potasyum permanganat gibi oksitleyici maddelerle birlikte muamele edilmesi gerekir. Bu tür oksitleyici maddeler ile birlikte hızlı bir şekilde hematoksilin oksitlendiği için çözeltinin ömrü daha kısa olmaktadır (Marshall ve Horobin, 1972; Clark, 1974). Hematein anyonik bir madde olmasından dolayı dokuları boyamakta zayıftır ve oksitleyici bir mordant olmadan dokuları iyi bir şekilde boyayamaz. Çözeltinin bu haline hematoksilin denir (Titford ve Bowman, 2012). Hematoksilin için en yaygın kullanılan ve kuvvetli mordantlar olan krom, demir, alüminyum, molibden, kurşun ve tungsten gibi metal katyonlardır (Ali ve Orchard, 2017; Titford, 2005). Hematoksilin içerdiği mordant maddelere göre sınıflandırılmaktadır ve doku tiplerine göre farklı boyama niteliklerine sahip çok sayıda farklı hematoksilin türü bulunmaktadır (Jocelyn ve Bruce-Gregorios, 1974). Ehrlich, Mayer's, Harris's, Gill's, Delafield's, Cole's ve Carazzi's gibi çözeltiler alüminyum bazlı hematoksilinlerdir. Weigert's, Heidenhain's, Verhoeff's ve Loyez's gibi çözeltiler demir bazlı hematoksilinlerdir. Mallory's ise kurşun bazlı hematoksilindir (Suvana ve diğerleri, 2018; Jocelyn ve Bruce-Gregorios,

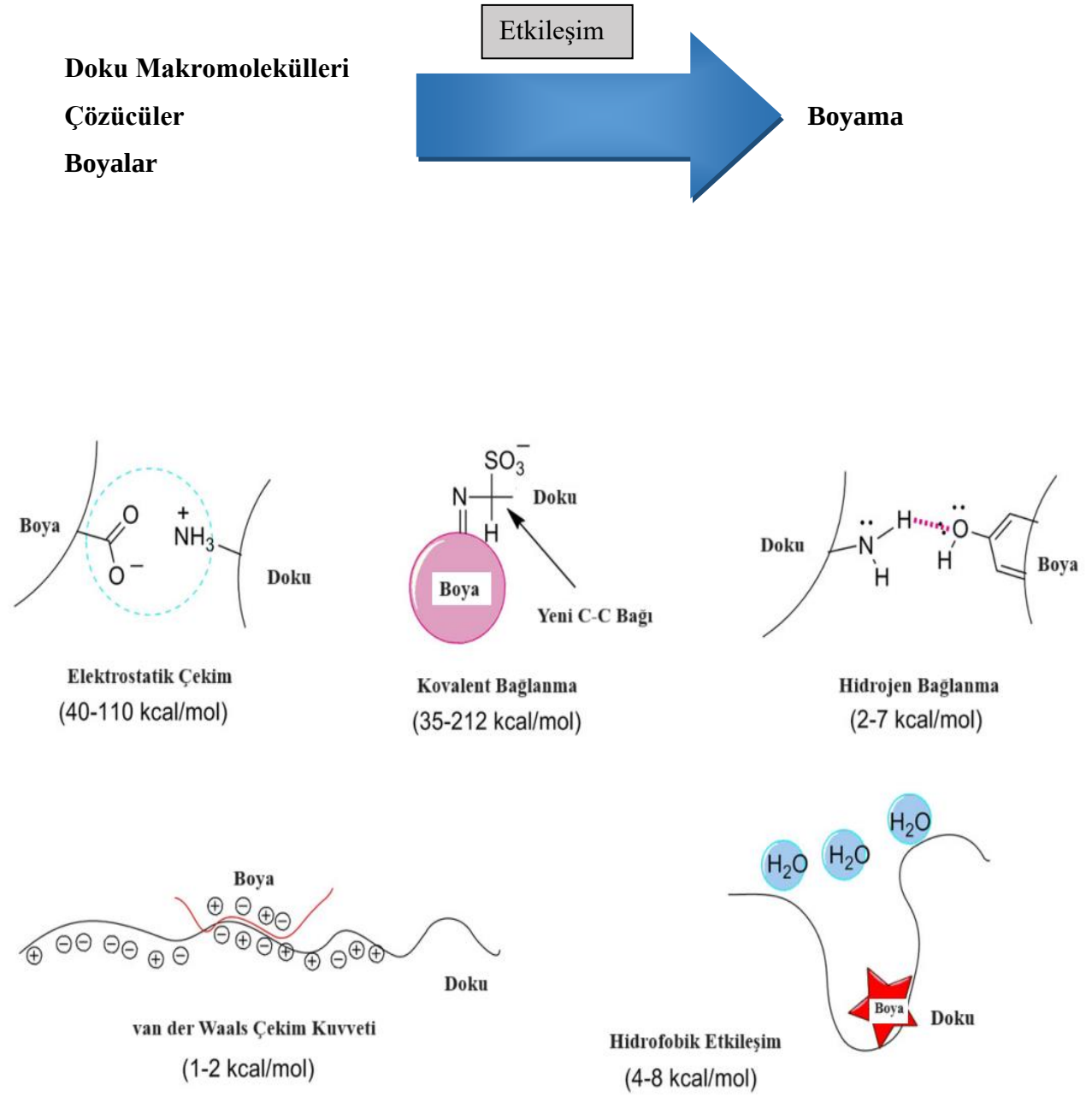
1974). Hemateinle birlikte mordant olarak alüminyum ve potasyum tuzları birlikte kullanıldığında mavi-mor, demir tuzları mordant olarak kullanıldığında ise siyah-lacivert olarak reaksiyon verir (Gurr, 1962). Hematoksilen hücre çekirdeğini boyarken mavi ve mor renge boyar. Organeller yüksek oranda RNA içerdiğinden dolayı hematoksilenin boyadığı bazofilik yapılar arasında ribozom ve granüler endoplazmik retikulumda bulunur. Eozin ise sitoplazma, bağ dokusu lifleri, kas ve eritrositleri sitoplazmik proteinlerle etkileşime girerek asidofilik yapıları kırmızı ve pembe renge boyar (Bancroft ve Gamble, 2008; Fischer ve diğerleri, 2008; Suvarna ve diğerleri, 2018; Kiernan, 2015). Karşıt bir boyama tekniği olan hematoksilen ve eozin yüksek kontrastı sayesinde doku kesitlerinde hücrelerin morfolojik olarak ayırt edilmesine olanak sağlar ve histopatolojik uygulamalarda sıkça tercih edilen bir yöntemdir (Lowe ve Anderson, 2015). Hematoksilen; Meksika'nın Campeche kentinden adını alan, Haematoxylum campechianum ağacından elde edilen, öz odununun ve genç yapraklarının kırmızı yapısından dolayı bu ismi almıştır. Hematoksilen histolojik boyama tekniklerinde rutin olarak kullanılan doğal bir boyadır (Rojas-Sandoval ve Acevedo-Rodríguez, 2013; Titford, 2005; Faisal ve Orchard, 2017; Cook, 2015). Hematoksilenin gram biriminden maliyeti 50-100 USD arasında değişiklik göstermektedir ve artan maliyetler akademik ve klinik laboratuvarlarında büyük ölçüde bir bütçe yükü oluşturmaktadır (Orchard, 2019; Lendrum, 1947). Eozin 1871 yılında Heinrich Caro tarafından keşfedilmiş ve başlangıçta tekstil boyası olarak kullanılmıştır (Cooksey, 2018). Günümüzde ise eozin, hematoksilen ve eozin boyama protokolünde hematoksilen ile birlikte kullanılmaktadır (Fischer ve diğerleri, 2008). Eozinin maliyeti hematoksilene göre daha düşük olsa da laboratuvarların kullanmış olduğu miktar ve kalite açısından bakıldığında maliyet açısından bir zorluk oluşturmaktadır (Titford, 2009). Son yıllarda hematoksilen ve eozin yerine kullanılabilecek çevre dostu ve maliyet açısından laboratuvarlara önemli ölçüde kazanç sağlayan bitkisel boyalar gibi alternatifler üzerinde yoğunlaşmıştır (Sing ve diğerleri, 2020).

Bu çalışmanın amacı rutin doku boyama yöntemi olan hematoksilen ve eozin yerine bitki ekstraktlarından elde edilen boyalarla dokularda boyama sağlayarak elde edilen boyaları günlük hayatta kullanılabilir hale getirmektir ve laboratuvarlar bütçelerine katkı sağlayarak maliyeti düşürmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Histokimyasal Boyalar

Işık mikroskobunda boyanmayan doku preparatları renksizdir ve ayırt edilemez. Farklı doku bileşenlerinin kırılma indisleri dokuların optik özelliklerini belirler ve mikroskopta analiz ederken bileşenlerin ayırt edilmesini sağlar. Kırılma indisleri birbirine yakın olan doku elemanları ışık mikroskobunda yeterli kontrast oluşturamaz. Bu durum dokuların ve hücresel yapıların ayırt edilebilmesini zorlaştırır (Murphy, 2001; Ross ve Pawlina, 2011; Wang ve diğerleri, 2014). Doku ve hücrelerin mikroskopta ayırt edilebilmesini sağlamak adına dokuların kontrastlarında değişiklikler yapılması gerekmektedir. Histolojide doku kontrastında değişiklik yapılırken bazı teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler dokuların farklı özelliklerinden yararlanarak ya da dokuların farklı bileşenlerini boyayarak gerçekleştirilir. Bu yöntemler arasında boyama teknikleri, polarizasyon, metal çöktürme ve faz-kontrast mikroskobu bulunmaktadır (Bancroft ve Gamble, 2008; Kiernan, 2015; Bancroft ve Stevens, 1996; Black, 2012). Histolojik boyama yöntemlerinde dokuların ve hücresel yapıların ayırt edilebilmesi için dokuların boyanması gerekmektedir. Histokimyasal boyalar dokuların belirli bileşenlerini mikroskop altında iyi bir şekilde analiz edebilmeye olanak sağlar ve klinikte patolojik analizlerde, hastalıkların teşhisinde, nöropatik incelemelerde yaygın olarak kullanılır (Cai ve diğerleri, 2014; Musumeci, 2014; Weiss ve diğerleri, 2011; Kasper ve diğerleri, 2020; Togo ve diğerleri, 2019). Histolojik boyamalar yapılırken dokuların boyanmasının yanı sıra doku bileşenlerinin nasıl bağlandığı da çok önemlidir. Boyaların doku bileşenlerine bağlanması kimyasal ve fiziksel bağlanma yolları ile gerçekleştirilir. Bu bağlanma yolları arasında elektrostatik çekim, van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler ve kovalent bağlanma gibi metotlar bulunmaktadır. Histolojik boyamalarda dokuları boyarken kimyasal ve doğal boyalar kullanılır. Her iki boyama metodu doku bileşenlerini belirginleştirerek ayırt edilmesine yarar ve histolojik analizlerin doğru bir şekilde yapılmasına olanak sağlar (Fischer ve diğerleri, 2008; Melo ve diğerleri, 2015; Bancroft ve Gamble, 2008; Gallyas, 2018).



Şekil 1. Doku-Boya etkileşim türleri (Veuthey ve diğerleri, 2014)

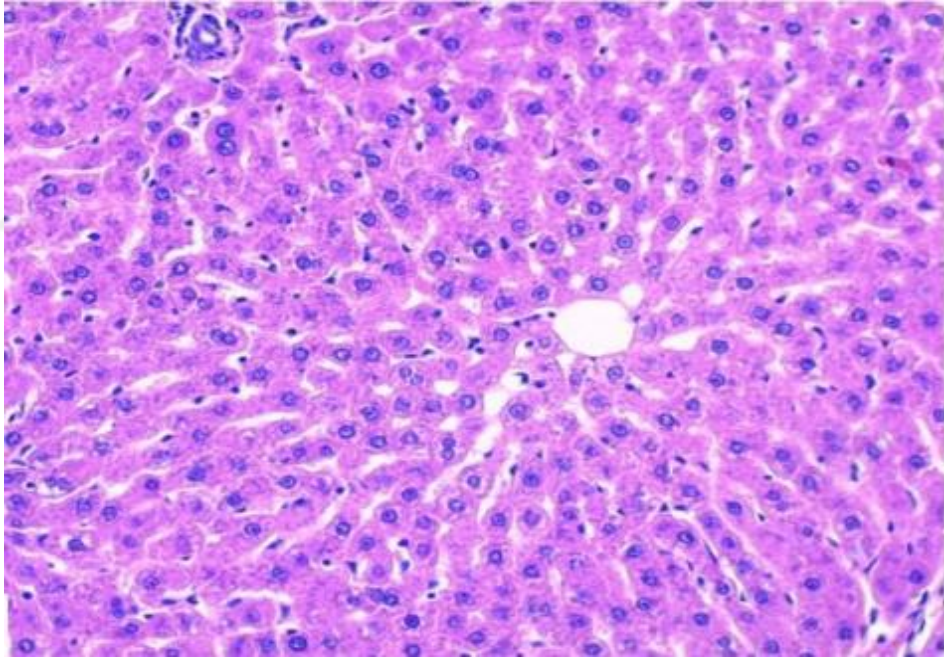
2.1.1. Kimyasal Boyalar

Histolojik boyamalarda kullanılan kimyasal boyalar sentetik olarak üretilen ve çeşitli doku bileşenlerini seçici olarak boyayan maddelerdir. Kimyasal boyalar histolojik boyamalarda stabiliteyi arttırarak dokuların daha belirgin görünmesinde rol oynar. Kimyasal boyaların dokuları boyarken asidik, bazik veya nötral özellikleri doku bileşenleri ile etkileşimlerini ve çeşitli bağlanma mekanizmalarını etkiler (Bancroft ve Gamble, 2008).

2.1.1.1. Hematoksilen ve Eozin

Hematoksilen ve eozin boyası histolojik boyamalarda rutin olarak kullanılan bir boya olup dokuların mikroskopta incelenmesini sağlar (Avwioro, 2010; Titford, 2005; Dapson ve diğerleri, 2010). Hematoksilen doğal ve bazik (asidofilik) bir boyadır. DNA'nın asidik fosfat gruplarına elektrostatik olarak bağlanması ile hücre çekirdeklerini, nükleusları ve ribozomları mavi-mor renge boyar (Slaoui ve diğerleri, 2017; Salerno ve Chiaravalli, 2022; Chan, 2014). Hematoksilen yalnız başına boyar özelliğe sahip değildir ve boyama özelliğini kazanabilmesi için en kritik adımlardan bir tanesi olan oksidasyon sürecini tamamlayarak hemateine dönüşmesi gerekir (Shostak, 2013; Titford ve Bowman, 2012; Horobin ve Bancroft, 1998). Hematoksilenin hemateine dönüşme süreci iki doğal ve kimyasal olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir (Kiernan, 2015). Atmosferik oksidasyon hematoksilenin havadaki oksijen ile reaksiyona girmesi ile doğal bir şekilde hemateine dönüşmesidir. Bu yöntemin avantajları basit ve maliyeti düşüktür ancak süreci uzattığı için ve çevresel koşulların kontrol edilebilirliği açısından dezavantajlara sahiptir (Horobin ve Kiernan, 2002; Sheehan ve Hrapchak, 1980; Bancroft ve Gamble, 2008). Hematoksilenin kimyasal yollarla okside olma süreci doğal yolla okside olma sürecine göre daha hızlı gerçekleşir ve genellikle sodyum iyodat (NaIO_4) ve potasyum permanganat (KMnO_4) gibi oksidanlar kullanılır. Bu yöntemin en büyük avantajı boyama yöntemlerinde doku bileşenlerine güçlü bir bağlanma yeteneği kazandırdığı için tutarlılığı arttırmasıdır (Cook, 2009; Titford, 2005; Horobin ve Bancroft, 1998). Okside olan hematein hücre çekirdekleri ve nükleer yapıların belirginleştirilmesi için gereklidir (Bancroft ve Layton, 2013; Titford ve Bowman, 2012). Hematoksilenin dokulara etkin bir şekilde bağlanabilmesi ve doku bileşenlerinin ayırt edilebilmesi için mordantlar ile birlikte kullanılması gerekmektedir. Bunun için genellikle metal tuzları kullanılır. Bunlar;

alüminyum tuzları (alum), demir tuzları, krom tuzlar ve bakır gibi maddelerdir (Carson ve Hladik, 2009; Fischer ve diğerleri, 2008). Alüminyum tuzları hematoksilenin çekirdekleri mavi-mor boyanmasını sağlarken demir tuzları hücre çekirdeklerinin daha koyu ve siyah tonlarda boyanmasını sağlar (Kim ve diğerleri, 2019; Titford, 2010). Mordantların hematoksilen ile birlikte kompleks oluşturması dokulara kovalent bağlanması ve elektrostatik bağlarla bağlanması ile olur. Bu kompleksin oluşması hücre çekirdeklerinin ve nükleer yapıların belirginleştirilmesinde önemli rol oynar (Gill ve Frost, 2019; Horobin ve Kiernan, 2002). Eozin ise sentetik asidik (bazofilik) bir boya olup sitoplazmadaki amino gruplarına hem elektrostatik hem de hidrofobik etkileşimlerle bağlanarak sitoplazmayı, hücre içi elemanları, kolajen, kas ve bağ dokusu elemanlarını pembe-kırmızı renge boyar. Eozin Y ve Eozin B olmak üzere iki tür eozin vardır. Eozin Y formu rutin olarak sık kullanılmaktadır (Groover ve diğerleri, 2009; Hari ve König, 2014).

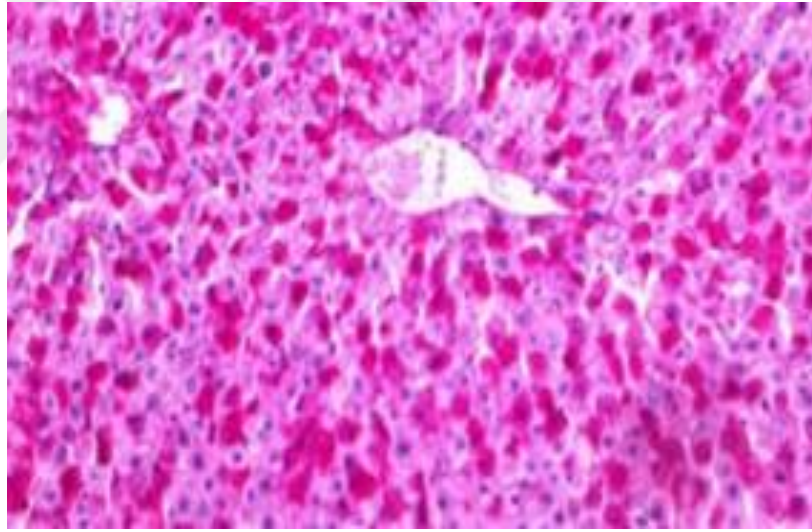


Resim 1. Karaciğer dokusu hematoksilen ve eozin boyama görüntüsü (Tektemur ve diğerleri, 2021)

2.1.1.2. Periyodik Asit-Schiff (PAS) Boyası

Periyodik Asit Schiff (PAS) boyası histolojik boyamalarda kullanılan kimyasal boyalardan bir tanesidir. Karbonhidrat bileşenlerini göstermek amacıyla yapılan bir boyadır. Periyodik Asit Schiff (PAS) boyası glikojen, bazal membran, mukoproteinler, glikoproteinler, nötral mukopolisakkaritler, bazı lipoproteinler, hepatositler, mukus salgıları gibi karbonhidrat içeren yapıların belirginleştirilmesi için yapılan bir boyama tekniğidir (Shafiei ve diğerleri, 2014).

Periyodik Asit Schiff (PAS) boyası, nötr bir karaktere sahiptir ve dokuları boyarken periyodik asit ile karbonhidratlardaki diol gruplarını aldehit gruplarına okside eder. Daha sonra Schiff reaktifi ile birlikte aldehit grupları arasında reaksiyon geliştirerek dokuları mor-pembe renkte boyar (Erdoğan ve diğerleri, 1990; Drury ve Wallington, 1967).

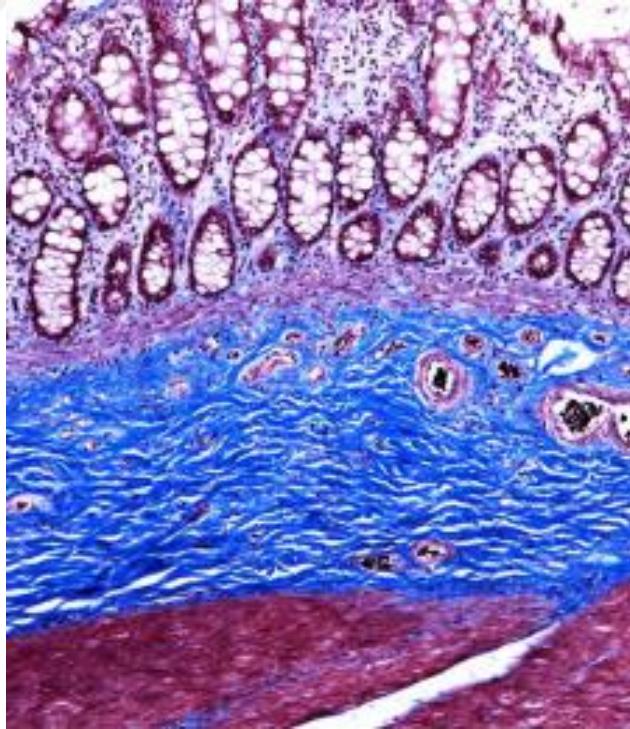


Resim 2. PAS boyası ile boyanan karaciğer dokusu (Ayaz ve diğerleri, 2022)

2.1.1.3. Masson Trikrom Boyama

Masson'un trikrom boyası histolojik boyamalarda kullanılan kimyasal boyalardan bir diğeridir. Bu boya kolajen, kas dokusu ve bağ dokusu bileşenlerini ayırt etmek için kullanılır. Doku bileşenlerinin morfolojik özelliklerini belirginleştirmek boyanın temel amacıdır. Masson'un trikrom boyasında bulunan hematoksilen, asidik fuksin, Biebrich şarlak kırmızısı ve anilin mavisi boyanın temel bileşenlerini oluşturur (Garvey, 1984; Standish ve diğerleri, 2006).

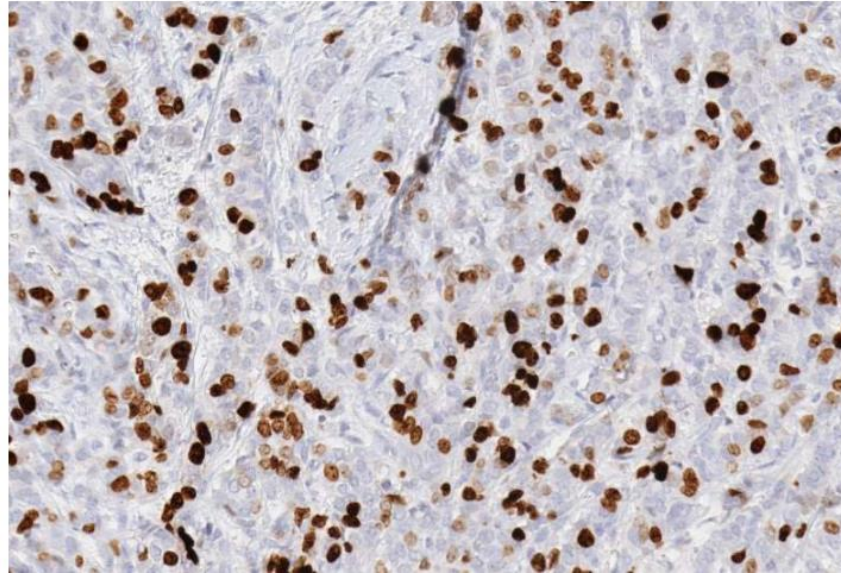
Hematoksilen DNA'nın asidik gruplarına elektrostatik bağlanıp hücre çekirdeklerini mavi-mor renge boyarken asidik fuksin ve Biebrich şarlak kırmızısı kas dokusundaki bazik proteinlere iyonik bağlanarak dokuyu kırmızı renkte boyar. Anilin mavisi ise kolajen liflerine ve bağ dokusu bileşenlerine bağlanarak dokuyu mavi-yeşil renge boyar. Masson'un trikrom boyaması özellikle karaciğer, böbrek ve kalp gibi dokuların boyanmasında fibrozis değerlendirmesinde, gastrointestinal sistem ve diğer organlarda stroma ve epitel bileşenlerini ayırt etmede kullanılır (Smith, 1981; Carriel ve diğerleri, 2011).



Resim 3. Bağırsak duvarının iç kısmının masson trikrom ile boyanması (Zidar ve diğerleri, 2020)

2.1.1.5. Immunohistokimya (IHC)

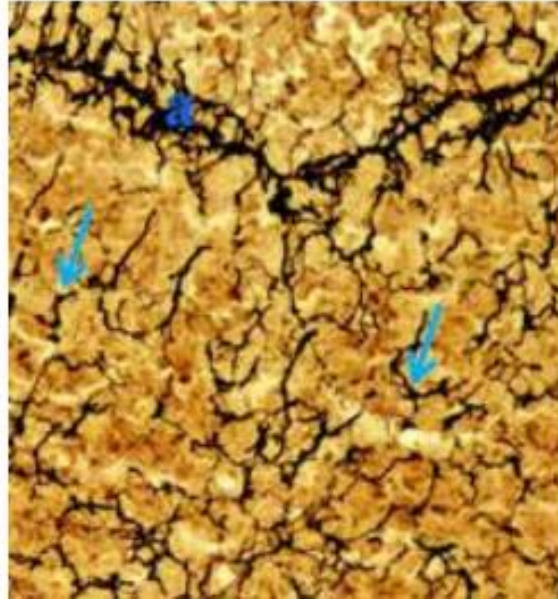
İmmunohistokimya histolojik boyamalarda doku kesitlerinde spesifik antijenlerin; proteinlerin dağılımını ve lokalizasyonunu belirlemek için antikorların kullanıldığı kimyasal bir boyama tekniğidir. IHC'nin temel prensibi hedef olan antijenin spesifik bir antikorla bağlanmasıdır (Shi ve diğerleri, 2018; Brandtzaeg, 1998). Antijen – antikor bağlanmasını kolaylaştırmak için antijenlerin epitoplarını ortaya çıkarırken yüksek ısı veya enzimatik sistem yolu kullanılır. Bu işlemlerden sonra birincil antikor hedef antijene bağlanır. İkincil antikor ise bir enzim veya floresan molekül ile işaretlenir (Ramos-Vara ve diğerleri, 2008; Dey, 2021). IHC patoloji laboratuvarlarında kanser teşhisinde, kanserlerin tipi ve derecesi belirlenirken ve tümör baskılayıcı bazı biyomarkerlerin tespitinde sıklıkla kullanılmaktadır (Bancroft ve Gamble, 2008).



Resim 4. Tümör hücrelerinin IHC boyama yöntemi kullanılarak gösterimi (Vincenten ve diğerleri, 2012)

2.1.1.6. Gümüş Boyama

Gümüş boyama histolojik boyamalarda kullanılan retiküler lifler, nöronlar, glia hücreleri, karaciğer, dalak, kemik iliği ve bazı patojen mikroorganizmaların boyandığı kimyasal bir boyama tekniğidir. Gümüş boyamada yönteminde doku bileşenlerinde bulunan amino, karbonil ve hidroksil grupları gümüş iyonlarına bağlanarak indirgeyici ajanlar sayesinde metalik çökelti oluşturur. Bu çökelti koyu kahverengi ve siyah renklerde görülür. Gümüş boyamada gümüş iyonları doku bileşenlerine bağlanırken elektrostatik ve kovalent bağlarla bağlanır (Grizzle, 1996; Kiernan, 2002; Heukeshoven ve Dernick, 1985; Rabilloud, 1990).



Resim 5. Gümüşleme metodu kullanılarak boyanan ön böbrek dokusunun hematopoetik alandaki retikulum ipliği görüntüsü (Eren ve Bozkurt, 2017)

2.1.2. Doğal Boyalar

Doğal boyalar histolojik uygulamalarda doku bileşenlerini belirginleştirmek amacıyla kullanılan ve yaygın kullanımda bitki kaynaklı olduğu kadar hayvanlardan da elde edilebilen pigmentlerdir. Doğal boyaların en büyük avantajı toksik olmaması sebebiyle çevre dostu olarak nitelendirilmeleri ve maliyetlerinin oldukça düşük olmasıdır (Suvana ve diğerleri, 2018; Bhuyan ve Saikia, 2005). Doğal boyaların avantajları olduğu kadar dezavantajları da bulunmaktadır. Doğal boyalar kimyasal boyalara göre kararlılıklarının daha düşük olması sebebiyle doku boyama sonuçlarını etkileyebilir. Renk yoğunlukları ve boyaların kalitesi de doğal boyaların dezavantajları arasındadır. Doğal boyalar hazırlanırken bitki ve hayvan kaynaklı materyallerin ekstraktlarının çıkarılması ve saflaştırılması işlemlerinden geçerek çözeltiler hazırlanır. Doğal boyaların kimyasal kararlılığı pigmentlerin saflaştırılmasıyla olur. Pigmentler saflaştırılarak boyalar homojen hale getirilir ve renk yoğunluğu artırılır (Bancroft ve Layton, 2019; Vankar, 2000; Mahltig ve Bottcher, 2020).

2.1.2.1. Hematoksilen

Hematoksilen *Haematoxylum campechianum* ağacı odunundan elde edilen ve oksidasyonu sonucu hemateine dönüştürülerek kullanılan doğal bir boyadır. Hematein hücre çekirdeklerini mavi mor renge boyayarak etki gösterir. Genellikle eozin ile birlikte histopatolojik incelemelerde sıklıkla kullanılır (Avwioro, 2010; Ali ve Orchard, 2017).



Resim 6. *Haematoxylum Campechianum* bitkisi ve odunu (Ortiz-Hidalgo ve Pina-Oviedo, 2019)

2.1.2.2. Safranin

Safranin *Crocus sativus* bitkisinin stigmasından elde edilen histolojik analizlerde ve genellikle bitki histolojisinde doku bileşenlerini göstermek için kullanılan katyonik bir boyadır. Safranin; bitki hücre duvarlarını belirginleştirmede, lignin içeren yapıları göstermede, bazı bakterilerin ve mikroorganizmaların boyanmasında ve doku bileşenlerini ayrıntılı olarak incelemek için kullanılır. Safranin boyası hücre duvarlarında bulunan polianyonik bileşenler ile iyonik bağlar oluşturarak hücre duvarlarına tutunur. Lignine ise elektrostatik bağlanma yoluyla bağlanarak dokuları kırmızı – turuncu renkte boyar. Gram bakterilerini ise kırmızı renkte boyamaktadır. Histopatolojik uygulamalarda safranin O boyası kıkırdak dokusunun boyanması için kullanılır ve doku bileşenlerini kırmızı renkte boyar. Safranin boyası; biyolojik araştırmalarda, bitki histolojisinde, mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla tercih edilmektedir (Bancroft ve Layton, 2013; Mazidi ve diğerleri, 2016; Johansen, 1940).



Resim 7. Safran bitkisi (Muştı, 2021)

2.1.2.3. Orcein

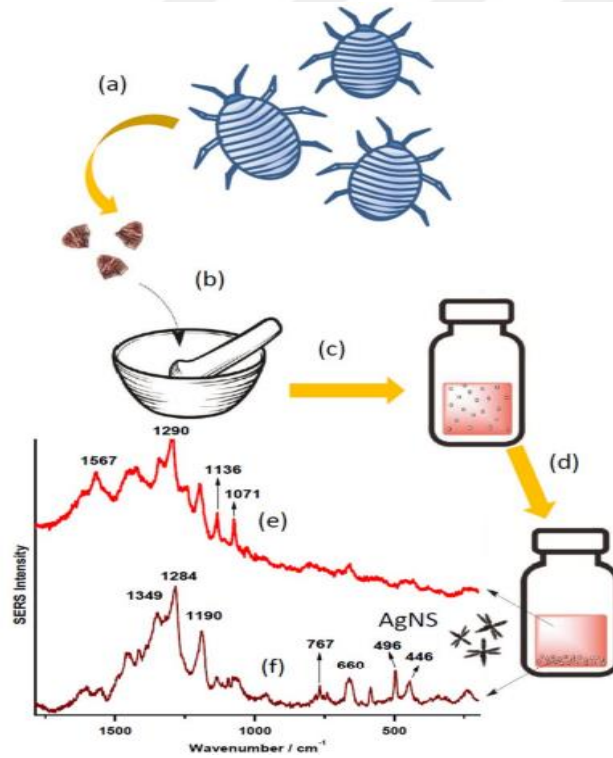
Orcein boyama histolojik uygulamalarda kullanılan doğal bir boyadır. Rocella tingtoria, orchella gibi liken türlerinden elde edilir. Likenlerde bulunan orselik asitin amonyak ve hava ile muamele edilmesi sonucunda orcein boyası elde edilmektedir. Orcein boyası histolojik uygulamalarda elastik lifleri, kromozomları ve bazı mikroorganizmaları göstermek için kullanılır. Bir bağ doku boyası olan bu boya doku bileşenlerinin net bir şekilde ayırt edilmesine olanak sağlar. Orcein elastik liflerin amino hidroksil gruplarına elektrositatik ve hidrojen bağları ile bağlanarak doku bileşenlerini mor – kahverengi boyar (Shikata ve diğerleri, 1974; Jain ve diğerleri, 1978).



Resim 8. Rocella Tingtoria bitkisi (Rabitsch ve diğerleri, 2020)

2.1.2.4. Karmin

Karmine boyası histolojik uygulamalarda kullanılan kosenil böceklerinden elde edilir ve hayvansal kaynaklı doğal bir boyadır. Kosenil böceklerinden sentezlenen karminik asit bu boyanın yapılması kullanılır. Karminik asit alüminyum ve kalsiyum tuzları ile kompleks bir yapı oluşturarak DNA ve RNA bileşenlerine elektrostatik bağlarla bağlanır. Karmin boyası hücre çekirdeklerini ve nükleoproteinleri belirginleştirmek için kullanılır ve kırmızı renk verir. Karmin boyası hücre çekirdeklerinin boyanmasının yanı sıra bitki hücrelerinde hücre duvarlarını ve lignin yapılarını göstermek içinde kullanılmaktadır (Altuğ, 2001; Dapson, 2006).

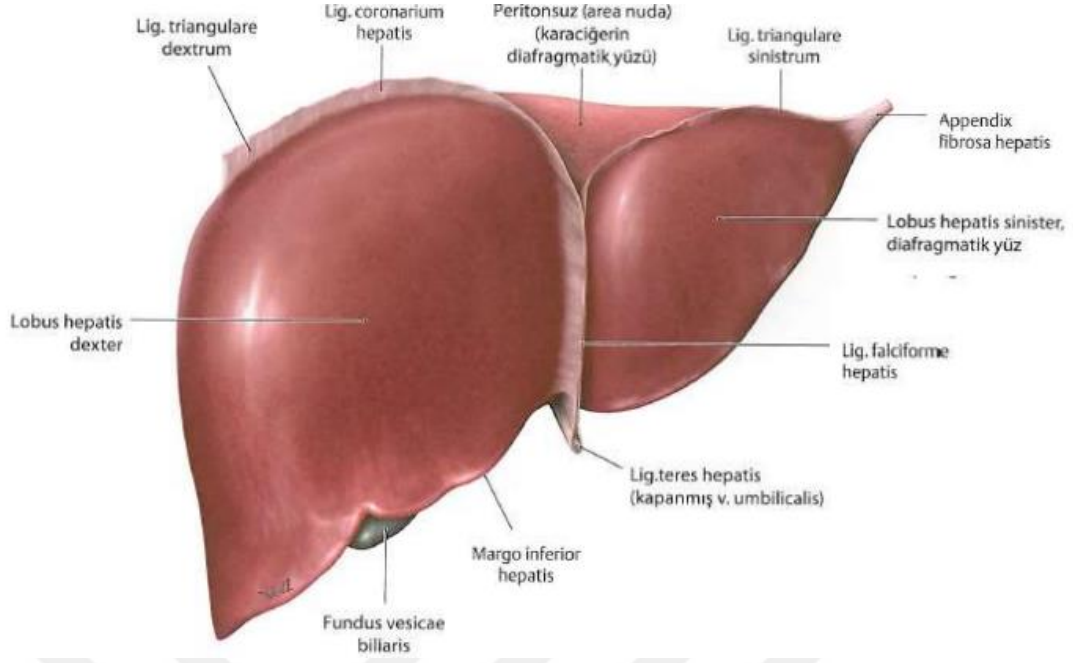


Şekil 2. Karmin böceğinden ekstrakt elde edilmesi kurutma (a), Öğütme (b), Su ile karıştırma (c), Filtreleme (d), Ag nanostarları ve süpernatandan elde edilen numune ile alınan SERS spektrumu (e), Elde edilen numune (f). (Celis ve diğerleri, 2021)

2.2. Karaciğer

2.2.1. Karaciğer Anatomisi

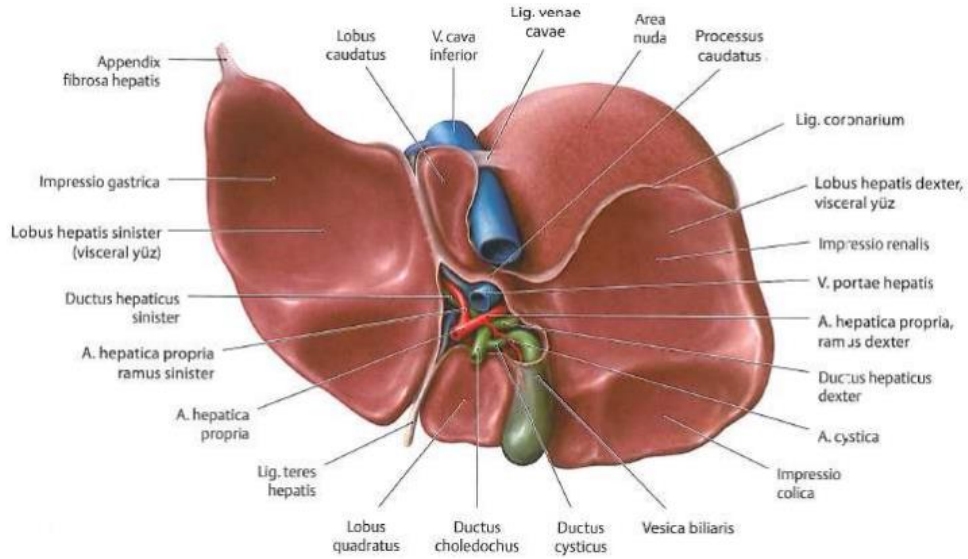
Karaciğer; insan vücudunda toplam vücut ağırlığının %2,5'ini kaplayan, yetişkinlerde ortalama 1500 gr ağırlığında olan normal fizyolojik homeostazın fonksiyonel bir şekilde sürdürülmesini sağlayan en büyük bezdir (Si-Tayeb ve diğerleri, 2010; Ozan, 2004; Karıncaoğlu, 2009). Karaciğer karın boşluğunun sağ üst tarafında ve diyaframın sol alt kısmında bulunur ve bağ dokusundan oluşan glisson kapsülü adı verilen kollojenöz bir zarla çevrilidir (Schulick, 2006; Kuran, 1983; Morteale ve Ros, 2001; Hosoyamada ve diğerleri, 2002; Acharya ve diğerleri, 2021). Glisson kapsülü tip I kolajen, küçük miktarda tip III kolajen, küçük kan damarları ve elastik liflerden meydana gelmektedir ve kapsülden içeriye doğru uzanan uzantılar sayesinde karaciğeri iki ayrı bölmeye ayırır (Aktümsek, 2004; Birvar ve Dergün, 1989; Blackburne ve diğerleri, 2001; Kuran, 1993). Karaciğerin temel anatomik yapısı iki ayrı ana lobdan oluşur ve bunlar lobus hepatis dexter (sağ lob) ve lobus hepatis sinister (sol lob) olarak adlandırılır. Lobus hepatis dexter, karaciğerin büyük bir kısmını oluşturur ve diyaframın (diaphragma) sağ altında yer alır. Sağ lob, vesica biliaris (safra kesesi) ve vena cava inferior ile komşudur ve ligamentum falciforme tarafından sağ ve sol lob birbirinden ayrılır (Gray, 2008; Moore ve Dalley, 2018; Gilroy, 2016; Perek ve Kapan, 2000). Lobus hepatis sinister ise daha küçüktür ve karaciğerin medial kısmında yer alır. Ligamentum teres hepatis ve ligamentum venosum tarafından sağ lobdan ayrılır (Netter, 2014). Sağ lobun visceral yüzü ise iki ayrı ek loba ayrılır. Bunlar Lobus quadratus, lobus caudatus olarak isimlendirilir (Yıldırım, 2002; Standring, 2016; Fischer, 2011; Sancak ve diğerleri, 2002). Lobus quadratus, karaciğerin alt yüzeyinde yer alır ve safra kesesi çukuru (fossa vesicae biliaris) ile yuvarlak bağ (ligamentum teres hepatis) arasında ve porta hepatis'in ön tarafında yer alır.



Şekil 3. Karaciğerin ön yüzü (Schünke ve diğerleri, 2009)

Lobus caudatus ise karaciğerin arka yüzeyinde, vena cava inferior ve ligamentum venosum arasında yer alır. Lobus caudatus bağımsız bir kan akışı ve safra drenajı sistemine sahip olması nedeniyle diğer loblardan ayrılır (Heller ve diğerleri, 2024; Arıncı ve Elhan, 1997; Moore ve Dalley, 2007). Karaciğer anatomik olarak iki adet yüzeye sahiptir ve bunlar diyafragmatik (facies diaphragmatica) ve visseral yüzeyler (facies visceralis) olarak adlandırılır. Karaciğerin üst kısmında bulunan facies diaphragmatica, diyafragma (diaphragma) ile komşudur. Sağ lobun büyük bir kısmını kapsar ve kostal bölgede yer alır (Moore ve Dalley, 2017; Standring, 2020). Visseral yüzey ise karaciğerin sağ lobunun alt bölgesinde safra kesesi (vesica biliaris) ile, sol lobun alt bölgesinde ise mide (ventriculus) ve duodenum ile temas halindedir (Gray ve Williams, 2016). Facies visceralis üzerinde ayrıca porta hepatis adı verilen ve karaciğerin damar ve sinirlerinin giriş çıkış yaptığı bölge yer alır. Bu bölge, hepatik arter (arteria hepatica), portal ven (vena portae) ve safra kanallarının geçiş noktasıdır (Arıncı ve Elhan, 2001; Moore ve Dalley, 2005; Kuran, 1983; Schulick, 2006). Karaciğerin kanlanması portal ven (vena porta) ve hepatik arter (arteria hepatica) adı verilen bu iki damar sayesinde olur. Hepatik arter abdominal aorttan köken alarak karaciğere kadar ulaşır ve oksijen zengin kanı taşır ve hepatik arterler sayesinde karaciğere kanın %20-25'i gelmiş olur (Netter, 2014; Rumack ve diğerleri, 2005; Kuran, 1983). Portal ven ise gastrointestinal sistemden gelen besinden zengin venöz kanın %75-80'ini taşır ve bu organlardan gelen kanı karaciğerin sinüzoidlerine iletir. Splenik ven ve superior mezenterik

ven birleşerek pankreas hizası boyunca ilerler ve pankreas başında inferior mezenterik veninde katılmasıyla portal ven meydana gelir (Townsend ve diğerleri, 2001; Abraham ve Kierszenbaum, 2006; Williams ve diğerleri, 1992; Junqueira ve diğerleri, 2009). Safra karaciğer dokusundaki hepatositler tarafından üretilir ve safra kanalları aracılığıyla dopalanmak üzere safra kesesine taşınır. Kanaliküller birleşerek interlobüler safra kanallarını meydana getirir ve bu kanallarda daha sonrasında birleşerek daha büyük bir kanal olan intrahepatik safra kanallarını meydana getirir. (Ross ve Pawlina, 2016; Netter, 2014). İntrahepatik kanallar birleşerek ana safra kanalı olan hepatik ductusu oluşturur. Hepatik duktus ise safra kesesinden gelen sistik duktus ile birleşerek ortak safra kanalı olan koledok duktusu oluşturur. Üretilen safra koledok duktus aracılığıyla ince barsağa iletilir (Mortele ve Ros, 2001; Karaliotas ve Broelsch, 2006).



Şekil 4. Karaciğerin arka yüzü (Schünke ve diğerleri, 2009)

2.2.2. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer, çeşitli fonksiyonel ve anatomik yapılardan oluşmakta olup, vücudumuzdaki en büyük ve en önemli metabolik organ olarak kabul edilmektedir (Ersoy, 2012). Yaklaşık 1500 gram ağırlığında olup vücut ağırlığının %2.5'ini oluşturan karaciğer, en büyük iç organ olarak nitelendirilmektedir. Abdominal kavitenin üst sağ ve üst sol kadranında konumlanmış olup, kaburgalar tarafından dış etkenlere karşı korunmaktadır. Fibröz bir bağ dokusu yapısında olan ve Glisson kapsülü olarak adlandırılan bir kapsül ile çevrelenmiştir. Karaciğerin diğer organlara veya diyaframa temas eden bölgeleri hariç, visseral periton ile kaplanmıştır (Kiernan, 2015; Mescher, 2019).

Karaciğer, vücuttaki en büyük bez olarak görev yapar ve dört adet lobdan oluşur. Karaciğerin dışını kaplayan seröz zar, visseral periton olarak adlandırılır. Karaciğerin iç kısmında ise elastik lif ve kollajen içeren Glisson kapsülü bulunur. Glisson kapsülü, karaciğerin şeklinin korunmasına ve dışarıdan desteklenmesine yardımcı olur. Karaciğerin iç tarafında bulunan bağ dokusu, lobüllerin oluşumunu sağlar. Lobüllerin kesiştiği alanlarda bağ dokusu kalınlaşarak üçgen şekilli portal alanlar oluşturur. Kesişen bu yerlerde portal ven, hepatik arter ve safra kanalı yer alır. Karaciğerin parankiması, lobüllerin merkezinde bulunan hepatosit olarak adlandırılan hücrelerden meydana gelir. Hepatositler, sinüzoid kapillerlerle birleşerek klasik karaciğer lobülünü oluşturur. Klasik lobüllerin köşelerinde ise portal kanallar bulunur. Karaciğerin histolojik yapısı, bu stroma ve parankima unsurlarına dayanır (Göç, 2019; Trefts ve diğerleri, 2017). Karaciğerin yapısı, fonksiyonel mekanizma olarak üç farklı şekilde gösterilmektedir: klasik lobül, portal lobül ve karaciğer asinüsü. Genellikle klasik lobül, karaciğer parankimini tanımlamak için kullanılmaktadır ve diğerlerine göre daha kolay görüntülenebilir. Örneğin, domuz gibi bazı hayvanlarda portal alanlar kalın bağ dokusu ile çevrili olduğundan kolayca tanınabilmektedir; ancak insanda bu durum söz konusu değildir. Lobüllerin boyutları 2,0 x 0,7 mm'dir (Ross ve Pawlina, 2014; Gouw ve diğerleri, 2019).

Lobüllerin merkezinde, sinüzoidlerden gelen kanı toplayan santral ven bulunmaktadır. Altıgen şeklindeki lobüllerin köşelerinde portal triadlar yer almaktadır. Sinüzoidleri dolduran kan, portal triadlarda bulunan arter ve ven damarlarından gelmektedir. Altıgen köşelerdeki portal triad elemanlarını çevreleyen gevşek stromal bağ dokusu ile karakterize portal kanallar bulunmaktadır. Bu portal kanallar, lobüllerin en dış kısmındaki hepatositlerle sınırlıdır. Portal kanal ile hepatositler arasındaki boşluk, periportal aralık veya Mall aralığı olarak

adlandırılmaktadır ve bu aralık karaciğerde lenfin başlangıç noktasıdır (Ross ve Pawlina, 2016).

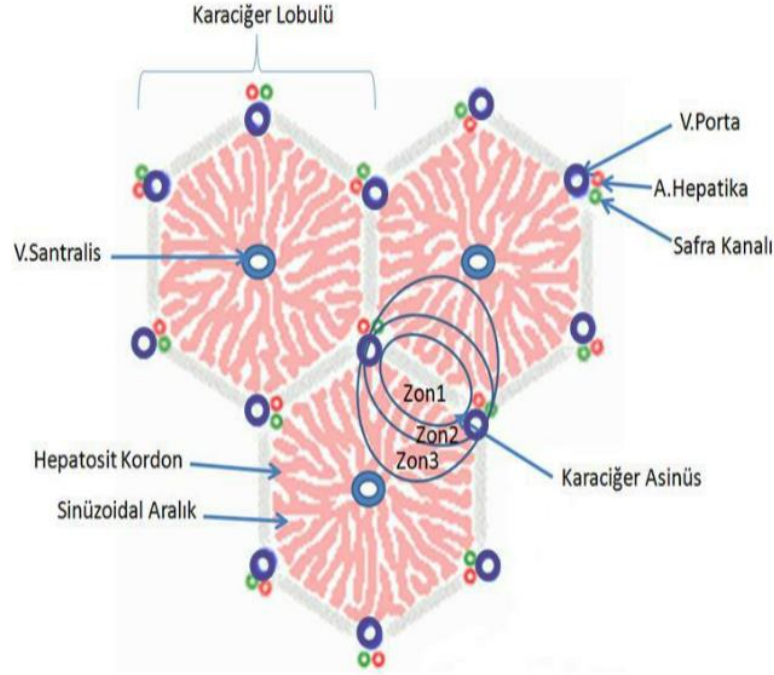
Portal lobülün merkezinde, portal triadın bir parçası olarak interlobüler safra kanalı bulunmaktadır. Portal lobülün en yakınında bulunan üç santral ven, lobülün kenarlarında yer alır ve bu venler arasında hayali bir çizgi çizilir. Bu üçgen alan, safra üretiminin gerçekleştiği ve merkezdeki safra kanalına drene olan safra üretim bölgesini tanımlar. Bu yaklaşım, diğer ekzokrin bezlerde olduğu gibi, periferden üretilen salgı maddesinin merkezdeki toplayıcı kanala döküldüğünü göstermek amacıyla kullanılmaktadır (Young ve Heath, 2000 ; Ross ve Pawlina, 2014).

Yukarıda bahsedilen iki yöntem, karaciğer perfüzyonunu, metabolik aktiviteyi ve karaciğer patolojilerini açıklamakta yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, oksijen perfüzyonunu veya patolojileri belirlemek için daha işlevsel olan karaciğer asinüsü tanımlanmıştır (Mescher, 2018). Bu tanımlamada, karşılıklı olarak iki portal triad ve iki santral ven temel alınır. Bu dört yapı arasında hayali bir çizgi çizilir ve dörtgen bir alan oluşturulur. Bu yapısal alan, kanlanma miktarına göre üç bölgeye (zona) ayrılır (Akbulut, 2021).

Zon 1- Bu bölge, portal triad alanlarına en yakın yerdedir. Kan akışı asinüsün periferinden merkezine doğru olduğundan, bu zonda oksijen bakımından zengin kan miktarı en fazladır. Zon 1'deki hücreler, lobül içinde en aktif olan hücrelerdir. Glikojen burada yoğun olarak depolanır ve açlık durumunda glikozu kana ilk olarak bu hücreler salgılar. Ayrıca, kandan gelen toksik maddelerle de ilk temas eden hücrelerdir.

Zon 2- Bu bölgedeki hücreler, Zon 1'deki hücrelere göre daha az oksijenlenir ve dolayısıyla daha az aktiftir.

Zon 3- Bu bölge, santral vene en yakın hücre topluluklarını içerir. Zon 1 ve Zon 2'deki hücrelere göre daha az aktif olan bu hücrelerin organelleri daha az gelişmiştir. Karaciğerdeki patolojik ve fizyolojik yağ birikimi bu bölgedeki hücrelerde daha belirgindir. Zon 3'teki hücreler, karaciğer nekrozunun ilk belirtilerini gösteren hücrelerdir (Trefts ve diğerleri, 2017; Ross ve Pawlina, 2016; Godoy ve diğerleri, 2013).

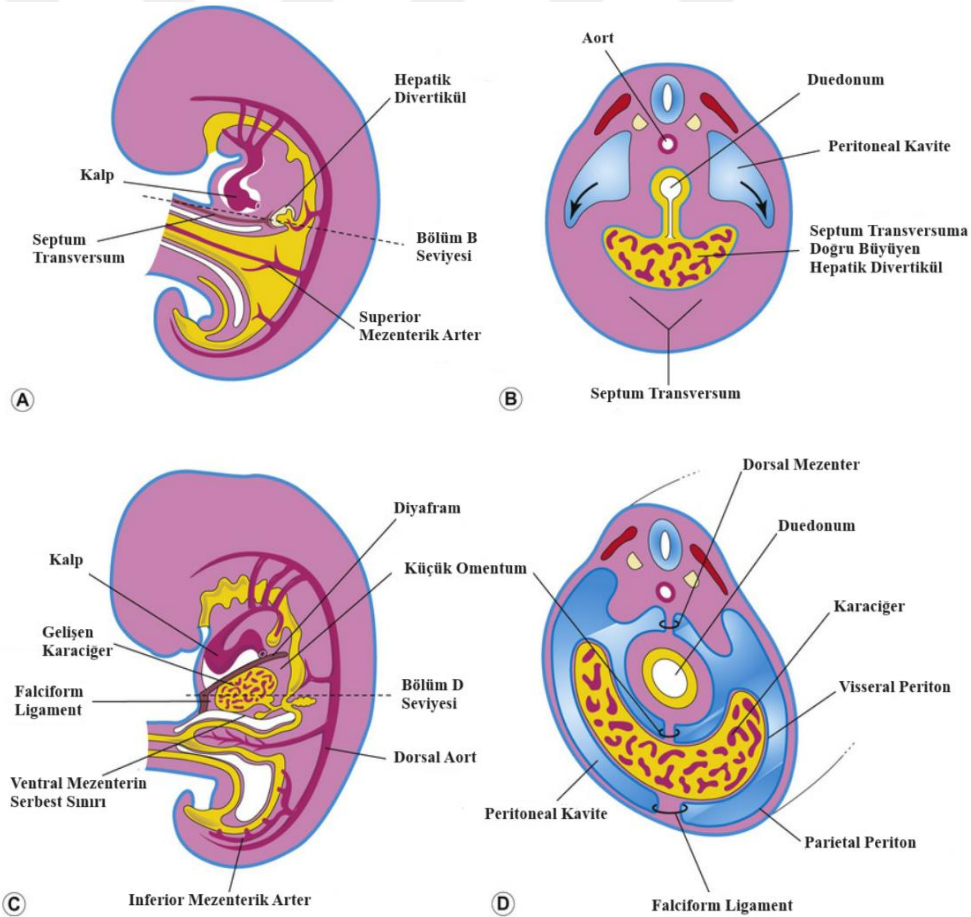


Şekil 5. Karaciğer dokusunda lobüller ve zonlar (Akbulut ve diğerleri, 2008)

2.2.3. Karaciğer Embriyojisi

Karaciğer embriyogenezin erken aşamalarında gelişen ilk organlardan biridir. Embriyonun yaklaşık üçüncü haftasında ön bağırsağın distal ucunda endodermal kökenli olan hepatik divertikülden gelişir. Hepatik divertikül karaciğer tomurcuğu ya da hepatik halka olarak da adlandırılır (Eşrefoğlu ve diğerleri, 2017; Moore ve diğerleri, 2002). Hepatik divertikül kranial ve dorsal plak olarak ikiye ayrılır. Kranial plak karaciğerin ilk taslağı olarak bilinir. Hepatik divertikül hücreleri septum transversum içine doğru uzanarak safra kanallarını meydana getirir. Gelişimin ilerleyen aşamalarında safra kanallarından oluşan ventral çıkıntı ise safra kesesi ve sistik kanalı meydana getirir (Sadler, 2002; Strazzabosco ve Fabris, 2012; Mills, 2012). Karaciğer hızlı büyüyen bir organdır ve epitel hücrelerinin hızla çoğalmasıyla hepatik kordonlar meydana gelir. Hepatik kordonlar ise sinüzoidleri meydana getirir. Karaciğer kordonları parankimi meydana getirir ve bu kordonlar safra kanalını döşer. Hematopoetik hücreler, kupffer hücreleri ve bağ dokusu hücreleri septum transversumdan gelişen mezenkimal kökenli hücrelerdir (Souba ve Wilmore, 2001; Lade ve Monga, 2011). Karaciğer hücreleri septum transversumu tümüyle kapladığında karaciğer karın boşluğunun kaudal yönünde büyümeye başlar. Septum transversum mezodermi karaciğer ile duodenum

arasında kalan bölgeyi ve karaciğer ile karın ön duvarı arasında kalan bölgeyi membranöz bir yapı haline getirir. Bu membranöz yapı ise omentum minus ve ligamentum falciforme hepatisi oluşturmaktadır. Bu iki ligament ön bağırsak ve ön karın duvarı arasında birleşerek peritoneal bağlantıyı oluşturmaktadır. Bu bağlantıya ventral mezogastrium adı verilir (American Gastroenterological Association, 2002). Karaciğer yüzeyindeki mezoderm tabakası üst yüzeydeki küçük bir alandan viseral peritona dönüşür. Bu yapı septum transversumun bir parçasıdır ve mezenkimal hücrelerden oluşur. Bu yapı ilerleyen aşamalarda diyaframın tendinöz parçasını oluşturur. Diyaframla temas edecek olan bu yapı peritona sahip değildir ve karaciğerin çıplak yüzeyi olarak adlandırılır. Karaciğerin hematopoetik fonksiyona sahip olması ve 12. Haftadan itibaren safra üretmeye başlaması en önemli fonksiyonlarından (Moore ve diğerleri, 2002; Sadler, 2002; Kayalı, 1992).

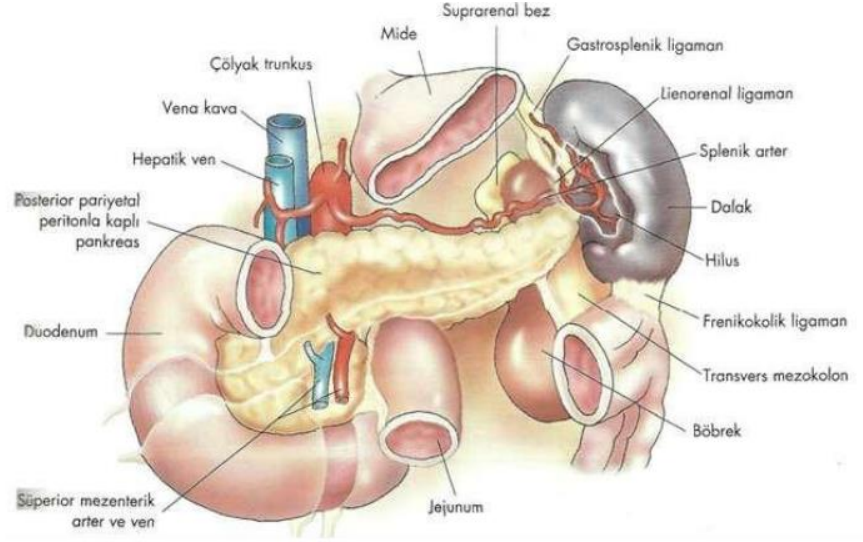


Şekil 6. Karaciğerin erken gelişimi. 4 haftalık embriyonun orta kısmı (a), Periton boşluğunun genişlemesini gösteren embriyonun enine kesiti (b), 5 haftalık embriyonun saggital kesiti (c), Dorsal ve ventral mezenterin oluşumundan sonra embriyonun çapraz kesiti (d) (Moore ve diğerleri, 2013).

2.3. Dalak

2.3.1. Dalak Anatomisi

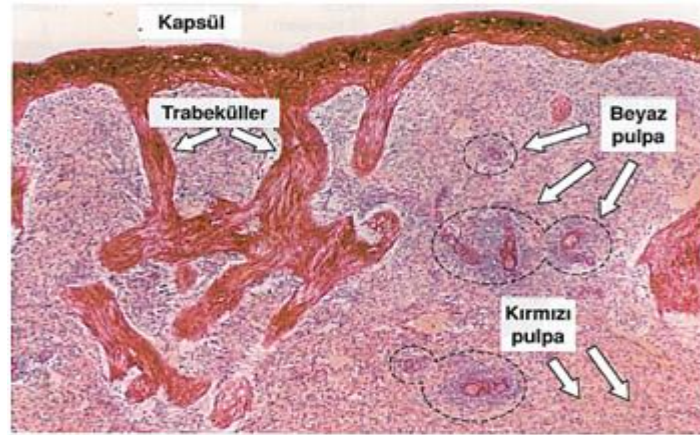
Dalak anatomik olarak karının sol üst kadranında 9. ve 11. kostalar hizasında bulunur. Düz oval şekillidir ve koyu kırmızı bir organdır. Dalak vücutta bulunan en büyük lenfoid organlardan biridir. Erişkinlerde 12 cm uzunluğunda, 7 cm genişliğinde, 3-4 cm kalınlığında ve 150-200 gr ağırlığındadır (Riva ve diğerleri, 2019; Arıncı ve Elhan, 2001; Engin, 2000). Anatomik olarak dalağın etrafı fibröz bağ dokudan oluşan bir kapsülle çevrilidir. Bu kapsül, bazı bölgelerde organın içine doğru girer ve iç yapısını destekleyen trabeküller oluşturur. Dalağın iki yüzeyi, iki kenarı ve iki ucu vardır. Dışa doğru kıvrılan ve diyaframın karşısında bulunan yüzeye *facies diaphragmatica* denir. Dalağın iç yüzeyinde bulunan mide, sol böbrek, kolon gibi organlara komşu olan yüzüne ise *facies visceralis* denir. *Facies visceralis* yüzeyinden damar ve sinirlerin geçtiği bölgeye *hilum lienalis* denir ve alt kenara daha yakındır. Midenin arka yüzüne yakın olan ve *facies visceralis*in üst kısmında kalan çukur bölgeye '*facies gastrica*' adı verilir. Dalağın iç yüzeyinde yer alan ve böbreğin sol tarafına yakın olan yüzüne ise '*facies renalis*' adı verilir. Dalağın üst kenarı '*margo superior*' ve alt kenarı '*margo inferior*' olarak bilinir. Ayrıca, dalağın iki ucu vardır: ön uç '*extremitas anterior*' ve arka uç '*extremitas posterior*' olarak adlandırılır. Dalağın başlıca ligamentleri bulunmaktadır. Bu ligamentler dalağın karın boşluğunda sabit kalmasına komşu organ ve karın boşluğuna bağlanmasına yardımcı olur. Gastrosplenik ve splenorenal ligamentler büyük ligament, splenofrenik ve splenokolik ligamentler ise küçük ligamentler olarak geçer (Marieb ve Hoehn, 2018 ; Ross ve Pawlina, 2014; Porembka ve diğerleri, 2009).



Şekil 7. Dalağın anatomik gösterimi

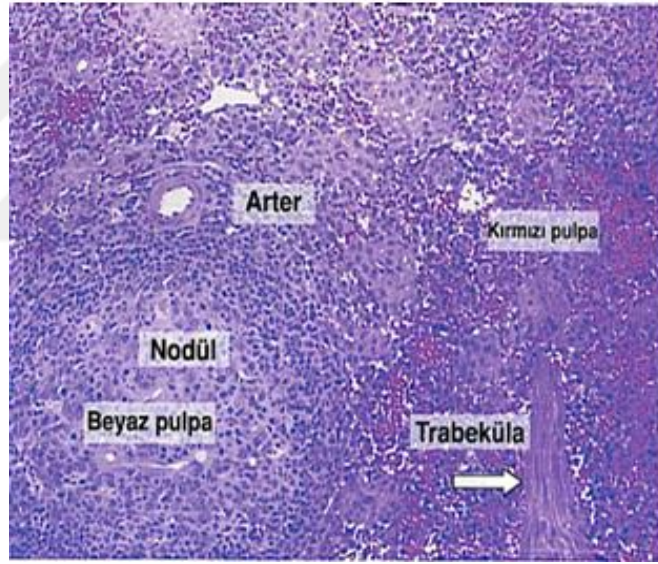
2.3.2. Dalak Histolojisi

Dalak, insan vücudundaki lenfatik ve bağışıklık sistemlerinin önemli bir parçasıdır. Dalak, sıkı bağ dokusu yapısında sarılı bir kapsülle çevrilidir ve parankimi, birbirine bağlı trabekülleri olan dalak pulpasına ayrılmıştır. Dalak, orta çizgi hizasındaki hilumda kapsül üzerinde çok sayıda trabekül bulundurur; bu trabeküller, dalak pulpasına sinirleri ve arterleri taşır (Mescher, 2018). Parankimde oluşan venler ve bağ dokusundan başlayan lenfatik damarlar, hilumdan organı terk ederler. Dalak pulpasında lenf damarları bulunmaz (Özer, 2023; Porembka ve diğerleri, 2009).



Şekil 8. Dalak dokusunda trabekül beyaz pulpa ve kırmızı pulpa (Jungueira, 2003)

İnsanlarda dalak, bağ dokusundan oluşan bir kapsül ve trabeküllerle çevrili, yumuşak ve morumsu renkte bir organdır. Kapsül ve trabeküllerde az sayıda düz kas hücresi bulunurken, dalağın işlevini yerine getiren asıl doku retiküler dokudur. Retiküler doku, lenfoid hücreler, makrofajlar ve antijen sunan hücreler gibi bağışıklık sisteminin önemli hücrelerini barındıran bir ağ örgüsü oluşturur. Bu hücreler, kan dolaşımından gelen eski ve hasarlı kırmızı kan hücrelerini filtreleyerek yok etme, enfeksiyonlarla savaşıma ve bağışıklık sistemini güçlendirme gibi önemli görevler üstlenirler (Devi, 2016). Dalak pulpası, taze dalakta çıplak gözle görülebilen beyaz noktalar barındırır. Bu noktalar, lenf nodülleri olarak adlandırılır ve beyaz pulpanın bir kısmını oluşturur. Lenf nodülleri, kanla dolu ve koyu kırmızı renkte olan kırmızı pulpa ile çevrilidir. Mikroskop altında düşük büyütme kullanıldığında, kırmızı pulpanın sinüzoidler arasında uzanan dalak kordonları tarafından oluşturulduğu gözlemlenir (Özer, 2023).



Şekil 9. Dalak kesiti (Jungueira, 2003)

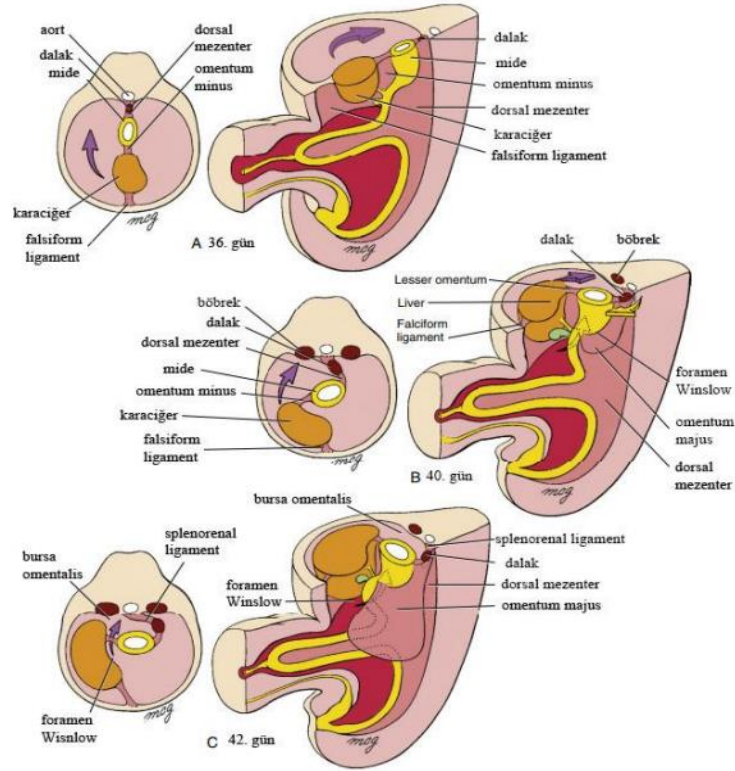
Beyaz pulpa, santral arterleri ve kılıfları çevreleyen lenfoid dokudan oluşur. Bu arterleri çevreleyen temel hücreler T lenfositleridir ve periarteriyel lenfatik kılıfları (PALS) oluştururlar. Lenf nodülleri ise ağırlıklı olarak B lenfositleri içerir. Beyaz ve kırmızı pulpa arasında yer alan, sinüzlerin yoğun olduğu gevşek lenfoid dokuya marjinal zon denir (Devi, 2016; Karaçalı, 2003; Valli ve diğerleri, 2002). Bu bölgede bol miktarda aktif makrofaj ve az sayıda lenfosit bulunur. Kandaki antijenlerin toplandığı bu bölge, dalağın bağışıklık fonksiyonunda kritik bir rol oynar. Periarteriyel lenfatik kılıfın artere yakın iç kısmında

bulunan lenfositler, timus kaynaklı T lenfositleridir. Buna karşın, marjinal zon ve nodüller, yani periferik beyaz pulpa, B lenfositlerini barındırır.

Kırmızı pulpa, dalak kordonları ve venöz sinüzoidlerden oluşur. Dalak kordonları, tip III kolajen olan retiküler liflerle desteklenmiş gevşek bir retiküler hücre ağı içerir. Bu kordonlar, makrofajlar, lenfositler, plazma hücreleri ve çok sayıda kan hücresi (eritrosit, trombosit ve granülositler) barındırır. Dalak sinüzoidleri ise uzun eksenleri sinüzoidin uzun eksenine paralel yerleşmiş yassı endotel hücreleriyle kaplanmıştır (Mescher, 2018; Cesta, 2006; Kuper ve diğerleri, 2013).

2.3.3. Dalak Embriyolojisi

Dalak gestasyonun 5. Haftasından itibaren gelişmeye başlayan ve dorsal mezenterin sol tarafında bulunan mezenşimal hücrelerden köken alan lenfatik bir organdır (Porembka ve diğerleri, 2009; Varga ve diğerleri, 2009). Dalağın primordiumunda bulunan mezenşimal hücreler dalak kapsülünü, bağ dokusunun çevresini ve parankimayı oluşturur. Dalak taslağını sarmalayan sölom mezotel ise kapsülün üzerinde bulunan peritonu oluşturur. Dalak kırmızı kan hücrelerini meydana getiren hematopoetik kan yapıcı bir organdır. Midenin rotasyon hareketi ile birlikte dalak dorsal mezenter geliştikçe, midenin sol tarafının arkası, sol böbreğin üst tarafının arka yüzüne yerleşir. Mide ile dalak arasında kalan dorsal mezenter kısmı lig. Gastrolienale, dalak ise sol böbrek arasında kalan kısmını ise lig. Lienorenale meydana getirir. Ligamentler dalağın anatomik olarak pozisyonunu ve hareketliliğini belirler. Gelişimin 13. haftalarında lenfoid yapılar dalak gelişimini destekler. 24-28. haftalarda ise kırmızı ve beyaz pulpa ortaya çıkar. 28. haftada ise dalak tipik yapısını kazanmış olur (Sadler, 2012; Arıncı ve Elhan, 2001).



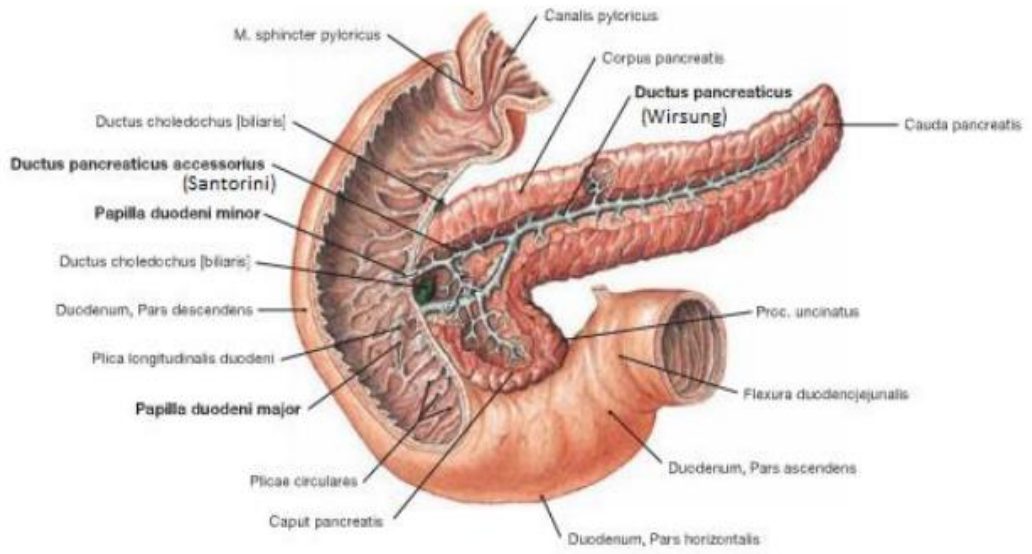
Şekil 10. Dalak organının gelişimi (Gartner ve Hiatt, 2011)

2.4. Pankreas

2.4.1. Pankreas Anatomisi

Pankreas karın boşluğunda midenin arkasında ve duodenumun yanında yer alan yumuşak, sarımsı ve hafif kırmızı renkte, yaklaşık 15-20 cm uzunluğunda, 1-1,5 cm kalınlığında, 70-120 gr ağırlığında bir organdır. Hem ekzokrin hem de endokrin fonksiyonlara sahiptir. Pankreas baş (Caput Pancreatis), boyun (Collum Pancreatis), gövde (Corpus Pancreatis) ve kuyruk (Cauda Pancreatis) olmak üzere dört bölümden oluşmaktadır (Gökmen, 2003; Standring, 2008; Borley, 2005). Duodenumun C şeklindeki kavisli yapısının içerisinde yer alan ‘Caput pancreatis’in kanlanması superior ve posterior Pancreaticoduodenalis arterler tarafından sağlanır. ‘Collum pancreatis’ ‘Caput pancreatis’ ile ‘Corpus pancreatis’ arasında superior mezenterik arter, superior mezenterik ven ve hepatik portal ven arkasında yer alır. ‘Corpus Pancreatis’ midenin arkasında L1-L2 vertebralar arasında yer alan pankreasın en geniş bölümüdür. ‘Corpus Pancreatis’ pankreas boynunda yer alan ‘bursa omentalis’ ile

komşuluk yapar ve bu sayede midenin arka duvarına yapışıktır. Pankreas gövdesinin üst arka kısmından ise splenik ven ve splenik arter geçmektedir. Bu bölgenin beslenmesi ise splenik arterlerden gelen küçük dallar sayesinde olur. ‘Cauda Pancreatis’ periton ile kaplıdır ve dalak hilumuna kadar uzanmaktadır. ‘Wirsung kanalı’ pankreasın ana kanalıdır ve pankreasın kuyruğunda başlayıp gövde ve boyun üzerinden geçerek baş kısmında majör duodenal papilla’ya ulaşır. Pankreasın aksesuar kanalı olarak da bilinen ‘Santorini kanalı’ ‘ductus pancreaticus’tan başlayarak minör duodenal papilla’ ya ulaşır (Moore ve Dalley, 2018; Arıncı ve Elhan, 2006; Standring, 2020).

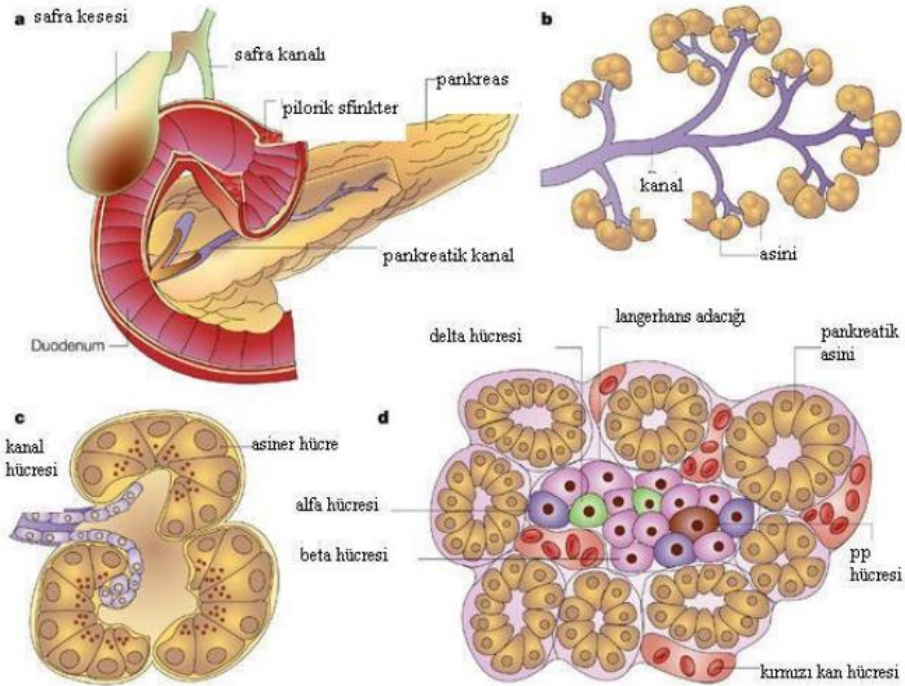


Şekil 11. Pankreas anatomisi (Paulsen ve Waschke, 2018)

2.4.2. Pankreas Histolojisi

Pankreas histolojik olarak embriyonik gelişim sürecinde, gestasyonun dördüncü haftasında foreguttan (ön bağırsak kaudal kısmı) hepatik divertikül ve dorsal pankreas tomurcuğuyla başlamaktadır (Zhang, 1999; Moore ve diğerleri, 2016; Schoenwolf ve diğerleri, 2009). Histolojik olarak pankreas hem sindirim enzimlerini hem de hormonları üreten karışık bir bez olup, endokrin ve ekzokrin işlevleri vardır. Retroperitoneal konumda bulunan pankreas, baş, boyun ve kuyruk olmak üzere üç ana bölgeden oluşur. Baş kısmı duodenuma bağlanır, gövde kısmında Wirsung kanalı pankreas boyunca uzanır, kuyruk kısmı ise dalak hilusuna yakındır. İnce ve gevşek bir bağ doku kapsülü ile çevrelenen pankreas, bu kapsülden içeri uzanan bağ doku septumları ile lobüllere ayrılır (Aşır, 2021; Ross ve Pawlina,

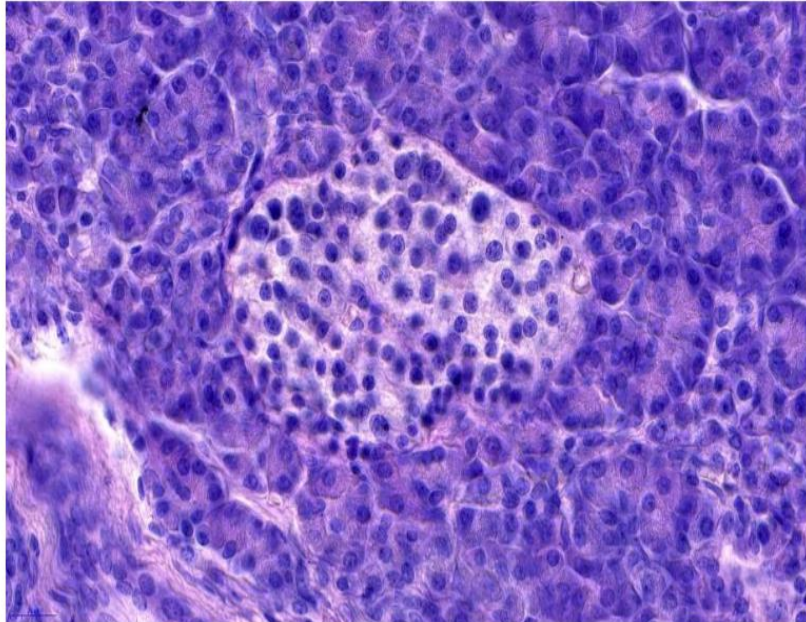
2014). İnterlobüler bağ doku septumları boyunca pankreasın boşaltım kanalları, kan damarları ve sinirler geçer. Pankreasın ekzokrin kısmı, endopeptidazlar, ekzopeptidazlar, alfa amilaz ve nükleolitik enzimler gibi sindirim enzimlerini salgılayan saf seröz tübüloalveoler bezlerden meydana gelir. Endokrin kısmı ise, kan glukoz seviyesini düzenleyen insülin ve glukagon hormonlarını salgılayan Langerhans adacıklarından oluşur (Ross ve Wojciech, 2011; Junqueira ve diğerleri, 1990; Koçar ve diğerleri, 2004). Pankreasın ekzokrin kısmı, sindirim enzimlerini salgılayan seröz asinus hücrelerinden ve bu salgıları bağırsak lümenine ileten boşaltım kanallarından meydana gelir. Piramidal şekilli asinus hücreleri yuvarlak çekirdekler taşır. Hücrelerin bazal bölgeleri, bol miktarda granüler endoplazmik retikulum (GER) içermesi nedeniyle bazofilik, apikal bölgeleri ise sindirim enzimleri öncülerini barındıran salgı granülleri nedeniyle eozinofilik olarak boyanır. Bu hücreler birleşerek asinus yapısını oluşturur ve bazal sitoplazma ile çevrenirler (Aşır, 2021; Young ve diğerleri, 2014).



Şekil 12. Pankreas anatomisi (a), Ekzokrin pankreas (b), Tek bir asinüs (c), Ekzokrin doku içerisindeki pankreatik adacık (d) (Bardeesy ve Depinho, 2002)

Asinus hücrelerinin apikal sitoplazmalarında tripsinojen, kemotripsinojen, prokarboksipeptidaz, proaminopeptidaz, alfa amilaz, lipaz, deoksiribonükleaz ve ribonükleaz gibi pankreatik sindirim enzimi öncülleri bulunur. Bu enzimler, inaktif formda olup tripsin tarafından aktif hale getirilir. Pankreasın ekzokrin fonksiyonları, entero endokrin hücrelerin salgıladığı sekretin ve kolesistokinin tarafından düzenlenir (Mescher, 2013; Guyton ve Hall, 2006).

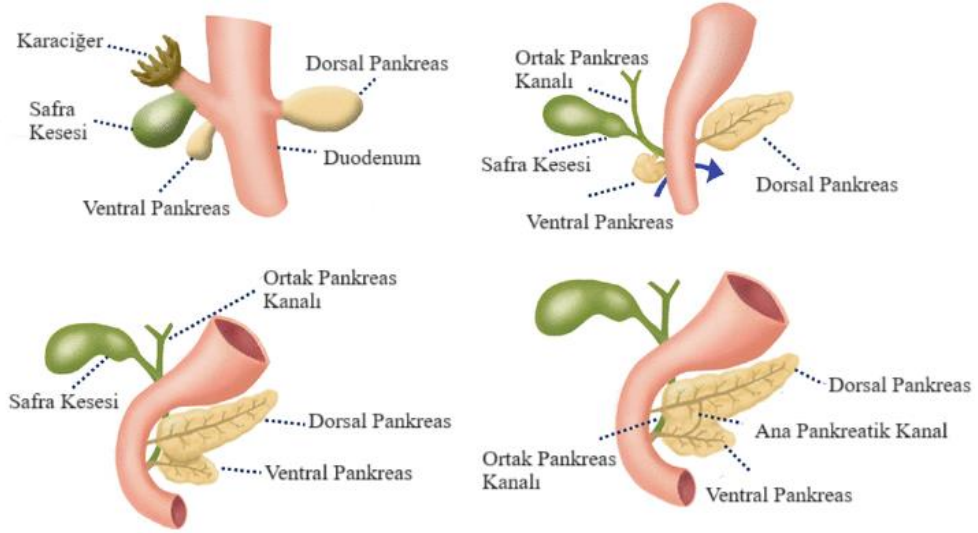
Pankreasın endokrin kısmı, Langerhans adacıkları olarak adlandırılan hücre kümelerinden oluşur. Bu adacıklar, hormon salgılayan hücre gruplarını ve salgılanan hormonların dolaşıma geçtiği kan kapillerlerini içerir. Asiner hücrelere göre daha soluk renkte boyanan bu hücreler, alfa, beta ve delta hücreleri gibi önemli hücre tiplerini barındırır. Adacıkların periferinde bulunan alfa hücreleri, düşük kan glikoz seviyesine yanıt olarak glukagon hormonu üretirler (Goldman ve Schafer, 2011 ; Aşır, 2021; Eroschenko, 2001). Beta hücreleri, adacık hücrelerinin büyük bir kısmını oluşturur ve adacıkların merkezinde yer alır. Bu hücreler, yüksek kan glikoz seviyelerine yanıt olarak insülin hormonu üretir. Delta hücreleri ise adacıkların çevresinde bulunur ve insülin ile glukagon hormonlarına karşı inhibitör etkisi olan somatostatin hormonunu salgılar (Ross ve Wojciech, 2011; Gartner ve Hiatt, 2007).



Resim 9. Langerhans adacığı histolojik görüntüsü (Jain ve Hrudka, 2023)

2.4.3. Pankreas Embriyoloji

Pankreas intrauterin yaşamın 4. ile 7. haftaları arasında duodenum iç bölümünde yer alan endoderm hücrelerinin ventral ve dorsal pankreas tomurcuklarına dönüşmesiyle gelişmeye başlar. Dorsal pankreatik tomurcuk dorsal mezenter tarafından gelişmeye başlayan ilk yapıdır. Daha sonra safra kanalının duodenuma giriş yaptığı noktaya yakın bir konumda ventral pankreatik tomurcuk ortaya çıkar ve ventral mezenterin yaprakları arasında hızla büyümeye başlar. Ventral ve dorsal pankreas 6. haftada birbirlerine yaklaşırlar. Bu yaklaşmanın sonucunda ventral tomurcuk duodenumun sağına doğru 270 °C döner ve dorsal tomurcuk da aynı şekilde duodenumun sağına doğru 90 °C dönerek yeniden şekillenir. Böylelikle pankreas taslağı meydana gelir (Söker ve Aşır , 2019; Larsen, 1997; Ball ve Barber, 2003). Pankreas başının büyük bir çoğunluğunu ventral tomurcuk oluşturmaktadır. Gelişimin ilerleyen haftalarında ventral pankreatik ile dorsal pankreatik tomurcuğunun birleşmesiyle kanal yapıları meydana gelmektedir. Ventral tomurcuk kanalı ‘Wirsung kanalı’ adı verilen pankreas kanallarını oluşturmaktadır ve bu kanallar safra kanalları ile birleşir. Pankreasın gövdesini ve kuyruk tarafını dorsal tomurcuk meydana getirir ve dorsal tomurcuk kanalı aksesuar pankreas kanalı adı da verilen ‘Santorini kanalını’ oluşturmaktadır. Bu kanal duodenuma açılmaktadır. Pankreas tomurcuklarının endoderminden tübüler bir ağın gelişmesiyle pankreas parankiması meydana gelir. Daha sonra bu hücrelerin uçlarından pankreatik asinus hücreleri meydana gelir. Langerhans adacıkları, fetal dönemin 3. ayında farklılaşarak pankreas içinde yerleşir. 8-9. haftalarda başlayan ilk hücresel farklılaşma, Langerhans adacıklarında alfa ve delta hücrelerinin oluşumunu sağlar. Glukagon ve somatostatin salgılayan ve endodermal hücrelerden meydana gelen alfa ve delta hücreleri ise gelişimin 14-15. haftalarında oluşmaya başlar (Skandalakis, 2008; Moore ve diğerleri, 2016; Özmen, 2011; Jeon ve diğerleri, 2009; Sadler, 2012).



Şekil 13. Pankreas embriyolojisi (Casillas ve diğerleri, 2015)

2.5. Safran

İran safranı Iridaceae familyasına ait olan *Crocus Sativus* L. Bitkisinin kurutulan stigmalarından elde edilen bir baharattır. *Crocus Sativus* bitkisi beslenme ve tıbbi uygulamalarda çoğunlukla tercih edilen bir bitkidir ve gıda endüstrisinde gıda katkı maddesi olarak, giyim endüstrisinde renklendirici boya olarak kullanılmaktadır (Mazidi ve diğerleri, 2016; Tamaddonfard ve diğerleri, 2012). Ortadoğu ve Güney Asya’da yetişen kırmızı altın olarak adlandırılan bu bitki en yaygın olarak İran’da yetişmektedir (Talaie ve diğerleri, 2015; Cardone ve diğerleri, 2020).



Resim 10. *Crocus Sativus* L. çiçeği ve stıgması (Alhumaydhi ve diğerleri, 2021)

Safranın tıbbi kullanımları arasında antihipertansif, antidepresan afrodizyak, antioksidan, antikanser, antienflamatuvar gibi etkileri yer almaktadır (Bukhari ve diğerleri, 2018; Giaccio, 2004). Safranın üç tür kimyasal bileşeni bulunmaktadır. Bunlar; crocin, picrocrocine ve safranal'dır. Crocin safranın karakteristik kırmızı renginden sorumlu olan 20 karbonlu karotenoid bir pigmenttir ve suda çözünbilmektedir. Crocin safranın tepeciğinde bulunur ve karbonhidrat içeren bir bileşiktir (Shahi ve diğerleri, 2016; Bathaie ve Mousavi, 2010; Farkhondeh ve diğerleri, 2018). Picrocrocine safrana acı tadını veren bileşiktir ve safranın işlenmesi sırasında safranal formuna ayrışır. Safranal ise safranın lezzet aromasından sorumlu olan bileşiktir (Rezaee ve Hosseinzadeh, 2013; El Midaoui ve diğerleri, 2022). Safran histolojik uygulamalarda doku boyamalarında bağ dokusu bileşenlerini, kollajen lifleri ve hücre hasarlarını tespit etmek ve göstermek amacıyla tercih edilmektedir (Edston ve Gröntoft, 1997; Pearse, 1983; Ceccopieri ve diğerleri, 2021). Safran bitkisi suda çözündüğünde sarı renk vermektedir. Crocinlerin sarı rengi vermesi dikarboksilik asit, krosetin mono- ve diglikosil esterlerini içermesinden kaynaklanmaktadır. Safranın ana kırmızı – sarı rengini oluşturan pigment crocin-1'dir ve hidrofilik anyonik bir yapıya sahiptir (Bolhasani ve diğerleri, 2005; Ruiz-Anchondo ve diğerleri, 2010). Crocin-1 turuncu sarı rengi verir ve etanol, eter gibi maddelerde kolaylıkla çözünbilmektedir. Crocinlerin seyreltilmesi sonucu hidrolize edilen karboksilik asit sonunda crosetin elde edilir ve polien zincirinin iki ucunda karboksil grubu içerdiğinden boyamalarda asidik boya olarak kullanılır (O' Neil ve diğerleri, 2001; Lillie, 1977; Wang ve diğerleri, 2009). Asidik boyalar doku proteinlerine aminoasitler ile amin grupları arasında elektrostatik bağlar kurarak seçici olmadan dokuyu boyamaktadırlar (Horobin, 2013; Jones, 2010).

2.6. Kurkumin

Kurkumin Zingiberaceae familyasına ait olan zerdeçal (*Curcuma Longa*) bitkisinin rizomlarından elde edilen polifenol bir bileşiktir (Lakhan ve diğerleri, 2015; Amalraj ve diğerleri, 2017; Soleimani ve diğerleri, 2018). *Curcuma longa* bitkisi gıda endüstrisinde, kozmetik sektöründe, tıbbi uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bitki antienflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, bağışıklığı düzenleme gibi etkileri sayesinde birçok hastalık tedavisinde öne çıkmaktadır (Goel ve diğerleri, 2008; Vallée ve Lecarpentier, 2020; Abrahams ve diğerleri, 2019; Giordano ve Tommonaro, 2019).

Curcuma Longa bitkisinin yetiştiriciliğinde özellikle Hindistan'ın öne çıkmasıyla birlikte çoğu Asya ülkelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Prasad ve Aggarwal, 2011; Alves ve diğerleri, 2019).



Resim 11. Zerdeçal ve zerdeçal tozu (Mishra ve Goel, 2020)

Kurkumin zerdeçal bitkisinin ana bileşenidir ve zerdeçal ekstraksiyonu ile elde edilmektedir. Bitkiye parlak sarı rengini veren temel olarak kurkumin pigmentidir. Zerdeçal bitkisinin kurkumin dışında demetoksi kurkumin ve bisdemetoksi kurkumin gibi pigmentleri de bulunmaktadır (Paulucci ve diğerleri, 2013; Lee ve diğerleri, 2012; Li ve diğerleri, 2014). Kurkuminin keto ve enol olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Zerdeçal bitkisinden kurkumin ekstrakte etmek için en uygun çözücülerden biri etanoldür. Bunun yanı sıra aseton, hekzan gibi organik çözücülerde kullanılabilir. Nötr ve asidik çözücülerde keto formu aktifken bazik çözücülerde enol formu aktiftir ve moleküller birbirine hidrojen bağları ile bağlanmaktadır. (Kim ve diğerleri, 2013; Priyadarsini, 2014; Payton ve diğerleri, 2007). *Curcuma Longa* bitkisi polifenolik bir bileşik olduğundan içerisinde bulunan fenollerin hidroksil gruplarındaki hidrojenleri serbest bırakması nedeniyle asidiktir ve histolojik uygulamalarda boya maddesi olarak kullanılabilir (Horobin ve Kiernan, 2002; Cooksey, 2017).

2.6. Kına

Taş kına birçok ülkede alman taşı olarak adlandırılan doğada katı halde bulunan ve toz haline getirilip kullanılabilen doğal bir taştır. Kına taşı parafenilendiamin içermektedir ve alerjik bir maddedir. Taş kına içeriğinde parafenilendiamin bileşeninin bulunması sebebiyle siyah renktedir. Siyah kına olarak da bilinen taş kına saç boyası ve geçici dövme yapımında kına ile birlikte karıştırılarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Handa ve diğerleri, 2012; Ozkaya ve Yazganoğlu, 2013; Al-Suwaidi ve Ahmed, 2010).



Resim 12. Taş kına (Ozkaya ve Yazganoğlu, 2013)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 64583101/2024/50 Sayılı izni ile 4 haftalık yetişkin erkek Wistar albino rat kullanıldı. Sıçanlar Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Deney süresince hayvanların bakımı, Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Daha sonraki çalışmalar Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. Deney süresince sıçanlar 12;12 aydınlık/ karanlık ışıklandırması olan, ısı (21 ± 1 °C) ve nemi (%45-65) olarak ayarlanmış odalardaki kafeslerde yaşatıldı. Deney başlangıcından bir hafta süreyle hayvanların ortam koşullarına adaptasyonu sağlandı.

3.1. Dokuların Hazırlanması

Hayvanların ötenazisi 100 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg ksilazin anestezisi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye yapılmıştır. Karaciğer, pankreas ve dalak dokuları alınarak formaldehite bırakılmıştır.

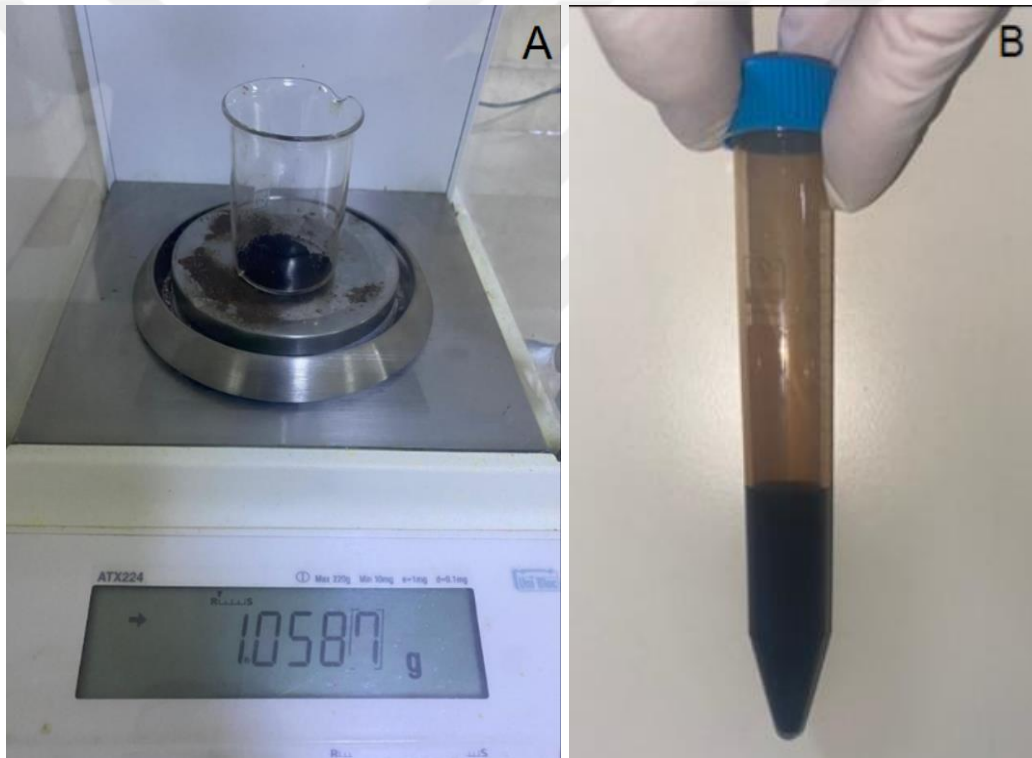
3.2. Doku Takibi, Bloklama ve Kesit Alma

Parafin incelemeler için alınan doku örnekleri %10 formalin çözeltisi ile 4 gün fikse edildi. Süre sonunda akarsuda 1 gece yıkanan dokular, doku takip işlemine alındı. Dehidrasyon için dokular %50, %70, %80 %90, %100'lük alkol serilerinden 1'er saat süreyle geçirildikten sonra 2 saat ksilene bırakılarak saydamlaştırma işlemine tabi tutulduktan sonra 2 saat 55 °C'lik etüvde parafinde bekletildi. Takip işlemi biten dokular döküm cihazı ile parafin bloklar haline getirildi. Elde edilen parafin bloklardan mikrotom ile 5µm kalınlığında kesitler alındı.

3.3. Ekstraktların Hazırlanması

3.3.1. Kına Ekstraktının Hazırlanması

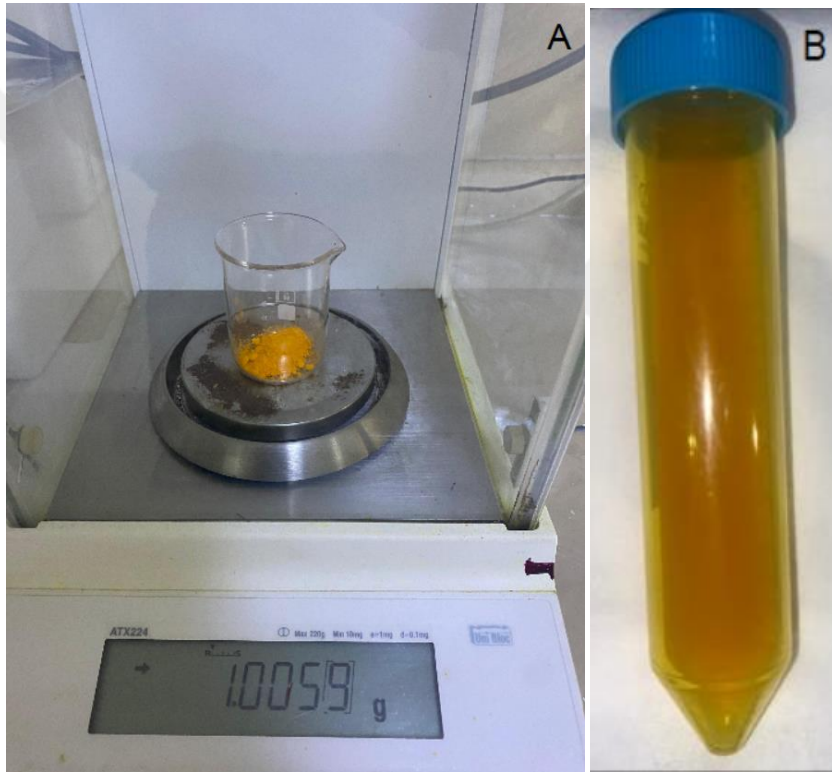
Toz halinde bulunan 1 gr kına organik bir çözücü olan %96'lık 20 ml etanol karıştırılarak çözdürüldü. Karışım oda sıcaklığında 3-4 saat karanlık bir ortamda bekletildi ve aralıklı olarak karıştırıldı. Ekstraksiyon süresi sonunda karışım 3 kez olmak üzere filtrelendi ve sıvı kısım ayrı bir kaba alınarak oda sıcaklığında karanlık bir ortamda histolojik boyama işlemlerinde kullanılmak üzere saklandı.



Resim 13. Taş kınanın hassas terazide tartılması (a), Taş kına çözeltisi (b)

3.3.2. Kurkumin Ekstraktının Hazırlanması

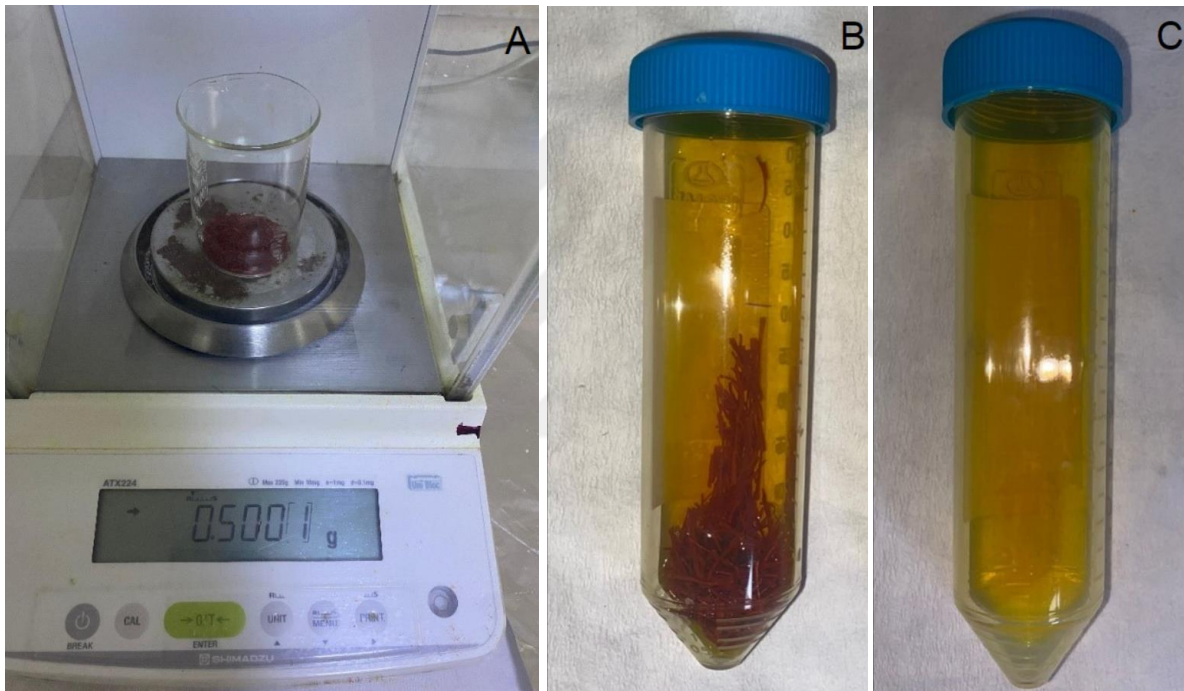
Toz halinde bulunan 1 gr kurkumin organik bir çözücü olan %96'lık 20 ml etanol karıştırılarak çözdürüldü. Karışım oda sıcaklığında 5-6 saat karanlık bir ortamda bekletildi ve aralıklı olarak karıştırıldı. Ekstraksiyon süresi sonunda karışım 3 kez olmak üzere filtrelendi ve sıvı kısım ayrı bir kaba alınarak oda sıcaklığında karanlık bir ortamda histolojik boyama işlemlerinde kullanılmak üzere saklandı (Rubina ve diğerleri, 2020; Kumar ve diğerleri, 2014; Shet Verenkar ve Sellappan, 2020).



Resim 14. Kurkuminin hassas terazide tartılması (a), Kurkumin çözeltisi (b)

3.3.3. Safran Ekstraktının Hazırlanması

Öğütölmüş iplikçik halinde bulunan 0,5 gr safran iplikçikleri organik bir çözücü olan %96'lık 20 ml etanol karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında 24 saat karanlık bir ortamda bekletildi. Ekstraksiyon süresi sonunda karışım 2 kez olmak üzere filtrelendi ve sıvı kısım ayrı bir kaba alınarak oda sıcaklığında karanlık bir ortamda histolojik boyama işlemlerinde kullanılmak üzere saklandı (Hadizadeh ve diğerleri, 2010 ; Rezaee-Khorasany ve diğerleri, 2019).

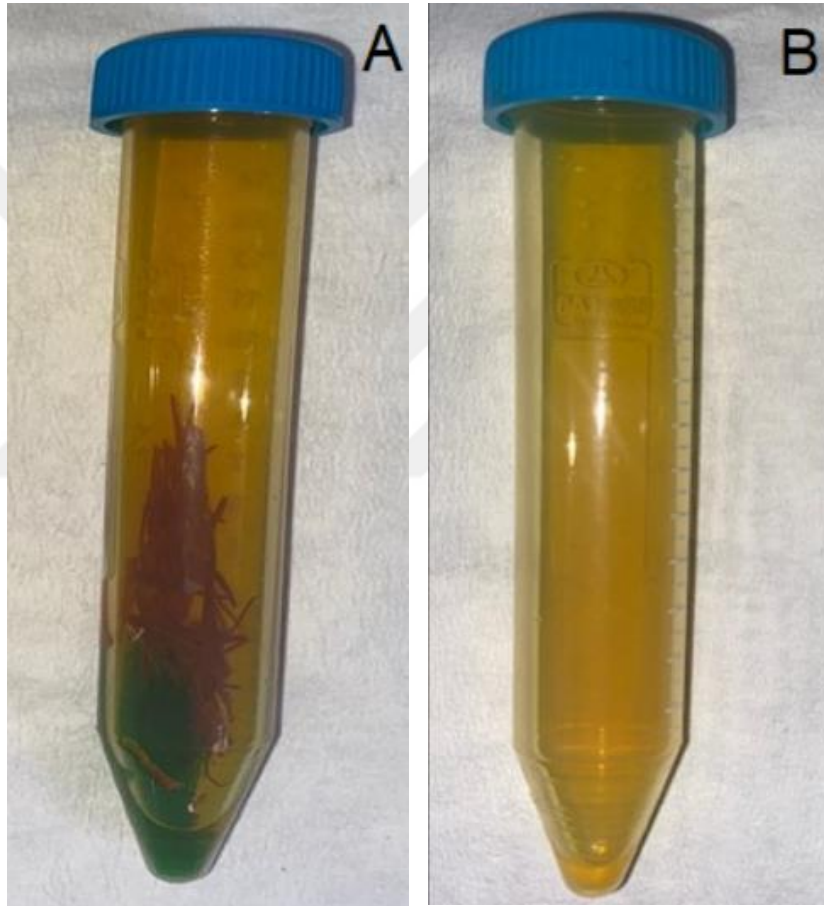


Resim 15. Safranin hassas terazide tartılması (a), Safran çözeltisi (b), Filtrelenmiş safran çözeltisi (c)

3.4. Ekstraktların Mordant ile Birleştirilmesi

3.4.1. Safran Ekstraktının Mordant ile Birleştirilmesi

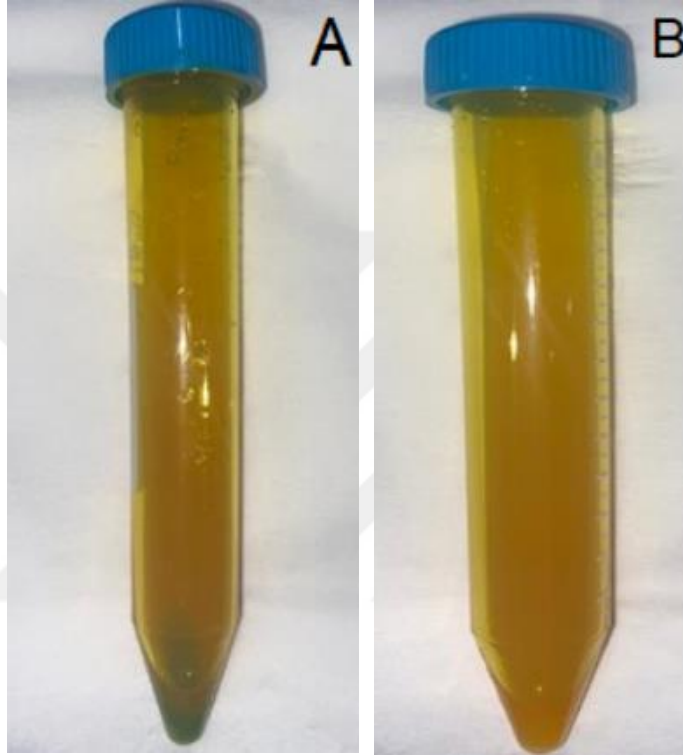
Hazırlanan safran ekstraktı 0,5gr Bakır II Sülfat (CuSO_4) ile karıştırıldı. Karıştırılan çözelti filtrelendi ve oda sıcaklığında karanlık bir ortamda uygun bir kaba alınarak histolojik boyama işlemlerinde kullanılmak üzere saklandı.



Resim 16. Bakır II Sülfat ve Safran çözeltisi (a), Çözeltinin filtrelenmiş hali (b)

3.4.2. Kurkumin Ekstraktının Mordant ile Birleştirilmesi

Hazırlanan kurkumin ekstraktı 0,5gr Bakır II Sülfat (CuSO_4) ile karıştırıldı. Karıştırılan çözeltili filtreledi ve oda sıcaklığında karanlık bir ortamda uygun bir kaba alınarak histolojik boyama işlemlerinde kullanılmak üzere saklandı (Shet Verenkar ve Sellappan, 2020).



Resim 17. Bakır II Sülfat ve Kurkumin çözeltisi (a), Filtrelenmiş çözelti (b)

3.5. Boyama Yöntemleri

3.5.1. Hematoksilen ve Eozin Boyama Prosedürü

Tablo 1. Hematoksilen ve Eozin Boyama Prosedürü

Madde	Süre (dakika)
Ksilol	4 (deparafinizasyon)
Ksilol	4
%100'lük alkol	1 (hidrasyon)
%96'lık alkol	1
%80'lik alkol	1
%70'lik alkol	2
Distile su	3
Hematoksilen solüsyonu	5
Akarsuda yıkama	1
Eosin solüsyonu	1
%70'lik alkol	2 (dehidrasyon)
%80'lik alkol	1
%96'lık alkol	1
%100'lük alkol	1
Ksilol	4
Ksilol	5
DPX ve lamel ile kapatma	

3.5.2. Safran Boyama Prosedürü

Tablo 2. Safran Boyama Prosedürü

Madde	Süre
Ksilol	3 dk
Ksilol	3 dk
%100'lük alkol	30 sn
%96'lık alkol	30 sn
%80'lik alkol	40 sn
%70'lik alkol	40 sn
Distile su	1 dk
Hematoksilen solüsyonu	5 dk
Akarsuda yıkama	1 dk
Safran solüsyonu	5-10 dk
%70'lik alkol	10 sn
%80'lik alkol	10 sn
%96'lık alkol	10 sn
Ksilen	3 dk
Ksilen	3 dk
DPX ve lamel ile kapatma	

3.5.3. Kurkumin Boyama Prosedürü

Tablo 3. Kurkumin Boyama Prosedürü

Madde	Süre
Ksilol	3 dk
Ksilol	3 dk
%100'lük alkol	30 sn
%96'lık alkol	30 sn
%80'lik alkol	40 sn
%70'lik alkol	40 sn
Distile su	1 dk
Hematoksilen solüsyonu	5 dk
Akarsuda yıkama	1 dk
Kurkumin solüsyonu	5-10 dk
%70'lik alkol	10 sn
%80'lik alkol	10 sn
%96'lık alkol	10 sn
Ksilen	3 dk
Ksilen	3 dk
DPX ve lamel ile kapatma	

3.5.4. Kına Boyama Prosedürü

Tablo 4. Kına Boyama Prosedürü

Madde	Süre
Ksilol	3 dk
Ksilol	3 dk
%100'lük alkol	30 sn
%96'lık alkol	30 sn
%80'lik alkol	40 sn
%70'lik alkol	40 sn
Distile su	1 dk
Kına solüsyonu	5-10 dk
%70'lik alkol	10 sn
%80'lik alkol	10 sn
%96'lık alkol	10 sn
Ksilen	3 dk
Ksilen	3 dk
DPX ve lamel ile kapatma	

3.6. Boyama Gruplarının Oluşturulması

Tablo 5. Boyama Grupları

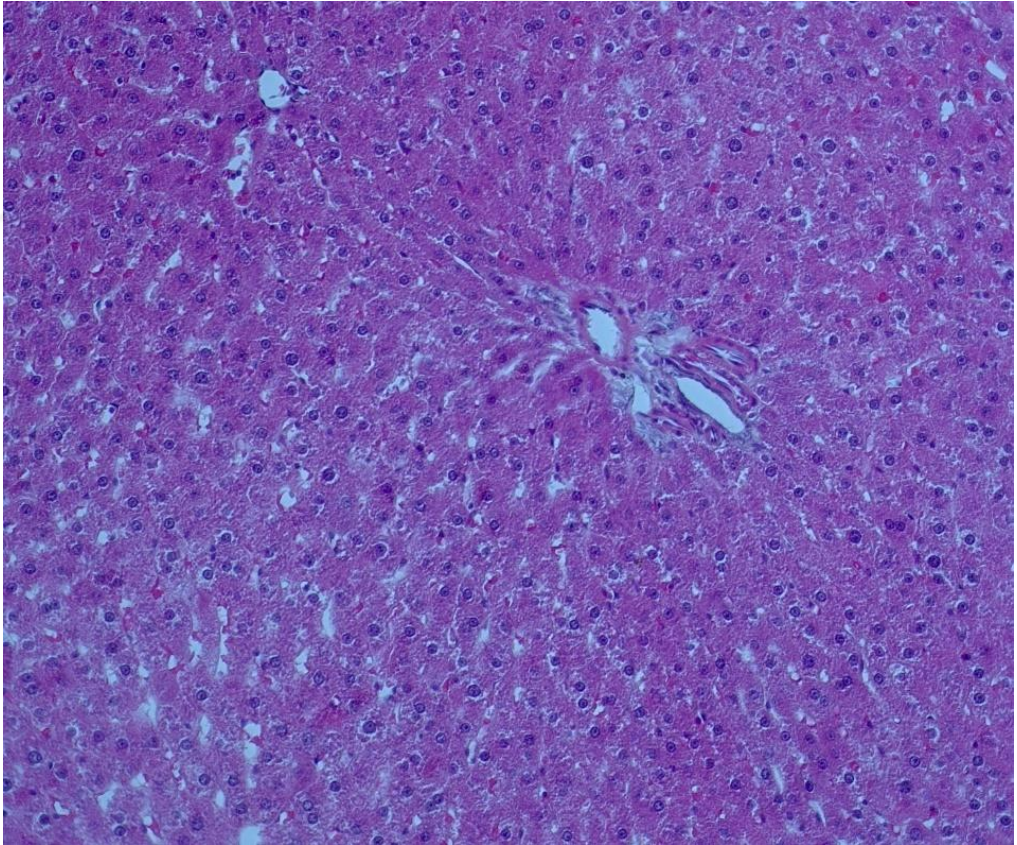
Dokular		Boyama grupları					
Dalak	Hematoksilen ve Eozin	Hematoksilen	Kina	Kina ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat	Safran ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat
	Hematoksilen ve Eozin	Hematoksilen	Kina	Kina ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat	Safran ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat
	Hematoksilen ve Eozin	Hematoksilen	Kina	Kina ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat	Safran ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat
Pankreas	Hematoksilen ve Eozin	Hematoksilen	Kina	Kina ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat	Safran ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat
	Hematoksilen ve Eozin	Hematoksilen	Kina	Kina ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat	Safran ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat
	Hematoksilen ve Eozin	Hematoksilen	Kina	Kina ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat	Safran ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat
Karaciğer	Hematoksilen ve Eozin	Hematoksilen	Kina	Kina ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat	Safran ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat
	Hematoksilen ve Eozin	Hematoksilen	Kina	Kina ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat	Safran ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat
	Hematoksilen ve Eozin	Hematoksilen	Kina	Kina ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen	Kukumin ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat	Safran ve Hematoksilen ve Bakır II Sülfat

4. BULGULAR

4.1. Hematoksilen ve Eozin Boyama

4.1.1. Karaciğer Dokusu Hematoksilen ve Eozin Boyama

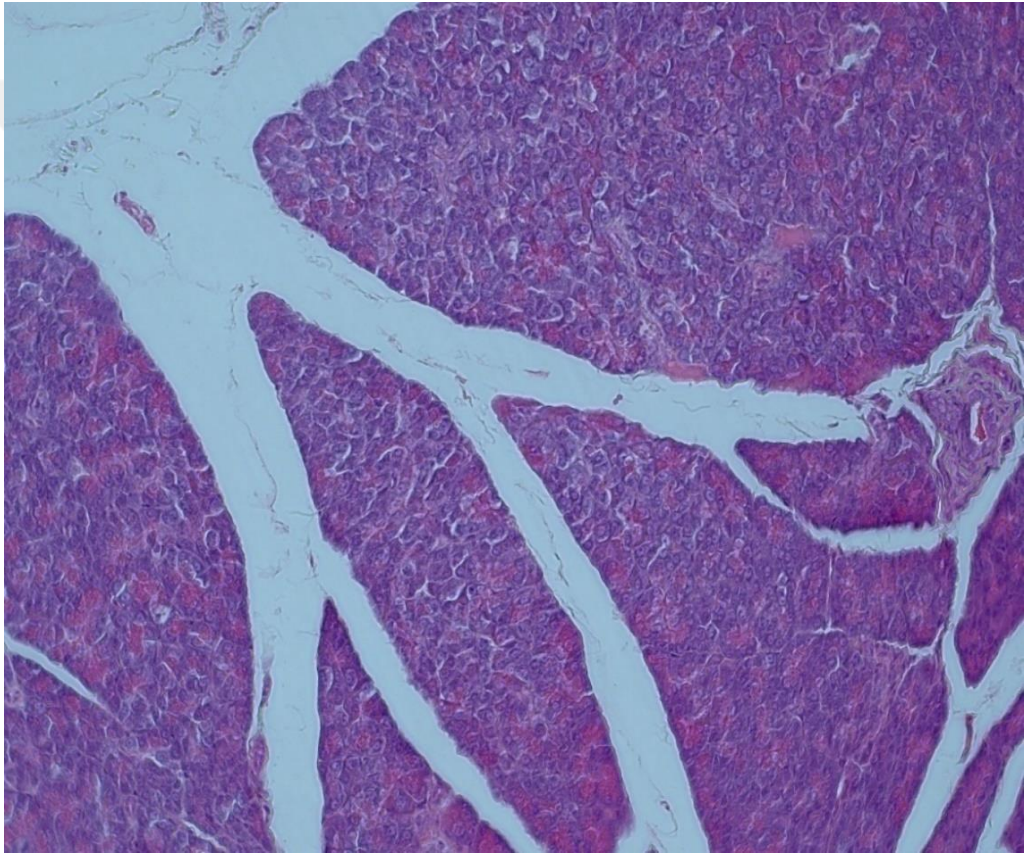
Hematoksilen ve eozin boyama prosedürünün ardından karaciğer dokusunun ışık mikroskobu ile yapılan incelemesinde, dokunun histolojik yapıları karakteristik renklerinde; hücre çekirdekleri mor, sitoplazma ise pembe renkte gözlendi.



Resim 18. Karaciğer dokusu (H&E boyama x20)

4.1.2. Pankreas Hematoksilen ve Eozin Boyama

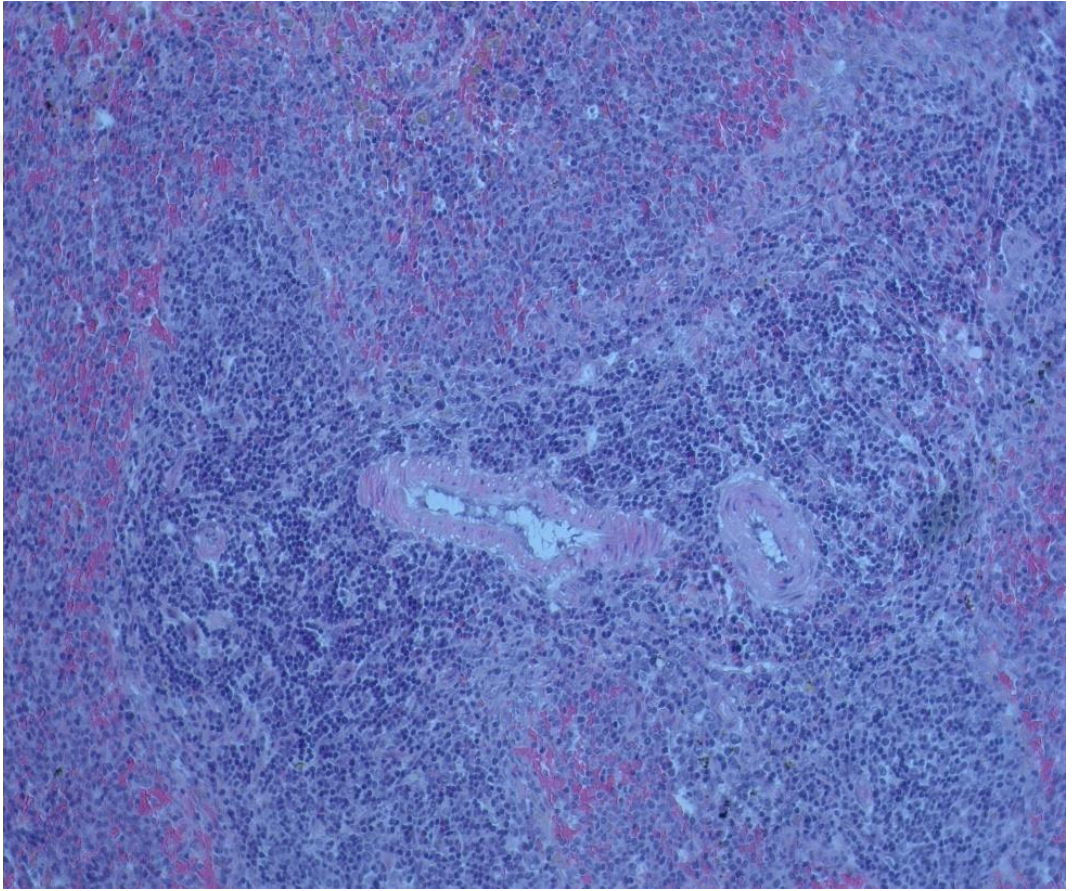
Hematoksilen ve eozin boyama yöntemiyle işlenen pankreas dokusunun ışık mikroskobu incelemesi sonucunda, dokunun histolojik yapıları olağan renklerinde izlendi. Hücre çekirdekleri mavi-mor, sitoplazma pembe, sinüs asinüsler ve Langerhans adacıkları ise belirgin gözlendi.



Resim 19. Pankreas dokusu (H&E boyama x20)

4.1.3. Dalak Hematoksilen ve Eozin Boyama

Hematoksilen ve eozin boyama tekniğiyle işlenmiş dalak dokusunun ışık mikroskobu incelemesi sonucunda, histolojik yapılar karakteristik renklerinde izlendi. Hücre çekirdeklerinin mavi-mor, sitoplazmanın pembe olduğu gözlendi. Ayrıca beyaz pulpa, kırmızı pulpa ve trabeküler yapılar net bir şekilde ayırt edildi.

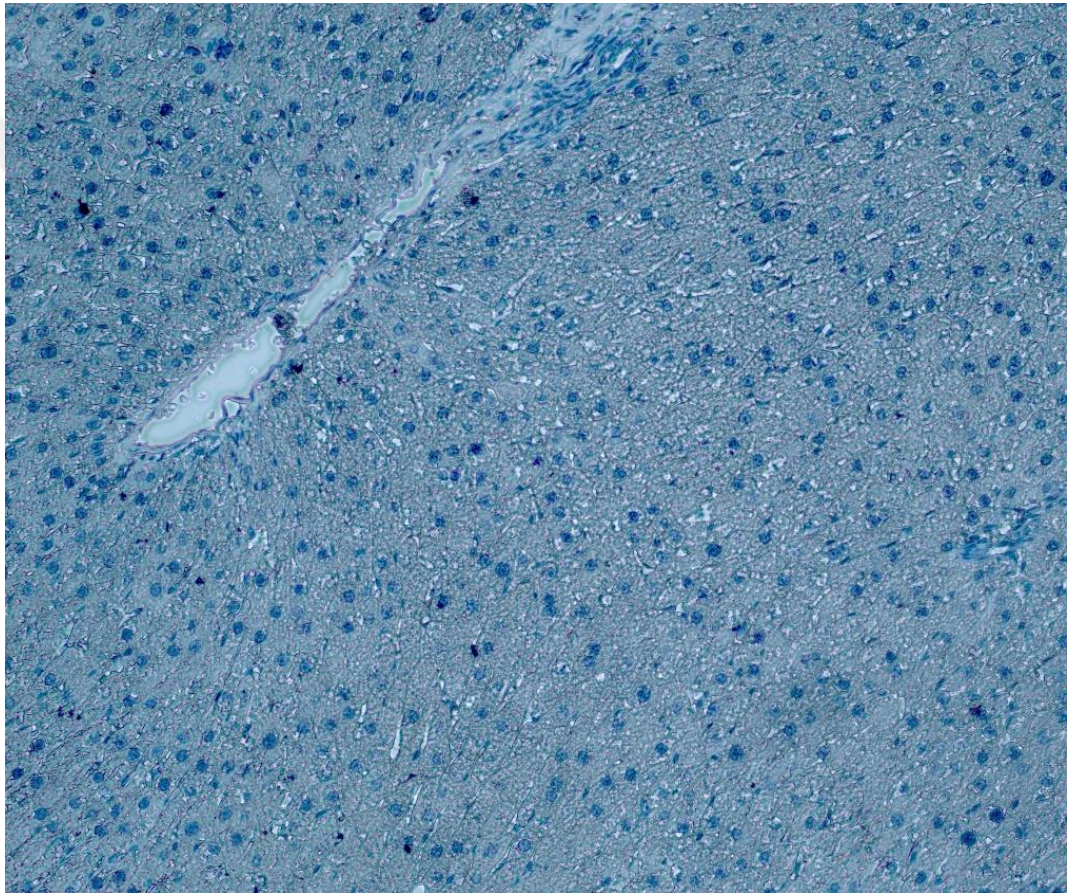


Resim 20. Dalak dokusu (H&E boyama x20)

4.2. Hematoksilen Boyama

4.2.1. Karaciğer Hematoksilen Boyama

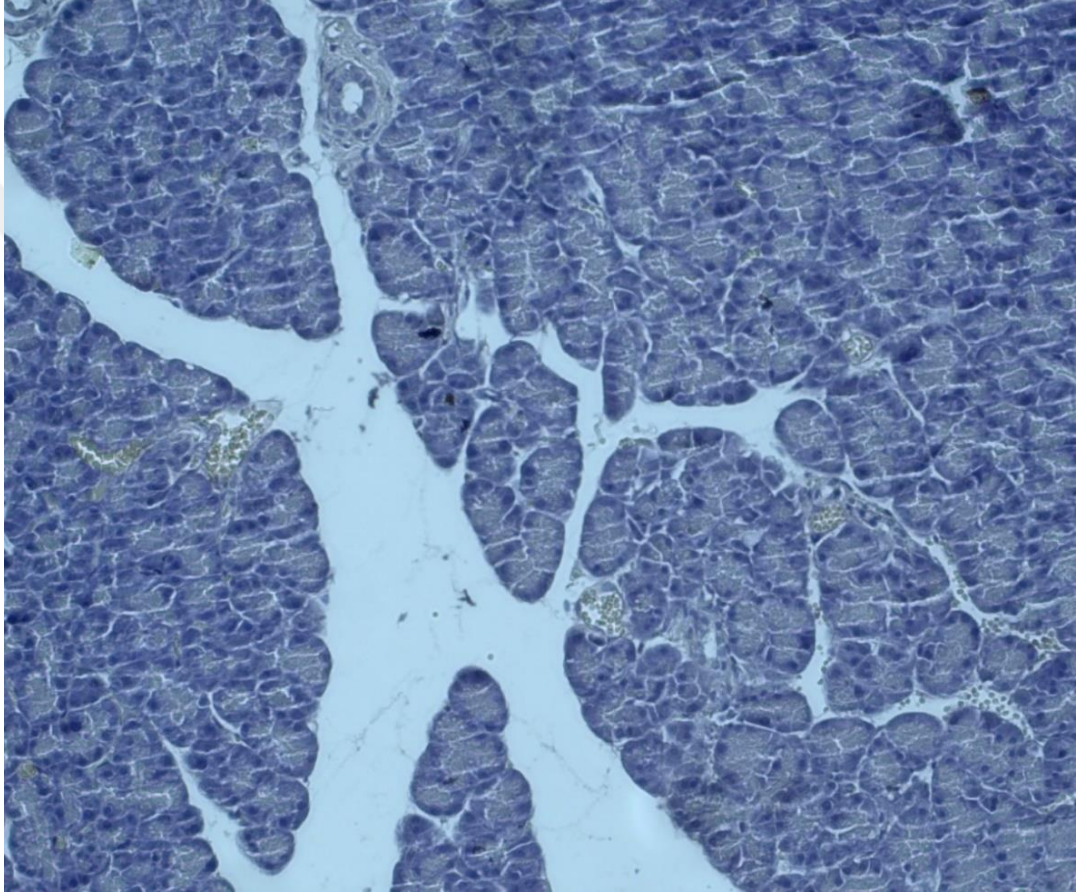
Hematoksilen boyama prosedürü uygulanarak ışık mikroskobu ile incelenen karaciğer dokusunda hücre çekirdekleri soluk mor renkte sitoplazmik yapıların ise gözlenemediği görüldü.



Resim 21. Karaciğer dokusu (Hematoksilen boyama x20)

4.2.2. Pankreas Hematoksilen Boyama

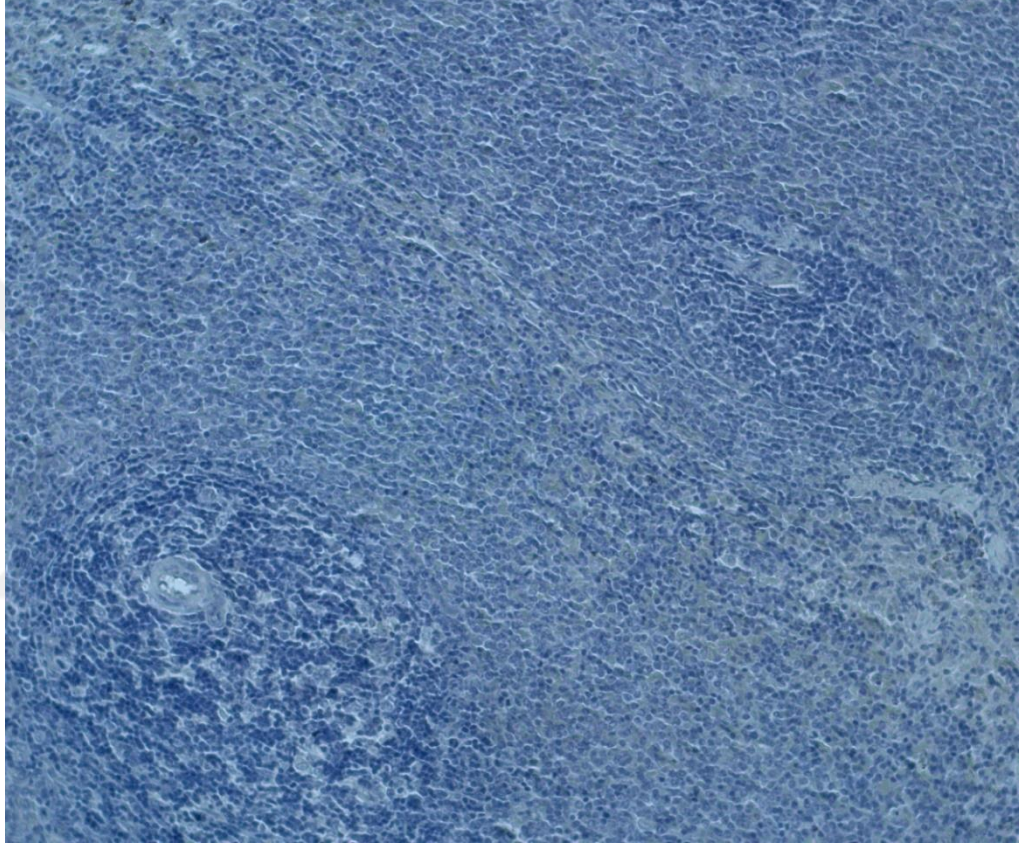
Hematoksilen boyama metodu uygulanarak ışık mikroskobu ile incelenen pankreas dokusunda, asinüs hücrelerinin, Langerhans adacıklarının sitoplazmaları ile bağ dokusu ve kan damarlarının duvarları net bir şekilde gözlemlenemedi. Buna karşın, hücre çekirdekleri soluk mavi olarak izlendi.



Resim 22. Pankreas dokusu (Hematoksilen boyama x20)

4.2.3. Dalak Hematoksilen Boyama

Hematoksilen boyama yöntemi kullanılarak ışık mikroskobu ile incelenen dalak dokusunda, kırmızı pulpa, beyaz pulpa ve trabeküler yapılar net olarak gözlendi, ancak santral arterler açıkça izlenemedi.

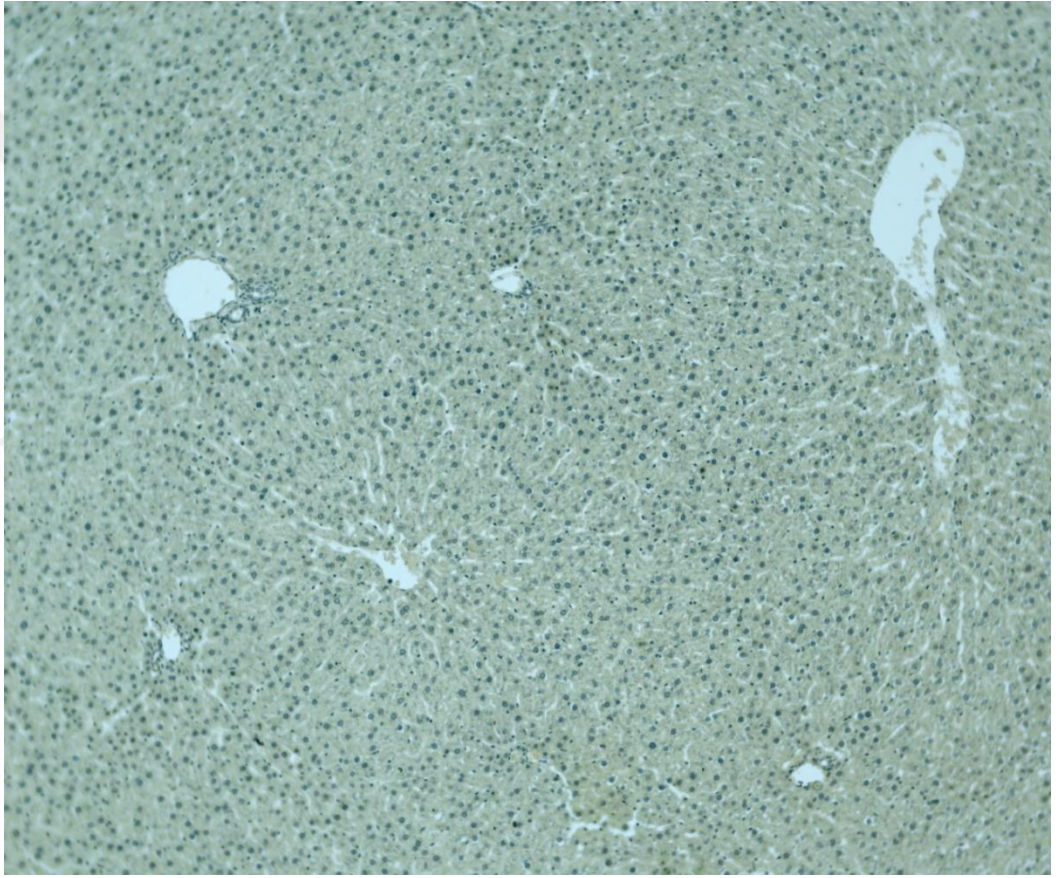


Resim 23. Dalak dokusu (Hematoksilen boyama x20)

4.3. Kurkumin Boyama

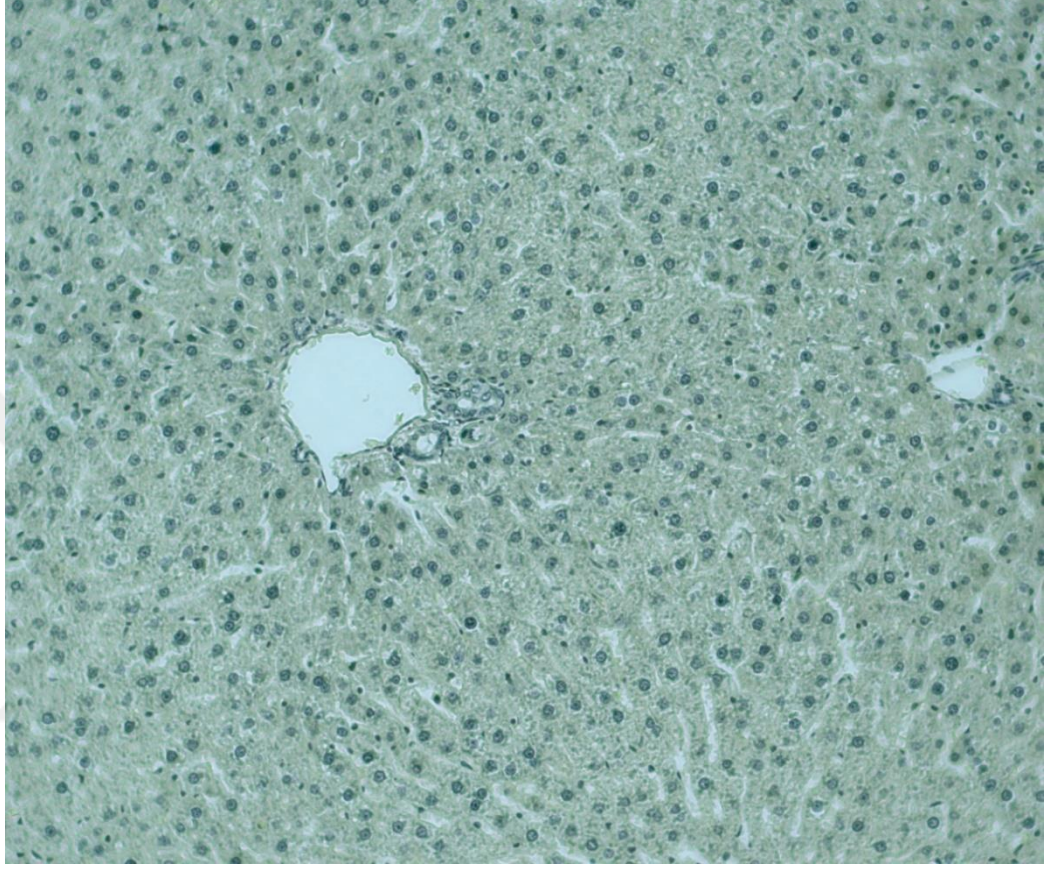
4.3.1. Karaciğer Kurkumin ve Hematoksilen Boyama

Karaciğer dokusunun ikili boyaması, rutin hematoksilen ve eozin boyama ile karşılaştırıldığında, pembe rengin sarı, açık kahve ve yeşilimtırak renklere dönüştüğü görüldü ve bu soluklaşma hem çekirdeklerde hem de sitoplazmada gözlemlendi.



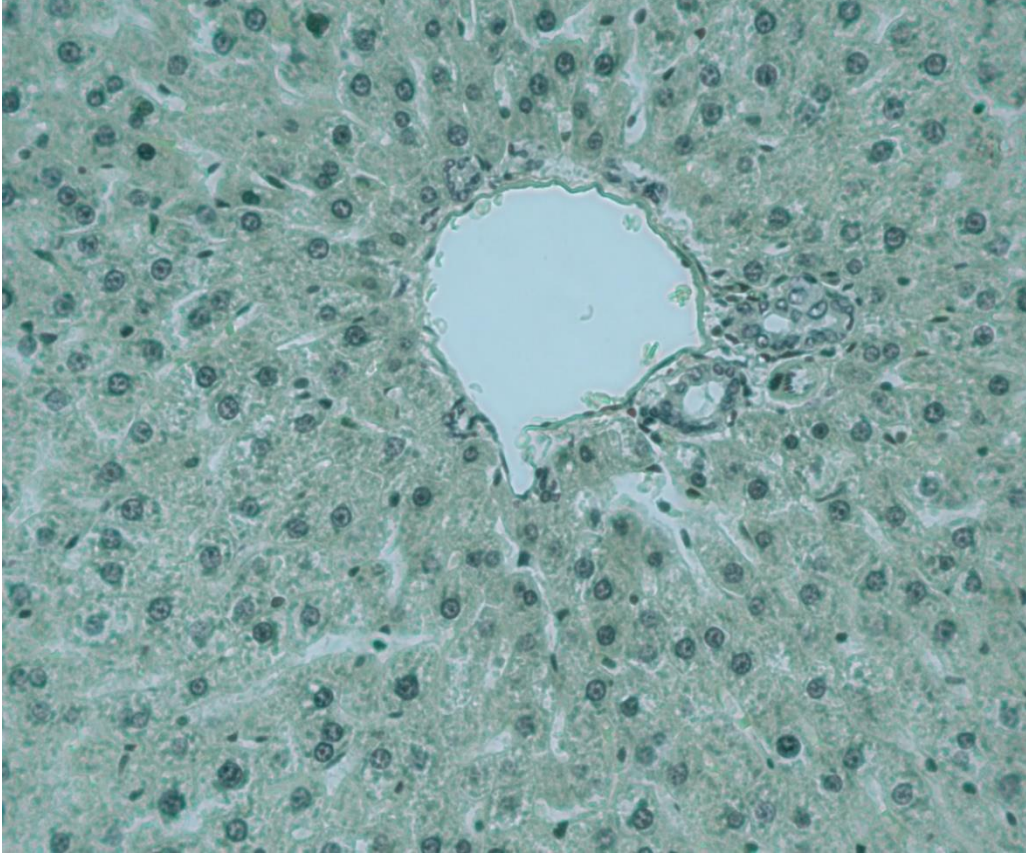
Resim 24. Karaciğer dokusu (Kurkumin ve Hematoksilen boyama x10)

Hematoksilen-eozin boyamadan farklı olarak yapılan ikili boyamada, Kupffer hücreleri net ve yoğun bir şekilde gözlendi. Hepatosit çekirdekleri belirgin lacivert renkte, sitoplazmaları ise açık kahve ve yeşilimsi tonlarda izlendi.



Resim 25. Karaciğer epitel hücreleri (Kurrumin ve Hematoksilen boyama x20)

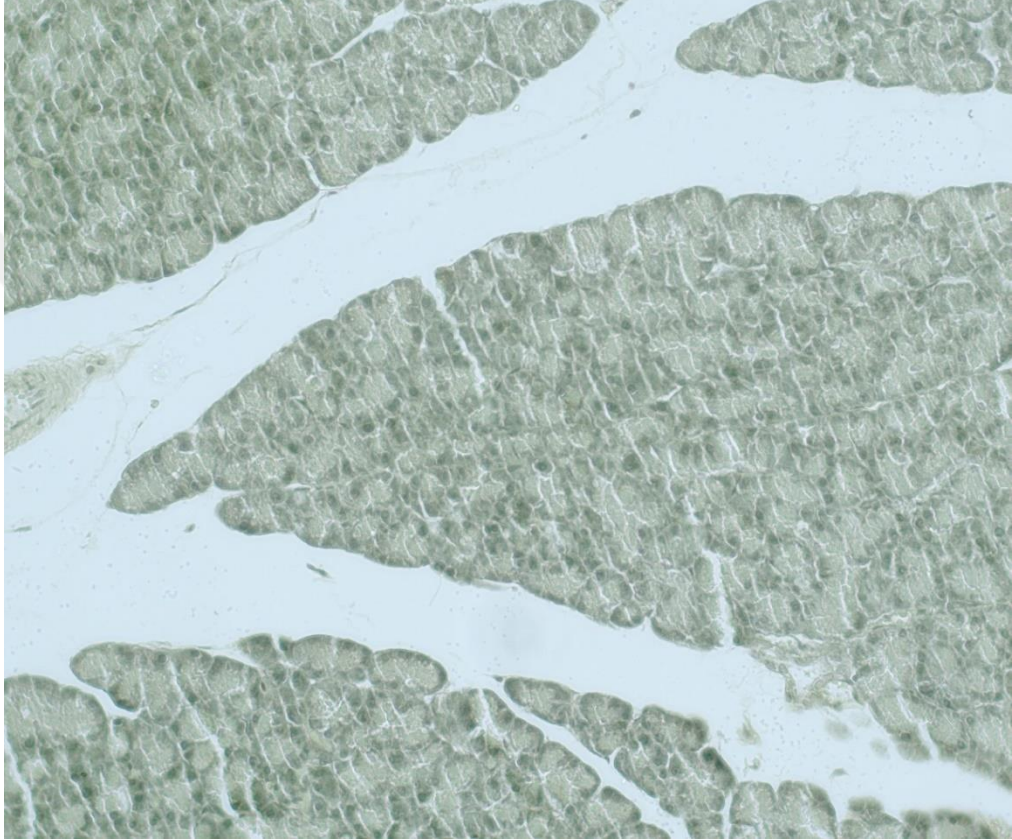
Karaciğer dokusunun kurkumin ve hematoksilin ile boyanmasında Hematoksilin boyasına kurkumin ilave edilmesiyle karaciğerin mononükleer fagositik sisteme ait kupffer hücrelerinin daha net bir şekilde boyandığı gözlemlendi.



Resim 26. Karaciğer dokusu; kupffer hücreleri (Kürkumin ve Hematoksilin boyama x40)

4.3.2. Pankreas Kurkumin ve Hematoksilen Boyama

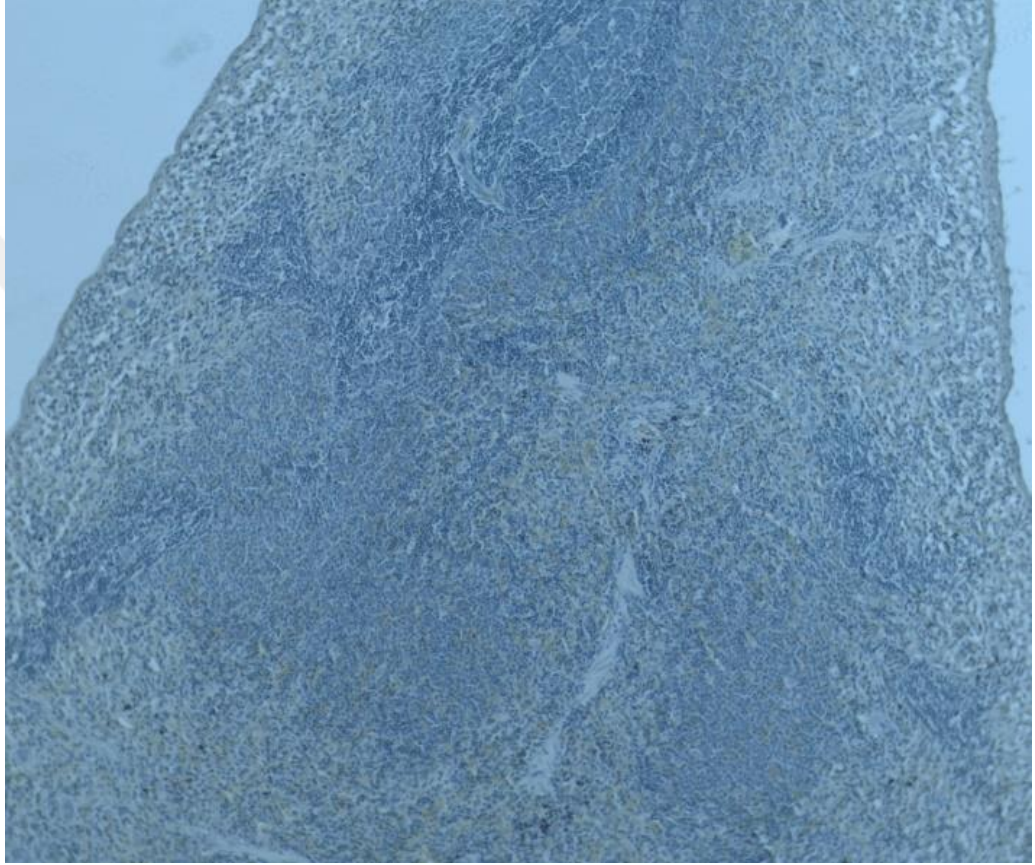
Pankreas Dokusunu kurkumin ve hematoksilen ile birlikte boyadığımızda çekirdekler koyu kahve sitoplazma ise açık kahve boyandı ve net bir şekilde seçilebildi. Hücre çeperi ve hücre çekirdekleri daha belirgin olduğu için Langerhans adacıkları daha net gözlemlendi.



Resim 27. Pankreas dokusu (Kurkumin ve Hematoksilen boyama x20)

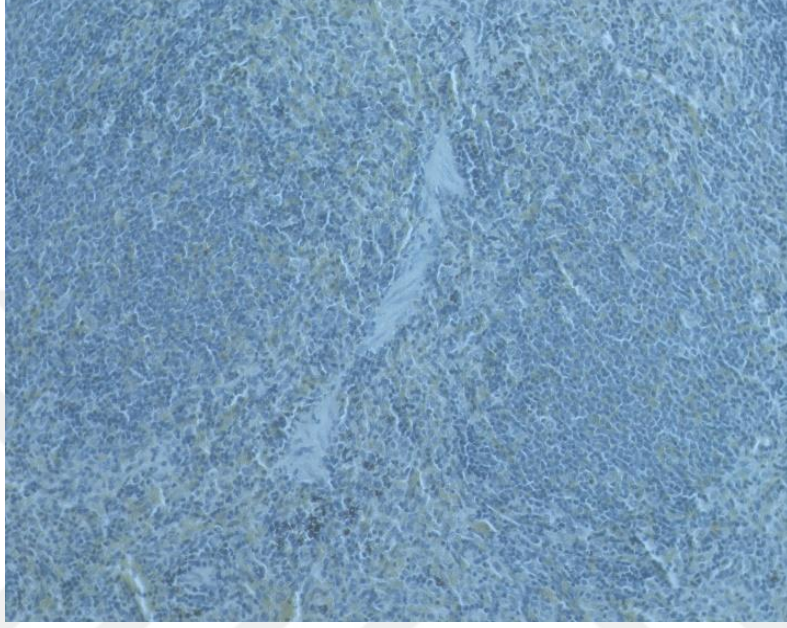
4.3.3. Dalak Kurkumin ve Hematoksilen Boyama

Dalak Dokusunun kurkumin ve hematoksilen boyama metodu ile boyanması sonucunda, hücre çekirdekleri mavi-mor renkte, kırmızı pulpa, beyaz pulpa ve trabekül yapısı ise belirgin bir şekilde görüldü.

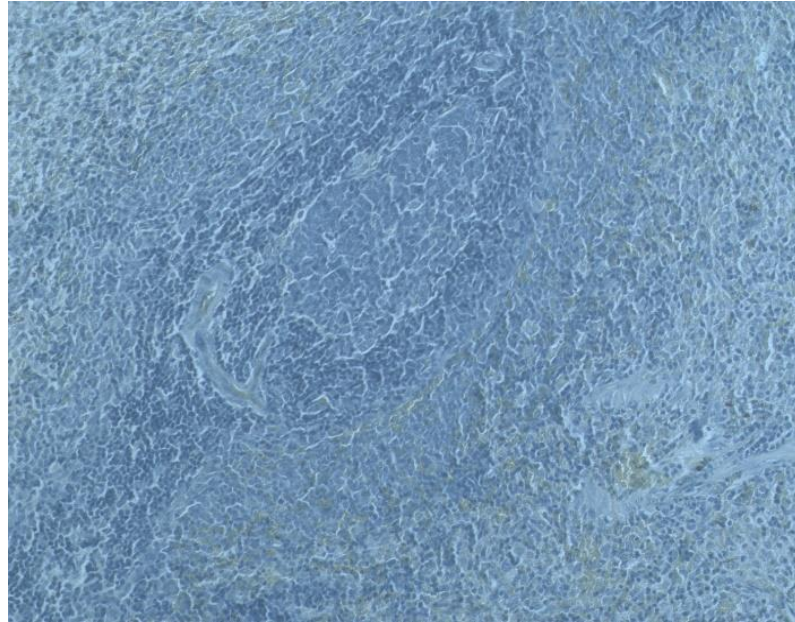


Resim 28. Dalak dokusu (Kurkumin ve Hematoksilen boyama x10)

Kurkumin ve hematoksilin ile boyanan dalak dokusu, ışık mikroskopunda x20 büyütme altında incelendiğinde, çekirdeklerin mavi-mor renkte ve net bir şekilde ayırt edildi, sitoplazma sınırlarının altın sarısı-açık kahve renkte izlendiği gözlemlendi. Işık kaynağı kısıldığında ise trabeküler yapılar daha belirgin görüldü.

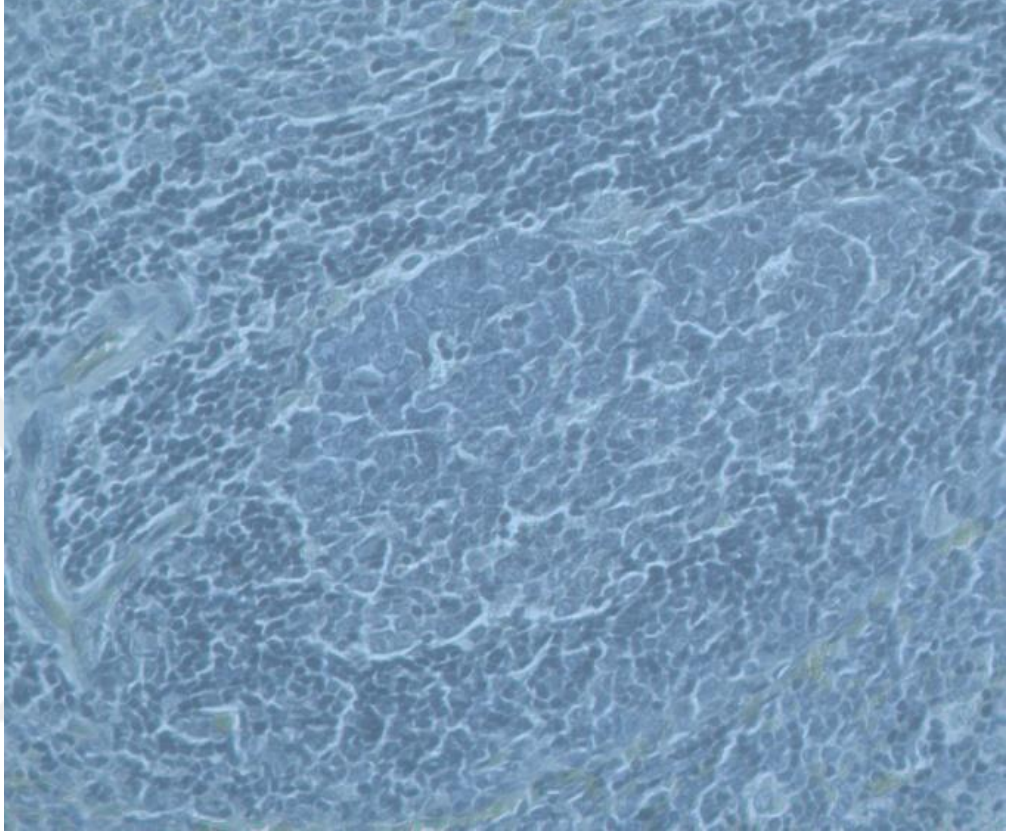


Resim 29. Dalak dokusunda trabekül yapısı (Kurkumin ve Hematoksilin boyama x20)



Resim 30. Dalak dokusunda beyaz pulpa yapısı (Kurkumin ve Hematoksilin boyama x20)

Dalak dokusunun kurkumin ve hematoksilin ile boyanmasıyla, ışık mikroskopunda x40 büyütme altında bakıldığında, çekirdekler mavi-mor renkte ve çeşitli boyutlarda seçilebildi, ancak sitoplazma alanları net bir şekilde görülemedi.

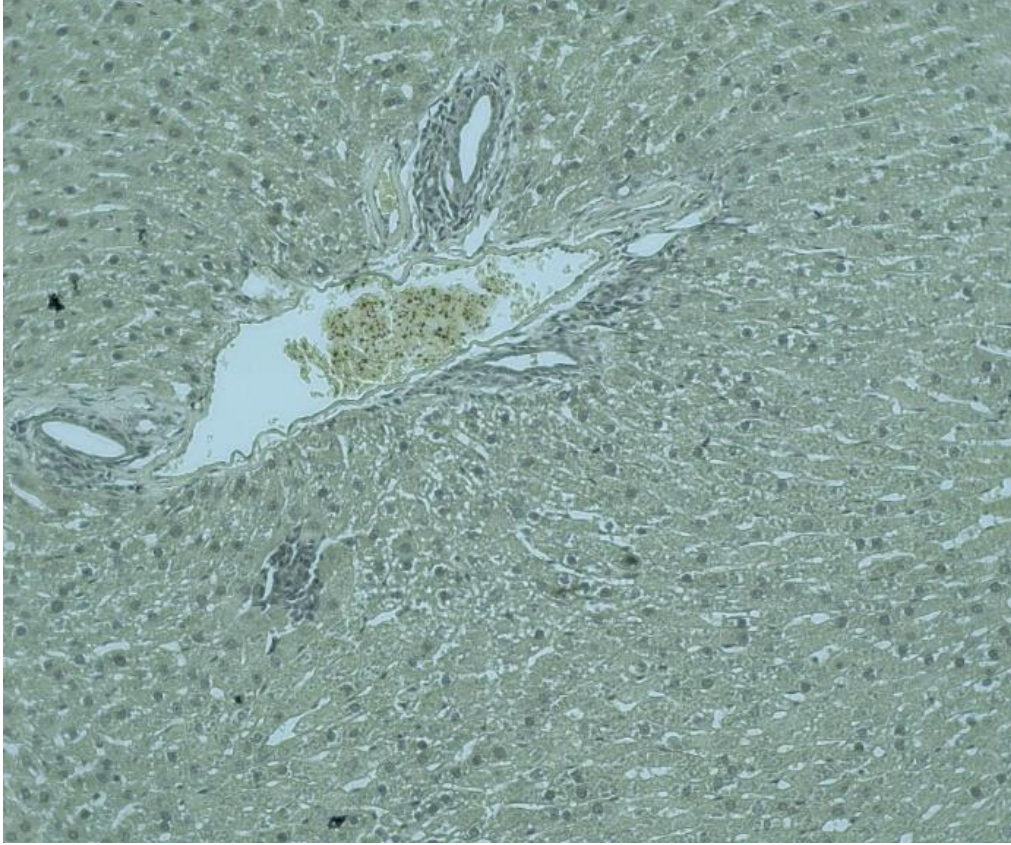


Resim 31. Dalak dokusunda beyaz pulpa ve trabekül yapısı (Kurkumin ve Hematoksilin boyama x40)

4.4. Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama

4.4.1. Karaciğer Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama

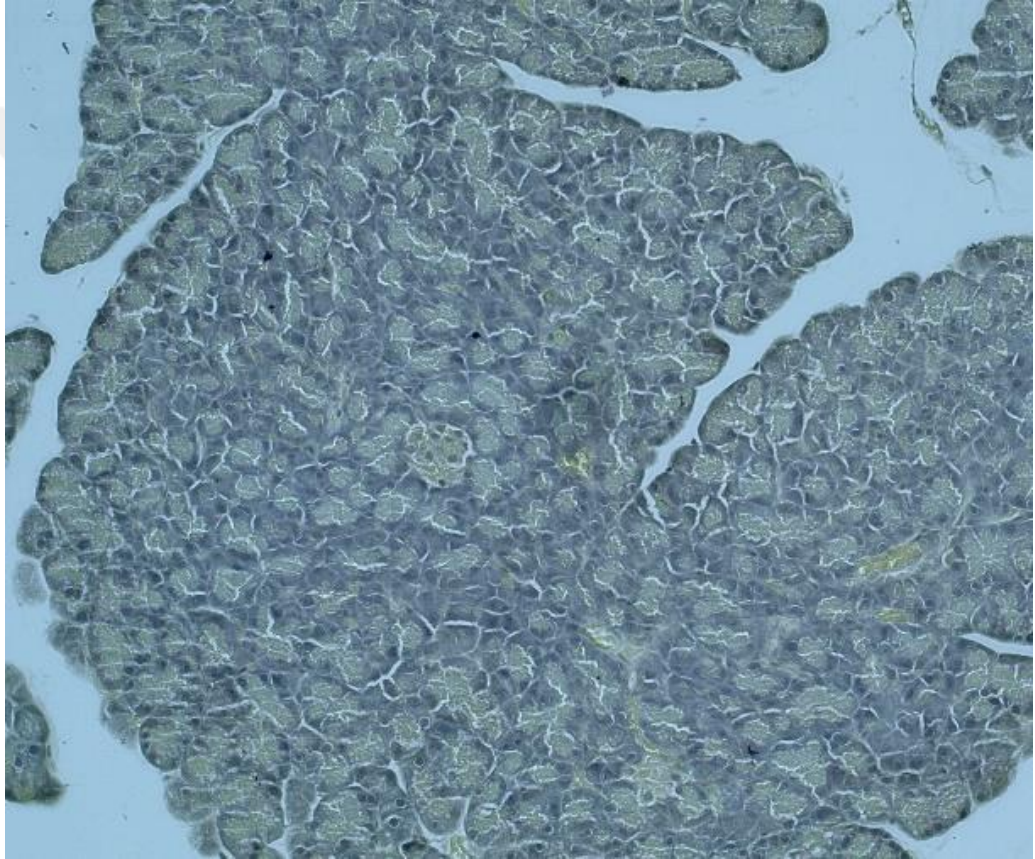
Kurkumin, hematoksilen ve Bakır II Sülfat ile boyanan karaciğer dokusu, ışık mikroskopunda x20 büyütme altında incelendi. Hücre çekirdeklerinin ve Kupffer hücrelerinin soluk sarı renkte olduğu gözlemlendi. Diğer yandan, kurkumin ve hematoksilen ile boyanan grupta Kupffer hücreleri daha net bir renkte görülebilirken, kurkumin, hematoksilen ve Bakır II Sülfat ile boyanan grupta Kupffer hücreleri ve hücre çekirdekleri soluk sarı-kahve tonlarında izlendi.



Resim 32. Karaciğer dokusu (Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20)

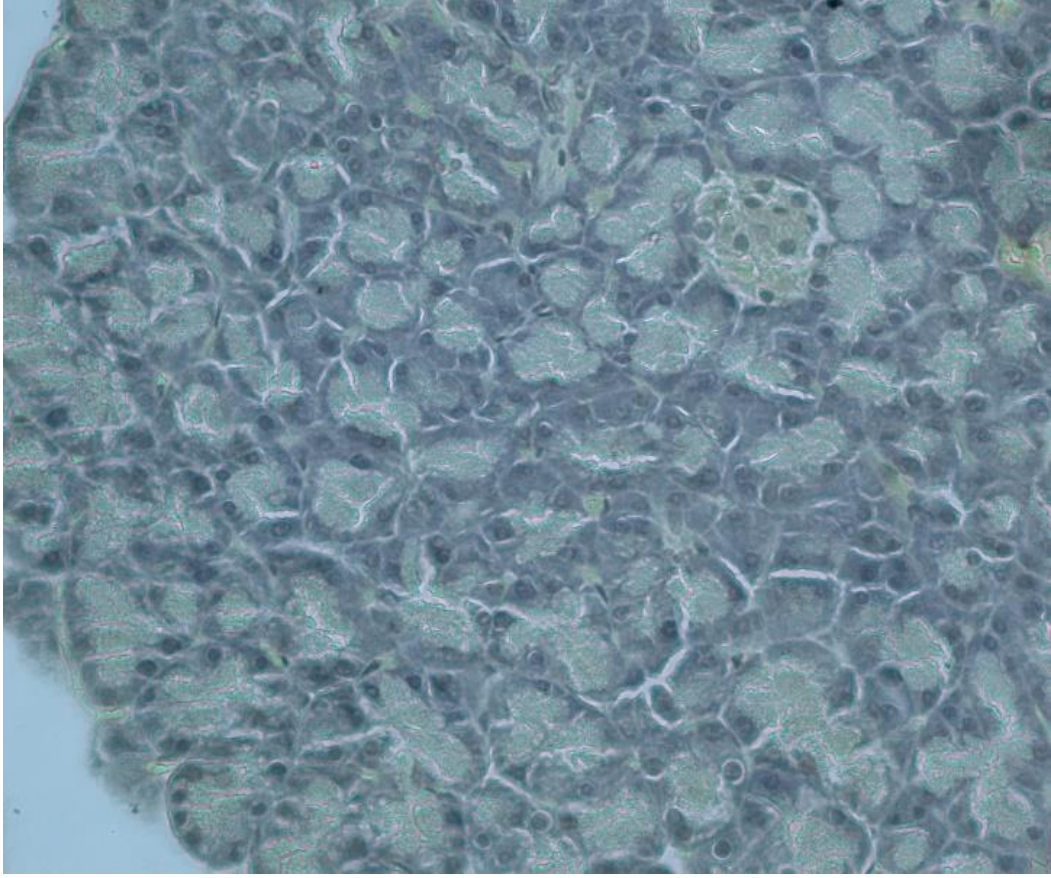
4.4.2. Pankreas Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama

Pankreas dokusunun kurkumin, hematoksilen ve bakır II sülfat ile boyanması sonucunda, hücre çekirdekleri soluk lacivert, sitoplazma ise soluk sarı renkte boyandı. Kurkumin ve hematoksilen ile boyanan grupta kapillerler net olarak görülemezken, kurkumin, hematoksilen ve Bakır II Sülfat ile boyanan grupta kapillerler soluk sarı-açık kahve olarak belirginleşti.



Resim 33. Pankreas dokusu (Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20)

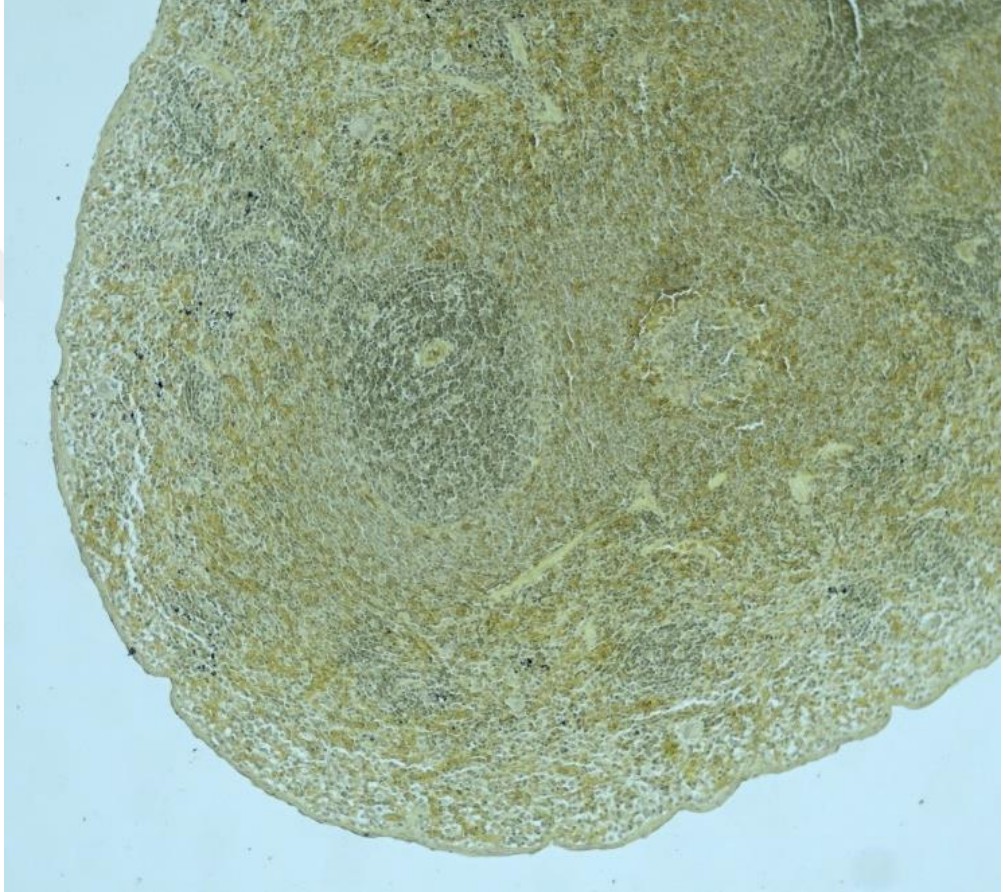
Kurkumin, hematoksilin ve bakır II sülfat ile boyanan pankreas dokusunda, ışık mikroskopunda x40 büyütme altında bakıldığında, sinüs asinuslar, zimojen granülleri, pankreatik adacığın bağ dokusu kapsülü ve adacıkta bulunan endokrin hücrelerin net bir şekilde görüldüğü belirlendi. Kurkumin, hematoksilin ve bakır II sülfat ile boyanan pankreas dokusunda, kurkumin ve hematoksilin ile boyanan dokuya kıyasla kontrastlama farkının olduğu tespit edildi.



Resim 34. Pankreas dokusu (Kurkumin, Hematoksilin ve Bakır II Sülfat Boyama x40)

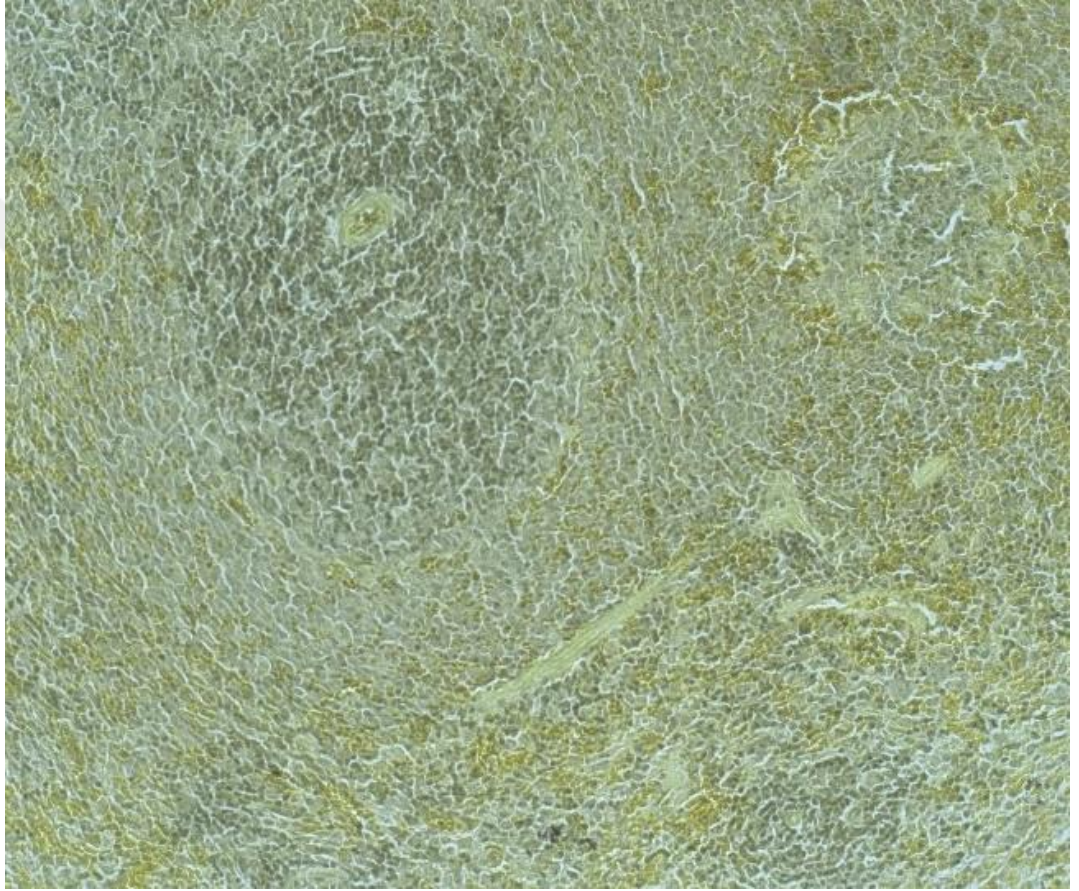
4.4.3. Dalak Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama

Dalak dokusunun kurkumin, hematoksilen ve bakır II sülfat kullanılarak boyanmasıyla, sıkı bağ dokusuyla çevrili kapsül, kırmızı pulpa, beyaz pulpa, santral arterler ve trabekül yapılarının net bir şekilde görüldüğü saptandı.



Resim 35. Dalak dokusu (Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x10)

Kurkumin, hematoksilen ve bakır II sülfat ile boyanan dalak dokusunun, ışık mikroskopunda x20 büyütme altında incelenmesi sonucunda, hücre çekirdeklerinin mavi-mor rengini kaybedip koyu kahverengiye dönüştüğü; santral arterlerin ve trabekül yapının net bir şekilde izlendiği ve dalak dokusu kesitinde yoğun koyu sarı bir rengin olduğu gözlemlendi. Kurkumin, hematoksilen ve bakır II sülfat ile boyanan dalak dokusunda, sadece kurkumin ve hematoksilen ile boyanan dokuya göre belirgin bir kontrastlama farkı olduğu izlendi.

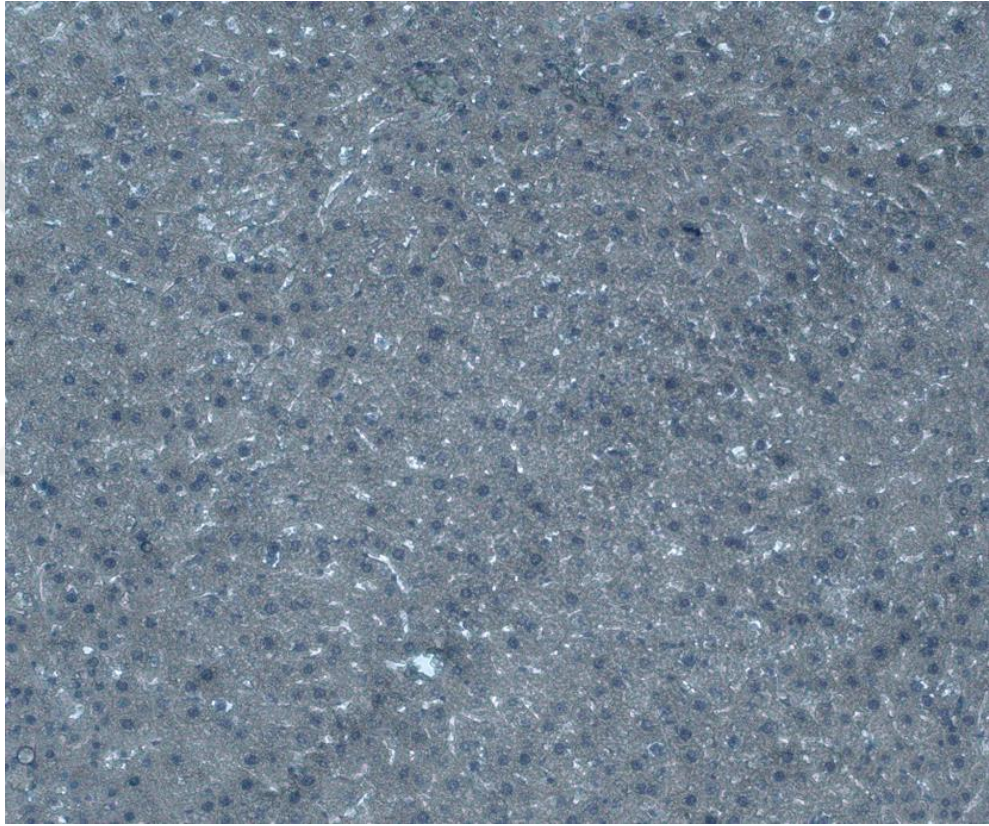


Resim 36. Dalak dokusu beyaz pulpa ve trabekül yapısı (Kurkumin, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20)

4.5. Safran Ekstraktı ile Boyama

4.5.1. Karaciğer Safran ve Hematoksilen Boyama

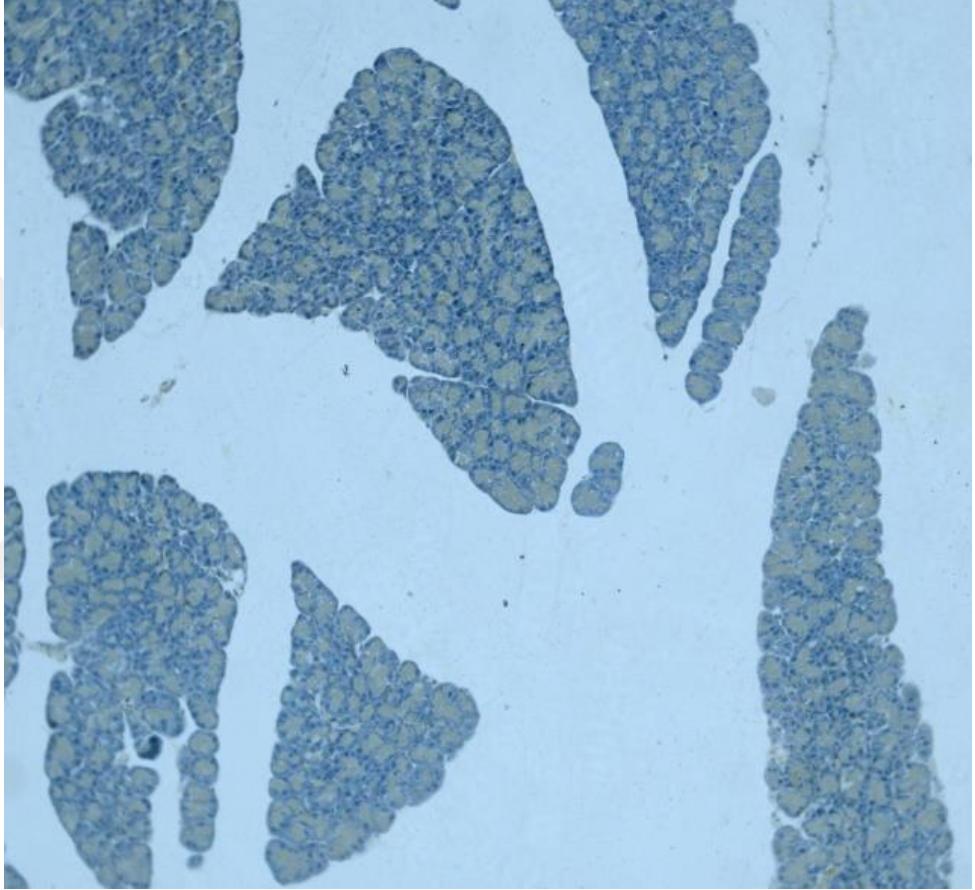
Safran ve hematoksilen boyama yöntemiyle boyanmış karaciğer dokusu, ışık mikroskobu altında incelendiğinde, hücre çekirdeklerinin belirgin fakat soluk mavi renkte olduğu, bunun yanında sitoplazma alanları koyu sarı kahverengiye yakın bir renkte gözlemlendi.



Resim 37. Karaciğer dokusu (Safran ve Hematoksilen boyama x20)

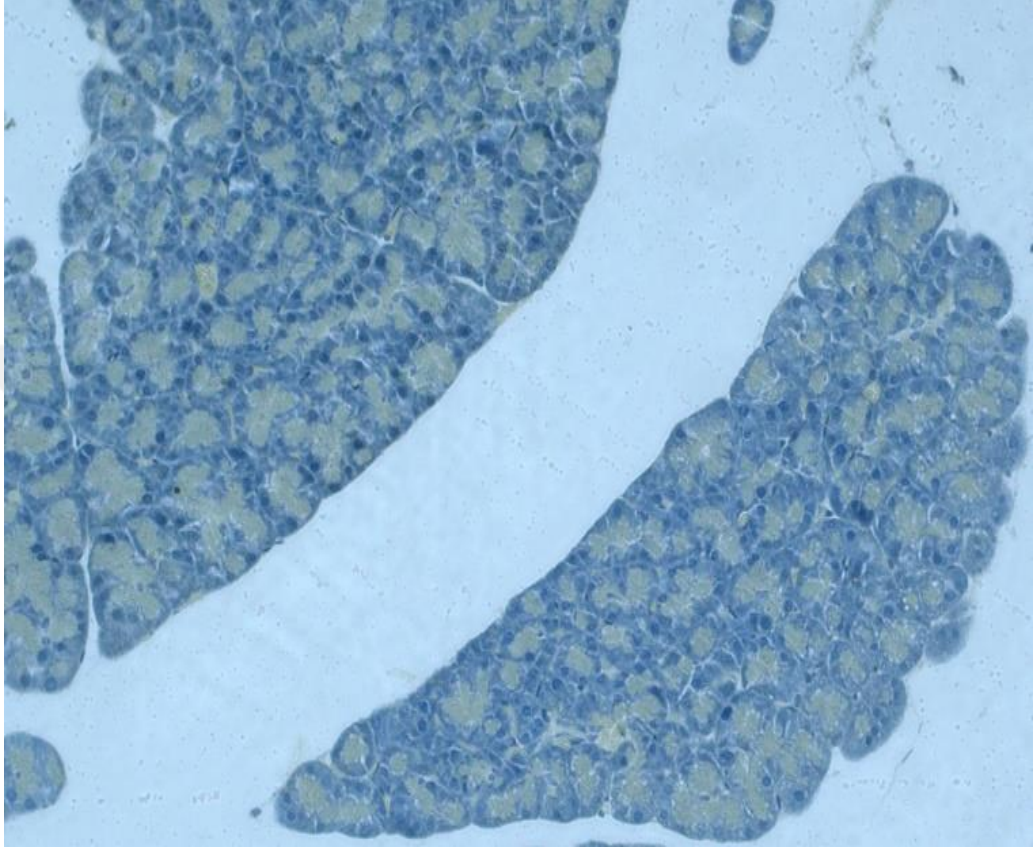
4.5.2. Pankreas Safran ve Hematoksilen Boyama

Safran ve hematoksilen ile boyanan pankreas dokusunda, Langerhans adacıkları ve sinüs asinuslar açıkça görüldü; hücre çekirdekleri net bir lacivert tonunda, sitoplazma ise belirgin koyu sarı-kahvemsii renkte izlendi.



Resim 38. Pankreas dokusu (Safran ve Hematoksilen boyama x10)

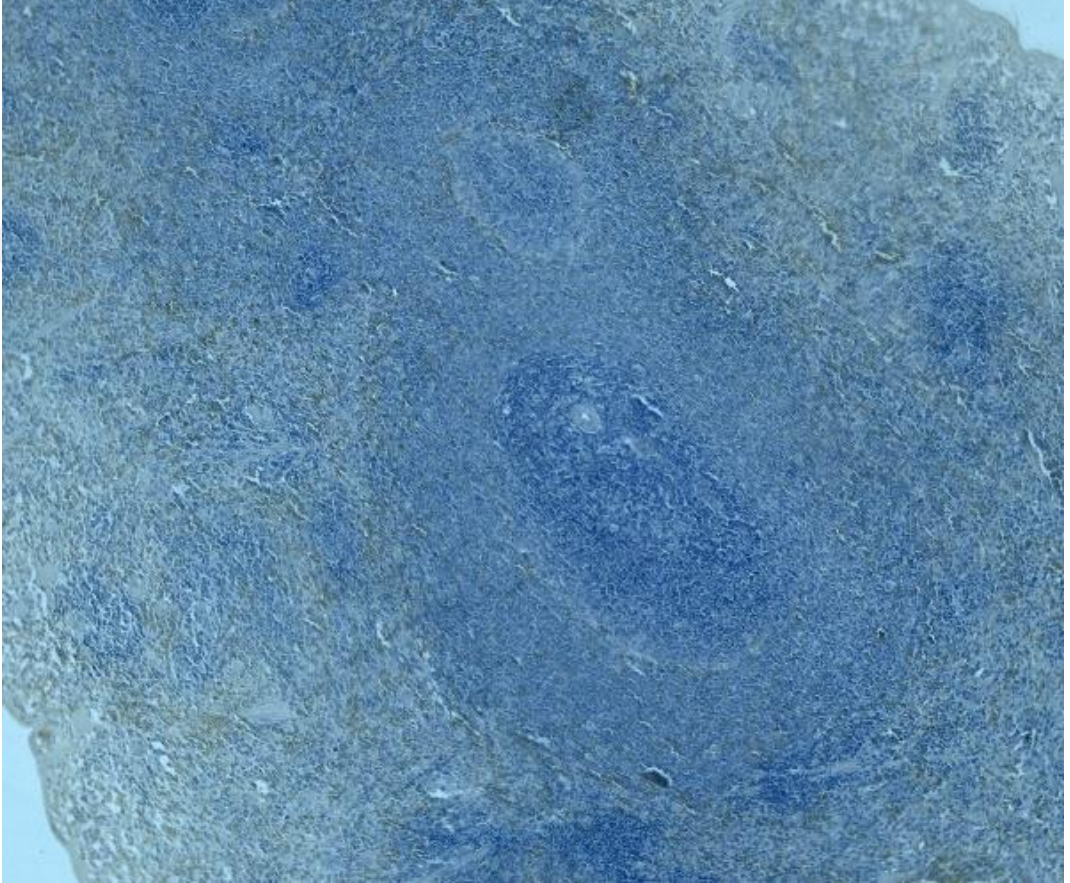
Pankreas dokusunun safran ve hematoksilen boyama yöntemiyle işlenmesi sonucunda, ışık mikroskobunda x20 büyütme altında hücre çekirdeklerinin lacivert tonundan soluk maviye geçtiği, sitoplazmada ise belirgin koyu sarı-haki tonların gözlemlendiği görüldü.



Resim 39. Pankreas dokusu (Safran ve Hematoksilen boyama x20)

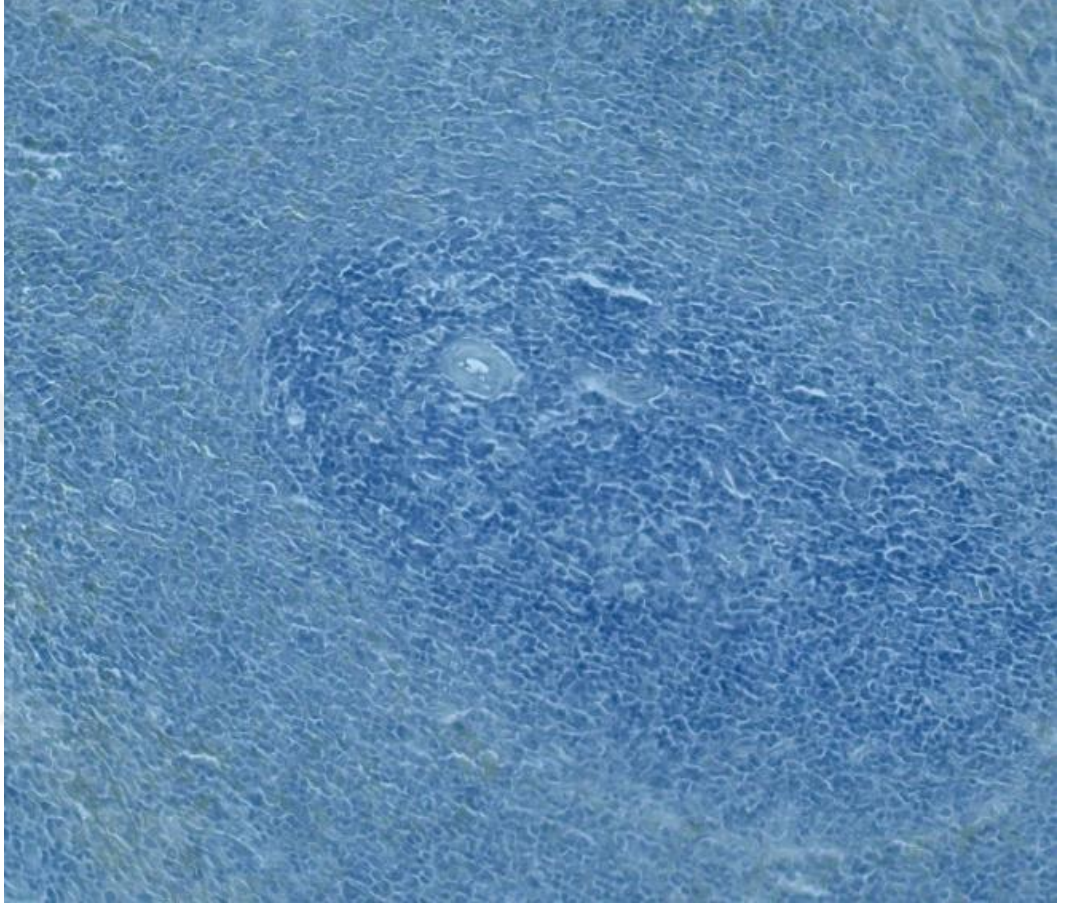
4.5.3. Dalak Safran ve Hematoksilen Boyama

Işık mikroskopunda yapılan inceleme sonucunda, safran ve hematoksilen ile boyanan dalak dokusunda, sadece hematoksilen ile boyanan dalak dokusuna kıyasla, kırmızı pulpa, beyaz pulpa, santral arterler ve trabeküller net bir şekilde gözlemlendi.



Resim 40. Dalak dokusu (Safran ve Hematoksilen boyama x10)

Safran ve hematoxilen boyama yöntemiyle boyanana dalak dokusunun, ışık mikroskopunda x20 büyütme altında merkezi arter, lenfatik nodül net izlendi, çekirdekler soluk mavi renkte etrafındaki sitoplazma ise belirgin koyu sarı renkte görüldü.



Resim 41. Dalak dokusu (Safran ve Hematoksilen boyama x20)

4.6. Safran ve Bakır II Sülfat ile boyama

4.6.1. Karaciğer Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama

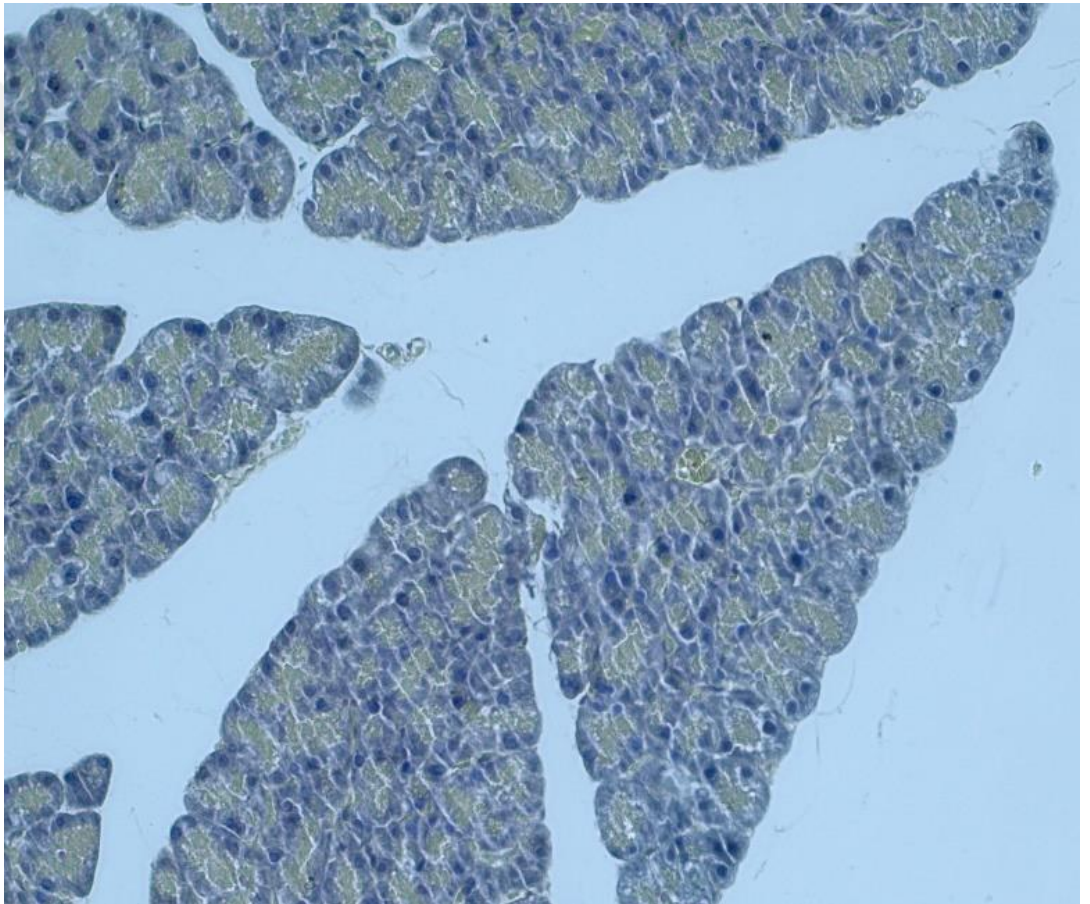
Karaciğer dokusu, safran, hematoksilen ve bakır II sülfat ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu ile incelendiğinde, hücre çekirdeklerinin kahverengi renkte olduğu ve kolayca seçilebildiği gözlemlendi. Sitoplazma alanları, sarı ve yeşil tonları arasında görüldü. Buna karşılık, yalnızca safran ve hematoksilen ile boyanan dokulardan farklı olarak, bu boyama yöntemiyle Kupffer hücreleri soluk renkte izlendi ve kontrastlamada önemli farklılıklar olduğu gözlemlendi.



Resim 42. Karaciğer dokusu (Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20)

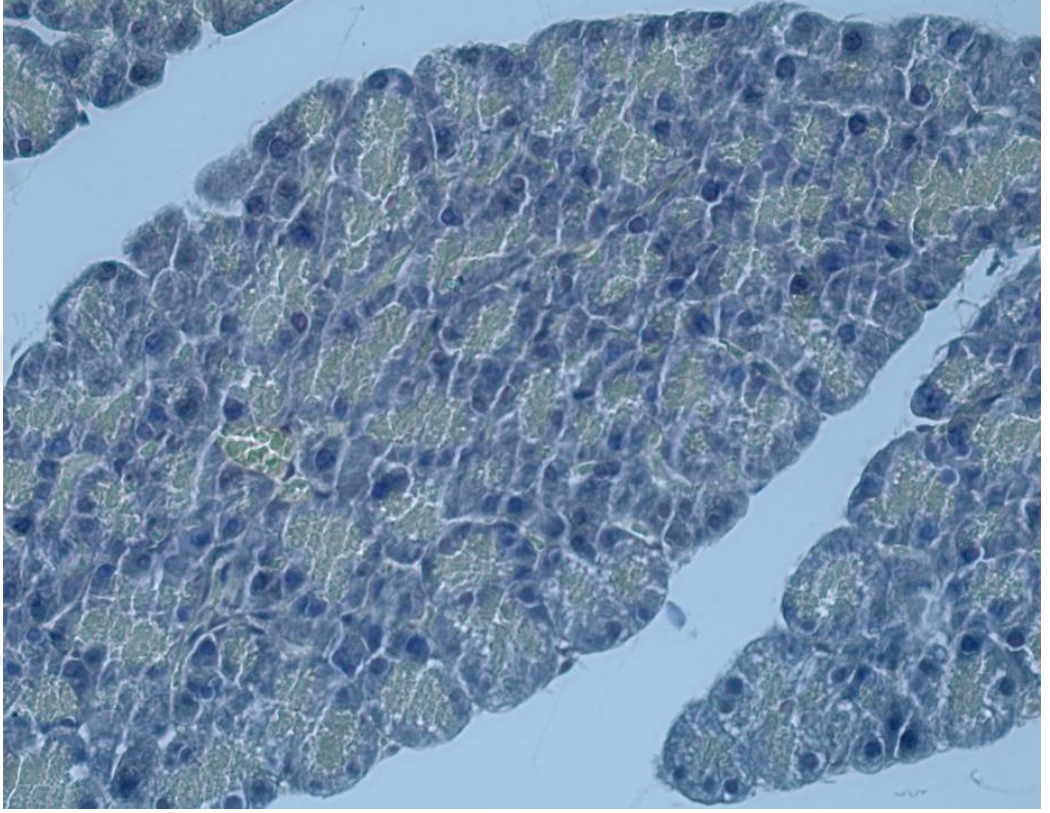
4.6.2. Pankreas Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama

Safran, hematoksilen ve bakır II sülfat ile boyanan pankreas dokusu, ışık mikroskobu altında incelendiğinde, hücre çekirdeklerinin mavi renkte olduğu, seröz asinüslerin sınırlarının belirginleştiği ve zimojenik hücrelerin açık bir şekilde gözlemlendiği görüldü. Bu bulgular, sadece safran ve hematoksilen ile boyama yapılmış pankreas dokusuyla kıyaslandığında, safran, hematoksilen ve bakır II sülfat kombinasyonunun kontrastlama özelliklerinde önemli değişiklikler oluşturduğu gözlemlendi.



Resim 43. Pankreas dokusu (Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x20)

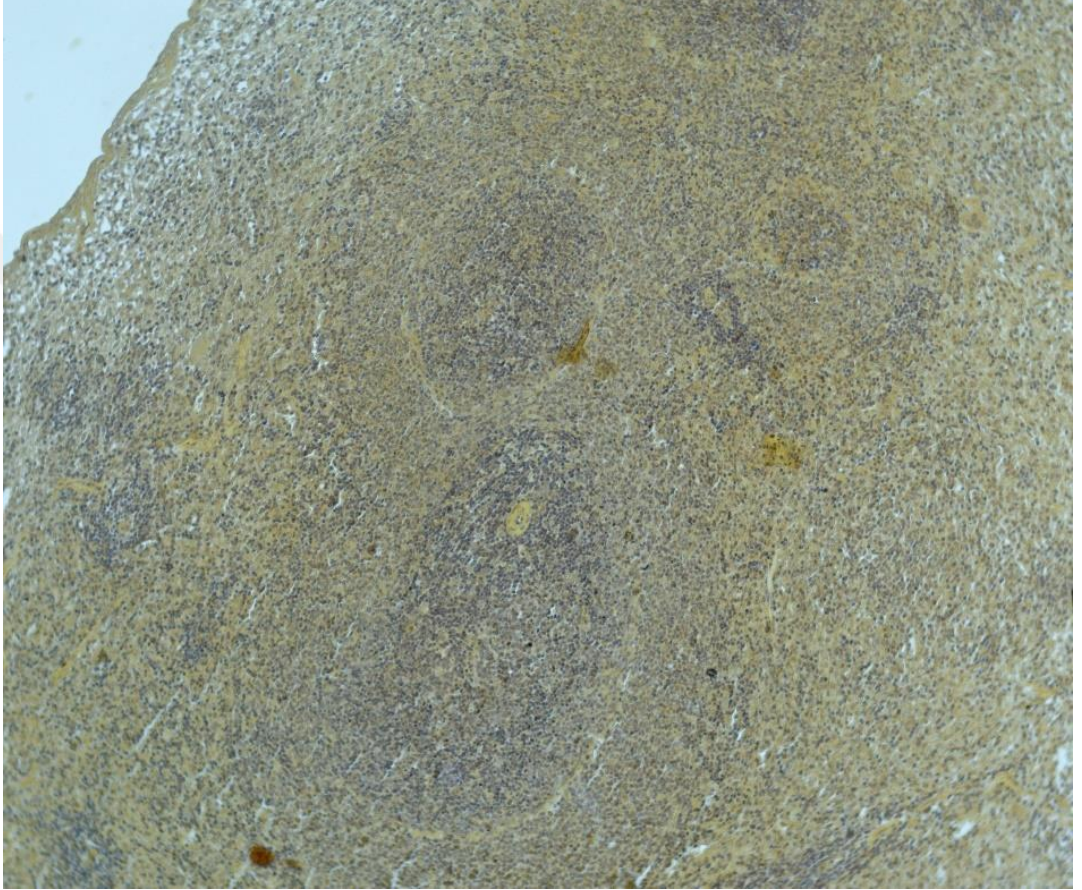
Safran, hematoksilen ve bakır II sülfat ile boyanan pankreas dokusunun x40 büyütme altında ışık mikroskobu ile yapılan incelemesinde, hücre çekirdeklerinin hafif soluk mavi renkte olduğu, sitoplazma alanlarının koyu sarı-yeşil tonlarında olduğu ve pankreatik adacıkların ve sınırlarının net olarak izlenemediği görüldü.



Resim 44. Pankreas dokusu (Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x40)

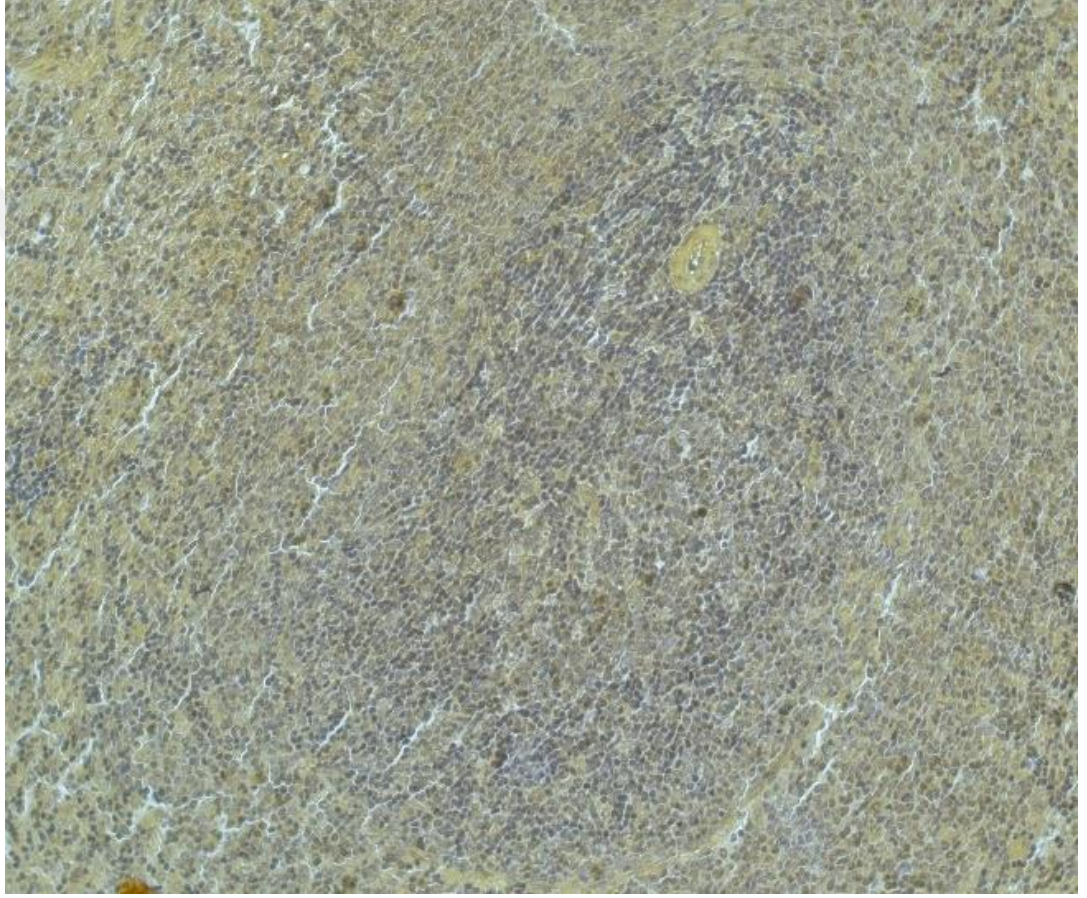
4.6.3. Dalak Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat Boyama

Dalak dokusu safran, hematoksilen ve bakır II sülfat ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında yapılan analizde, bağ dokusu kapsülünün, kırmızı pulpanın, beyaz pulpanın ve merkezi arterin net bir şekilde gözlemlendiği görüldü.



Resim 45. Dalak dokusu (Safran, Hematoksilen ve Bakır II Sülfat boyama x10)

Safran, hematoksilin ve bakır II sülfat ile boyanan dalak dokusunun, ışık mikroskopunda x20 büyütme altında incelenmesi sonucunda, hücre çekirdeklerinin soluk mavi-mor rengini kaybedip koyu kahverengi gri tonlarında; lenfatik nodülün ve merkezi arterin net bir şekilde izlendiği ve dalak dokusu kesitinde yoğun sarı bir rengin olduğu izlendi. Safran, hematoksilin ve bakır II sülfat ile boyanan dalak dokusunda, sadece safran ve hematoksilin ile boyanan dokuya göre kontrastlamada belirgin bir farkın olduğu gözlemlendi.

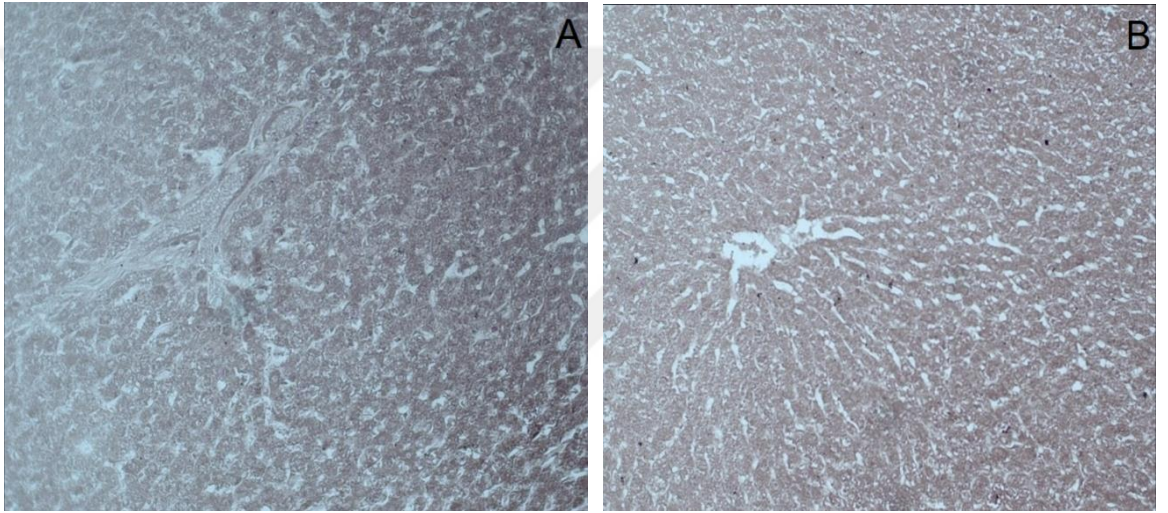


Resim 46. Dalak dokusu (Safran, Hematoksilin ve Bakır II Sülfat boyama x20)

4.7. Kına Ekstraktı ile Boyama

4.7.1. Karaciğer Kına Boyama

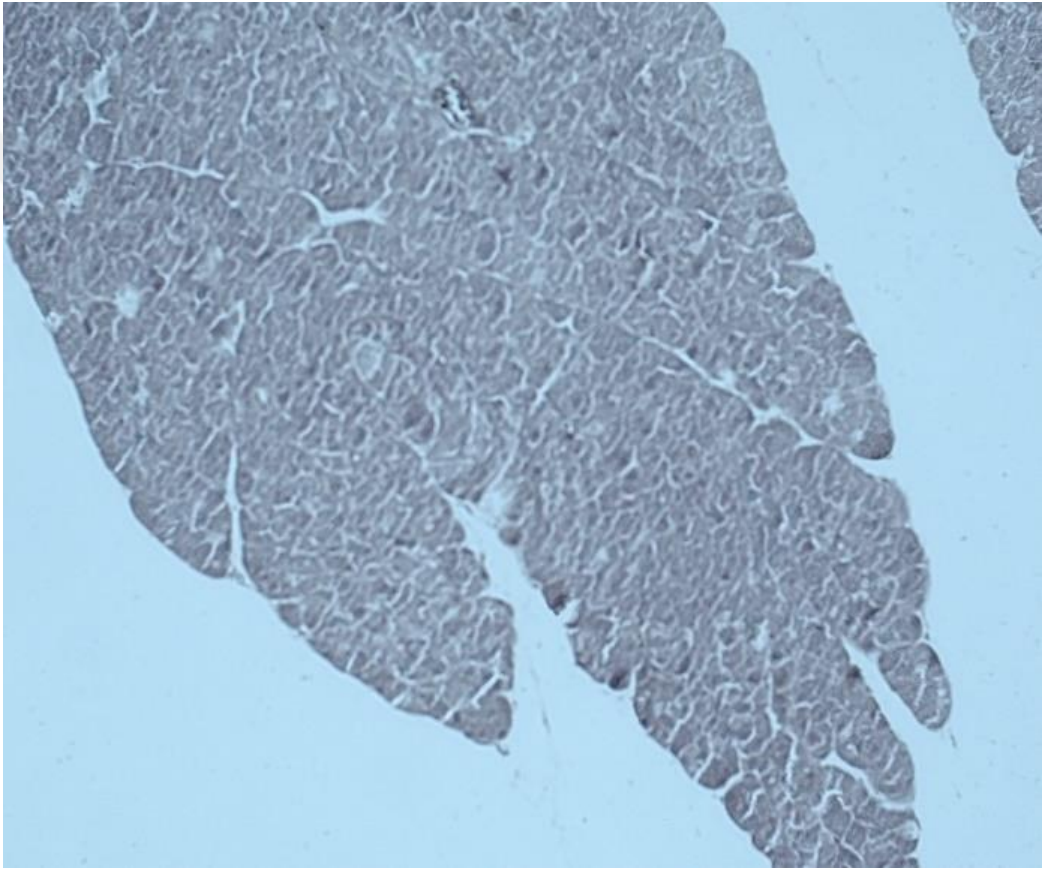
Işık mikroskopunda yapılan incelemenin ardından sadece taş kına ile boyanan karaciğer dokusunda tüm alanların kahverengi şeklinde boyandığı, portal alan, karaciğer kordon yapıları, hepatositlerin net bir şekilde seçildiği ve hücre çekirdeklerinin koyu kahve renkte boyandığı gözlemlendi.



Resim 47. Karaciğer dokusu portal alan (a), Kordon yapıları (b) (Kına Boyama x20)

4.7.2. Pankreas Kına Boyama

Pankreas dokusunun yalnız taş kına ile boyanmasının ardından ışık mikroskopunda incelenmesiyle ve ışık kaynağının arttırılmasıyla kapiller damarlar seçildi. Sinüs asinüsler koyu kahve ancak sınır olarak net bir şekilde seçilemedi. Langerhans adacıkları net bir şekilde izlenemedi. Ancak granüller hematoxilen ve eozinle boyamadan farklı olarak net bir şekilde görüldü.



Resim 48. Pankreas dokusu (Kına Boyama x20)

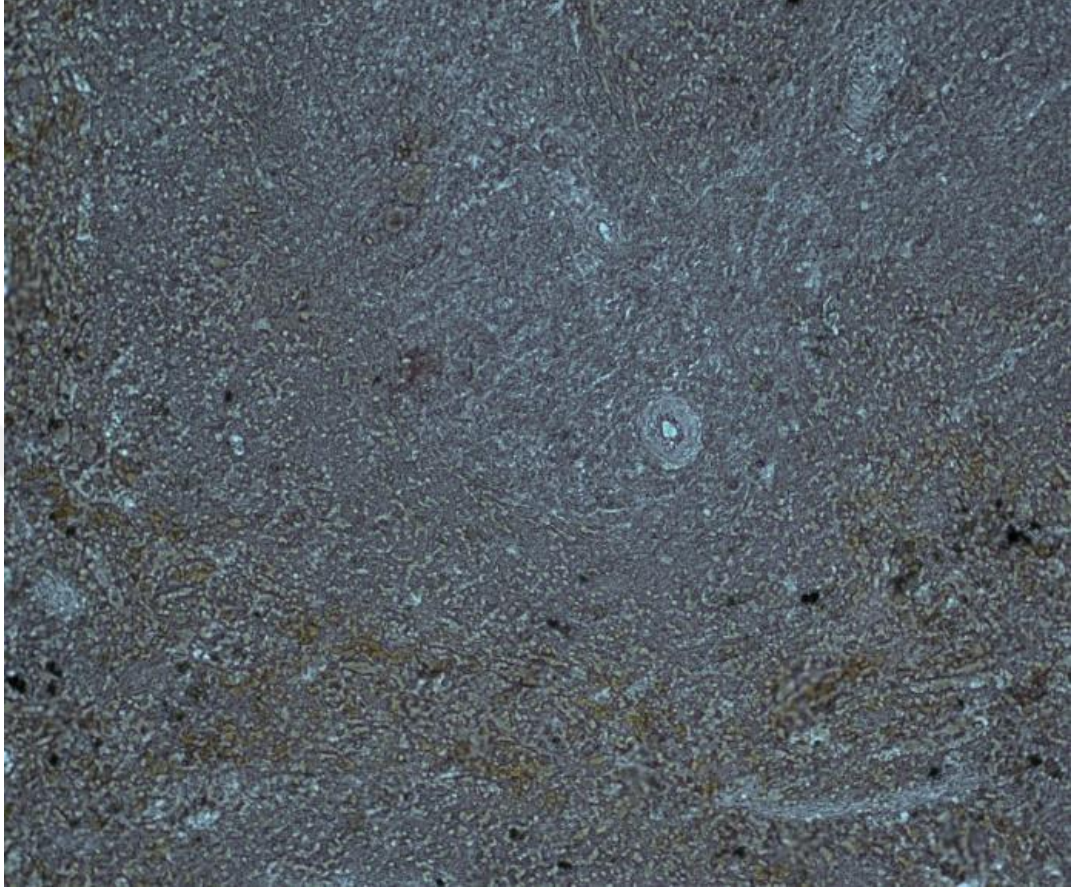
4.7.3. Dalak Kına Boyama

Dalak dokusunun sadece kına ile boyanmasının ardından ışık mikroskopunda yapılan incelemesiyle damar yapılarının net bir şekilde gözlemlendiği görüldü. Eritrositler açık kahve şeklinde izlendi. Kordon yapıları, kırmızı pulpa, beyaz pulpa, trabeküler yapılar ve lümenli yapılar görülebildiği izlendi.



Resim 49. Dalak dokusu (Kına Boyama x10)

Işık mikroskopunda incelenen dalak dokusunun yalnız kına ile boyanmasının ardından ışık kaynağının kısılmasıyla santral arterler ve trabekül yapıları daha net seçildi.

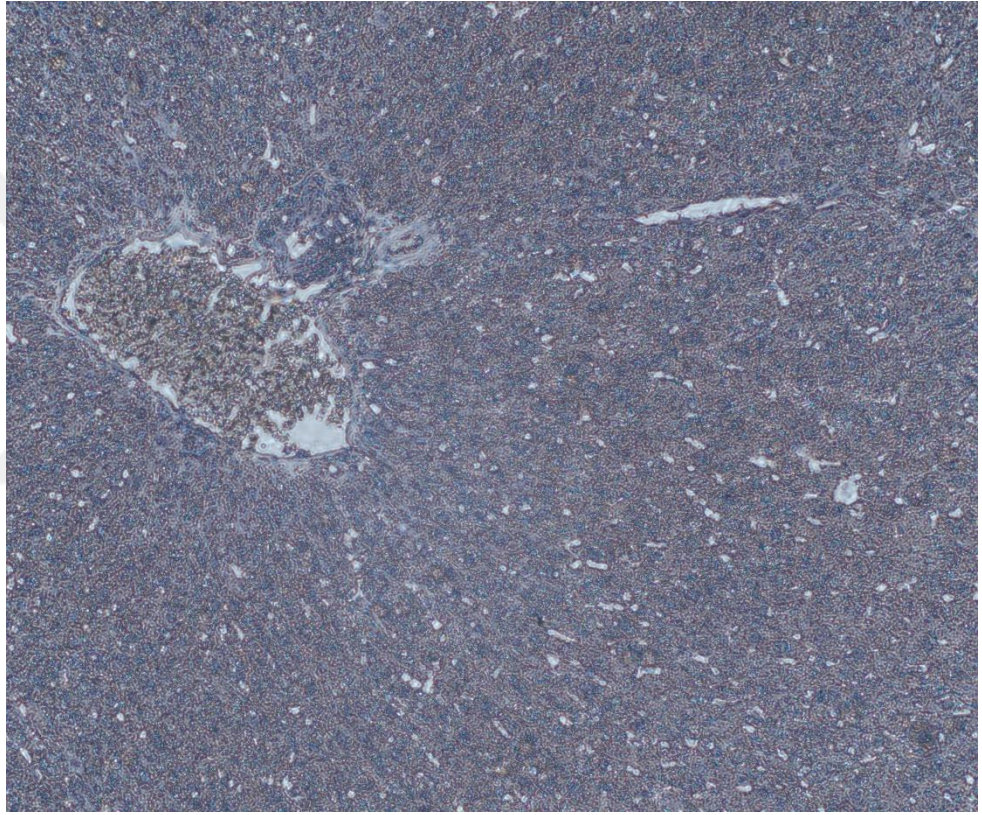


Resim 50. Dalak dokusu (Kına Boyama x20)

4.8. Kına ve Hematoksilen Boyama

4.8.1. Karaciğer Kına ve Hematoksilen Boyama

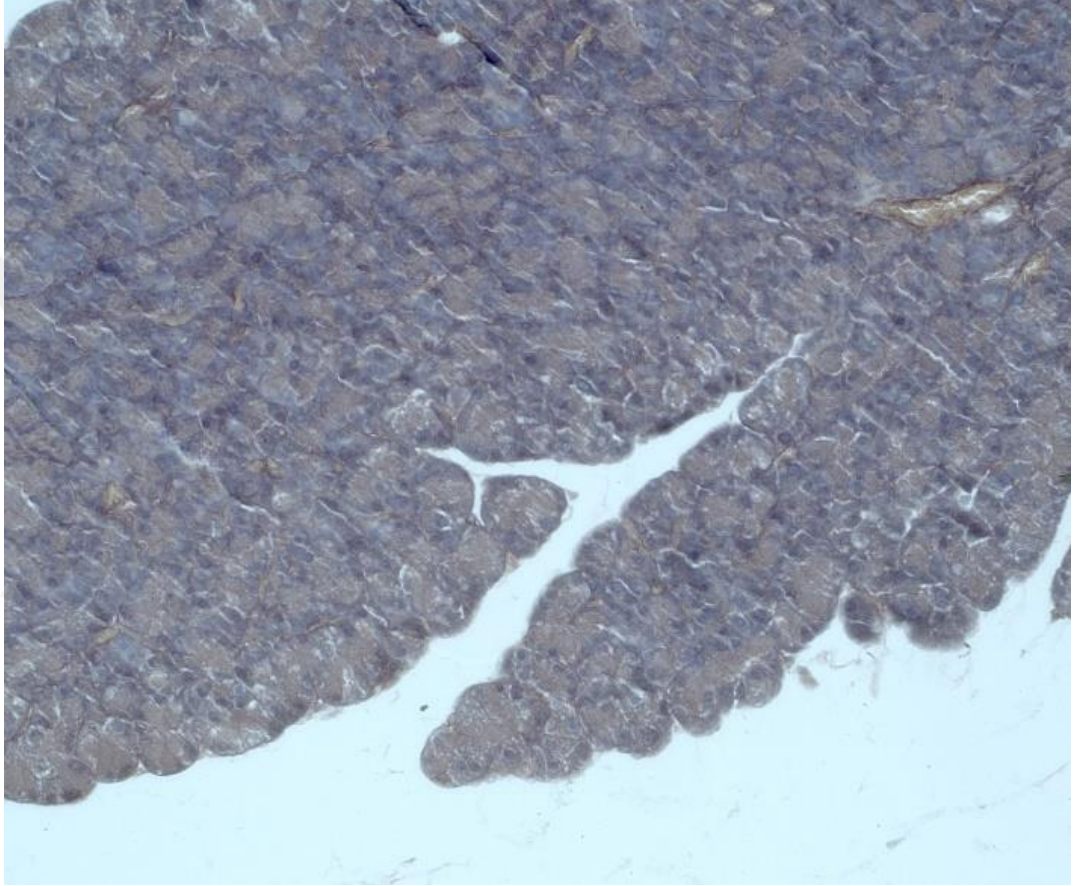
Karaciğer dokusunun hematoksilen ve taş kına ile boyanmasının sonra ışık mikroskopunda yapılan incelemede sadece taş kına ile boyamadan farklı olarak hücre çekirdekleri daha koyu ve belirgin siyaha yakın bir renkte boyandığı izlendi.



Resim 51. Karaciğer dokusu (Kına Boyama x20)

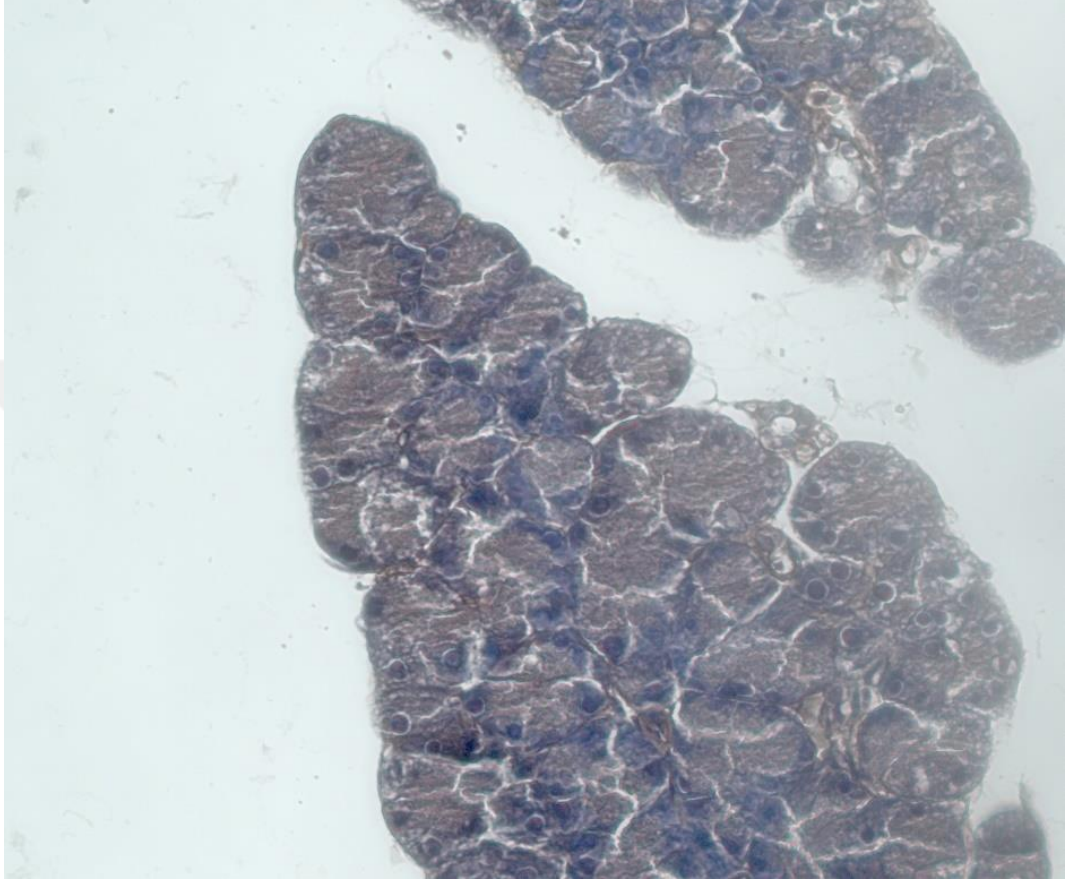
4.8.2. Pankreas Kına ve Hematoksilen Boyama

Hematoksilen ve taş kına ile boyanan pankreas dokusunun ışık mikroskopundaki incelemesinde sadece taş kına ile boyamadan farklı olarak sinüs damar yapıları ve sinüs asinuslar net bir şekilde seçildi.



Resim 52. Pankreas dokusu (Kına ve Hematoksilen boyama x20)

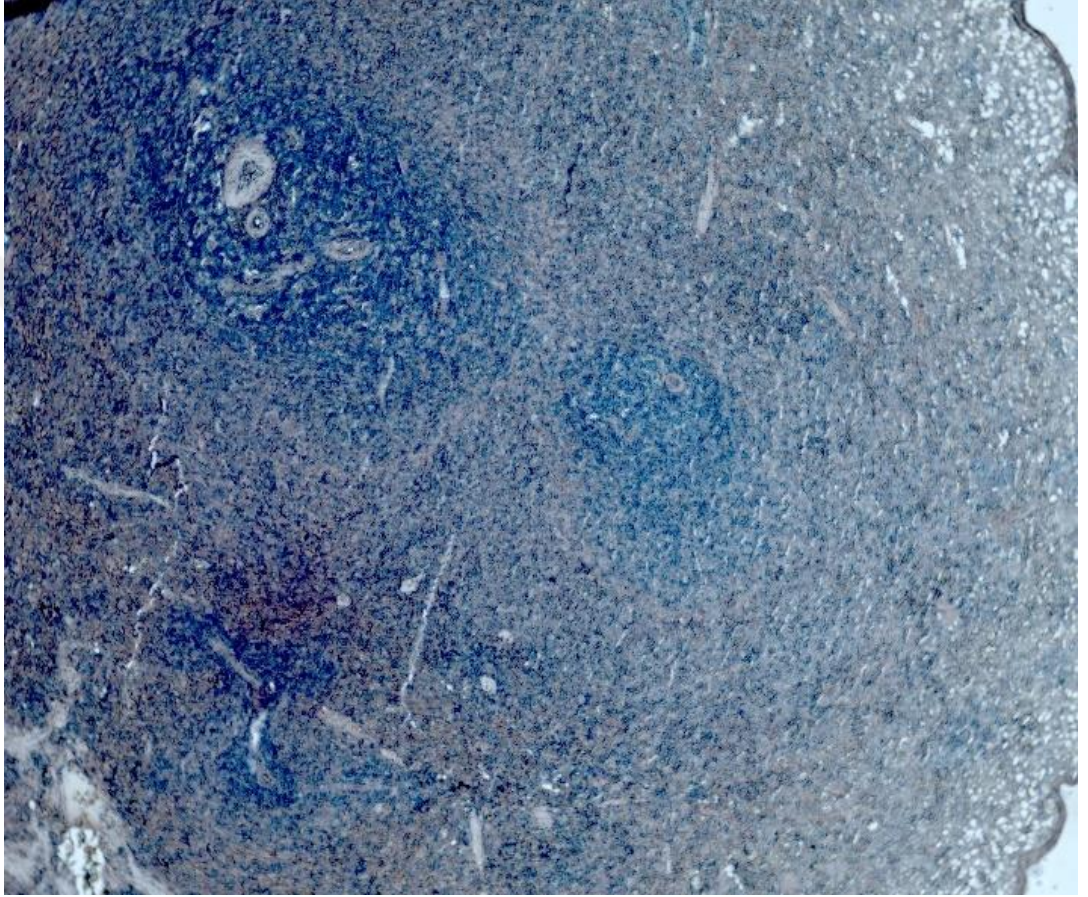
Pankreas dokusunun hematoksilin ve taş kına ile boyanmasının ardından ışık mikroskopunda x40 büyütme ile yapılan incelemesinde, sinüs asinusların sınırları ve zimojenik granüller daha belirgin izlendi ve pankreatik adacık sınırları açıkça görüldü.



Resim 53. Pankreas dokusu (Kına ve Hematoksilin boyama x40)

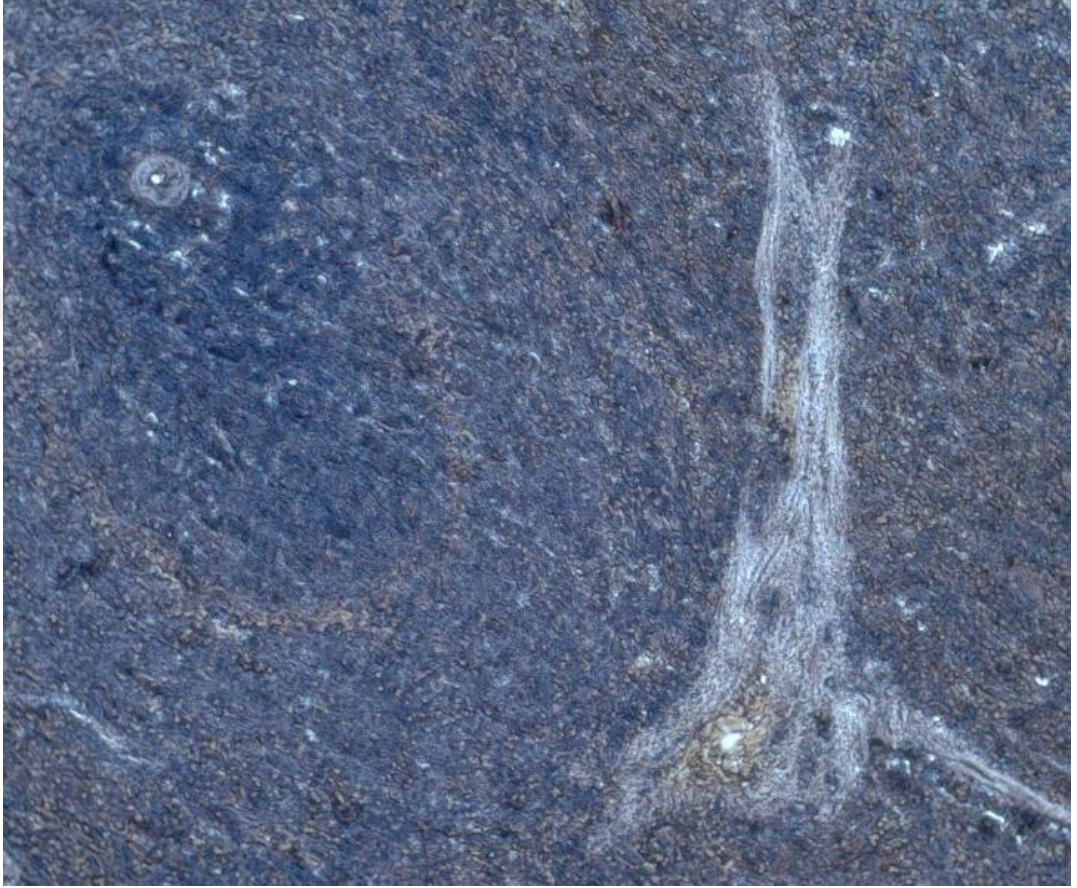
4.8.3. Dalak Kına ve Hematoksilen Boyama

Hematoksilen ve taş kına ile boyanan dalak dokusunun ışık mikroskobu altında incelenmesinden sonra kırmızı pulpa, beyaz pulpa, santral arterler, kordonlar ve venöz sinüsler açıkça seçildi.



Resim 54. Dalak dokusu (Kına ve Hematoksilen boyama x10)

Işık mikroskopunda dalak dokusunun incelenmesi sonucunda, taş kına ve hematoxilen ile boyanan dokunun, sadece hematoxilen ile boyanan dokuya kıyasla daha iyi kontrast verdiği, sınırların daha net seçilebildiği, santral arterler ve trabeküllerin daha belirgin olduğu gözlemlendi



Resim 55. Dalak dokusu (Kına ve Hematoksilen boyama x20)

5. TARTIŞMA

Dokuların ışık ya da elektron mikroskobu ile incelenebilmesi ve ayırt edilebilmesi için hayvan ve bitki dokularından kesitler alınarak boyanması gerekmektedir. Histolojik preparat hazırlama sürecinde, çeşitli yöntemler kullanılarak dokular boya maddeleriyle işlenir ve bir dizi işleminden geçirilir (Anderson, 2011; Black, 2012). Histoloji ve patoloji laboratuvarların hematoksilen ve eozin boyası sıkça kullanılmaktadır. Hematoksilen bazik eozin ise asidik bir boyadır. Hematoksilenin boyama özelliğini kazanabilmesi oksijen ile tepkimesi sonucunda hematein haline dönüşmesi gerekmektedir (Chan, 2014; Marshall ve Horobin, 1972). Oksitlenme doğal ve yapay olmak üzere iki şekilde oluşturulmaktadır. Hematoksilenin hava ve güneş ışığı ile teması sonucunda doğal bir şekilde oksitlenmiş olur. Sodyum iyodat, hidrojen peroksit, cıva oksit ve potasyum permanganat gibi maddelerle muamelesi sonucunda ise hematein yapay yollarla oksitlenmektedir. Hematoksilenin anyonik bir madde olmasından dolayı dokulara afinitesi zayıftır ve mordant olmaksızın dokuları iyi bir şekilde boyayamaz. Yaygın olarak kullanılan mordantlar krom, demir, alüminyum, molibden, kurşun ve tungsten gibi metallerdir (Titford, 2005; Clark, 1974). Hematoksilen hücre çekirdeklerini mavi-mor renge boyarken eozin kırmızı-pembe renge boyamaktadır. Dokularda bulunan yüksek oranda RNA hematoksilenin bazofilik yapıları da boyamasına neden olur. Eozinin ise proteinler ile birlikte etkileşmesi asidofilik yapıları boyamasına neden olmaktadır (Bancroft ve Gamble, 2008; Fischer ve diğerleri, 2008). Laboratuvarlarda kullanılan hematoksilenin gram biriminden maliyeti oldukça yüksektir. Bu durum akademik ve klinik laboratuvarlarında meydana gelen maliyetlerin, bütçe yönetimi üzerinde büyük bir yük oluşturduğunu gösterir. Hematoksilen ve eozin yerine kullanılabilecek çevre dostu ve düşük maliyetli bitkisel boyalar son yıllarda alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır (Orchard, 2019; Titford, 2009; Singh ve diğerleri, 2020).

Hematoksilen ve eozin ile boyanan karaciğer, pankreas ve dalak dokuları ışık mikroskobunda inceledikten sonra histolojik yapıların karakteristik renklerinde olduğunu, hematoksilenin hücre çekirdeklerini mavi-mor, eozinin ise hücre sitoplazmasını pembe renkte boyadığı görülmüştür.

Yalnızca hematoksilen ile boyanan karaciğer, pankreas ve dalak dokularının ışık mikroskobu incelemesinde, hücre çekirdeklerinde bulunan nükleik asitler (DNA ve RNA) ile etkileşime girerek mavi-mor renkte boyandığı gözlemlenmiştir. Bu bulgu, hematoksilenin

nükleik asitlere özgün olarak bağlanma özelliğini doğrulamakta ve hücre çekirdeklerinin belirginleşmesini sağlamaktadır. Ancak, karşıt boyama olarak eozin kullanılmadığında, sitoplazmik yapıların boyanmadığı ve bu durumun doku organizasyonunda hücresel işlevlerin ve yapısal bütünlüğün belirlenmesini zorlaştırdığı görülmüştür.

Hematoksilen boyamaya kurkumin ekstraktı eklenerek karaciğer, pankreas ve dalak dokularının ikili boyanması sonucunda ışık mikroskobu altında yapılan incelemelerde hücre çekirdeklerinin mavi-mor, sitoplazmik alanların ise sarı, açık kahverengi ve yeşilimsi tonlarda boyandığı izlenmiştir.

Avwioro ve ark. (Avwioro ve diğerleri, 2007) kurkumin ekstraktının hematoksilen karşıt boyası olarak kullanıldığında, sarı renk dışında eozin'e benzer bir boyama reaksiyonu gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, bir boyanın belirli doku yapılarını boyama kapasitesinin belirli faktörlere bağlı olduğunu ve bu faktörlerden birinin boyanın asidik yapısı olduğunu belirtmişlerdir.

Hematoksilen boyamasına ek olarak kurkumin ekstraktının kullanıldığı ikili boyama sonucunda, karaciğerin makrofaj hücreleri olan Kupffer hücrelerinin net ve yoğun bir şekilde görüntülendiği gözlemlenmiştir. Hematoksilen ve eozin boyası kullanıldığında, Kupffer hücrelerinin çekirdeklerinin mavi-mor renkte, sitoplazmalarının ise soluk pembe renkte boyandığı gözlemlenmektedir. Sitoplazmanın bu soluk renk alması, Kupffer hücrelerinin hepatositlere göre daha düşük eozinofilik özellik göstermesinden kaynaklanabilir. Hematoksilen, asidik nükleik asitlerle, eozin ise bazik yapıdaki hücresel bileşenlerle, özellikle sitoplazmik proteinlerle etkileşime girerek bu boyanma reaksiyonunu oluşturduğu bilinmektedir. Bu bulgu sonucunda, kurkuminin lipofilik ve hidrofilik özellikler sergileyen doğal bir polifenol olması nedeniyle, eozine kıyasla daha geniş ve güçlü etkileşim potansiyeline sahip olduğunu düşünmekteyiz.

Hematoksilen boyamaya ilaveten kurkumin ekstraktı ve ardından bakır II sülfat karıştırılmasıyla gerçekleştirilen üçlü boyama tekniği ile boyanan karaciğer, pankreas ve dalak dokularının ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucunda kontrastlamada belirgin farklar olduğu görülmüştür.

Kumar ve ark (Kumar ve diğerleri, 2014) kurkumin ekstraktına mordant eklenerek boyanın yüksek ilgi gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca, mordantlama işlemlerinin geliştirilmesi ve standardizasyonu sayesinde, hematoksilenin karşıt boyası olan eozin yerine kurkumin ekstraktının histolojik boya olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Hematoksilen boyamasına safran ekstraktının eklenmesinden sonra, ışık mikroskobu ile yapılan incelemelerde, hücre çekirdeklerinin mavi-mor ve hücre sitoplazmasının koyu sarı renkte boyandığı izlenmiştir. Eozin boyasının asidik bir boya olduğu ve negatif yüklü moleküller olarak pozitif yüklü bazik bileşenlerle iyonik bağlanma gerçekleştirdiği bilinmektedir. Bu bağlamda, safran ekstraktının da asidik yapılarla yüksek ilgi göstererek dokuları boyama kapasitesine sahip olabileceği düşünmekteyiz.

Hematoksilen ve eozin boyaları, laboratuvarlarda doku boyama süreçlerinde yaygın olarak kullanılan boyalar olup, hematoksilenin oksitlenmiş formu yüksek toksisite riski taşırken, eozin sentetik bir boya olarak sınıflandırıldığı bilinmektedir. Çalışmamızda, kurkumin ve safran bitkilerinden elde edilen ekstraktlarla karaciğer, dalak ve pankreas dokularının boyanmasında başarılı sonuçlar elde ettik. Bu veriler ışığında, doğal bitki ekstraktlarının hematoksilen ve eozin yerine kullanılarak, daha düşük toksisite ve çevresel sürdürülebilirlik sunan yeni doku boyama tekniklerinin geliştirilebileceğini düşünmekteyiz.

Hematoksilen ve eozin boyaları, laboratuvarlarda dokuları boyamak amacıyla sıklıkla kullanılan klasik bir ikili boyama yöntemidir. Ancak, bu boyaların yüksek maliyetinin laboratuvarlar için önemli bir gider kalemi oluşturmakta olduğunu bilmekteyiz. Çalışmamızda, kurkumin, safran ve taş kınadan elde ettiğimiz ekstraktlarla dokuları boyadık ve bu doğal boyaların maliyetinin hematoksilen ve eozine kıyasla belirgin şekilde daha düşük olduğunu gözlemledik. Bu bulgular doğrultusunda, doğal ekstraktların laboratuvar maliyetlerini önemli ölçüde azaltma potansiyeline sahip olabileceğini düşünmekteyiz.

Taş kına ile boyanan karaciğer dokusunun ışık mikroskobu ile incelenmesinde karaciğerin ana işlevsel hücreleri olan hepatositlerin seçilebildiği ve hücre çekirdeklerinin koyu kahverengi boyandığı gözlemlenmiştir. Hematoksilen boyama işleminde hematoksilenin nükleik asitlerle “elektrostatik bağlanma” yolunu kullanarak etkileşime geçtiğini ve mavi-mor rengini verdiğini, ayrıca hepatositlerin çekirdeklerinde nükleik asitlerin olduğunu bilmekteyiz. Yapmış olduğumuz çalışma neticesinde taş kınanın nükleik asit içeren yapıları boyayabileceğini ve bunu elektrostatik bağlanma yoluyla gerçekleştirebileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışma sonucunda, safran, kurkumin ve taş kına ekstraktlarının hematoksilen ve eozin yerine histolojik doku boyamalarında kullanılabileceği görüldü. Yapılan analizler ışığında elde edilen bu doğal boyaların mordantlarla birlikte kullanıldığında yüksek ilgi gösterdikleri ve dokuları başarılı bir şekilde boyadıkları gözlemlendi. Çalışmamızda safran, kurkumin ve taş kına ekstraktlarının toksik olmamaları, düşük maliyetli olmaları ve kolay erişilebilir olmaları açısından bu boyaların laboratuvarlarda rutin olarak kullanılabilirliğini göstermeyi hedefledik. Bu bağlamda, safran, kurkumin ve taş kına gibi doğal boyaların, geleneksel sentetik boyalar yerine kullanılması hem ekonomik açıdan hem de çevre açısından daha sürdürülebilir bir alternatif sunmaktadır.

Doğal boyaların çeşitli doku tiplerinde ve farklı histolojik yöntemlerle daha geniş kapsamlı test edilmesi, boyaların uzun vadeli stabiliteleri ve boyama etkinliklerinin detaylı olarak incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca, bu boyaların klinik laboratuvarlarda rutin kullanımına geçilmeden önce, geniş çaplı standardizasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesi ve kalite kontrol işlemlerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Böylece, safran, kurkumin ve taş kına gibi doğal boyaların histolojik boyamalarda daha yaygın ve güvenilir bir şekilde kullanılması mümkün hale gelecektir.

KAYNAKLAR

- Abraham, L., ve Kierszenbaum, M. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. (S. Arbak, Dü., ve R. Demir, Çev.) Ankara: Palme Yayıncılık.
- Abrahams, S., Haylett, W. L., Johnson, G., Carr, J. A., ve Bardien, S. (2019). Antioxidant effects of curcumin in models of neurodegeneration, aging, oxidative and nitrosative stress: A review. *Neuroscience*(406), 1–21. doi:10.1016/j.neuroscience.2019.02.020
- Acharya, P., Chouhan, K., Weiskirchen, S., ve Wei, R. (2021). Cellular Mechanisms of Liver Fibrosis. *Pharmacol*, 12:671640.
- Akbulut, G., Çiftci, H., ve Yıldız, E. (2008). *Sindirim sistemi hastalıkları ve beslenme tedavisi*. Ankara: Klasmat Matbaacılık.
- Akbulut, M. (2021). *Sıçanlarda asetaminofen ile oluşturulan karaciğer toksisitesi üzerine somatostatin analogu oktreotidin etkisinin araştırılması*. Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Aktümsek, A. (2004). *Anatomi ve Fizyoloji* (2. Baskı b.). İstanbul: Nobel Yayınları.
- Alhumaydhi, F. A., Khan, I., Rauf, A., Qureshi, M. N., Aljohani, A. S., Khan, S. A., ve Muhammad, N. (2021). Synthesis, characterization, biological activities, and catalytic applications of alcoholic extract of saffron (*Crocus sativus*) flower stigma based gold nanoparticles. *Green Processing and Synthesis*, 10(1), 230-245.
- Ali, F., ve Orchard, G. (2017). Hematoxylin in history – the heritage of histology. *JAMA Dermatol*, 153(3):328. doi:10.1001/jamadermatol.2016.0506
- Al-Suwaidi, A., ve Ahmed, H. (2010). Determination of para-phenylenediamine (PPD) in henna in the United Arab Emirates. *International Journal of Environmental Research and Public Health*(7).
- Altuğ , T. (2001). *Gıda Katkı Maddeleri*. İzmir: Meta Basım.
- Alves, R. C., Fernandes, R. P., Fonseca-Santos, B., Victorelli, F. D., ve Chorilli, M. A. (2019). Critical Review of the Properties and Analytical Methods for the Determination of Curcumin in Biological and Pharmaceutical Matrices. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*(49), 138–149.
- Amalraj, A., Pius, A., Gopi, S., ve Gopi, S. (2017). Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives—A Review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*(7), 205–233.

- American Gastroenterological Association. (2002). American Gastroenterological Association Medical Position Statement: Evaluation of Liver Chemistry Tests. *Gastroenterology*(123(4)).
- Anderson, J. (2011). *An introduction to Routine and Special Staining*.
- Arıncı, K., ve Elhan, A. (1997). *Anatomi* (Cilt 1. Cilt). Güneş Kitabevi.
- Arıncı, K., ve Elhan, A. (2001). *Anatomi* (Cilt 1. cilt). Güneş Kitabevi.
- Arıncı, K., ve Elhan, A. (2006). *Anatomi* (4 b., Cilt 1). Ankara: Güneş Kitabevi.
- Aşır, F. (2021). *Obezite ve Pankreas Histolojisi*. İksad Yayınevi.
- Avwioro , O. (2010). Histochemistry and tissue pathology, principles and techniques.
- Avwioro, O. G., Onwuka, J., dahunsi, T., Oduola, O. E., ve Oladele, A. A. (2007). Curcuma longa extract as a histological dye for collagen fibres and RBC Journal of anatomy. 210(5), 600-603.
- Ayaz, H., Kaya, S., ve Nergiz, Y. (2022). Deneysel Diyabetik Sıçanlarda Metformin, E Vitamini ve Çörek Otu Yağının Karaciğer Dokusu Üzerine Hepatoprotektif Etkilerinin Karşılaştırılması. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 19(2), 421-427.
- Ball , S. G., ve Barber , T. M. (2003). Molecular development of the pancreatic beta cell: implications for cell replacement therapy. *Trends Endocrinol Metabolism*, 14(8).
- Bancroft, J. D., ve Gamble, M. (2008). Theory and Practice of Histological Techniques. *Churchill Livingstone*.
- Bancroft, J. D., ve Layton, C. (2013). *Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone.
- Bancroft, J. D., ve Layton, C. (2019). Theory and Practice of Histological Techniques. *Elsevier Health Sciences*.
- Bancroft, J. D., ve Stevens, A. (1996). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques* (8 b.). (J. D. Bancroft, ve A. Stevens, Dü) Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Bardeesy, N., ve DePinho, R. A. (2002). Pancreatic cancer biology and genetics. *Nature Reviews Cancer* , 2(12), 897-909.
- Bathaie, S. Z., ve Mousavi, S. Z. (2010). New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(8), 761–786.
- Bhuyan , R., ve Saikia, C. N. (2005). Isolation of colour components from native dye-bearing plants. *Bioresour Technol*(96).

- Birvar, K., ve Dergün, Ç. (1989). *Topoğrafik Anatomi* (1.Baskı b.). İstanbul: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Yayınları.
- Black, J. (2012). *Microbiology: Principles and exploration* (8th ed. b.). John Wiley ve Sons.
- Blackbourne, L., Antev, J., ve Moore, C. (2001). *Anatomi* (3. Baskı b.). Ankara: PalmeYayıncılık.
- Bolhasani, A., Bathaie, S. Z., Yavari, I., Moosavi-Movahedi, A. A., ve Ghaffari, M. M. (2005). Separation and purification of some components of Iranian saffron . *Asian J. Chem*, 17 : 725 – 729.
- Borley, N. R. (2005). *Gray's anatomy* (39 b.). Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Brandtzaeg , P. (1998). The increasing power of immunohistochemistry and immunocytochemistry. *Journal of Immunological Methods*(216), 49–67.
- Bukhari, S. I., Manzoor, M., ve Dhar, M. A. (2018). comprehensive review of the pharmacological potential of *Crocus sativus* and its bioactive apocarotenoids. *Biomed*, 98, 733–745.
- Cai, H. Y., Caswell, J. L., ve Prescott, J. F. (2014). Nonculture molecular techniques for diagnosis of bacterial disease in animals: a diagnostic laboratory perspective. 51:341-50. doi:10.1177/0300985813511132
- Cardone, L., Castronuovo, D., Perniola, M., Cicco, N., ve Candido, V. (2020). Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: an overview. 272. doi:10.1016/J.SCIENTA.2020.109560
- Carriel , V. S., Aneiros-Fernandez , J., Arias-Santiago, S., Garzón , I. J., Alaminos, M., ve Campos , A. (2011). A novel histochemical method for a simultaneous staining of melanin and collagen fibers. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*.(59), 270–277. doi:10.1369/0022155410398001
- Carson, F. L., ve Hladik, C. (2009). Histotechnology: A Self-Instructional Text. *American Society for Clinical Pathology Press*.
- Casillas, J., Levi, J. U., Quiroz, A. O., Ruiz-Cordero, R., Garcia-Buitrago, M. T., Sleeman, D., ve Ruiz-Cordero, R. (2015). Multidisciplinary teaching atlas of the pancreas: radiological, surgical, and pathological correlations.
- Ceccopieri, C., Skonieczna, J., ve Madej, J. P. (2021). Modification of a haematoxylin, eosin, and natural saffron staining method for the detection of connective tissue. *Journal of Veterinary Research*(65(1)), 125-130.

- Celis, F., Segura, C., Gómez-Jeria, J. S., Campos-Vallette, M., ve Sanchez-Cortes, S. (2021). Analysis of biomolecules in cochineal dyed archaeological textiles by surface-enhanced Raman spectroscopy. *Scientific Reports*, 11(1).
- Cesta, M. F. (2006). Normal structure, function, and histology of the spleen. *Toxicol Pathol*, 34(5). doi:10.1080/01926230600867743
- Chan, J. (2014). The Wonderful Colors of the Hematoxylin–Eosin Stain in Diagnostic Surgical Pathology. *International Journal of Surgical Pathology*.
- Clark, G. (1974). Comparison of various oxidants for alum hematoxylin. *Stain Technol*, 49;225-227.
- Cook, H. C. (2009). The theory of histological staining and the influence of chemical structure on staining characteristics. *Journal of Histotechnology*, 32(4), 183-191.
- Cook, H. C. (2015). Manual of Histological Demonstration Techniques. *Butterworth-Heinemann*.
- Cooksey, C. J. (2018). Quirks of dye nomenclature 10. Eosin Y and its close relatives. *Biotechnic ve Histochemistry*, 93(3), 211-219. doi:10.1080/10520295.2017.1413207
- Cooksey, C. S. (2017). Tumeric–old spice, new spice. *Biotechnic ve Histochemistry*(92(5)), 309-314. doi:10.1080/10520295.2017.1310924
- Dapson, R. W. (2006). A method for determining identity and relative purity of carmine, carminic acid and aminocarminic acid. *Biotechnic & Histochemistry*(81), 1-5.
- Dapson, R., Horobin , R. W., ve Kiernan, J. A. (2010). Hematoxylin shortages: their causes and duration, and other dyes that can replace hemalum in routine hematoxylin and eosin staining. 85 : 55 – 63.
- Devi, S. V. (2016). *Basic Histology: a Color Atlas ve text*. JP Medical Ltd.
- Dey, P. (2021). Immunocytochemistry in diagnostic cytology. *Medical Publishers*.
- Drury , R. B., ve Wallington, E. A. (1967). *Carleton's Histological Technique* (4 b.). New York , Toronto: Oxford Univercty.
- Drury, R., ve Wallington , E. (1980). *Carleton's Histological Technique*. Oxford: Oxford University Press.
- Edston, E., ve Gröntoft, L. (1997). Saffron - A connective tissue counterstain in routine pathology. *Journal of Histotechnology*(20), 123–125. doi:10.1179/his.1997.20.2.123
- El Midaoui, A., Ghzaïel, I., Vervandier-Fasseur, D., Ksila, M., Zarrouk, A., Nury, T., . . . Latruffe, N. (2022). Saffron (*Crocus sativus* L.): A source of nutrients for health and for the treatment of neuropsychiatric and age-related diseases. *Nutrients*, 14(3), 1–20.
- Engin, A. (2000). *Genel Cerrahi*. Atlas Kitapçılık.

- Erdoğan , D., Hatipoğlu , M. T., Ilgaz, C., ve Görgün, M. (1990). *PAS: Histoloji laboratuvar klavuzu* (2 b.). Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Eren, Ü., ve Bozkurt, M. (2017). Beslenme tipi ve yaşam ortamı farklı olan balıklarda immun sistem organları: II. Dalak üzerinde histolojik çalışmalar. *Animal Health Production and Hygiene*, 6(2), 519-525.
- Eroschenko, V. P. (2001). *Di Fiore Histoloji Atlası: fonksiyonel ilişkileriyle*. (R. Demir, Dü.) Palme Yayıncılık.
- Eşrefoğlu, M., Taşlıdere, E., ve Çetin, A. (2017). Karaciğer ve pankreas gelişimi. *Bezmialem Science*, 30-35.
- Faisal , R. A., ve Orchard, G. E. (2017). Hematoxylin in history – the heritage of histology. *JAMA Dermatol*, 153(3):328. doi:10.1001/jamadermatol.2016.0506
- Farkhondeh, T., Samarghandian, S., Yazdi, H. S., ve Samini, F. (2018). The protective effects of crocin in the management of neurodegenerative diseases: A review. *American Journal of Neurodegenerative Disease*, 7(1), 1–10.
- Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., ve Zeller, R. (2008). Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections.
- Fischer, J. (2011). *Karaciğer ve Safra Yollarının Cerrahi Anatomisi*. (M. Özmen, Y. Erbil, E. Dilektali, Dü, ve S. Çoban, Çev.) İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri.
- Gallyas, F. (2018). Silver staining techniques for microscopy. *Journal of Microscopy*, 271(3), 214-220. doi:10.1111/jmi.12623
- Gartner, L. P., ve Hiatt, J. L. (2007). *Color textbook of histology*. Elsevier Saunders.
- Gartner, L. P., ve Hiatt, J. L. (2011). *Concise histology*. Philadelphia: aunders/Elsevier.
- Garvey, W. (1984). Modified elastic tissue-Masson trichrome stain. *Stain Technol*(59(4)).
- Giaccio, M. (2004). Crocetin from saffron: An active component of an ancient spice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(3), 155–172.
- Gill, J. E., ve Frost, J. K. (2019). Advances in histological staining techniques using nanotechnology. *Journal of Histotechnology*, 42(2), 123-134. doi:10.1080/01478885.2019.1598256
- Gilroy, A. (2016). *Anatomi Temel Ders Kitabı*. Palme Yayıncılık.
- Giordano, A., ve Tommonaro, G. (2019). Curcumin and Cancer. *Nutrients*, 11. doi:10.3390/nu11102376.
- Godoy, P., Hewitt, N. J., Albrecht, U., Andersen , M. E., Ansari, N., Bhattacharya, S., ve Boess, F. (2013). Recent advances in 2D and 3D in vitro systems using primary hepatocytes, alternative hepatocyte sources and non-parenchymal liver cells and their

- use in investigating mechanisms of hepatotoxicity, cell signaling and ADME. *Archives of Toxicology*, 87(8), 1315-1530. doi:10.1007/s00204-013-1078-5
- Goel, A., Kunnumakkara, A. B., ve Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol*(75).
- Goldman, L., ve Schafer, A. I. (2011). *Goldman's cecil medicine E-book*. Elsevier Health Sciences.
- Gouw, A. H., Clouston, A. D., ve Theise, N. D. (2019). Ductular reactions in human liver: diversity at the interface. *Hepatology*, 69(5), 2303-2321. doi:10.1002/hep.30382
- Göç, R. (2019). *Karaciğer Histolojisi*. Akademisyen Kitabevi.
- Gökmen , F. G. (2003). *Sistematik anatomi*. İzmir : Güven Kitabevi.
- Gray, H. (2008). *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice* (40th Edition b.). Churchill Livingstone.
- Gray, H., ve Williams, P. (2016). *Gray's Anatomy*. Churchill Livingstone.
- Grizzle , W. E. (1996). Theory and practice of silver staining in histopathology. *J Histotechnol*(19(3)), 183-195.
- Groover, A., Geddis, C., ve Finney , A. (2009). Recent hematoxylin shortage and evaluation of commercially available substitutes. *Histologic*, 1–4.
- Gurr, E. (1962). Staining animal tissues: practical and theoretical. *London: Leonard Hill*.
- Guyton, A. C., ve Hall, J. E. (2006). *Textbook of Medical Physiology* (11 b.). Pennsylvania: Insevier inc.
- Hadizadeh, F., Mohajeri, S. A., ve Seifi, M. (2010). Extraction and purification of crocin from saffron stigmas employing a simple and efficient crystallization method. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(14).
- Handa, S., Mahajan, R., ve De , D. (2012). Contact dermatitis to hair dye: an update. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*(78(5)), 583–590.
- Hari, D. P., ve König, B. (2014). Synthetic applications of eosin Y in photoredox catalysis. 50(51), 6688–6699. doi:10.1039/c4cc00751d
- Heller, T., Phiri , V., Kumwenda, T., ve Mzumara, W. (2024). *Caudate Lobe of the Liver: Anatomy, Embryology, and Pathology*. AJR.
- Heukeshoven, J., ve Dernick, R. (1985). Simplified method for silver staining of proteins in polyacrylamide gels and the mechanism of silver staining. *Electrophoresis*(6(3)), 103-112.
- Horobin, R. W. (2013). *Bancroft ' s Theory and Practice of Histological*. (S. K. Suvrna, C. Layton, ve J. D. Bancroft, Dü) Amsterdam: Churchill Livingstone Elsevier.

- Horobin, R. W., ve Bancroft, J. D. (1998). *Troubleshooting Histology Stains*. Springer.
- Horobin, R. W., ve Kiernan, J. A. (2002). *Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine*. BIOS Scientific Publishers.
- Horobin, R. W., ve Kiernan, J. A. (2002). *Conn's biological stains* (10 b.). Oxford.
- Hosoyamada, Y., Kurihara , H., ve Sakai, T. (2002). On The Human Body. *Journal of Anatomy*, 196(3), 327–340.
- Jain, D., ve Hrudka, J. (2023). Anatomy ve histology. <https://www.pathologyoutlines.com/topic/pancreasnormal.html>. adresinden alındı
- Jain, S., Scheur, P. J., Archer , B., Newman, S. P., ve Sherlock , S. (1978). Histological demonstration of copper and copper associated protein in chronic liver disease. *Journal of Clinical Pathology*(31).
- Jeon, J., Correa-Medina, M., Ricordi, C., Edlund, H., ve Diez, J. A. (2009). Endocrine cell clustering during human pancreas development. (57).
- Jocelyn, H., ve Bruce-Gregorios, M. (1974). Histopathologic techniques.
- Johansen, D. A. (1940). *Plant Microtechnique*. New York and London: McGraw-Hill Book Co.
- Jones, M. L. (2010). Mastering the trichrome stain. *Connection* (14), 79 – 84.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J., ve Kelly, R. O. (1990). *Cytochemistry and Histochemistry* (6 b.). A Lange Medical Book.
- Junqueira, L., Carneiro, J., Aytakin, Y., ve Solakoğlu, S. (2009). *Temel histoloji:text ve atlas*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Karaçalı, S. (2003). Glikobiyoloji Güncel Moleküler Biyoloji. *Turkish Journal of Veterinary ve Animal Sciences*, 27(3).
- Karaliotas , C., ve Broelsch , C. (2006). *Liver and biliary tract surgery embryological anatomy to 3D-imaging and transplant innovations*. (N. Habib, Dü.) SpringerWienNewYork.
- Karıncaoğlu, M. (2009). Hepatobiliyer Anatomi ve Fizyoloji. (H. Değertekin, ve K. Yalçın, Dü) *Karaciğer Hastalıklarına Klinik Yaklaşım*, 49-53.
- Kasper, M., Hoang, N. T., Walscheid, R., ve Funk, R. W. (2020). PAS staining: A simple and rapid method to visualize chondrogenesis in vitro. *Journal of Histotechnology*, 43(1), 1-8. doi:10.1080/01478885.2019.1706419
- Kayalı , H. (1992). *Özel histoloji*. İÜ CTF Yayını.

- Kiernan, J. A. (2002). Silver staining for spirochetes in tissues: Rationale, difficulties, and troubleshooting. *Laboratory Medicine*(33(9)), 705-708.
- Kiernan, J. A. (2015). Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. *Scion Publishing*.
- Kim, H. R., Park, K. S., ve Kim, J. S. (2019). Comparison of hematoxylin solutions prepared by natural and synthetic methods in histological staining. *Journal of Histotechnology*, 42(3), 200-206. doi:10.1080/01478885.2019.1585792
- Kim, Y. J., Lee, H. J., ve Shin, Y. (2013). Optimization and validation of high-performance liquid chromatography method for individual curcuminoids in turmeric by heat-refluxed extraction. *Journal of agricultural and food chemistry*(61), 46.
- King, B., ve Lee, J. (2020). Silver staining techniques for neurodegenerative disease research. *Histopathology*, 77(2), 184-194. doi:10.1111/his.14132
- Kirk, D. M., Smart, J. C., ve Ratcliff, M. J. (2020). Advances in Gram Staining Techniques: Applications and Methodologies. *Journal of Clinical Microbiology*. doi:10.1128/JCM.00556-20
- Koçar, İ. H., Mas, R., Ünal, M. T., ve Özütemiz , Ö. (2004). *Pankreatit'te Yeni Ufuklar*. Ankara.
- Koyama, Y., ve Brenner, D. A. (2017). Liver inflammation and fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*, 127(1), 55-64. doi:10.1172/JCI88881
- Kumar, S., Singh, N. N., Singh, A., Singh, N., ve Sinha, R. K. (2014). Use of Curcuma longa L. extract to stain various tissue samples for histological studies. *AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda)*, 35(4), 447-451.
- Kumar, V., ve Abbas, A. K. (2020). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. *Elsevier*.
- Kuper, C. F., Ruehl-Fehlert, C., Elmore, S. A., ve Parker, G. A. (2013). *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. Academic Press.
- Kuran, O. (1983). *Sistematik Anatomi*. İstanbul : Filiz Kitabevi.
- Kuran, O. (1983). *Sistematik Anatomi*. 209-230; 345-346; 429-430.
- Kuran, O. (1993). *Sistematik Anatomi*. İstanbul: Filiz Kitap Evi.
- Lade, A. G., ve Monga, S. P. (2011). Beta-catenin signaling in hepatic development and progenitors: Which way does the WNT blow? *Developmental Dynamics*(240(3)), 486-500.
- Lakhan, S. E., Ford, C. T., ve Tepper, D. (2015). Zingiberaceae extracts for pain: A systematic review and meta-analysis. *Nutr J*(14), 50.

- Lalor, G., ve Martin, S. (1959). Studies on haematoxylin and haematein. The colouring principles of logwood. I. Absorption spectra of pure compounds in various solvents and a spectrophotometric method of analysis for haematoxylin and haematein. *The Colouring Principles of Logwood*.
- Larsen, W. J. (1997). *Human embryology* (2 b.). New York: Churchill Livingstone Inc.
- Lee, J., Kim, S., ve Park, K. (2020). Applications of natural dyes in histopathology. *Journal of Histotechnology*, 43(3), 112-120. doi:10.1080/01478885.2020.1713470
- Lee, K. J., Yang, H. J., Jeong, S. W., ve Ma, J. Y. (2012). Solid-phase extraction of curcuminoid from turmeric using physical process method. *Korean Journal of Pharmacognosy*(43), 250-256.
- Lendrum, A. C. (1947). A Note on Haematoxylin. . *Journal of Clinical Pathology* , 1(1), 2-4.
- Li, M., Ngadi, M. O., ve Ma, Y. (2014). Optimisation of pulsed ultrasonic and microwave-assisted extraction for curcuminoids by response surface methodology and kinetic study. *Food Chemistry*(165), 29-34.
- Lillie, R. D. (1977). *Conn 's Biological Stains: a Handbook on the Nature and Uses of the Dyes Employed in the Biological Laboratory* (9 b.). (Williams, ve Wilkins, Dü) Baltimore.
- Lowe, D., ve Anderson, P. G. (2015). *Pathology: A Modern Case Study*. McGraw-Hill Education.
- Mahlitig, B., ve Bottcher, H. (2020). Metal Complexes as mordants in natural dyeing and printing—options and Challenges. *Molecules*(25(16)), 36–37.
- Marieb, N., ve Hoehn, K. (2018). *Anatomi ve Fizyoloji*. (İ. TATAR , Dü.) Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.
- Marshall , P., ve Horobin, R. (1972). The oxidation products of haematoxylin and their role in biological staining. *Journal of Histochemistry*., 4;493-503.
- Mazidi, M., Shemshian, M., Mousavi, S. H., Norouzy, A., Kermani, T., ve Moghiman, T. (2016). A double-blind, randomized and placebo-controlled trial of Saffron (*Crocus sativus* L.) in the treatment of anxiety and depression. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 13(2), 195–199.
- Melo, R. N., D'Avila, H., Bozza, P. T., ve Weller, P. F. (2015). Lipid body–phagosome interaction in macrophages during infectious diseases: Host defense or pathogen survival strategy? *PLoS Pathogens*, 11(5). doi:10.1371/journal.ppat.1004751
- Mescher, A. L. (2013). *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas* (14 b.). McGraw-Hill Education.

- Mescher, A. L. (2016). Junquiera's Basic Histology: Text and Atlas. *McGraw-Hill Education*.
- Mescher, A. L. (2018). *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas*. New York: McGraw Hill.
- Mescher, A. L. (2019). *Junqueira Temel Histoloji*. İstanbul: Güneş Tıp Kitapevleri.
- Mills, S. E. (2012). *Histology for Pathologists* (4 b.). (WilliamsveWilkins, Dü.) Philadelphia:: Lippincott.
- Mishra, S., ve Goel, B. (2020). Pharmaceutical and Nutritional Properties of Turmeric (*Curcuma longa*): A Mini Review. *Advances in Zoology and Botany*, 8(3), 83-86.
- Moore, K. L., ve Dalley, A. F. (2018). *Clinically Oriented Anatomy*. Wolters kluwer india Pvt Ltd.
- Moore, K. L., Persaud, T. N., ve Torchia, M. G. (2013). *Before We are Born* (8 b.). Elsevier Saunders.
- Moore, K. L., Persaud, T. N., ve Torchia, M. G. (2016). *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. (H. Dalçık, Dü.) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- Moore, K. L., Persaud, T. N., Yıldırım, M., Okar, İ., ve Dalçık, H. (2002). *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Moore, K., ve Dalley, A. (2017). *Clinically Oriented Anatomy*. Wolters Kluwer.
- Moore, K., ve Dalley, A. (2018). *Clinically Oriented Anatomy* (7th Edition b.). Wolters Kluwer.
- Moore, K., ve Dalley, F. (2005). *Clinically Oriented Anatomy* (5th Edition b.).
- Moore, K., ve Dalley, F. (2007). *Clinically Oriented Anatomy* (4th Edition b.). (K. Şahinoğlu, ve K. Y. Anatomi, Çev.) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd.Şti.
- Mortele, K., ve Ros, P. (2001). *Anatomic Variants of the Biliary Tree: MR Cholangiographic Findings and Clinical Applications*. *AJR Am J Roentgenol*.
- Murphy, D. B. (2001). *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging*. Wiley-Liss.
- Musumeci, G. (2014). Past, present and future: overview on Histology and histopathology. *Journal Histol Histopathol*. doi:10.7243/2055. 10.7243/2055-091X-1-5
- Muştu, Ç. (2021). Safranın (*Crocus sativus* L.) özellikleri, tarihçesi ve gıdalarda kullanımı üzerine bir araştırma. *Food and Health*, 7(4), 300-310.
- Netter, F. (2014). *Atlas of Human Anatomy* (6th Edition b.). Saunders.
- O ' Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P., ve Budavari, S. (2001). *The Merck Index: an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals* (12 b.). (N. J. RahwaY, Dü.) Merck ve Co.

- Olson, A. C., Hinds, M. T., ve Sodhi, C. P. (2019). Advances in immunohistochemical techniques: Toward greater specificity and sensitivity. *Histochemistry and Cell Biology*, 152(4), 253-261. doi:10.1007/s00418-019-01814-1
- Orchard, G. E. (2019). Haematoxylin in history – the heritage of haematoxylin. *Journal of Histotechnology*, 42(2), 89-95. doi:10.1080/01478885.2019.1614312
- Ortiz-Hidalgo, C., ve Pina-Oviedo, S. (2019). Hematoxylin: Mesoamerica's gift to histopathology. *International Journal of Surgical Pathology*, 27(1), 4-14.
- Ozan, H. (2004). *Ozan Anatomi*. p. 98: Nobel Tıp Kitabevi.
- Ozkaya, E., ve Yazganoğlu, K. D. (2013). Henna stone: a lesser-known solid material from which to obtain black henna paste. *Contact Dermatitis*(69), 386. doi:10.1111/cod.12132
- Özer, A. (2023). *Temel Histoloji*. Dora Yayınları.
- Özmen, M. M. (2011). *Pankreas Hastalıkları* (8 b.). (Ü. Değerli, ve Y. Erbil, Dü) Nobel Kitabevi.
- Paulsen, F., ve Waschke , J. (2018). Sobotta Atlas of Human Anatomy. 176-187.
- Paulucci, V. P., Couto, R. O., Teixeira, C. C., ve Freitas, L. P. (2013). Optimization of the extraction of the extraction of curcumin from *Curcuma longa* rhizomes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*(23), 94–100.
- Payton, F., Sandusky, P., ve Alworth, W. L. (2007). NMR study of the solution structure of curcumin. *Journal of Natural Products*(70(2)), 143-146.
- Pearse, A. E. (1983). *History of Staining 3rd Edition*. (G. Clark, ve F. H. Kasten, Dü) Baltimore: Williams and Wilkins.
- Perek , S., ve Kapan, S. (2000). *Cerrahi Gastroenteroloji* (5. Basım b.). (Ü. Değerli, ve Y. Bozfakıoğlu, Dü) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Porembka, M. R., Doyle , M. M., ve Chapman , W. C. (2009). *Wintrobe's Clinical Hematology*. (J. Greer, J. Foerster, G. M. Rodgers, ve F. Paraskevas , Dü) Philadelphia: Lippincott WilliamsveWilkins.
- Prasad, S., ve Aggarwal, B. B. (2011). Turmeric, the Golden Spice: From Traditional Medicine to Modern Medicine. (I. F. Benzie, ve S. Wachtel-Galor, Dü) *In Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*.
- Priyadarsini, K. I. (2014). The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*(19), 12.
- Rabilloud, T. (1990). Mechanisms of protein silver staining in polyacrylamide gels: A 10-year synthesis. *Electrophoresis*(11(10)), 785-794.

- Rabitsch, S., Kanold, I. B., ve Hofmann, C. (2020). *The Vienna Genesis: Material Analysis and Conservation of a Late Antique Illuminated Manuscript on Purple Parchment*. Böhlau.
- Ramos-Vara, J. A., Kiupel , M., Baszler , T., Bliven , L., Brodersen , B., Chelack , B., . . . Valli , V. E. (2008). Suggested guidelines for immunohistochemical techniques in veterinary diagnostic laboratories. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*(20), 393-412.
- Rezaee, R., ve Hosseinzadeh, H. (2013). Safranal: From an aromatic natural product to a rewarding pharmacological agent. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(1), 12–26.
- Rezaee-Khorasany, A., Razavi, B. M., Taghiabadi, E., Yazdi, A. T., ve Hosseinzadeh, H. (2019). Effect of saffron (stigma of *Crocus sativus* L.) aqueous extract on ethanol toxicity in rats: A biochemical, histopathological and molecular study. *Journal of eth.*
- Riva, M. A., Ferraina, F., Paleari, A., Lenti, M. V., ve Di Sabatino, A. (2019). From sadness to stiffness: the spleen's progress. *Internal and Emergency Medicine*(14(5)).
- Rojas, J., ve Franklin, R. (2019). Silver staining in fungal infections: Diagnostic utility and limitations. *Medical Mycology*., 57(7), 801-809. doi:10.1093/mmy/myz015
- Rojas-Sandoval, J., ve Acevedo-Rodríguez, P. (2013). *Haematoxylum campechianum* (logwood). *Forestry Compendium*.
- Ross, M. H., ve Pawlina, W. (2011). *Histology: A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology*. Lippincott Williams ve Wilkins.
- Ross, M. H., ve Pawlina, W. (2014). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. (B. BAYKAL, Dü.) Ankara: Palme Yayıncılık.
- Ross, M. H., ve Pawlina, W. (2016). *Histology: A Text and Atlas*. Lippincott Williams ve amp; Wilkins.
- Ross, M. H., ve Wojciech, P. (2011). *Histology: A Text And Atlas: With Correlated Cell And Molecular Biology*.
- Rubina , M. P., Krishnan, A. M., Riyas Basheer, K. B., Mohammed Safeer, T. K., ve Soumya, V. (2020). Assessment of staining quality of curcumin as a substitute for eosin in hematoxyline and eosin staining in histopathology. *Journal of Research in Medical and Dental Science*, 8(5).
- Ruiz-Anchondo, T., Flores-Holguin, N., ve GlossmanMitnik, D. (2010). Natural carotenoids as nanomaterial precursors for molecular photovoltaics: a computational DFT study. *Molecules*(15).

- Rumack, C., Wilson, S., ve Charboneau, J. (2005). Diagnostic Ultrasound Volume 1. 81-82.
- Sadler, T. W. (2002). *Langman's Medikal Embriyoloji* (9 b.). (A. C. Başaklar, Dü.)
- Sadler, T. W. (2012). *Langman's Medical Embryology*. Baltimore, USA: Lippincott Williams ve Wilkins.
- Salerno, S., ve Chiaravalli, A. M. (2022). Hematoxylin-Eosin. (S. La Rosa, ve S. Uccella, Dü) *Endocrine Pathology. Encyclopedia of Pathology*. doi:10.1007/978-3-030-62345-6_5084
- Sancak, B., Cumhur, M., ve Vakfi , O. (2002). *Fonksiyonel Anatomi: Baş-Boyun ve İç Organlar*. ODTÜ Geliştirme Vakfı.
- Schoenwolf, G. C., Bleyl, S. B., Brauer , P. R., ve Francist-West , P. H. (2009). *Larsen's Human Embryology*. Philadelphia: Churchill Livingstone.
- Schulick, R. (2006). *Greenfield's Surgery: Scientific Principles and Practice*. (4th ed b.). (M. Mulholland, ve K. Lillemoe, Dü) Philadelphia: PA: LippincottWilliams ve Wilkins.
- Schünke, M., Schule, E., ve Schumacher, U. (2009). *Prometheus Anatomi Atlası* (1 ed b.). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- Shafiei, M. T., Gonczi, C. C., Rahman, M. E., East, A., François, J., ve Darlington, P. J. (2014). Detecting glycogen in peripheral blood mononuclear cells with periodic acid schiff staining. *Journal of Visualized Experiments*(94).
- Shahi , T., Assadpour, E., ve Jafari, S. M. (2016). Main chemical compounds and pharmacological activities of stigmas and tepals of 'red gold'; saffron. *Trends Food Sci*(58), 69–78. doi:10.1016/J.TIFS.2016.10.010
- Sheehan, D. C., ve Hrapchak, B. B. (1980). Theory and Practice of Histotechnology.
- Shet Verenkar, N. G., ve Sellappan, K. (2020). Evaluation of natural dyes Curcuma longa and Nyctanthes arbor-tristis with different mordants on plant tissues under fluorescence microscopy. *Microscopy Research and Technique*, 84(5), 902-911. doi:10.1002/jemt.23650
- Shi , S. R., Liu, C., ve Taylor, C. R. (2018). Standardization of Immunohistochemistry for Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tissue Sections Based on the Antigen Retrieval Technique: From Experiments to Hypotheses. *Journal of Histochemistry ve Cytochemistry*, 45(3), 327-343. doi:10.1369/jhc.6A7105.2007
- Shikata , T., Uzawa , T., Yoshiwara , N., Akatsuka, T., ve Yamazaki, S. (1974). Staining methods of Australian antigen in paraffin sections detection of cytoplasmic inclusions bodies. *Japanese journal of experimental medicine*(44), 25-36.
- Shostak, S. (2013). Histology Nomenclature: Past, Present and Future. *Bio Syt*, 2, 22.

- Singh, S., Dash, A. K., ve Singh, R. (2020). Sustainable alternatives for hematoxylin: An approach towards green histology. *Histochemistry and Cell Biology* , 154(4), 393-403. doi:10.1007/s00418-020-01889-2
- Si-Tayeb, K., Lemaigre, F., ve Duncan, S. (2010). Organogenesis and development of the liver. *Dev Cell*, 18:175–189.
- Skandalakis, J. E. (2008). *Skandalakis Cerrahi Anatomi Modern Cerrahinin Embriyolojik ve Anatomik Temelleri*. (A. Can, Dü.) Ankara: Palme yayıncılık.
- Slaoui, M., Bauchet, A. L., ve Fiette, L. (2017). Tissue Sampling and Processing for Histopathology Evaluation. *Drug Safety Evaluation*, 101–114. doi:10.1007/978-1-4939-7172-5_4
- Smith, D. J. (1981). Improved Masson trichrome stain on plastic-embedded tissue. *Journal of Histotechnology*(4(3)), 132-133. doi:10.1179/his.1981.4.3.132.
- Soleimani, V., Sahebkar, A., ve Hosseinzadeh , H. (2018). Turmeric (Curcuma Longa) and its Major Constituent (Curcumin) as Nontoxic and Safe Substances: Review. *Phytother Res*(32), 6. doi:10.1002/ptr.6054
- Souba, W. W., ve Wilmore, D. W. (2001). *Animals Models of Liver Regeneration*. San Diego, California: Academic Press.
- Söker, S., ve Aşır , F. (2019). *Pankreas Embriyolojisi*. (K. Y. Haspolat, S. Bilici, A. Tüzün, ve G. Aktar, Dü) Orient yayınları.
- Standish, R. A., Cholongitas, E., Dhillon , A., Burroughs, A. K., ve Dhillon, A. P. (2006). An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis. (55 (4)). doi:10.1136/gut.2005.084475
- Standring, S. (2008). *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice* (40 b.). UK: Churchill Livingstone Elsevier.
- Standring, S. (2016). *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice* (41st Edition b.).
- Standring, S. (2020). *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*.
- Strazzabosco, M., ve FabriS, L. (2012). Development of the bile ducts: essentials for the clinical hepatologist. *Journal of Hepatology*(56).
- Suvarna, S. K., Layton, C., ve Bancroft, J. D. (2018). Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. *Elsevier Health Sciences*.
- Talaei, A., Hassanpour Moghadam, M., Sajadi Tabassi, S. A., ve Mohajeri, S. A. (2015). Crocin, the main active saffron constituent, as an adjunctive treatment in major

- depressive disorder: A randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot clinical trial. *Journal of Affective Disorders*, 174, 51–56.
- Tamaddonfard , E., Gooshchi, N. H., ve Seiednejad-Yamchi, S. (2012). Central effect of crocin on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Pharmacological Reports*, 64, 94–101.
- Tektemur, N. K., Tektemur, A., ve Güzel, E. E. (2021). Doksorubisin ile İndüklenmiş Karaciğer Hasarında Hesperetin’in Terapötik Etkileri: DRP1 ve MFN2’nin Rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 35(2), 80-86.
- Titford, M. (2005). The long history of haematoxylin. *Biotechnic and Histochemistry*, 80(2):73-78.
- Titford, M. (2009). Progress in the development of microscopical techniques for diagnostic pathology. *Journal of Histotechnology*, 32(1), 9-19. doi:10.1179/his.2009.32.1.9
- Titford, M. (2010). The long history of hematoxylin. *Biotechnic ve Histochemistry*, 85(1), 51-55. doi:10.3109/10520290903347197
- Titford, M., ve Bowman, B. (2012). What May the Future Hold for Histotechnologists? *Laboratory Medicine*, 43, 5-10.
- Togo, T., Katsuse, O., ve Hashimoto, M. (2019). Gallyas silver staining method for detecting neurofibrillary tangles in Alzheimer’s disease and progressive supranuclear palsy. *Neuropathology* , 39(1), 32-40. doi:10.1111/neup.12549
- Townsend, M., Beauchamp , R., ve Evers, B. (2001). *Liver* (16th b.). (W. Meyers, ve R. Chan, Dü) Philadelphia: WB Saunders Company.
- Trefts, E., Gannon , M., ve Wasserman, D. H. (2017). The liver. *Current Biology*, 27(21). doi:10.1016/j.cub.2017.09.019
- Vallée, A., ve Lecarpentier , Y. (2020). Curcumin and Endometriosis. *International Journal of Molecular Sciences*(21), 7. doi:10.3390/ijms21072440.
- Valli, V. E., McGrath, J. P., ve Chu, I. (2002). *Handbook of Toxicologic Pathology*. (W. M. Haschek, C. G. Rousseaux, ve M. A. Wallig, Dü) San Diego: Academic Press.
- Vankar, P. S. (2000). Chemistry of natural dyes. *Resonance*(5(10)), 73-80.
- Varga, I., ve et al. (2009). Congenital anomalies of the spleen from an embryological point of view. *Medical Science Monitor*(15(12)).
- Veuthey , T. V., Herrera, M. G., ve Doderö, V. I. (2014). *Dyes and stains: From Molecular Structure to Histological Application*.
- Vincenten, J., Smit, E. F., Vos, W., Grünberg, K., Postmus, P. E., Heideman, D. A., ve Thunnissen, E. (2012). Negative NKX2-1 (TTF-1) as temporary surrogate marker for

- treatment selection during EGFR-mutation analysis in patients with non–small-cell lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 7(10), 1522-1527.
- Wang, L., Shi, L., ve Huang, Y. (2014). Refractive index measurement of biological tissues by total internal reflection. *Optics Express*, 22(5), 5447-5460. doi:10.1364/OE.22.005447
- Wang, Y., Han T. Zhu, Y., Zheng, C. J., Ming, Q. L., Rahman, K., ve Qin, L. P. (2009). Antidepressant properties of bioactive fractions from the extract of *Crocus sativus* L. (64), 24 – 30.
- Weiss, A. T., Delcour, N. M., Meyer, A., ve Klopfeisch, R. (2011). Efficient and cost-effective extraction of genomic DNA from formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. 48:834-8. doi:10.1177/0300985810380399
- Williams, P., Warwick, R., Dyson, M., ve Bannister, L. (1992). *Gray's Anatomy* (37th ed b.). Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Young, B., ve Heath, J. W. (2000). *Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas*. Churchill Livingstone.
- Young, B., Lowe, J. S., Stevens, A., ve Heath, J. W. (2014). *Wheater's Functional Histology: a Text and Colour Atlas*. Elsevier.
- Zhang, S. X. (1999). *An atlas of Histology*. Springer Science ve Business Media.
- Zidar, N., Langner, C., Jerala, M., Boštjančič, E., Drobne, D., ve Tomažič, A. (2020). Pathology of fibrosis in Crohn's disease—contribution to understanding its pathogenesis. *Frontiers in Medicine*(7), 167.