

## استفاده از توت سیاه وحشی بجای هماتو کسپیلین برای رنگ آمیزیهای بافتی

مجله نظام پزشکی

سال نهم، شماره ۲، صفحه ۸۲، ۱۳۶۳

دکتر مسلم بهادری - محمد رضا شعفی کبیری \*  
مقدمه:

در سال ۱۷۱۴ لیوون هوک (Leeuwen Hoek) برای نخستین بار زعفران را در مطالعات بیولوژی عضله مورد استفاده قرار داد. در سال ۱۸۴۹ گوپرت (Goppert) و کوهن (Cohn) رنگ کارماین (Carmin) و در سال ۱۸۵۳ والدیر (Waldeyer) رنگ هماتو کسپیلین را کشف کرد. بعداً محققان دیگر روشها و رنگهای تازه‌ایرا پیدا کردند تا آنجا که امروزه انواع مختلف رنگ آمیزی و رنگ مورد استفاده قرار میگیرد (۷ و ۶).

با اینحال در مطالعات روزمره آسیب شناسی، بافت شناسان و آسیب شناسان از ساده ترین روش رنگ آمیزی یعنی رنگ آمیزی بطریقه هماتو کسپیلین ائوزین استفاده میکنند. که بنام رنگ آمیزی معمولی نام برده میشود. اساس این رنگ آمیزی رنگ هماتو کسپیلین است که مهمترین رنگ مورد استعمال در آزمایشگاههای آسیب شناسی، بافت شناسی و سیتوپاتولوژی است.

هماتو کسپیلین از مغز درخت چوب سرخ (Logwood tree) که نام علمی آن هماتو کسپیلین کامپکیانوم (Haematoxylon Cam- pechianum) و در کامپش (Campeche) مکزیکو میروید بدست میآید (۷ و ۶).

هماتو کسپیلین که از درخت مزبور بدست میآید، دارای فرمول  $C_{16}H_{14}O_6$  و فاقد خاصیت رنگ دهی است مگر آنکه آنرا اکسیده کرده تبدیل به هماتئین (Hematein) یا فرمول  $C_{16}H_{12}O_6$  کنند. عمل اکسیداسیون را اصطلاحاً پختگی یا Ripening مینامند. این عمل را در هوای آزاد یا در آفتاب با آمیختن با مواد اکسید کننده مثل یدور پتاسیم، پرمنگنات دوپتاس، اکسید جیوه و غیره بمدت ۸-۶ هفته انجام میدهند. باید دانست که حتی هماتو کسپیلین اکسید شده کمتر به تنهایی بکار می رود. بلکه باید از موادی بنام دندانیه یا موردانت استفاده شود (۷ و ۶). هماتو کسپیلین که یک رنگ طبیعی است نسبتاً گران و نرخ آن متغیر و روزافزون است.

\* بخش تحقیقات آسیب شناسی بیمارستان ابن سینا - دانشگاه تهران.

درفاصله سالهای ۱۹۷۲ تا ۱۹۷۸ قیمت آن شش برابر و از سال ۱۹۷۸ تاکنون بیست برابر شده است (۳ و ۱).  
در بسیاری از آزمایشگاهها کوشش میشود جاننشینی برای هماتو کسپیلین پیدا کنند و مقالاتی هم در ارتباط با این موضوع در نوشته های پزشکی چاپ کرده اند. ما هم در فرصت های مناسب بدنبال این فکر بودیم. سرانجام بعلت تشابه رنگی توت سیاه وحشی با هماتو کسپیلین و بررسی نوشته های پزشکی در این باره در صدد برآمدیم که از توت سیاه بعنوان جانشین هماتو کسپیلین استفاده کنیم.

### مواد کار و روش:

توت سیاه وحشی (Black Berry) در ایران فراوان است. آنرا در دستگاه آمیوه گیری قرار داده شیره آنرا بدست آورده سپس شیره حاصله را سانتریفوژ و یا در صورت غلیظ بودن صاف میکنیم. برای استفاده از خاصیت رنگ دهی آن همانند هماتو کسپیلین به آن نمکهای آهن می افزائیم تا رنگ موثر بدست آید. از فرمول زیر استفاده میکنیم:

شیره غلیظ شده توت سیاه وحشی ۱۰۰ سانتیمتر مکعب  
محلول کلرور فریک ۱۰٪ ۱/۲ سانتیمتر مکعب  
کلرور سدیم ۵ گرم  
اسیداستیک گلاسیال ۳ سانتیمتر مکعب

این مخلوط را میتوان تازه بکاربرد و تا مدت دو ماه در حرارت ۴ درجه نگهداری کرد و استفاده نمود. این رنگ برخلاف هماتو کسپیلین احتیاج به اکسیداسیون ندارد. توت سیاه را میتوان در فریزر نگهداری کرد و بهنگام لزوم مقدار مورد احتیاج را برای تهیه شیره، سپس رنگ بکاربرد.

### روش رنگ آمیزی:

- ۱- برش پارافینی را تا آب ادامه میدهم.
- ۲- برش را بمدت ۱۰-۱۲ دقیقه در محلول رنگ توت سیاه که بطریقه فوق تهیه شده قرار میدهم.
- ۳- بوسیله آب جاری حداقل بمدت دودقیقه می شوئیم.
- ۴- با محلول ائوزین ۱٪ رنگ آمیزی افتراقی میکنیم.

## REFERENCES:

- 1- Al-Tikrity, S.A. and Walker, F.: Anthocyanin BB: A Nuclear Stain Substitute for Haematoxylin. J. Clinical pathol. 31: 194, 1978.
- 2- Culling, C.F.A.: Handbook of Histopathological and Histochemical Techniques, Third Edition Butterworth and Co., 1976.
- 3- Harbourne, J.B.: The Comparative Biochemistry of Flavonoids. Academic Press, London 1967.
- 4- Lillie, R.D.: The Haematoxylin Shortage and The availability of Synthetic Substitute American J. of Med. Technology 40: 355, 1974.
- 5- Lillie R.D. et al: Haematoxylin Substitutes. A Survey of Mordant Dyes Tested and Consideration of The relation of their Structures to Performance as Nucleus stains. Stain Technology 51: 25, 1975.
- 6- Mallory, F.B.: Pathological Techniques. Philadelphia Saunders Co., 1942.

۵- آبیگری کرده، شفاف نموده و لامل را میچسبانیم.

## نتیجه رنگ آمیزی:

هسته سلول خصوصاً برنگ آبی مایل به بنفش، رنگ میگیرد که البته مختصری بارنگ هماتوکسیلین فرق دارد. بقیه قسمتهای بافت مانند رنگ آمیزی معمولی است. این رنگ را در کلیه مواردیکه از هماتوکسیلین استفاده میشود میتوان بجای هماتوکسیلین بکاربرد. در مورد بافتهای آهک زدوده (دکلسیفیه) و همچنین در موارد برشهای انجمادی (فروزن سکنش) و در رنگهای اختصاصی از قبیل PAS، وان گیسون (Van Giesson) و تریکروم و غیره میتوان بجای هماتوکسیلین مصرف کرد. برشهایی که با این ماده رنگ میشود بمدت دو سال تغییر چندانی نمیکند.

## بهمت:

مطالعات شیمیائی نشان داده است که رنگ طبیعی موجود در توت سیاه خام از نوع انتوسیانین (Anthocyanin) میباشد و بقیه عدهای از مولفان انتوسیانین را میتوان از مواد مختلفی نظیر کلم قرمز، گل داوودی و بعضی از گلهای دیگر و میوههای خانواده توت بدست آورد (۳ و ۲).

التیکریتی، این رنگ مورد استفاده را انتوسیانین بی بی (Anthocyanin B.B) نام گذاری کرد که بی بی مخفف Black Berry است (۱). عصاره گیری وخالص سازی Extraction گلهای و میوه خام را عدهای بکار برده ولی نتیجه آن بهتر از استفاده از شیر خام آن نبوده است (۴).

از اوایل قرن بیستم و شاید قبل از آن عدهای از مولفان سعی کردند از مواد جانشین هماتوکسیلین استفاده کنند. در نوشتههای پزشکی گزارشهای فراوانی درباره جانشینهای هماتوکسیلین وجود دارد، که بطور جامع در سال ۱۹۷۵ توسط لیلی و همکارانش مورد بررسی قرار گرفت (۵). ظاهراً توت سیاه را نخستین بار گلا دیوس (Gladius) در سال ۱۸۹۹ در کپنهاگ بکاربرد. سپس دکتر گروبر (Grober) در سال ۱۹۴۹ و التیکریتی و همکارانش در انگلیس در سال ۱۹۷۸ بکار بردند و نتایج درخشانی از آن بدست آوردند.

فراوانی توت وحشی در ایران و آسانی تهیه و نگاهداری آن و خصوصاً استفاده از شیر خام بجای عصاره Extraction مزایای این میوه را در رنگ آمیزی روشن میکند. بویژه چون هسته را بسیار خوب رنگ میکند میتوان آنرا جانشین شایسته ای برای هماتوکسیلین دانست.

## خلاصه:

از توت سیاه وحشی میتوان بجای هماتوکسیلین که قیمت آن روز بروز گرانتر و تهیه آن مشکل تر میشود استفاده کرد. این میوه در ایران فراوان است و میتوان در اواخر فصل بهار آنرا جمع آوری و در فریزر نگهداری کرد و هر بار برای مصرف دو ماه از آن شیر گرفته و بعنوان جانشین هماتوکسیلین بکاربرد.