استفاده از توت سیاه وحشی بجای هماتوکسیلین برای رنگ آمیزیهای بافتی

مجله نظام پزشکی
سال نهم، شماره ۲، صفحه ۸۲، ۱۳۶۳

دکترمسلم بهادری- محمد رضا شعفی کبیری*

مقدمه:

درسال ۱۷۱٤ لیوون هوک (Leeuwen Hoek)برای نخستین بار زعفران را درمطالعات بیولوژی عضله مورد استفاده قرارداد. درسال ۱۸٤۹ گوپرت (Goppert) وکوهن (Cohn) رنگ کارماین (Carmine) و درسال ۱۸۵۳ والدیر (Waldeyer)رنگ هماتوکسیلین را کشف کرد. بعدا محققان دیگر روشها و رنگهای تازهایرا پیداکردند تا آنجا که امروزه انواع مختلف رنگآمیزی و رنگ مورد استفاده قرارمیگیرد (۲و٦و۷).

با اینحال درمطالعات روزمره آسیبشناسی، بافتشناسان و آسیبشناسان از سادهترین روش رنگآمیزی یعنی رنگآمیزی بطریقه هماتوکسیلین ائوزین استفاده میکنند که بنام رنگآمیزی معمولی نام برده میشود. اساس این رنگآمیزی رنگ هماتوکسیلین است که مهمترین رنگ مورد استعمال درآزمایشگاههای آسیبشناسی، بافتشناسی و سیتوپاتولوژی است.

هماتوکسیلین ازمغز درخت چوب سرخ (Logwood tree) که نام علمی آن هماتوکسیلین کامپکیانوم (Haematoxylon Campechianum)است و درکامپش (Campeche)مکزیکو میروید بدست میاید (۲و۷).

هماتوکسیلین که از درخت مزبور بدست میآید، دارای فرمول $C_{16}H_{14}O_6$ و فاقد خاصیت رنگدهی است مگر آنکه آنرا اکسیده کرده تبدیل به هماتئین (Hematein)با فرمول $C_{16}H_{12}O_6$کنند. عمل اکسیداسیون را اصطلاحا پختگی یا Ripeningمینامند. این عمل را درهوای آزاد یا درآفتاب با آمیختن با مواد اکسیدکننده مثل یدور پتاسیم، پرمنگنات دوپتاس، اکسید جیوه و غیره بمدت ۸-٦ هفته انجام میدهند. باید دانست که حتی هماتوکسیلین اکسید شده کمتر به تنهائی بکارمیرود. بلکه باید از موادی بنام دندانه یا موردانت استفاده شود(٦و۷).

هماتوکسیلین که یک رنگ طبیعی است نسبتا گران و نرخ آن متغیر و روزافزون است.

درفاصله سالهای ۱۹۷۲ تا ۱۹۷۸ قیمت آن شش برابر و از سال ۱۹۷۸ تاکنون بیست برابر شده است(۱و۳).

دربسیاری از آزمایشگاهها کوشش میشود جانشینی برای هماتوکسیلین پیداکنند و مقالاتی هم درارتباط با اینموضوع درنوشتههای پزشکی چاپ کردهاند. ماهم درفرصتهای مناسب بدنبال این فکر بودیم. سرانجام بعلت تشابه رنگی توت سیاه وحشی باهماتوکسیلین و بررسی نوشتههای پزشکی دراین باره درصدد برآمدیم که از توت سیاه بعنوان جانشین هماتوکسیلین استفاده کنیم.

مواد کار وروش:

توت سیاه وحشی (Black Berry)درایران فراوان است. آنرا دردستگاه آبمیوهگیری قرار داده شیره آنرا بدست آورده سپس شیره حاصله را سانتریفوژ و یا درصورت غلیظ بودن صاف میکنیم. برای استفاده از خاصیت رنگدهی آن همانند هماتوکسیلین به آن نمکهای آهن میافزائیم تارنگ موثر بدست آید. از فرمول زیر استفاده میکنیم:

شیره غلیظشده توتسیاه وحشی	۱۰۰سانتیمتر مکعب
محلول کلرورفریک ۱۰٪	۱/۲سانتیمترمکعب
کلرور سدیم	۵گرم
اسیداستیک گلاسیال	۳سانتیمترمکعب

این مخلوط را میتوان تازه بکاربرد وتامدت دوماه در حرارت ٤درجه نگاهداری کرد و استفاده نمود. این رنگ برخلاف هماتوکسیلین احتیاج به اکسیداسیون ندارد. توت سیاه را میتوان درفریزرنگاهداری کرد و بهنگام لزوم مقدار مورد احتیاج را برای تهیه شیره، سپس رنگ بکاربرد.

روش رنگآمیزی:

۱- برش پارافینی را تا آب ادامه میدهیم.

۲- برش را بمدت ۱۰-۱۲ دقیقه درمحلول رنگ توت سیاه که بطریقه فوق تهیه شده قرارمیدهیم.

۳- بوسیله آب جاری حداقل بمدت دودقیقه میشوئیم.

٤- با محلول ائوزین ۱٪ رنگآمیزی افتراقی میکنیم.

* بخش تحقیقات آسیبشناسی بیمارستان ابنسینا- دانشگاه تهران.

[Downloaded from jmciri.ir on 2026-11-08]

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

نتیجه رنگ‌آمیزی:

هسته سلول خصوصا برنگ آبی مایل به بنفش، رنگ میگیرد که البته مختصری بارنگ هماتوکسیلین فرق دارد. بقیه قسمتهای بافت مانند رنگ‌آمیزی معمولی است.

این رنگ را درکلیه مواردیکه ازهماتوکسیلین استفاده میشود میتوان بجای هماتوکسیلین بکاربرد. درمورد بافتهای آهک‌زدوده (دکلسیفیه) و همچنین درموارد برشهای انجمادی (فروزن سکشن) و دررنگهای اختصاصی از قبیل PAS،وان گیسون (Van Giesson)و تریکروم و غیره میتوان بجای هماتوکسیلین مصرف کرد. برشهائی که با این ماده رنگ میشود بمدت دوسال تغییر چندانی نمیکند.

بحث:

مطالعات شیمیائی نشان داده است که رنگ طبیعی موجود درتوت‌سیاه خام از نوع انتوسیانین (Anthocyanin)میباشد و بعقیده عده‌ای از مولفان انتوسیانین را میتوان از مواد مختلفی نظیر کلم قرمز، گل داوودی و بعضی ازگلهای دیگر و میوه‌های خانواده توت بدست آورد(۲و۳).

التیکریتی، این رنگ مورد استفاده را انتوسیانین بی‌بی (Anthocyanin B.B)نام گزاری کرد که بی‌بی مخفف Black Berryاست(۱). عصاره‌گیری وخالص‌سازی Extractionگلها و میوه خام را عده‌ای بکار برده ولی نتیجه آن بهتر از استفاده از شیره خام آن نبوده است(٤).

ازاوایل قرن بیستم و شاید قبل ازآن عده‌ای از مولفان سعی کردند ازمواد جانشین هماتوکسیلین استفاده کنند. درنوشته‌های پزشکی گزارشهای فراوانی درباره جانشینهای هماتوکسیلین وجوددارد، که بطورجامع درسال ۱۹۷۵ توسط لیلی وهمکارانش مورد بررسی قرارگرفت(۵). ظاهراً توت سیاه را نخستین بارگلادیوس (Gladius)درسال ۱۸۹۹ درکپنهاگ بکاربرد. سپس دکتر گروبر (Grober)درسال ۱۹٤۹ و التیکریتی و همکارانش درانگلیس درسال ۱۹۷۸ بکاربردند و نتایج درخشانی ازآن بدست آوردند.

فراوانی توت وحشی درایران و آسانی تهیه و نگاهداری آن و خصوصا استفاده از شیره خام بجای عصاره Extraction مزایای این میوه را دررنگ‌آمیزی روشن میکند. بویژه چون هسته را بسیارخوب رنگ میکند میتوان آنرا جانشین شایسته‌ای برای هماتوکسیلین دانست.

خلاصه:

ازتوت سیاه وحشی میتوان بجای هماتوکسیلین که قیمت آن روزبروز گرانتر و تهیه آن مشکل‌تر میشود استفاده کرد. این میوه درایران فراوان است و میتوان دراواخر فصل بهار آنرا جمع‌آوری و درفریزر نگهداری کرد و هربار برای مصرف دوماه ازآن شیره گرفت و بعنوان جانشین هماتوکسیلین بکاربرد.

REFERENCES:

1- Al-Tikrity, S.A. and Walker, F.: Anthocyonin 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.

[Downloaded from jmciri.ir on 2026-11-08]