

استفاده از توت سیاه و حشی بجای هماتوکسیلین 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 لیون هوک (Leeuwen Hoek) برای نخستین بار زغفران را در مطالعات بیولوژی عضله مورد استفاده قرارداد. در سال ۱۸۴۹ گوپرت (Goppert) و کوهن (Cohn) رنگ کارماین (Carmine) و در سال ۱۸۵۳ والدیر (Waldeyer) رنگ هماتوکسیلین را کشف کرد. بعداً محققان دیگر روشهای و رنگهای تازمایرا پیدا کردند تا آنجا که امروزه انواع مختلف رنگ آمیزی و رنگ مورد استفاده قرار میگیرد (۷۶ و ۷۲).

با اینحال در مطالعات روزمره آسیب‌شناسی، بافت‌شناسان و بطریقه هماتوکسیلین اثوزین استفاده میکنند. که بنام رنگ آمیزی معمولی نام برده میشود. اساس این رنگ آمیزی رنگ هماتوکسیلین است که مهترین رنگ مورد استعمال در آزمایشگاه‌های آسیب‌شناسی، بافت‌شناسی و سیستوپاتولوژی است.

هماتوکسیلین از غنی درخت چوب سرخ (Logwood tree) که نام علمی آن هماتوکسیلین کامپیکانوم (Haematoxylon Campechianum) است و در کامپش (Campeche) مکزیکو میروید بددت میاید (۷۲ و ۷۰).

هماتوکسیلین که از درخت مزبور بددت میاید، دارای فرمول $C_{16}H_{10}O_6$ و فقد خاصیت رنگدهی است مگر آنکه آنرا اکسیده کرده تبدیل به هماتئین (Hemattein) با فرمول $C_{16}H_{12}O_6$ کنند. عمل اکسیداسیون را اصطلاحاً پختگی یا Ripening مینامند. این عمل را در هواهای آزاد یا در آفتاب با آمیختن با مواد اکسید کننده مثل بدور پتانسیم، پرمنگانات دوبتانس، اکسید جیوه و غیره بعدت ۶-۸ هفته انجام میدهند. باید دانست که حتی هماتوکسیلین اکسید شده کمتر به تنهائی بکار میرود. بلکه باید از موادی بنام دندانه یا موردانه استفاده شود (۶۷ و ۶۶). هماتوکسیلین که یک رنگ طبیعی است نسبتاً گران و نرخ آن متغیر و روزافزون است.

* بخش تحقیقات آسیب‌شناسی بیمارستان این‌سینا - دانشگاه تهران.

در فاصله سالهای ۱۹۷۸ تا ۱۹۷۲ قیمت آن شش برابر و از سال ۱۹۷۸ تاکنون بیست برابر شده است (۱ و ۳).

در بسیاری از آزمایشگاهها کوشش میشود جانشینی برای هماتوکسیلین پیدا کنند و مقلاطی هم در ارتباط با این موضوع در نوشهای پزشکی چاپ کرده‌اند. ماهم در فرستهای مناسب بدنبال این فکر بودیم. سرانجام بعلت تشابه رنگی توت سیاه و حشی با هماتوکسیلین و بررسی نوشهای پزشکی در این باره در صدد برآمدیم که از توت سیاه بعنوان جانشین هماتوکسیلین استفاده کنیم.

مواد کار و روش:

توت سیاه و حشی (Black Berry) در ایران فراوان است. آنرا در دستگاه آبمیوه‌گیری قرار داده شیره آنرا بددت آورده سپس شیره حاصله را سانتریفیزو و یا در صورت غلیظ بودن صاف میکنیم. برای استفاده از خاصیت رنگدهی آن همانند هماتوکسیلین به آن نمکهای آهن می‌افزاییم تا رنگ موثر بددت آید. از فرمول زیر استفاده میکنیم:

۱۰۰	سانتی‌متر مکعب	شیره غلیظ شده توت سیاه و حشی
۱/۲	سانتی‌متر مکعب	محلول کلوروفریک ۱۰٪
۵	گرم	کلور سدیم
۳	سانتی‌متر مکعب	اسید اسیتیک گلاسیال
		این مخلوط را میتوان تازه بکاربرد و تامدت دوماه در حرارت ۴ درجه نگاهداری کرد و استفاده نمود. این رنگ برخلاف هماتوکسیلین احتیاج به اکسیداسیون ندارد. توت سیاه را میتوان در فریزر نگاهداری کرد و بهنگام لزوم مقدار مورد احتیاج را برای تهیه شیره، سپس رنگ بکاربرد.
		روش رنگ آمیزی:
۱		- برش پارافینی را تا آب ادامه میدهیم.
۲		- برش را بددت ۱۰-۱۲ دقیقه در محلول رنگ توت سیاه که بطریقه فوق تهیه شده قرار میدهیم.
۳		- بوسیله آب جاری حداقل بددت دو دقیقه میشونیم.
۴		- با محلول اثوزین 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- آبگیری 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. درمورد بافتهای آهک زدوده (دکلسيفیه) و همچنین درموارد پرشهای انجمادی (فروزن سکشن) و دررنگهای اختصاصی از قبیل PAS، وان گیsson (Van Giesson) و تریکروم و غیره میتوان بجای هماتوکسیلین مصرف کرد. پرشهایی که با این ساده رنگ میشود بمدت دوسال تغییر چندانی نمیکند.

بحث:

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

تیکریتی، این رنگ مورد استفاده را انتوپیسانین بی بی Blackberry (Anthocyanin B.B) نام گزاری کرد که بی بی مخفف Extraction است (۱). صاره گیری و خالص سازی گلهای میوه خام را عده‌ای بکار برده ولی نتیجه آن بهتر از استفاده از شیره خام آن نبوده است (۴).

از اوایل قرن بیست و شاید قبل از آن عده‌ای از مولفان سعی کرده‌ند از مواد جانشین هماتوکسیلین استفاده کنند. در نوشته‌های پژوهشی 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 گلادیوس (Gladius) در سال ۱۸۹۹ در کپنه‌اگ بکاربرد. سپس دکتر گروبر (Grober) در سال ۱۹۴۹ والتیکریتی و همکارانش در انگلیس در سال ۱۹۷۸ بکاربردند و نتایج درخشانی از آن بدست آورده‌ند.

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

خلاصه:

از توت سیاه و حشی میتوان بجای هماتوکسیلین که قیمت آن روز بروز گرانتر و تهیه آن مشکل‌تر میشود استفاده کرد. این میوه در ایران فراوان است و میتوان در اوایل فصل بهار آنرا جمع آوری و در فریزر نگهداری کرد و هر بار برای مصرف دوماه از آن شیره گرفت و بعنوان جانشین هماتوکسیلین بکاربرد.