

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ КРАСИТЕЛИ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТОВ КОРЫ ДУБА И ВИШНИ

ИШУНИНА Т.А., САВИНОВА О.В., ШЕПЕЛЕВА Т.А.

HISTOLOGICAL DYES BASED ON THE OAK BARK AND CHERRY TREE EXTRACTS

ISHUNINA T.A., SAVINOVA O.V., SHEPELEVA T.A.

Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии (зав. кафедрой – профессор А. В. Иванов), ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск.

Получены гистологические красители из коры дуба и вишнёвых деревьев и изучены их тинкториальные свойства. Показано, что новые красители относятся к группе цитоплазматических и могут применяться для окрашивания гистологических срезов различных органов. Краситель на основе коры дуба окрашивает в тёмно-бурый или чёрный цвет цитоплазму клеток и не окрашивает их ядра. Краситель на основе вишнёвых веток придаёт цитоплазме клеток умеренно насыщенный зелёный цвет.

Ключевые слова: *гистологический краситель растительного происхождения, кора дуба, ветки вишнёвых деревьев, цитоплазматические красители.*

Histological dyes were obtained from oak bark and cherry branches and their staining properties were studied. It was shown that new dyes are cytoplasmic and can be used for staining of histological specimens of different organs. The dye based on the oak bark stains the cytoplasm of cells in dark brown or black color and does not stain their nuclei. The dye obtained from cherry branches gives moderately rich green color to the cytoplasm of cells.

Key words: *vegetal histological dyes, oak tree, cherry branches, cytoplasmic dyes.*

Введение. В предыдущих исследованиях [1, 2] нами получены ядерные и цитоплазматические красители на основе экстрактов плодов и листьев некоторых представителей флоры Центрально-Чернозёмного района России. Настоящая работа, являющаяся продолжением этой серии, ставит целью разработку красителей на основе коры некоторых широко произрастающих в нашем регионе деревьев. Издавна известно, что красильными

свойствами обладает кора дуба, используемая для окраски шерстяных и льняных тканей. Яркий цвет характерен и для отвара вишнёвых веток, употребляемого в медицинских целях. Анализ химического состава коры дуба позволяет выделить несколько веществ, ответственных за красящие свойства. В эту группу входят флобафены, кверцетин и галловая кислота. Все они относятся к группе фенольных соединений и отличаются по углеродному скелету. Галловая кислота, обладающая восстановительными свойствами, является простейшим представителем фенольных соединений с формулой С₆-С₁, и используется в качестве красителя для приготовления чернил. Флобафены и кверцетин принадлежат к флавоноидам со структурой С₆-С₃-С₆, представленной двумя ароматическими ядрами, соединёнными трёхуглеродным фрагментом. Флобафены образуются в результате конденсации флавоноидов после обработки кислотами и представляют собой пигменты красного, оранжевого и коричневого оттенков. Полагают, что именно флобафены окрашивают кору дуба в тёмно-коричневый цвет. Кверцетин является флавонолом и, по совместительству, агликоном (несахаридным компонентом) многих растительных гликозидов [3, 4]. Химический состав коры вишнёвых деревьев в литературе описан менее подробно. Известно, что красящими свойствами в ней обладают фускофлобафен и руброфлобафен из группы флавоноидов. Следует отметить, что флавоноиды способны образовывать окрашенные комплексы с ионами металлов, что делает их привлекательными для приготовления протравных красителей. Флобафены и кверцетин практически нерастворимы в холодной воде. Для их извлечения обычно используют горячую воду, спирт и водно-спиртовые смеси. В связи с этим в настоящей работе мы использовали двухступенчатую схему экстрагирования красящих веществ: сначала горячей водой, затем спиртом.

Материал и методы исследования. Мелко измельчённую кору дуба заливали водой, которая

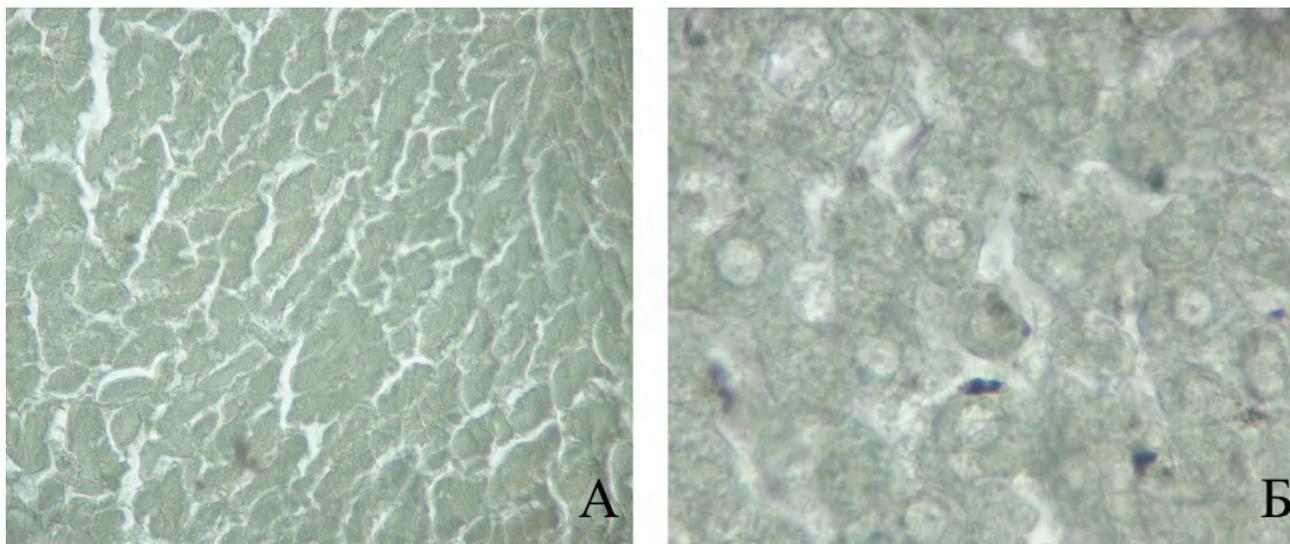


Рис. 1. Окраска новым растительным красителем на основе вишнёвых веток. А. Срез миокарда крысы. Ув. 400. Б. Срез печени крысы. Ув. 1000.

должна лишь слегка покрывать сырьё сверху, доводили до кипения, держали 10 минут на медленном огне и настаивали 30 минут. Затем плотно укладывали кору в чистую стеклянную ёмкость и заливали 90% спиртом. На вторые сутки ёмкость со спиртовым раствором помещали в водяную баню на 30 минут (воду доводили до кипения, затем выдерживали на медленном огне). После этого в течение двух недель хранили в защищённом от света месте при комнатной температуре. По истечении этого срока процеживали через марлю. Экстракт мелко измельчённых веток вишни (1-2 см) готовили по такой же методике за исключением времени выдержки, которое составило в общем счёте 3-4 дня. Экстракт коры дуба был тёмно-бурого цвета, экстракт веток вишни – красно-коричневого цвета. Непосредственно перед гистологическим окрашиванием в 30 мл полученного раствора добавляли 10мл водного раствора железного купороса (2 грамма железного купороса на 50 мл дистиллированной воды).

Результаты исследования и их обсуждение. Депарафинированные срезы желудка, тонкой и толстой кишки, печени, почек и головного мозга крыс помещали в свежеприготовленные красители на 30-40 минут. После быстрого проведения через 70% (3-5 секунд) и 95% спирты (по 30 секунд) срезы помещали в ксилол на 30-45 секунд и заключали под покровные стёкла. Во всех изученных тканях наблюдалось окрашивание цитоплазмы в умеренно насыщенный зелёный цвет (для красителя на основе вишнёвых веток) (рис. 1) и в чёрный (тёмно-бурый) цвет при использовании красителя на основе коры дуба (рис. 2). Ядра клеток не окрашиваются (Рис. 1Б, 2Б). Окраска стойкая. При хранении срезы не обесцвечиваются.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов получены ещё два потенциальных гистологических красителя растительного происхождения, окрашивающих цитоплазму в чёрный (бурый) и зелёный цвет. Разнообразие цветовой гаммы разработанных красителей позволяет выбирать нужные оттенки для окрашивания различных тканей и сочетать их с другими (в том числе ядерными) красителями. Важным достоинством самостоятельно приготавливаемых спиртовых красителей является возможность длительного хранения и отсутствие необходимости готовить свежие растворы за 2-3 дня до эксперимента. Дополнительно следует отметить доступность и низкую себестоимость сырья, применение нетоксичных ингредиентов. Красители подходят для материала, зафиксированного в 10% растворе формалина.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ишунина, Т.А., Солоненко, О.В. Гистологический краситель на основе антоцианов ягод черноплодной рябины (*Aronia melanocarpa*). / Ишунина, Т.А., Солоненко, О.В. // Морфологические ведомости. -2014. -№4. -С. 58-61.
2. Ишунина, Т.А., Зык Е.И., Ряховская Д.В. Гистологические красители на основе экстрактов крапивы двудомной (*Urtica dioica*) и рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia*) / Ишунина, Т.А., Зык Е.И., Ряховская Д.В. // Морфологические ведомости. -2015. -№1. -С. 93-96.
3. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды / Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. // Новосибирск: Тео. - 2007. - 232с.
4. Биохимия фенольных соединений / под

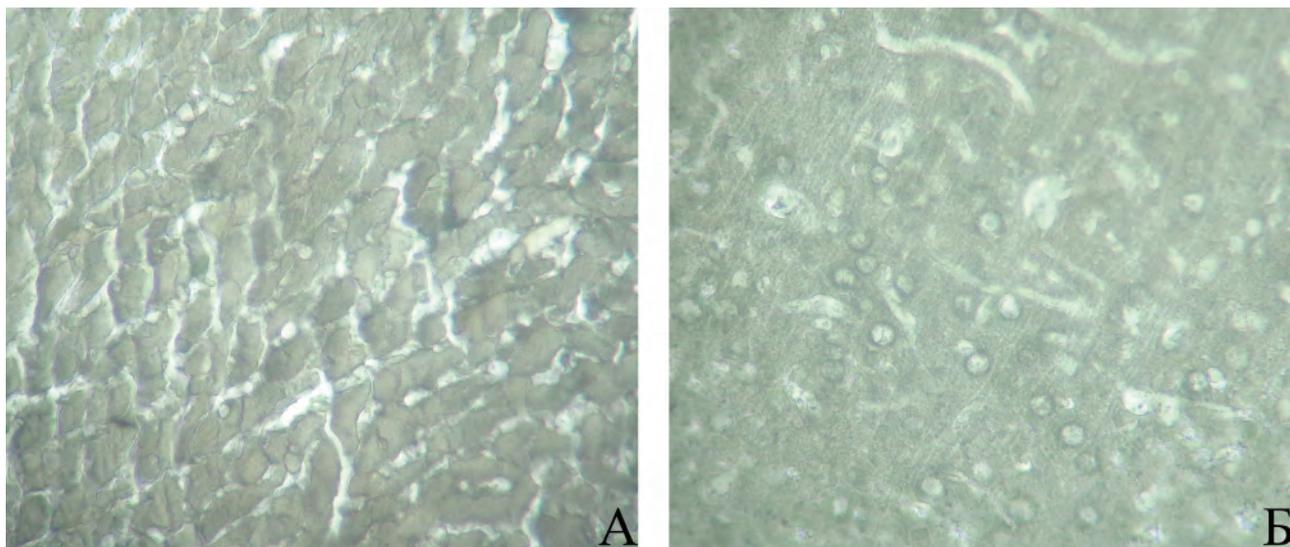


Рис. 2. Окраска новым растительным красителем на основе коры дуба. А. Срез миокарда крысы. Ув. 200. Б. Срез коры головного мозга крысы. Ув. 200.

ред. Харборна Дж. // М.:Мир, 1968.- 448с.

Авторская справка:

1. Ишунина Татьяна Александровна, доцент, кандидат медицинских наук; 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса 3, КГМУ, кафедра гистологии, 8 9606891979, E-mail: ishunina@gmail.com.

2. Савинова Ольга Васильевна, студентка пе-

диатрического факультета Курского государственного медицинского университета; 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса 3, КГМУ, кафедра гистологии.

3. Шепелева Татьяна Александровна, студентка педиатрического факультета Курского государственного медицинского университета; 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса 3, КГМУ, кафедра гистологии.