

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ КРАСИТЕЛИ НА ОСНОВЕ СВЕКОЛЬНОГО И МОРКОВНОГО СОКА

ИШУНИНА Т.А., БАРАБАНЩИКОВА Т.Н., СГОННИКОВА А.О.

HISTOLOGICAL DYES BASED ON SUGAR BEET AND CARROT JUICE

ISHUNINA T.A., BARABANSHIKOVA T.N., SGONNIKOVA A.O.

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 на основе свекольного и морковного сока и изучены их тинкториальные свойства. Показано, что краситель на основе свекольного сока является кислотным и избирательно окрашивает оксифильные структуры, например, цитоплазму гепатоцитов, кардиомиоцитов и гладко-мышечных клеток оболочек желудочно-кишечного тракта. Краситель на основе морковного сока, напротив, избирательно окрашивает ядра клеток и позволяет изучать структуру хроматина. Разработанные рецепты красителей и методики их окраски просты и дешёвы в приготовлении и использовании, в связи с чем могут использоваться в качестве аналогов более дорогих гематоксилина и еозина.

Ключевые слова: гистологические красители растительного происхождения, свекольный сок, морковный сок, ядерный (основной) краситель, цитоплазматический (кислотный) краситель.

Polucheny gistologicheskie krasiteli na osnove svekol'nogo i morkovnogo soka i izucheny ikh tinktorial'nye svoystva. Pokazano, chto krasitel' na osnove svekol'nogo soka yavlyaetsya kislotnym i izbiratel'no okrashivaet oksifil'nye struktury, naprimer, tsitoplazmu gepatotsitov, kardiomiotsitov i gladkomyshechnykh kletok obolochek zheludочно-kishechnogo trakta. Krasitel' na osnove morkovnogo soka, naprotiv, izbiratel'no okrashivaet yadra kletok i pozvolyaet izuchat' strukturu khromatina. Razrabotannye retsepty krasitelej i metodiki ikh okraski prosty i dyoshevy v prigotovlenii i ispol'zovanii, v svyazi s chem mogut ispol'zovat'sya v kachestve analogov bolee dorozykh gematoksilina i ehozina.

Klyuchevye slova: gistologicheskie krasiteli rastitel'nogo proiskhozhdeniya, svekol'nyj sok, morkovnyj sok, yadernyj (osnovnoj) krasitel',

tsitoplazmaticheskij (kislotnyj) krasitel'.

Histological dyes based on the beetroot and carrot juice were received and their staining properties were studied. The dye based on the beetroot juice appeared to be acidic and specifically stained acidophilic structures like the cytoplasm of hepatocytes, cardiomyocytes and smooth muscle cells of the gastro-intestinal tract layers. On the contrary, the dye based on the carrot juice specifically stained the nuclei of different cells and allowed the study of the chromatin structure. The recipes of these dyes and staining procedures are simple and cheap and can be used as analogs of more expensive hematoxylin and eosin.

Key words: vegetal histological dyes, beetroot juice, carrot juice, nuclear (basic) dye, cytoplasmic (acid) dye.

Введение. В гистологической практике используется группа красителей растительного происхождения. Наиболее распространённым её представителем является гематоксилин, получаемый из сока кампешевого дерева, произрастающего в Центральной Америке. Российскими учёными предложены красители на основе плодов воронца заострённого, черёмухи Маака, марены сердцелистной лесной и луносемянника, относящихся к флоре Приморского края [1, 2, 3, 4]. Имеются данные об использовании в качестве растительного сырья для приготовления гистологических красителей ягод черники, плодов вороньего глаза и покровной чешуи лукович лука [5, 6, 7]. Все названные красители являются основными и окрашивают ядерные структуры (кариолемму, хроматин и ядрышко) в фиолетовый (сок черники, плоды вороньего глаза, марены сердцелистной лесной, луносемянника, воронца заострённого) или коричневый (плоды черёмухи Маака, покровная чешуя лука репчатого) цвет. За исключением сока черники и покровной чешуи лука предложенные источники красильных веществ являются несъедобными или даже токсичными. Для экс-

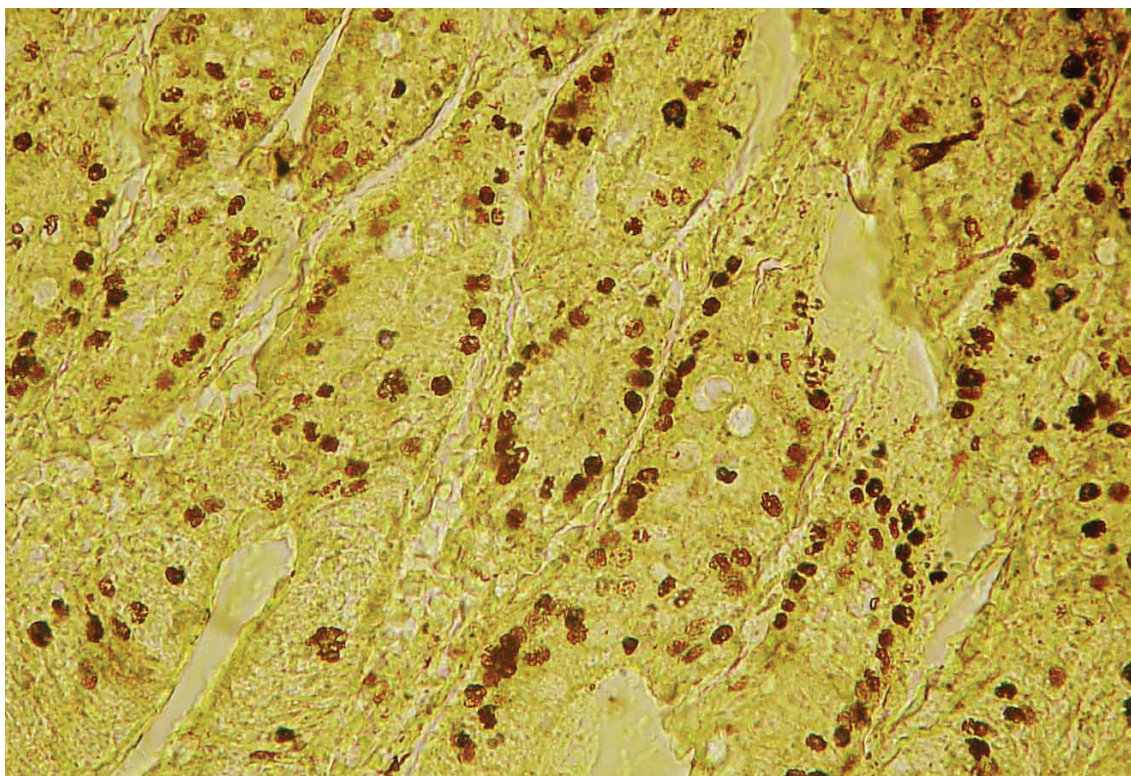


Рис. Срез стенки толстой кишки. Окраска новым растительным красителем на основе морковного сока. Ув.600.

трагирования красильных веществ используется либо длительное (24-48 часов) настаивание в 70% этаноле либо длительное кипячение (3-4 часа). Фиксация материала для исследования осуществляется в основном в жидкости Максимова или Буэна. Указанные особенности приготовления красителей (ограниченная среда произрастания, токсичность сырья, длительность экстрагирования, токсичность фиксаторов) ограничивают их использование в повсеместной гистологической практике.

Цель исследования - поиск доступного и дешёвого в Центрально-Чернозёмном районе растительного сырья для приготовления гистологических красителей и разработки более простых и быстрых способов окрашивания парафиновых срезов после стандартной фиксации в 10% нейтральном формалине.

Материал и методы исследования. Свекольный и морковный сок издавна известны своими красящими свойствами, которые успешно используются в пищевой и текстильной промышленности. Однако, сведений об их использовании в качестве гистологических красителей нет. В связи с этим, в качестве источников красильных веществ были использованы повсеместно культивируемые съедобные корнеплоды свеклы и моркови.

Корнеплоды свеклы и моркови натирают на

тёрке, отжимают сок и доводят его до кипения. Полученный свекольный и морковный сок можно поместить в холодильник на одну ночь. На следующий день они готовы для окрашивания. Следует отметить, что сами по себе соки окрашивать депарафинированные срезы не могут. Поэтому перед использованием необходима предварительная обработка (протрава) квасцами. Для приготовления кислого красителя к 50 мл свекольного сока добавляют 1,5 или 3 г железосамонийных квасцов, 2 мл уксусной кислоты и 20 мл 96% этанола. После этого раствор готов для окрашивания срезов. Значение pH полученного красителя находится в интервале от 0 до 1. Для приготовления основного красителя к 50 мл морковного сока добавляют 3 г хромовых квасцов, 2 мл борной кислоты и 3 г сернокислого магния. Раствор фильтруют, после чего он готов для окрашивания срезов. Значение pH полученного красителя находится в интервале от 5 до 6.

Результаты исследования и их обсуждение. Депарафинированные срезы сердца, желудка, толстой кишки и печени крыс помещали в свежеприготовленные красители на 20-30 минут. Кислый краситель на основе свекольного сока избирательно окрашивает цитоплазму кардиомиоцитов, гепатоцитов и гладкомышечных клеток желудочно-кишечного тракта в красный

или розовый цвет (рис. 1). Ядра клеток не визуализируются. При использовании основного красителя на основе морковного сока, напротив, избирательно окрашиваются в чёрный цвет ядра клеток, хорошо прослеживается структура хроматина (рис. 2). Цитоплазма не визуализируется. В обоих случаях окраска стойкая. При хранении срезы не обесцвечиваются.

В результате проведенных экспериментов было выявлено, что ключевыми элементами для усиления красильных свойств свекольного сока являются железоаммонийные квасцы и уксусная кислота. Добавление этанола необходимо для стабилизации окраски и предотвращения обесцвечивания гистологических срезов при хранении. Красильные свойства морковного сока проявляются только при добавлении комплекса ингредиентов, указанных выше. При этом морковный сок и хромовые квасцы по отдельности не способны окрашивать срезы. Новые способы получения красителей растительного происхождения в значительной степени отличаются от уже известных [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. В ранее описанных методиках главным образом используются спиртовые настои сырья. Для приготовления ряда красящих растворов (в случае плодов марены сердцелистной лесной и черёмухи Маака) добавляют значительное (до 100 мл) количество соляной кислоты, алюмокалиевые квасцы. В некоторых прописях требуются такие ингредиенты, как медный купорос, двууглекислый натрий, 0.05% раствор гиалуроновой кислоты, мочевины.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов получены два новых красителя растительного происхождения. К их преимуществам стоит отнести доступность и низкую себестоимость сырья, простоту приготовления красителей и процедуры окраски, а также применение нетоксичных ингредиентов и отсутствие необходимости нагревания красящих растворов. Более того, не требуется специальных методов фиксации. Красители используются для материала, зафиксированного в 10% растворе формалина.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Момот Н.В., Лапшин Л.В. Способ получения красителя для гистологических целей / Момот, Н. В., Лапшин Л.В. // Авт. Свид. СССР № 1781259 С 09 В 61/00. – 1992.
2. Момот, Н.В., Лапшин Л.В., Мешков Н.Н. Способ получения красителя для гистологических целей / Момот Н.В., Лапшин Л.В., Мешков Н.Н. // Авт. Свид. СССР № 1597376 С 09 В 61/00. – 1990.
3. Момот Н.В., Лапшин Л.В. Способ получения красителя из растительного сырья / Момот, Н. В., Лапшин Л.В. // Патент РФ № 2078105. – 1997.
4. Момот Н.В., Лапшин Л.В. Способ получения

красителя для гистологических целей / Момот Н.В., Лапшин Л.В. // Патент РФ № 2098440. – 1997.

5. Микроскопическая техника / под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова // М.: Медицина, 1996. – 544 с.

6. Стекольников, Л. И., Хомулло, Г.В., Корнилова А.А. Способ получения красителя для гистологических исследований / Стекольников, Л. И., Хомулло, Г.В., Корнилова А.А. // Патент РФ № 2061005. – 1996.

7. Момот Н. В., Лапшин Л.В., Момот, Ю. А. Способ

REFERENCES:

1. Momot N. V., Lapshin L.V. Sposob polucheniya krasitelya dlya gistologicheskikh tselej / Momot, N. V., Lapshin L.V. // Avt. Svid. SSSR № 1781259 S 09 V 61/00. – 1992.
2. Momot N. V., Lapshin L.V., Meshkov N.N. Sposob polucheniya krasitelya dlya gistologicheskikh tselej / Momot, N. V., Lapshin L.V., Meshkov N.N. // Avt. Svid. SSSR № 1597376 S 09 V 61/00. – 1990.
3. Momot N. V., Lapshin L.V. Sposob polucheniya krasitelya iz rastitel'nogo syr'ya / Momot, N. V., Lapshin L.V. // Patent RF № 2078105. – 1997.
4. Momot N. V., Lapshin L.V. Sposob polucheniya krasitelya dlya gistologicheskikh tselej / Momot, N. V., Lapshin L.V. // Patent RF № 2098440. – 1997.
5. Mikroskopicheskaya tekhnika / pod red. D.S. Sarkisova i YU.L. Perova // M.: Meditsina, 1996. – 544 s.
6. Stekol'nikov L. I., KHomullo, G.V., Kornilova A.A. Sposob polucheniya krasitelya dlya gistologicheskikh issledovanij / Stekol'nikov, L. I., KHomullo, G.V., Kornilova A.A. // Patent RF № 2061005. – 1996.
7. Momot N. V., Lapshin L.V., Momot, YU. A. Sposob polucheniya osnovnogo krasitelya dlya morfologicheskikh tselej / Momot, N. V., Lapshin L.V., Momot, YU. A. // Patent RF № 2243246. – 2004.

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. Барабанщикова Татьяна Николаевна, студентка лечебного факультета Курского государственного медицинского университета; 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса 3, КГМУ, кафедра гистологии.

3. Сгонникова Ангелина Олеговна, студентка лечебного факультета Курского государственного медицинского университета; 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса 3, КГМУ, кафедра гистологии.