الفصـــل التاسع

9

الصبغـــــيات

Pigments

الفصـــل التاسع

الصبغـــــيات

Pigments

الميلانـين : Melanin

يتميز الميلانين باللون البني الأسود ، وهو يتكون من مركب معقد من المواد المتجمعة والمتحدة بالبروتين ويتعلق الميلانين بالتيروسين tyrosine أو المركبات التي تحتوي علي التيروسين . ويتواجد الميلانين بصفة خاصة في أدمة الجلد epidermis والشعر وحويصلات الشعر hair Rollides وخلايا قزحية العين iris والشبكية retina وبعض الخلايا العصبية وحاملات الصبغيات في الأم الحنون في المخ والجسم الهدبي .

ولاينوب الميلانين في المحاليل العضوية أو الأحماض والقواعد الضعيفة ولكنه ينوب في القواعد القوية . ويمكن تبييض الميلانين بالمواد المؤكسدة مثل١٠٪ بيرأكسيد الهيدروجين" hydrogen peroxide خلال يوم أو يومين ، وكذلك برمنجنات البوتاسيوم الحمضي acid Potassium Permanganate

والميلانين محب للفضة argentophilic ويختزل نترات الفضة في الوسطين الحمضي والمتعادل وكذلك القلوي . ويصبغ الميلانين باللون الأخضر مع محلول " أزرق النيلي"Nile bule في حامض الكبريتيك واللون الأزرق الداكن في حالة الليبوفكسين lipofuchsin ويمكن استخلاص الليبوفكسين بواسطة الأسيتون ، ويبقي اللون الأخضر المميز للميلانين .

ويكون الميلانين مركبات مع أيونات الحديدوز والتي يمكن الكشف عنها بواسطة سيانيد حديديك البوتاسيوم K. ferricyanide .

ويشبه الميلانين الليبوفكسين في أنه يعطي تفاعلا موجبا مع محلول" شمورل"

Schmorl وهو يختزل سيانيد الحديدوز ويكون الأزرق البروسي Prussian blue في وجود أيونات الحديديك .

ويعطي الميلانين تفاعلا سلبيا مع الحديد ولايقبل الصباغة بصبغات الدهون أو تفاعل شف PAS .

طـريقة الكشـف عن الميلانـــين :

التبييـض Bleaching

– تعامل القطاعات ، إما في المحلول (أ) : ١٠٪ ثنائي أكسيد الهيدروجين H_2O_6 لمدة يوم أو يومين ، أو المحلول (ب) : برمنجنات البوتاسيوم الحمضي (٣,٠٪ برمجنات البوتاسيوم + ٣,٠٪ حامض الكبريتيك) لمدة ١٠ دقائق الي بضع ساعات ، وبعدها تغسل بالماء المقطر ثم ١٪ حامض الأكساليك حتي يضيع اللون البني .

– تعامل القطاعات بحامض الفورميك Formic acid لبضع ساعات .

النتيجـة : اختفاء لون الميلانين .

الطريقة الثانية : (استخدام أيونات الحديدوز)

– ينزع الشمع من القطاعات ويتم توصيلها للماء .

– توضع في ٢.٥٪ محلول كبريتات الحديدوز Ferrous sulphate .

– تغسل في ٤ تغيرات من الماء المقطر (٥ دقائق كل مرة) .

– تصبغ القطاعات في محلول ١٪ حديديك سيانور البوتاسيوم في ١٪ حامض الخليك لمدة ٢٠ دقيقة .

– يصبغ صباغة خلفية Counter stain مثل صبغ " فان جيسون " van Gieson .

- ينزع الماء ويتم الترويق كالمعتاد ويتم تغطيتها ببلسم كندا .

النتيجة : يأخذ الميلانين اللون الأخضر الداكن .

الطريقة الثالثة : طريقة "شميرول" Schmerol

١- ينزع الشمع من القطاعات ويتم توصيلها للماء .

٢- توضع القطاعات في محلول سيانور الحديديك لمدة ٥ دقائق ، وهو يتكون من : ٣ أجزاء من ١٪ كلوريد الحديديك أو كبريتات الحديديك + جزء من محلول طازج التحضير من ١٪ سيانور حديديك البوتاسيوم K. ferricyanide ويمزج قبل الاستعمال .

- تغسل القطاعات في ماء الصنبور الحار لبضع دقائق .

- تصبغ صباغة خلفية للأنوية (١٪ أحمر المتعادل neutral red لمدة ٣ دقائق .

- ينزع الماء ويتم الترويق والتغطية بواسطة بلسم كندا .

النتيجة : تصبغ حبيبات الميلانين باللون الأزرق .

الهيموسيدرين Hemosiderin

صبغ يحتوي علي الحديد وهو غير فلورسيني ويتكون من الهيموجلوبين أو الحديد الغروي في التجويف البطني ، ويتجمع الهيموسيدرين في الأغشية التي تحيط بالعضيات الخلوية . وتعطي المواد المتحدة في الهيموسيدرين تفاعلا موجبا مع محلول شف PAS ، كما يعطي الحديد تفاعلا موجبا مع كاشفات الحديد .

البيلوروبين Bilurubin

المعروف أن البيلوروبين يتحول إلي "بيلوفردين" biloverdin بواسطة عمليات الأكسدة .

وينوب هذا الصبغ بدرجات متفاوتة في الكحول والفورمالين والكلوروفورم .

وتستخدم القطاعات غير المثبتة في عمليات الكشف الهستوكيماوي عنه . ويستخدم حامض النيتريك والأيودين في عمليات الأكسدة . وقد استخدم أيضا خليط من حامض النيتريك والهيدروكلوريك و"الداي كرومات dichromate " لتحويل البيلوروبين الي بيلوفردين .

ويتفاعل البيلوروبين مع أملاح الدياز ويتم في القطاعات المجمدة الطازجة ، وليس في القطاعات الشمعية . كما يصبغ البيلوروبين بصبغ " أزرق الميثيلين methylene blue "

طريقة جيملن Gmelin method

- يزال الشمع من القطاعات .
- تغمر القطاعات في حمض النيتريك المركز والإيثانول المطلق بكمية متساوية .
- يوضع غطاء علي القطاع وينزع الماء الزائد من الخليط .
- يتم الفحص بعد لحام القطاع .

النتيجة : يتحول البيلوروبين من الأحمر البنفسجي الي الأخضر .

طريقة جلنر Glenner 1957

البيلوروين - الهيموسيدرين - الليبوفوسين

Bilurubin - hemssiderin - lepofuscin

- توضع قطاعات مجمدة غير مثبتة علي شرائح جافة ويضاف لها ٢٪ بوتاسيوم فيروسيانيد K . ferrocyanide لمدة ٥ دقائق .
- توضع القطاعات في خليط مكون من أجزاء متساوية من ٢٪ بوتاسيوم فيروسيانيد + ٥٪ حامض الخليك لمدة ٢٠ دقيقة .
- تغسل بماء الصنبور ثم توضع لمدة ١٥ دقيقة في المحلول التالي : ٢٥ مل ٣٪

بيكرومات البوتاسيوم + ٢٥مل محلول منظم أسه الهيدروجيني pH2.2

- يصبغ القطاعات في أزرق الزيت "oil red 0.0" لمدة ٢٠ دقيقة .

- تغسل بالماء وتعطي بمحلول آباثي .

النتيجة : البيلوروبين ← أخضر قاتم .

الهيموسيدرين ← أزرق داكن .

الليبوفوسين ← أحمر برتقالي .

الليبوفوسين Lipofuscin

هي مواد معقدة غير متجانسة تترسب في العضويات الخلوية مثل الهيموسيدرين والفيريتين وتصحبها أيضا بعض الإنزيمات مثل الفوسفاتيز الحامضي والاستيريز والكاتبسين بما يشير الي انها تتواجد في الليسوسومات وقد وجدت أنها تتكون داخل الليسوسومات ثم تتركها بعد ذلك الي الخارج متحولة الي حبيبات صبغية .

وهذا الصبغ بني اللون سالب بالنسبة للحديد ، قابل للاتحاد بالصبغات القلوية وموجب بالنسبة لكاشف "شف" PAS كما أنها تقاوم عملية نزع الماء بالكحول والطمر في الشمع ، وتصبغ بصبغات الدهون ، كما أنها تختزل أملاح الفضة .

REFERENCES

1 - Bancroft, J.D. (1967) "An introductioon to histochemical techniques", Butter Worths, London.

2 - Barka, T. and Anderson, P. (1963) . "Histochemistry, Practice and Bibliography", Harper & Row Pub N.Y.

3 - Chagen, J. Bitensky, L. and Butcher, R. (1973). " Practical Histochemistry " John Wiley & Sons , London and N.Y .

4 - Change, L. (1979). "A Color Atlas and Manual for Applied Histochemistry" . Charles and Thomas , Illinois, U.S.A.

5 - Davenport, H.A. (1963) "Histological and histochemical techniques" W.B. Saunders Comp, Philedelplia, U.S.A.

6 - El-Asser, A.M. and Hassanein, S.H. (1975) . Acta Biol Acad Sci . Hung ., *28* :105 (Quoted form Moussa *et al.*,) .

7 - El-Asser, A.A and Mokhtar, N.M. (1982) . J. Egypt . Nat. Cancer Instit., *4* :217 (Quoted from Moussa *et al.*,).

8 - El-Banhawy, M.A., (1964). Histschemical effects of X-ray irradiation on the activity of succinic dehydrogenase in the hepatsma cells as compared to the normal liver cells . Proc-Egypt . Acad Sci, *18* : 76-83 .

9 - El-Banhawy , M.A; Al-Zahaby, A-S and Shalaby, A. (1986). Histochemical changes in the nucleic acid (DNA) and lipid contents of the ileal mucosal cells of fishes as a result of organs phosphorus intoxication. Bull Fac. Sci. Zagazigi Univ .

10 - El-Banhawy, M.A. and El-Ganzuri, M.A. (1983) . Nucleic acids response to treatment with insecticides . Ain Shams Sci. Bull. 24 .

11 - El-Banhawy, M.A, and Khattab , F.I. (1991). "The Cell. Structure and Function" Dar El-Maaref, Egypt.

12 - El-Banhawy , M.A. and Riad , N.H. (1982) . Some observations on the localization of glycogen in the mammalian liver cells. Proc. Zool Soc. U.A.R. *3* : 41- 62 .

13 - El-Banhawy, M.A. and Riad , N.H. (1972) . The influence o development, aging and fasting on the histochemical localization of proteins in the liver cells of guinea pigs. Proc Zool . Soc (U.A.R) *6* : 257 - 260

14 - El- Barhawy, M.A; Mohallel, M.E; Hassan, F.M. Mekkawy, H. A. and Tawfik, M.N (1992) Histochemical effects of the narcotic drug (Butarphenol tartarate) on some nzymes correlated with carbohydrate metabolism. in the rat liver tissues . Egypt. J. Soc Toxicol., *6* :36-42 .

15 - El-Banhawy, M.A.; Shahin, M.A. and El-Shennawy, W.W., (1993). Lipid localization in the vertebrate adrenal glands with special reference to their role in the process of steroids genesis . J. Egypt Ger. Soc Zool., o c: 17-28 .

16 - El-Ganzuri, M.,A. (1975) : "Cytological and histochemical studies on the mammalian nerve and liver cells" Ph.D. Thesis, Faculty of Science Ain Shams University .

17 - Faukner, W. and Willington, E. (1970) "Manual of clinical laboratory procedures" Rober Comp Ohis, U.S.A .

18 - Grossran,Z and Scheibler, H. (1979) . "Enzyme histochemistry.A Lab. Manual". Betz Berlin .

19 - Gurr, G.(1969) "Biological staining methods "Scarle Sci Service High Wycombe, London .

20 - Khattab - F.I. El-Banhawy M; A. and El-Ganzuri M.A. (1980)

Pathological effects of insecticides on acit Phosphatose partides in verve cells of rat . Ain Shams Sci. Bull., 22 : 169 - 179 .

21 - Klerman, J. (1981) . "Histological and histochemical methods : theory and Practice" pergamon press, N.Y .

22 - Mc Manus, J. and Mowry, R., (1960) "Staining methods : Histological and histochemical . Harper and Row Comp. N.Y .

23 - Moussa, T-; Al - Asser, A. and El-Banhawy, M.A ( ) "Histochemistry ".

24 - Pearse, E (1977). Theory and Practice of histochemistry". Churchil, Livingstone London.

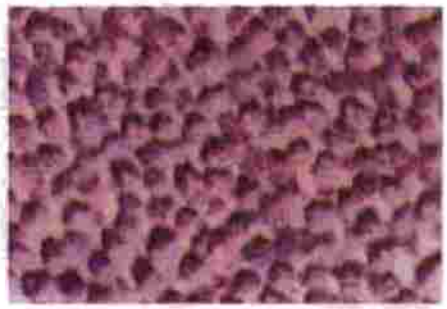
25 - Sheehan, D. and Harpchalk, B. (1973) : "Theory and Practice of histotechnology" . The Mosby comp. st. Louis, U.S.A.

26 - Stoward, P. and Polck, J. (1973)" Fixction in histochemisty". Chapman and Hall London .

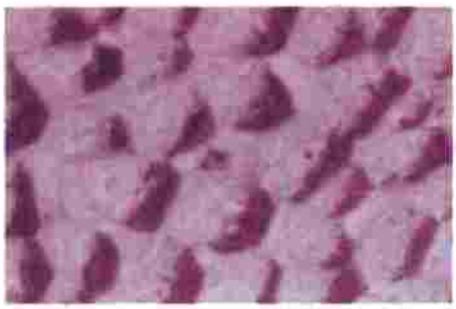
27 - Stoward , P. A Polck, J (1981) " Histochemustry the Widening horizon of its application in the Biochemical Sciences". The willy and of Sons:N.Y.

28 - Summer, A. and summer , B. (1961) "Alaboratory manual of microtechnique and histochemistry". Blackwell , Sci. Pub., Oxford .

اللوحـــــة الآولي
المواد الكربوهيدراتية



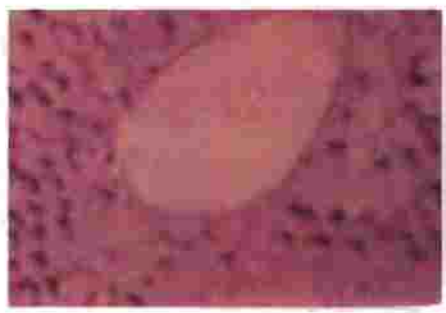
توزيع الجليكوجين فى الخلايا الكبدية العادية



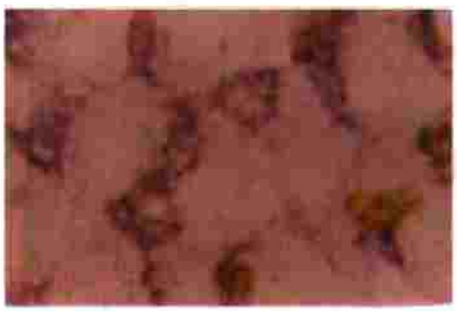
صورة مكبرة توضح ظاهرة « هروب الجليكوجين »

الجليكوجين فى خلايا كبدية أنويتها مصبوغة بالهيماتوكسلين

تناقص الجليكوجين فى بعض الحالات الفسيولوجية



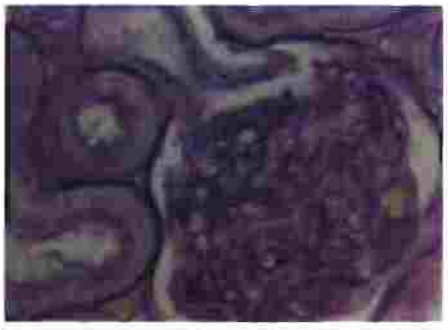
مرحلة تصويم أو تجويع متأخرة تبين إنخفاض معدل الجليكوجين فى المنطقة المحيطة بالوعاء المركزى



صورة مكبرة للحالة السابقة

اللوحـــــة الثانية

صورة للمواد الكربوهيدراتية في الانسجة الكلوية



صورة مكبرة لجزء من الشكل السابق

المواد الكربوهيدراتية (المخاطية) فى أنسجة المعدة

العضلات القلبية ومحتوياتها الكربوهيدراتية

المواد المخاطية فى الخلايا المبطنة للأمعاء

حامض الأسكوربيك فى أنسجة الغدة الكظرية

اللوحـــــة الثالثة

الكربوهيدراتات (المخاطيات) فى الأنسجة المعدية

الكربوهيدراتات فى الكبد والبنكرياس فى الأسماك

حبيبات حامض دى أكسى ريبو نيوكليك فى الخلايا الكبدية

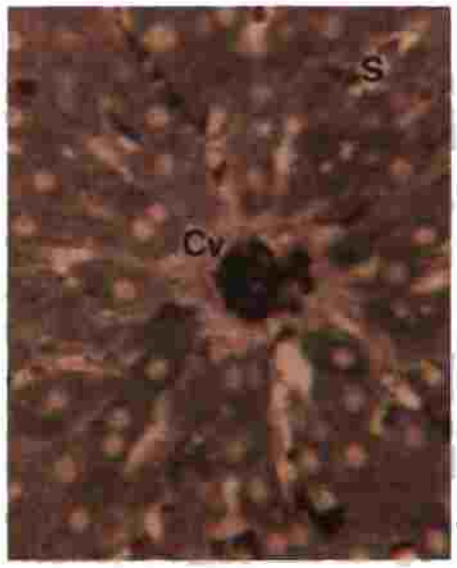
المواد الكربوهيدراتية فى خلايا طلائية فى القناة الهضمية

اللوحـــــة الرابعة

المواد الليبيدية (الدهنية)

الدهون فى خلايا كبدية عادية

الانسجة الكلوية ومحتوياتها الدهنية



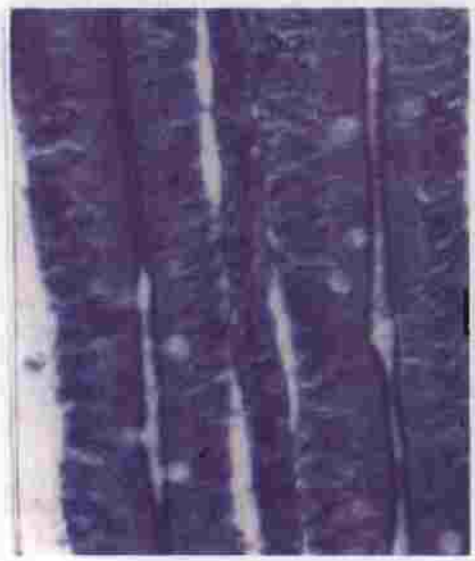
تناقص الدهون فى كبد حيوان جائع

المحتويات الدهنية فى أنسجة الغدة الكظرية

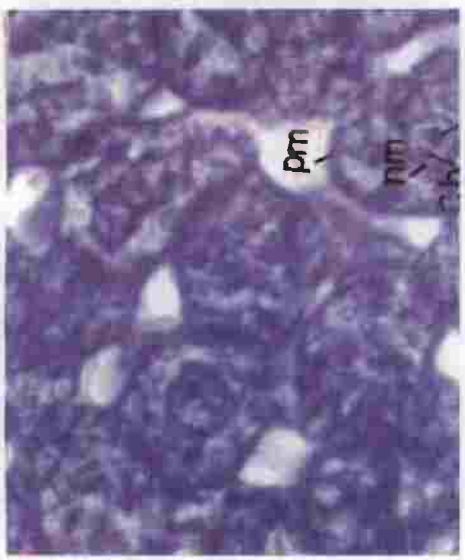
اللوحـــــة الخامسة
المحتويات البروتينية

البروتينات فى أنسجة الكلية

خلية عصبة مكيرة بها المواد البروتينية



البروتينات فى خلايا الامعاء



البروتينات فى خلايا كبدية

اللوحـــــة السادسة
الإنزيمـــــــات

الفوسفاتير القلوى فى الأنسجة الكبدية

توزيع الفوسفاتير الحمض فى خلايا الكبد

الأدينوزين ثلاثى الفوسفات فى الأنسجة المعدية

لاكتيك ديهيدروجينيز فى الأمعاء

سكسينيك ديهيدروجينيز فى الكبد

الجلوكوز - ٦ - فوسفات فى أنسجة الكبد