



Basic Medical Sciences Research Center

Histogenotech

Basic Medical Sciences Research Center Histogenotech Co., Tehran, Iran

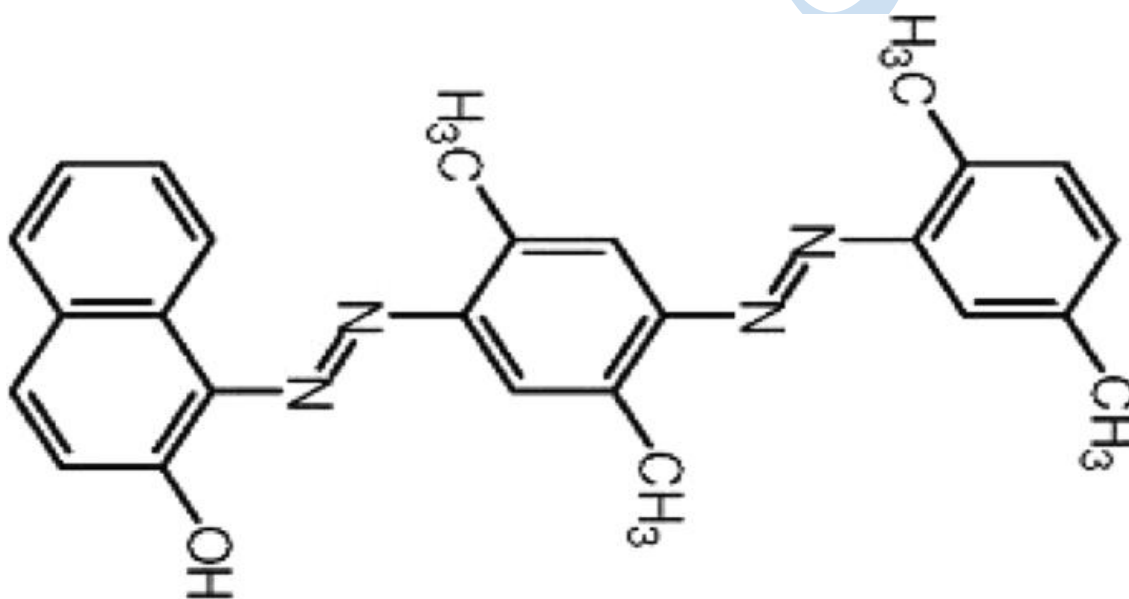
مرکز پژوهشی جامع علوم پایه پزشکی
شرکت دانش بنیان بافت و ژن پاسارگاد

آموزش جامع رنگ آمیزی اختصاصی اویل رد (Oil red)
در آزمایشگاه بافت شناسی

- ۳..... مقدمه ای از رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد در بافت شناسی
- ۴..... انواع کاربرد های رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد در بافت شناسی
- ۴..... نگاهی اجمالی به بافت و سلول های چربی رنگ شده با اوایل رد.....
- ۵..... انواع نمونه های بافتی تشخیصی و مورد مطالعه با رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد.....
- ۶..... پروتکل رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد در بافت شناسی.....
- ۶..... تجهیزات و مواد آزمایشگاهی مورد نیاز برای تکنیک رنگ آمیزی اوایل رد.....
- ۷..... تفسیر نتایج رنگ آمیزی اوایل رد.....
- ۸..... ارائه خدمات رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد O در آزمایشگاه بافت شناسی.....
- ۹..... جمع بندی.....
- ۹..... سوالات متداول.....

مقدمه ای از رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد در بافت‌شناسی

رنگ آمیزی اوایل رد O (Oil red O) یا روغن قرمز O از قدیمی ترین و متداول ترین تکنیک های کاربردی در تشخیص چربی در نمونه های بافتی است. رنگ اوایل رد یا Oil red یک لیزوکروم محلول در چربی است که جهت اندازه گیری کمی و کیفی تری گلیسریدها، لیپوپروتئین ها و لیپیدهای موجود در نمونه های بافتی تازه و فروزن حاوی چربی در پاتولوژی کاربرد دارد. این رنگ هیدروفیلیک قابلیت شناسایی و تشخیص انواع چربی ها را دارد. رنگ محلول در چربی ORO یا اوایل رد O با فرمول شیمیایی $C_{26}H_{24}N_4O$ و جرم مولکولی ۴۰۸٫۵۱۰ شامل دو گروه azo، چهار گروه متیل و یک گروه هیدروکسیل می باشد. رنگ های azo دارای ساختارهایی هستند که مانع از یونیزاسیون آنها شده و در نتیجه حلالیتشان را در لیپیدها آسان می کند. ORO یا اوایل رد O اشعه با طول موج ۵۱۸ نانومتر جذب کرده و نمونه هدف را قرمز می کند.



شکل ۱: ساختار اوایل رد O با فرمول شیمیایی $C_{26}H_{24}N_4O$

برای آشنائی با سایر رنگ آمیزی های اختصاصی در پاتولوژی کلیک کنید.

انواع کاربردهای رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد در بافت شناسی

رنگ آمیزی اوایل رد از روش های پرکاربرد در آزمایشگاه های تشخیصی و تحقیقاتی می باشد. از جمله کاربرد های آن می توان به موارد زیر اشاره نمود.

رنگ آمیزی اوایل رد در پاتولوژی: در حوزه پاتولوژی، این رنگ آمیزی جهت تشخیص تعدادی از بیماریها از جمله

بیماریهای متابولیکی کاربرد دارد. تشخیص بیماریهای آمبولی چربی در ریه ها، کبد چرب، شناسایی و تشخیص لیپیدها در توبول های پروکسیمال کلیه ها به عنوان مارکر تشخیصی دیابت و کتواسیدوز دیابتی با این روش رنگ آمیزی اوایل رد انجام می شود.

رنگ آمیزی اوایل رد در پزشکی قانونی: از تکنیک رنگ آمیزی روغن قرمز O در صحنه جرم جهت تشخیص اثر

انگشت مجرم روی محیط خشک و مرطوب نیز استفاده می شود. اثر انگشت و عرق فرد مجرم شامل گلیسرید، اسیدهای چرب، استرهای موم و غیره می باشد.

رنگ آمیزی اوایل رد در تحقیقات کشت سلولی و پاتوفیزیولوژی سلولی: تشخیص و مشاهده میزان تمایز

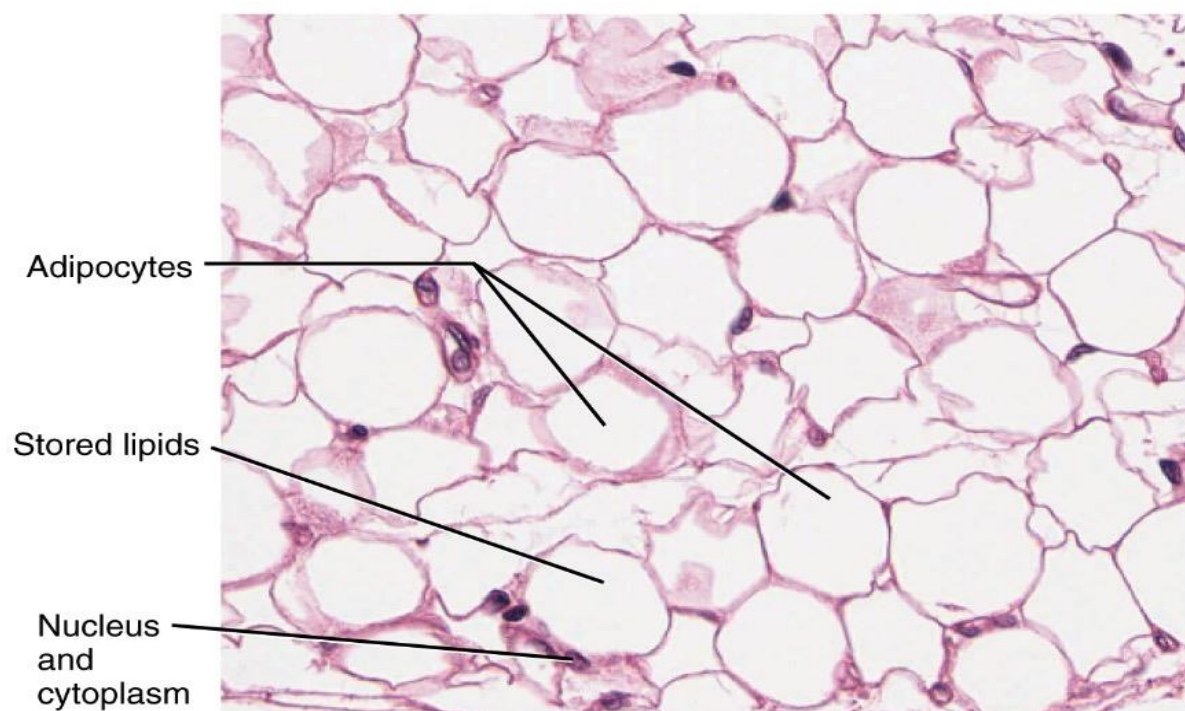
سلولهای بنیادی مزانشیمی در کشت سلولی توسط رنگ آمیزی اوایل رد انجام می شود.

نگاهی اجمالی به بافت و سلول های چربی رنگ شده با اوایل رد

بافت چربی یک بافت همبند سست است که عمدتاً از آدیپوسیت ها یا سلول های چربی تشکیل شده است. علاوه بر این سلولها، بافت چربی نیز حاوی بخش عروقی استرومایی (stromal vascular fraction) سلولهایی است که از جمله آنها می توان به پیش آدیپوسیت ها، فیروبلاست ها، سلول های اندوتلیال عروقی و انواع سلول های ایمنی مانند ماکروفاژها اشاره نمود. نقش اصلی بافت چربی ذخیره انرژی بدن به شکل لیپید می باشد. ذخیره و آزادسازی لیپید از سلولهای چربی در بافت چربی فاکتورهای اصلی در تنظیم تعادل انرژی هستند. یک منبع مهم برای تجدید سلول های چربی در تمام طول عمر، مغز استخوان است.

بافت چربی نیز به عنوان یک غده درون ریز اصلی شناخته شده است زیرا هورمون هایی مانند لپتین، استروژن و سیتوکین ها را تولید می کند. دو نوع بافت چربی عبارتند از: بافت چربی سفید که انرژی را ذخیره می کند و بافت چربی قهوه ای که گرمای

بدن را تولید می کند. به نظر می رسد تشکیل بافت چربی تا حدودی توسط ژن چربی کنترل می شود. فرآیندهای التهابی مزمن از عوامل کلیدی در اختلال عملکرد بافت چربی هستند که منجر به بیماریهای مختلف مرتبط با بافت چربی از جمله بیماری های متابولیکی می شود.



شکل ۲: انواع سلولهای بافت چربی نشان داده شده است.

انواع نمونه های بافتی تشخیصی و مورد مطالعه با رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد

رنگ آمیزی اوایل رد در بافت شناسی روی نمونه های بافتی تازه منجمد شده در دمای منفی هشتاد انجام می شود. در این تکنیک نمی توان از برشهای پارافینی بافت ها استفاده نمود چرا که چربی و لیپیدها از این بافت ها به مرور حذف می شود. البته در بعضی موارد نادر جهت تشخیص لیپوپروتئینها در نمونه های پارافینی نیز استفاده می شود. همچنین می توان روی نمونه های سیتولوژی خشک شده در محیط و سلولهای چربی تمایز یافته کشت داده شده در محیط آزمایشگاهی (*In vitro*) این تست را انجام داد.

در این مقاله به یکی از پروتکل های رنگ آمیزی اوایل رد O (Oil red O) می پردازیم.

پروتکل رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد در بافت شناسی

۱. در تکنیک رنگ آمیزی روغن قرمز O ابتدا محلول اوایل رد O را با حل کردن پودر اوایل رد در ایزوپروپانول ۹۹٪ بصورت تازه آماده می کنیم. روش دیگر این است که پودر اوایل رد O را در پروپیلن گلیکول حل گردد.
۲. در دستگاه فروزن سکشن، نمونه روی پایه محتوی چسب اختصاصی برش فروزن برای قالبگیری قرار می دهیم. پس از بسته شدن نمونه در دستگاه فروزن سکشن، برش های بافتی فروزن با اندازه ۸ الی ۱۰ میلی متر تهیه می کنیم. برش های تهیه شده را روی لام قرار داده تا با جریان هوا خشک شوند.
۳. برشها را در فرمالین فیکس می کنیم.
۴. سپس برشها را با آب به مدت ۱ الی ۱۰ دقیقه شستشو می دهیم.
۵. برشهای فیکس شده را در ایزوپروپانول ۶۰٪ شناور می کنیم.
۶. اسلاید های میکروسکوپی حاوی برشهای فیکس شده را به مدت ۱۵ دقیقه با محلول اوایل رد O تهیه شده رنگ آمیزی می کنیم.
۷. در این مرحله نیز هسته سلولهای نمونه ها را نیز با همتوکسیلین الوم رنگ کنیم. اسلایدها را به مدت یک الی ۲ دقیقه در رنگ همتوکسیلین قرار می دهیم.
۸. اسلایدها را با آب مقطر شستشو می دهیم.
۹. نهایتا نمونه ها را مونت کرده و زیر میکروسکوپ نوری بررسی می کنیم.

تجهیزات و مواد آزمایشگاهی مورد نیاز برای تکنیک رنگ آمیزی اوایل رد

مواد مورد نیاز

- محلول اوایل رد O
- ایزوپروپانول و پروپیلن گلیکول
- رنگ افتراقی همتوکسیلین

تجهیزات مورد نیاز

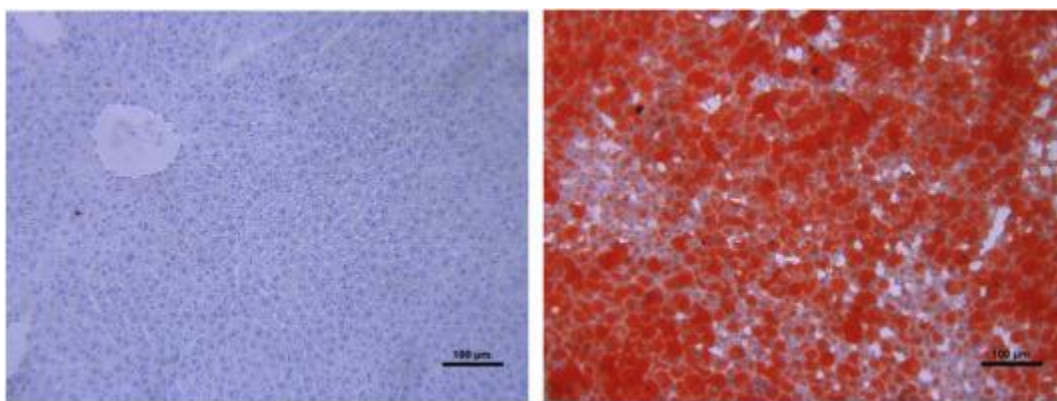
- دستگاه فروزن سکشن
- چسب اختصاصی برش فروزن برای قالبگیری
- جار رنگ آمیزی لام
- میکروسکوپ نوری یا فلورسنت
- لام و لامل

جهت مطالعه بیشتر مرتبط با تجهیزات عمومی و تخصصی در آزمایشگاه بافت شناسی کلیک کنید.

تفسیر نتایج رنگ آمیزی اوایل رد

همانطور که توضیح داده شد رنگ اوایل رد O سلولهای چربی موجود در نمونه بافتی فروزن یا سلولهای آدیپوسیت کشت داده شده در محیط آزمایشگاهی را قرمز رنگ آمیزی می کند. بررسی کیفی و کمی سلولهای چربی در بافت های سالم و بیمار مانند تومور لیپوسارکوما با رنگ آمیزی اوایل رد قابل انجام می باشد. سلولهای چربی به رنگ قرمز زیر میکروسکوپ نوری مشاهده می شود و چنانچه از رنگ آمیزی های دیگر برای هسته سلولها نیز استفاده شود هسته ها نیز قابل مشاهده می شوند. به عنوان مثال رنگ آمیزی هماتوکسیلین الوم، هسته ها را به رنگ آبی رنگ آمیزی می کند.

در شکل زیر رنگ آمیزی اوایل رد امکان مشاهده رسوب چربی در بافت کبد نرمال و چرب موش آزمایشگاهی را نشان می دهد. نمونه گروه کنترل (شکل سمت چپ) هیچ چربی در بافت کبد ندارد در نتیجه رنگ قرمز اوایل رد مشاهده نمی شود. اما در نمونه مبتلا به کبد چرب (شکل سمت راست) تجمع چربی با رنگ قرمز قابل مشاهده می باشد.



شکل ۳: رنگ آمیزی اوایل رد O بخش های فروزن بافت کبد

ارائه خدمات رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد O در آزمایشگاه بافت شناسی

هر یک از بافت های بدن موجود زنده ویژگی های منحصر بفرد دارد مثلاً بافت مغز غنی از چربی می باشد یا بافت قلب دارای فیبرهای ماهیچه ای می باشد. بنابراین نیاز است در بافت شناسی جهت مطالعه و بررسی تحقیقاتی و تشخیصی پزشکی نمونه های بافتی، از تکنیک های اختصاصی رنگ آمیزی استفاده شود تا نتایج قابل استناد و معتبر کسب گردد. از این رو بخش پاتولوژی شرکت بافت و ژن پاسارگاد، انواع رنگ آمیزی های عمومی و اختصاصی ستاپ جهت انجام طرح های پژوهشی محققین با استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی استاندارد و باکیفیت ترین مواد توسط کارشناسان باتجربه انجام داده است.

در آزمایشگاه پاتولوژی هیستونوتک با استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی استاندارد، برشهای بافت میکرومتری با کیفیت تهیه کرده و با بکار بردن انواع رنگ آمیزی های عمومی و اختصاصی از جمله رنگ آمیزی اختصاصی اوایل رد، گلژی، تری کروم ماسون، کریزیل ویوله، پاس، لوکسال بلو و غیره به بررسی و مطالعه نمونه های بافتی بیمار و سالم فرستاده شده از سوی محققان، اساتید و دانشجویان می پردازد و نتایج حاصل را به همراه پروتکل های تکنیک به محقق تحویل داده و همچنین فرصت شرکت در کارگاه های آموزشی رایگان و پاسخ به سوالات محقق مرتبط با طرح پژوهشی برای محقق فراهم شده است.

جمع بندی

یکی از رنگ آمیزی های اختصاصی در آزمایشگاه پاتولوژی تشخیصی و تحقیقاتی، رنگ آمیزی اختصاصی سلولهای چربی با نام اوایل رد O است. رنگ آمیزی لیپیدها با رنگ های محلول در روغن بر اساس میزان حلالیت بیشتر رنگ در مواد لیپوئیدی نسبت به حلال های هیدروآلکلی می باشد. تجمعات سلولهای چربی و لیپیدها در بافتی های محیطی می تواند منجر به برخی بیماریهای متابولیکی گردد که یکی از راه های تشخیص این توده های چربی در بیماران مشکوک انجام رنگ آمیزی های پاتولوژی از جمله اوایل رد O است. در این مقاله تلاش شد تا آموزشی جامع از رنگ آمیزی اوایل رد و نتایج حاصل از آن را توضیح دهیم.

سوالات متداول

۱. رنگ آمیزی اوایل رد اختصاصی کدام سلولهای بدن می باشد؟
این روش سلولهای چربی را به رنگ قرمز رنگ آمیزی می کند.
۲. جهت رنگ آمیزی اوایل رد در چه دمایی از نمونه های بافتی برش تهیه می شود؟ نمونه های بافتی سریعاً در دمای منفی ۲۰ دستگاه فروزن سکشن منجمد شد و برشها در همین دما از آنها تهیه می گردد.
۳. آیا می توان علاوه بر استفاده از رنگ آمیزی اوایل رد از رنگ آمیزی های دیگر هم استفاده نمود؟ بله دو یا چند رنگ آمیزی دیگر هم می توان همزمان با اوایل رد برای نمونه های هدف استفاده نمود.

مرکز پژوهشی جامع علوم پایه پزشکی
شرکت دانش بنیان بافت و ژن پاسارگاد

Email: histogenotechlab@gmail.com

www.histogene.ir

www.histogene.co



۰۹۲۲۶۳۸۳۳۴۱