

Окраска по Романовскому: к вопросу о приоритете

А.В. Безруков, ООО ЭМКО.

Приведено краткое содержание методической части работ Хенцинского Ч.И. и Романовского Д.Л., которые дали начало методикам окраски биологических препаратов с помощью смеси азура В, метиленового синего и эозина. Показано, что приоритет в получении полихромной окраски с помощью смеси азура В, метиленового синего и эозина принадлежит Романовскому Д.Л., его работы инициировали применение и совершенствование окраски «по Романовскому», которая используется во всём мире уже 120 лет.

В 2010 году исполняется 120 лет с тех пор, как появилась первая публикация [14] об исследовании мазков крови с препаратами окрашенными таким образом, чтобы проявился эффект, в дальнейшем названный эффектом Романовского.

В конце девятнадцатого века, когда вышла статья, происходило стремительное развитие морфологических методов в медицине, что было обусловлено:

1. Требованиями практической медицины, в частности, после открытия Лавраном возбудителя малярии, необходимо было разработать надёжные способы её диагностики;
2. Началом серийного производства усовершенствованных моделей микроскопов;
3. Началом промышленного синтеза недавно открытых анилиновых красителей.

Случилось так, что решающий вклад в разработку методик окраски мазков крови внесли наши соотечественники: Чеслав Иванович Хенцинский и Дмитрий Леонидович Романовский.

Приоритет использования составной краски из метиленового синего и эозина для исследования препаратов крови и паразитов крови принадлежит Чеславу Ивановичу Хенцинскому – военному врачу и прозектору Одесской городской больницы.

В 1888 году им была опубликована статья [22], а в 1889 г. защищена докторская диссертация: «К учению о микроорганизмах малярии» [21]. В этих работах описывалось, в том числе, применение для окраски мазков крови и кровепаразитов метиленового синего в сочетании с эозином.

Ч.И. Хенцинский сначала использовал последовательную двойную окраску насыщенным водным раствором метиленового синего, разведённым наполовину дистиллированной водой, и спиртовым раствором эозина (0,5г эозина, 60г этанола и 40г воды). Впоследствии он стал использовать смесь равных объёмов этих растворов, окрашивание наступало через 4-5 мин. В результате получалась двухцветная окраска: эритроциты окрашивались в розовый цвет, малярийные плазмодии – в голубой цвет и были отчётливо видны на фоне эритроцитов. Также в голубой цвет окрашивались ядра лейкоцитов.

В это время, в Одессе работало много выдающихся русских учёных с международной известностью, среди них - И.И. Мечников, который продемонстрировал окраску Лаврану. Методика стала хорошо известной. Ряд исследователей после публикации работ Чеслава Ивановича Хенцинского, с успехом применял этот способ окраски мазков крови с незначительными изменениями.

Однако, двухцветная окраска не позволяла выявлять особенностей строения малярийных плазмодиев, в частности, не выявлялось ядро этого простейшего, недостаточно хорошо выявлялись и особенности морфологии клеток крови. Это побудило Д.Л. Романовского, в то время лекаря и заведующего глазным отделением Петербургского Николаевского военного госпиталя, модернизировать методику (в его диссертации [15] методика Хенцинского описывается и обсуждается).

Выбор красителей был сделан на основе работ Ч.И. Хенцинского.

Вот, что пишет Дмитрий Леонидович, обосновывая выбор соотношения между красителями:

«Воспользовавшись теорией Ehrlich'a, его «Farbenanalyse», и замечая, что ядра большинства клеток красятся главным образом основными и нейтральными красками, мы стали искать нейтральной комбинации между метиленовой синькой и эозином.

Уже a priori можно было ожидать нейтральной краски при смешении растворов вышеупомянутых – раз одна из красок представляется щелочною, другая кислюю. Чтобы устранить моменты, могущие влиять на растворимость смешиваемых красок и смеси, мы брали исключительно водные растворы.

Путем многочисленных опытов мы нашли, что если смешивать профильтрованные водные растворы метиленовой синьки и эозина, то наступает момент, когда, при избытке последнего, выпадает нерастворимый в смеси осадок, причем смесь приобретает фиолетовый оттенок.

Это выпадение было, вероятно, и раньше, но осадок растворялся в избытке синьки.

Подыскивая постоянные объемные количества для определенных растворов, мы нашли, что осадок начинает ясно появляться при смешении одной части концентрированного раствора метиленовой синьки и двух частей 1% водного раствора эозина, в воде растворимого.

Смесь в этот момент обладает сильнейшею окрашивающею способностью, особенно ядра хорошо окрашиваются, причем краска не теряет своей избирательной способности; но, кроме входящих красок, в смеси получается какая-то третья краска, имеющая совершенно особый цвет и наибольшее сродство к ядрам или – точнее – к их хроматиновой сети. »

Здесь Романовский указывает на наличие (или появление) в смеси третьей краски (как мы теперь знаем, третья краска – азур В – продукт окисления метиленового синего, а ядра она окрашивает в красно-фиолетовый цвет в сочетании с эозином [25]). В настоящее время очевидно, что «третья краска» исходно содержалась в растворе выдержанного метиленового синего.

Далее Романовский уточняет, каким образом приготавливались растворы и смеси:

«Начало выпадения осадка – времени наибольшей ядрокрасящей способности смеси – узнается следующим простым способом, для практики необходимым, ибо краски разных фирм не одинаковы, в чем мы убедились опытами. В градуированный (на 10 куб. см.) цилиндр наливается раствор синьки (напр. 2 куб. см.) и к нему осторожно приливается раствор эозина.

Первое время смесь остается темно-синей, но когда наступает нейтрализация (напр., в нашем случае по прилитии 4 куб. см. эозина) эозин перестает вполне смешиваться с синькой и остается над поверхностью смеси в виде прозрачного слоя раствора эозина небольшой избыток которого, впрочем, не вредит окрашиванию. Полученная таким образом смесь красок тщательно размешивается стеклянной палочкой, но не фильтруется, как и вообще краски Ehrlich'a, потому, что при фильтрации почему-то теряют свою избирательную красящую способность.

...Лучше всего синька начинает красить, когда на поверхности раствора появится плесень, что узнается по белому налету на ней. Мы имели постоянную большую бутылку с насыщенным до осадка раствором метиленовой синьки, по мере убыли которого мы приливаем воды, взбалтываем и, давши отстояться, отфильтровываем для употребления.

...Надо заметить, что старый раствор, метиленовой синьки для своего насыщения требует, меньше эозина, а потому не лишне хоть раз в два месяца повторять пробу на начало выпадения осадка, так, как у нас чрез 9 месяцев 1 объем синьки требовал уже не 2, а 1 ½ объема эозина.»

Таким образом, по-видимому, метиленовый синий при длительном хранении в растворе постепенно окислялся с образованием Азура В, и других производных веществ, что и приводило к полихромной окраске препаратов. К сожалению, Романовский указывает, что «краски разных фирм не одинаковы, в чем мы убедились опытами», но не сообщает, какие именно краски и каких фирм использовались. В книге современника Дмитрия Леонидовича, профессора М. Н. Никифорова [10] указывается касательно его методики:

«Удача окраски вполне зависит от состава употребленной синьки, и, по Готье, надежнее всего употреблять метиленовую синьку от Badisches Soda-Anilin Fabrik марки C и BGN, равно как и эозин оттуда же, марки A. »

Вот что Романовский пишет о получаемых цветах окраски форменных элементов в своей первой работе [14]:

«В моих препаратах я получаю всегда следующую картину: красные шарики окрашены в розовый цвет, протоплазма эозинофилов – в насыщенно розовый, чужесядные малярии и протоплазма лимфоцитов – в светло-синий, кровяные пластинки и ядра белых шариков – в темно-фиолетовый, ядра чужесядных – в пурпурно-фиолетовый, протоплазма лейкоцитов в слабо-фиолетовый, при чем можно видеть переходные цвета от светло-синей протоплазмы лимфоцитов до фиолетовой лейкоцитов. »

Дмитрий Леонидович первым опубликовал результаты, в которых описывается совершенно не очевидный эффект полихромной окраски препаратов крови и кровепаразитов с помощью краски, составленной с применением двух красителей. Он высказал предположение, что это связано с какой-то третьей краской (как мы теперь знаем, это азур В). Кроме того он наблюдал и использовал реакцию (осаждение) эозина метиленовым синим (а наверное и азуром В). Очень важны для медицины и биологии другие результаты его диссертации: исследование строения различных форм малярийных плазмодиев и исследование влияния хинина на плазмодиев. Многие специалисты, например, [5,6,11,13], считают, что Дмитрий Леонидович Романовский является первым учёным, обосновавшим подход к лечению, который сейчас называется химиотерапией. В этом он на несколько лет опередил Пауля Эрлиха.

К сожалению, в ряде публикаций [26, 29,30], начиная с 1978 г. ставится под сомнение приоритет Дмитрия Леонидовича Романовского в разработке методики полихромной окраски препаратов крови и паразитов крови с помощью составного красителя, включающего метиленовый синий (выдержанный раствор) и эозин. Lilli R.D. в [26] ссылается на то, что короткая статья [27] Эрнста Малаховского – врача из Силезии – была опубликована на три недели раньше, чем работа Романовского на немецком языке, опубликованная 24 августа (5 сентября) [28]. При этом игнорируются известные публикации Романовского [14,15] на русском языке в виду их трудной доступности для западных исследователей. Между тем, даже в первом предложении всем известной работы Романовского на немецком языке (D. Romanowsky Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria. St. Petersburger Medicinische Wochenschrift № 34 297-302; № 35, 307-315)

написано: *«Vorwort: Vorliegende Arbeit des Dr. D. Romanowsky ist zuerst im Juni d. J. als Dissertation erschienen.»* (Предисловие: Данная работа доктора Д. Романовского появилась сначала в июне этого года как диссертация.). Т.е. прочитавшему эту работу должно быть очевидно, что до публикации на немецком языке была опубликована диссертация на русском, где результаты изложены более полно. Действительно, в еженедельнике ВРАЧЬ, 1891, №21, стр. 522 (номер за конец мая или начало июня), в разделе «Хроника и мелкие известия», сообщается, что: «Конференция В.М. Академии признала докторами медицины гг. К.И. Зуева, Д.Л. Романовского, Г.Г. Скориченко и В.Г. Слюнина.».

Таким образом, хронология публикации результатов Д.Л. Романовского следующая:

CLXXVII. Изъ лабораторіи клиническаго профессора М. И. Афанасьева при Николаевскомъ Военномъ Госпиталѣ.

Къ вопросу о строеніи чужеродныхъ маляри.

(Предварительное сообщеніе.)
Д. Л. Романовскаго.

Чужеродныя, вызывающія малярію, предполагались уже неюны, но дѣйствительно описаны впервые *Laveran*'омъ. Послѣдующія наблюденія многихъ ученыхъ (*Richard, Marchiafava, Celli, Golgi, Grassi, Canalis, Guarneri, Autolosci, Angelini, Sternberg, Councilman, Osler, Мечниковъ, Сахаровъ, Хенцинскій, Тимовъ* и др.), произведенныя въ разныхъ мѣстахъ земнаго шара, несомнѣнно доказали постоянное присутствіе этого чужероднаго въ крови болотныхъ больныхъ и его роль въ производствѣ болотныхъ заболѣваний и ихъ послѣдствій; вмѣстѣ съ тѣмъ была прослѣжена и кругъ развитія даннаго чужероднаго въ связи съ присутствіемъ лихорадки. Но до сихъ поръ разбираемому чужеродному нѣтъ еще прочнаго мѣста въ классификаціи, нѣтъ и опредѣленнаго имени. *Laveran* называлъ его *haematozoaire de paludisme*, итальянцы—*plasmodium malariae*, *W. Osler*—*haematomonas malariae*, *Мечниковъ*—*haematophyllum malariae*, а въ послѣднее время *Grassi* и *Feletti* назвали два вида—*haematooeoba* и *Laverania*.

Мнѣ кажется, что главная причина разногласій заключается въ недостаточномъ знаніи биологіи и морфологіи чужероднаго. Трудность изученія первой осложняется невозможностью до послѣдняго времени получить такую питательную среду, въ которой можно бы разводить чужеродное и наблюдать его при желательныхъ намъ условіяхъ. До сихъ поръ это чужеродное еще не найдено свободнымъ въ природѣ, не смотря на точныя изслѣдованія воды, почвы и воздуха въ болотныхъ мѣстностяхъ. Произведенныя проф. *Даниловскимъ* и *Шалашиковымъ* изслѣдованія животныхъ, особенно холоднокровныхъ и птицъ, живущихъ въ болотныхъ мѣстностяхъ, показали, что въ крови этихъ животныхъ попадаются чужеродныя, тождественныя съ встрѣчающимися въ крови болотныхъ больныхъ, но нѣрѣдко неоказывающія никакого замѣтнаго вреднаго вліянія на прижившія ихъ организмы¹⁾. Эта сравнительная паразитологія крови много помогаетъ изученію темнаго вопроса о биологіи чужероднаго маляри.

Изученіе морфологіи чужеродныхъ, водящихся въ крови болотныхъ больныхъ, тоже представляетъ много затрудненій, которыя зависятъ отчасти отъ величины изслѣдуемаго объекта (нѣрѣдко менѣе $\frac{1}{10}$ краснаго шарика), а отчасти и отъ другихъ свойствъ его.

Сначала видѣли въ немъ комочекъ плазмы (*plasmodium*), способный къ амѣбоднымъ движеніямъ безъ слѣдовъ дифференцировки. Такъ какъ послѣднія вообще въ живыхъ животныхъ клѣточкахъ трудно различаются, то, конечно, въ живомъ, да при томъ еще столь маломъ организмѣ, какъ болотное чужеродное, врядъ-ли возможно видѣть строеніе; по этому заявленіе *Celli* и *Guarneri*: о томъ, что они видѣли ядра въ живыхъ чужеродныхъ, можетъ возбуждать нѣкоторое сомнѣніе—тѣмъ болѣе, что другіе авторы, напр., *Сахаровъ*, говорятъ, что ядра не удается видѣть ни при какомъ увеличеніи. А между тѣмъ въ доказательствѣ присутствія ядра лежитъ рѣшеніе болѣе важной части темнаго вопроса о морфологіи чужероднаго, какъ это и полагаютъ етъ компетентные изслѣдователи, какъ *Grassi* и *Feletti*. Новѣйшіе факты, а также и теоретическія соображенія заставляютъ признать за ядромъ огромное значеніе и въ морфологическомъ развитіи клѣточекъ, и въ ихъ физиологической дѣятельности (проф. *С. М. Лукановъ*); приходится считать его на столько существенно необходимою принадлежностью всякой клѣточки, что скорѣе можно допустить существованіе голаго ядра, чѣмъ безъ-ядерной протоплазмы. *Sacharias* полагаетъ, что мы не видимъ иногда ядра,

¹⁾ Статя уважаемаго автора была имъ въ редакцію еще до появленія въ печати послѣдней статьи проф. *Даниловскаго* (см. выше, стр. 1063).
Ред.

можетъ быть, только потому, что оно не реагируетъ на известныя намъ теперь краски. Огюда естественно является вопросъ, можно ли при теперешнемъ состояніи нашихъ знаній допустить существованіе мочеръ, т. е., безъ-ядерныхъ организмовъ, чледи которыхъ, благодаря изслѣдованіямъ современныхъ естественниковъ, постоянно уменьшается и къ которымъ приходилось до послѣдняго времени относить и чужеродное болотныхъ больныхъ. Если мы съ большою вѣроятностью можемъ сказать, что нѣтъ жизнѣдательной клѣточки безъ ядра, то естественно уже и въ болотномъ чужеродномъ невать ядро—тѣмъ болѣе, что оно доказано у большинства протозоа и даже у тождественныхъ, по *Даниловскому*, чужеродныхъ, водящихся въ крови птицъ, хотя *Шалашиковъ*, описывая *euzoosoon*, говоритъ, что «онъ представляется однороднымъ, гомогеннымъ; болѣе дифференцированной части, какъ, напр., ядра, пока не удавалось видѣть, не смотря на примѣненіе различныхъ красящихъ веществъ.»

Доказательство присутствія ядра, кромѣ научнаго, такъ сказать, теоретическаго значенія имѣетъ и практическое, диагностическое примѣненіе, ибо въ красныхъ шарикахъ могутъ получаться разнообразныя, синія фигуры при окраскѣ метиленовой синькой и помимо маляри, даже и въ здоровой крови, на что и указывали проливники ученія о чужеродномъ маляри и что видѣли также и защитники послѣдняго, напр., *Celli* и *Guarneri*, которые дали даже и соответствующіе рисунки. Конечно, кто хорошо уже знакомъ съ болотнымъ чужероднымъ, тотъ такихъ смѣшеній не допуститъ, но въ практикѣ возможна и подобная ошибка; а потому отысканіе для болѣе точнаго отличительнаго распознаванія чужероднаго удобнаго и при томъ по возможности практическаго способа имѣетъ основаніе и съ этой точки зрѣнія.

Первую работу въ этомъ направленіи произвели *Celli* и *Guarneri* въ прошломъ году, при чемъ они изслѣдовали кровь больныхъ 4-дневной лихорадкой. Еще въ 1884 г. *Marchiafava* и *Celli*, окрасивъ чужеродныхъ на сухихъ препаратахъ крови метиленовой синькой, различали въ нихъ 2 части: наружную, темную—эктоплазму, и внутреннюю, блѣдную—эндоплазму.

Golgi въ споруляціонныхъ формахъ, и при томъ только при 4-дневной лихорадкѣ, видѣлъ въ центрѣ комочка блестящее тѣлце, сильно окрашивавшееся, которое онъ признавалъ за ядро. Въ прошломъ году *Celli* и *Guarneri* послѣ тщательной попытки выясненія строенія разбираемаго чужероднаго нѣмнѣи цѣли извѣстными способами заквашиванія и окраски примѣнили наконецъ способъ *Vizzozzo* окрасиванія живой крови, пользоваеи для этого ретортормъ (безгнзистно приготовленнымъ) метиленовой синьки въ свѣроточной жидкости (брюшной водянкѣ). Этими способомъ они получили (въ амѣбоднѣи ступени чужероднаго) эктоплазму, въ которой и скопляется пигментъ, и меньшую по объему эндоплазму, слабѣе окрашивающуюся, всегда безгнзментную и расположенную то въ центрѣ, то по периферіи чужероднаго; въ этой-то эндоплазмѣ и лежитъ окруженное свѣтлымъ ободкомъ ядро то съ слабо-окрашеною, то съ сильно окрашеною стѣною. Тоже дѣленіе на экто- и эндоплазму замѣчается и въ спорахъ (формы маргаритокъ), при чемъ въ эндоплазмѣ видна сильно окрашенная точка.

Сахаровъ, разбирая работу авторовъ, полагаетъ, что они были введены въ заблужденіе, ибо въ эндоплазмѣ они при какихъ увеличеніяхъ не удается замѣтить ядра, и все заставляютъ думать, что это просто—часть кроваваго шарика, захваченная соединившейся и слившимся пѣйдодоподими плазмодіи.»

Не считая изслѣдованій тѣхъ же авторовъ доказательными, *Grassi* и *Feletti*, въ свою очередь, произвели изслѣдованія въ томъ-же направленіи и «послѣ многихъ колебаній пришли наконецъ къ желанному рѣшенію.» Въ сущности они, «вълесообразно измѣнивъ» способъ *Celli* и *Guarneri*, выяснили и невае доказали то, что видѣли ихъ предшественники. Кромѣ того, они прослѣдили ядро во время его дѣленія. По описанію авторовъ, пугарьковидное, большое, ясное ядро похоже на такое-

Первая публикация (предварительное сообщеніе на 3-х страницах) в журнале ВРАЧЬ в конце 1890г. [14]. В этой статье однозначно описываются полученные результаты, характерная окраска форменных элементов, хотя не написано, что использовался именно выдержанный раствор метиленового синего.

Серія диссертаций, допущенныхъ въ зашитѣ въ ИМПЕРАТОРСКОЙ Военно-Медицин-
ской Академіи въ 1890—1891 академическомъ году.

№ 98.

**КЪ ВОПРОСУ
О ПАРАЗИТОЛОГИИ И ТЕРАПИИ
БОЛОТНОЙ ЛИХОРАДКИ.**

ДИССЕРТАЦІЯ

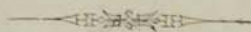
на степень доктора медицины

ЛЕКАРЯ

ДМИТРИЯ ЛЕОНИДОВИЧА РОМАНОВСКАГО.

Изъ Кабинета Клиническаго профессора М. И. Афанасьева при Петербург-
скомъ Николаевскомъ военномъ госпиталѣ.

Цензорами диссертации, по порученію Конференціи, были профессоры:
Л. В. Поповъ, А. О. Баталигъ и приватъ-доцентъ, клиническій
профессоръ М. И. Афанасьевъ.



С.-ПЕТЕРБУРГЪ.

Типографія И. Н. Скороходова (Надеждинская, 43).

1891.

Вторая публикация (наиболее полная) – издание диссертации Д.Л. Романовского: «К ВОПРОСУ О ПАРАЗИТОЛОГИИ И ТЕРАПИИ БОЛОТНОЙ ЛИХОРАДКИ» на русском языке [15] – опубликована не позднее первой недели июня 1891г.

MEDICINISCHE WOCHENSCHRIFT

unter der Redaction von

Prof. Dr. Karl Dehio.

Dr. Johannes Krannhals.

Dorpat.

Riga.

Dr. Theodor von Schröder.

St. Petersburg.

Die «St. Petersburg Medicinische Wochenschrift» erscheint jeden Sonnabend. — Der Abonnementspreis ist in Russland 8 Rbl. für das Jahr, 4 Rbl. für das halbe Jahr incl. Postzustellung; in den anderen Ländern 20 Mark jährlich, 10 Mark halbjährlich. Der Insertionspreis für die 3 mal gespaltene Zeile in Petit ist 16 Kop. oder 35 Pfenn. — Den Autoren werden 25 Separatabzüge ihrer Originalartikel zugesandt. — Referate werden nach dem Satze von 16 Rbl. pro Bogen honorirt.

Abonnements-Aufträge sowie alle Inserate bittet man ausschliesslich an die Buchhandlung von Carl Ricker in St. Petersburg, Newsky-Prospect № 14, zu richten. — Manuscripte sowie alle auf die Redaction bezüglichen Mittheilungen bittet man an den geschäftsführenden Redacteur Dr. Theodor von Schröder in St. Petersburg, Malaja Italjanskaja № 33, Quart. 3, zu richten. Sprechstunden täglich von 2—4 Uhr Nachm., ausser Sonntags.

№ 34

St. Petersburg, 24. August (5. September)

1891

Inhalt: D. Romanowsky: Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria. — Referate: R. Jasinski (Warschau): Ueber syphilitische Erkrankungen der Wirbelsäule. — Kaposi: Ueber die Pathogenese der Pigmentirungen und Entfärbungen der Haut. — Jarisch (Innsbruck): Ueber die Anatomie und Entwicklung des Oberhauptpigmentes beim Frosche. — A. Pulawski: Zur Behandlung der Diphtherie. — Chr. Ufer: Geistesstörungen in der Schule. — Prof. M. Litten: Die Centrifuge im Dienste der klinischen Medicin. — J. Prior: Die Einwirkung der Albuminate auf die Thätigkeit der gesunden und erkrankten Niere der Menschen und Thiere. — Bücheranzeigen und Besprechungen: Schuster (Aachen): Die Syphilis, deren Wesen, Verlauf und Behandlung. — Ludw. Meyer: Die Provinzial-Irrenanstalt zu Göttingen. Zur Erinnerung an Ihre Eröffnung vor 25 Jahren. — Programm des III. Aerztetages der Gesellschaft livländischer Aerzte in Walk. — Kleinere Mittheilungen und therapeutische Notizen. — Vermischtes. — Vacanzen. — Mortalitäts-Bulletin St. Petersburgs. — Anzeigen.

Исправления и пополнения помещенного въ «КАЛЕНДАРЬ ДЛЯ ВРАЧЕЙ ВСѢХЪ ВѢДОМСТВЪ»

СПИСКА ВРАЧЕЙ.

просьба сообщить **НЕМЕДЛЕННО** книжному магазину К. А. Риккера въ С.-Петербургѣ, Невскій пр., 14.

Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria.

Von

Dr. D. Romanowsky.

Vorwort: Vorliegende Arbeit des Dr. D. Romanowsky ist zuerst im Juni d. J. als Dissertation erschienen.

Ganz abgesehen von der wissenschaftlichen Bedeutung der Arbeit möchten wir, dem Wunsche der Redaction entsprechend, die Leser dieser Wochenschrift noch besonders auf die rein praktische Seite der Sache aufmerksam machen, auch diejenigen der Collegen, die sich weniger für parasitologische Forschungen interessieren.

Es ist hier nicht der Ort, alle die Ursachen zu erörtern, die es zuwege bringen, dass das Studium der Malaria, dieser merkwürdigsten unter allen Krankheiten, bei uns so sehr vernachlässigt worden^{*)}. Steht sie doch schon darin einzig da, dass der Infektionsstoff derselben nur einen Feind hat — die Cultur; ganz im Gegensatz zu allen anderen flieht die Malaria vor der Cultur.

Russland ist eins der wenigen europäischen Länder, dessen Bevölkerung noch gegenwärtig in ausgedehntem Maasse unter dieser Krankheit zu leiden hat. In welcher Ausdehnung — das ersehe man z. B. aus den betr. Berichten der militär-mediein. Verwaltung oder beispielsweise aus dem Factum, dass im Jahre 1888 eine einzige Institution — die Verwaltung der Transkaukas. Bahn, — für 41067 Malaria Kranke zu sorgen hatte, bei einem Personal von 7000 Menschen, wobei 280 Pfund Chinin verbraucht wurden^{**)}. In Wirklichkeit zählen die jährlichen Opfer der Krankheit nach Hunderttausenden, die radicalen Genesungen aber zu den Seltenheiten; letzteres daher, weil das Gegengift, Chinin, rein empirisch, d. h. tappend, gegeben werden musste.

Die Methode von Romanowsky lehrt uns die Structurveränderungen des Parasiten kennen, die verschiedenen Entwicklungsstadien desselben bestimmen. Was aber für den Praktiker von besonderem Werth — Romanowsky weist uns den Weg, um die Vergiftungserscheinungen am Parasiten, (bei Anwendung von Chinin z. B.) zu erkennen, den richtigen Zeitpunkt, um dem Parasiten beizukommen, festzustellen.

Die Nützlichkeit der Färbemethode von Romanowsky er-

hellt am besten aus folgenden in Kürze zu erwähnenden Fällen:

I. Kräftiger Mann, 30 Jahr alt, früher stets gesund.

Nur 1874, in Kleinrussland, durch 11 Wochen hindurch an Febr. interm. gelitten. Jetzt erkrankt mit leichtem Schüttelfrost am 23. VII., aufgen. am 27. VII. Allgemein fieberhafter Zustand. Heftige Bronchitis. Keine Darmercheinungen. Geringe Druckempfindlichkeit im Magen- und Lebergegend. Unerträglicher Schmerz in den Knochen des Oberschenkels, besonders im linken. Dieser für den Kranken subjectiv das einzige Symptom; denn das Schwächegefühl ist gering, der Appetit nicht ganz geschwunden. Die 6 mal täglich gemessenen Temperaturen ergeben ein continuirliches, stark remittirendes Fieber, zwischen 38° und 40°. Sonst objectiv nichts nachweisbar. Mit Rücksicht auf die Anamnese wird ein Recidiv der Malaria, deren Latenz ja bekanntlich von unbestimmt langer Dauer ist, angenommen und Blutpräparate nach Romanowsky angefertigt.

Wir ersuchen einen Collegen, der solche Präparate nie gesehen, namentlich auch z. B. Recurrenspirillen nur aus Abbildungen kennt, einen Blick in's Mikroskop zu thun: «Spirochaeten!» Ja, und zwar in einem Bilde, das solche nach anderen Methoden angefertigte an Anschaulichkeit bedeutend übertrifft^{***)}.

Wir fügen nur noch hinzu: So wenig dieser erste Anfall in seinem klinischen Bilde an Recurrens erinnerte, so noch weniger der 2te, in welchem der Kranke im Laufe von 36 Stunden leicht fieberte, ohne selbst etwas davon zu merken; dagegen ist der heute noch nicht abgelaufene 3te Anfall sowohl typisch als auch sehr schwer.

II. Eine junge Dame von 21 Jahren, bisher stets gesund. Erkrankt am 7./VIII unter leichtem Frösteln; bald danach allgemeines schweres Unwohlsein, Kopfschmerz, grosse Schwäche, Hitzegefühl, völlige Appetitlosigkeit. Am nächstfolgenden Abend bedeutende kurzwährende Erleichterung, sonst bis heute keine Veränderung.

Status am 9./VIII. Abends. Graciler Bau, geringe Anaemie. Zunge wenig belegt, Durst, Appetitlosigkeit. Seit 30 Stunden obstipirt, Leib etwas aufgetrieben, Lebergrenze hochstehend. Milz nicht nachweisbar. Keinerlei Schmerz. Objectiv sonst nichts nachweisbar. Temper. 39,6, P. 110. Schwangerschaft im 7ten Monat. Was die letzten Tage betrifft, so findet sich betreffs des Krankheitsverlaufs ein Widerspruch: die Kranke selbst will keinerlei Schwankungen, keinerlei Erleichterung, ausser der einen, erwähnten, gespürt haben. Der Mann dagegen will,

***) Von der exquisiten Anschaulichkeit der Präparate überzeugten sich mehrere Collegen, denen wir dieselben demonstirten.

*) Wenigstens sind uns Franzosen und Italiener auf dem Wege der Erforschung der Krankheit weit vorangeeilt.

**) S. Ssacharow. Die Malaria an der Transkauk. Bahn im Jahre 1880. Mikroskopische Beobachtungen. Tiflis, 1889.

Третья публикация — работа, на которую ссылаются западные исследователи — изложение диссертации на немецком языке в еженедельнике St. Petersburg Medicinische Wochenschrift — 24 августа (5 сентября) 1891г. [28].

Четвёртая публикация [16], которая вышла уже после защиты диссертации, посвящена в основном результатам исследования воздействия хинина на малярийных плазмодиев.

Таким образом, если Малаховский опубликовал свою работу за три недели до третьей публикации [28], то к моменту выхода его статьи, Романовский уже имел степень доктора, его результаты, касающиеся методик окраски, были давно опубликованы, а его приоритет очевиден.

Значительно важнее формального приоритета, на наш взгляд, то, что именно работы Романовского дали импульс к дальнейшему исследованию препаратов крови и малярийных паразитов, совершенствованию методики и рецептур красителей, к промышленному выпуску красителей, в частности, разработанного благодаря трудам Бернгарда Нохта и Густава Гимзы. Не случайно Гимза назвал свой краситель «Giemsasche Lösung für die Romanowsky färbung» – «Раствор Гимза для окраски по Романовскому» [10,23,24].

Нужно отметить, что Международный Комитет по Стандартизации в Гематологии (ICSH), совершенно оправданно применяет термины «Эффект Романовского», «Окраска по Романовскому». Рабочая группа экспертов по красителям и методам окраски ICSH, состоящая из наиболее видных учёных, даёт следующее определение:

«Эффект окрашивания Романовского заключается в том, что синий катионный краситель азур В и красно-оранжевый анионный краситель эозин Y при взаимодействии с биологическими субстратами дают больше цветов чем только синий и красно-оранжевый. Красно-фиолетовый (Purple) – самый важный цвет, который характеризует эффект Романовского.» [25]

Исходя из этого определения, окраска по Романовскому, или, как ещё говорят, окраска типа Романовского, это группа методик, в которых проявляется одноимённый эффект. Примерно в этом смысле применяли термин «окраска по Романовскому» и современники, в частности Бернгард Нохт, Вильям Буг Лейшман, Джеймс Хомер Райт, Густав Гимза, Михаил Никифорович Никифоров и многие многие другие учёные.

Несмотря на 120 летнюю историю, окраска по Романовскому и сейчас имеет выдающееся значение для морфологической идентификации гемопоэтических и других типов клеток [25]. Продолжается осмысление механизмов эффекта Романовского, разрабатываются новые варианты способов окраски, в частности, что очень важно, наконец, делаются попытки внедрения в практику стандартизованных методик [25]. Таким образом, дело, начатое русскими учёными Чеславом Ивановичем Хенцинским и Дмитрием Леонидовичем Романовским, продолжается и приносит пользу людям. Спасибо им, спасибо также тем исследователям, имена которых уже стёрлись из памяти.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев Г.А., Засухин Д.Н. Памяти Дмитрия Леонидовича Романовского к 120-летию со дня рождения Пробл. Гематологии и переливания крови, 1981, т. 26, №3, с.59-60.
2. Дьяченко С.С. Дмитрий Леонидович Романовский (1861-1921) Врачебное дело, 1952, 4, 367-370.
3. Засухин Д.Н. У истоков отечественной протистологии. Ч.И. Хенцинский. Мед. Паразит и паразитарн. Бол., 1953, 1, 95-97.
4. Засухин Д.Н. Д.Л. Романовский (80 лет метода окраски крови и паразитов крови). Мед. Паразитология и паразит. бол. 1971, т. 40, № 6, с.729.
5. Зеленин К.Н. Родоначальник химиотерапии Д.Л. Романовский. Вестник СПбО РАЕН, 1999, 3(4): 354-361
6. Идельчик Х.И., Левит М.М. Выдающиеся работы врачей Одесской городской больницы. Сов. здравоохран., 1949, 3, 48-54.
7. Кассирский И.А. Проблемы и учёные. М., 1949.
8. Л.Ч. Доктор медицины Ч.И. Хенцинский Зубоврачебный ежемесячник, 1916, 6, 117-118.
9. Мельников-Разведенков Н.Ф. Чеслав Иванович Хенцинский и его значение для научной медицины. Юбил. Сбор. Одесской окружной больницы 1902-1927, Одесса, 1927, 148-162.
10. Никифоров М.Н. Микроскопическая техника. (8-е издание, 1919 г.)
11. Плanelьс Х.Х. Вклад русских учёных в развитие химиотерапии инфекционных заболеваний. Журн. Микробиол., эпид., и иммунобиол., 1951, 9, 69-72.
12. Плотников Н.Н. Засухин Д.Н. Из истории борьбы с малярией в СССР. М., 1953, 88 стр. (стр.27-28)..
13. Прозоровский Б.М. Терапевтические кафедры. В кн.: "75 лет Ленинградского государственного ордена Ленина института усовершенствования врачей им. СМ. Кирова (1885-1960)" (1960) МЗ РСФСР, Л., с. 52
14. Романовский Д.Л. «К ВОПРОСУ О СТРОЕНИИ ЧУЖЕЯДНЫХ МАЛЯРИИ», ВРАЧЬ, 1890 г., № 52, 1171-1173.
15. Романовский Д.Л. «К ВОПРОСУ О ПАРАЗИТОЛОГИИ И ТЕРАПИИ БОЛОТНОЙ ЛИХОРАДКИ», СПб, 1891 г. 118с.
16. Романовский Д.Л. «О СПЕЦИФИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ ХИНИНА ПРИ БОЛОТНОЙ ЛИХОРАДКЕ.» ВРАЧЬ, 1891 г., № 18, 438-440.
17. Саксонов П.П. Дмитрий Леонидович Романовский /1861-1921/ Фельдшер и акуш., 1950, 10, 41-43.
18. Фикс А.Ф. Приоритет Хенцинского в создании метода двойной окраски крови. Лабор. Дело, 1963, 4, 59-59.
19. Фридендер О. Памяти профессора Д.Л. Романовского Врачебная газета, 1922, 3-4, 112-112.
20. Хаютин Д.М. Ч. И. Хенцинский (К 40-летию со дня смерти) Арх. Патолог. 1956, 18, 2, 121-123.
21. Хенцинский Ч.И. К учению о микроорганизмах малярии. Дисс. Одесса, 1889.
22. Chenzinsky C: Zur lehre von mikroorganismus des malaria-fiebers. Zentralbl Bakteriол 83:457, 1888
23. Fleischer B. 100 years ago: Giemsa's solution for staining of plasmodia Tropical Medicine and International Health volume 9 no 7 pp 755–756 July 2004.
24. Giemsa G: Färbemethoden für malariaparasiten. Centbl Bakt 31:429, 1902.
25. ICSH reference method for staining of blood and bone marrow films by azure B and eosin Y (Romanowsky stain). *British Journal of Haematology*, 1984, 57, 707-710
26. Lillie RD: Romanowsky-Malachowski stains: The so-called Romanowsky stain: Malachowski's 1891 use of alkali polychromed methylene blue for malaria plasmodia. Stain Technol. 53:23-28, 1978.
27. Malachowski E: Zur morphologie des plasmodium malariae. Centralbl Klin Med 12: 601, 1891
28. Romanowsky, D. L. 1891. Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria. St.Petersburg Med. Wochenschr. 16: №34, 297-302; № 35, 307-316.
29. Woronzoff-Dashkoff K: The Ehrlich-Chenzinsky-Plehn-Malachowski-Romanowsky-Nocht-Jenner-May-Gruenwald-Leishman-Reuter-Wright-Giemsa-Lillie-Roe-Wilcox Stain:The mystery unfolds. Clin Lab Med 13:759, 1993.
30. Woronzoff-Dashkoff K. (2002). THE WRIGHT-GIEMSA STAIN. Secrets Revealed. *Clin Lab Med.* 22 (1): 15–23.



Чеслав Иванович Хенцинский [11]



Дмитрий Леонидович Романовский [13]