

Рис. 2. Диссертация Д. Л. Романовского «К вопросу о паразитологии и терапии болотной лихорадки» (СПб., 1891, 118 с.)

Приоритет Д. Л. Романовского в то же время продолжает оспариваться рядом авторов [9, 10]. В качестве основного аргумента против они приводят статью Э. Малаховского, напечатанную в Берлине в 1891 г. [11] за три недели до выхода статьи Д. Л. Романовского на немецком языке в 1891 г. [12].

Авторы статьи соглашаются с аргументами, изложенными в статье А. В. Безрукова «Окраска по Романовскому: к вопросу о приоритете. К 120-й годовщине открытия эффекта Романовского», что приоритет принадлежит именно Д. Л. Романовскому, поскольку первая публикация на русском языке появилась в 1890 г. [13]. Сохранение до настоящего времени эпонима «метод Романовского» являются признанием того факта, что именно с его работ начались активные поиски во всем мире совершенных методов окраски смесью метиленового синего и зозина. Следует без сомнения признать, что успехам в разработке современных методик окраски по Д. Л. Романовскому мы обязаны многим ученым и научным коллективам во многих странах мира.

Основные даты биографии Д. Л. Романовского до момента его избрания старшим ассистентом терапев-

CURRICULUM VITAE.

Лекарь Дмитрий Леонидович Романовский, С.-Петербургский мѣщанин, православнаго вѣроисповѣданія, родился въ 1861 году, въ Псковской губерніи; среднее образованіе получилъ въ 6-й С.-Петербургской гимназіи. Въ 1880 г. поступилъ въ Спб. Университетъ на естественное отдѣленіе физико-математическаго факультета, гдѣ прошелъ два курса, а въ 1882 году былъ принятъ въ число слушателей тогдашняго «приготовительнаго» курса Военно-Медицинской Академіи, которую окончилъ съ отличіемъ въ 1886 году. 30-го ноября 1886 года былъ назначенъ младшимъ ординаторомъ Ивангородскаго военнаго госпиталя, а 31-го декабря того же года переведенъ младшимъ врачомъ въ Ревельскій мѣстный лазаретъ, гдѣ состоялъ до конца сентября 1889 года, находясь въ терапевтическомъ отдѣленіи. Въ сентябрѣ 1889 года былъ прикомандированъ къ Петербургскому Николаевскому военному госпиталю, гдѣ состоялъ сначала при клиническомъ отдѣленіи проф. М. И. Афанасьева, а съ мая 1890 г. завѣдуетъ глазнымъ отдѣленіемъ госпиталя.

Экзамены на степень доктора сдалъ съ ноября 1889 г. до мая 1890 года.

Кромѣ представляемой диссертациі напечаталъ:

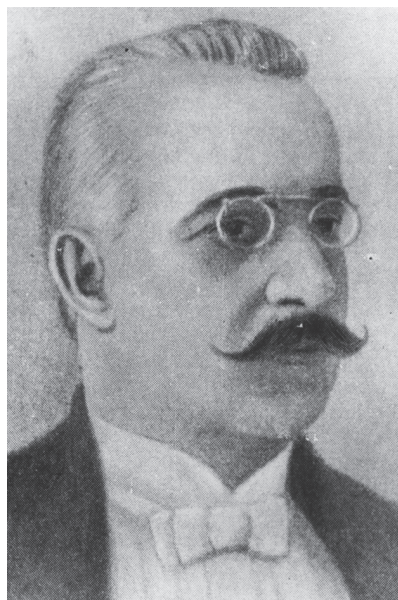
- 1) Креозотъ при гнилостныхъ процессахъ въ легкихъ. Медицинское Обозрѣніе № 10. 1889 года.
- 2) Къ вопросу о строеніи чужеродныхъ маляріи. Врачъ № 52. 1890 года.

в 1882 г. Р. Кохом метод окрашивания микобактерий туберкулеза [14] и в 1884 г. немецким бактериологом Ф. Леффлером — дифтерийных коринебактерий щелочными растворами метиленового синего [15].

Последующие успехи в разработке методов окрашивания мазков крови связывают с работами П. Эрлиха, который в 1877 г. разделил известные к тому времени анилиновые красители на так называемые «кислые» и «основные» и предложил состав «нейтрального» красителя — *neutrale farbkörper, neutral stain*, содержащий кислый краситель фуксин, окрашивавший эритроциты и гранулы эозинофилов в розовый цвет, и основной краситель — метиленовый синий, окрашивавший ядра лейкоцитов и цитоплазму лимфоцитов в синий цвет [16]. Полагают, что красящий раствор, содержащий метиленовый синий и эозин для окраски малярийных паразитов в мазках крови, первым применил в 1888 г. русский врач Ч. И. Хенцинский (С. Chenzinsky). В начале своих исследований он последовательно окрашивал мазок водным раствором метиленового синего и спиртовым раствором эозина. Позднее он стал использовать смесь равных объемов этих растворов. В результате получалась двухцветная окраска: эритроциты окрашивались в розовый цвет, малярийные плазмодии — в голубой цвет и были отчетливо видны на фоне эритроцитов. Данный состав красителя облегчал обнаружение малярийного плазмодия в мазках крови [17].

Виктор-Чеслав Иванович Хенцинский (1851—1916) в 1876 г. окончил медицинский факультет Варшавского университета. В 1879 г. занял место младшего ординатора Одесского военного госпиталя, где одновременно выполнял обязанности прозектора. В 1902 г. был избран первым приват-доцентом по кафедре патологической анатомии открытого в Новороссийском университете медицинского факультета. Предложил метод двойного окрашивания, послуживший основой нового метода обнаружения малярийного паразита в крови. В 1888 г. появилась первая работа Ч. И. Хенцинского «К учению о возбудителях малярии», явившаяся предварительным сообщением о проведенных им исследованиях возбудителя малярии. В следующем году он представил на эту тему диссертацию «К учению о микроорганизмах малярии» (Одесса, 1889), за которую был удостоен Военно-медицинской академией степени доктора медицины.

В 1891 г. врач из Силезии Э. Малаховский (E. Malachowski) изменил способ окраски мазков крови, предложенный Ч. И. Хенцинским. При подщелачивании раствора метиленового синего с помощью солей борной кислоты им был получен краситель, позволяющий при окраске мазков крови получать большую гамму цветов и глубину окраски по сравнению с ранее предложенными методами. Малярийные плазмодии при этом содер-



Дмитрий Леонидович
Романовский (1861–1921)

жали красные хроматиновые тельца, ядра лейкоцитов окрашивались в темно-фиолетовый цвет. Результаты своих исследований он опубликовал в 1891 г., не приводя, однако, деталей метода окраски, необходимых для его воспроизведения [11].

Квинтэссенцией работ Д. Л. Романовского, прославивших имя автора, следует считать предложение принципиально нового подхода так называемой «паноптической» окраски клеток крови и «кровепаразитов». Он был аргументирован автором следующим образом: «Я не мог пользоваться способом Эрлиха (на сухих препаратах крови), при котором чужеродные почти не красятся и был вынужден искать иного способа, который окрашивал бы и ядра белых шариков, и чужеродных, и предполагаемое в них ядро». Разработка метода началась с обнаружения Д. Л. Романовским того, что в смеси метиленовой синьки и эозина ядра лейкоцитов были фиолетовыми, а ядра плазмодий — ярко-красными. Эти цвета не могли быть получены ни одним из методов, в котором два красителя использовали отдельно [12]. Д. Л. Романовский отметил, что желаемые цвета могли быть получены только тогда, когда рабочий раствор метиленового синего готовили из запасного раствора, хранившегося достаточно долго со следами плесени на поверхности. Причины улучшения красящих свойств «созревшего» раствора метиленового синего были изучены Р. Унна, установившего, что процесс «старения» красителя ускоряется при повышении температуры и щелочности раствора [18].

До Д. Л. Романовского никому не удавалось так ярко и четко увидеть малярийных плазмодиев, ядра которых окрашивались в ярко-красный цвет. Еще до выпуска

ОБЗОРЫ

промышленных серий красителя метод окраски препаратов, предложенный Д. Л. Романовским, стали широко использовать русские исследователи при диагностике малярии — А. М. Королько (1892), Н. А. Сахаров (1893), Э. Готье (1896). Поскольку Д. Л. Романовский был практикующим клиницистом-терапевтом, он не имел возможности заниматься изучением механизмов обнаруженного им феномена или пытаться объяснить чрезвычайную эффективность предложенного им красителя.

На основе подхода Д. Л. Романовского был предложен ряд методов окраски, однако все они, как правило, не обеспечивали получения воспроизводимых результатов. В последующем, все красители, предназначенные для окраски мазков крови, в той или иной мере повторяли состав, предложенный Д. Л. Романовским [19].

В результате окрашивания данным методом мазка крови эритроциты окрашиваются в розовые—розово-фиолетовые тона, ядра лейкоцитов, лимфоцитов и моноцитов, а также азурофильная зернистость — в различные оттенки красно-фиолетового цвета, ядра кровепаразитов становятся пурпурно-красными. Цитоплазма лимфоцитов и моноцитов окрашивается в голубые—серо-голубые тона разных оттенков. Так называемая нейтрофильная зернистость приобретает красновато-фиолетовые оттенки, эозинофильная — от желтовато- до медно-розовых, базофильная имеет фиолетово-синеватые оттенки. В более кислой среде (pH около 5,6—5,8) эозиновые оттенки получаются более яркими, в более щелочной (pH около 7,0) усиливаются голубые и фиолетовые тона [20].

Немецкий врач, директор Института тропических болезней Б. Нохт предложил состав красителя, который обеспечивал более воспроизводимую по гамме цветов окраску мазков крови по методу Романовского. Он предположил, что эффект Романовского может быть связан с тем, что в длительно хранящихся, а также щелочных растворах метиленового синего образуется новое вещество «красный из метиленового синего» (*rot aus methylenblau*), которое придает этим растворам красноватый оттенок. Его присутствие в красителе способствует окрашиванию ядер клеток в красноватые тона [21]. Данное соединение в качестве химического реактива задолго до этого было получено, выделено и названо азуром [22].

В состав красителя Б. Нохт включил эозин, метиленовый синий и один из продуктов его окисления. Во всех последующих версиях красителя практически все авторы для его приготовления использовали различные продукты окисления метиленового синего. Их окрашивающая способность в значительной мере зависела от способа окисления метиленового синего или от соотношения между метиленовым синим и продуктами его окисления. Значительную роль в

успехе красителя сыграли коллеги Б. Нохта, в частности известный химик Г. Гимза, предложившие разные способы окисления метиленового синего.

Густав Гимза (Gustav Giemsa, 1867—1948), химик, известный работами в области красителей и химиотерапевтических препаратов (хинина и др.). Заведовал химическим отделом в Гамбургском институте тропических заболеваний. В лабораторных кругах известен, главным образом, благодаря предложенной им модификации метода Романовского для окрашивания мазков крови и малярийного плазмодия.

В 1902 г. Г. Гимза получил новое соединение — тиазин (thiazin), который, по его мнению, как краситель был лучше, чем апробированные ранее другие производные метиленового синего [23]. Этот краситель Г. Гимза назвал *methylene azure* — «метиленовый голубой» и тщательно хранил в тайне метод его получения. На рынок он поступил в виде красителя — *Azur-Eosinfärbung für die Romanowsky-Färbung n. Giemsa*.

Г. Гимза в течение ряда лет трудился над улучшением состава красителя для обеспечения характерной цветовой гаммы. Последняя версия представляла собой водный раствор, содержащий значительный избыток азур I по сравнению с эозином Y. Азур I был представлен смесью метиленового синего и азур I [24]. Азур I, использовавшийся в то время в качестве красителя, в настоящее время называют азур В.

Современные версии красителя Гимзы готовят смешиванием азур В с метиленовым синим. Краситель поставляют в виде порошка, который растворяют в смеси 50:50 метанола и глицерина, получая концентрированный раствор, пригодный для хранения. Перед окрашиванием мазков крови раствор разводят водой с pH 6,5—7,0 для фиксированных метанолом мазков крови и более низким pH для тканевых срезов, фиксированных формальдегидом [25].

Данный краситель хорошо зарекомендовал себя в научной и практической деятельности. В период Первой мировой войны в связи с трудностями получения немецких красителей, в США вернулись к способу окрашивания мазков крови, предложенному известным американским патологом Дж. Райтом (J. Wright) в 1902 г. Несмотря на то, что предложенный им способ окраски представлял собой модификацию метода Г. Гимзы, имя Дж. Райта (иногда в сочетании с именем Г. Гимзы) стало синонимом современной версии красителя [26]. На сегодняшний день краситель Дж. Райта готовят из основного красителя — метиленового синего, продуктов его окисления и кислого компонента эозина в соотношении 2:1. На метиленовый синий приходится около 75 % основного красителя, на его производные (преимущественно, азур В) — около 25 %.

В США краситель Дж. Райта используют чаще всего для окраски мазков крови. Его состав и способность окрашивать определенные клеточные компоненты различаются у производителей, и от партии к партии даже у одного производителя. Некоторые авторы рекомендуют пользоваться красителем Дж. Райта от двух поставщиков, что лучше всего гарантирует требуемое окрашивание всех клеток.

Окраска мазков крови по Дж. Райту включает два этапа — фиксацию и окрашивание. На первом этапе высушенный на воздухе мазок крови покрывают раствором Райта—Гимзы, окрашивающий раствор растворяют в метаноле. Метанол способствует связыванию клеточных белков со стеклом, препятствуя отмыванию клеток на последующих этапах окраски, и сохраняет структуру клеток. На этом этапе красители еще не ионизированы. На втором этапе окрашивания на поверхность стекла с мазком крови наносят буферный раствор. При требуемом для окрашивания значении pH происходят ионизация молекул красителя и окрашивание. В связи с тем, что соотношение между производными метиленового синего не является постоянной величиной для каждой новой партии красителя, следует установить время фиксации и окраски мазка крови [10].

При гематологических исследованиях тканевых объектов необходимо, прежде всего, соблюдать правила фиксации. Наиболее оптимальным фиксатором является жидкость Ценкера или фиксирующая смесь Хелли, в которую вместо ледяной уксусной кислоты непосредственно перед употреблением к смеси Ценкера добавляют формалин. Для окраски гистологических срезов также пригодны методы, употребляющиеся для окраски мазков с метиленовым синим и азур-эозином (краска Романовского—Гимзы). Для получения безупречных результатов при указанных выше окрасках, особенно при окраске гистологических срезов азуром, непременным условием является педантично чистая работа. Все применяемые стеклянные инструменты должны быть вычищены и свободны от следов кислоты и оснований [27].

Красители, необходимые для создания эффекта Романовского—Гимзы

Эффект Романовского представляет собой физико-химический и гистохимический феномен, теоретические и диагностические аспекты которого длительное время обсуждались в литературе, начиная с работ Б. Нохта. Структура комплекса, теоретические представления о характере взаимодействия азур-эозиновой смеси Гимзы—Романовского и, особенно, причины характерного пурпурно-красного окрашивания ядер простейших (так называемый «эффект Романовского») окончательно не выяснены.

Р. Унна в 1922 г. полагал, что эозин «протравляет» ядра и служит, таким образом, связующим звеном

между их кристалликами и азуром [18]. Г. Гимза считал, что роль протравливающего соединения играет азур, который подготавливает ядра к последующему их докрашиванию эозином [28]. В конце 50-х г. XIX столетия полагали, что для развития характерной фиолетовой окраски при окраске по Романовскому—Гимзе ни одно из соединений, образующихся в растворе метиленового синего при окислительном деметилировании, не обладает существенными преимуществами по сравнению с другими для создания эффекта Романовского. Позднее под красителем Романовского стали подразумевать состав, включающий метиленовый синий, продукты его окисления и производные флюоресцеина, как правило эозин В или Y [29].

В 1970-е гг. составы красителей, используемых для окраски мазков крови, стали анализировать с помощью разных физико-химических методов [30].

В этих работах было показано, что окраска ядра и цитоплазмы в цвета, отвечающие за «эффект Романовского—Гимзы», могла быть получена с растворами, содержащими только азур В и эозин Y. Чистый азур В, полученный с помощью химического синтеза, а не из растворов метиленового синего, в настоящее время доступен в виде различных солей. Его используют в так называемом «стандартизованном» методе Романовского—Гимзы, в котором основной метанольный раствор эозината разводят водным буферным раствором для приготовления рабочего раствора [31].

Все современные красители типа Романовского (Romanowsky type) содержат разные продукты окисления метиленового синего и краситель эозина. Метиленовый синий является представителем большого семейства тиазиновых красителей, в которое входят метилфиолетовый, азур А, азур В, азур С и тионин (рис. 3).

Международный комитет по стандартизации в гематологии (ICSH) рекомендует использовать термины «эффект Романовского», «окраска по Романовскому». Рабочая группа экспертов по красителям и методам окраски ICSH, состоящая из ведущих специалистов-гематологов, пришла к следующему определению: «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» [32].

Оба представителя семейства эозинов — эозин Y и эозин В — являются более кислыми и лучше окрашивают соответствующие субстраты в красный цвет, чем другие эозины (рис. 4). Полагают, что из двух перечисленных красителей эозин Y работает лучше, чем эозин В. Состав эозинов не является столь ответственным фактором по сравнению с составом продуктов окисления метиленового синего [33].

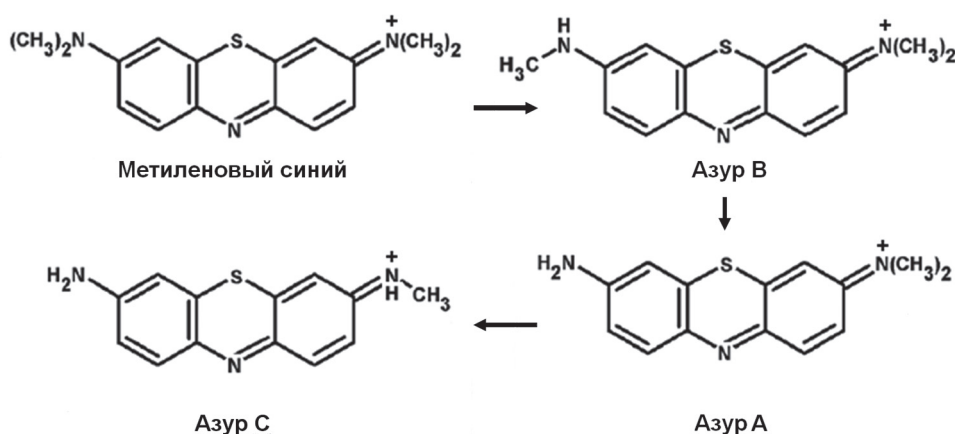


Рис. 3. Производные метиленового синего, входящие в состав красителя Романовского–Гимзы [31]

Механизмы окрашивания

Эффект Романовского наблюдают при окраске мазков крови двухкомпонентными красителями, содержащими азур В (основной продукт окисления метиленового синего) и эозин. В ходе окрашивания эозин связывается со структурами, имеющими основной характер, — гемоглобин и ацидофильные гранулы эозинофилов. Азур В связывается со структурами, имеющими кислый характер, — хроматином, гранулами нейтрофилов, тромбоцитами и цитоплазмой, содержащей рибосомы. На следующем этапе эозин и азур В образуют молекулярный комплекс, который, скорее всего, отвечает за эффект Романовского [33].

Изучение механизмов взаимодействия ДНК с азуром В показало, что в растворе катионы красителя присутствуют в виде димеров, в которых две плоские кольцевые системы молекулы красителя скрепляются ван-дер-ваальсовыми силами [34].

Димеры присоединяются к отрицательно заряженным фосфатным группам ДНК путем гидрофобных взаимодействий с пуриновыми и пиримидиновыми кольцами оснований, входящих в ее молекулу. Присоединение анионов эозина к положительно заряженным димерам азура В меняет цвет окраски ДНК с синего до фиолетового [35].

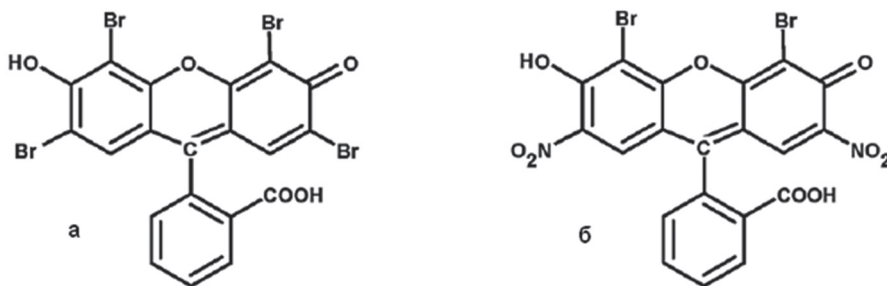


Рис. 4. Структурные формулы эозина Y (а) и эозина В (б) [31]

Эозин присоединяется к белкам с избытком протонированных аминокислот и гуанидиновым группам (главным образом, боковых цепей лизина и аргинина), к ионизированным карбоксильным группам (главным образом, глутаминовой и аспарагиновой кислот); эти белки — гемоглобин в эритроцитах и основной белок в гранулах ацидофильных гранулоцитов [36]. Красная окраска ядер малярийных паразитов может быть

результатом присутствия основных белков (гистонов) в молекуле ДНК в ядрах простейших [37] и некоторых беспозвоночных [38].

Метиленовый синий является относительно слабым красителем и ему отводят небольшой вклад в окрашивании ядрышек, гранул нейтрофилов, цитоплазмы моноцитов. Полагают, что он способен стабилизировать другие красители, но сам не вносит вклад в ярко-красновато-фиолетовую окраску ядер лейкоцитов или красную окраску хроматиновых телец малярийных плазмодий.

Успеху при окрашивании мазков крови способствуют многие другие факторы: толщина мазка, угол наклона стекла (увеличение угла способствует более толстому мазку, уменьшение угла создает более тонкий мазок). Имеет значение равномерность распределения клеток на всей поверхности стекла и т. д. [39].

Поскольку очищенные препараты азура более дороги по сравнению с неочищенными образцами, считают необходимым предъявлять жесткие требования к красителям, используемым для окраски мазков крови и приготовленных из полихромного метиленового синего и неочищенного азура А и В. Химический состав и красящие свойства этих традиционных смесей

могут отличаться у различных производителей и даже в разных партиях одного производителя. В США образцы партий метиленового синего, азура А, В и С и сухие смеси для приготовления красителей Райта, Гимзы подвергаются контролю со стороны Комитета по биологическим красителям (BSC). Он оценивает

содержание компонентов с помощью спектрофотометрии, тонкослойной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии. После этого их применяют в стандартизированных методах окраски [40].

Деятельность Д. Л. Романовского в Клиническом институте Великой княгини Елены Павловны

В 1897 г. Д. Л. Романовский был избран старшим ассистентом терапевтического отделения Клинического института. Он прекрасно сочетал в себе качества ученого, педагога, врача. Одно из помещений амбулаторного корпуса Института было приспособлено Д. Л. Романовским под лабораторию, большинство приборов для которой было закуплено им на личные сбережения. В 1902 г. Д. Л. Романовский получил звание доцента, а в 1906 г. — профессора терапевтической клиники Института. С 1902 по 1909 г. он вел приемы больных, читал курсы по врачебной технике и клинической микроскопии. Д. Л. Романовский был терапевтом широкого профиля, постоянно занимался научной и педагогической работой. В течение 15 лет он состоял профессором поликлиники Института Великой княгини Елены Павловны, преподавал слушателям диагностику внутренних болезней, гематологию и бактериологию.

Консультант, почетный профессор, заведующий поликлиникой по внутренним болезням Д. Л. Романовский за заслуги перед Отечеством был награжден орденами Св. Владимира IV степени, Св. Анны II и III степени, Св. Станислава II и III степени и медалью в память царствования императора Александра III. Умер Д. Л. Романовский в Кисловодске от «грудной жабы» 19 февраля 1921 г. Таким образом, на 2011 год приходится другая дата — 90-летие со дня смерти Д. Л. Романовского.

Преподавание методов лабораторной диагностики в Институте проводилось в виде отдельных курсов на кафедре терапии и для слушателей на воскресных циклах. Профессор М. И. Афанасьев читал курс «Практические занятия по клинической микроскопии и бактериологии», профессор Д. Л. Романовский — «Практические занятия по клинической микроскопии и паразитологии». С 1902 г. руководство клинической лабораторией и проведение занятий с врачами по лабораторной диагностике осуществлял доцент А. М. Королько. Им было написано руководство «Практические занятия по клинической химии». При кафедре терапии, руководимой профессором К. Р. Георгиевским, доцент А. С. Зайцева читала самостоятельный курс «Клинические исследования крови».

В 1952 г. на кафедру биохимии (в настоящее время — кафедра клинической лабораторной диагностики) с кафедры терапии был передан доцентский курс по клинической лабораторной диагностике, руководимый доцентом Анной Ивановной Бекенской — ученицей

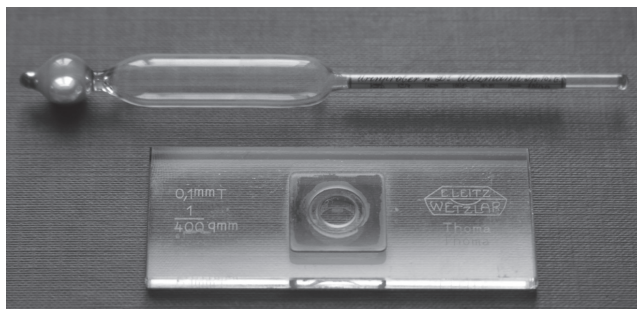


Рис. 5. Урометр и камера для подсчета форменных элементов крови, принадлежавшие Д. Л. Романовскому

Д. Л. Романовского. В 1976 г. данный отдел возглавила ученица Анны Ивановны Бекенской Ирина Михайловна Хлебникова. К 75-летию юбилею кафедры она сделала ценный подарок — урометр и камеру для подсчета форменных элементов крови, которыми пользовался Д. Л. Романовский (рис. 5). Урометр и камеру Д. Л. Романовский передал своей ученице А. И. Бекенской, она, в свою очередь, своему ученику Виктору Семеновичу Горшкову, а Виктор Семенович — Ирине Михайловне Хлебниковой.

Роль Д. Л. Романовского в развитии паразитологии была достойно оценена исследователями всего мира. Метод Романовского и до настоящего времени широко применяют для диагностики не только малярии, но и других паразитарных заболеваний человека и животных — трипаносомозов, лейшманиозов, спирохетозов и др. На II Международном конгрессе паразитологов, который проходил в Риме в 1964 г., президент конгресса профессор Э. Биокка в своей вступительной речи сказал: «На примере действия хинина при малярии Д. Л. Романовский обосновал двойственное действие химиотерапевтических средств (этиотропный и органотропный эффекты)». Нельзя не вспомнить, что П. Эрлих, использовавший позднее идеи Д. Л. Романовского, не придавал значе-

Памяти проф. Д. Л. Романовского.

19 февраля в 1-ю годовщину смерти проф. Д. Л. Романовского была отслужена по нем панихида. Покойный принадлежал к тем русским людям, достоинства и заслуги которых начинают ценить только после их смерти. Д. Л., как бактериолог, получил крупное имя в европейской медицинской науке своей замечательной работой по малярии и предложенной им окраской, благодаря лишь которой, как это подтвердил ему в частом письме проф. Кох, впоследствии была открыта *spirocheta pallidum*, и которая значительно облегчает исследование крови. Придавая громадное значение внутренней секреции, он с чутким талантом врача-наблюдателя предугадывал ее нарушения во многих случаях заболеваний и, направив в эту сторону лечение, многим в буквальном смысле этого слова удлинил жизнь и спас от уродств (*thyroidin* при *alopexia* и проч.). За работой в лаборатории скажет он, бывало, слово, но в этом слове было целое открытие, большая научная мысль. Он создал стройное учение об птозах, но по своей чистой русской халатности не опубликовал его. Этой особой научной дисциплине в прошлом году в течение двух дней было посвящено несколько десятков докладов в Военно-Медиц. Академии. Добрейшей души человек, он делал добро бедным больным и обращавшимся к нему за помощью многим врачам-товарищам без рекламы, без самофинансирования. Для него не было ни эльзина, ни иудей — он ко всем относился одинаково по-человечески, дружелюбно. Все предельно без устали работая, он по пятницам принимал у себя своих друзей, и всякий, хоть раз побывавший на этих пятницах, никогда не забудет этой широкой русской гостеприимнейшей души. Он умер в Кисловодске от грудной жабы, но в памяти близких знавших его людей он будет долго-долго жить. Пусть же ему будет легка земля.

О. Фридляндер.

ния макроорганизму и внешним условиям в течении заболевания.

И. А. Кассирский отмечал: «С работы Д. Л. Романовского началась новая, самая плодотворная эра гематологии. Благодаря дифференцированной окраске была решена основная проблема гематологии — установлена единая система кроветворения, без которой понимание сложного морфогенеза крови, а в его аспектах — заболеваний кроветворных органов было бы невозможно. С открытием Д. Л. Романовского перед морфологической гематологией открылись широчайшие перспективы. Если до этого кровь изучали в неокрашенных препаратах и заключение о развитии кровяных элементов делали по гистологическим срезам кроветворных органов (в теоретической гематологии доминировало

гистоморфологическое направление), то с открытием Д. Л. Романовского представилась возможность заново пересмотреть теорию кроветворения и клинические формы болезней системы крови. Основанные на "эффекте Романовского" последующие методы окраски препаратов позволили привести новые данные в дифференциальную диагностику гемобластозов».

Современные паноптические окраски клеток крови и тканей широко применяют также в общей цитологии, гистологии, иммунологии и др. Великий ученый, опытный врач, педагог, новатор и искатель, обогативший мировую врачебную практику методическим приемом непреходящего значения, профессор Д. Л. Романовский навсегда останется в истории отечественной медицины.

Литература

1. Romanowsky D. Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria // St. Petersburg Med. Wochenschrift. 1891. № 34. P. 297–302 (№ 35. S. 307–315).
2. Horobin R.W. How Romanowsky stains work and why they remain valuable — including a proposed universal Romanowsky staining mechanism and a rational troubleshooting scheme // Biotechn. Histochem. 2011. Vol. 86. P. 36–51.
3. Leishman W.B. The application of Romanowsky stain in malaria // Brit. Med. J. 1901. Vol. 1. P. 635–637.
4. Wright J. A rapid method for the differential staining of blood films and malarial parasites // J. Med. Res. (Boston). 1902. Vol. 7. P. 138–144.
5. Fleischer B. Editorial: 100 years ago: Giemsa's solution for staining of plasmodia // Trop. Med. Int. Hlth. 2004. Vol. 9. P. 755–756.
6. May R., Grunwald L. Ueber Blutfarbungen // Zentralbl. Inn. Med. 1902. Bd. 23. S. 265–270.
7. Алексеев Г.А., Засухин Д.Н. Памяти Дмитрия Леонидовича Романовского: к 120-летию со дня рождения // Пробл. гематол. 1981. Т. 26. № 3. С. 59–60.
8. Дьяченко С.С. Дмитрий Леонидович Романовский (1861–1921) // Врач. дело. 1952. № 4. С. 367–370.
9. Woronzoff-Dashkoff K. The Ehrlich-Chenzinsky-Plehn-Malachowski-Romanowsky-Nocht-Jenner-May-Grunwald-Leishman-Reuter-Wright-Giemsa-Lillie-Roe-Wilcox-Stain: The mystery unfolds // Clin. Lab. Med. 1993. Vol. 13. P. 759.
10. Woronzoff-Dashkoff K.K. The Wright-Giemsa stain. Secrets Revealed // Clin. Lab. Med. 2002. Vol. 22. P. 15–23.
11. Malachowski E. Zur morphologie des plasmodium malariae // Centralbl. Klin. Med. 1891. Bd. 12. S. 601.
12. Романовский Д.Л. К вопросу о строении чужеродных малярий // ВРАЧЪ. 1890 г. № 52. С. 1171–1173.
13. Bernthsen A. Heinrich Caro // Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. 1912. Jg. 45. S. 1987–2042.
14. Koch R. Der Aetiologie der Tuberkulose // Berliner. Klin. Wochenschr. 1882. Bd. 19. S. 221–230.
15. Loeffler F. Die Klebschen Staebchen. Mittel Kaiserl. Gesundheitsamt 1884; 421 // En: Breed RS, editor. Bergey's manual of determinative bacteriology. Seventh edition. Baltimore: Williams & Wilkins, 1957.
16. Ehrlich P. Uber die spezifischen granulationen des blutes // Arch. Anat. Physiol. 1879. Bd. 57. S. 23.
17. Chenzinsky C. Zur lehre von mikroorganismus des malaria-fiebers // Zentralbl. Bakteriol. 1888. Bd. 83. S. 457–460.
18. Unna P.G. Uber die Reifung unserer Farbstoffen // Z. Wiss. Mikrosk. 1891. Bd. 8. S. 475–487.
19. Barcia J.J. The Giemsa stain: its history and applications // Int. J. Surg. Path. 2007. Vol. 15. P. 292–296.
20. Lyon H.O., Horobin R. W. Standardization and standards for dyes and stains used in biology and medicine // Biotech. Histochem. 2007. Vol. 82. P. 1–11.
21. Nocht B. Zur farbung der malariaparasiten // Zentralbl. Bakteriol. 1898. Bd. 24. S. 839.
22. Bernthsen A. Studien in der Methylenblaugruppe // Liebig's. Ann. Chem. 1885. Bd. 230. S. 73–211.
23. Giemsa G. Farbetmetboden fur malariaparasiten // Zentralbl. Bakteriol. 1902. Bd. 31. S. 429–430.
24. Giemsa G. Eine vereinfachung und vervollkommung meiner metbyleneazur-metbylenblau-eosin-farbetmetbode zur crzielung der Romanowsky-Nochtscben cbromatinfarbung // Zentralbl. Bakteriol. 1904. Bd. 37. S. 308–311.
25. Clark G., Kasten F.H. History of Staining. 3rd ed. London: England: Williams & Wilkins, 1983.
26. Special Hematology Laboratory Procedure Manual, Procedure 2.2: Wright Stain-Smears. Minneapolis, MN, Fairview-University Medical Center, 1987.
27. Kucelu D. Практическая микротехника и гистохимия (пер. с венгер.). Будапешт: Изд. АН Венгрии, 1962.
28. Wittekind D., Kretschmer V., Sohmer I. Azure B-eosin Y stain as the standard Romanowsky-Giemsa-stain // Brit. J. Haemat. 1982. Vol. 51. P. 391–393.
29. Wittekind D.H. On the nature of Romanowsky-Giemsa staining and its significance for cytochemistry and histochemistry: an overall view // Histochem. J. 1983. Vol. 15. P. 1029–1047.
30. Marshall P.N., Lewis S.M. A rapid thin-layer chromatographic system for Romanowsky blood stains // Stain Technol. 1974. Vol. 49. P. 235–240.
31. Фрайштадт Д. М. Реактивы и препараты для микроскопии. Справочник. — М.: Химия, 1980. С. 80.
32. ICSH reference method for staining of blood and bone marrow films by azure B and eosin Y (Romanowsky stain) // Brit. J. Haemat. 1984. Vol. 57. P. 707–710.
33. Marshall P.N. Romanowsky staining: state of the art and «ideal» techniques. In: Koopke J.A., ed. Differential Leukocyte Counting. Skokie, IL American College of Pathologists, 1979. P. 205–216.
34. Muller-Walz R., Zimmermann H.W. Uber Romanowsky-Farbstoffe und den Romanowsky-Giemsa-Effekt. 4. Mitteilung: Bindung von A zur B an DNA // Histochemistry. 1987. Vol. 87. P. 157–172.
35. Friedrich K., Seiffert W., Zimmermann H.W. Romanowsky dyes and Romanowsky-Giemsa effect. 5. Structural investigations of the purple DNA-AB-EY dye complexes of Romanowsky-Giemsa staining // Histochemistry. 1990. Vol. 93. P. 247–256.
36. Gill J., Yogavel M., Kumar A. et al. Crystal structure of malaria parasite nucleosome assembly protein. Distinct modes of protein localization and histone recognition // J. Biol. Chem. 2009. Vol. 284. P. 10076–10087.
37. Weller P.F., Ackerman S.J., Smith J.A. Eosinophil granule cationic proteins: major basic protein is distinct from the smaller subunit of eosinophil peroxidase // J. Leukocyte. Biol. 1988. Vol. 43. P. 1–4.
38. Khanna D.R., Yadav P.R. Biology of Protozoa. New Delhi: Discovery Publishing House, 2004. P. 21–85.
39. Луговская С.А., Морозова В.Т., Почтарь М.Е., Долгов В.В. Лабораторная гематология. М.: Изд-во ЮНИМЕД-пресс, 2002.
40. Penney D.P., Powers J.M., Frank M., Churukian C. Analysis and testing of biological stains — the Biological Stain Commission procedures // Biotech. Histochem. 2002. Vol. 77(5–6). P. 237–275.