

Къ технику метода Golgi.

Изъ гистологическаго кабинета профессора Н. К. Кульчичкаго.

Д-ра В. Павлова.

Значеніе красящихъ веществъ, употребляемыхъ въ гистологической технику, въ высшей степени велико; благодаря имъ, удалось сравнительно за короткое время выяснитъ тончайшее строеніе нѣкоторыхъ органовъ вполне, а нѣкоторыхъ въ частности.

Особенно важную роль играютъ красящія вещества, при изученіи строенія сложныхъ по своему составу органовъ, какъ напримѣръ: центральной нервной системы. Только съ помощью ихъ сдѣлалось возможнымъ выясненіе въ высшей степени запутаннаго хода волоконъ бѣлаго вещества, мѣстоположенія и расположенія клѣточныхъ элементовъ въ сѣромъ веществѣ.

Желаніе получить возможно болѣе полную дифференцировку элементовъ, входящихъ въ составъ органовъ, ввело въ гистологическую технику громадное количество красящихъ веществъ, особенно изъ ряда анилиновыхъ красокъ. Можно безъ преувеличенія сказать, что чуть не каждую недѣлю предлагается какая-нибудь новая краска, или модификація старыхъ.

Но такъ какъ каждое красящее вещество употребляется не только само по себѣ: въ водномъ или спиртовомъ растворахъ, но предлагается еще масса другихъ его сочетаній съ кислотами и щелочами (одинъ карминъ съ 1849 года по 1872 годъ употреблялся въ 33-хъ видахъ) и кромѣ того въ сочетаніи съ другими красящими веществами, то недалеко то время, когда количество всѣхъ красящихъ веществъ, употребляемыхъ въ гистологической технику, достигнетъ колоссальной цифры.

Такой наплывъ представляетъ массу неудобствъ не только для начинающаго, но даже и для спеціалиста; тѣмъ болѣе, что половину

красокъ можно выбросить съ спокойной совѣстью и безъ малѣйшаго ущерба. Но это можетъ сдѣлать тотъ, кто уже перепробовалъ достоинство предлагаемыхъ красокъ, а для начинающаго это весьма неудобно, въ особенности, если онъ предварительно прочтетъ предложеніе автора, обыкновенно расписывающаго свой методъ въ яркихъ краскахъ.

Для примѣра приведу предложеніе Weigert'a: окрашивать осевые цилиндры фуксиномъ ¹⁾; методъ самъ по себѣ хотя и не сложный, но громоздкой (нужно имѣть 5 чашечекъ....); расписанъ этотъ методъ такъ хорошо, что лучше нельзя и ожидать, и ужъ заранѣе предвкушаешь удовольствіе получить препаратъ, въ которомъ окрашены одни осевые цилиндры. Дѣлаешь все, что предписано съ величайшей точностью, и въ результатъ получается препаратъ съ окрашеною микотью. Такихъ примѣровъ много.

Все это зависитъ, по моему мнѣнію, отъ поспѣшности дѣлаемыхъ сообщеній.

Другое неудобство, часто встрѣчающееся въ гистологической техники, это неточность описанія даннаго метода, зависящая иногда отъ желанія автора сохранить свой методъ до поры до времени въ тайнѣ, а иногда и отъ того, что самъ авторъ не выяснилъ себѣ всѣхъ случайностей, могущихъ встрѣтиться при примѣненіи его метода.

Вслѣдствіе этого въ результатъ получается рядъ методовъ окраски, не представляющихъ изъ себя ничего особеннаго, отличающихся отъ уже ранѣе предложенныхъ только цвѣтомъ, а то еще менѣе—оттѣнкомъ.

Поэтому я, по предложенію профессора Н. К. Кульчицкаго, занялся проверкой и критической оцѣнкой нѣкоторыхъ самыхъ употребительныхъ методовъ окраски, примѣняемыхъ преимущественно къ центральной нервной системѣ.

Занялся я съ чисто практической цѣлью: какимъ образомъ можно получить хорошій препаратъ?

Въ гистологическомъ отношеніи въ нервной ткани слѣдуетъ отличать нервные элементы и не нервные; къ первымъ относятся нервныя клѣтки съ ихъ отростками и нервныя волокна, а ко вторымъ невроглія, кровеносные сосуды и другіе питающіе нервную ткань пути. Какъ нервныя клѣтки, такъ и волокна тоже имѣютъ довольно сложное строеніе. И велика безъ сомнѣнія будетъ заслуга того, кто предложитъ такой методъ окраски, при которомъ сразу можно будетъ получить полную дифференцировку всѣхъ составныхъ частей центральной нервной системы.

¹⁾ Über eine neue Untersuchungsmethode des Centralnervensystems (Centralbl.) d. Wiss. Bd. XX. 1892. № 42. und 43; p. 753, 772.

Для изслѣдованія мѣстоположенія и расположенія нервныхъ клѣтокъ предлагается много различныхъ методовъ, но безспорно первое мѣсто слѣдуетъ отдать методу Golgi, такъ какъ ни при какомъ другомъ не получается столь отчетливыхъ и контрастныхъ картинъ, какъ при примѣненіи послѣдняго, и кромѣ того, что самое главное, благодаря этому методу сразу измѣнился взглядъ какъ на строеніе нервныхъ элементовъ, такъ и на ихъ взаимную связь. Серебро давно уже употреблялось въ гистологической техникѣ. Такъ Krause ¹⁾ говоритъ, что еще его отецъ въ 1844 году примѣнялъ его при изслѣдованіи эпидермиса и получалъ хорошіе результаты, т. е. очертанія клѣтокъ дѣлались очень ясными, благодаря отложенію серебра въ промежуточномъ веществѣ. Позднѣе, въ 1854 году, Flinzer ²⁾ примѣнялъ серебро при изученіи строенія роговицы.

Затѣмъ, начиная съ 1856 года, появился цѣлый рядъ сообщеній о примѣненіи серебра His'омъ, Recklinghausen'омъ Adler'омъ и др. ³⁾.

Всѣ они примѣняли серебро при изслѣдованіи то эпителиевъ, то лимфатическихъ путей, то роговицы.

Golgi ⁴⁾ первый въ 1873 году рекомендовалъ *argentum nitricum* при изслѣдованіи центральной нервной системы. Онъ поступалъ такъ.

Предварительно уплотненный въ *kali bichromicum* объектъ (небольшой кусокъ) клалъ на продолжительное время въ $\frac{1}{2}$ —1% водный растворъ *argentum nitricum* и нервные элементы получилъ черными. За нимъ Torquato Beisso ⁵⁾ въ томъ-же году измѣнилъ нѣсколько методовъ. Онъ клалъ кусокъ мозга въ абсолютный алкоголь, а потомъ переносилъ его въ алкогольный-же растворъ серебра на 1—2 минуты. Въ 1880 году Golgi ⁶⁾ предложилъ комбинацію *argentum nitricum* съ *kali bichromicum* и *acidum osmicum*.

Онъ поступалъ слѣдующимъ образомъ: свѣжій нервъ, только что убитого животнаго, онъ клалъ въ смѣсь изъ 10 частей *kali bichromicum* (2% растворъ) и 1 части 1% *acidum osmicum*; черезъ часъ онъ разрѣ-

¹⁾ Handbuch der menschlichen Anatomie. 3 Aufl. 1876 г. Bd. 1, p. 104.

²⁾ De argenti nitrici usu et effectu praesertim. in oculorum morbis Sanandis. Diss. 1854 года bei Coccius gearbeitet.

³⁾ См. Gierke: Färberei zu mikroskopischen Zwecken. Zeitschrift für Mikroskopie. 1884 г. Bd. 1 p. 392 и 509.

⁴⁾ Sulla struttura della sostanza grigia del cervello. Comunicazione preventiva (Gazz. med. Ital. Sonob. ser. 4. t. VI).

⁵⁾ Del midollo spinale. Genoua 1873 г. p. 4 f.

⁶⁾ Sulla struttura delle fibre nervose midollate periferiche e centrali. Arch. per le Sc. med. 1880 г. vol. IV p. 221.

зываютъ положенные куски на меньшіе отъ $\frac{1}{2}$ до 1 ст. длины и класть ихъ въ ту-же смѣсь, только вновь составленную, гдѣ они должны лежать не менѣе 8 часовъ; потомъ онъ переносить объектъ въ $\frac{1}{2}\%$ водный растворъ *argentum nitricum* на различное время для разныхъ объектовъ (для периферическихъ нервовъ 4—8 часовъ центральныхъ 10—15 дней). Немного раньше, въ 1879 году, Golgi ¹⁾ первый предложилъ и употребленіе сублимата въ центральной нервной системѣ съ тою-же цѣлью, какъ и серебро. Кусокъ мозга величиной 1—2 ст. уплотнялся къ Мюллеровской жидкости или *kali bichromicum* и затѣмъ переносился въ $\frac{1}{4}\%$ — $\frac{1}{2}\%$ водный растворъ сулемы на 8—15 дней. Жидкость должна часто мѣняться: послѣ соотвѣтственной задѣлки нервные элементы при падающемъ свѣтѣ казались бѣлыми, при проходящемъ черными. Golgi говорить, что изъ большого мозга получались хорошіе результаты, для малаго хуже и никакихъ для спиннаго.

Съ тѣхъ поръ какъ Golgi предложилъ свой методъ, прошло 20 лѣтъ. За это время появилось сравнительно немного работъ, относящихся къ улучшенію технической стороны этого метода, да и то въ большинствѣ изъ нихъ разбирается вопросъ, какъ предохранить полученный препаратъ отъ порчи. Вопросъ-же какъ получить такой препаратъ, чтобы его стоило сохранять, какъ-то обходился мимо; а между тѣмъ послѣднее, по моему мнѣнію, важнѣе перваго.

Какъ трудно получить хорошій препаратъ по методу Golgi и его модификаціямъ, это знаетъ всякій, кто хоть разъ работалъ этимъ способомъ. Можно съ увѣренностью сказать, что на 100 объектовъ—50 получится нигуда не годныхъ, штукъ 30—40 дадутъ плохіе результаты, и остальные будутъ порядочные, да и то иногда въ центрѣ препарата элементы окрасятся, а по периферіи нѣтъ, или обратно.

Сущность метода Golgi заключается въ слѣдующемъ. Объектъ пропитывается воднымъ растворомъ *kali bichromicum*. Неизвѣстно, вступаетъ-ли эта соль въ какое-нибудь химическое соединеніе съ субстанціей окрашивающихся по методу Golgi элементовъ, или здѣсь происходитъ импрегнація?

Послѣ дѣйствія на тотъ-же объектъ *argentum nitricum*, происходитъ чисто химическая реакція, и получается съ одной стороны *argentum chromicum*, а съ другой *kali nitricum*; однимъ словомъ, процессъ совершается по слѣдующей формулѣ: $Ka_2 Cr_2 O_7 + 2 Ag NO_3 = Ag_2 Cr_2 O_7 + 2 Ka NO_3$,

¹⁾ Un nuovo processo di tecnica microscopica Rendic. R. Istituto Lombardo Vol XII, 5 p. 206—210.

и въ результатѣ получается бурое при падающемъ и черное при проходящемъ свѣтѣ окрашиваніе нервныхъ элементовъ.

При употребленіи метода Golgi въ высшей степени интересны слѣдующія три обстоятельства. Простое-ли въ данномъ случаѣ отложение серебра въ видѣ импрегнаціи, или это какое-нибудь химическое его соединеніе съ нервными элементами: почему такое отложение происходитъ только въ нервныхъ клѣткахъ съ ихъ отростками, невроглии и щеляхъ какъ искусственныхъ, такъ и нормальныхъ, и наконецъ происходитъ-ли это отложение въ самой субстанціи этихъ элементовъ или въ такъ называемыхъ перипространствахъ?

Съ положительностью отвѣтить на эти вопросы при современномъ состояніи химіи и гистологіи нервныхъ элементовъ почти невозможно. Если-бы это отложение исключительно происходило въ нервныхъ элементахъ, то можно было-бы допустить какое-то особенное присущее этимъ элементамъ химическое сродство къ серебру. Но дѣло въ томъ, что отложение серебра всегда происходитъ въ щеляхъ и по ходу сосудовъ.

Это обстоятельство даетъ поводъ думать, что въ данномъ случаѣ происходитъ только импрегнація.

Кажется вѣроятнымъ, что предварительная обработка объекта *kali bichromicum* сморщиваетъ нервные элементы такъ, что вокругъ нихъ получаются свободныя пространства, гдѣ серебро и отлагается.

За это говоритъ также и слѣдующее обстоятельство: иногда попадаютъ нервныя клѣтки, въ которыхъ середина не окрашена въ черный цвѣтъ; но это можно объяснить тѣмъ, что въ данномъ случаѣ недостаточно было *argentum nitricum* для соединенія съ *kali bichromicum*, такъ какъ каждая химическая реакція требуетъ опредѣленнаго количества реагирующихъ веществъ (въ данномъ случаѣ для полной химической реакціи серебра требуется вдвое болѣе, чѣмъ *kali bichromicum*). Какъ-бы тамъ ни было, но сущность дѣла заключается въ отложеніи *argentum bichromicum*; что-же касается вторичнаго процесса, который, какъ нѣкоторые думаютъ, заключается въ томъ, что *argentum bichromicum* въ дальнѣйшемъ разлагается и восстанавливается металлическое серебро и что такимъ восстанавливающимъ дѣйствіемъ обладаетъ протоплазма, то это очень сомнительно.

Во-первыхъ, химическія свойства этой протоплазмы почти что не извѣстны, а во-вторыхъ серебро, отлагается и въ щеляхъ, гдѣ нѣтъ никакой протоплазмы, а самое главное это то, что подъ вліяніемъ подсушеннаго натра и другихъ реагентовъ этотъ осадокъ растворяется.

Выше я сказалъ, что получить удачный препаратъ по методу Golgi и его модификаціямъ въ высшей степени трудно, а если таковой

и получается, то и въ немъ окрашивается сравнительное меньшинство элементовъ, въ чемъ можно убѣдиться послѣ двойной окраски. Причину всѣхъ этихъ неудачъ можно объяснить слѣдующимъ образомъ.

Если мы въ пробирку съ *kali bichromicum* (воднымъ растворомъ) прибавимъ *argentum nitricum*, то моментально образуется бурый осадокъ, — тоже происходитъ и въ объектѣ. Но если мы предварительно подкислимъ водный растворъ *kali bichromicum* нѣкоторыми кислотами (уксусной, молочной) и затѣмъ подольемъ *argentum nitricum*, то никакого осадка не получается; прибавка щелочи, даже до сильной щелочной реакціи не препятствуетъ образованію осадка. Отсюда видно, что кислая, въ извѣстной степени, реакція среды препятствуетъ соединенію серебра съ *kali bichromicum*, щелочная-же и въ особенности нейтральная способствуетъ. Это обстоятельство заставило меня обратить вниманіе, не имѣтъ-ли какого-нибудь вліянія на удачу метода Golgi реакція мозговой массы. Почему этотъ методъ на мозгахъ новорожденныхъ, особенно выкидышей почти всегда удается, на мозгахъ взрослыхъ животныхъ дѣло идетъ хуже, а на человѣческихъ взрослыхъ совсѣмъ плохо — на всемъ препаратѣ окрашено нѣсколько клѣтокъ.

Нервные клѣтки по Гшейдену и Эдингеру реагируютъ кисло; по наблюденіямъ Лангендорфа живая ткань мозга имѣетъ щелочную реакцію, переходящую немедленно послѣ смерти въ кислую; нервная ткань новорожденныхъ даже послѣ смерти удерживаетъ нѣкоторое время щелочныя свойства.

Прилагая все вышесказанное къ методу Golgi, мнѣ кажется легче и правильнѣе можно объяснить всѣ неудачи, при немъ случающіяся. Мозги выкидышей и доношенныхъ не мертворожденныхъ, удерживаютъ еще нѣкоторое время щелочную реакцію, и подвергаются соотвѣтственной обработкѣ очень быстро послѣ появленія на свѣтъ, такъ какъ они не стѣснены извѣстными медико-полицейскими формальностями, и потому соединеніе *argentum nitricum* съ *kali bichromicum* почти всегда удается. Случается правда, что и здѣсь не происходитъ соединенія, но это именно и бываетъ въ тѣхъ случаяхъ, когда мозгъ доставленъ спустя два—три дня послѣ появленія его на свѣтъ; а въ такихъ мозгахъ, какъ извѣстно, благодаря посмертнымъ процессамъ реакція сильно кислая, въ чемъ легко можетъ убѣдиться всякій.

Мозги взрослыхъ сейчасъ-же послѣ смерти имѣютъ кислую реакцію и всегда они доставляются на второй—третій день послѣ смерти, когда посмертные процессы дѣлаютъ реакцію еще болѣе кислой, а при такомъ положеніи дѣла соединеніе *arg. nitr.* съ *kali bichr.* невозможно. На взрослыхъ животныхъ реакція часто удается въ особенности по периа-

ферии объекта, такъ что реакція мозговой массы имѣетъ очень большое значеніе при употребленіи метода Golgi, а на нее, насколько мнѣ извѣстно, до сихъ поръ не обращали вниманія. Какъ избѣжать кислой реакціи, постараюсь отвѣтить ниже.

Всѣ модификаціи метода Golgi можно раздѣлить на три группы. Одни изъ нихъ заботятся о томъ, какъ получить возможно лучший препаратъ,—таковыхъ меньшинство; другіе, какимъ образомъ сохранить уже полученный препаратъ на болѣе долгое время отъ порчи и, наконецъ, третьи, какимъ образомъ можно подвергнуть такой препаратъ дальнѣйшей окраскѣ?

Въ 1889 г. появилась работа Ernst'a Sehrwald'a ¹⁾, въ которой онъ очень подробно разбираетъ всѣ случайности, препятствующія получению хорошаго препарата и даетъ совѣты, какъ ихъ избѣгнуть.

Sehrwald говоритъ, что всѣ улучшения метода Golgi не даютъ того, что слѣдовало-бы ожидать, а потому авторъ преслѣдуетъ двѣ цѣли, помѣшать исчезновенію картинъ уже полученныхъ и воспрепятствовать тѣмъ измѣненіямъ, которыя происходятъ въ объектѣ при послѣдующей его обработкѣ, какъ для микротомы, такъ и для задѣлки на стеклѣ.

Авторъ думаетъ, что всѣ неудачи зависать только отъ послѣдующей обработки и что соединеніе *argentum nitr.* съ *kali bichr.* возможно при всякихъ условіяхъ.

Очевидно, говоритъ онъ, что объекту, въ которомъ отложилось *argent. bichr.*, вредитъ все то, что его растворяетъ. Къ такимъ растворителямъ, главнымъ образомъ, принадлежитъ (по наблюденіямъ Geuther'a) вода, а потому всѣ дальнѣйшія манипуляціи съ водой или водными растворами должны быть оставлены; само собою понятно, что и *alcohol* долженъ быть безводенъ. Едва-ли это вѣрно; *argen. chrom.* въ водѣ совсѣмъ не растворимо, а что касается *alcohol'*я, то едва-ли кому приходилось употреблять его въ безводномъ состояніи. Далѣе авторъ говоритъ, что хлориды дѣйствуютъ еще хуже, чѣмъ вода: они превращаютъ *argen. chrom.* въ хлористое и картины исчезаютъ; а потому должно быть обращено особенное вниманіе на *alcohol*, гдѣ часто содержатся хлориды. Такимъ-же растворяющимъ образомъ дѣйствуютъ параффины, ксилолы, канадскій бальзамъ; а потому, по мнѣнію автора, совсѣмъ нельзя получить хорошаго микротомнаго препарата, срѣзы-же отъ руки, понятное дѣло, не годятся, вслѣдствіе ихъ толщины.

¹⁾ Zur Technik der Golgi'schen Färbung—Zeitschrift für Mikroskopie Bd. IV p. 443.

Поэтому авторъ предпринялъ рядъ опытовъ перевода *argen. chrom.* въ различного рода соединенія, трудно растворимыя въ выше названныхъ веществахъ.

1) Авторъ пробовалъ ввести другую кислоту; само собой понятно, что нужно брать такую кислоту, соль которой не растворима въ водѣ. Азотную, сѣрную, фосфорную кислоты—не удобно потому, что получающаяся при этомъ свободная кислота вредитъ образованію серебряной соли, тѣмъ, что она сейчасъ-же и растворяется; соляная кислота и ClNa дали одинаковые результаты; первоначальныя темныя фигуры переходили въ бѣлыя, отъ образованія хлористаго серебра, послѣднее-же отъ свѣта переходило въ черное металлическое серебро.

Въ результатѣ,—грубыя соотношенія въ картинахъ оставались тѣже: тончайшія то исчезали, то дѣлались менѣе ясными, а именно, на мѣстѣ тончайшихъ черныхъ линий появлялся мелкозернистый осадокъ. Очевидно, что *argen. chrom.* до перехода его въ хлористое серебро растворяется и осаждается въ видѣ зеренъ; это было-бы еще небольшою бѣдой, если-бы этотъ осадокъ получался на мѣстѣ ранѣ бывшихъ черныхъ линий, а то онъ распространяется по всему препарату.

2) Авторъ пробовалъ замѣнить серебро въ хромовомъ его соединеніи другимъ металломъ: ртутью, золотомъ, баритомъ, ураномъ; всѣ эти опыты окончились неудачей: происходило раствореніе осадка. Наконецъ, авторъ превращалъ хромовое серебро въ сѣрнистое, но и здѣсь раствореніе не избѣгалось; онъ пробовалъ сѣрнистый натръ, калий, сѣро-водородъ, сѣрно-кислый аммоній.

Наконецъ, авторъ примѣнялъ нѣкоторыя вещества, употребляемыя въ фотографіи для редуцированія серебра, но и здѣсь получалось много такихъ картинъ, происхожденіе которыхъ въ сущности было неизвѣстно.

Послѣ всѣхъ этихъ опытовъ, окончившихся полной неудачей, Sehrwald пришелъ къ тому заключенію, что самое лучшее, это парализовать растворяющую силу реагентовъ, употребляемыхъ при методѣ Golgi, какъ-то: спирта, парафина, ксилола и канадскаго бальзама. Такъ какъ каждая жидкость растворяетъ только определенное количество даннаго вещества, то суть предложенія Sehrwald'a заключается въ предварительномъ насыщеніи всѣхъ вышеперечисленныхъ реагентовъ *argentum bichromicum*; само собой понятно, что это насыщеніе должно производиться при высокой температурѣ. Какимъ образомъ произвести это насыщеніе, когда *argen. chrom.* почти что не растворимъ въ названныхъ реагентахъ,—объ этомъ авторъ умалчиваетъ. Чтобы получить микротомный срѣзъ, я пользовался только целлоидиномъ; бралъ два куска мозга изъ одного и того-же животнаго, обрабатывалъ ихъ по

методу Golgi и, предварительно убѣдившись срѣзомъ отъ руки, что препаратъ годенъ, одинъ клалъ въ свѣже-приготовленный целлоидинъ, а другой въ ранѣе употреблявшійся и сдѣлавшійся совершенно чернымъ; объекты лежали одинаковое время какъ въ томъ, такъ и другомъ, и въ результатѣ получалось слѣдующее. Первые срѣзы изъ свѣже-приготовленного целлоидина не давали ни одной клѣтки, за то болѣе глубокие срѣзы давали порядочныя картины; объектъ же изъ чернаго целлоидина сразу давалъ порядочную картину. Если объектъ, задрѣванный въ целлоидинъ и дающій хорошія картины, снова положить въ свѣже-приготовленный целлоидинъ, а потомъ опять срѣзывать, то первые срѣзы не даютъ никакой картины, въ глубинѣ же остаются первоначальныя. Что здѣсь происходитъ раствореніе или вымываніе—сказать трудно. Что касается дѣйствія алкоголя, то я пробовалъ окрашенные срѣзы класть въ него; уже на вторыя сутки картины исчезали (алкоголь всегда употреблялся 96%). Растворяющая сила гвоздичнаго масла сомнительна; у меня были срѣзы на стеклѣ, покрытые гвоздичнымъ масломъ, которое я по мѣрѣ высыханія подбавлялъ; наблюдалъ я эти срѣзы до трехъ недѣль и никакихъ перемѣнъ не замѣчалъ. Канадскій бальзамъ дѣйствуетъ совершенно особеннымъ образомъ.

На нерастворимость *argen. chrom.* въ вышеназванныхъ реагентахъ указываетъ и Samassa ¹⁾. Онъ, между прочимъ, говоритъ, что всѣ неудачи при методѣ Golgi зависятъ отъ диффузионныхъ токовъ. Что диффузія происходитъ, въ этомъ нѣтъ сомнѣнія, но сваливать на нее всю вину нельзя. Потому что, если-бы всѣ неудачи зависѣли отъ такого постоянного фактора, какъ диффузія, то мы никогда не могли-бы получить хорошаго препарата, а между тѣмъ таковые часто получаются.

Въ 1890 г. появилось сообщеніе Ramon у Cajal'a ²⁾. Авторъ работалъ методомъ Golgi на эмбриональныхъ мозгахъ и получалъ прекрасные результаты. Объектъ уплотнялся въ смѣси изъ 20 частей 3% *Kali bichromicum* и 5 частей 1% *Acidum osmicum*. Чѣмъ моложе ткань, тѣмъ уплотненіе быстрѣе; маленькіе кусочки лежатъ въ этой смѣси отъ 20 до 30 часовъ, а затѣмъ переносятся на 24 часа въ водный растворъ *argentum nitricum*. Авторъ совѣтуетъ избѣгать сильнаго уплотненія; онъ противъ взгляда Rossbach'a и Sehrwald'a ³⁾ и думаетъ,

¹⁾ Zur Technik der Golgi'schen Färbung. Zeitschrift für Mikroskopie 1890. Bd. VII p. 26.

²⁾ Sur l'origine et les ramifications des fibres nerveuses de la moëlle embryonnaire.—Anat. Anz. Bd. V. p. 85—95.

³⁾ Centralbl. für med. Wiss.—88 № 47.

что серебро отлагается въ клѣточной протоплазмѣ. Kölliker ¹⁾, работавшій этимъ методомъ, описалъ его нѣсколько подробнѣе. Онъ бралъ очень маленькіе кусочки, отъ 3-хъ до 4-хъ mm. длины и клалъ ихъ въ очень большое количество вышесказанной смѣси (на каждый кусокъ 40—50 ст. смѣси); жидкость черезъ нѣсколько часовъ мѣняется, и черезъ 24—36 часовъ объектъ переносится на $\frac{1}{4}$ часа въ $\frac{1}{4}\%$ водный растворъ argen. nitr., а затѣмъ на 30—40 часовъ въ $\frac{3}{4}\%$ arg. nitr.; послѣ этого объектъ обрабатывается въ короткое время 40% спиртомъ, часъ абсолютнымъ и часъ целлодиномъ. Срѣзы кладутся на $\frac{1}{4}$ часа въ креозотъ, затѣмъ въ терпентинъ, переносится на стекло, заливаются ксилоль-бальзамомъ и оставляются безъ покровнаго стекла. Я много разъ работалъ этимъ методомъ и не могу сказать, чтобы онъ давалъ всегда хорошіе результаты. Въ 1889 г. Greppin ²⁾ предложилъ слѣдующую модификацію метода Golgi.

Свѣжій мозгъ уплотняется въ мюллеровской жидкости, мѣняющейся первую недѣлю ежедневно, въ остальные по разу; черезъ 5—8 недѣль мозгъ уплотняется, затѣмъ его переносить въ $\frac{3}{4}\%$ argen. nitr. на 3—8 дней; дальнѣйшая задѣлка обыкновенная. При такомъ способѣ, какъ говоритъ Greppin, можно брать и большіе куски—4-ю, 5-ю часть полушарія. Наконецъ, въ 1891 г. самъ Golgi ³⁾ предложилъ слѣдующую модификацію своего метода. Онъ говоритъ что самыя лучшіе препараты получались, если объектъ долгое время лежалъ въ мюллеровской жидкости, затѣмъ 1—2 года въ kali bichromicum, а послѣ этого въ серебрѣ тоже очень долгое время; задѣлка для микротомы обыкновенная, срѣзы-же обрабатывается фиксирующею и тоновою жидкостью фотографовъ, а затѣмъ окрашивается карминомъ.

Что касается результатовъ, получаемыхъ отъ модификацій, требующихъ продолжительное время, то я не могу ничего сказать ни за, ни противъ; относительно другихъ позволяю себѣ дать совѣтъ, основанный на собственныхъ наблюденіяхъ.

Объекты можно брать гораздо большаго объема, чѣмъ совѣтуетъ Kölliker, Ramon y Cajal. Объектъ долженъ быть по возможности свѣжъ

¹⁾ Zur feineren Anatomie des centralen Nervensystems. II Beitrag das Rückenmark—Zeitschrift f. Wiss. Zoolog. Bd. 51, p. 1.

²⁾ Arch. f. Anatomie und Entwicklungsgesch. Anat. Abthlg. 1889 Supplemen. p. 55—77, m. 15 fl.

³⁾ La rete nervosa diffusa degli organi centrali del systema nervoso, suo significativo fisiologico Bendiconti del R. Istituto Lombardo di scienze et lettere Milano [2] vol XXIV. p. 594—603; p. 656—673.

(мозги взрослых поэтому не годятся). Въ фиксирующей жидкости ихъ нужно держать гораздо дольше—до недѣли и болѣе; на другой день лучше объектъ разрѣзать на двѣ части и положить его во вновь приготовленную смѣсь изъ 20 части 3% *kali bichromicum* и 5 частей 1% *acid. osm.*; потомъ объектъ переносится въ $\frac{1}{4}$ % водный растворъ *argent. nitr.*, который долженъ быть мѣняемъ хоть разъ въ сутки, лучше чаще, и какъ правило могу рекомендовать, что чѣмъ дольше объектъ лежитъ въ серебрѣ, тѣмъ результатъ будетъ лучше, во всякомъ случаѣ не менѣе 3—5 дней; послѣ этого объектъ сразу переносится въ 96% *Alcohol* на сутки и на сутки въ целлоидинъ; лучше, если употреблять два целлоидина: болѣе жидкій и густой. *Alcohol* я употребляю всегда 96% и въ немъ предварительно растворяю $\frac{1}{2}$ % *argen. nitr.* Что касается целлоидина, то я пользуюсь такимъ, гдѣ уже ранѣе лежали посеребренные объекты—онъ совершенно черенъ. По мѣрѣ уменьшенія я подбавляю свѣжаго. Въ такомъ целлоидинѣ объектъ можно держать 2 дня, что гораздо удобнѣе: такіе объекты лучше рѣжутся на микротомѣ.

Срѣзы класть въ абсолютный *alcohol* и въ тотъ-же день заклеивать. Если объектъ въ этотъ день не будетъ срѣзанъ, то залить его снова чернымъ целлоидиномъ и вмѣстѣ съ парафиновой пробкой опустить въ абсолютный *alcohol*. Что касается креозота и терпентина, то можно безъ малѣйшаго ущерба для просвѣтленія пользоваться только гвоздичнымъ масломъ. Срѣзь покрывается ксилоль-бальзамомъ, безъ покровнаго стекла и сохраняется въ темнотѣ. Если и при такомъ образѣ дѣйствія получается сравнительно неудачный объектъ, въ чемъ можно убѣдиться, сдѣлавши нѣсколько срѣзовъ отъ руки (первымъ срѣзамъ нельзя довѣрять въ смыслѣ неудачи), то я совѣтую, снявъ объектъ съ пробки, положить его снова въ фиксирующую смѣсь дня на 2—3, а потомъ снова перенести его въ $\frac{1}{4}$ % серебро, затѣмъ 96% *alcohol* и т. д. Мнѣ нѣсколько разъ удавалось это повторное окрашивание. Придерживаясь того мнѣнія, что главную причину неудачъ метода Golgi нужно искать въ реакціи мозга (которая у взрослыхъ вообще, а у зародышей отъ времени кислая), я началъ рядъ опытовъ съ уменьшеніемъ кислой реакціи преимущественно у взрослыхъ. Поступалъ я слѣдующимъ образомъ. Кусокъ мозга взрослого человѣка я клалъ въ 3% растворъ *kali bichromicum*, куда я прибавлялъ небольшое количество 10% фдкаго кали; въ этой жидкости объектъ лежалъ у меня 3 дня (что оказывается недостаточнымъ, такъ какъ середина объекта совершенно не пропитывалась). Затѣмъ объектъ переносится въ $\frac{1}{4}$ % водный растворъ *argen. nitr.* на 1—2 дня (что тоже мало); послѣдовательная обработка производилась вышеописаннымъ образомъ; срѣзы по периферіи давали пре-

восходныя картины; много получалось осадка, но это другой вопросъ, какъ его удалить. Одновременно я задѣлывалъ объектъ безъ подщелачиванія и не получалъ никакихъ результатовъ.

На дѣтскихъ мозгахъ (по крайней мѣрѣ уже на двухъ подрядѣ) такимъ способомъ я получилъ превосходные препараты, которые я имѣлъ честь демонстрировать въ Медицинской Секціи Общества Опытныхъ Наукъ.

Спусти два дня, когда я уже сдѣлалъ это сообщеніе, я получилъ роскошные препараты изъ коры большого мозга взрослого человѣка.

Этотъ объектъ уплотнялся $1\frac{1}{2}$ мѣсяца въ 3% *kali bichromicum*, которое въ первую недѣлю я мѣнялъ каждый день, въ остальные—два раза въ недѣлю (во всѣ порціи *kali bichromicum* я подбавлялъ 5% ѣдкаго кали: на 100 к. с. *kali bichr.* 15 капель КНО). Затѣмъ объектъ былъ перенесенъ въ $\frac{1}{4}$ % водный растворъ *argen. nitr. fus. in basil.*; первый день я перемѣнилъ этотъ растворъ два раза, въ остальные по разу въ день; въ серебрѣ объектъ лежалъ двѣ недѣли; послѣдующая задѣлка была вышеописанная.

Если по вѣзмъ этимъ модификаціямъ и получаютъ хорошіе препараты, то они во всякомъ случаѣ имѣютъ слѣдующіе два недостатка: такъ какъ окрашиваются только вышеописанные элементы, а остальная масса желтаго или бѣлаго цвѣта, то чрезвычайно трудно бываетъ ориентироваться въ препаратѣ.

Второй недостатокъ это тотъ, что такіе препараты современемъ портятся такъ, что совсѣмъ невозможно бываетъ узнать первоначальную картину.

Для лучшей ориентировки нужно окрасить препаратъ. Но дѣло въ томъ, что растворы красящихъ веществъ моментально уничтожаютъ первоначальныя картины. Поэтому всѣ предложенія дальнѣйшей окраски препаратовъ, полученныхъ по методу Golgi, сводятся главнымъ образомъ на то, чтобы перевести *arg. bichr.* въ другое соединеніе, не разлагающееся отъ употребленія красящихъ веществъ.

Такъ Pal ¹⁾ переводитъ *arg. bichr.* посредствомъ *Natrio-sulfid'a* въ сѣрнокислое серебро; срѣзъ промываетъ въ водѣ и кладетъ на сутки въ $\frac{1}{2}$ % хромовую кислоту, краситъ гематоксилиномъ и раскрашиваетъ по своему методу ($\frac{1}{4}$ % *kali hyperm.* и смѣсь изъ *ас. oxal.* 1 часть,

¹⁾ Ein Beitrag zur Nervenfärbetechnik. Wien med. Jahrb. Neue Folge Jahrg. 1886.

kali sulfurosum 1 ч. и воды 200 ч.). Также поступает и Tal ¹⁾, послѣдовательная окраска Magdalarat.

Greppin ²⁾ предложилъ слѣдующій способъ дальнѣйшей обработки.

Срѣзь, по Neumann'у, кладутъ на 30—40 секундъ въ 10% *acidum hydrobromicum*; желто-бурая окраска препарата сначала измѣняется въ соломенно-желтую, а затѣмъ въ бѣлую; послѣ того срѣзь раза 3—4 промывается дистиллированной водой и кладется на 24 часа въ 0,5% *acidum chromicum*, затѣмъ промывается 70% *alcohol*омъ и окрашивается гематоксилиномъ (1 grm. гематоксилина на 90 ч. кипящей воды, по охлажденіи 10 ст. 96% спирта); передъ каждымъ употребленіемъ гематоксилина въ него прибавляютъ 8—10 капель насыщеннаго на холодѣ углекислаго литія. Дальнѣйшая раскраска по Pal'ю.

Я пробовалъ часто работать съ *acid. hydrobrom.* и дѣйствительно оказалось, что, послѣ обработки его, препаратъ можно красить чѣмъ угодно и первоначальныя картины не измѣнялись. Я красилъ *Säure Patent Rubin*омъ, по методу Wolters'a съ *vanadium chloratum*.

Greppin говоритъ, что если препаратъ, обработанный *ас. hydrobr.*, положить на стекло, прибавить гвоздичнаго масла и выставить на солнечный свѣтъ (10 минутъ), то срѣзь пріобрѣтаетъ буро-фіолетовую окраску и формовые элементы дѣлаются болѣе рѣзкими. Кромѣ того онъ употреблялъ 40% *ас. hydrobr.* Если срѣзь, предварительно обработанный 10% *ас. hydrobr.*, перенести на 20—30 секундъ въ 40%, то излишніе осадки растворяются, а если его продержать 2—3 минуты, то вся картина исчезаетъ; но если, передъ обработкой 40% *ас. hydrobr.*, срѣзь выставить на солнечный свѣтъ, а потомъ положить въ 40% *ас. hydrobr.*, то реакція идетъ медленнѣе, и срѣзы можно держать 2—3 минуты. Въ послѣднемъ случаѣ картины получаются еще лучше.

Самые лучшіе препараты авторъ получалъ, если на предварительно обработанный 10% *ас. hydrobr.* препаратъ дѣйствовалъ *Natrio-sulfid*омъ. Растворъ по Pal'ю онъ приготовлялъ слѣдующимъ образомъ: 10 grm. *КНО* растворяется въ 1000 частяхъ воды, половина этого раствора насыщается *SH₂* и потомъ соединяется съ другой половиной. Срѣзь держится въ этомъ растворѣ 8—10 минутъ, промывается въ водѣ. Дальнѣйшая задѣлка обыкновенная. 40% *ас. hydrobr.* дѣлаетъ картины потому

¹⁾ Modificazione al metodo del Golgi nella preparazione delle cellule gangliari del Sistema nervoso centrale Gazzetta degli ospitali 1886. № 48.

²⁾ Arch. f. Anat. und Entwicklungsgesch. Anat. Abthlg. 1889 Supplemen. p. 55—77. m. 25 fl.

лучшими, что растворяетъ осадки серебра на сосудахъ, клѣткахъ и ихъ отросткахъ, а потому контуры фигуръ дѣлаются болѣе рѣзкими.

Авторъ только отчасти присоединяется къ мнѣнію Rossbach'a и Sehrwald'a и думаетъ, что серебро отлагается не только въ перигангліонарныхъ пространствахъ, но также и въ субстанціи нервныхъ элементовъ. Что касается способа сохраненія полученныхъ препаратовъ на стеклѣ и объясненія, почему таковыя портятся, постараюсь сообщить въ скоромъ времени.