

№(09)

17-37

950

ГІСТОЛОГІЧНА
ЛАБОРАТОРІЯ
ХАРКІВСЬКОГО МЕДИЦІНІТУТУ

Дружковська Ірина
Николае Константинович
1-го Х.М. Амн. абтора.

7-2 400 207
1907.3.20
№ 20 1812

91-3

611-0135 : 578

Л. 37

Левковскій А. М.

О гистологических методах А. Marina и L. Auerbach'a.

№ 20 1812

1910

1812

№ 20 1812

Съ того времени, какъ методъ Nissl'a введенъ въ гистологическую технику, вышло множество работъ, открывающихъ намъ все новыя и новыя картины тонкихъ структурныхъ измѣненій въ нервныхъ клеткахъ, обусловленныхъ причинами, какъ физиологическими, такъ и патологическими. Захватывающій интересъ къ клеточковой структурѣ заставилъ выдвинуть на первый планъ этотъ методъ, другіе-же методы, такъ много послужившіе прежде въ изученіи нервной ткани, но выполняющіе другое назначеніе, остаются во многихъ изслѣдованіяхъ, какъ бы въ тѣни. Между тѣмъ какъ каждый изслѣдователь, работающій съ методомъ Nissl'a, терпитъ нѣкоторое стѣсненіе. Онъ не можетъ на матеріалѣ, фиксированномъ для метода Nissl'a по большей части спиртомъ, заняться, на примѣръ, изученіемъ хода нервныхъ мякотныхъ волоконъ и распредѣленіемъ конечныхъ осевыхъ цилиндрическихъ развѣтвленій. Для этого онъ долженъ брать другіе кусочки нервной ткани, фиксировать ихъ для иныхъ методовъ окраски другими жидкостями и изучать ходъ мякотныхъ и безмякотныхъ волоконъ на срезахъ, не соедѣнныхъ съ тѣми, на которыхъ онъ изучалъ структуру нервной клетки. Это неудобство становится значительнымъ, если изслѣдованію подлежитъ небольшое количество матеріала, очень важнаго въ патологической анатоміи человѣка, или имѣющаго большое значеніе въ экспериментальной патологіи, когда необходимо знать и тонкія измѣненія въ структурѣ нервной клетки, и измѣненія волоконъ въ одной и той-же области и при различныхъ условіяхъ гистологической обработки. Имѣя все это въ виду, я занялся изученіемъ практическаго примѣненія тѣхъ методовъ, опубликованныхъ въ сравнительно недавнее время, которые обѣщали при одномъ и томъ же способѣ фиксациі доставить возможность различно окраски сообразно различнымъ цѣлямъ и различному назначенію. Изъ нихъ я старался выбрать методъ болѣе простой и удобный для цѣлей невропатолога.

Первымъ по времени былъ опубликованъ докторомъ Alessandro Marina способъ фиксациі, при которомъ удается какъ окраска нервныхъ клетокъ по Nissl'ю, такъ и окраска мякотныхъ волоконъ по Weigert'у ¹⁾. Ниже этотъ способъ будетъ приведенъ болѣе подробно.

Далѣе J. von Scarpatetti рекомендовалъ фиксировать кусочки мозга въ 5—10% формолѣ съ послѣдующимъ уплотненіемъ въ 95% алкоголь, на каковомъ матеріалѣ, кромѣ окраски клетокъ, онъ получалъ при помощи гематоксилина окраску осевыхъ цилиндровъ, а при послѣдовательномъ примѣненіи метода Marchi окраску мякотныхъ волоконъ ²⁾.

Otto Juliusburger писалъ, что способъ фиксациі Marina напоминаетъ фиксированіе матеріала формолѣ-Поллеровскою смѣсью проф. Orth'a, при

¹⁾ Alessandro Marina. Eine Fixationsmethode, bei welcher sowohl die Nissl'sche Nervenzelle, als die Weigert'sche Markscheidenfärbung gelingt. Neurolog. Centrabl. 1897. № 4. S. 166—169.

²⁾ J. von Scarpatetti, Ueber die Anwendung electryer Färbemethoden am in Formol gehärteten Centralnervensystem. Neurolog. Centrabl. 1907. № 5. S. 211.

КА

чем лучшая окраска клѣток получается 1% воднымъ растворомъ Neutralroth, окраска осевыхъ цилиндровъ при помощи 2% воднаго раствора кислаго фуксина и удаётся также окраска по Pal'ю ¹⁾.

Наконецъ *J. Allerhand* предложилъ свой методъ окраски мякотныхъ волоконъ при послѣдовательной обработкѣ микроскопическихъ срѣзовъ подурохлористымъ желѣзомъ и вслѣдъ за тѣмъ таниномъ. Этотъ методъ авторъ называетъ импрегнаціей первой ткани солью желѣза. Фиксація для этого метода требуется или хромовыми солями, или спиртомъ. При послѣдней фиксаціи, слѣдовательно, возможно до известной степени на одномъ и томъ же матеріалѣ производить изслѣдованія, какъ по методу *Nissl'*, такъ и по методу *Allerhand'a* ²⁾.

Производи параллельные опыты со всѣми упомянутыми методами довольно долгое время, я остановился на методѣ *Marina*. Этотъ способъ, кромѣ превосходной окраски по *Nissl'*ю, обнаруживающей структуру нервныхъ клѣтокъ, даетъ возможность съ большою легкостью получить окраску и мякотныхъ волоконъ. Окрашиванія препаратовъ при фиксаціи по *Marina* настолько различны, что до сего времени кажется ни одинъ методъ фиксаціи не давалъ такого разнообразія въ окраскѣ.

Заключается методъ *Marina* ³⁾ въ слѣдующемъ: Цѣлый мозгъ или части его погружаются въ жидкость, приготовленную по такой пропорціи: 90% спирта 100,0, формоза 5,0 и хромовой кислоты 0,10. Жидкость долго помѣшивается и оставляется стоять на часъ для полного растворенія хромовой кислоты. Спиртовой растворъ послѣдней можно имѣть въ запасѣ готовымъ, а формозу прибавлять передъ самымъ употребленіемъ жидкости.

На другой день мозгъ разбивается на мелкіе кусочки, излишекъ удаляется, и жидкость перемѣняется ежедневно въ продолженіе 3—5 дней. Черезъ недѣлю, самое большое, уплотненіе можно считать совершенно законченнымъ. Кусочки мозга величиною въ разс кролика уплотняются даже въ 24 часа.

Фиксированные такимъ образомъ кусочки наклеиваются на дерево или пробку при помощи Syndetikon и осторожно опускаются въ 96% спиртъ. Черезъ 2 часа Syndetikon дѣлается твердымъ и можно бываетъ изъ кусочковъ получать тонкіе срѣзы.

Окраска и дифференцированіе такихъ срѣзовъ по *Nissl'*ю производится обыкновеннымъ образомъ. Для метода *Held'a Marina* рекомендуетъ вѣтрово видоизмѣненіе. Срѣзы помѣщаются въ жидкости, состоящей изъ равныхъ частей (по 3,0) *Nissl'*евского раствора Methylenblau и 5% воднаго раствора ацетона съ прибавленіемъ 30 капель 1% воднаго раствора Erythrosin'a. Срѣзы оставляются въ этой жидкости два дня и затѣмъ дифференцируются по *Nissl'*ю. Растворы при этихъ окраскахъ не нагреваются.

Для окраски гематоксилиномъ по *Weigert'*ю срѣзы, полученные изъ кусочковъ, фиксированныхъ жидкостью *Marina*, должны подвергнуться предварительной обработкѣ. Они опускаются въ водный 3% растворъ двуххромового калия. Черезъ сутки срѣзы переносятся въ видоизмѣненный растворъ *Vassale* ⁴⁾, состоящий изъ равныхъ частей насыщеннаго и профильтрованного раствора нейтральной уксуснокислой мѣди и 1% воднаго раствора Lithi carbonici. При смѣшиваніи жидкостей получается осадокъ, ко-

¹⁾ *Orth, Juliusburger. Bemerkungen zur Härtung in Formol-Müller (Orth'sche Mischung). Neurolog. Centralbl. 1897. № 6, S. 259—260.*

²⁾ *J. Allerhand, Eine neue Methode zur Färbung des Centralnervensystems. Neurolog. Centralbl. 1897. № 16, S. 727—733.*

³⁾ *A. Marina, l. c.*

⁴⁾ *Фон-Кальденъ. Техника гистологическаго изслѣдованія. Переводъ Розенбаума. С.-Петербургъ. 1894. Стр. 142.*

Pollack. Die Färbetechnik des Nervensystems. Berlin. 1898. S. 126.

торый растворяется прибавленіемъ нѣсколькихъ капель Liquoris Ammonii caustici. Послѣ сурочнаго пребыванія и въ этомъ растворѣ срѣзы промываются дестиллированной водою 2—3 раза и помѣщаются также на сутки, уже третью, въ гематоксилинъ *Weigert'a* съ достаточнымъ содержаніемъ углекислаго литія ¹⁾. Дифференцированіе окрашенныхъ такимъ образомъ срѣзовъ производится въ 5—15 минутъ обыкновеннымъ раскрашивающимъ растворомъ *Weigert'a*. Затѣмъ 96% спиртъ, ксилолъ и канадскій бальзамъ.

Marina при своемъ методѣ фиксаціи рекомендуетъ, кромѣ двухъ описанныхъ способовъ окраски, еще окраску пикрокарминомъ, литиевымъ карминомъ, способомъ *van Gieson'a* и другими способами. Но и эти двѣ окраски, по *Nissl'*ю и *Weigert'*ю, легко получаемы на однихъ и тѣхъ же кусочкахъ мозга, фиксированныхъ жидкостью *Marina*, даютъ этому способу фиксаціи большое преимущество передъ другими методами. При различныхъ манипуляціяхъ съ готовыми уже срѣзами мы можемъ наблюдать, при фиксаціи по *Marina*, и структуру нервныхъ клѣтокъ, и состояніе мякотныхъ волоконъ въ одной и той-же области и при одинаковой предварительной обработкѣ гистологическаго матеріала.

При своихъ пробахъ я бралъ маленькіе кусочки мозга, величиною въ 1 и въ 1/2 кубическаго сантиметра. Пять или шесть такихъ кусочковъ помѣщались въ 60,0 жидкости *Marina*, которая смѣнилась ежедневно въ продолженіе недѣли. Затѣмъ кусочки подвергались обыкновенной процедурѣ задѣлки въ парафинъ. Для маленькиихъ кусочковъ послѣднее рекомендуется самымъ *Marina* ²⁾ и даетъ возможность получать болѣе тонкіе срѣзы, чѣмъ при пользованіи Syndetikon'омъ, а также хранить матеріалъ на болѣе долгое время готовымъ къ срѣзамъ. Для окраски *Nissl'*ю, я пользовался основными анилиновыми красками въ водномъ 1:1000 (1 pro mille) растворѣ. съ обыкновенной дифференцировкой анилиновымъ спиртомъ (1:9). Красящіе растворы не нагревались. Лучшие результаты получаются съ Toluidinblau черезъ 10 минутъ пребыванія срѣза въ краскѣ, затѣмъ съ Thionin'омъ черезъ 15 минутъ; Methylenblau, Neutralroth и bas. Fuchsin даютъ также хорошіе результаты черезъ 1—2 сутокъ. Основные краски при долгомъ пребываніи въ нихъ срѣзовъ не даютъ перекрашиванія, какъ это бываетъ съ обыкновеннымъ методомъ *Nissl'*я при фиксаціи матеріала, напримеръ, спиртомъ, но требуютъ при этомъ условій болѣе долгого пребыванія срѣзовъ въ анилиновомъ спиртѣ (1, 2, 4 часа). Просвѣтляются срѣзы въ ol. Sajeputi, промываются въ ксилолѣ и заключаются въ канадскій бальзамъ съ покровнымъ стекломъ. Сырое и блое вещество мозга являются менѣе контрастными, чѣмъ съ обыкновеннымъ методомъ *Nissl'*я, но самое незначительное диффузное окрашеніе благо вещества мозга нисколько не мѣшаетъ видѣть и структуру нервныхъ клѣтокъ. При окраскѣ *Held'a*, видоизмѣненной *Marina*, для дифференцировки слѣдуетъ употреблять спиртъ безъ анилина, такъ какъ при немъ Methylenblau скоро смывается.

Окраска срѣзовъ, полученныхъ изъ кусочковъ, заключенныхъ въ парафинъ, гематоксилиномъ *Weigert'a*, съ той послѣдовательностью манипуляцій, какъ это описано у *Marina*, удаётся всегда и требуетъ даже меньшаго навыка, чѣмъ первоначальный методъ *Weigert'a* окраски мякотныхъ волоконъ. Получается также окрашеніе гематоксилиномъ по *Kuval'skiemu* ³⁾, но при этомъ излинне держать срѣзы въ видоизмѣненномъ растворѣ *Vassale* и они прямо изъ 3% раствора двуххромового калия ноступаютъ въ гематоксилинъ.

¹⁾ *Н. К. Кульчицкій. Техника микроскопическаго изслѣдованія. Харьковъ. 1897. Стр. 182.*

²⁾ *A. Marina, l. c. S. 168.*

³⁾ *Н. К. Кульчицкій, l. c. стр. 183.*

В дополнение къ тѣмъ различнымъ микроскопическимъ картинамъ, которыя получаются при помощи метода *Marina*, недостаетъ еще для изучения нервныхъ волоконъ съ этимъ методомъ возможности окраски осевыхъ цилиндровъ, лишенныхъ мѣдиовой оболочки, и ихъ конечныхъ развѣтлений. Методъ *Weigert'a*, простой и легкой для исполненія, назначается только для мякотныхъ волоконъ и отказывается служить тамъ, гдѣ волокна терять оболочку мозгового вещества. Этотъ пробѣлъ, какъ ишетъ въ своей работѣ *Leopold Auerbach*¹⁾, восполняется въ гистологической техникѣ методами *Ehrlich'a* и *Golgi*, но не всегда достаточны. Мethyleneblau не проникаетъ въ умершия ткани и не даетъ при этомъ условіи желаемого окрашиванія. Импрегнація солями серебра и ртути по *Golgi* на нервной системѣ взрослого организма,—методы, не настолько элѣктивные и подверженные столькимъ случайностямъ и неудачамъ, что часто не позволяютъ дѣлать какия-либо заключенія. *Auerbach* предлагаетъ свой методъ, въ которомъ при особой фиксаціи матеріала и при окраскѣ особымъ, приготовленнымъ имъ, гематоксилиномъ получается ясная картина хода осевыхъ цилиндровъ и ихъ тончайшихъ конечныхъ развѣтлений. При ближайшемъ изученіи и практическомъ примѣненіи послѣдняго метода, мнѣ удалось получить и при фиксаціи по *Marina* окраску гематоксилиномъ *Auerbach'a* осевыхъ цилиндровъ и конечныхъ волоконцевъ, окружающихъ нервныя клѣтки. Такимъ образомъ представлялась возможность соединить эти два метода въ одинъ и въ область разнохарактерныхъ окрасокъ, получаемыхъ при фиксаціи по *Marina*, включить еще новый отдѣлъ, отдѣлъ изслѣдованія безмякотныхъ волоконъ. Это обстоятельство имѣетъ съ значительнымъ упрощеніемъ сложнаго метода *Auerbach'a*, изъ котораго устраняется трудный для исполненію процессъ фиксаціи, представляеть большое удобство для изслѣдованія, почему и побудило меня написать настоящую мою записку. Методъ *Marina* съ присоединеніемъ окраски *Auerbach'a* вполне заслуживаетъ рекомендаціи, такъ какъ, несмотря на легкость его исполненія, онъ позволяетъ воспользоваться особенностями способовъ *Nissl'a*, *Weigert'a* и *Auerbach'a*, взятыя здѣсь вмѣстѣ и въ примѣненіи къ одинаковымъ образомъ приготовленному матеріалу.

Но возвратимся къ описанію метода *L. Auerbach'a*²⁾. Кусочки мозга толщиною въ 3—4 миллиметра *Auerbach* совѣтуетъ фиксировать въ обыкновенномъ растврѣ пикриново-сѣрной кислоты³⁾ въ продолженіе 4—5 часовъ въ термостатѣ при 38°С. Затѣмъ кусочки переносятся въ смѣсь, состоящую изъ равныхъ частей жидкости *Müller'a* и *Эрлиха* съ прибавленіемъ на каждыя 100,0 такой смѣси пяти капель молочнокислаго натра. Смѣсь готовится каждыиъ разъ свѣжей и смѣшивается ежедневно. Черезъ 3—4 дня кусочки помѣщаются въ растворъ *Argentii nitrici* 2:1000 (2 про mille). Этотъ растворъ въ теченіе 7 дней перемѣняется каждыиъ сутки, пока не прекратится образованіе осадка хромокислаго серебра. По истеченіи 7 дней кусочки погружаются на 1/2 часа въ перекись водорода (*Merc'h'a*), свободную отъ соляной кислоты, на 10,0 которой прибавляется 4—5 капель чистой сѣрной кислоты. Наконецъ кусочки мозга тщательно промываются дистиллированной водой и помѣщаются въ 70% спиртъ для подготовленія къ дальнейшей задѣлкѣ въ целлоидинъ, для чего достаточно бываетъ держать ихъ въ абсолютномъ алкогольѣ и целлоидинѣ по 8—12 часовъ.

Въ этомъ состоитъ первая половина метода *Auerbach'a*, очень трудная для удачнаго исполненія; вторая заключается въ окраскѣ полученныхъ такимъ путемъ сръзовъ.

¹⁾ *Leopold Auerbach*. Färbung für Axencylinder und ihre Endbäumchen. Neurolog. Centrbl. 1897. № 10, S. 439—441.

²⁾ *L. Auerbach*, l. c.

³⁾ *И. К. Кульмишскій*, l. c. стр. 75.

Красящее вещество готовится изъ 2,0 гематоксилина, 16,0 хлораль-гидрата и 180,0 дистиллированной воды. Сюда прибавляется столько *Acidi molybdaenici purissimi* (*Merc'h'a*), чтобы она, какъ во время приготовления краски, такъ и потомъ, находилась всегда въ избыткѣ и лежала бы на днѣ сосуда въ видѣ замѣтнаго бѣлого-сѣраго слоя. Последнее есть необходимое условіе для сохраненія свойствъ красящаго вещества на долгое время. Вначалѣ, для совершеннаго растворенія гематоксилина, красящій растворъ помѣщается въ термостатъ, потомъ ставится куда-либо въ спокойное мѣсто и только черезъ 8 недѣль можетъ быть взятъ для примѣненія къ дѣлу.

Сръзы могутъ оставаться въ красящемъ растврѣ до 3 часовъ приблизительно, но обыкновенно и черезъ 1/2 часа получаютъ уже очень хорошіе результаты. Потомъ сръзы промываются 50% спиртомъ и на нѣсколько секундъ дистиллированной водой. Дифференцируются окрашенные сръзы по способу *Pal'a*, т. е. помѣщаются на 2 секунды въ 1/4% растворъ марганцевокислаго калия и затѣмъ въ смѣсь 1,0 *Kalii sulfurosi puri*, 1,0 *Acidi oxalici puri* и 200,0 *Aquae destillatae*, пока они тамъ не поблѣдуютъ. Если дифференцировка оказывается недостаточной, то ее слѣдуетъ повторить. Въ заключеніе сръзы еще разъ тщательно промываются дистиллированной водой и переносятся послѣдовательно въ 90% спиртъ, *Carbolxylyol*, въ *Xylyol* на болѣе долгое время и наконецъ въ *Xylobalsam*.

Неблагоприятныя условія приготовленія гистологическаго матеріала, по *Auerbach'u*, вѣроятно зависятъ отъ употребленія сильно дѣйствующихъ жидкостей при фиксаціи. Кусочки мозга въ пикриново-сѣрной кислотѣ значительно разбухаютъ, а при перенесеніи ихъ, въ концѣ процесса фиксаціи, въ перекись водорода съ нѣсколькими каплями сѣрной кислоты происходитъ довольно бурная реакція съ выдѣленіемъ пузырьковъ газа и какъ-бы съ нѣкоторымъ набухнѣніемъ. При этомъ *Argentum nitricum* извлекается изъ кусочковъ, вѣроятно весь безъ остатка, и они приобрѣтаютъ зеленоватый цвѣтъ. Можетъ быть отъ этихъ причинъ, а также и вслѣдствіе быстрой задѣлки въ целлоидинъ, мозговая ткань подъ ножомъ крошится и не позволяетъ сдѣлать необходимыхъ тонкихъ сръзовъ. Примѣненіе *Syndetikon'a*, какъ это совѣтуетъ *Marina* для своего метода, требовало меньше времени чѣмъ целлоидинъ, и давало при моихъ пробахъ хорошіе результаты. Задача въ парафинъ, какъ оказалось, ничему не вредитъ и доставляетъ тончайшіе сръзы, которые чрезвычайно скоро окрашиваются. Но этимъ устраняется не все неблагопріятное. Иногда по ходу волоконъ получаютъ осадки въ видѣ мелкихъ черныхъ точекъ и очень часто приходится наблюдать образованіе большихъ перипеллоидиальныхъ пространствъ. Нервныя клѣтки, какъ напримр въ переднихъ рогахъ спинного мозга, лежатъ въ круглаго вида пустотахъ, и сѣтъ волоконцевъ, оплетающая ихъ, является разорванной и отодвинутой. Между тѣмъ какъ для осевыхъ цилиндровъ и для этой сѣти и назначается методъ *Auerbach'a* при изслѣдованіи съ сильными увеличеніями иммерсионной системы.

Дальнѣйшіе опыты показали, что въ методѣ *Auerbach'a* болѣе существенное значеніе имѣетъ красящее вещество, независимо отъ фиксаціи. При изученіи методовъ *Marina* и *Auerbach'a* параллельно для сравненія мною были примѣнены почти все фиксирующія жидкости, употребляемыя въ гистологию нервной системы, и оказалось, что гематоксилинъ *Auerbach'a* на матеріалѣ, фиксированномъ по *Marina* и по *Кульмишскому*¹⁾, даетъ

¹⁾ *И. К. Кульмишскій*, l. c. стр. 79. Фиксирующая смѣсь проф. *И. К. Кульмишскаго* состоитъ изъ 2,0 двухромокислаго калия, 0,25 сулемы, 50,0—2% уксусной кислоты и 50,0—96% спирта. Смѣсь черезъ сутки фильтруется и смѣняется при фиксированіи кусочковъ мозга въ продолженіе 6 дней ежедневно. Затѣмъ кусочки тщательно промываются водой и спиртомъ, во избѣжаніе осадковъ сулемы въ препаратахъ и задѣлываются въ платина массу.

превосходные результаты. Менѣ удачные результаты получаются при фиксированіи матеріала въ 1% растворѣ сулемы, въ 40% водномъ растворѣ ацетона (*Held*). Гематоксилинъ *Auerbach'a*, благодаря особому приготовленію, приобретаетъ свойства, противоположныя тѣмъ, какія онъ имѣетъ, напримѣръ, въ методѣ *Weigert'a*. Приготовленный по *Auerbach'у*, онъ окрашиваетъ главнымъ образомъ сѣрое вещество мозга, а бѣлое окрашивается незначительно, и получается картина, при наблюденіи *макроскопически* подобная той, какъ при окраскѣ мозга основными анилиновыми красками. Подъ микроскопомъ же ясно выступаютъ окрашенные нервныя кѣтки, осевые цилиндры и густая сѣть ихъ конечныхъ развѣтвленій, олетающихъ всѣ нервныя кѣтки. Обладая свойствомъ своеобразной окраски, гематоксилинъ *Auerbach'a*, при несложныхъ методахъ фиксаціи, заслуживаетъ особаго вниманія и будетъ, вѣроятно, скоро необходимой принадлежностью каждой гистологической лабораторіи наравнѣ съ многочисленными гематоксилинами, уже вошедшими въ повседневную гистологическую практику.

Способъ окрашиванія гематоксилиномъ *Auerbach'a* срѣзовъ, полученныхъ изъ матеріала, фиксированнаго по *Marina* и заключеннаго въ парафинъ, слѣдующій. Болѣе тонкіе срѣзы наклеиваются на покровныя стекла при помощи дистиллированной воды. Парафинъ смывается ксилоломъ, который въ свою очередь удаляется 97% спиртомъ. Придерживая покровное стекло лицетомъ, срѣзь опускается въ гематоксилинъ *Auerbach'a* всего только на нѣсколько секундъ, лишь бы онъ былъ смоченъ гематоксилиномъ. Затѣмъ срѣзь промывается послѣдовательно дистиллированной водой и 97% спиртомъ, проясняется *ol. Saceruti*, которое удаляется ксилоломъ, и заключается въ канадскій бальзамъ съ покровнымъ стекломъ. Окраска, такимъ образомъ, получается скоро и безъ дифференцировки. Если срѣзы окажутся перекрашенными, то ихъ можно слегка дифференцировать насыщеннымъ растворомъ никриновой кислоты, такъ какъ растворы въ способѣ дифференцировки по *Pal'ю* оказываются слишкомъ сильными для тонкихъ срѣзовъ. Эти растворы приходится значительно разбавлять водой и при фиксаціи по *Auerbach'у*, если только матеріалъ былъ зафиксированъ въ парафинъ.

Окраска срѣзовъ гематоксилиномъ *Auerbach'a* при фиксаціи по *Marina* имѣетъ красноватый оттѣнокъ и болѣе свѣтлая, тѣмъ въ первоначальномъ методѣ *Auerbach'a*, но чрезвычайно ясная и отчетливая. Периделюлярныхъ пространствъ не получается. Можно окрасить срѣзы при фиксаціи по *Marina*, точно слѣдуя тому порядку, какъ это описано у *Auerbach'a*, т. е. долго держать срѣзы въ краскѣ и дифференцировать по *Pal'ю*, но этотъ порядокъ не заключаетъ особыхъ преимуществъ передъ послѣднимъ, скорымъ и простымъ способомъ.