



# **Bijdrage tot de kennis omtrent localisatie van het goud na sanocrysine-injectie : een onderzoek betreffende centraal zenuwstelsel, placenta en foetaal lichaam**

<https://hdl.handle.net/1874/323227>

BIJDRAGE TOT DE KENNIS OMTRENT  
LOCALISATIE VAN HET GOUD  
NA SANOCRYSSINE-INJECTIE

EEN ONDERZOEK BETREFFENDE CENTRAAL ZENUW-  
STELSEL, PLACENTA EN FOETAAL LICHAAM











BIJDRAGE TOT DE KENNIS OMTRENT LOCALISATIE  
VAN HET GOUD NA SANOCRYSSINE-INJECTIE





*Diss. Utrecht 1937*

# BIJDRAGE TOT DE KENNIS OMTRENT LOCALISATIE VAN HET GOUD NA SANOCRYSINE-INJECTIE

EEN ONDERZOEK BETREFFENDE CENTRAAL ZENUWSTELSEL,  
PLACENTA EN FOETAAL LICHAAM

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD  
VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-  
UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN  
RECTOR MAGNIFICUS, DR. W. E. RINGER, HOOG-  
LEERAAR IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE,  
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNI-  
VERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE  
FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN  
OP DINSDAG 27 APRIL 1937, TE 16 UUR

DOOR

WILLEM JACOBUS ROBERTS  
GEBOREN TE UTRECHT

1937

DRUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS — UTRECHT

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT  
UTRECHT.





AAN MIJN OUDERS  
AAN MIJN AANSTAANDE VROUW





Daar het verschijnen van dit proefschrift voor mij geen afscheid van de Universiteit beteekent, moge ik mij in het algemeen richten tot U, Hoogleraren, Oud-Hoogleraren en Docenten in de Faculteiten der Geneeskunde en Wis- en Natuurkunde, om U te danken voor het onderwijs, dat ik reeds van U mocht ontvangen en in het bijzonder tot hen, wier directen steun en hulp ik bij mijn histologisch werk mocht ondervinden.

Hooggeleerde BOEKE, Hooggeachte Promotor. Nadat ik reeds vóór mijn candidaats-examen in Uw Laboratorium mocht beginnen te werken, hebt Gij mij later tot assistent in Uw Instituut willen benoemen. Dit bewijs van Uw vertrouwen stel ik op buitengewoon hoogen prijs. Niet minder echter ben ik U dankbaar voor de wijze waarop Gij mij mijn proefschrift hebt laten bewerken; de doorgankelijkheid der placenta als studie-object stellende, hebt Gij mij verder volledige vrijheid gelaten inzake het aanvatten van dit probleem, en uitbreiding — binnen redelijke grenzen — steeds aangemoedigd. Daarenboven toondet Gij U altijd vol belangstelling en nooit deed ik een vergeefsch beroep op Uwe medewerking. De sfeer in Uw Laboratorium, onder Uwe leiding door al Uw medewerkers gedragen, heeft daar een ideale werkgelegenheid geschapen, die het verrichten van een onderzoek tot een ware vreugde maakt. Voor dit alles moge ik U mijn blijvende, diepe erkentelijkheid betuigen.

Zeergeleerde BERKELBACH VAN DER SPRENKEL. Gedurende eenige jaren hebt Gij mij in welhaast dagelijkschen omgang Uw kennis en ervaring ter beschikking gesteld, om mij in het natuuronderzoek in te leiden, daarmede aan mijn denken definitief richting gevend. Ik ben U daarvoor zeer dankbaar en hoop, dat de sporen, die deze vele uren in mijn proefschrift hebben achtergelaten, U geen teleurstelling zullen zijn. Dat echter de voortdurende steun, dien Gij mij verleendet, uiting is van de vaderlijke vriendschap, die Gij mij steeds, zoowel in als buiten het werk betoont, is voor mij de beste herinnering aan den tijd, op het Histologisch Laboratorium doorgebracht.

Zeergeleerde AKKERINGA. Uw scherp inzicht en groote histologische



bedrevenheid hebt Gij mij op ruime wijze ten goede doen komen, waarvoor ik U mijn hartelijken dank betuig.

Zeergeleerde *TIMMERMAN*. Ik ben er U zeer dankbaar voor, dat Gij een aantal van mijn proefdieren in Uw dierenhuis hebt willen opnemen; de groote welwillendheid, die Uw personeel mij steeds betoond heeft, stel ik zeer op prijs.

Zeergeleerde *JULIEN*. Uw levendige belangstelling voor mijn werk, alsmede de daadwerkelijke steun, dien Gij mij bij zoo vele gelegenheden betoond hebt, zijn voor mij groote reden tot dankbaarheid.

Ook U, Zeerervaren *LEEUWE*, ben ik dankbaar, niet alleen voor de aangename samenwerking, doch ook voor de vele moeite, die Gij inzake het bloedonderzoek der proefdieren genomen hebt.

Zeergeachte Mejuffrouw *DE LOOZE*. Gij hebt op onvermoeide en vaardige wijze geholpen om de vele technische moeilijkheden, aan het onderzoek verbonden, te overwinnen. Ik ben U voor Uwe medewerking zeer dankbaar.

Zeergeachte *VAN DOORNE* en *BUISMAN*. Vaak en op velerlei terrein heb ik Uwe medewerking moeten inroepen. Dat Gij mij deze steeds op zoo bijzonder aangename wijze hebt verleend, is voor mij reden U zeer erkentelijk te zijn.

Tenslotte nog een woord van dank aan U, Zeergeachte *DE BOUTER*, voor de vele moeite en zorg, aan het teekenwerk besteed.

## INHOUD.

---

|   | Bladz. |
|---|--------|
| HOOFDSTUK I.  |        |
| Inleiding en Vraagstelling . . . . .  | 11     |
| HOOFDSTUK II.   |        |
| Techniek van het goudonderzoek . . . . .  | 17     |
| HOOFDSTUK III.  |        |
| Goudverdeeling in placenta, vliezen en uterus . . . . .   | 33     |
| HOOFDSTUK IV.   |        |
| Goudverdeeling in het foetale lichaam . . . . .   | 43     |
| HOOFDSTUK V.  |        |
| Samenvatting en bespreking der waarnemingen aangaande<br>placenta, vliezen, uterus en embryonen . . . . . | 53     |
| HOOFDSTUK VI.   |        |
| Goudverdeeling in het centrale zenuwstelsel van het vol-<br>wassen dier . . . . .                         | 66     |
| HOOFDSTUK VII.  |        |
| Samenvatting en bespreking der waarnemingen aangaande<br>het centrale zenuwstelsel . . . . .              | 92     |
| Samenvatting . . . . .  | 106    |
| Zusammenfassung . . . . .   | 108    |
| Summary . . . . .   | 110    |
| Literatuurlijst . . . . .   | 112    |

---





## HOOFDSTUK I.

### INLEIDING EN VRAAGSTELLING.

Ofschoon het therapeutisch gebruik van goud tot „overoude tijden” schijnt terug te gaan, zoo is toch de periode der groote belangstelling, die wij heden inzake de genezende werking van goud meemaken, nog slechts van zeer recenten aanvang. Memooreeren wij een tweetal pioniers, dan dient eerst de Franschman J. A. Chrestien genoemd te worden, die omstreeks het jaar 1800 gevallen van tuberculose met een goudchloride behandeld schijnt te hebben (geciteerd naar Leitner, 1931). Dan volgt na een langen tijd van rust Robert Koch (1890), die een sterke groeiremming zag, wanneer hij tuberkelbacillen en goudzouten in vitro bijeenbracht, doch in het dier-experiment geen genezende werking kon vaststellen. Weer verstrijken een aantal jaren, waarna het werk van Feldt en Spiess (1913) verschijnt, waarmede dan de huidige periode van onderzoek in kliniek en laboratorium definitief ingeluid is. Feldt vooral, werkende in het Instituut Robert Koch te Berlijn, is lange jaren zijn onderwerp trouw gebleven, steeds strevend de giftigheid zijner praeparaten — altijd het teere punt der goudtherapie — te verminderen, als slotresultaat waarvan wij het Solganal kennen, heden een der meest gebruikte spécialité's.

Maar wellicht de meeste aanleiding tot náonderzoek, en daarmede tevens tot zeer omvangrijke discussie, gaf de publicatie van Møllgaard (1924), waarin hij een nieuw goudpraeparaat bekend maakte, het Sanocrysine, een dubbelzout, bestaande uit één molecuul natrium-auro-thiosulfaat en één molecuul di-natrium-thiosulfaat, waarvan het goudgehalte ongeveer 37,7 % bedraagt.

Door middel van experimenten in vitro meende hij aangetoond

te hebben, dat zijn praeparaat direct doodend op tuberkelbacillen werkt, aldus wellicht de mogelijkheid tot een therapia sterilisans magna voor tuberculose openend. Al spoedig werd het in Denemarken in de kliniek ingevoerd en van daaruit verbreid; ook heden zijn er nog klinici, die uitsluitend dit praeparaat gebruiken (men zie b.v. *Leuret*, 1936).

Een ander geluid deed zich intusschen van de zijde van *Feldt* en zijn medewerkers hooren; hier wordt de directe parasitotrope werking der goudpraeparaten ontkend en aan het einde van zijn onderzoekingen schrijft *Feldt* (1928), dat men zich de genezende werking moet voorstellen „auf dem Umwege der Einwirkung des Goldes auf das Gewebe und den Gesamtorganismus”. Evenzeer komt *Schlössmann* (1934) aan het einde van zijn referaat tot de conclusie: „die Wirksamkeit der Goldverbindungen geht demnach über das Reticulo-endothel”.

Terwijl dan ook voordien de theoretische belangstelling voornamelijk gekomen was van de zijde der pharmacologie, bacteriologie en pathologie, is met de geciteerde uitspraak van *Feldt* het probleem in een stadium gekomen, dat ook morphologen trachten konden een bijdrage te leveren.

De hulpmiddelen, waarvan zij zich bij hun nasporingen bedienen, zullen in het volgende hoofdstuk besproken worden; thans willen wij trachten ons in groote trekken een beeld te vormen van de geleidelijk verworven kennis omtrent de verdeling van het goud over de organen, eventueel ook van de histologische en cytologische details. Teneinde dit overzicht beter af te ronden, zullen wij echter niet aarzelen om, telkens als dat noodig mocht blijken, ook de uitkomsten van andere onderzoekers dan die, welke op morphologisch terrein werkten, te vermelden.

Onze besprekingen zullen daarbij voornamelijk van Sanocrysine uitgaan, omdat wij dat voor alle eigen experimenten gebruikt hebben. \*)

De eerste vraag, die men zich kan stellen, luidt: wat gebeurt er met het praeparaat na injectie? Als antwoord hierop worden door *Timm* (1932) twee mogelijkheden geopperd. De eerste hiervan

---

\*) Wij danken hier de vervaardigers van dit praeparaat voor de welwillendheid, waarmede zij een hoeveelheid Sanocrysine te onzer beschikking stelden.

luit, dat het dubbelzout gesplitst wordt in natrium-auro-thiosulfaat en natrium-thiosulfaat; genoemde goudverbinding is onbestendig en zal daarom goudsulfide afsplitsen, dat in het lichaam neergelegd wordt al naar de plaats, waar het auro-thiosulfaat op het moment der splitsing aanwezig was.

De tweede mogelijkheid luidt, dat de splitsing van Sanocry sine een gevolg is van zuurwerking. Ook in dit geval zou de omzetting tenslotte weer tot het ontstaan van goudsulfide leiden, dat wij thans echter bij voorkeur in „zure” organen en cellen zullen vinden. Memoreeren wij hieruit vooral, dat wij tenslotte dus goudsulfide in de organen zullen aantreffen. Men vergelijk hiermede het Hollandsche onderzoek (K o r t e w e g c.s.), waarvoor naar het volgende hoofdstuk verwezen zij.

Alle genoemde zouten zijn in hun waterige oplossingen ion- of molecuulair-dispers; zou dat ook gedurende hun aanwezigheid in de bloedbaan het geval zijn? Voor vitale kleurstoffen bestaan te dien opzichte gegevens en het is ongetwijfeld een groote verdienste van de H a a n (men zie b.v. zijn artikel van 1923 over celpermeabiliteit en zure vitale kleurstoffen) uit biologische experimenten afgeleid te hebben, dat zure vitale kleurstoffen in het bloed aan de serumeiwitstoffen gebonden worden. Bevestiging — en erkenning — vonden de inzichten van de H a a n in het werk van B e n n h o l d over de vehikelfunctie van het serumeiwit. In zijn vijfde publicatie (1932) beschrijft deze auteur niet alleen hoe talrijke zure en basische kleurstoffen door de serumeiwitstoffen gebonden worden, doch hij vermeldt bovendien — aan de hand van de literatuur —, dat voor Salvarsan een dergelijke binding waarschijnlijk is en voor complexe, in water oplosbare bismuth-zouten zeker.

Belangwekkend in dit opzicht zijn voorts de fraaie proeven van v o n J a n c s ó J r. (1929), die de geïsoleerde rattenlever met colloïdale goud-, zilver- en ijzeroplossingen doorstroomde, welke de eene maal eiwitvrij, de andere maal eiwithoudend waren. Slechts in het laatste geval bleken de metalen in de von Kupffercellen te kunnen binnendringen.

Aangaande het gedrag van Sanocry sine in deze kwestie vindt men in de literatuur twee mededeelingen, n.l. van H a n s b o r g (1925) en van v o n I s s e k u t z en L e i n z i n g e r (1930).



Hansborg heeft nog slechts het vermoeden „dass das Gold, „vielleicht nach Sonderteilung der ursprünglichen Moleküle, eine „neue, schwieriger diffundierbare Verbindung eingegangen ist, „vermeintlich mit den Eiweisstoffen des Blutes“.

Von Issekutz en Leinzinger evenwel spreken zich definitiever uit; zij hebben twee reeksen van proeven genomen, de eene maal dialyseerden zij serum (met hulzen van Schleicher), waaraan diverse goudpraeparaten toegevoegd, de andere maal hebben zij de serumeiwitstoffen in verschillende fracties neergeslagen en daarin analyses gedaan. De uitkomsten der twee series komen goed overeen; voor Sanocrysine blijkt eruit, dat het voor 20—25 % aan serumeiwit gebonden is, en wel voor 6 % aan globuline en voor 15 % aan albumine. Solganal daarentegen bleek voor 90 % gebonden te zijn. Bij discussie aangaande celpermeabiliteit voor deze zouten, zal men dus het voorgaande in gedachten moeten houden.

Keeren wij na deze uitwijding tot de feiten terug, dan is dus thans de vraag aan de orde: waar vinden wij het geïnjecteerde goud terug.

Hansborg (1925) heeft de organen van een patiënt onderzocht, die in twee goudkuren een totaal van  $13\frac{1}{2}$  gr. Sanocrysine geïnjecteerd kreeg en drie maanden na de laatste injectie stierf. Langs chemischen weg werd daarbij het goud aangetoond in longen, hart, lever, milt, nieren, spieren, epidermis met onderliggend bindweefsel, dunnen darm, dikken darm en ventrikel (men kan slechts vermoeden, dat met het laatste de liquor cerebrospinalis bedoeld wordt). Uit analyse van materiaal van andere gevallen afkomstig, blijkt het goud bovendien aanwezig te kunnen zijn in bloed, pleuritisch exsudaat, gal en beenmerg.

Hiermede zijn de mogelijkheden echter nog niet uitgeput; W. en W. Gerlach (1931) hebben eveneens de organen onderzocht van een patiënt, die een Sanocrysine-kuur had ondergaan. Behalve in een aantal der door Hansborg genoemde organen, toonden zij het goud nog aan in lymfklieren en testes.

Tenslotte is door Policard c.s. (1933) nog aangetoond, dat na een Solganal-kuur het goud ook in de bijnier aanwezig was.

Het dier-experiment verschaft nog enkele verdere gegevens; zoo heeft Borchardt na behandeling van konijnen en honden met

Lopion het goud bovendien teruggevonden in oesophagus, trachea en kraakbeen, terwijl tenslotte uit onze eigen Sanocrysine-proeven op een *Cynomolpus* gebleken is, dat het goud ook in het ovarium doordringt, waar men de grootste hoeveelheid in de atretisch te gronde gegane follikels vindt.

Wat nu verder de uitscheiding betreft, daaromtrent vindt men vele gegevens in de literatuur. Vast staat, dat een zeer aanzienlijk deel van het goud via de nier het lichaam verlaat, en een kleiner deel via den darm. De desbetreffende analyses zijn voornamelijk door *Hansborg* (1925—1927—1928) en *Frandsen* (1925) verricht; laatstgenoemde stelde bovendien nog sporen goud in het sputum vast. De herkomst van het goud in de faeces verklaart men door secretie van het slijmvlies van het colon, of wel door uitscheiding samen met de gal (*Hansborg*, 1925). De darmwand zou slechts de eerste dagen na de injectie actief zijn, later zou alle goud in de faeces uit de gal stammen. Terloops teekenen wij hierbij aan, dat onze *Cynomolpus*, die aan het slot van een Sanocrysinekuur één dag na de laatste injectie werd opgeofferd, geen spoor van goud in het epithelium van den dikken darm vertoonde, daarentegen zwaar beladen von Kupffercellen en een geringe hoeveelheid goud in het leverparenchym deed zien.

Dat het goud zeer langen tijd in het lichaam aanwezig blijft, blijkt uit de mededeeling van *Hansborg* (1928), die bij een tuberculose-patiënte twee jaar na de laatste injectie nog gemakkelijk een hoeveelheid goud in de urine en de faeces van één dag kon aantoonen.

Zooals uit het voorgaande blijkt, is men erin geslaagd het goud in een zeer groot aantal organen te achterhalen; en aldus was de stand van zaken, toen wij onze methodiek gingen beoefenen — waarover in het volgende hoofdstuk —, die, in vergelijking met andere methoden om goud in de weefsels op te sporen, zeer gevoelig bleek. Hiermede scheen dus de mogelijkheid geboden verder in de goudstofwisseling door te dringen en deed zich de vraag voor: welk terrein schijnt gunstig voor verdere experimenten.

Met deze vraag voor oogen de literatuur nogmaals doorziende, bleek ons, dat — evenals destijds *Goldmann* met zijn pyrrholblauw-experimenten — het goudonderzoek gestooten was op twee

barrières, n.l. die tusschen moeder en vrucht en die tusschen het c.z.s. en het overige lichaam.

Aangaande het gedrag van placenta en foetus vermelden een drietal auteurs (zie hoofdstuk V) terloops, dat na injectie van goudpraeparaten bij gravide dieren, het bewuste metaal niet in de foetus aanwezig was; het gedrag der placenta blijft onbesproken. Schaarscher nog zijn de gegevens, die men omtrent het c.z.s. kan vinden. Een enkele chemische analyse (Gelbenegger, 1933, doch na intralumbale injectie) bracht in dat orgaan sporen goud aan het licht; de vraag evenwel of die sporen zich bevinden in het nerveuse parenchym, de vliezen, het vaat-bindweefselapparaat, de plexus chorioidei, is daarmede niet beantwoord. In het nieuwe „Handbuch der Neurologie” schrijven Bumke en Krapf dan ook in 1936, dat aangaande goudpraeparaten en c.z.s. tot dusverre alleen aangetoond is, dat het bewuste metaal de bloed-liquor-barrière kan passeeren.

Of het a priori waarschijnlijk geacht moet worden, dat na injectie van Sanocry sine het goud — in welken vorm ook — genoemde grensvlakken zal kunnen passeeren, wordt in de hoofdstukken V en VII onder het oog gezien. Hier volstaan wij met de vermelding van onze vraagstelling (waarin wij met Sanocry sine tevens de afbraakproducten daarvan bedoelen):

- 1° Is het grensvlak tusschen moeder en vrucht permeabel voor Sanocry sine;
  - 2° Zoo ja, wat is dan de localisatie in de placenta en de foetus.
  - 3° Dringt Sanocry sine het nerveuse parenchym binnen;
  - 4° Zoo ja, hoe is het goud daar dan gelocaliseerd.
-



## HOOFDSTUK II.

### TECHNIEK VAN HET GOUDONDERZOEK.

Voor wij tot de beschrijving der door ons gevolgde methode ter opsporing van goud in weefsels overgaan, zullen wij in een beknopt overzicht de andere hulpmiddelen, die tot dat doel gebruikt worden, nagaan, waardoor tevens de discussie aangaande voor- en nadeelen dier verschillende methoden vergemakkelijkt zal worden.

Memoreeren wij vooreerst de chemische analyse; vooral in het begin der huidige periode van onderzoek heeft deze methode groote diensten bewezen. Eerst werd een antwoord verkregen op de vraag welke organen goud bevatten, vervolgens, kwantitatief werkend, leerde men hoe het goud over de verschillende organen verdeeld werd. Onmisbaar en onvervangbaar is voorts het chemisch onderzoek bij het bestudeeren der uitscheiding na gebruik van diverse goudpraeparaten.

Vele onderzoekers hebben zich op dit chemisch-analytische terrein bewogen, noemen wij slechts de meest geciteerden: Lomholt (1924), Hansborg (1925), Frandsen (1925), Keiding en Keiding (1925), Merejkowski (1933).

Zou de anatoom met hunne gegevens tevreden kunnen zijn, voor den histoloog bleef de wensch bestaan het goud in weefselcouples te bestudeeren; aan pogingen om dat te verwezenlijken, heeft het niet ontbroken.

De eenvoudigste weg werd ingeslagen door Korteweg en zijn medewerkers (1928), die hun materiaal, afkomstig van konijnen, die gedurende langen tijd regelmatig Sanocrysin geïnjecteerd kregen, zonder verdere bewerkingen microscopisch onderzochten. Daarbij vonden zij in vele organen een geel pigment, dat op grond van zijn chemisch gedrag als goudsulfide geïdentifi-

ceerd werd. De cornea vertoonde daarenboven nog een zwart pigment, dat auteurs voor metallisch goud aanzien. Twee mogelijkheden voor het afwijkende gedrag der cornea worden overwogen: inwerking van het licht of invloed der — experimenteele — oogtuberculose. Intusschen werd in enkele gevallen bij den mensch een grijze verkleuring der onbedekte huid — chrysiasis — na afloop van een goudkuur waargenomen, zoodat wij zoowel voor de cornea als voor de huid aannemen, dat onder inwerking van het licht metallisch goud uit het sulfide ontstaan is.

Bovendien maakten *Korteweg* c.s. gebruik van donkerveldbelichting, waarover zij zeer tevreden zijn. De resultaten, die zij met hun onderzoek langs „den eenvoudigen weg” bereikt hebben, zijn niet te onderschatten. De juistheid daarvan is sindsdien herhaaldelijk gebleken en vindt uitgebreide erkenning in de literatuur.

Andere onderzoekers zijn uitgegaan van de bekende reactie met  $\text{SnCl}_2$ , die, bij zwak zure reactie, in vitro leidt tot het ontstaan van Cassius' goudpurper; zij hebben getracht hetzelfde in de coupe te bereiken. Dit is tot op zekere hoogte mogelijk gebleken, zij het dan, dat in de coupe het reactie-product een geelbruine tint vertoont, zooals dat in vitro het geval is, wanneer men in een sterk zuur milieu werkt.

Blijkbaar onafhankelijk van elkaar hebben *Lombardo* (1916) en *Christeller* (1927) hieromtrent gepubliceerd. Voor de resultaten, in *Christeller's* Laboratorium bereikt, zie men *Kurusu* en *Gallinal*, beide in 1927. De werkwijzen van *Lombardo* en *Christeller* verschillen slechts in den zuurgraad van de oplossingen, die zij gebruiken.

De meerdere of mindere doeltreffendheid dezer methoden is bestudeerd door *Okkels* (1929), die gaarne volgens *Lombardo* werkt, door *Michaëlis* (1930), die weinig verschil vindt, en tenslotte door *Grassi* (1932), die de techniek van zijn leermeester *Lombardo* prefereert.

Het oordeel van *Timm* (1932) over de  $\text{SnCl}_2$ -techniek luidt zeer ongunstig; hij argumenteert, dat in de verdunde waterige oplossing van  $\text{SnCl}_2$  een hydrolytische splitsing optreedt, waarbij colloidaal tin-hydroxyde ontstaat, dat door overmaat zuur in oplossing moet worden gehouden. Ingevolge daarvan zou het  $\text{SnCl}_2$  voor histo-chemisch werk geheel ongeschikt zijn, daar het redu-

ceerende deel van het reagens zeer moeilijk in het cellichaam naar binnen kan diffundeeren, terwijl het HCl zeer snel binnendringt. Bovendien acht hij den overmaat zuur schadelijk en aanleiding gevend tot verwarring, doordat het uit de bloedkleurstof gekleurde pigmenten vormt.

Nog scherper is zijn critiek op de  $\text{AgNO}_3$ -methode van Borchardt (zie later): „völlig unzulänglich, sich stützend auf „in nichts begründete Vorstellungen, nur allzu geëignet histo-„chemische Verfahren in Misskredit zu bringen“, enz.

Okkels (1929) heeft daarnaast met een ander procédé ge-experimenteerd, n.l. micro-verbranding volgens Policard. Er bleek daarbij evenwel, dat slechts de grofste goudkorrels zichtbaar bleven, zoodat hiervan geen goed resultaat te verwachten valt.

Weer langs anderen weg tracht Borchardt (1928) het goud in de weefsels op te sporen; hij behandelt gefixeerd materiaal gedurende 12—24 uur met een oplossing van 5—10 %  $\text{AgNO}_3$ , daarbij zooveel mogelijk aan zonlicht blootgesteld. Meerdere na-onderzoekers vermelden, dat hiermede kunstproducten niet te vermijden zijn.

Slechts terloops vermelden wij het onderzoek van Cottard (1935), die bij konijnen veranderingen van het bloedbeeld onder invloed van goudpraeparaten naging en daarbij ook een oogenblik aandacht heeft geschonken aan de localisatie van het goud in het weefsel. Deze „méthode P. Cottard“ bestaat in formolfixatie en daarop volgend onderzoek met normale belichting. Auteur ziet over het hoofd, dat hetzelfde reeds in 1928 door Hansborg was gepubliceerd, die daarbij evenwel de noodige voorzichtigheid in acht genomen heeft. Het werk van Cottard is, voor zoover het de localisatie van het goud betreft, zeer oppervlakkig. Hij controleert zijn vondsten op geen enkele wijze en zijn werk kan dan ook niet als een serieuze bijdrage inzake goudproblemen beschouwd worden.

Thans komen wij tot een drietal fysieke procédé's: ultra-microscopie, spectrographie en Röntgenologie. Wat betreft het ultramicroscop, dit is in een groote serie van onderzoeken aangaande colloïdale metalen door Voigt (literatuur bij Timm, 1932) gebruikt, o.a. ter bestudeering van het gedrag van geïnjecteerd colloïdaal zilver. De groote waarde van dit hulpmiddel is voor het



metaalonderzoek boven allen twijfel verheven; aangezien ook deeltjes, kleiner dan de halve golflengte van het licht, dus onzichtbaar, daarbij hunne aanwezigheid verraden door buigingsbeeldjes, is aldus de mogelijkheid geboden een stap dieper door te dringen dan met het gewone microscoop mogelijk is.

Zoo zien wij dan ook door T i m m (1932) het ultramicroscoop in het goudonderzoek ingevoerd. Tevens brengt hij een verbetering aan, n.l. het gebruik van Canada-balsem, opgelost in een medium van hoogen brekingsindex (monobroom-benzol,  $n_D = 1,56$ ), waardoor het storende oplichten van het weefsel totaal onderdrukt wordt.

Het tweede fysieke hulpmiddel, de spectrographie, wordt vooral gepousseerd door de school van P o l i c a r d, die de goudliteratuur met een aantal fraaie bijdragen verrijkt heeft. Vanzelfsprekend kon men voordien even goed spectraal-analyse van organen uitvoeren, doch P o l i c a r d heeft de methodiek zoozeer verfijnd, dat het mogelijk is geworden een spectrogram te verkrijgen van een zeer beperkt veld van een coupe, die echter een minimale dikte van  $200 \mu$  moet hebben. Een volledig overzicht van dit werk, waaraan de naam histo-spectrographie gegeven is, vindt men bij P e t e y (1933), die tevens de ongeveer identieke techniek van de G e r l a c h's refereert.

Het Röntgenologisch onderzoek tenslotte zagen wij slechts éénmaal vermeld, en wel bij F e l d t (1926); in de discussie naar aanleiding van zijn referaat vindt men, dat door S c h o e l l e r en G e h r k e 8 dagen na injectie van Krysolgan-ureum nog een metaal-depôt langs Röntgenologischen weg op de injectie-plaats werd aangetoond. Aangezien men dit soort van onderzoek verder nergens vermeld vindt, mag wel aangenomen worden, dat de mogelijkheden van die techniek zeer beperkt zijn.

Al het bovenstaande was dus bekend, toen wij zelf besloten een goudonderzoek te beginnen. De veelheid der methoden en de chemische inslag van een groot deel daarvan, deden ons besluiten raad in te winnen bij onzen vriend Dr. P. J u l i e n, assistent in het Laboratorium voor Propaedeutische Chemie te Utrecht. Deze kwam al spoedig op de gedachte, dat het wellicht mogelijk zou zijn om een techniek toe te passen, overeenkomende met de zgn. fysieke ontwikkeling. Een voorbeeld moge het principe toelichten.



Wanneer men op een gewone fotografische broomzilver-gelatine plaat een sterk-belichte opname maakt en deze direct in het fixeerbad — hypo — brengt, ziet men in de glasheldere „Schicht” geen spoor van een beeld. Wascht men nu de plaat grondig uit en brengt men haar vervolgens in een bad van  $\text{AgNO}_3$  en hydrochinon, dan komt er alsnog een krachtig beeld te voorschijn. De verklaring daarvan is de volgende: bij de belichting is het broomzilver gesplitst en zijn er op de plaat zilverkiemen ontstaan, het zgn. latente beeld. In de  $\text{AgNO}_3$ -hydrochinon-oplossing ontstaat nasceerend metallisch zilver, dat zich neerzet op de zilverkiemen, die reeds op de plaat aanwezig waren, waardoor zij zoo sterk aangroeien, dat ze zichtbaar worden. Juist op deze laatste eigenschap van nasceerend zilver, om op daartoe geschikte metaalkiemen neer te slaan, is de methode gebaseerd.

De eerste experimenten op goudhoudend weefsel deden ons al onmiddellijk gelooven, dat wij op den goeden weg waren; in vergelijking met de methoden van Lombardo, Christeller en Borchardt, kregen wij op zeer eenvoudige wijze scherpe beelden, waarin het goud — omhuld door een zilveren mantel — zich als intens zwarte korrels voordeed. Doch één fundamenteel bezwaar manifesteerde zich, en wel, dat goudvrij contrôle-weefsel niet vrij van neerslag te houden was, een verschijnsel, dat geheel met den fotografischen sluier te vergelijken is. Noodzakelijke voorwaarde om in goudhoudende coupes tot bruikbare resultaten te komen, is natuurlijk juist het vermijden van deze sluiering.

Wederom doorzochten wij de literatuur, ditmaal in de hoop aanwijzingen omtrent physische ontwikkeling te vinden. Wij kregen daarbij den raad (Dr. Berkelbach van der Sprenkel) ook het werk van Liesegang, die zich reeds circa 50 jaar met de zilvertechniek in de histologie bezig houdt, na te slaan. Aldus vonden wij de publicatie van Liesegang en Rieder (1921), die verder het uitgangspunt van ons werk gebleven is. Het voorbeeld van de fotografische plaat is aan dit artikel ontleend.

Liesegang beschrijft daarin, hoe hij na injectie van colloïdaal zilver bij konijnen getracht heeft dit metaal in het weefsel op te sporen door middel van physische ontwikkeling. Hij ontmoette daarbij echter met zijn blanco materiaal dezelfde moeilijkheden als wij, het bleef niet vrij van sluier. Dit bezwaar nu heeft

Liesegang weten te overwinnen, en wel op zeer simpele wijze, door n.l. de ontwikkeling te doen verlopen in een oplossing, waaraan een „Schutzkolloid“ — in casu Arabische gom — is toegevoegd. Wij hebben dit ettelijke tientallen malen na-onderzocht en steeds de mededeeling van Liesegang bevestigd gezien.

Beschouwen wij thans de methode der physische ontwikkeling wat nader. Het principe, dat wij boven reeds uiteenzetten aan het voorbeeld der fotografische plaat, komt dus daarop neer, dat men door middel van nasceerend zilver sub-microscopische metaalkiemen zoo doet aangroeien, dat zij zichtbaar worden, waarbij wij reeds thans opmerken, dat onze methode er op gericht is om het eigen reductievermogen van verschillende weefselementen te onderdrukken, wat alleen mogelijk is, wanneer de physische ontwikkeling in zuur milieu verloopt. De reactie wordt ondersteund door krachtige belichting, die als versnellende factor opgevat wordt, zij het ook, dat de verklaring daarvan groote moeilijkheden baart.

In de biologische literatuur vindt men nog een aantal toepassingen van het principe der physische ontwikkeling vermeld, die wij volledigheidshalve in een kort résumé samenvatten.

Bechhold en Villa (1925) maken bacteriophag-deeltjes zichtbaar, door hieraan eerst goud te addeeren, en vervolgens dit vergulde deeltje te vergrooten door middel van physische ontwikkeling, waarbij er goud op neergeslagen wordt. Het eindproduct dezer bewerkingen is zichtbaar in het ultra-microscop.

Verschillende auteurs — von Jancsó (1928), Jiménez de Asúa en Kuhn (1928), Feldt en Heise (1929) — houden zich bezig met het opsporen van Salvarsan in dierlijke weefsels. Dit wordt zichtbaar gemaakt door het weefsel te behandelen met een ammoniakale zilveroplossing, waarbij de aanwezigheid van Salvarsan door reductie van genoemde oplossing zou blijken. Het groote gevaar hierbij ligt in het gebruik van een alkalische vloeistof, waardoor het reduceerend vermogen van het weefsel tot volle uiting komt.

Keeren wij thans terug tot eigen methode. Wat men dus ten slotte in de ontwikkelde coupes ziet, zijn zilveren korrels. De kleur daarvan is bijna altijd diep zwart, een enkele maal bruin, hetgeen wijst in de richting van een hooger dispersiteitsgraad van het



zilver, terwijl bij het naderen van de grens van zichtbaarheid de kleur zeer moeilijk te definieeren is. Zooals dit laatste reeds impliceert, is de grootte zeer verschillend, gaande van nauwelijks meer dan  $0,2 \mu$  tot  $3 \text{ à } 4 \mu$ . Wat verder den vorm betreft, deze is vaak ongeveer die van een bol, kan echter ook zeer grillig zijn; voor dit laatste geval nemen wij aan, dat de mantels van meerdere goudkorrels geconflueerd zijn.

Daarmede zijn wij dan tevens op het terrein van de volgende kwestie gekomen, n.l.: welke conclusie kan men uit het aspect der zilverkorrels trekken aangaande de grootte van de gouden kern. Daarmede nu is voorzichtigheid geboden, aangezien meerdere — deels onbekende — factoren hun invloed doen gelden, als daar zijn: de verdelingstoestand van het goud, resp. het goudzout, alsook de toestand van het gefixeerde protoplasma, die toch op zijn minst van celsoort tot celsoort zal verschillen, en daardoor de diffusiesnelheid van het zilver doet varieeren, terwijl tenslotte de ontwikkelingsduur zeker van invloed is. Immers, hoe langer men dezen laatste kiest, des te sterker zal de kiem aangroeien. Intusschen blijkt het toch wel mogelijk om in dit opzicht iets te zeggen. Vooropgesteld dat men steeds tracht temperatuur en ontwikkelingsduur zoo constant mogelijk te houden, zal men vinden, dat bij bepaalde belading van een bepaalde diersoort, de korrel in een bepaald orgaan een zekere grootte bereikt. Ziet men dan, onder overigens gelijke omstandigheden, bij sterker belading een grootere korrel optreden, dan mag men aannemen, dat deze grootere korrel de aanwezigheid van een actievere kiem verraadt. Hierbij is te bedenken, dat niet slechts de hoeveelheid kiemgoud de activiteit van de kiem beheerscht, maar dat daarnaast zeker de dispersiteitsgraad daarvan een factor van hoog belang is. De analogie met fotografische technieken maakt het waarschijnlijk, dat bij gelijke gewichtshoeveelheden een hoog-dispers kiemgoud zich sneller en zwaarder laat ontwikkelen dan een compactere massa.

Doch nog een ander moment is hier van belang, n.l. de oppervlakte-toestand van het kiemgoud. Neemt men aan, dat dit kiemgoud — de chemische samenstelling blijve hier in het midden — microkristallijn is, dan zal ongetwijfeld de ontwikkelingsgraad van het kristaloppervlak van groote beteekenis zijn. Kristallen, die een hoog-gedifferentieerd, van talrijke ribben voorzien oppervlak be-

zitten, vertoonen een grooter adsorptievermogen, en daarmee parallel gaand grootere kern-activiteit dan minder gedifferentieerde kristallen; dit vindt zijn verklaring in het feit, dat in het kristal de oppervlakte-krachten bij uitstek door de ribben gedragen worden.

Intusschen zij er hier op gewezen, dat wij bij de beschrijving onzer coupes, sprekende van aantal, grootte en vorm van goudkorrels, daarmee steeds bedoelen de ontwikkelde omhulde goudkorrel, dus eigenlijk het zilverbeeld.

Thans moge het overwegen der voor- en nadeelen onzer methode een plaats vinden. Beginnen wij met de gevoeligheid. Waar fysieke ontwikkeling in staat blijkt om sub-microscopische deeltjes zichtbaar te maken — een eigenschap, waarvan de colloid-chemie herhaaldelijk gebruik maakt voor het tellen van deeltjes — hebben wij van den beginne af verwacht, dat dit de sterke zijde der methode zou zijn, en slaagden er ook in dat experimenteel te bewijzen. Punt van uitgang vormde het werk van *Anstett* (1933), uit de school van *Policard*, die de gevoeligheid der  $\text{SnCl}_2$ -methode met de spectrografie vergelijkt. Conclusie is, dat de spectrograaf veel geringer hoeveelheden weet te vinden dan de chemische methode, zoals trouwens ook reeds door de *Gerlach's* vastgesteld was. Bleef dus voor ons de gevoeligheid der fysieke ontwikkeling te vergelijken met de spectrografie.

Aangezien de resultaten daarvan reeds door ons (1935) gepubliceerd zijn, diene hier slechts een enkel cijfer ter toelichting. *Anstett* slaagt erin — doch niet constant — om een positief spectrogram van de nierschors te verkrijgen na belading van zijn proefdieren tot een hoeveelheid van 200 mg. goud/kg. Fysieke ontwikkeling geeft nog een positief resultaat in de nierschors na belading met  $1\frac{1}{2}$  mg. goud/kg. Bedenkt men daarbij nog, dat dit positieve spectrogram berust op de hoeveelheid goud, in tienduizenden cellen aanwezig (bij het maken van het spectrogram verkoolt ongeveer  $\frac{1}{2}$  mm<sup>3</sup> weefsel) en dat bij fysieke ontwikkeling van een nierschors, na belading met het genoemde bedrag van  $1\frac{1}{2}$  mg. goud/kg., het goud zich cel voor cel in meerdere korrels verdeelt, vertoont, dan blijkt daaruit zonder meer, dat fysieke ontwikkeling zeker honderden malen gevoeliger is dan spectrografie.

Vergelijking der gevoeligheid van ultra-microscopische methode



en physische ontwikkeling is door ons niet experimenteel beproefd; wij gelooven, dat de twee methoden in dit opzicht weinig uiteenloopen. Waarschijnlijk zal physische ontwikkeling iets gevoeliger zijn dan ultra-microscopie.

Evenwel, de gevoeligheid is niet de eenige factor die van belang is, wij moeten ons ook afvragen welke foutenbronnen in de diverse methoden schuilen. En daarin heeft de spectrografie zeker een grooten voorsprong op de physische ontwikkeling; immers, het verschijnen van de bewuste lijnen in het spectrogram is absoluut bewijzend.

Welhaast het tegendeel geldt voor de physische ontwikkeling, die allesbehalve specifiek is; nooit mag men, na ontwikkeling van materiaal, afkomstig van goudieren, uit de aanwezigheid van een zwarte korreling zonder meer concludeeren het bewuste metaal gevonden te hebben. Altijd weer zijn er minstens twee experimenten noodig om daaromtrent zekerheid te verschaffen: 1° controle-materiaal moet blanco blijven, 2° na voorbehandeling met KCN, waarin het goud oplost, moet de ontwikkelde coupe eveneens blanco zijn. Indien men hieraan niet vasthoudt, loopt men groote kans, dat ernstige fouten in het werk binnensluipen. Het ontwikkelen van blanco materiaal behoeft voor iedere weefselsoort slechts éénmaal te geschieden, de KCN-proef daarentegen voortdurend, zoodat men na onderzoek van een bepaald orgaan tenslotte over evenveel normaal ontwikkelde als KCN-praeparaten beschikt. Bovendien make men ook telkens een niet-ontwikkeld praeparaat, teneinde zich ervan te vergewissen, dat niet normale of abnormale pigmenten, eventueel ook formol-neerslagen, aanwezig zijn, die tot verwarring aanleiding zouden kunnen geven.

Onderbreken wij hier een oogenblik, teneinde de specificiteit der beelden, die het ultra-microscopie biedt, te beschouwen, dan moet ook daarvan gezegd worden, dat deze allesbehalve directe conclusies toelaten. Ook daar is steeds de blanco- en, ingeval van goudonderzoek, de KCN-proef noodzakelijke voorwaarde om niet op dwaalwegen te geraken, terwijl men zich er voorts bij heeft moeten neerleggen, dat bij vergrooingen vanaf 800 maal ook in normale organen af en toe oplichtende deeltjes gevonden worden, wier aard vooralsnog onbekend is. Deze maken evenwel het goudonderzoek volstrekt niet onmogelijk, schrijft T i m m.

wat wij op grond van eigen ervaring betreffende de mogelijkheid van het differentieeren van weinig verschillende deeltjes geredelijk kunnen aanvaarden.

Over het algemeen zouden wij willen zeggen, dat — gevoeligheid en foutenbronnen afwegende — physische ontwikkeling en ultra-microscopie ongeveer gelijkwaardige middelen zijn. Beide eischen bovendien een aanzienlijke mate van zelfcritiek, alsook conscientieus werken, teneinde verontreinigingen te vermijden. Men houde steeds Policard's voorwaarde tot het uitvoeren van deugdlijk histo-chemisch werk voor oogen: aseptis chimique.

Thans terugkeerende tot de bespreking der physische ontwikkeling, is de ontwikkelingsduur aan de orde; ook dit blijkt een grootheid, die eenige aandacht verdient. Wanneer men een aantal coupes neemt en die — bij de later in detail te beschrijven opstelling — resp. 5, 6, 7, 8, 9 en 10 minuten ontwikkelt, dan zal men niet alleen de korrel-grootte zien stijgen en het aantal korrels zien toenemen (waarbij het optimum ligt juist voor sluiering intreedt), doch de drie of vier langst ontwikkelde praeparaten zullen zoowel op het weefsel, als op het glas daarnaast een uiterst fijn grijzig neerslag vertoonen. Dit neerslag zal weliswaar weinig of geen aanleiding geven tot verwisseling met het ontwikkelde goud (dat men immers als intra-cellulaire zwarte korrels ziet), doch desalniettemin blijkt eruit, hoe ook uit de „geschützte" oplossing tenslotte het zilver op de coupe neervalt (sluiering). Een foutenbron kan hierin slechts gelegen zijn bij zóó minieme goudsporen, dat, om het goud zichtbaar te maken, de ontwikkeling doorgezet zou moeten worden tot de vorming van een neerslag, terwijl dan bovendien nog het aspect van de ontwikkelde korrel ongeveer gelijk zou moeten zijn aan dat van het neerslag. Met zulke gevallen meenen wij echter, dat de grens der mogelijkheden juist overschreden wordt en zelf hebben wij bij dergelijke gelegenheden de uitkomst steeds als negatief genoteerd.

Een andere eigenschap, die men liever niet zou zien, is, dat een enkele maal collagene- en reticulinevezels, alsook capillairendotheliën zich bruin kleuren. Tot verwarring zal dit geen aanleiding geven, daar het zilver zich op genoemde elementen zóó fijn verdeeld neerzet, dat zij er diffuus bruin uitzien; als regel is dit dus slechts een „Schönheitsfehler". Wenscht men b.v. in een gegeven



geval na te gaan of zich goud in een capillairwand bevindt, dan zijn eventueele zwarte korrels toch nog duidelijk verschillend van het bruine fond, terwijl het bovendien mogelijk is om, desgewenscht, de meekleuring grootendeels te onderdrukken. Daartoe wordt de coupe vooraf gebaad in  $\text{KMnO}_4$ , het  $\text{MnO}_2$ -neerslag vervolgens opgelost in  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$  en daarna ontwikkeld. Hiermede echter is voorzichtigheid geboden, aangezien aldus de fijnste goudkorrels kunnen verdwijnen. Men passe deze oxydatie dus alleen voor bijzondere gevallen toe, en ook dan slechts onder contrôle met niet-geoxydeerde coupes.

Stellen wij ons thans de vraag, voor alle goudonderzoek gelijkelijk van belang, of het menschelijk en dierlijk lichaam onder normale omstandigheden goud bevat. Slechts éénmaal is deze vraag bevestigend beantwoord, en wel door *Berg* (1925), die meent dit metaal in diverse organen gevonden te hebben, soms zelfs in vrij aanzienlijke hoeveelheden; dit laatste speciaal in hersenen.

*Fleedt Kok* — die voor zijn dissertatie (1933) voortdurend met minimale hoeveelheden metaal gewerkt heeft — en *Schaeffer* (1930) hebben aanleiding gevonden dit onderzoek van *Berg* te controleeren en konden daarbij in geen enkel geval goud in de hersenmassa van runderen aantoonen. Tevens vermelden zij, dat een contrôle van Fransche zijde — *Bertrand*, 1932 — eveneens negatieve resultaten opleverde. De conclusie, dat normalerwijze geen goud in menschelijk en dierlijk lichaam aanwezig is, wordt onderschreven door *Schlossmann* (1934) in zijn monografie over goud in het „Handbuch der experimentellen Pharmakologie“.

Uit eigen ervaring kunnen wij daaraan toevoegen, dat wij in blanco materiaal nooit iets ontmoet hebben, dat ons — na ontwikkeling — aan goud deed denken. In praxi behoeft men zich dus bij physische ontwikkeling niet om „physiologisch goud“ te bekommeren: indien aanwezig — en dat lijkt zeer dubieus —, komt het toch niet te voorschijn.

Vatten wij nu vóór de detailbeschrijving onzer techniek nog even samen wat onze meening is aangaande de methodes, bij een volledig goudonderzoek toe te passen, dan luidt deze:

- 1° voor kwalitatief en kwantitatief onderzoek van organen en excretie-producten: chemische analyse;

2° voor histologisch onderzoek: physische ontwikkeling en eventueel de ultra-microscopische methode Voigt-Timm.

Het spectrografisch onderzoek, hoe elegant ook, vermag — nog — niet diep genoeg door te dringen, om bij den huidigen stand der kennis zijn plaats in het goudonderzoek te blijven innemen; het nu reeds als een histologische methode te willen karakteriseeren, schijnt ietwat voorbarig.

De methoden Lombardo-Christeller en Borchardt vervallen als ondoelmatig.

Een wijze van onderzoek, die langzaam in de histologie begint door te dringen, n.l. het fotografeeren met ultra-violette belichting, is nog niet op goudproblemen toegepast; of er mogelijkheden in schuilen, zou slechts het experiment kunnen leeren.

Tenslotte de detailbeschrijving onzer techniek. De daarbij gebruikte gewone histologische methoden vindt men alle vermeld in Romer's Taschenbuch der mikroskopischen Technik, waarnaar, voor zoover noodig, verwezen zij.

Als fixatieven hebben wij gebruikt formol, alcohol-formol en het pikrinezuur-ijsazijn-formolmengsel van Bouin. Formol geeft goede resultaten, doch brengt het gevaar van neerslagen mee; vooral in een uiterst bloedrijk orgaan, als b.v. de placenta, bleek dit lang niet gering te zijn. Er is evenwel aan te ontkomen, door de coupes te behandelen met alkalische alcohol (Verocay), waarin het neerslag ontkleurd wordt. Dat het daarna bij ontwikkeling niet meer zichtbaar wordt, blijkt uit een praeparaat, dat men eerst baadt in alkalische alcohol, vervolgens in KCN en daarna ontwikkelt: het blijft volkomen blank.

De beide andere fixatieven geven veel minder aanleiding tot neerslagen; desalniettemin verlieze men de mogelijkheid van hun optreden nimmer uit het oog. Het c.z.s. hebben wij veelal gefixeerd in alcohol-formol, andere organen in het mengsel van Bouin. Beide geven qua ontwikkeling en, zooals bekend, ook histologisch, uitstekende resultaten.

Na behoorlijke fixatie wordt het materiaal geleidelijk ontwaterd en vervolgens via methylbenzooat-celloidine, een enkele maal ook via cederolie, in paraffine ingesloten. Het snijden geschiedt als gewoonlijk. De dikte der coupes nemen wij veelal 3  $\mu$ , doch daarin



is men geheel vrij. Dikte-verschillen van 1 tot 15  $\mu$  bleken zonder invloed op het ontwikkelingsresultaat.

De voorwerpglazen eischen bijzondere zorg, daar men anders van tijd tot tijd verrast wordt door glazen, die, blijkbaar met reduceerende stoffen verontreinigd, de ontwikkeling doen mislukken. Ter voorkoming daarvan worden de glazen eerst eenige uren gekookt in kalium-bichromaat-zwavelzuur, vervolgens met een pincet uit de vloeistof genomen, stuk voor stuk onder stroomend water gespoeld, nagespoeld in aqua dest. en voorradig gehouden in alcohol-aether, gelijke deelen. De glazen worden verder steeds met pincetten gemanipuleerd tot de ontwikkeling achter den rug is, daarna mogen zij ook in de vingers genomen worden.

Bij gebruik neemt men de glazen dus uit de vloeistof, droogt ze af en maakt ze nat met een sterk verdunde oplossing van eiwit-glycerine, om de coupes vast te plakken. Gedurende de laatste maanden hebben wij voor het opplakken een mengsel van gelijke deelen paardenserum en glycerine, geconserveerd met carbol, gebruikt, dat aanzienlijk beter plakt dan het gebruikelijke kippeneiwit. Voor het gereedmaken van het serum zeggen wij Dr. P o n d m a n van het Rijks-Instituut voor de Volksgezondheid, onzen besten dank.

De coupes worden, als gebruikelijk, gestrekt, gedroogd, gewoonlijk gedurende één nacht, en daarna via xylool en alcoholrij in aqua dest. gebracht, waarna ze gereed zijn ter ontwikkeling.

Van de stoffen, die bij het ontwikkelen gebruikt worden, is de Arabische gom gedeceideerd het zwarte schaap; nooit zijn de porties, die men successievelijk inslaat, van gelijke kwaliteit. Slechts één eigenschap is constant, n.l. de sterke verontreiniging. Het is overbodig om te trachten, b.v. door aanschaffing van Senegal-gom, daaraan te ontkomen, het is toch nooit zooals men het zou wenschen.

Wij gebruiken een 15%-oplossing, waarvan wij telkens porties van 400—500 c.c. maken, die, onder toevoeging van eenige thymol-kristallen, in de ijskast bewaard worden. De ervaring heeft geleerd, dat de gepoederde gom, zooals die in den handel voorkomt, nog sterker verontreinigd is dan de stukken; van deze laatste gaan wij dus uit. Zij worden in een mortier fijngemaakt, daarna met warm water aangewreven en tot zwellung gebracht.

waarna, eveneens met warm water, tot de vereischte maat wordt bijgevuld. Is de gom dan na eenigen tijd opgelost, dan wordt — onder afzuigen met een waterstraal-luchtpomp — gefiltreerd door een Schot 17G2-filter, waarna de oplossing gereed is.

Voor de zilveroplossing gebruiken wij  $\text{AgNO}_3$  pro analyse; hiervan wordt een 2%-oplossing in Arabische gom (15%) gemaakt. Deze dient dagelijks versch bereid te worden en gedurende den dag afgesloten van het licht bewaard.

De hydrochinon-oplossing is eveneens 2% sterk, doch hier is water het oplosmiddel; men gebruike hydrochinon puriss. Deze oplossing moet aangezuurd worden, aangezien anders het zilvermengsel te snel gereduceerd wordt: op 15 c.c. hydrochinon-oplossing komt 4 c.c. 5% citroenzuur (citraenzuur-voorraad in de ijskast).

Onmiddellijk voor men begint te ontwikkelen mengt men één deel hydrochinon- en twee deelen zilveroplossing; dit mengsel wordt gedurende 30 seconden flink geschud en vervolgens op de glazen uitgegoten. De dikte van het vloeistof-laagje op het glas heeft geen invloed op het resultaat.

Vervolgens is de belichting aan de orde. Het eenvoudigste is natuurlijk gebruik te maken van het daglicht, doch tevens is dat het minst constant, zoodat de optimale ontwikkelingsduur kan varieeren van 5—20 minuten en meer. Evenals bij belichting met kunstlicht, moet telkens weer deze optimale duur bepaald worden door een aantal gelijke coupes gedurende verschillende tijden te belichten en het moment te bepalen, waarop de sluier verschijnt. Blijft men daaronder, dan werkt men veilig.

Wij zelf werken sinds maanden met kunstlicht; daartoe zijn 5 Philipslampen (melkglas), elk van 200 Watt, op een plankje gemonteerd, terwijl een mantel van aan de binnenzijde wit geschilderd zink als reflector dient. De afstand van de onderzijde der lampen tot het oppervlak van de tafel bedraagt 21 c.m. Het optimum ligt tusschen 4 en 8, doorgaans omstreeks 7 minuten. De temperatuur op de werktafel onder de lampen bedraagt bij het einde der ontwikkeling  $\pm 38^\circ$ . Praeparaat op witten ondergrond ontwikkelen.

Gedurende de belichting ziet men de kleur van den ontwikkelaar geleidelijk via gelig naar bruin (en tenslotte naar zwart) veran-



deren. Op het vooraf bepaalde oogenblik onderbreekt men de belichting, giet den ontwikkelaar af en brengt het praeparaat gedurende eenige minuten in een 10% hypo-oplossing, waarin het aanvankelijk eenige malen krachtig bewogen wordt.

Daarna wordt het praeparaat gedurende korten tijd in aqua dest. gebracht en is het gereed om gekleurd en gemonteerd te worden. Als routine-kleuring kieze men karmaluin, dat een uitstekend contrast met de zwarte korreling geeft. Desgewenscht echter kan iedere kleuring — voor zoover de fixatie dat toelaat — toegepast worden; wij zelf gebruikten o.m. haematoxyline-eosine, methyleenblauw, gentiaanviolet, azan, methylgroen-pyronine, eosine-azuur, Sudan III en gallocyanine. Bij de gallocyanine-kleuring wordt het zilver in een geelgroene tint meegekleurd.

Al deze kleuringen laten zich na ontwikkeling nog met uitstekend effect uitvoeren. Daarmede wordt dus bewezen, dat met de physische ontwikkeling een aantal histologische onderzoek-methoden gebruikt kunnen worden, stuk voor stuk hun typische gegevens verschaffend, wat o.i. een niet te miskennen voorsprong op het ultra-microscopisch onderzoek beteekent. Dáár immers maakt men uitsluitend het metaal zichtbaar, want door den hoogen brekings-index van den Canada-balsem blijft het weefsel zelf onzichtbaar, hoogstens kan de kern door voorzichtige kleuring met haematoxyline zichtbaar gemaakt worden. De toestand van het weefsel, zij het uit histologisch, cytologisch of pathologisch oogpunt, kan daarbij dus niet gelijktijdig onderzocht worden.

Het werken met vriescoupes brengt geen enkele principieele verandering. De coupes worden na het snijden opgevangen in aqua dest., in het boven beschreven mengsel  $\text{AgNO}_3$ -hydrochinon gebracht, waarvan men in dit geval 2 à 3 c.c. in een klein bakje gebruikt, en na het verstrijken van den bepaalden ontwikkelduur in het hypo-bad gelegd, enz.

De KCN-contrôle geschiedt door het praeparaat uit aqua dest. in een 0,1 % oplossing van KCN te brengen; daarin late men het gedurende circa 20 minuten. Vervolgens begint men het gedurende eenige minuten in even aangezuurd water te spoelen, waarna het nog minstens een kwartier met stroomend water gespoeld wordt. Daarna wordt het in aqua dest. gezet, als gebruikelijk ontwikkeld, enz. Het woord „gebruikelijk” verdient hier nog een toelichting:

teneinde zoo scherp mogelijke contrôle te hebben, ontwikkelde men het KCN-praeparaat tot de ontwikkelaar dezelfde kleur bereikt heeft als bij behandeling van het normale praeparaat.

Onaangename ervaringen hebben ons geleerd, dat sporen KCN voldoende zijn om het goud in de coupes te doen oplossen. Dit maakt het noodzakelijk om vanaf het moment, dat het praeparaat in de KCN-oplossing geweest is, voor de verdere behandelingen een aantal vaten te reserveeren (en te merken!), die verre van het „normale glaswerk" gehouden moeten worden. Hieraan niet de hand te houden veroorzaakt vroeger of later met absolute zekerheid grove fouten.

Voor eventueel oxydeeren gebruiken wij een  $2\frac{1}{2}\%$  oplossing van  $\text{KMnO}_4$ , waaraan zoo noodig op 100 c.c. 2 druppels  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 % worden toegevoegd; de coupes verblijven daarin circa 10 minuten, worden daarna afgespoeld en komen dan in een bad van 1 %  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ , tot het  $\text{MnO}_2$ -neerslag opgelost is. Daarna spoelen, ontwikkelen, enz. Toevoeging van zwavelzuur doet de oxydeerende werking van het  $\text{KMnO}_4$  zeer sterk toenemen: eenerzijds sterker terugdringen van eigen reductie van capillair-endotheliën e.a., anderzijds toenemend in oplossing gaan van goudsporen. Men zij er zich dus van bewust een tweesnedig zwaard te hanteeren.

Uit alle bovenstaande overwegingen blijkt, dat physische ontwikkeling een methode is, die, bij verregeaande gevoeligheid, ons in staat stelt het gezochte metaal uiterst scherp in het weefsel te localiseeren.

Het is evident, dat toepassing dezer methode geenszins tot het goudonderzoek beperkt behoeft te blijven; integendeel, het ligt voor de hand te trachten haar ook te gebruiken ter opsporing van andere elementen in hun fijne verdeling in het weefsel.

Niet onmogelijk ware het, dat daarbij de doorgankelijkheid van oppervlakken, die tot dusverre als impermeabel golden, aan het licht zou komen. Zoodoende zou de methode in staat blijken ons histo-physiologisch inzicht te verdiepen.



### HOOFDSTUK III.

## GOUDVERDEELING IN PLACENTA, VLIEZEN EN UTERUS.

Teneinde bij de beschrijving der goudverdeeling in de placenta de oriëntatie te vergemakkelijken, doen wij een korte beschrijving volgen van de rijpe rattenplacenta, zooals deze zich voordoet op een coupe, die van meso- naar anti-mesometraal loopt. Wij verwijzen daarbij naar onze figuur N<sup>o</sup> 1, die schematisch den bouw der placenta weergeeft, waarbij wij voor de interpretatie D u v a l (1892) en G r o s s e r (1927) volgen.

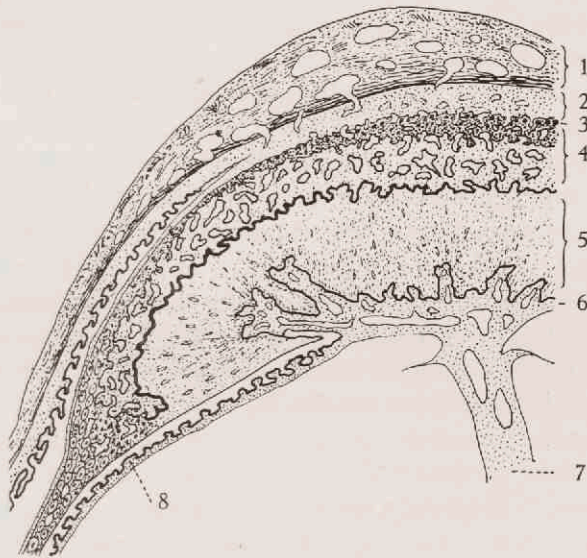


Fig. 1. Schema van de rijpe ratten-placenta (Duval, 1892).

- |                                |                        |
|--------------------------------|------------------------|
| 1. Musculatuur van den uterus. | 5. Labyrinth.          |
| 2. Decidua.                    | 6. Allantois-mesoderm. |
| 3. Laag der reuzencellen.      | 7. Navelstreng.        |
| 4. Plasmodium.                 | 8. Dooierzakvlokken.   |

De buitenste laag (1) — de cijfers tusschen haakjes verwijzen naar onze figuur N<sup>o</sup> 1 — wordt gevormd door de gladde musculatuur, die dus onmiddellijk onder de serosa van den uterus ligt, terwijl zij naar binnen toe begrensd wordt door de decidua (2). Deze bestaat uit een betrekkelijk smalle laag van vertakte bindweefsel-cellen, gelegen temidden van een aanzienlijke hoeveelheid intercellulaire stof. Deze laag wordt op haar beurt naar binnen toe begrensd door een zône van reuzencellen (3), die zich geïndividualiseerd hebben uit het daaropvolgende plasmodium. Het meerendeel dezer cellen maakt een normalen, actieven indruk, doch wij zagen er ook met duidelijk pyknotische, „verkümmerte” kernen. Hetzelfde verschijnsel is door G r o s s e r (1927) gezien.

Vervolgens komen wij aan de middenlaag (4) van het plasmodium, een derivaat van den trophoblast. Dit plasmodium is een mazenwerk, waarin men op ieder knooppunt een kern vindt, welke kernen steeds grooter worden, om tenslotte nagenoeg ongemerkt over te gaan in die van de hooger beschreven reuzencellen. Ingesloten in de mazen van dit plasmodium vindt men een aantal lichtgekleurde celeilandjes (de ilots vésiculeux van D u v a l) en een systeem van communiceerende ruimten. De eilandjes zijn kenbaar aan hun lichte kleur, waardoor zij reeds bij matige vergroo-ting opvallen. Zij bestaan uit éénkernige cellen met een zeer waterrijk protoplasma, waarvan men in de praeparaten niet veel anders dan de celwanden ziet, met wat „Gerinnsel” op de plaats van het perinucleaire protoplasma. Zij vormen in deze laag de resten van de decidua, die — met uitzondering dan van de eilandjes in kwestie — door trophoblast-plasmodium verdreven is. De hooger genoemde communiceerende ruimten zijn lacunen, waarin het moederlijk bloed circuleert, daarbij in direct contact met het weefsel van den trophoblast, dus zonder eigen endothelium. De onderste laag van het plasmodium (in ons schema niet genummerd) is gekenmerkt door de aanwezigheid van foetale capillairen.

Hierop weer volgt de laag van de „ectoplacenta proprement dit” (D u v a l), door G r o s s e r „Placentarlabrynth” genoemd (5). Deze weefselmassa kan men zich voorstellen te zijn opgebouwd uit foetale capillairen, kenbaar aan hun endothelium, op den buitenwand waarvan zich een meer of minder dikke laag plasmodium bevindt. Dit plasmodium wordt in alle richtingen doorboord door

een systeem van endotheellooze ruimten, die niets anders zijn dan de voortzetting van de moederlijke bloedlacunen, die wij reeds in de vorige laag ontmoetten. Naarmate het einde van de graviditeit nadert, neemt de dikte van dit plasmodium steeds af, zoodat tenslotte de foetale capillairen, slechts door resten van den trophoblast bedekt, in het moederlijke bloed baden.

Tenslotte komen wij aan de plaats, waar het mesoderm van de allantois (6) contact maakt met de placenta. Een aantal foetale vaten, begeleid door mesoderm, dringt van hier het placentaire labyrinth binnen.

De dooierzak der knaagdieren met inversie van de kiembladen maakt een zeer merkwaardigen ontwikkelingsgang door. Oorspronkelijk een ingedeukte zak, ingevolge waarvan aan den wand een visceraal en parietaal deel onderscheiden kunnen worden, gaat in den loop der graviditeit het parietale blad, samen met het zich daarop bevindende ectoderm, verloren, zoodat dan — wanneer tevens de decidua reflexa verdwenen is — het visceraal blad van den dooierzak met zijn epitheel op het weefsel van den uterus rust en van een dooierzaklumen geen sprake meer kan zijn. Daarbij vindt bovendien in dien viscerale wand een sterke differentiatie plaats, in dien zin, dat zich in de nabijheid der placenta een groot aantal vlokken en plooiën vormen, terwijl het anti-mesometrale deel vlak blijft.

Aan de placentaire zijde heeft zich intusschen nog een complicatie voorgedaan, en wel doordat daar het oorspronkelijke lumen van den dooierzak zich met een aantal instulpingen een weg in de placenta heeft gebaan, daarbij ongeveer tot op  $\frac{1}{4}$  van de hoogte van het placentaire labyrinth doordringend. Deze instulpingen vertoonen dus tot het einde van de graviditeit niet alleen het visceraal, doch ook het parietale blad van den dooierzak. Terwijl het eerste uit een continue laag van hooge, plasmarijke cellen bestaat, doet het laatste zich voor onder den vorm van vrij ver uiteenliggende kernen, door een slechts zeer geringe hoeveelheid cytoplasma omkleed.

Bij dit doordringen in de placenta schuift zich het dooierzaklumen gaarne om de grootere foetale vaten als as naar boven, waardoor een zeer karakteristiek beeld ontstaat: in het centrum een foetaal vat, omgeven door mesoderm, dit laatste bekleed door



het viscerale blad van den dooierzak, dan het lumen en vervolgens het parietale blad, rustend op het foetale syncytium.

Tenslotte zij nog vermeld, dat tegen het einde van de graviditeit dooierzak en amnion vergroeien, terwijl, zooals gezegd, de decidua reflexa geheel verdwijnt. Dringt men dus vanaf de anti-mesometrale pool binnen, dan passeert men achtereenvolgens den uteruswand, het uteruslumen, den geïnverteerden dooierzak samen met het amnion, waarna men in de amnionholte aangekomen is.

Beschouwen wij thans de goudverdeeling in de rijpe placenta van een rat, beladen tot 500 mg. goud/kg.; wij beschrijven de lagen in de volgorde, waarin wij ze in de voorafgaande beschrijving opgesomd hebben.

De serosa vertoont een geringe belading; de goudkorreltjes liggen in één rij in het plasma der langgestrekte spoelvormige cellen. Voor zoover er nog een laagje bindweefsel onder gelegen is, vindt men daarin diverse typen van cellen, waarvan enkele vrij zijn van goud, het meerendeel een matige hoeveelheid bevat, terwijl een aantal tenslotte door zeer massieve belading opvalt.

De gladde spieren hebben het goud niet kunnen weren; zowel in de directe omgeving der kernen als op grooter afstand daarvan vindt men lange rijen van korrels, vanaf nauwelijks zichtbaar tot middelmatig groot, waarbij wij geen bepaalde karakteristieke rangschikking kunnen vaststellen. De bindweefselcellen tusschen en om de spieren onderscheiden zich door zwaardere belading.

De deciduacellen zijn alle beladen; het perinucleaire plasma en de vertakte, onderling samenhangende uitloopers vertoonen beide een aanzienlijke hoeveelheid goud. De grootte der korrels is zeer verschillend, ze wisselen van nauwelijks zichtbaar tot bolletjes van ca. 1  $\mu$  en conglomeraatjes van 2—3  $\mu$ . Wij spreken hier van conglomeraatjes vanwege den grillig gevormden omtrek, dien ze vertoonen: soms is deze regelmatig en herhaaldelijk geschulpt, een andermaal ziet men er kleine, dunne uitloopertjes aan, dan weer doen ze denken aan een klaverblad van vier, alles beelden zonder regelmaat of ordening, die sterk de gedachte aan confluentie in het leven roepen.

Een ander beeld echter vertoont de hierop volgende laag van reuzencellen. Het eerst wordt hier de aandacht getrokken door een aantal gevallen, waarin het goud groote neiging heeft om op

de kernmembraan te gaan liggen en juist dan heeft men met de hooger genoemde pyknotische kernen te doen. Daarenboven zagen wij enkele gevallen van klaarblijkelijk zeer ver voortgeschreden degeneratie van de kern, waarbij het goud ook in de kernmassa

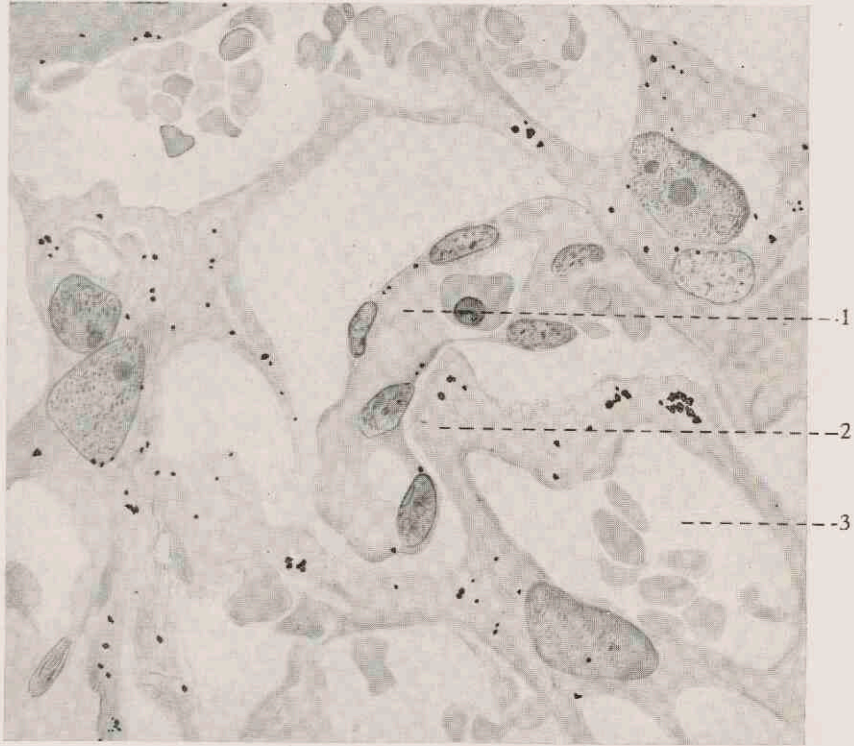


Fig. 2. Rijpe ratten-placenta. Vergrooting 1200  $\times$

1. Foetale capillair, geringe belading van het endothelium.
2. Syncytium, sterker beladen.
3. Moederlijke bloedruimte in het syncytium.

doorgedrongen was. Zien wij dan hoe in de overige reuzencellen de goudkorrels verspreid in het cytoplasma liggen, dan ontkomt men niet aan de voorstelling, dat bij het sterven van de cel het goud zich van de periferie naar het centrum verplaatst.

De nu volgende middenlaag van het trophoblast-plasmodium gelijk in haar beladingstype op de intacte reuzencellen: geen

perinucleaire ophooping, doch een verspreide ligging in het cytoplasma. Dit plasma vertoont een schuimig, gedeeltelijk ook vacuolair aspect en het is geen uitzondering, dat men één of meer goudkorreltjes hetzij in het lumen, dan wel tegen den wand van die vacuolen aantreft. Het is wellicht niet overbodig hieraan toe te voegen, dat wij speciaal bij het aantreffen van goudkorrels in vacuolen zeer huiverig zijn om daaruit conclusies te trekken ten opzichte van de ligging gedurende het leven, omdat juist in het zoo waterrijke milieu dier vacuolen bij fixatie en ontwatering der stukken sterke stroomingen moeten optreden. De grootte der goudkorreltjes blijft in het algemeen beneden die van de reuzencellen, doch evenals daar zijn zij bolvormig.

Ook de decidua-eilandjes (*ilots vésiculeux*) zijn beladen, doch zóó afwijkend is hun beladingstype, dat men reeds op grond daarvan zou kunnen zeggen: het mazenweefsel en de eilandjes zijn van geheel verschillenden aard. Het aantal goudkorrels per cel bedraagt vaak niet meer dan 3—5, terwijl zij verspreid in het sterk geschrompelde plasma liggen, zoodat de dichtheid hier veel geringer is dan in het plasmodium. Bovendien zijn de korrels hier grooter en veel grilliger gevormd, dit laatste zooals reeds beschreven voor de deciduacellen.

Aangezien de onderste laag van het plasmodium (waarin de foetale capillairen nog doordringen) in haar gedrag overeenkomt met de middenlaag resp. met het labyrinth, kunnen wij thans gevoegelijk overgaan tot de beschrijving van dit laatste.

Het syncytium vertoont een algemeene belading van middelmatige intensiteit (zie fig. 2, blz. 37). De korrels liggen in het cytoplasma, zonder zichtbaar regelmatige rangschikking of voorkeursplaats; ze zijn van verschillende afmeting, in het algemeen niet grooter dan ca. 1  $\mu$ , deels bolvormig, anderdeels van oneffen oppervlak, zonder nochtans extreem grillige contouren te vertoonen. Het tweede element van het labyrinth, n.l. de foetale capillairen, heeft natuurlijk onze bijzondere belangstelling gehad in verband met de vraag waar het goud van de moeder op de vrucht overgaat. In dit verband stelden wij vast, dat het goud zonder eenigen twijfel in het kinderlijk vaatendotheel aanwezig is, doch slechts in zeer geringe mate. Vele gezichtsvelden moeten afgezocht worden (met immersie-vergrooting) vóór men een endotheelcel



vindt, die een goudkorrel vertoont en doorgaans zijn het er dan niet meer dan een tot drie op de dwarsdoorsnede van een capillair. Hierbij zij nog vermeld, dat wij vroeger reeds een jongere placenta (14 dagen) onderzochten, die wij evenwel terzijde legden, aangezien de doorsnede weinig instructief viel. Doch ook in dit object was de aanwezigheid van goud in het foetale capillairendothel met alle zekerheid vast te stellen.

Het gedrag van het mesoderm, voor zoover dit de kinderlijke vaten in de placenta begeleidt, komt overeen met het mesoderm, zooals wij dat in het begin van de navelstreng onderzochten. Over het algemeen heeft dit weefsel slechts weinig goud opgenomen; men vindt het in zeer geringe mate in lange, spoelvormige elementen en iets meer in een aantal afgeronde cellen, met ongeveer ronde, vrijwel homogene kern en goed afgegrensd plasma, dat in het karmijn-paerparaat een grijsgele tint vertoont, waarin men b.v. 5—10 verschillend groote goudkorrels vindt. Overeenkomstige cellen worden nog beschreven bij de bespreking van het mesoderm van het foetale lichaam.

Bezien wij thans het entoderm, dan blijkt het gedrag daarvan te verschillen alnaar de plaats waar men het ontmoet. Wij beginnen met dat gedeelte, dat in de placenta zelf doordringt (endoderme interombilico-placentaire van D u v a l). Zoowel het viscerale als het parietale blad daarvan vertoonen slechts geringe activiteit; desalniettemin constateert men, dat beide zich met goud beladen hebben, zij het ook slechts in een deel hunner cellen. Wij vinden dan b.v. 3 korreltjes per cel, die zeker niet meer dan  $1 \mu$  groot zijn en alle den bolvorm vertoonen. Verschillen tusschen de beide bladen zijn ternauwernood of niet vast te stellen; het zekerst lijkt ons nog, dat het parietale blad iets meer opgenomen heeft en een ietwat grovere korrel vertoont. Wat betreft de ligging der korrels, men kan ze in beide bladen zoowel apicaal, intermediair als basaal vinden, waarbij het verschil in ligging niet met verschil in grootte gepaard gaat.

De entodermcellen, die het oppervlak van de placenta bekleeden, zijn actiever geweest dan de vorige. Zij bevatten practisch alle een vrij groot aantal korrels, tot een maximum van 10—20. De bolvorm is het sterkst vertegenwoordigd, doch ook samengestelder vormen komen voor. Het goud ligt verspreid in het cytoplasma.

De cellen in kwestie liggen niet direct op het placentaire weefsel zelf, doch zijn daarvan nog gescheiden door een structuurlooze membraan, de cuticule ectodermique van D u v a l, waarin men slechts met de grootste moeite hier en daar een enkel korreltje ziet.

Zooals wellicht te verwachten was, is het beladingstype van de entodermcellen, die de dooierzakvlokken in de nabijheid der placenta bekleeden, van een totaal ander type (zie fig. N<sup>o</sup> 3). Hun belading is verreweg de zwaarste, die wij ooit in een foetaal weefsel zagen; zelfs bij volwassen dieren moeten aanzienlijke hoeveelheden goud geïnjiceerd worden, wil een dergelijke graad van belading — b.v. in histiocyten — bereikt worden. In de bewuste cellen frappeert dus in de eerste plaats een massieve belading; zeer vele cellen bevatten één groot brok, waarvan de grootste doorsnede ongeveer 10  $\mu$  kan bedragen en dat van zeer onregelmatige gedaante is. Daarenboven vindt men nog een aanzienlijke hoeveelheid brokken en korreltjes van zeer uiteenlopende grootte en vorm. Hierbij is de verdeling in het algemeen zoo, dat het goud zich voor verreweg het grootste deel in het apicale gedeelte van de cel bevindt, terwijl men vaak ziet, dat het groote conglomeraat ongeveer ter hoogte van den top van de kern ligt, omgeven door kleinere korrels, zooals er ook nog verder apicaal aangetroffen worden. In het basale deel der dooierzak-epitheelcellen vindt men slechts bij wijze van uitzondering enkele zeer fijne goudkorreltjes. Het is merkwaardig te zien hoe dit beeld welhaast tot in detail overeenkomt met dat wat het darmepitheel der foetus van konijn N<sup>o</sup> 3 biedt.

Voorts vindt men in het cytoplasma der dooierentodermcellen een groot aantal vacuolen, in onze praeparaten leeg, die naar alle waarschijnlijkheid vet hebben bevat, en tenslotte zien wij, vooral in het apicale deel der cellen, de „grains albuminoïdes” van B r a n c a (1923), die een geelbruine kleur vertoonen en waar-tusschen in den regel fijne goudkorreltjes gelegen zijn.

In het vlokkenstroma, in het vaatendotheel en tenslotte in het onderliggende mesothelium vindt men een geringe hoeveelheid fijne goudkorreltjes.

Het epitheel van het vlakke deel van den dooierzak vertoont

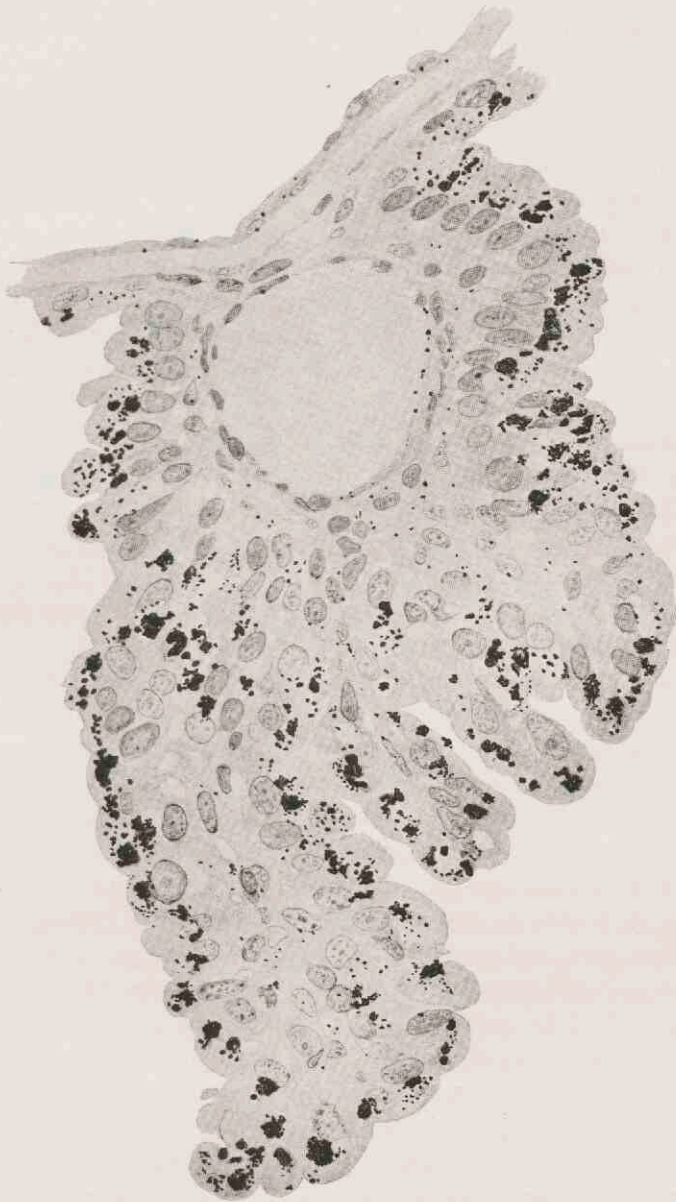


Fig. 3. Vlok van den dooierzak van een hoogbeladen rat. Vergrooting 670 X.  
Sterke belading van het epithelium, aan de apicale zijde vooral zeer grofkorrelig.  
Geringe belading van het endotheel van het groote dooiervat.



nagenoeg hetzelfde beeld, alleen is hier de hoeveelheid opgenomen goud waarschijnlijk iets geringer.

Wat betreft het gedrag van het uterus-epithelium, dit hebben wij op drie verschillende tijdstippen bestudeerd en wel vóór, halverwege en tegen het einde van de graviditeit. Voor het laatste geval hebben wij als voorbeeld gekozen het aan de anti-mesometrale zijde geregenereerde epithelium; men ziet daarin vanaf de basis tot aan den uitersten rand van den top een zeer groot aantal fijne goudkorreltjes, die in afmeting varieren van de grens van zichtbaarheid tot ca.  $0,5 \mu$ . Regelmaat in de verdeling door het cytoplasma of grootte-verschillen al naar de ligging basaal of apicaal, is niet vast te stellen. Deze uterus-epitheelcellen zijn van het dooierentoderm gescheiden door een donkergekleurde zône, volgens G é r a r d (1925) „un liquide albumineux, qui provient d'une sécrétion de l'épithélium utérin", waarin wij meenen ook goud gezien te hebben. Dezelfde beschrijving geldt voor het uterus-epithelium halverwege de graviditeit.

Ter beschrijving van het gedrag der epitheelcellen van een niet-graviden uterus baseeren wij ons op materiaal van een konijn, dat in twee tempi tot ca. 500 mg. goud/kg. beladen werd. Het bewuste metaal is in groote hoeveelheden in alle epitheelcellen aanwezig; het doet zich voor in den vorm van zeer fijne korreltjes tot samengestelde brokjes van hoogstens ca.  $2 \mu$ , die men op alle plaatsen in het cytoplasma kan vinden. Opmerkelijk is daarbij, dat het niet in alle cellen in dezelfde verdeling voorkomt; zoo konden wij b.v. zonder eenige moeite twee typen vaststellen: één waarbij men vlak boven de kern een bescheiden aantal grootere goudkorreltjes ziet, een ander, waarbij uiterst fijne goudkorreltjes in groote hoeveelheden in het apicale protoplasma liggen, ja zelfs vonden wij af en toe een solitair korreltje op of tusschen de trilharen. Deze liggingsverschillen interpreteren wij als uitdrukking van een secretie-cyclus, waardoor dus goudhoudend materiaal in het uteruslumen wordt gebracht.

Tenslotte zij nog opgemerkt, dat wij in dezen uterus een groote hoeveelheid afgestooten epitheelcellen in het lumen hebben gevonden, die alle rijkelijk met goud beladen waren; zij vertoonden verschillende degeneratie-toestanden en zullen, als zij tenslotte uiteenvallen, hun goud in het uteruslumen doen vrijkomen.

## HOOFDSTUK IV.

### GOUDVERDEELING IN HET FOETALE LICHAAM.

#### 1. *Konijn N<sup>o</sup> 3.*

Dit dier werd uitsluitend gedurende de graviditeit geïnjecteerd en wel tot een hoeveelheid van 120 mg. goud/kg. Ongeveer één uur na de spontane geboorte werden de embryonen gedood en hunne organen in formol gefixeerd.

In de nier (zie fig. 4, blz. 44) vertoont een aantal der tubuli contorti sterke belading; een geringer hoeveelheid vindt men in de glomeruli, waar ook het parietale blad der kapsel van Bowman eenige belading vertoont, terwijl men in het interstitium af en toe een sterker beladen histiocyot vindt. Een geringe hoeveelheid goud is aanwezig in het bindweefsel der nierkapsel.

In het epithelium der vlokken van den dunnen darm vindt men een buitengewoon zware belading; merkwaardig is, dat deze van den top naar de basis toe zeer sterk afneemt. Terwijl men in het meerendeel der epitheelcellen op of bij den top eenige kleinere en één groote korrel vindt, vertoonen de cellen aan de basis van de vlok slechts eenige kleine korreltjes. De verdeling van het goud in de epitheelcellen op den top is aldus, dat men de eene groote korrel tegen de kern vindt en de kleinere zoowel in hetzelfde niveau als daarboven. Slechts zelden vindt men eenige fijnere korreltjes in het basale deel der cellen. In het vlokkenstroma ziet men een kleine hoeveelheid goud, wat wel niet anders dan als uitdrukking van resorptie geïnterpreteerd kan worden.

Een doorsnede door een extremitet doet zien, dat kraakbeen, epidermis en haren geheel vrij van goud zijn, terwijl daarentegen perichondrium en bindweefsel geringe belading vertoonen. In het bindweefsel vindt men, zij het ook zelden, cellen met goed af-

gegrensd protoplasma en relatief zwaardere belading, die op grond daarvan histiocyten genoemd kunnen worden.

In het hart blijken de spiervezels vrij van goud te zijn; een

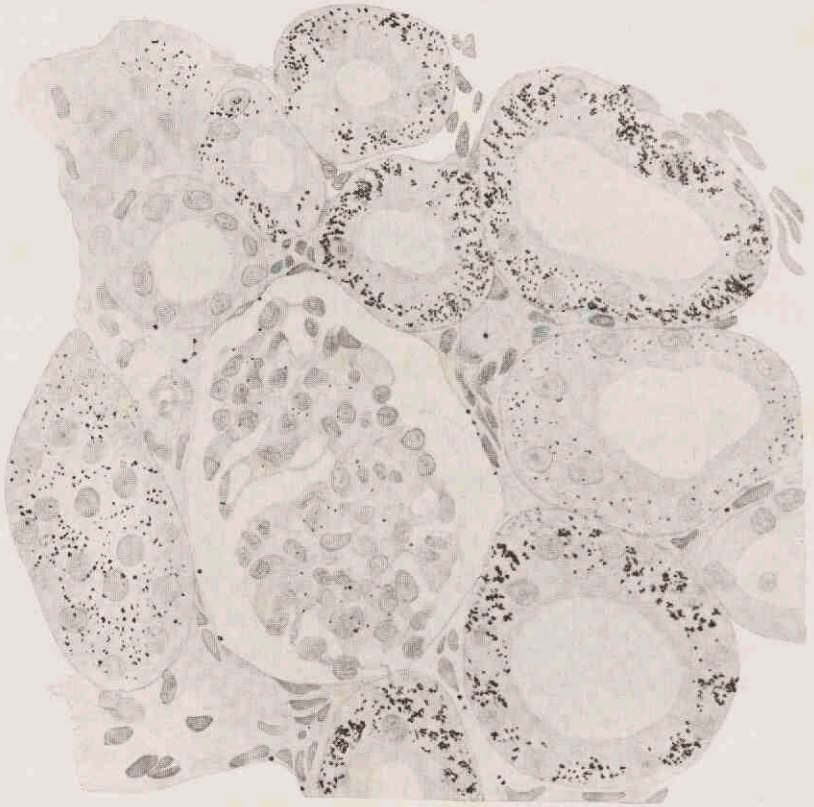


Fig. 4. Nier van een embryo van konijn No. 3. Vergrooting 670  $\times$   
 Geringe belading van den glomerulus. De gewonden buisjes vertoonen verschillende beladingstypen.

geringe belading vindt men in de cellen van het endocard en in het interstitieele weefsel.

In de lever vindt men het goud welhaast in alle endotheelcellen opgenomen. In het protoplasma dezer cellen vindt men doorgaans een enkelvoudige rij van kleine korrels, doch van plaats tot plaats



vindt men deze eenvoudige endotheelbekleding onderbroken door een zwaarder beladen cel, wier kern en plasma ver in het vaat-lumen uitsteken, en derhalve als von Kupffercel te beschouwen is. De levercellen zelf, alsook de megakaryocyten zijn volledig vrij. Het galblaasepithelium is zwak beladen, iets sterker het daar-onder gelegen bindweefsel.

Een coupe door den borstwand leert het gedrag van ribkraak-been en dwarsgestreepte spiervezels kennen: beide weefsels zijn geheel vrij van goud. Daarentegen vindt men een diffuse belading van het bindweefsel der spieren en van het perichondrium, waar zich af en toe ook een zwaarder beladen histiocyten vertoont.

Door een ongelukkig toeval mislukte de fixatie van het c.z.s., zoodat dit niet onderzocht kon worden.

## 2. *Konijn N° 2.*

Bij dit dier injecteerden wij voor de paring 200 mg. en gedurende de graviditeit nogmaals 700 mg. Sanocrysine, dat is omgerekend 120 mg. goud/kg. Op den 23en dag na de coïtus werd het dier gedood; van de 5 embryonen bleken er 4 gestorven te zijn, zoodat slechts één foetus onderzocht kon worden.

Wederom zijn een aantal der tubuli contorti van de nier beladen, ditmaal echter zeer zwak, terwijl de glomeruli vrij zijn. Het perirenale bindweefsel vertoont een aantal vrij sterk beladen histiocyten.

Het darmepitheel is negatief; zoo ook de overige lagen der mucosa en der muscularis. In de submucosa daarentegen vindt men een enkele goed beladen histiocyten.

Het beeld van den borstwand komt overeen met dat van het vorige dier: epidermis en kraakbeen vrij, goed beladen histiocyten in het onderhuidsche bindweefsel en diffuse belading van het perichondrium.

Eveneens als in het vorige geval zijn ook hier de hartspiervezels vrij van goud, terwijl men een geringe belading vindt van endocard, intramuraal capillairendotheel en -bindweefsel.

Parenchym en stroma van de long zijn negatief.

Het c.z.s. van dezen foetus werd seriaal gesneden, zoodat wij over een volledig overzicht daarvan beschikken. Aldus stelden wij vanaf het halsmerg tot en met het telencephalon éézelfde be-

ladingstype vast: het goud bevindt zich uitsluitend in de omranding der hersenholten en wel in die lagen, die de onmiddellijke begrenzing van het ventrikellumen vormen. De sterkste ophooping van het goud vindt men in het medio-dorsale en -ventrale ependym, vooral ventrikelwaarts van de kernen. In dit geval zijn de zenuwcellen dus vrij van het gezochte metaal.

De plexus chorioidei zijn alle beladen, het sterkst in den 4en ventrikel. Men vindt het goud in het epithelium, in het stroma (zoowel onregelmatig verspreid als opgehoopt in histiocyten) en in het capillairendotheel. Vooral rondom den plexus van den 4en ventrikel vindt men een vrij aanzienlijke hoeveelheid zwaarbeladen cellen, die zich vrij in den liquor bevinden. De herkomst dezer vrije cellen hebben wij niet met zekerheid kunnen vaststellen; slechts af en toe kregen wij den indruk, dat een cel uit de epitheelbekleding van den plexus bezig was zich los te maken. Doch zelfs indien wij hiervan geheel zeker waren, dan bleef nog ter verklaring over, waarom de belading dezer vrije cellen zoo enorm veel hooger is dan die der epitheelcellen van den plexus; het opnemen van goud uit den liquor zou hier de oplossing kunnen zijn, waarbij wij echter moeten bedenken, dat de aanwezigheid van goud in den liquor der embryonen slechts een hypothese is. Wij herinneren in dit verband aan het feit, dat door *Lebeuf c.s.* (1931) aangetoond is, dat bij den mensch het goud de bloedliquorbarrière kan passeeren.

Een belading van capillairendotheel, zooals wij die reeds voor de plexus chorioidei meldden, vindt men echter overal in het c.z.s. Het zijn echter niet meer dan minimale hoeveelheden, die eerst goed in het oog springen, wanneer men den ontwikkeltijd langer dan normaal kiest.

Een belading van zenuwcellen hebben wij niet kunnen vaststellen, noch in het c.z.s., noch in de groote gangliën.

### 3. *Rat N° 50.*

Voor de graviditeit injecteerden wij 180 mg. en gedurende de graviditeit nogmaals 180 mg. Sanocrysine, dat is omgerekend 600 mg. goud/kg. Het dier werd gedood, toen de embryonen 14 dagen oud waren.

De verdeling van het goud in het foetale lichaam komt in groote

trekken met die van het vorige dier overeen. Opvallend evenwel is, dat de hooge belading der moeder slechts tot zeer geringe belading van het embryonale lichaam heeft geleid. Ter verklaring hiervan zullen wij voor oogen moeten houden, dat wij hier met een veel jonger embryo en dus ook met een veel jongere placenta te doen hebben dan in het vorige geval. Een eerste mogelijkheid zou dus kunnen liggen in een geringer doorgankelijkheid der jonge placenta. Nemen wij dit echter niet aan, dan zou men zich kunnen voorstellen, dat de weefsels van het jonge embryo reeds bij geringe belading „verzadigd” zijn, waarbij wij ons zeer wel realiseeren, dat de veronderstelde snellere verzadiging eerder een omschrijving dan een verklaring is.

De sterkste belading vertoont in dit geval het c.z.s., waar het goud wederom in de directe nabijheid der hersenholten gelegen is. Zoo vertoont zich een geringe belading van het dorsale en ventrale ruggemergsependym, een iets sterkere in den bodem van den 4en ventrikel, zeer nabij het lumen gelegen, waar de goudkorrels in de streek der raphe een duidelijke dwarse rangschikking vertoonen, vervolgens in het dak van den 4en ventrikel, waar men een beduidend grovere korreling vindt. Voorts treft men een fijnkorrelige belading in den wand van den aquaeductus, een relatief sterke belading der hypophysairstreek en tenslotte nog een geringe belading in de omgeving van de lamina terminalis. De gangliëncellen zelf zijn dus wederom vrij.

Het endotheel der levercapillairen heeft slechts zóó weinig opgenomen, dat het niet dan met moeite zichtbaar gemaakt kan worden.

In het bindweefsel zijn slechts sporen aan te toonen, de aanleg der epidermis is vrij van goud.

De nier is negatief, het darmepitheel daarentegen zwak beladen.

#### 4. *Rat. N° 51.*

Vóór de graviditeit kreeg dit dier een aantal injecties tot een hoeveelheid van 140 mgr. Sanocrysine, terwijl gedurende de graviditeit eenzelfde hoeveelheid werd gegeven, dat is omgerekend 480 mg. goud/kg. Het dier werd gedood, toen de embryonen 17 dagen oud waren. Terwijl dus dit dier belangrijk minder Sano-



crysine heeft gekregen dan het vorige, is de belading der foetus toch veel zwaarder.

Het parenchym van nieren, longen, speekselklieren en pancreas is vrij; deze organen vertoonen slechts sporen in het stroma. De epidermis blijkt geen goud te bevatten. De darmwand doet sporen zien in het bindweefsel en in de muskulatuur, het epitheel daarentegen is negatief.

De skeletmuskulatuur bevat geen goud; slechts de tong vormt hier een — volmaakt onverklaarbare — uitzondering, met geringe belading van haar spiervezels.

Het perichondrium vertoont overal een matige belading; bijna alle kraakbeencellen vertoonen eenige kleine goudkorreltjes.

In het oog vindt men een zeer uitgesproken belading der bindweefselcellen van het corpus vitreum in aanleg.

In het corium en subcutane bindweefsel vertoonen een groot aantal der spoelvormige bindweefsel-elementen een of meerdere goudkorreltjes; daarenboven vindt men voornamelijk in de subcutis een groote hoeveelheid zwaar beladen cellen van rondachtigen vorm, met donker, deels gevacuoliseerd protoplasma, waarvan een aantal vrij in het reticulum schijnt te liggen. Op deze laatste cellen stellen wij de diagnose: histiocyten.

De epitheelcellen van het vliezig labyrinth hebben zich in geringe mate met goud beladen.

Het meest opvallend evenwel is de belading van het c.z.s. en zijn vliezen, die samen zeker wel het grootste deel van het in het lichaam aanwezige goud bevatten. In practisch iedere cel van het c.z.s. kan men het goud, zij het ook in geringe mate, vinden. Hier hebben wij dus een geval, waarin zoowel gangliën- als gliacellen beladen zijn. Daarenboven vindt men echter in iedere coupe enkele buitengewoon zwaar beladen elementen, verstrooid in het parenchym liggend. In dergelijke cellen bevindt het goud zich zoowel rondom de kern, als in de uitloopers, wier verloop zich juist door hun belading verraadt. Wij vermoeden, dat de cellen in kwestie astrocyten zijn.

Een aanzienlijke hoeveelheid sterk beladen cellen vindt men op den overgang van de medulla oblongata naar het ruggemerg, welke cellen alle een dwarse rangschikking vertoonen. Waarschijnlijk hebben wij hier met oligoglia te doen.

De sterkste belading van het c.z.s. vindt men in de dorsale en ventrale ependymwig van het ruggemerg, de ventrale begrenzing der holte van den pons en in den bodem van den aquaeductus.

Het endotheel van alle hersencapillairen vertoont een duidelijke, fijnkorrelige belading.

Alle plexus chorioidei vertoonen zoowel in epitheel als stroma opvallend sterke belading. In den liquor ziet men wederom een aantal vrije cellen, die letterlijk totaal zwart zien van het goud. Wat betreft hun herkomst verwijzen wij naar het onder 2 (konijn N° 2) gezegde.

Van de vliezen laat zich zeggen, dat practisch alle cellen een geringe hoeveelheid goud opgenomen hebben; daarenboven vindt men in het spatium subarachnoidale een groote hoeveelheid cellen, die een „maximale” belading vertoonen.

##### 5. Witte muis N° 1.

Dit dier werd gedood, toen de embryonen ongeveer 16 dagen oud waren; resp. 1 en 5 dagen van te voren gaven wij een injectie, ten bedrage van 150 mg. Sanocrysine per kg., dat is omgerekend 112 mg. goud/kg. De belading der embryonen is veel geringer dan in het vorige geval, waarbij echter te bedenken is, dat het vorige dier ook viermaal hooger beladen werd.

In de nier vindt men een duidelijke belading van een aantal der tubuli contorti. Bij karmijnkleuring onderscheidt zich het goudhoudende protoplasma duidelijk door een bruinige tint van dat der niet-beladen buisjes. Het stroma van de nier bevat een niet on aanzienlijk aantal welbeladen histiocyten.

Evenals bij het vorige dier is het parenchym van speekselklieren en pancreas negatief; slechts het stroma vertoont hier en daar een matig beladen cel.

Ook het gedrag van epidermis en onderliggend bindweefsel is in principe hetzelfde als bij het vorige dier: epithelium negatief, fibroblasten en histiocyten beladen. De hoeveelheid opgenomen goud is echter geringer, vooral de fibroblasten zijn duidelijk minder beladen; zij bevatten slechts sporen.

Wat betreft den darmwand, epithelium en muskulatuur daarvan zijn negatief; het bindweefsel der submucosa bevat sporen. Als geïsoleerde vondst zij hier vermeld, dat wij een enkele maal een vrij

sterke belading konden vaststellen van enkele elementen, die zonder twijfel tot de gangliëncellen van den plexus van Auerbach behooren. De bewuste cellen vertoonen het goud in een gering aantal fijne korreltjes, regelloos verspreid in het protoplasma liggend. Daarbij maken zowel de kern als het protoplasma een volkomen normalen en gaven indruk.

In dit verband moet opgemerkt worden, dat na intraveneuse injectie van trypaanblauw bij volwassen dieren deze kleurstof in periphere gangliëncellen blijkt door te dringen (Blotevogel, 1924), op grond waarvan de aanwezigheid van goud in deze cellen wellicht verwacht mocht worden.

De dwarsgestreepte spiervezels zijn vrij van goud; slechts het tusschenweefsel vertoont geringe belading. De tong vormt ditmaal geen uitzondering.

Een geringe hoeveelheid goud vindt men in het perichondrium; slechts bij wijze van uitzondering vertoont zich een enkel goudkorreltje in het plasma der kraakbeencellen.

Het epithelium van het vliezig labyrint is duidelijk beladen. In het omgevende losse bindweefsel vindt men een aantal matig zwaar beladen cellen.

Bijna alle cellen van het endotheel der levercapillairen bevatten een matige hoeveelheid goud; hier en daar ziet men echter grover beladen cellen, die dan tevens door een zwaardere kern opvallen, waarbij wij meenen een zich ontwikkelende von Kupffercel voor ons te hebben.

Wat betreft het c.z.s. vermelden wij een zeer zwakke belading der dorsale en ventrale omranding van den canalis centralis in het ruggemerg. De cellen der spinale gangliën zijn vrij; een enkele maal gelukte het ons om er belading van satellieten vast te stellen. In het ruggemerg, evenals in 't overige c.z.s., blijken de gangliëncellen vrij van goud te zijn.

In de medulla oblongata zet zich het beladingstype van het ruggemerg voort. Iets sterker is de belading daar aan de ventrale zijde der holte, wat eveneens voor den pons geldt.

In het mesencephalon vertoont de geheele omranding van den aquaeductus eenige belading met een uitgesproken maximum medio-dorsaal.

In den thalamus vindt men matige belading in den bodem van



den ventrikel; voorts vindt men een geringe hoeveelheid goud in de cellen der neurohypophyse, terwijl die der adenohipophyse vrij zijn.

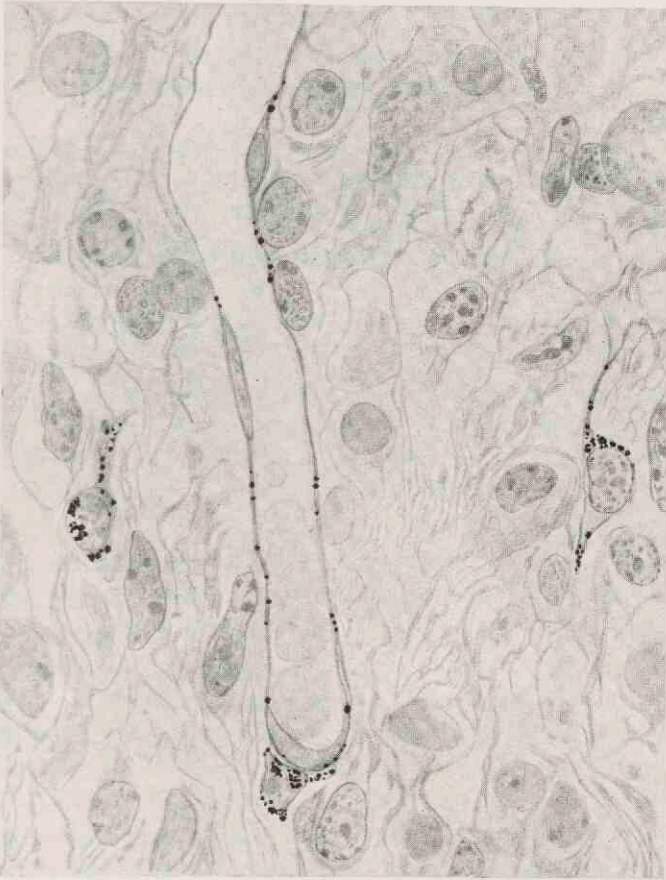


Fig. 5. Cerebellum van een embryo van muis no. 1. Vergrooting 1250  $\times$ .  
Uitgesproken belading van het capillair-endothelium. Voorts een drietal sterk  
beladen cellen, waarschijnlijk glia.

Het cerebellum vertoont slechts een minimale hoeveelheid goud, en wel in de mediaanlijn, grenzend aan het ventrikellumen. De groote hersenen vertoonen slechts nu en dan sporen in den ventrikelwand.

Terwijl dus de overgrootste meerderheid der cellen van het c.z.s. vrij van goud is, zoo blijken bij zorgvuldig doorzien der coupes toch enkele goedbeladen elementen in het nerveuse parenchym aanwezig te zijn. Wat hun aard betreft kunnen wij met zekerheid zeggen, dat het geen vaatwand-elementen zijn, terwijl wij met eenige waarschijnlijkheid meenen te mogen aannemen, dat wij hier met gliacellen te doen hebben. Fig. 5, blz. 51, geeft een beeld dezer verhoudingen.

Ook in dit geval vindt men weer overal kleine goudkorreltjes in het endotheel der hersencapillairen.

Epitheel en stroma der plexus chorioidei bevatten slechts sporen.

De vliezen zijn over hun geheele uitgebreidheid beladen, deels fijnkorrelig en diffuus, doch hier en daar in de subarachnoidale ruimten ook met grovere brokken in zwaar beladen cellen.

## HOOFDSTUK V.

### SAMENVATTING EN BESPREKING DER WAARNEMINGEN AANGAANDE PLACENTA, VLIEZEN, UTERUS EN EMBRYONEN.

Nadat dus uit het voorgaande de doorgankelijkheid der placenta voor goud gebleken is en vervolgens een beschrijving der localisatie van dit metaal in placenta en embryonen werd gegeven, willen wij thans trachten het principieele en algemeene uit die vondsten af te leiden en dit te correleeren met de kennis, die op de bewuste terreinen reeds verworven is.

Baanbrekend experimenteel-morphologisch onderzoek naar de doorgankelijkheid der placenta werd in 1909 door Goldmann verricht, wiens monografie een waarlijk klassiek voorbeeld op het terrein der vitale kleuring biedt.

Na herhaalde injecties met pyrrholblauw bij gravide muizen, stelt hij tegen het einde der graviditeit vast, dat het dooierentoderm zich buitengewoon sterk met de kleurstof heeft beladen, terwijl in de placenta zelf de reuzencellen, die de decidua begrenzen, blijk geven van een sterke affiniteit tot de kleurstof en in mindere mate ook het trophoblast-plasmodium.

De deciduacellen en het foetale capillairendotheel blijven ongekleurd; zoo ook de vrucht.

In het groote referaat over vitale kleuring van von Möllendorff (1920) wordt ook bovenstaand werk van Goldmann nog eens besproken en geconstateerd, dat er voor kleurstoffen van gelijke dispersiteitsgraad als pyrrholblauw, aan Goldmann's beschrijving eigenlijk niets valt toe te voegen.

Belangrijke proeven met vitale kleurstoffen op de placenta van rat en muis — die in dit opzicht volkomen identiek bleken, zooals



zij dat volgens *Grosser* (1927) trouwens ook in morphologisch opzicht zijn — werden vervolgens door *Shimidzu* (1922) gepubliceerd. Hij werkte met een serie kleurstoffen van geleidelijk stijgende deeltjes-grootte en kwam daarbij tot de conclusie, dat deze deeltjes-grootte beslissend is voor het al of niet passeeren der placenta.

Een rijk gedocumenteerd referaat over de permeabiliteit der placenta, alsmede een serie eigen experimenten, vindt men tenslotte bij *Schlössmann* (1932). Ons interesseert vooral zijn mededeeling, dat voor een aantal metalen overgang van moeder op vrucht aangetoond is; wij noemen hier mangaan, kwik (na sublimaatvergiftiging der moeder en onder beschadiging der placenta?), arseen of arseenverbindingen na Salvarsan-behandeling van de moeder (eveneens onder beschadiging der placenta?), bismuth na behandeling der moeder met organische bismuthverbindingen (blijkbaar weer onder beschadiging der placenta). Door *DeSnoo* (1933) wordt hieraan nog toegevoegd koper, lood en antimoon, waarbij auteur opmerkt, dat anorganische zouten gemakkelijk door de placenta heengaan, zoodat tusschen moederlijk en kinderlijk bloed osmotisch evenwicht bestaat.

De conclusie, waartoe *Schlössmann* komt, luidt, dat voor vele stoffen de overgang van moeder naar vrucht door diffusie of filtratie bewezen is, terwijl voor geen enkel geval het aannemen van een vitale functie van het chorionepitheel noodig zou zijn.

Stellen wij ons nu op het standpunt, dat na injectie van Sano-crysin het goud in moleculair-disperse afbraakproducten in het circuleerende bloed aanwezig is, dan is er a priori wel reden om aan te nemen, dat deze producten in staat zullen blijken de placenta te passeeren. De experimenten, die men te dezer zake in de literatuur kan vinden, zijn alle negatief verlopen, n.l. *Grassi* (1932), *Lombardo* (1916) en *Valléry-Radot* (1935), wat slechts aan ontoereikendheid der methoden van opsporing toegeschreven kan worden.

Vergelijken wij nu de localisatie van het goud met die van pyrrholblauw, zooals door *Goldmann* beschreven, dan blijkt ons metaal dus door te dringen in alle elementen, waarin zich de vitale kleurstof laat vinden, terwijl wij het bovendien aantreffen in de deciduacellen en het foetale capillairendotheel. Het is deze

laatste localisatie, waarop wij den nadruk zouden willen leggen, aangezien daaruit de doorlaatbaarheid der placenta haemo-chorialis voor goud blijkt, een feit waarop wij nog nader zullen terugkomen.

Vragen wij ons thans af of hiermede de mogelijkheden van het overgaan van goud uitgeput zijn, dan moet daarop ontkennend geantwoord worden, tenminste wat betreft onze proefdieren. Zooals wij in het vorige hoofdstuk kort beschreven, verdwijnt bij deze dieren in den loop der graviditeit het parietale blad van den dooierzak, alsook de decidua reflexa, waardoor dus het geïnverteerde viscerale blad de buitenste omhulling van den vruchtzak gaat vormen, wiens epitheel dan slechts door het uteruslumen van het uterusepitheel gescheiden wordt.

De functie van dit dooierzakepitheel is voorwerp van een discussie, die, omstreeks 1890 begonnen, nog steeds niet tot een definitief einde gebracht is. De vraagstelling luidt: heeft dit epitheel een secernerende, dan wel een resorbeerende functie. Beide interpretaties vinden overtuigende aanhangers, die voor hunne zienswijzen goede histologische en cytologische argumenten aanvoeren.

Trachten wij in een kort resumé de zaak te overzien, dan blijken alle auteurs het erover eens te zijn, dat in het begin der graviditeit de dooierzak een resorbeerende functie heeft; de placenta is dan nog niet gevormd en op het dooierzakepitheel rust de taak voedingsstoffen aan het embryo toe te voeren. Daarop volgt een intermediaire etappe, waarin de placenta zich begint te ontwikkelen, terwijl het laatste stadium gekenmerkt is door de rijpheid der placenta en — bij rat en muis — door differentiatie van den dooierzak in een deel, dat zich met vlokken bezet en een deel dat glad blijft. Het is aangaande dit laatste stadium, dat de opinie der auteurs uiteenloopt.

Er blijken dan n.l. in het cytoplasma der dooierentodermcellen „de grosses granulations albuminoïdes” aanwezig te zijn, door Branca (1923) op minutieuse wijze beschreven. Hun existentie staat vast en het is dan ook pas bij de interpretatie van het wezen dezer korrels, dat de opinies beginnen te divergeeren. Dergelijke moeilijkheden zijn er in de histologie vele: men neemt — bij wijze van spreken — een snapshot van het celleven en gaat daaruit concludeeren, alsof men een film tot zijn beschikking had.

Zoo blijken Jordan (1907, 1916) en Asai (1914) beiden



aan secretie te gelooven (geciteerd uit Gérard), terwijl daarentegen Robinson (1892), Sansom (1922) en Branca (1923) de resorptieleer aanhangen.

Alle bovengenoemden argumenteeren op zuiver morphologische basis; door Berkelbach vander Sprenkel (1932) wordt uit het werk de eindconclusie getrokken: „resorptive Tätigkeit des visceralen Epithels ist also wohl sicher festgestellt worden”.

Sterker nog komt deze opinie te staan, wanneer men daarbij in aanmerking neemt de resultaten der experimenten van Gérard (1925). Een eerste maal injecteert hij na laparotomie van de moeder eenige druppels trypaanblauw in den dooierzak van een muizenembryo. Na 24 uur wordt het dier gedood, waarbij blijkt, dat het dooierentoderm zich sterk met de kleurstof heeft beladen. Een tweede maal wordt een zelfde hoeveelheid trypaanblauw — wederom na laparotomie — direct in de amnionholte gebracht. Wordt thans het dier na verloop van 24 uur opgeofferd, dan blijkt geen enkele entodermcel zich gekleurd te hebben. Hiermede is op afdoende wijze het bewijs voor resorptie gebracht.

Overzien wij thans in het licht van dit feit onze eigen desbetreffende vondsten, dan gelooven wij, dat deze op ongedwongen wijze als uitdrukking van resorptie van goud door het dooierentoderm geïnterpreteerd kunnen worden.

Immers, in alle stadiën der graviditeit stelden wij de aanwezigheid van goud in het uterusepitheel vast, waarbij wij tegen het einde der zwangerschap zelfs teekenen van een secretie-cyclus in onze praeparaten meenden te zien. Daarna constateerden wij met eenige waarschijnlijkheid de aanwezigheid van goud in de „liquide albumineux” in het uteruslumen en met zekerheid het voorkomen van degenereerende, met goud beladen cellen in de uterusholte. Hier moge nog herinnerd worden aan het werk van Bryce (1933), die na injectie van trypaanblauw bij een zwanger varken de kleurstof terug kon vinden in de omranding van het uteruslumen, alsook in vrije cellen, die hij in de uterus-holte aantrof.

Tenslotte zagen wij een bijzonder sterke belading van het dooierentoderm, waarbij de kleinste goudkorreltjes het dichtst bij den top van de cel lagen en het groote complex van goudkorrels, dat in bijna iedere cel aanwezig bleek, meer basaalwaarts gelegen was,



terwijl bovendien het goud nog aanwezig bleek zoowel in het meest basale deel der cellen, als in het endotheel der dooiervaten.

Hiermede zijn wij nog een stap verder gekomen dan Gérard met zijn trypaanblauw-experimenten. Volkomen terecht immers zegt Berkelbach van der Sprengel (1932), sprekende over de resorptieve functie van het dooierentoderm: „soll diese Resorption einen Sinn haben, so muss auch zugleichzeitig Abgabe des Resorbierten an die Gefässe erfolgen". Het trypaanblauw toch laat zich niet verder volgen dan tot in het cytoplasma der entodermcellen, het goud daarentegen vindt men terug in het endotheel der dooierzakvaten en bovendien in het foetale lichaam, al kan in dit laatste geval natuurlijk niets meer gezegd worden van den weg, dien het metaal gevolgd heeft.

Is het nu tenslotte nog mogelijk om uit de resultaten onzer dier-experimenten eenige conclusie te trekken ten opzichte van het waarschijnlijk gedrag der menschelijke placenta (na injectie van Sanocrycine bij gravidæ) resp. daaraan een aanwijzing van klinisch belang te ontleenen? Tegen het gevaar van het klakkeloos overbrengen der resultaten van dier-experimenten op menschelijke verhoudingen is in de laatste jaren zooveel gewaarschuwd, dat wij thans wellicht weer in het stadium gekomen zijn, waarop gevaar bestaat voor overdrijving naar de andere zijde, waardoor dus — ten detrimente ook van de kliniek — het trekken van algemeen geldende conclusies ten onrechte achterwege zou blijven. Terecht zegt o.i. dan ook Schlossmann:

„Aber bei der Frage nach der Durchlässigkeit der Placenta „handelt es sich um ein allgemein-physiologisches Problem, und „dabei sind nach allen vorliegenden Erfahrungen die Ergebnisse „des Tierversuches weitgehend auf den Menschen übertragbar. „Atmung, Verdauung, Nierenfunktion usw. unterscheiden sich „prinzipiell in keiner Weise bei Mensch und Säugetier, und das „gleiche wird man mit gutem Recht auch für den Stoffaustausch „durch die Placenta in Anspruch nehmen dürfen.“

Willen wij nu trachten uit het resultaat van onze dier-experimenten aanwijzingen voor de kliniek af te leiden, dan moeten wij beginnen ons te realiseeren, dat een tweetal factoren, die bij onze proefdieren het overgaan van goud van moeder op vrucht zullen begunstigen, voor den mensch uitvallen. Dit is eenerzijds onze

doseering, die in vergelijking met klinische getallen buitengewoon hoog genoemd moet worden, anderzijds de resorptie door het dooierzakepitheel uit het uteruslumen, wat bij de verhoudingen der menschelijke vrucht tot haar vliezen onmogelijk is.

Blijft evenwel het feit, dat wij in de — haemo-choriale — placenta zelf het overgaan van goud aangetoond hebben, op grond waarvan wij gelooven, dat ook de menschelijke placenta voor goud doorlaatbaar zal zijn. De hoeveelheid goud, die op de vrucht overgaat, zal echter waarschijnlijk veel geringer zijn, zoowel door de mindere belading der gravida, als door het uitvallen van een sterk resorbeerend oppervlak, den dooierzak.

Zoo verwondert het ons dan ook niet, dat Bernard c.s. (1931) mededeelen, dat zij na goudbehandeling van een 21-tal gravidæ noch abortus, noch afwijkingen bij de neonati hebben geconstateerd. Zij doseerden daarbij echter niet volgens het oorspronkelijke schema van Møllgaard-Secher, doch gaven veel kleinere hoeveelheden, n.l. beginnend met 50 mg. en langzaam stijgend tot een maximum van 250 mg. per injectie.

Zoo kunnen wij ons dus, algemeen gesproken, vereenigen met de mededeeling der Sanocrysine-fabrikanten: „la grossesse ne représente aucune contre-indication”, mits daarbij voorzichtig gedoseerd worde. Eenerzijds zal men daardoor de hoeveelheid goud, die in het foetale lichaam overgaat, tot een minimum beperken, anderzijds zal men daardoor mogelijk gevaar van beschadiging der placenta, zooals dat toch voor verschillende metalen vaststaat, weten te vermijden.

Trachten wij thans te overzien wat de goudverdeeling in het foetale lichaam ons leert, dan staan wij daar voor een veel moeilijker probleem dan in het geval van de placenta, aangezien omtrent eerstgenoemd terrein nauwelijks of geen literatuur te vinden is.

Wat betreft de nier, in dit orgaan zijn de verhoudingen nog betrekkelijk goed te overzien. Immers het blijkt, dat tot en met een leeftijd van 17 dagen de rattennier niet in staat is om te functionneeren, wat wij afleiden uit het ontbreken van goud in het parenchym. Niet zoodra echter beginnen de nierepitheliën zich met goud te beladen, of wij vinden dezelfde verhoudingen als bij het volwassen dier. Deze zijn nauwkeurig door Timm (1932) be-

schreven, en ons eigen werk op de nieren van volwassen knaagdieren en van een *Cynomolgus* bevestigen zijn waarnemingen geheel; hier kan dus met een verwijzing naar *Timm's* werk volstaan worden.

Zooals blijkt uit het onderzoek van den muizenfoetus van 16 dagen en het konijnenembryo van 23 dagen, treedt het goud het eerst op in de tubuli contorti, om vervolgens ook in de glomeruli — zie den voldragen konijnenfoetus — te verschijnen. Daarbij ziet men dezelfde quantitative verschillen als in het volwassen orgaan, n.l. groote hoeveelheden grof gekorrelde goud in de epitheelcellen der tubuli contorti en slechts geringe belading der glomeruli, waarin het metaal bovendien in zeer fijne verdeling aangetroffen wordt.

Verandering van de kleurbaarheid van het protoplasma (ten opzichte van karmaluin) zagen wij alleen in zwaar beladen tubuli contorti en dus niet in de glomeruli. Bij het volwassen goudvergiftigde dier en eveneens bij de goudnephritis van den mensch zijn het ook de gewonden buisjes, die de eerste veranderingen vertoonen, terwijl de glomeruli gespaard blijven. Een zeer bekwame en nauwkeurige analyse van het beeld der goudnier is door *Pagel* (1926) geleverd; hiernaar zij, voor zoover noodig, verwezen.

Eenige malen werden wij getroffen door het groote aantal goudbeladen histiocyten, dat men in het stroma van de foetale nier vindt. In dit verband zij herinnerd aan de mededeeling van *Becker* (1928), die hetzelfde vond na een serie van pyrrolblauw-injecties bij een hond, die opgeofferd werd, toen hij 1½ maand oud was.

In het endotheel der levercapillairen vonden wij ook bij ons jongste embryo reeds sporen van het metaal aanwezig, wel een bewijs hoe reeds in een zeer vroeg stadium der ontwikkeling dit weefsel tracht den bloedstroom te zuiveren.

Nog een bewijs voor de activiteit der foetale von Kupffercellen wordt geleverd door *Hofmann* (1914), die leverweefsel van een circa 5 mm. lang cavia-embryo in moederlijk plasma met trypaanblauw kweekte. Reeds na twee dagen hadden de bewuste cellen zich sterk met de kleurstof beladen, in eenzelfde vorm als



men dat bij de volwassen elementen ziet (geciteerd naar von Möllendorff, 1920).

Tenslotte zij nog gewezen op het werk van Schilling (1936), die na injectie van trypaanblauw in het coeloom van kippenembryonen op den zesden dag de kleurstof in het levercapillair-endotheel vond.

Sprekender nog werd het gedrag van het leverendotheel in de tweede helft der graviditeit, waar een aantal duidelijk gezwollen cellen door sterke en grofkorrelige belading opvallen. Hierdoor meenen wij bewezen te hebben, dat althans een deel der von Kupffercellen direct uit het leverendotheel ontstaat, met andere woorden een autochthone genese vertoont. Hier moge Schilling (1908) aangehaald worden:

„Die sog. von Kupfferschen Sternzellen sind ausgeprägte Funktionszustände des Kapillarendothels und gehen durch Quellung und Kernaufhellung, eventuell mit mitotischen Teilungen aus dem gewöhnlichen Endothel hervor. Wahrscheinlich unterliegt jede Endothelzelle zeitweise einem solchen Stadium physiologisch; in krankhaft in Anspruch genommenen Lebern tritt eine Steigerung dieses Vorganges ein.” (geciteerd naar von Möllendorff, 1920).

Belading van levercellen hebben wij in geen enkel geval gezien. In dit verband zij nog herinnerd aan het feit, dat wij bij het voldragen konijnenembryo een zwakke belading van het galblaas-epithelium constateerden, terwijl het daaronder gelegen bindweefsel een iets grootere hoeveelheid goud bevatte. Omtrent de vraag nu, of dit epithelium zich beladen heeft ten koste van goudhoudende gal, dan wel uit het onderliggende bindweefsel, hebben wij ons geen meening kunnen vormen. Het verband tusschen activiteit van von Kupffercellen, levercellen en galbereiding is ook nog slechts zeer onvolledig bekend (Aschoff, von Möllendorff, 1920).

Belangstelling verdient voorts de waarneming, dat in alle onderzochte gevallen de epidermis zonder uitzondering vrij van goud was. Indien dus ook het vruchtwater goud mocht bevatten — en wij zullen later zien, dat er wel eenige redenen bestaat om dit aan te nemen — dan blijkt dus tóch, dat de embryonen het goud niet door hun huid heen opnemen. Immers men zou dan tenminste voor

een enkel geval mogen verwachten, dat het goud zich in de epidermis vertoonde, temeer daar met onze techniek zoo uiterst geringe hoeveelheden aantoonbaar zijn.

Hierop kunnen wij gevoegelijk de bespreking van het gedrag van het darmepithelium laten volgen. Helaas zijn onze waarnemingen in dit opzicht zeer weinig duidelijk, zoodat zij niet veel meer dan een bloote gissing toelaten. Belading van het epitheel werd immers slechts in twee gevallen gevonden en wel bij het jongste en bij het oudste embryo. Waarom dit weefsel nu bij de tusschenliggende stadiën vrij van goud gebleven is, blijft geheel onopgehelderd.

Baseeren wij ons evenwel uitsluitend op onze positieve vondst bij het voldragen konijnenembryo, dan ligt daar de gedachte voor de hand, dat goudhoudend vruchtwater door slikbewegingen in den dunnen darm gekomen is en dat het goud daar door de epitheelcellen geresorbeerd werd.

Vragen wij ons nu af, of het redelijk is aan te nemen, dat het vruchtwater goudhoudend is, dan gelooven wij stellig daarop bevestigend te moeten antwoorden. Al onze waarnemingen toch, waarvan vele de goudverdeeling in het volwassen lichaam betreffen (die hier niet beschreven zullen worden), hebben ons geleerd, dat het goud doordringt in al die elementen, waar ook trypaanblauw gevonden wordt, doch bovendien nog in vele andere, die het trypaanblauw weten te weren. Wij gelooven daarom niet te boud te spreken, wanneer wij zeggen: waar trypaanblauw doordringt, kan het goud zeker komen.

De aanwezigheid van trypaanblauw in het vruchtwater van knaagdieren werd reeds door Goldman (1909) vastgesteld en sindsdien welhaast tallooze malen bevestigd. Uitgaande van onze bovenontwikkelde veronderstelling, nemen wij dus aan, dat ook het goud zijn weg tot in het vruchtwater zal weten te vinden.

Omtrent den weg, dien het goud gevolgd zal hebben om in het vruchtwater te komen, kunnen wij het volgende opmerken. A priori lijkt het niet onwaarschijnlijk, dat het te zelfder plaatse in het vruchtwater zal komen, als waar dit laatste zijn herkomst vindt. Naar hedendaagsche opvatting — De Snoo, 1933 — vormt nu het amnionepithelium de eenige physiologische bron van het vruchtwater. En zooals wij bij de beschrijving der placenta ver-



meld hebben, blijkt het goud inderdaad in het bewuste epithelium aanwezig te zijn. In dezen gedachtegang past ook zeer wel onze waarneming bij het rattenembryo van 14 dagen, waarbij wij goud in het darmepithelium constateerden (dús in het vruchtwater aanwezig veronderstellen), terwijl de nier er vrij van bleek te zijn.

Voor wij nu overgaan tot de bespreking van het gedrag van het c.z.s., memoreeren wij als laatste algemeene vondst nog het feit, dat in alle onderzochte gevallen goud in het bindweefsel aanwezig bleek te zijn. Terwijl bij het rattenembryo van 14 dagen nog slechts sporen gevonden worden, blijken bij alle andere dieren, te beginnen dus met een rattenembryo van 17 dagen, zoowel fibroblasten als histiocyten beladen te zijn. Wij stellen dus vast, dat bij onze proefdieren reeds in het begin der tweede helft van de graviditeit histiocyten in het foetale bindweefsel optreden.

Wat betreft het c.z.s. der embryonen, zij in de eerste plaats opgemerkt, dat in alle gevallen de aanwezigheid van goud in het parenchym werd vastgesteld. Ook het jongste embryo (rattenfoetus van 14 dagen), wiens centrale zenuwstelsel nog geen plexus chorioidei vertoont, deed het goud in zijn hersenmassa zien.

Het beladingstype bij dit jongste embryo bleek reeds volkomen karakteristiek te zijn voor het foetale c.z.s., zooals het in alle onderzochte gevallen in volkomen identieken vorm aanwezig was. Men vindt dan een zeer fijnkorrelige belading in de geheele omranding der hersenhollen, waarbij het goud gelegen is in die lagen, die de directe begrenzing van het lumen vormen, waarbij zich uitgesproken maxima in de mediaanlijn vertoonen. Nemen wij als voorbeeld van dit laatste de ventrale zijde van het ruggemerg, dan zien wij hoe daar een reeks van gliacellen zich op eenigen afstand van den canalis centralis bevindt, wier lange en slanke uitloopers zich naar het kanaal begeven. Juist tusschen en op deze uitloopers vertoont zich een zeer sterke belading met zeer fijne korreltjes, die men in veel mindere mate ook tusschen de kernen aantreft.

In onze overtuiging, dat wij hier met een kenmerkend gedrag van het foetale c.z.s. te doen hebben, worden wij gesterkt door het feit, dat Schilling (1936) bij kippenembryonen precies hetzelfde heeft gevonden. Zijn experimenten, die wij, in verband met het gedrag van de embryonale lever reeds eerder citeerden, komen kortgezegd daarop neer, dat hij bij een kippenembryo van 3 dagen



trypaanblauw in de coeloomholte brengt, ze daarmee tot den zesden dag laat leven, om ze vervolgens te onderzoeken. Zoo geeft hij in zijn figuur N<sup>o</sup> 3 een afbeelding der trypaanblauw-belading van de ventrale ependymwig van het ruggemerg, waarin men de kleurstofkorrels voornamelijk in het plasmatische gedeelte ziet liggen, waarbij geen verschil op te merken is met de beelden, zooals onze goudbeladen embryonen die vertoonen.

Komt men vervolgens in het stadium, dat zich de plexus chorioidei ontwikkeld hebben, dan doet zich het tweede algemeen geldende verschijnsel voor, daarin bestaande, dat het goud zich zoowel in epitheel als stroma van den plexus vertoont. Is de belading van het stroma slechts gering, dan vindt men het goud diffuus verdeeld; zoodra deze sterker wordt, treden ook krachtig beladen histiocyten op. Op grond hiervan meenen wij groote overeenkomst te mogen aannemen tusschen het gedrag der foetale en volwassen plexus. Immers, het is reeds sedert de klassieke experimenten van Goldmann (1909) bekend, dat bij vitale kleuring van volwassen dieren de kleurstof reeds spoedig in het plexusstroma en bij hoogere belading ook in het epitheel optreedt. Terwijl sindsdien Goldmann's experiment welhaast ad infinitum gecontrôleerd en bevestigd is, hebben wij zelf een snelle goudbelading van den plexus na Sanocrysine-behandeling van een *Cynomolgus* kunnen vaststellen.

Neemt nu de belading der plexus chorioidei toe, dan vindt men in den liquor, en vooral in de directe omgeving der plexus, een aantal vrije cellen, die een buitengewoon zware belading vertoonen. Ook dit verschijnsel is door Schilling bij zijn trypaanblauw-experimenten op kippenembryonen waargenomen en evenmin als wij, is hij tot een conclusie omtrent de herkomst dezer cellen kunnen komen. Wij hebben deze kwestie reeds bij de betreffende dieren (konijn N<sup>o</sup> 2 en rat N<sup>o</sup> 51) besproken, waarnaar dus hier verwezen zij.

Breidt zich nu de belading verder uit, dan zien wij hoe een bescheiden aantal cellen in de massa van het c.z.s. het goud opneemt. Begrijpelijkerwijze hebben wij geen moeite gespaard om te trachten uit te maken of wij hier te doen hebben met gangliën- dan wel met gliacellen, want zeker is het, dat het geen vaatwand- of mesodermale elementen zijn. Een volkomen zekere diagnose bleek

helaas niet te bereiken, doch waarschijnlijk leek het ons, dat wij met gliacellen te doen hadden.

Tenslotte bereiken wij dan, wat het parenchym betreft, den toestand, dat zonder uitzondering alle cellen van het c.z.s. zich beladen. Wij stelden dit vast in de tweede helft der graviditeit, na zware belading van de moeder.

Algemeen liet zich voorts de aanwezigheid van goud in het endotheel der hersencapillairen vaststellen.

Wat nu nog de vliezen betreft, deze bleken zich in alle gevallen beladen te hebben, waarbij zich soms in de subarachnoidale ruimten een aantal cellen vertoonden, die zoo sterk beladen waren, dat het totale protoplasma met goud gevuld scheen.

Uit het voorgaande is wel gebleken — men vergelijkte vooral rat N<sup>o</sup> 50 — hoe bij het embryo het c.z.s. tot de eerste organen behoort, die zich beladen, waarbij wij sterk den indruk hebben, dat een zeer belangrijk deel van de totale hoeveelheid goud in het foetale lichaam zich in het c.z.s. ophoopt. Een merkwaardige toestand, in grove tegenstelling tot de verhoudingen bij het volwassen dier, waar immers voor zoovele stoffen de toegang tot het nerveuse parenchym versperd blijkt. Opmerkelijker wordt dit nog, wanneer wij overwegen, dat naar alle waarschijnlijkheid het totale goudaanbod aan foetale weefsels toch slechts gering zal zijn.

Wij trekken dan ook uit onze waarnemingen deze conclusie: op de toegangswegen tot het foetale centrale zenuwstelsel blijkt geen barrière aanwezig.

Hiermede hebben wij de waarnemingen gecompleteerd, die voor pasgeborenen en eenige weken tot maanden oude menschen en dieren tot dezelfde conclusie hadden geleid. Als eerste moet hier Schmorl (1902) genoemd worden, die in gevallen van langdurige icterus neonatorum geelkleuring van den liquor en van gangliëncellen vond en daarna Behnsen (1926), die in een publicatie uit von Möllendorff's laboratorium, op grond van een serie trypaanblauw-experimenten met zeer jonge muizen op buitengewoon fraaie en grondige wijze aantoont hoe de hersenbarrière eerst geleidelijk haar definitieve dichtheid bereikt.

Tenslotte moeten wij ons afvragen langs welken weg resp. langs welke wegen het goud in het nerveuse parenchym binnengedrongen is. Een definitief antwoord hierop is niet mogelijk. Wij staan voor

dezelfde vraag als bij het volwassen organisme: overgaan uit den liquor of uit de vaten.

Onmiskenaar blijkt in een aantal onzer gevallen, dat er ophooping van goud bestaan in de onmiddellijke begrenzing der hersenholten. Zou men dus op het eerste gezicht geneigd zijn hieruit te concludeeren, dat dit goud uit den liquor afkomstig is, dan blijkt bij nader toezien toch al spoedig, dat daarmede de maxima, die wij juist in de mediaanlijn aantreffen, geheel onverklaard blijven. Anderzijds brengt de veronderstelling van het uittreden uit de vaten ons ook niet nader tot het begrip dezer maxima; zij blijken dus noch voor de eene, noch voor de andere theorie een steun te kunnen vormen.

De belading van enkele cellen in het geval van het muizenembryo brengt ons niet verder, evenmin het rattenembryo, waarbij alle cellen beladen zijn; in beide gevallen immers kan men zich met hetzelfde gemak voorstellen dat de liquor, als dat de vaten het goud aangevoerd hebben. Concludeerende gelooven wij dan ook, dat ons materiaal té beperkt is om op grond daarvan de vraag in kwestie te kunnen beantwoorden.



## HOOFDSTUK VI.

### GOUDVERDEELING IN HET CENTRALE ZENUWSTELSEL VAN HET VOLWASSEN DIER.

#### 1. *Konijn N<sup>o</sup> 14.*

Dit dier werd in een periode van 73 dagen beladen tot een hoeveelheid van 550 mg. goud/kg. Teneinde een algemeen idee te geven van ons injectie-schema zij hier vermeld, dat wij aanvingen met een dosis van 5 mg. Sanocry sine en eindigden met 400 mg. per keer. Evenals alle andere dieren werd het door chloroform-narcose gedood, waarna onmiddellijk het c.z.s. uitgepraepareerd en gefixeerd werd.

Het gedrag van het c.z.s. werd in een aantal niveaux nagegaan, die wij achtereenvolgens zullen beschrijven. Daarbij baseeren wij ons voor de neurologische diagnose op de atlas der konijnenhersenen van *Winkler* en *Potter*, die ook voor ons onderzoek wederom van bijzondere waarde gebleken is.

De eerste coupe treft den bulbus olfactorius.

*Lamina glomerulosa en granulosa externa.* Het meerendeel der periglomerulaire elementen is matig beladen, terwijl enkele vrij van goud blijken te zijn. De goudhoudende cellen vertoonen enkele bolvormige korrels, nauwelijks meer dan  $0,2 \mu$  groot, in de onmiddellijke omgeving van de kern gelegen. Ook van de interglomerulaire cellen is een deel beladen, evenwel zeer matig. Anders echter is het beeld, dat de „cellules à panache” (*Cajal*, 1911) bieden; deze elementen, die men op den omtrek der glomeruli vindt, vallen niet alleen op door veel zwaardere belading, die zoover kan gaan, dat de goudkorrels practisch tot één massief geconflueerd zijn, doch bovendien is het type der individueele korrels anders. In plaats van de kleine ronde korrels, die wij in de overige periglomerulaire cellen ontmoetten, vinden wij hier, behalve sterke grootte-verschillen, ook

nog een aantal grove brokken, van grillige contouren, wier grootste diameter ongeveer  $2 \mu$  kan bedragen. De belading beperkt zich niet tot de directe omgeving van de kern, doch laat zich, steeds grofgekorrelde, een eindweeg in de uitloopers vervolgen.

*Lamina gelatinosa.* Het laatstbeschreven celtipe komt ook in deze laag voor: „cellules à panache moyennes” van C a j a l. Hunne belading is geheel identiek met die, welke wij in deze cellen aantreffen, direct op de glomeruli gelegen. Totale hoeveelheid goud, verdeeling en aard van de korrel, alles is in detail hetzelfde. Ook de andere cellen, die men in deze laag vindt, zijn welhaast alle beladen; het beeld is evenwel weinig karakteristiek.

*Lamina cellularis.* Hier wordt de aandacht onmiddellijk getrokken door de mitraalcellen; het cellichaam bevat een groote hoeveelheid goudkorrels, die zeer overwegend van gelijke grootte — ca.  $1 \mu$  — en bolvormig zijn. De groote uitgestrektheid van het perinucleaire protoplasma biedt ruimte aan tientallen korrels, zonder dat zij daarom gedrongen behoeven te liggen. Integendeel, de goudkorreltjes zijn door breede ruimten van elkaar gescheiden. Dit beladingstype zet zich in den hoofddendriet — l'expansion primordiale van C a j a l — voort, doch hier maakt de regellose ligging plaats voor een rangschikking in langgestrekte rijen, waarvan er aanvankelijk 5 à 6 in de breedte van den dendriet plaats vinden. En ware het feit niet reeds bekend, dan verried ook één blik op het goudbeeld „que cette expansion prend fréquemment une direction oblique dans sa course vers la périphérie” (C a j a l, 1911).

De mitraalcel vormt dus weer een van die elementen — wij zullen er nog meer leeren kennen —, die zich in het goudbeeld van alle andere cellen onderscheiden en den indruk van „saâmhoorigheid” wekken. Die saâmhoorigheid zal overigens in het volgende hoofdstuk een punt van discussie dienen uit te maken.

*Lamina granulosa interna.* Deze celrijen, afgewisseld door lagen van merglooze vezels, wierpen in het begin dezer eeuw tusschen v o n K ö l l i k e r en C a j a l de strijdvraag op: neuroglia of gangliëncellen, welke strijd thans vrijwel beslecht mag heeten in den zin van C a j a l, te weten, dat wij daar met gangliëncellen te doen hebben (A r i è n s K a p p e r s c.s. 1936: „apparently they are rather generally considered to be neurons”).

Het goudbeeld is weinig imposant, alle cellen bevatten eenige

kleine ronde korreltjes, gedeeltelijk op de kernmembraan gelegen, gedeeltelijk op eenigen afstand daarvan, in welk laatste geval ze niet meer ten opzichte van bepaalde cellen georiënteerd kunnen worden.

De hierop volgende vezellagen bieden geen bijzonderheden. De lobus piriformis wordt naar aanleiding van de volgende coupe beschreven.

De tweede coupe treft het pallium distaal van den bulbus olfactorius en het rhinencephalon, ter hoogte van het orale einde van den ventriculus lobi piriformis.

Het pallium wordt naar aanleiding van de derde coupe beschreven; hier volstaan wij met de beschrijving van het rhinencephalon.

*Rhinencephalon.* Hier wordt de aandacht het meest getrokken door de belading van de lamina ganglionaris, ofschoon ook de cellen der overige lagen het metaal opgenomen hebben. Om in dit gebied tot een duidelijk zichtbare korreling te komen, moet er ietwat langer dan gewoonlijk ontwikkeld worden, waaruit blijkt, dat de goudkorrels slechts van geringe afmeting zijn.

In de lamina ganglionaris vinden wij twee beladingstypen, één met een matig aantal kleine bolvormige korreltjes, die zoo weinig dichtgepakt in het cytoplasma liggen, dat men iedere korrel afzonderlijk kan zien (de kern van deze cellen is groot en rond, vertoont een ijle chromatine-structuur en heeft een donkeren nucleolus), en een tweede, waarbij de korrels zeer veel dichter opeengedrongen liggen, alhoewel zij nog niet confluëeren. De korrels zijn bolvormig, doch looplen in grootte sterk uiteen, waarbij de grootste exemplaren ongeveer het dubbele van de afmeting der korrels in het vorige celttype bereiken. De kernen van dit tweede celttype zijn — in het karmijnpraeparaat — homogeen en donker en laten vaak slechts met moeite den nucleolus herkennen, die dan een steenroode tint vertoont. Beide celttypen doen beladen uitloopers zien.

Tusschen den ventrikel en het stratum medullare lobi piriformis treft men een groot aantal cellen — „zentrales Höhlengrau” —, waartusschen een bescheiden aantal goudkorrels verstrooid liggen. Een aantal daarvan bevindt zich op of in de directe nabijheid van de kernmembraan, de rest ligt — schijnbaar — willekeurig verspreid ertusschen.



De ependymcellen van den ventrikel zijn zonder uitzondering beladen, daarbij door het geheele c.z.s. eenzelfde beeld vertoonend, zoodat de beschrijving voor de volgende coupes niet herhaald behoeft te worden.

In het apicale deel van ieder ependymcel vindt men ongeveer 10—20 goudkorrels, in grootte varieerend van nauwelijks zichtbaar tot circa  $1 \mu$  en goeddeels bolvormig. Bij voorkeur liggen ze dicht opeengedrongen op den top van de kern, doch er zijn er ook altijd wel eenige, die geheel bovenin de cel liggen en dus — bij wijze van spreken — het ventrikellumen helpen begrenzen. Tenslotte vindt men hier en daar ook een solitaire korrel in het cytoplasma basaal van de kern. Kernkleuring en -structuur maken een volkomen normalen indruk.

De derde coupe treft het telencephalon, ongeveer ter hoogte van het genu corporis callosi en voert vervolgens door den nucleus caudatus en putamen. Op grond van deze coupe zullen wij de lagen van den cortex beschrijven, zooals zij zich voordoen in de area postcentralis.

*Lamina molecularis.* Het meerendeel der cellen is zwak beladen, doch vertoont geen karakteristieke bijzonderheden.

*Lamina granularis externa.* Alle cellen in deze laag zijn beladen; het perinucleaire protoplasma bevat een vrij groot aantal goudkorreltjes, die echter zoo klein zijn — ca.  $1 \mu$  — dat zij toch niet opeengedrongen liggen. Ditzelfde beladingstype zet zich in de uitloopers voort.

*Lamina pyramidalis.* Het verschil met de voorgaande laag is slechts matig, bij zorgvuldige bestudeering echter toch evident. De goudkorrels zijn voor een deel van wat grooter afmeting, zoodat de gemiddelde diameter ca.  $1 \text{ à } 2 \mu$  bedraagt, terwijl het aantal korrels per cel iets toegenomen is, alhoewel zij nog steeds vrij van elkaar liggen. De totaalindruk van deze laag is dan ook, dat zij sterker beladen is dan de voorgaande. De grove korrels kunnen zich nog wel in het aanvangsdeel der uitloopers vertoonen, doch op eenigen afstand van het cellichaam ziet men uitsluitend zeer fijngekorreld goud.

*Lamina granularis interna.* Hier is de belading weer wat minder dan in de voorgaande laag der pyramidecellen; er is geen verschil te zien met het goudbeeld, dat de lamina granularis externa bood,

zoodat de beschrijving daarvan ook voor deze laag kan dienen.

*Lamina ganglionaris.* Vergeleken met de voorgaande laag, heeft het meerendeel der cellen iets meer goud opgenomen. Dit verschil uit zich evenwel niet in het kaliber der korrels, doch in hun aantal. Zij liggen dus iets dichter bijeen dan in de lamina granularis interna, maar vertoonen dezelfde fijnheid van afmeting. Dank zij dit laatste blijven de korrels hun individueele ligging behouden.

*Lamina multiformis.* Deze laag, die haar naam niet ten onrechte draagt, vertoont het goud wederom in alle cellen. De mate van belading is iets geringer dan in de lamina ganglionaris, doch het beladingstype wijkt er niet van af, zoodat verdere beschrijving overbodig is.

De vierde coupe treft het telencephalon, den ventriculus lateralis met den plexus chorioideus en vertoont voorts het chiasma nervorum opticorum, nuclei caudatus en lentiformis.

*Nucleus caudatus.* De cellen van deze kern zijn zonder uitzondering beladen en vertoonen alle hetzelfde beeld. Zij hebben een slechts geringe hoeveelheid goud opgenomen, dat zich voordoet onder den vorm van zeer fijne korreltjes, vaak bruin van tint, waarvan iedere cel er een aanzienlijk aantal in het perinucleaire plasma vertoont, zoodat ze vrij dicht bijeen komen te liggen. Hetzelfde beladingstype ziet men in de uitloopers.

*Globus pallidus.* Wederom zijn alle cellen beladen, doch veel karakteristieks valt er niet aan op te merken. Het goud vertoont zich als uiterst fijne korreltjes, weinig grootte-variantie biedend, wel in grooten getale aanwezig, doch dank zij hun fijnheid slechts weinig opgedrongen. Dit alles geldt zoowel voor het cellichaam als voor het eerste — zichtbare — deel der uitloopers.

*Putamen.* Het beeld van deze kern zou geheel gelijk zijn aan dat van den globus pallidus, indien niet enkele cellen een iets grootere affiniteit tot het goud toonden. In die enkele cellen is zoowel korrelgrootte, als -aantal toegenomen. Het verschil met den globus pallidus is evenwel zoo gering, dat men deze celmassa's met behulp van het goudbeeld alleen niet zou kunnen differentieeren.

*Ganglion basale opticum.* Deze kern ligt iets ter zijde van de mediaanlijn, geheel basaal, dus — bij wijze van spreken — op het chiasma. Hier hebben wij weer een geval, waar het — uniforme — beladingstype der cellen zoo opvallend verschillend is van de om-



geving, dat men ertoe zou neigen de saâmhoorigheid der bewuste cellen uit het goudbeeld te concluderen. De korrel vertoont aanzienlijke verschillen in grootte, gaande van juist zichtbaar tot bolletjes van ca. 1  $\mu$ . Iedere cel bevat een aanzienlijke hoeveelheid goud, zoodat de korrels slechts met moeite in het cytoplasma een plaats vinden en dicht opeengeschoven liggen. De grove en de fijne korrels hebben geen eigen localisatie in de cel, doch liggen dooreen. De kleurbaarheid der cellen, zoowel ten opzichte van karmaluin als van methyleenblauw, is slecht; in vele gevallen maken kern en plasma beide een „verschwommen” indruk en zijn slechts moeizaam te onderscheiden.

*Plexus chorioideus.* De belading van den plexus is zoo enorm zwaar, dat bij een ontwikkeltijd, die voor dezelfde coupe optimaal is voor gangliën- en gliacellen, de goudkorrels in epitheel en stroma van den plexus dermate aangroeien, dat men bijna één continu zwart massief krijgt. Kiest men de helft van dien optimalen duur, dan krijgt men een beeld, waarin de beladingsdetails van den plexus goed bestudeerd kunnen worden.

Het blijkt dan, dat het endotheel der plexus-vaten overal matig beladen is, het stroma daarentegen buitengewoon groote hoeveelheden goud bevat. Voor een deel ligt het verspreid tusschen de collagene vezels, waarbij de korrel zoowel in grootte als in vorm sterk varieert; of deze korrels inderdaad naakt tusschen de vezels liggen, dan wel in uiterst dunne plasmatische uitloopers van fibroblasten, blijve in het midden. Anderdeels echter ligt het metaal in het cytoplasma van een groot aantal histiocyten, waarin dan een ophooping van goud bestaat, die maximaal genoemd mag worden. In die gevallen is het plasma totaal ingenomen door goud, vaak één massief vormend, waarbij men slechts aan de fijngeschubde contour ziet hoe dit massief bij ontwikkeling door confluentie is ontstaan. De kernen dezer cellen maken desalniettemin een volkomen gaven indruk. Niet alle cellen van het stroma vertoonen zoo extreme belading, men ziet er ook die slechts matig zwaar beladen zijn, en andere, die niet meer dan enkele korrels bevatten.

Wat het epitheel betreft, hier vindt men, dat alle cellen zich met goud beladen hebben. Zij doen een zeer groot aantal korrels zien, overwegend bolvormig en niet veel meer dan een grootte van 1  $\mu$  ten hoogste bereikend. Het grootste deel dezer korrels ligt apicaal



van de kern, voor een deel zelfs bij voorkeur direct op de kernmembraan, doch ook te halver hoogte van de cel en basaal laat zich het goud opsporen, basaal echter in zeer veel mindere mate.

Tenslotte vindt men in den liquor nog een aantal vrije cellen, die een even sterke belading vertoonen als de zoo juist beschreven histiocyten. Omtrent hun herkomst gelden dezelfde overwegingen als in het geval der overeenkomstige elementen in het foetale c.z.s.

De volgende — vijfde — coupe treft het proximale einde van den thalamus opticus, voorts cornu ammonis, nucleus amygdalae en infundibulum.

*Cornu Ammonis.* De pyramidecellen zijn zonder uitzondering beladen, daarbij een uiterst regelmatig goudbeeld vertoonend. De korreling is fijn, gaande van nauwelijks zichtbaar tot omstreeks  $1 \mu$  en daarbij vrij dicht opeengedrongen. Deze korreling laat zich vooral in de dendrieten, die het stratum radiatum binnentreden, over een afstand van 20—30  $\mu$  volgen, daarbij volkomen hetzelfde type vertoonend als in het cellichaam. Zeer opvallend is de lichtbruine tint der korrels, levendig contrasteerend met het diepe zwart, dat men in goudhoudende cellen boven en onder de laag der pyramidecellen waarneemt. Volgt men den band deze pyramidecellen, te beginnen aan de mediaanlijn, dan ziet men hoe ongeveer ter plaatse, waar hij basaalwaarts ombuigt, en aldus den zijventrikel nadert, het goudbeeld verandert: de totaal-indruk is zwaardere belading, in detail zich uitend in belangrijke toename der korrelgrootte, waarbij tevens de kleur van de korrel donkerder geworden is, zonder nog intens zwart geworden te zijn. Steeds den band der pyramidecellen volgend, nadert men vervolgens weer de mediale zijde en ziet daarbij het beladingstype geleidelijk veranderen. Het goudbeeld doet nu weer denken aan dat van het eerstbeschreven deel, doch de korrel blijft iets groter en donkerder. Memoreeren wij voorloopig, dat ons onderzoek wijst in de richting van een onderverdeeling in de pyramidecellen van den Ammonshoorn.

*Fascia dentata.* Evenals in den Ammonshoorn, zijn ook hier alle cellen beladen, doch de korreling is nog fijner dan wij in de pyramidecellen zagen. Het goud ligt verspreid tusschen de kernen, in matige hoeveelheid. De ligging der korrels schijnt zoo willekeurig, dat een bepaald beladingstype niet beschreven kan worden.

*Nuclei thalami.* De voorste en mediale nuclei thalami vallen in het niveau van deze coupe. Opnieuw bevatten alle cellen goud, waarbij de korrels in grootte varieren van de grens van zichtbaarheid tot ongeveer 1 à 2  $\mu$ , slechts matig dicht opéén gelegen zijn, rond van vorm en niet maximaal zwart.

Verschil tusschen deze beide kernen is nauwelijks zichtbaar. Wellicht is het ventrale, kleincellige deel van de voorste kern iets zwaarder beladen dan het dorsale, grootcellige deel.

*Nuclei habenulae et amygdalae.* Het goudbeeld der cellen in deze kernen verdient geen aparte beschrijving, daar het geheel overeenkomt met dat, wat de nuclei thalami bieden.

De volgende coupe — N<sup>o</sup> 6 — treft het mesencephalon door corpus quadrigeminum anterius, nucleus nervi oculomotorii en nucleus ruber.

*Corpus quadrigeminum anterius.* De verschillende cellagen zijn hier alle beladen; de korrelgrootte varieert van 0,2—2  $\mu$ , waarbij de korrels rond zijn en iets minder dan koolzwart. Doorgaans liggen zij matig opeengedrongen, een enkele maal vlak bijeen. De beginstukken der uitloopers vertoonen hetzelfde beladingstype als het cellichaam.

De verschillen tusschen boven-, midden- en onderlaag zijn zoo gering, dat de zoo juist gegeven beschrijving voor alle drie kan dienen; hoogstens is de middenlaag iets minder beladen.

*Nucleus III.* Terwijl een aantal der hooger beschreven beelden een weinig avontuurlijk aspect toont, moet gezegd worden, dat het tegendeel voor de oculomotoriuskern geldt. Wanneer men met geringe vergrooting het goudbeeld bestudeert, dan maakt bijna de geheele coupe een egalen indruk, met uitzondering echter van het oculomotoriusveld, dat, ingevolge machtige belading, onmiddellijk de volle aandacht opeischt. Er zijn zoo vele diepzwarte korrels in de cellen aanwezig, terwijl van het meerendeel het kaliber zoo fors is, zeg 2—3  $\mu$ , dat er in een aantal der gevallen niet veel meer van het cytoplasma te zien valt. Het goud ligt niet homogeen in het plasma verspreid, doch voor het grootste gedeelte opgehoopt rondom de kern, zoodat de periphere zône van het cellichaam veel minder zwaar beladen is; wèl in overeenstemming daarmee vertoonen de uitloopers ook slechts een geringe belading. Figuur N<sup>o</sup> 6 (boven) geeft een afbeelding van één dezer cellen, zie blz. 74.

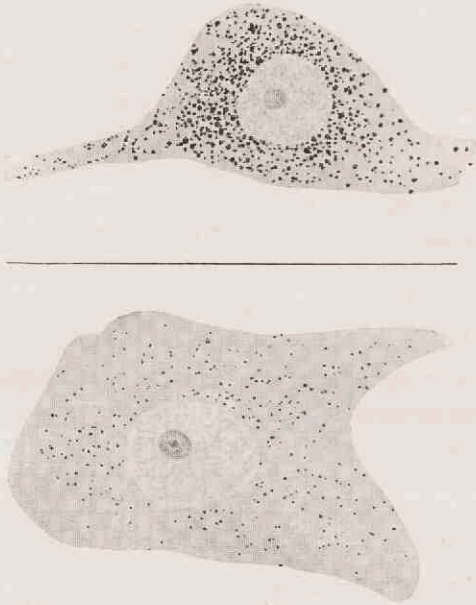


Fig. 6. Twee gangliëncellen uit één coupe van konijn N° 14. Vergrooting 1800 X.  
 Boven: cel van den nucleus oculomotorius, zeer zwaar en grofkorrelig beladen.  
 Onder: cel van den nucleus ruber, geringe en fijnkorrelige belading.

De graad van de belading der oculomotoriuscellen herinnert aan die van zeer actieve histiocyten, ofschoon in deze laatste bij even hooge belading veel meer grove brokken te zien zijn. De glia bereikt nooit een zoo massieve belading als de oculomotoriuscellen dat vertoonen.

*Nucleus ruber.* De cellen van deze kern vertoonen wederom een levendig contrast met die der voorgaande. Deze, door hun grootte zoo opvallende elementen vertoonen minimale affiniteit tot het goud, zoodat men slechts een gering aantal zeer kleine korrels vindt, bruin van tint, ver uiteen gelegen. Evenals in het vorige geval, liggen zij ook hier voor het meerendeel dicht bij de kern, terwijl de uitloopers slechts zeer zwak beladen zijn. Voor dit celtype zie men figuur N° 6 (onder).

De volgende coupe — N° 7 — treft het cerebellum en meten-



cephalon, dit laatste door den nucleus Deiters en nucleus dorsalis nervi VIII.

*Cerebellum.* Hier willen wij eerst de Purkinjecellen beschouwen, die zeer veel goud opgenomen hebben, dat regelmatig verspreid in het cytoplasma gelegen is. De korrelgrootte is varieerend, gaande tot een maximum van 1 à 2  $\mu$ ; de ligging der korrels is ietwat gedrongen, zonder evenwel zoo geserreerd te zijn, dat men zou moeten vreezen bij krachtige ontwikkeling confluentie te zien optreden. Hetzelfde beladingstype laat zich in de uitloopers vervolgen tot op 1/4 à 1/3 van de hoogte van het stratum moleculare, waar de „Speicherung” abrupt eindigt. In overeenstemming daarmee is het aantal der niet te localiseeren korrels uiterst gering, mede een der redenen waarom het cerebellum als een zeer dankbaar object voor het goudonderzoek moet gelden.

Het overgrote deel der zoo verbazingwekkend rijke vertakkingen der Purkinjecellen blijkt dus vrij van goud te zijn; men vindt het metaal slechts terug in het aanvangsdeel der primaire dendrietten.

Volkomen anders is het goudbeeld van het stratum granulosum; terwijl de belading der Purkinjecellen reeds bij geringe vergrooting imponeert, maken de korrelcellen dan nog den indruk goudvrij te zijn. Gaat men evenwel sterker vergrooten — bijna al onze waarnemingen op het c.z.s. zijn gedaan met behulp van een 60 maal vergrootende apochromatische olie-immersielens —, dan blijkt, dat het metaal toch ook in de granulosumcellen doorgedrongen is, zij het slechts in bescheiden mate. In practisch alle gevallen vindt men 5—10 goudkorreltjes, maximaal ongeveer 1  $\mu$  groot, rond van vorm en zwart van kleur, direct op de kernmembraan gelegen. Soms ook vindt men een klein groepje korrels van hetzelfde type iets verder van de kern in het plasma gelegen, terwijl tenslotte een gering aantal overblijft, dat zich niet thuis laat brengen.

Het stratum granulosum doet echter nog een ander belangwekkend verschijnsel zien. Ook zonder op de hoogte te zijn van het bestaan der Golgicellen, ware uit het goudbeeld zonder meer af te leiden, dat er verspreid tusschen de korrelcellen een ander type voorkomt, dat op grond van zijn belading tot een andere groep van cellen gerekend moet worden. De cellen in kwestie zijn zeer veel zwaarder beladen dan de granulosumcellen; ze bevatten niet

alleen méér goudkorrels, vrij dicht opeen gelegen, doch voor een groot deel zijn deze beduidend grover dan die der omliggende elementen. Om kort te gaan: het goudbeeld der Golgicellen is geheel te vergelijken met het beeld, dat de Purkinjecellen bieden.

*Metencephalon.* De cellen van de dorsale kern van den nervus VIII zijn alle beladen; het beeld is echter weinig imposant. Men vindt een fijne korreling, bruinig van tint en homogeen in het cytoplasma verspreid; de bewuste cellen blijken dus slechts weinig affiniteit tot goud te bezitten.

Des te opvallender is daarom het contrast met de kern van Deiters: wanneer men met matige vergrooting deze coupe van het metencephalon beschouwt, dan wordt men onmiddellijk gefrappeerd door een wel afgegrensd areaal, waarvan de groote polygone cellen een zeer donker aspect vertoonen, scherp tegen de omgeving afstekend. Dit blijkt het veld van de kern van Deiters te zijn, waarvan de cellen een beeld vertoonen, dat sterk aan de machtige belading van den nucleus nervi III herinnert, ofschoon niet volkomen die intensiteit bereikend. Iedere cel bevat een groot aantal goudkorrels, echter niet zooveel, dat bij krachtige ontwikkeling confluentie zou dreigen; het is dan ook zeer wel mogelijk de goudkorrels stuk voor stuk te bestudeeren. De afmeting varieert van nauwelijks zichtbaar tot circa 3  $\mu$ , terwijl de korrels voorts rond en koolzwart zijn. Het aanvangsdeel der uitloopers vertoont hetzelfde beladingstype, doch in iets bescheidener mate.

De volgende coupe — N<sup>o</sup> 8 — treft het meest distale deel van het metencephalon en vertoont de nuclei dorsalis nervi X, nervi XII, Staderini, olivaris inferior en de pyramis.

*Nucleus dorsalis nervi X.* Het grootcellige ventrale deel van deze kern vertoont in alle cellen een zware belading. De celkern is alzijdig door een groote hoeveelheid goudkorrels omgeven, een maximale grootte van 2—3  $\mu$  bereikend en vrij dicht opeen gelegen, zonder echter zoo opeengedrongen te zijn, dat het geheele cytoplasma in beslag genomen zou worden. In het kleincellige dorsale deel vindt men eveneens alle elementen beladen, daarbij in het type der goudverdeling weinig afwijkend van het ventrale deel. Bij de geringere hoeveelheid perinucleair protoplasma maakt het dorsale deel evenwel een veel minder massief zwarten indruk dan de ventrale afdeeling.



*Nucleus nervi XII.* Hebben wij de belading van de vaguskern als zwaar gekenschetst, de hoeveelheid goud, die in de cellichamen der hypoglossuskern aangetroffen wordt, wettigt de omschrijving „buitengewoon zware belading”. De individueele korrels kunnen een diameter van 3 à 4  $\mu$  bereiken, terwijl men herhaaldelijk ziet, dat, ingevolge de opeengeperste ligging, confluentie tot nog grovere brokken opgetreden is. Ofschoon het goud bijna een massieve schil direct op de kernmembraan vormt, maken de kernen toch een volkomen normalen indruk. Ook hier hebben wij weer een voorbeeld van opeenhooping van goud in gangliëncellen in een mate, zooals dat door gliacellen nooit vertoond wordt.

Het beeld van den nucleus Staderini behoeft geen nadere beschrijving, aangezien dat geen noemenswaard verschil vertoont ten opzichte van de verhoudingen, die wij reeds beschreven voor den nucleus dorsalis nervi X.

Scherp contrasteerend daarentegen met het aspect der vagusen hypoglossuskernen is het beeld, dat de nucleus salivarius inferior biedt. Deze cellen vertoonen slechts een zeer bescheiden belading; de groote cellen bevatten slechts een gering aantal fijne korrels, die op niet meer dan een centrale zône van het cytoplasma beslag leggen, zoodat de peripherie der cel vrij van goud is.

*Nucleus olivaris inferior.* De cellen van deze kern onderscheiden zich van de voorgaande door een iets forscher kaliber der goudkorrels, terwijl bovendien het aantal korrels per cel sterk toegenomen is. Het goud neemt in dit geval ook geen genoegen met een deel van het cellichaam, doch ligt regelmatig door het geheele cytoplasma verspreid.

De volgende en laatste coupe — N<sup>o</sup> 9 — vertoont het halsmerg. Terwijl alle gangliëncellen beladen zijn, is het beeld van den voorhoorn toch veel boeiender dan dat van den achterhoorn. Vindt men eenerzijds groote motorische cellen, die in hunne belading niet voor hypoglossuscellen behoeven onder te doen, dus grove, dicht opeen gedrongen goudkorrels bevatten, anderzijds vindt men er, die slechts bij geforceerde ontwikkeling het goud laten zien, waarbij de korrelgrootte niet ver boven de grens van zichtbaarheid komt en de individueele korreltjes een geelbruine tint vertoonen. Bij voldoende zoeken laat zich tusschen deze twee extremen een geheele scala van tusschentypen opstellen.



De belading van den achterhoorn bereikt in geen enkel geval de intensiteit, die de maximaal aurophiele cellen van den voorhoorn kenmerkt; integendeel, het is mogelijk een ontwikkelingsduur te kiezen, waarbij reeds een zware belading in motorische cellen zichtbaar wordt, terwijl dan nog slechts enkele elementen van den achterhoorn een uiterst fijne korreling doen zien. Bij verlenging van den ontwikkeltijd blijken echter ook practisch alle achterhoorn-cellen beladen te zijn, zij het in het algemeen slechts gering. Ook al vindt men een enkele maal een redelijk groot aantal korrels, zoo blijven deze toch fijn van afmeting, vaak niet meer dan circa  $0,5 \mu$  groot en bruin van tint.

Memoreeren wij voorloopig, dat voor- en achterhoorn markante verschillen bieden.

Nadat dus in het bovenstaande uitsluitend het gedrag van gangliëncellen beschouwd werd, willen wij thans onze aandacht schenken aan de reactie der gliacellen.

Waar onderzoekingen door Spatz en zijn medewerkers geleerd hebben hoe de verschillende gliatypen specifieke vet- en ijzerbeladingsbeelden vertoonen, hebben wij vanzelfsprekend met groote aandacht naar overeenkomstige verschillen ten opzichte van goud gezocht.

Voor het differentieeren der gliatypen waren wij steeds op het eenvoudige karmijnpraeparaat aangewezen, zoodat de diagnose op grond van den verschijningsvorm van de kern gesteld moest worden. Bij de vele nauwkeurige beschrijvingen der diverse gliakernen, zooals deze zich b.v. in het Nissl-praeparaat voordoen, is dat echter geenszins bezwaarlijk gebleken. Bij de talloze diagnosen, die zich „zweifelsfrei“ laten stellen, behoeft men zich niet te bekommeren om een veel kleiner aantal gevallen, waar men blijft dubieeren; deze laatste blijven eenvoudig buiten de beschrijving.

Onmogelijk is het evenwel in onze praeparaten verschil te zien tusschen vezelige en protoplasmatische astrocyten, zoodat wij de gliavormen indeelen in astrocyten, oligoglia en microglia.

Vooropgesteld, dat men practisch bijna iedere gliacel beladen vindt, gaan wij thans over tot de detailbeschrijving der drie genoemde typen.

*Astrocyten.* De belading hiervan mag voor vele gevallen als grof

en zwaar gekenschetst worden. Meerdere malen aan één zijde van de kern, doch ook diametraal daarvan en rondom, vindt men het goud in een zeer wisselende hoeveelheid korrels, soms slechts enkele, vaak ook vele, gaande van 20 tot 50 en meer, waarbij de grootte wisselt van nauwelijks zichtbaar tot geconflueerde massieven van 6—7—8  $\mu$  in diameter. De kleur der korrels is diepzwart, fraai contrasteerend met de zoo ijl gebouwde kern dezer cellen. In typische gevallen nemen de korrels b.v. de helft van de kern-omtrek in, voor een deel direct op de kernmembraan gelegen, dan over zeer korten afstand — nog geen kerndiameter in beslag nemend — smaller wordend en plotseling puntvormig eindigend, zoodat men den indruk krijgt, alsof de kern door het goud terzijde is gedrongen.

Bij karmijnkleuring slaagt men er slechts in enkele gevallen in om de uitloopers, al dan niet beladen, te vervolgen; een voorbeeld van een geval, waarin dat zeer wel slaagde, geeft afbeelding N<sup>o</sup> 7 (blz. 80) eveneens aan konijn N<sup>o</sup> 14 ontleend. Men ziet daar een astrocyt met één grooten, naar boven gerichten uitlooper, die zich op eenigen afstand van de cel in tweeën splitst en waarvan de eene vertakking tot aan de vasthechting op de capillair, resp. op de membrana limitans, te volgen is. Het goud vertoont zich tot voorbij de splitsingsplaats; het bijna geconflueerde groepje, dat juist rechts boven de splitsing ligt, heeft een lichten hof om zich heen. Of dit een vacuole is, dan wel een halo, kunnen wij niet met zekerheid uitmaken. Tegen de interpretatie als vacuole pleit o.i., dat de lichte hof zich nog tot eenigen afstand buiten de ontwikkelde korrels uitstrekt, met andere woorden buitengewoon veel grooter is dan de goudkorrels zelf.

Zooals gezegd, dergelijke beelden van astrocyten laten zich niet al te frequent vinden; teneinde evenwel een onjuisten indruk te vermijden, zij er hier op gewezen, dat men — met geduldig zoeken — er toch telkens weer in slaagt om zulke beelden te vinden. In sommige van die gevallen laat zich het goud tot nog dichter bij het vat volgen dan in het afgebeelde geval. Dat dergelijke beelden uitdrukking zijn van „Stofftransport” zal wel niemand betwijfelen.

*Oligoglia.* Van de drie gliasoorten vertoont de oligoglia stellig de minste affiniteit tot het goud, terwijl bovendien de wijze van belading niet zoo karakteristiek is als bij de twee andere typen.



Fig. 7. Astrocyt uit den alveus hippocampi van konijn N° 14. Vergrooting 2400 X.  
 Zoowel het cellichaam als de uitlooper op de capillair zijn beladen. Ook het  
 capillairendothelium bevat goud.



Fig. 8. Microgliacel uit den alveus hippocampi van konijn N° 14.  
 Vergrooting 2400 X.  
 Typische, grofkorrelige belading.



Beschouwt men de interfasciculaire glia (die dus in de witte stof gelegen is), dan blijkt, dat practisch alle cellen beladen zijn. Men vindt een bescheiden aantal goudkorreltjes, b.v. 5—10, rondom de kern gelegen. Zij vertoonen daarbij — in tegenstelling tot hetgeen wij eenige malen voor gangliëncellen beschreven — de neiging zich, althans voor een deel, op zekeren afstand van de kernmembraan te houden. De grootte van de korrels bedraagt 1—2  $\mu$  en is vrij uniform.

Het gedrag der oligogliacellen als satellieten wijkt niet veel af van dat, wat zij in interfasciculaire positie vertoonen. Een zekere moeilijkheid biedt natuurlijk het feit, dat men bij de satellieten moet differentieeren tusschen hun eigen belading en die der gangliëncel. In praxi blijkt deze moeilijkheid echter niet onoverkomelijk. Nemen wij als voorbeeld de verhoudingen in den nucleus caudatus van konijn N<sup>o</sup> 14, dan zien wij daar matig beladen gangliëncellen met ietwat bruinige korrels, die over het algemeen een afmeting van circa 1  $\mu$  vertoonen. Veelal ziet men dan om de kern van den satelliet een witten hof, waarin men, ook hier op eenigen afstand van de kern, een bescheiden aantal korreltjes vindt, duidelijk zwarter en iets grooter dan die in het neuroplasma, zoodat de belading van de gangliëncel en haar satelliet wel typische verschillen vertoont, zij het ook, dat soms de gliacel minder, soms sterker beladen is.

De oligoglia van den cortex gedraagt zich op geheel overeenkomstige wijze; ook al is de korreling in sommige van zijn gangliëncellagen wat donkerder, vaak blijkt toch de gemiddelde afmeting der korrels in de oligoglia een weinig grooter.

Beschouwen wij tenslotte nog de satellieten van maximaal zwaar beladen gangliëncellen, waartoe wij als voorbeeld de hypoglossuscellen van konijn N<sup>o</sup> 14 hebben gekozen. In principe blijken de verhoudingen ook hier weer hetzelfde te zijn: de satelliet vertoont een matig aantal korrels, gaarne wat peripheer in zijn witten hof gelegen, doch ditmaal van ongeveer dezelfde grootte als de korreling in de gangliëncel. Het lijkt mogelijk, dat de satellieten van deze maximaal beladen gangliëncellen wat meer goud opgenomen hebben dan de interfasciculaire oligogliacellen, doch deze conclusie wordt voorloopig met het grootste voorbehoud gegeven.

*Microglia.* Ofschoon ook de gewone, ongeveer ronde microglia-

kern in het karmijnpraeparaat zeer wel te vinden is — men vergelijkte Hortega (1932): „simple nuclear stains are usually sufficient for identification of the microgliocytes” — baseeren wij ons voor de volgende discussie op exemplaren, waarvan de kern voldoet aan Hortega's beschrijving: „twisted so as to resemble an S or a C”, waarbij foutieve diagnoses uitgesloten zijn.

Moest van de oligoglia gezegd worden, dat het beladingstype weinig markant was, het tegendeel geldt voor de microglia, die zeer typische vormen vertoont. Vaak vindt men aan één pool van de kern een kleine ophooping van het goud, b.v. 5—10 korrels, gaande tot een maximum diameter van 2—3  $\mu$ , onregelmatig van contour en diepzwart. Deze liggen daar vrij dicht bijeen, doch ook weer niet zoo dicht, of zij zijn nog zeer wel individueel te bestudeeren. Eenige nauwelijks zichtbare korrels kunnen voorts verderop langs de kernmembraan gelegen zijn.

Vervolgens ziet men door de goudkorreling een deel van het verloop der uitloopers zich verraden, zoodat men deze soms over afstanden van 20—30  $\mu$  kan volgen. De korrels liggen daar in een enkelvoudige rij, door afstanden van 1—3  $\mu$  gescheiden, soms ternauwernood zichtbaar, soms een doorsnede van circa 2  $\mu$  vertoonend, doch algemeen blijven zij beneden de maximum-afmeting der korrels, die wij aan de kernpool aantreffen. Fraaier nog wordt het beeld, wanneer men er een enkele maal in slaagt ook nog goudkorrels te vinden in een lijn, rechthoekig op den eersten uitlooper, waaruit dus het bestaan van een secundaire vertakking blijkt en de goudverdeling al duidelijker aanwijzing geeft omtrent den vorm dezer cellen, zooals die uit geïmpregneerde praeparaten bekend is geworden.

Wij verwijzen naar onze figuur N<sup>o</sup> 8 (blz. 80) voor het beeld van een typisch beladen microgliacel.

Over het gedrag der vaten tenslotte kunnen wij kort zijn: steeds vindt men in het endothelium een matige belading, en voorts blijken van plaats tot plaats sterk beladen perivasculaire histiocyten aanwezig te zijn.

Waar het goud in alle elementen van het nerveuse parenchym bleek te zijn doorgedrongen, hebben wij ons afgevraagd of dit ook in de retina van hetzelfde dier het geval was. In dit orgaan nu blijkt het metaal eveneens in een groot deel der cellen te vinden



te zijn, met een korte beschrijving waarvan wij onze waarnemingen op materiaal van konijn N<sup>o</sup> 14 sluiten.

*Retina.* Op de membrana limitans externa ligt een vrij aanzienlijke hoeveelheid goud, zich voordoend als ongeveer bolvormige korreltjes van circa 1  $\mu$  doorsnede, zwart van tint en matig dicht bijeengelegd. Steeds in aantal afnemend, vindt men de korrels nog op een afstand van circa 20—30  $\mu$  van de membrana limitans op de staafjes en kegels verspreid. In de laag der uitwendige korrelcellen bevindt zich slechts een zeer geringe hoeveelheid goud. Het type der goudkorrels is geheel hetzelfde als op de membrana limitans.

In de laag der bipolaire gangliëncellen vinden wij een aanzienlijk grootere hoeveelheid van het metaal dan tusschen de uitwendige korrelcellen. In bijna alle bipolairen blijkt het goud aanwezig te zijn en wel in een typischen vorm; men ziet doorgaans 2 à 3 goudkorreltjes in het protoplasma liggen, circa 2  $\mu$  groot, diepzwart van kleur en bolvormig. Meestal liggen deze korreltjes aan één zijde van de kern, alhoewel ook uitzonderingen daarop bestaan.

In dezelfde laag blijken daarentegen de amakriene cellen slechts voor een zeer klein percentage beladen te zijn, terwijl dan bovendien nog geen karakteristiek beeld gevonden wordt. Het aantal korrels varieert sterk, evenals hun grootte, die uiteenloopt van 0,2—circa 2  $\mu$ . Een bepaalde ligging in het cytoplasma kan niet vastgesteld worden.

Beschouwt men vervolgens de laag der opticus-gangliëncellen, dan ziet men, dat deze zonder uitzondering beladen zijn, terwijl het beladingstype zeer uniform is. Iedere cel bevat tientallen goudkorreltjes, in grootte uiteenlopend van nauwelijks zichtbaar tot 1 à 2  $\mu$  en overwegend bruinig van tint. De korreling is zeer dicht, zoodat men bij matige vergrooing het cytoplasma als een vaalbruine massa ziet. Het beeld der kernen daarentegen biedt geen enkele bijzonderheid. De belading zet zich niet in de uitloopers voort, zoodat de opticus-vezellaag vrij van goud is.

Wat betreft de cellen van Müller, het is mogelijk, dat een enkele maal een of twee goudkorreltjes in het cellichaam voorkomen, in het algemeen echter zijn deze cellen vrij van het metaal, terwijl wij op of tegen de vezels nooit eenig spoor van goud zagen.



2. *Konijn N° 7.*

De belading van dit dier bedraagt 120 mg. goud/kg. De eerste drie doorsneden door het c.z.s. deden resp. zien: cortex, cornu Ammonis, corpus quadrigeminum anterius, nucleus lateralis formatio reticularis, cerebellum en plexus chorioidei. Alle genoemde structuren vertoonden een geringe belading, met uitzondering van de plexus chorioidei, die — in den reeds bekenden vorm — zeer groote hoeveelheden goud bevatten.

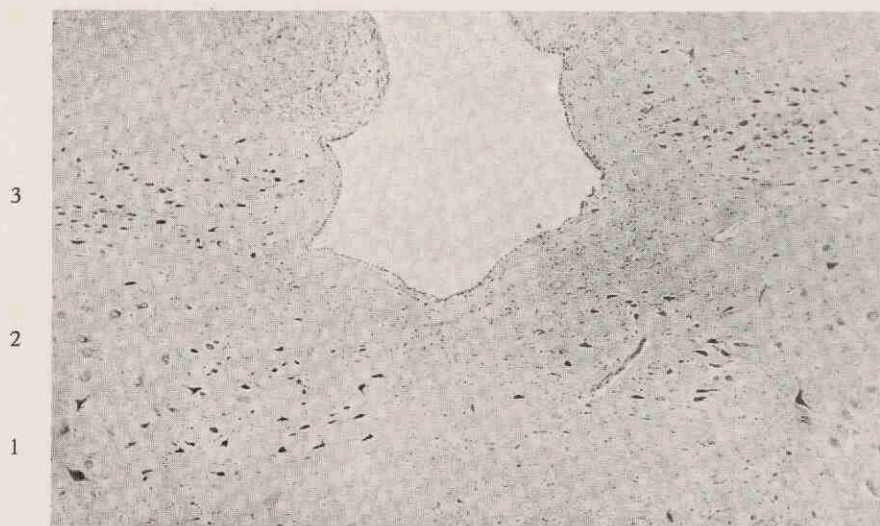


Fig. 9. Microfoto van den bodem van den 4en ventrikel van konijn N° 7.  
Vergrooting 50  $\times$ .

Naast 1 zwaarbeladen cellen van de hypoglossuskern.

Naast 2 zwakbeladen cellen van de hypoglossuskern.

Naast 3 zwaarbeladen cellen van de dorsale vaguskern.

Detailbeeld van de hypoglossuskern in fig. 10.

Geheel anders evenwel bleek het beeld der vierde doorsnede te zijn, die de nuclei X, XII en olivaris inferior vertoont. De cellen der hypoglossus- en dorsale vaguskernen vertoonen een zoo groote affiniteit tot het goud, dat de intensiteit der belading slechts weinig afwijkt van wat wij op de overeenkomstige plaats bij konijn N° 14 vonden, welk dier toch ongeveer vijfmaal zooveel Sanocrysine

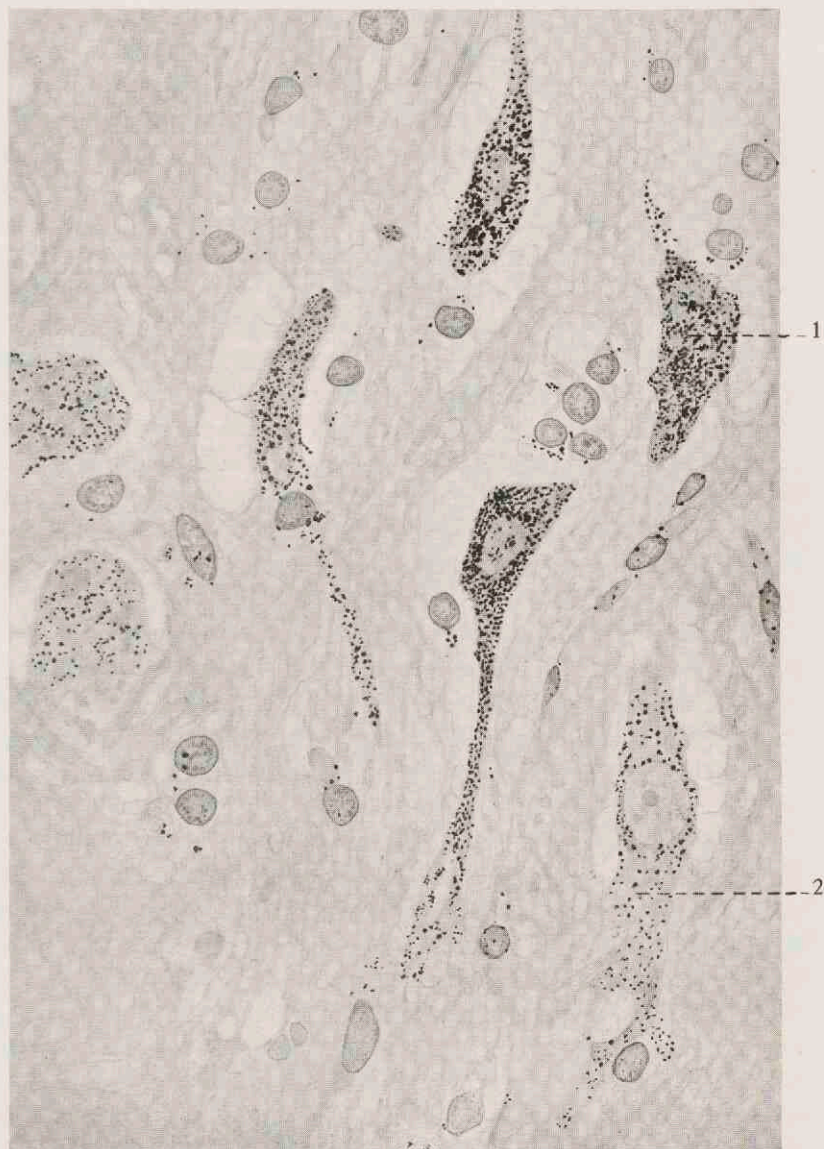


Fig. 10. Hypoglossuskern van konijn N° 7. Vergrooting 1200 X.

1. Type van een zwaarbeladen cel.

2. Type van een zeer matig beladen cel.

Overzichtsbeeld van de hypoglossuskern in fig. 9.

geïnjecteerd kreeg. Figuur N° 9 geeft een microfoto van dit gebied. Ter weerszijde van den ventrikel ziet men de vagus- en hypoglossuskernen, waarvan het meerendeel der cellen er door de hooge belading zwart uitziet. Aan de mediale zijde van den nucleus nervi hypoglossi kan men bovendien de zwakbeladen cellen van deze kern zien, waarover in de volgende alinea.

Evenals bij konijn N° 14, blijkt ook bij konijn N° 7 de hypoglossuskern nog duidelijk zwaarder beladen dan de grootcellige dorsale vaguskern, doch bovendien valt hier in het hypoglossusgebied nog een bijzonderheid op te merken; men vindt er n.l. tweeërlei beladingstype, zie figuur N° 10, blz. 85. Het eerste type is gekenmerkt door een zoo groote hoeveelheid goudkorrels, in afmeting varieerend van nauwelijks zichtbaar tot circa  $3 \mu$ , dat een zeer aanzienlijk deel van het cellichaam erdoor in beslag genomen wordt; de kernen zijn — als steeds — vrij van het metaal. Zij zijn echter in deze cellen zeer slecht kleurbaar (karmijn): de geheele kern vertoont een ongeveer steenroode tint en er is geen nucleolus te vinden.

Het tweede beladingstype wijkt van het eerste af door zijn veel geringere intensiteit; zoowel het aantal als het kaliber der korrels is sterk afgenomen, zoodat de individueele korrels door breede straten van cytoplasma gescheiden zijn, terwijl bovendien de celkern met zijn nucleolus fraai kleurbaar is en een volkomen gaven indruk maakt.

Verreweg het grootste deel dezer zwak beladen cellen vindt men aan de laterale zijde van de hypoglossuskern, waarbij evenwel te bedenken is, dat wij het gedrag daarvan slechts op één doorsnede bestudeerd hebben. In hoeverre dit verschillend gedrag der hypoglossuscellen verband houdt resp. overeenkomt met de differentiatie naar de tongspieren in de hypoglossuskern, zou voortgezet onderzoek moeten leeren.

De belading der verschillende afdeelingen van den nucleus olivaris inferior is slechts zeer matig. Het gedrag der hersenvaten is ongewijzigd gebleven en behoeft dus geen nadere toelichting.

### 3. Konijn N° 1.

De belading van dit dier bedraagt 122 mg. goud/kg. en is dus



practisch gelijk aan die van het hierboven beschreven konijn N<sup>o</sup> 7 (120 mg. goud/kg.).

Het centrale zenuwstelsel werd in 5 niveaux onderzocht, n.l. bulbus olfactorius, lobus piriformis, diëncephalon, mesencephalon, cerebellum en medulla oblongata. In het algemeen kan vastgesteld worden, dat aard en graad der belading grootendeels met die van het vorige dier overeenkomen; in de details blijken echter eenige afwijkingen te bestaan, alsook eenige aanvulling mogelijk te zijn, die het geven van een korte beschrijving rechtvaardigen.

Het goudbeeld van bulbus olfactorius en lobus piriformis geeft weinig aanleiding tot opmerkingen. Algemeen gesproken is de belading wellicht iets zwaarder dan wij in het vorige geval ontmoetten. Daarentegen is de hoeveelheid goud in het ependym van den ventriculus lobi piriformis buitengewoon gering.

De volgende doorsnede, het diëncephalon treffende ter hoogte van de voorste thalamuskernen, doet in de eerste plaats zien hoe de cellen dezer kernen slechts zwak beladen zijn, terwijl een aantal zelfs geheel vrij van goud is. Zeer opmerkelijk is hier echter het beeld van den hypothalamus, wiens massieve belading een uitgesproken maximum in deze coupe beteekent. Ter weerszijde van het infundibulum, doch slechts op een beperkt veld aan de basale zijde daarvan, vindt men vrij plotseling een zeer krachtige belading van gangliën- en gliacellen. Dat bovendien het infundibulaire ependym juist ter hoogte van deze velden een vele malen sterkere belading vertoont dan verder dorsaal, kan niet als toeval opgevat worden; de mogelijke samenhang dezer twee feiten zal in het volgende hoofdstuk onder het oog worden gezien.

De doorsnede door het mesencephalon vertoont den nucleus oculomotorius; de cellen van deze kern vertoonen een zeer sterke belading, waardoor het oculomotoriusveld in de bewuste doorsnede onmiddellijk in het oog springt.

De goudverdeling in het cerebellum heeft dezelfde karakteristika als wij bij konijn N<sup>o</sup> 14 aantreffen, dus sterke belading der Purkinjecellen, veel geringere belading der granulosumcellen, waarin de weinige korrels per cel een uitgesproken neiging vertoonen om juist op de kernmembraan te liggen, en weer sterkere belading der Golgicellen, wier beladingstype wederom sterk herinnert aan dat der Purkinjecellen.

In de medulla oblongata zijn de vagus- en hypoglossuskernen getroffen, wier groote affiniteit tot het goud ook in dit geval bevestigd wordt. Vermeld zij evenwel, dat ditmaal de belading van de vaguskern sterker is dan die van de hypoglossuskern; een vergelijking met de overeenkomstige kernen der twee vorige dieren is echter niet geheel mogelijk, daar in dit laatste geval de medulla oblongata veel meer oraalwaarts getroffen werd, dan bij de twee vorige dieren.

Epitheel en stroma der plexus chorioidei zijn wederom buitengewoon zwaar beladen. Ook de vaten der hersenmassa gedragen zich als in de vorige gevallen: geringe, doch zeer constante belading van het endothelium, terwijl van plaats tot plaats een sterk beladen histiocyot tegen den vaatwand — dus in de ruimte van Virchow-Robin — wordt aangetroffen.

#### 4. *Konijn N° 16.*

Dit dier werd beladen tot een hoeveelheid van 165 mg. goud/kg. In tegenstelling tot de hiervoor beschreven dieren, werd het echter niet direct na de laatste injectie opgeofferd, doch eerst twee maanden later, teneinde eventueele veranderingen van het goudbeeld op te sporen.

Een doorsnede door den bulbus olfactorius doet een zwakke tot matige belading zien van de peri- en interglomerulaire cellen, een vrij sterke „Speicherung” in de mitraalcellen, die wederom de sterkst beladen elementen in deze doorsnede zijn, terwijl het goud in de lamina granulosa interna slechts uiterst spaarzaam voorkomt; hetzelfde is het geval in het endydym van den ventriculus lobi piriformis.

Een tweede coupe treft nucleus caudatus, globus pallidus en putamen. Algemeen kan gezegd worden, dat de belading dezer kernen zeer gering is; vele elementen bevatten in het geheel geen goud, andere slechts sporen, terwijl tenslotte een klein aantal cellen matig zwaar beladen is.

De volgende doorsnede doet den cortex en het diëncephalon zien. De grijze stof der groote hersenen is bijzonder zwak beladen, een zeer groot deel der gangliën- en gliacellen bevat geen goud, de overige doen slechts sporen zien. De pyramidecellen van den Ammonshoorn zijn matig beladen; in vergelijking echter met de

gangliëncellen van den cortex bevatten zij veel goud. In de fascia dentata is het metaal niet aanwezig. De belading der thalamuskernen (ventraal en mediaal) is slechts zeer gering en komt in intensiteit ongeveer overeen met het goudbeeld, dat de cortex biedt.

De plexus chorioideus van den ventriculus lateralis is wederom zeer zwaar beladen; de verdeeling van het goud wijkt in geen enkel opzicht van de vorige gevallen af. Een opvallende tegenstelling daarmede vormt het beeld van het tegenoverliggende ependym, waarin men slechts hier en daar een enkel goudkorreltje vindt.

In het cerebellum zien wij een vrij uitgebreide belading der Purkinjecellen; een aanzienlijk deel der goudkorrels in deze cellen is van ongeveer gelijke grootte — omstreeks  $2 \mu$  —, terwijl de korrels onderling door afstanden, die een veelvoud van hun maximalen diameter bedragen, gescheiden zijn. De belading der Purkinjecellen maakt dan ook een veel ijleren indruk dan b.v. in het geval van konijn N<sup>o</sup> 14. De korrelcellen vertoonen het gebruikelijke beladingstype, doch ditmaal vindt men vaak niet meer dan 2—3 korreltjes op de kernmembraan liggen.

Ofschoon het beladingstype der Golgicellen wederom met dat der Purkinjecellen overeenkomt, is de hoeveelheid goud, die iedere cel bevat, aanzienlijk minder.

Het grootste deel der gliacellen, die men in het stratum moleculare vindt, blijkt het goud opgenomen te hebben.

De volgende doorsnede, de medulla oblongata treffende, vertoont wederom een zeer zware belading van de hypoglossuskern en een iets minder sterke belading van de grootcellige dorsale vaguskern.

De volgende en laatste doorsnede doet het halsmerg zien. In het algemeen is de verdeeling van het goud zeer wel te vergelijken met wat wij bij konijn N<sup>o</sup> 14 in de medulla cervicalis aantreffen; evenals daar, bestaat ook in dit geval groot onderscheid in de mate van intensiteit, waarmede zich de voorhoorncellen beladen hebben. Algemeen echter ligt het beladings-niveau van dit dier veel lager dan van konijn N<sup>o</sup> 14, waardoor het zich gemakkelijk laat verklaren, dat de cellen van den achterhoorn, die zelfs bij konijn N<sup>o</sup> 14 niet meer dan geringe hoeveelheden bevatten, bij konijn N<sup>o</sup> 16 practisch vrij van goud zijn.



Tevens zij hier het volgende verschijnsel beschreven. Nadat wij reeds vele malen opgemerkt hadden hoe het goud neiging vertoont om tusschen de Nissl-lichaampjes te liggen, ontmoetten wij tenslotte in een aantal voorhoornzellen van konijn N<sup>o</sup> 16 een object, waaraan dit verschijnsel in buitengewone duidelijkheid te voorschijn trad. Een matig aantal korrels, voor een aanzienlijk deel omtrent 1 à 2  $\mu$  groot, liggen daar wijd verspreid in het cytoplasma der genoemde cellen; tusschen deze korrels in liggen de scherp gekleurde lichaampjes van Nissl, zoodat het goud op zeer sprekende wijze in de „ungefärbte Bahnen” gelegen blijkt te zijn.

Vaatendotheel en perivasculaire histiocyten vertoonen het goud in gebruikelijke(n) intensiteit en vorm.

Tenslotte werd het cerebellum van dit dier nog onderzocht door middel van een vetkleuring, alsook met een glia- en neurofibrillen-impregnatie volgens Cajal. Het Sudanpraeparaat leerde, dat gangliën- en gliacellen geen vervetting vertoonden, doch deed in een aantal gevallen naast de vaten kleine rijtjes van vetdruppels zien.

Wat betreft de overige praeparaten moeten wij bekennen, dat onze ervaring van het glia- en neurofibrillen-beeld te beperkt is om op grond daarvan een gedetailleerde analyse te beproeven. In het feit, dat wij geenerlei bijzonderheden opmerkten, zien wij evenwel voldoende bewijs om het ontbreken van grove veranderingen als vaststaand aan te nemen.

Terwijl het juist besproken dier heeft doen zien hoe na verloop van twee maanden het goud nog in het centrale zenuwstelsel aanwezig is, onderzochten wij bovendien de hersenen van een rat, die eerst één jaar na afloop van een zeer uitgebreide injectie-serie werd gedood. Wij kunnen daarover echter niet dan kort zijn, aangezien het onderzoek slechts één positieve vondst opleverde. Deze betrof de plexus chorioidei, die nog steeds een zeer sterke belading vertoonden.

Geheel anders evenwel liggen de verhoudingen in de gangliën- en gliacellen. Na ontwikkeling worden daarin weliswaar zwarte lichaampjes zichtbaar, doch na voorbehandeling met KCN en daarop volgende ontwikkeling blijken zij evengoed zichtbaar te worden, ditmaal echter een vuilgele tint vertoonend. Bestudeert men nu, gewaarschuwd door het mislukken van de KCN-proef, opnieuw het normaal ontwikkelde praeparaat, dan blijkt de indruk,

dien men van de zwarte korreltjes krijgt, toch „anders” te zijn dan van de „genuine” goudkorrels. Zoowel in kleur als in vorm zijn er afwijkingen van het normale beeld: de korrels zijn groener en hoekiger. Veel meer woorden te gebruiken om dit afwijkende te omschrijven, schijnt doelloos, daar het slechts op grond van een zekere mate van vertrouwdheid met het normale beeld geapprecieerd kan worden. Of zich nu naast en tusschen deze lichaampjes nog goudkorrels bevinden, hebben wij tot op heden niet kunnen uitmaken. Met de opgedane ervaring moet het echter in volgende analoge gevallen mogelijk zijn vooraf maatregelen ten opzichte van het onderzoek te beramen, die deze vraag wél zullen ophelderen.

## HOOFDSTUK VII.

### SAMENVATTING EN BESPREKING DER WAARNEMINGEN AANGAANDE HET CENTRALE ZENUWSTELSEL.

In dit hoofdstuk zullen wij achtereenvolgens onze vondsten betreffende het c.z.s. samenvatten, de op grond daarvan mogelijke conclusies trekken en die vergelijken met resultaten van en theorie omtrent ander onderzoek op hetzelfde veld, terwijl wij tot slot willen trachten ons een voorstelling te vormen van de mogelijkheden, die deze en dergelijke experimenten voor laboratorium en kliniek bieden.

Als eerste nieuwe feit moge dan geboekt worden, dat wij aangetoond hebben, dat na injectie van een voldoende hoeveelheid Sanocry sine, het nerveuse parenchym goud bevat, met andere woorden dat de hersenbarrière voor dit metaal doorgankelijk gebleken is. Waar nog in 1936 door B u m k e en K r a p f gezegd is, dat over de verhouding tusschen de nieuwe goudpraeparaten en het c.z.s. niets bekend is, terwijl voorts S p a t z in 1934 opmerkte, dat wij „über die Verteilung von dem Körper experimentell einverleibten Metallen im Zentralorgan wenig wissen", gelooven wij te mogen aannemen, dat onze vondst een van de eerste en niet van interesse ontbloote stappen op een tot dusverre practisch braakliggend terrein beteekent.

Voortgaande stellen wij vast, dat — zeer algemeen — de intensiteit der belading gelijken tred houdt met de hoeveelheid metaal, die geïnjecteerd wordt, zoodat het eenerzijds mogelijk is een dosering te kiezen, waarbij alle gangliën- en gliacellen zich beladen, anderzijds een toestand gerealiseerd kan worden, waarbij het metaal slechts in een gedeelte der cellen gevonden wordt.



Voorts blijkt de affiniteit der gangliëncellen tot het goud niet voor alle groepen gelijk te zijn, integendeel, er bestaan uitgesproken voorkeursplaatsen. Ofschoon wij ervan overtuigd zijn, dat voortzetting van het onderzoek ook in dit opzicht nog vele nieuwe feiten aan het licht zal brengen, is het thans reeds mogelijk eenige welomschreven velden, die zeer vroegtijdig en intensief „speichern”, te melden. In de eerste plaats komen hier de kernen van *nervus oculomotorius*, *nervus hypoglossus*, alsook de dorsale vaguskern, de Purkinjecellen en een deel der voorhoornzellen van het ruggemerg, terwijl waarschijnlijk het ganglion basale opticum en de streek om de basis van het infundibulum eveneens in deze categorie behooren.

Was de „goudhonger” der bovengenoemde eenheden een verschijnsel, dat reeds bij zeer matige vergrooting vastgesteld kon worden — zeg een affiniteit van eerste orde —, bij gebruik van sterker objectieven blijkt ook een phenomeen van de tweede orde waargenomen te kunnen worden. Hiertoe rekenen wij de opvallend sterk verschillende mate van belading, die wij — eenmaal — tusschen de cellen van de hypoglossuskern konden vaststellen, waar wij een zwaar en een matig beladen deel zagen, in hoofdzaak respectievelijk mediaal en lateraal gelegen, de zeer uiteenlopende trappen van belading, die de groote cellen in den voorhoorn van het ruggemerg doen zien, en voorts de iets sterker belading, die de lamina pyramidalis van de overige lagen van den cortex onderscheidt. Wij verwijzen hier nog eens naar onze figuur 9, blz. 84, een overzichtsfoto van de medulla oblongata van konijn N<sup>o</sup> 7, die aan hypoglossus- en vaguskern een affiniteit van de eerste orde demonstreert, en naar figuur 10, blz. 85, die de beladingsverschillen in cellen van de hypoglossuskern van konijn N<sup>o</sup> 7 weergeeft, wat wij als een verschijnsel van de tweede orde gekenmerkt hebben.

Gedeeltelijk samengaande met deze verschillen in affiniteit, anderdeels onafhankelijk daarvan, ziet men bovendien van plaats tot plaats markante verschillen in het type van de belading. Een enkel voorbeeld moge dit toelichten: terwijl de granulocellen van het cerebellum het goud in een gering aantal korreltjes van ongeveer gelijke grootte bij voorkeur op de kernmembraan neerleggen, ziet men hoe de daartusschen verspreide Golgicellen korrels van zeer uiteenlopende grootte bevatten, onregelmatig in het

cytoplasma verspreid. Of wel, en dat is eveneens in één coupe waar te nemen, de cellen van den nucleus oculomotorius vertoonen het goud als grove, diepzwarte korrels, die van den nucleus ruber daarentegen als zeer kleine, bruine korreltjes. De twee laatste typen zijn afgebeeld in onze figuur N<sup>o</sup> 6 (blz. 74).

Als cytologisch detail vermeldden wij hoe in de gangliëncellen de goudkorrels tusschen de lichaampjes van Nissl gelegen zijn; deze toestand betreft vanzelfsprekend het gefixeerde praeparaat. Daaruit een conclusie te trekken omtrent de desbetreffende verhoudingen in de levende cel, is op grond van recent onderzoek aangaande de Nissl-stof niet eenvoudig. Herinneren wij ons hoe *Cowdry* (1928) op grond van ultra-microscopisch onderzoek aan levende gangliëncellen de mogelijkheid oppert, dat de Nissl-stof als een diffuse, optisch homogene massa in de cel voorkomt, en hoe voorts *Stöhr* (1923) naar aanleiding van onderzoek in ultra-violet licht beschrijft hoe de Nissl-stof ruim samenhangt, doorboord door de neurofibrillen, dan lijkt het raadzaam zich voorloopig van een meening te dezer zake te onthouden.

Ligt nu het goud, dat wij in de gangliëncellen aantreffen, daar ook definitief verankerd? Hierop moet ontkennend geantwoord worden; het blijkt, dat met verloop van tijd het metaal — althans voor een zeer groot deel — uit de cellen verdwijnt. In dit verband herinneren wij eraan, dat jaren na afloop van een Sanocrysi-nekuur nog dagelijks meetbare hoeveelheden goud met urine en faeces het lichaam verlaten, wel een bewijs, hoe het metaal zich niet als een inerte, onbewegelijke massa in het lichaam bevindt, doch dat er voortdurend verschuivingen plaats hebben.

Dat intusschen deze goudstroom, die zich met grooter of kleiner snelheid door het nerveuse parenchym beweegt, de cellulaire huishouding kan aangrijpen tot zichtbare veranderingen optreden, is inmiddels wel vast komen te staan. Wij verwijzen hier naar de rat, die aan het einde van het vorige hoofdstuk beschreven is, in wier gangliëncellen wij een jaar na toedienen van de laatste injectie groote hoeveelheden argentophiele stof aantreffen. Dit is zeker een abnormaal product, dat niet anders dan door degeneratie ingevolge de Sanocrysi-nekuur ontstaan kan zijn. Hiertegenover moet er evenwel met nadruk op gewezen worden hoe cellen een

zeer uitgebreide belading kunnen vertoonen, zonder in hun kleurbaarheid eenig spoor van afwijking te doen zien.

Na de samenvatting der waarnemingen ten opzichte van gangliëncellen, volgen thans de gliacellen. Ook deze blijken bij voldoende belading zonder uitzondering het goud op te nemen, en

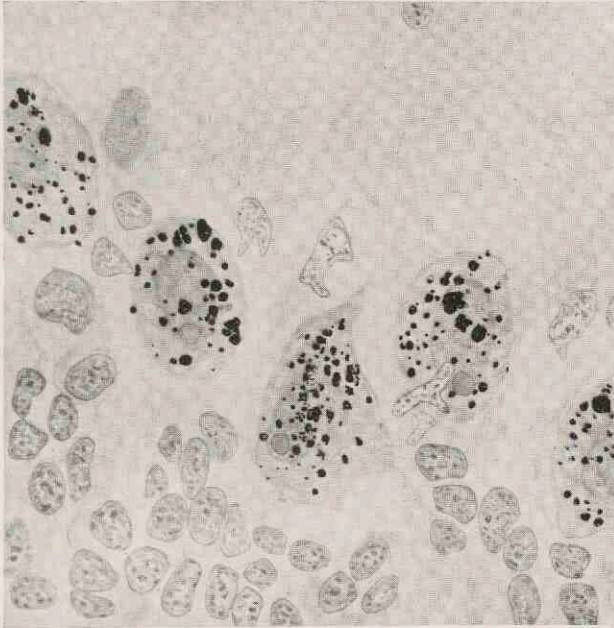


Fig. 11. Cerebellum van een hoogbeladen rat.

(700 mg. goud/kg.). Vergrooting 1200  $\times$ .

Purkinjecellen zwaar beladen, deels zeer grofkorrelig. Granulosumcellen geheel vrij van goud. Bizarre kernen (vermoedelijk microglia) in grooten getale rondom de Purkinjecellen gelegen.

bij lagere dosering slechts voor een deel. Markanter echter dan dit algemeene verschil, is het onderscheid tusschen de beladingstypen der drie soorten van gliacellen onderling, zooals wij dat voor konijn N<sup>o</sup>14 uitgebreid beschreven hebben. Resumeerende: de astrocyten vertoonen gaarne een eenzijdige belading, terwijl in een aantal der gevallen de goudkorrels gevolgd kunnen worden in



de uitloopers, die contact maken met de vaten; de oligoglia is het minst aurophil en legt het goud bij voorkeur op eenigen afstand van de kernmembraan neer; de microglia tenslotte „speichert” het goud op zeer typische wijze, liefst in een aantal grove korrels aan een of meerdere kernpolen, vervolgens voor een deel den primairen uitlooper volgend, een enkele maal ook nog in de secundaire vertakkingen zichtbaar.

Steeds gelijk gedroegen zich tenslotte de plexus chorioidei en de hersenvaten. Epitheel en stroma der plexus vertoonen steeds een machtige belading, het vaatendotheel bevat altijd en overal een geringe hoeveelheid goud, terwijl men van plaats tot plaats sterk beladen histiocyten langs de vaten vindt.

Na aldus een overzicht der feiten gegeven te hebben, komen wij thans tot de theoretische beschouwingen. Zien wij eerst de vraag onder het oog, of verwacht mocht worden, dat het goud in het c.z.s. zou kunnen binnendringen. Een tweetal omstandigheden maken het vrijwel onmogelijk hierop een definitief antwoord te geven: 1° het is onbekend onder welken vorm het goud de hersenbarrière bereikt; 2° zelfs al bestonden hieromtrent gegevens, dan nog is het permeabiliteits-onderzoek dezer barrière — niettegenstaande de bewonderenswaardige energie en vindingrijkheid ook aan dit vraagstuk gewijd — zoozeer in een aanvangsstadium, dat een poging tot verklaring hoogstwaarschijnlijk toch schipbreuk zou lijden.

Wij kunnen dus niet anders doen dan nagaan wat tot dusverre aangaande het gedrag van metalen en het c.z.s. werd vastgesteld. Terwijl kwik zeer waarschijnlijk in gangliëncellen binnendringt, mag dat voor mangaan wel als zeker aangenomen worden (Bumke en Krapf, 1936). Tot dezelfde conclusie aangaande dit laatste metaal komen ook Grünstein en Popowa (1929) voor konijnen en Mella (1924) voor apen. Volledigheidshalve zij echter vermeld, dat noch mangaan noch kwik ooit in gangliëncellen gezien zijn; werkelijk bewijzend voor de aanwezigheid van metaal in gangliëncellen zijn de experimenten van Jahné l.c.s. (1932), die na chronische telluurvergiftiging van konijnen het metaal in de gangliëncellen van den cortex terugvonden; door de glia werd het niet of nauwelijks opgenomen.

Zooals men ziet, de feitelijke gegevens omtrent metalen in het

nerveuse parenchym zijn slechts sober; desalniettemin zal men op grond daarvan eerder wel dan niet verwachten, dat een moleculair-dispers goudzout in staat zal blijken de barrière te doordringen.

Nieuwe en niet minder groote moeilijkheden doen zich voor bij de vraag naar den weg waarlangs het goud in het nerveuse parenchym binnendringt: wordt het door de plexus chorioidei in den liquor afgescheiden, om vervolgens samen met den liquor te permeëren, of treedt het direct uit de vaten binnen, bestaan misschien beide mogelijkheden, zijn er wellicht nog andere? Ziehier de vragen, die sinds vele jaren het barrière-onderzoek beheerschen, zonder nochtans tot definitieve oplossing te zijn gebracht. Een volledig referaat alleen zou reeds voldoende zijn een lijvig boekdeel te vullen; hier moeten wij met een vluchtig overzicht van enkele grepen uit de rijke stof volstaan.

Wederom treffen wij dan Goldmann als pionier. Uit het feit, dat na intraveneuse toediening van pyrrholblauw het c.z.s., met uitzondering van de plexus chorioidei, ongekleurd blijft, terwijl na injectie van de kleurstof in den liquor de zenuwcellen zich wèl kleuren, trekt hij twee conclusies: 1° gangliëncellen kunnen „von sich aus” het pyrrholblauw niet weren, zoodat een barrière tusschen bloed en hersenen aanwezig moet zijn; 2° deze barrière ligt in de plexus chorioidei.

Terwijl nu het onder 1° genoemde een waarneming van ontwijfelbare juistheid is, die het bestaan van een barrière volstrekt noodzakelijk maakt, schijnt de onder 2° gegeven conclusie niet houdbaar te zijn. Historisch evenwel is deze van groote beteekenis (zie Spatz, 1934), daar zij immers als uitgangspunt beschouwd kan worden voor de theorie van von Monakow-Stern-Hauptmann, die gedurende vele jaren als onaangevochten richtsnoer voor het barrière-onderzoek fungeerde.

Volgens deze beschouwingen wordt de liquor, die alle voor de voeding van het c.z.s. noodige stoffen bevat, door de plexus chorioidei gesecerneerd, vervolgens doordringt deze vloeistof ventrikelependym en hersenparenchym, waar de voedingsstoffen aan de cellen afgegeven en afbraakproducten opgenomen worden, om tenslotte in het spatium subarachnoidale te belanden, alwaar resorptie plaats vindt.



Welke argumenten nu werden tegen Goldmann en von Monakow c.s. in het veld gevoerd? Tegen de barrière-functie van de plexus geldt vooral het feit, dat na exstirpatie daarvan trypaanblauw toch niet in staat blijkt het c.z.s. te kleuren, en tegen de voedingsfunctie van den liquor de uitgesproken armoede aan opgeloste stoffen — vergeleken met bloed en lymfhe — van deze vloeistof, een argument, dat nog aan kracht wint door twee omstandigheden, n.l. de intense stofwisseling van het nerveuse parenchym en de zeer langzame strooming van den liquor.

Alhoewel dus de barrière-functie van de plexus en de voedingsfunctie van den liquor blijken te vervallen resp. in twijfel worden getrokken, blijft toch ook van deze leer iets behouden: algemeen gelden heden de plexus chorioidei als bron voor den liquor: daarnaast staat evenwel vast, dat diffusibele stoffen, als b.v. suiker, ureum en broom, direct uit de meningeale vaten in den liquor kunnen overtreden (zie Walter, 1934).

Deze argumentatie als valide aanvaardend, luiden de volgende vragen: uit welke bron betreft dan het c.z.s. zijn voedingsstoffen en waar ligt de barrière. Volgen wij voor het antwoord op deze vragen Walter (1934), dan vinden wij, dat — evenals voor alle andere weefsels — op de bloedvaten de taak rust het c.z.s. zijn voedingsstoffen te leveren; voor zooverre de ruimte van Virchow-Robin niet als virtueele spleet aanwezig is, doch als een met vocht gevulde ruimte, zal dit vocht in samenstelling met de lichaamslymfhe overeenkomen — dus rijkelijk eiwitstoffen en vetten, resp. splitsingsproducten daarvan bevatten — en niet met den liquor. \*).

Wat voorts de barrière betreft, hier kan niet meer met één volstaan worden, doch moet er waarschijnlijk met een drietal ge-

---

\*) Als voorbeeld van de moeilijkheden, waarmede de nieuwe barrièretheorie nog te kampen heeft, moge het volgende dienen. Zooals gezegd, wordt de ruimte van Virchow-Robin geacht een vloeistof te bevatten, die veel rijker is aan eiwitstoffen en vetten dan de liquor. Dit laatste feit te verklaren, ondanks vrije communicatie tusschen deze ruimte van Virchow-Robin en het spatium subarachnoidale — oorspronkelijk vastgesteld door Key en Retzius, door Schaltenbrand en Bailey (1928) nog eens bevestigd naar aanleiding van een geval van torula-meningitis en van een meningeaal sarcoom, waarbij in het eene geval de gistcellen, in het andere geval de gezwelcellen vanuit het spatium subarachnoidale vrijuit in de perivasculaire ruimten doorgroeiden —, zal nog veel onderzoek, en niet minder hoofdbreken eischen.



rekend worden, en wel één tusschen bloed en liquor, één tusschen liquor en hersenen (achter elkaar geschakeld) en één tusschen bloed en hersenen (parallel geschakeld met de twee eerste). Fig. 12, (blz. 100) geeft een schema, ontleend aan het werk van Spatz (1934); in dit schema is door ons aangegeven de plaats waar zich de barrières bevinden. De volgende alinea geeft daarvan een omschrijving, waarbij de Romeinsche cijfers naar figuur N<sup>o</sup> 12 verwijzen.

De bloed-liquorbarrière ligt in de plexus chorioidei (I A) en in het endothelium der meningeale vaten (I B), de liquor-hersenbarrière in ventrikelependym (II A) en pia-gliamembraan aan de oppervlakte van de hersenen (II B), terwijl tenslotte voor de localisatie van de bloed-hersenbarrière (III) meerdere mogelijkheden bestaan (Spatz): de histiocyten der intra-cerebrale vaten, de gliacellen, de membrana limitans gliae van Held en tenslotte het vaatendotheel zelf.

Te trachten al deze — voor een deel toch ook nog zoo nieuwe — kennis op goudproblemen toe te passen, is zeker geen ongevaarlijke onderneming; dit desalniettemin beproevende, luiden onze overwegingen als volgt: dat na goudbehandeling de liquor dit metaal bevat, is een feit (zie Lebeuf c.s., 1931); de sterke belading, die in alle gevallen door het plexus-epithelium wordt vertoond, is daarmee zeer wel in overeenstemming. Herinneren wij ons bovendien de extreem beladen cellen, die wij vrijliggend in de hersenholtten aantreffen, en realiseeren wij ons, dat bij het uiteenvallen dezer elementen het goud in den liquor moet vrijkomen, dan gelooven wij wel, dat wij met deze praeparaten in de hand den uitslag eener goud-analyse in den liquor hadden kunnen voorstellen.

Het bewuste metaal eenmaal in den liquor wetend, stuiten wij op de volgende barrière, n.l. tusschen liquor en hersenen, en wederom blijkt het goud hier „optisch fassbar” te zijn. Intusschen, of het ventrikel-ependym inderdaad een barrière vormt, is ook voor Walter (die de drie-barrières-theorie opgesteld heeft) een min of meer aanvechtbare zaak. Vast staat, dat na intraventriculaire injectie van trypaanblauw en andere stoffen doordringen in ependym en hersenmassa plaats vindt, ook wanneer de injectie gedaan wordt in den zij-ventrikel na voorafgaande afsluiting van den

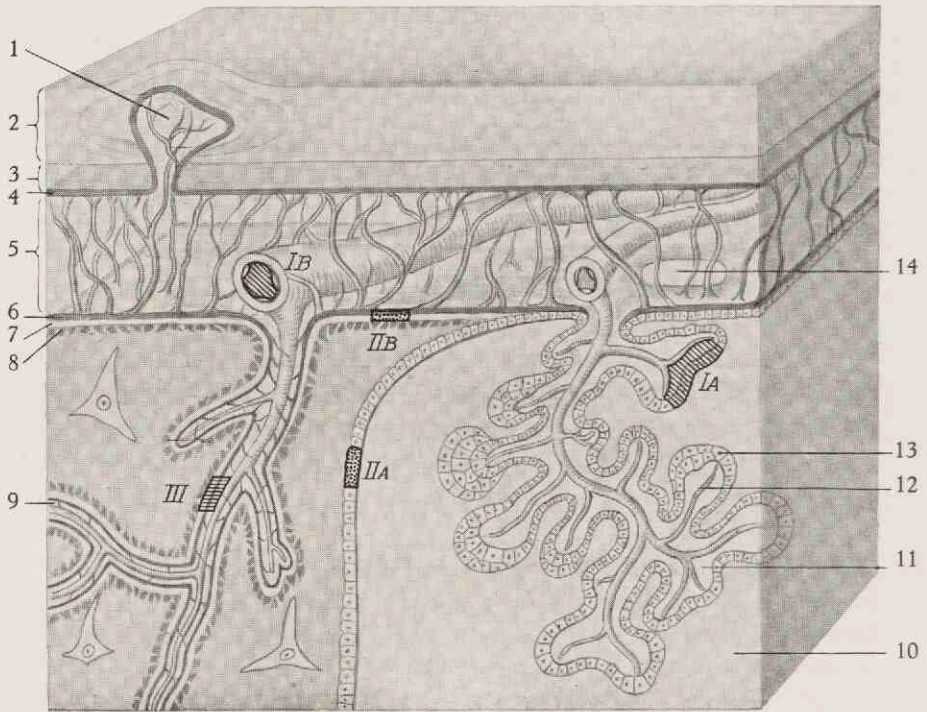


Fig. 12. Voorstelling der drie hersenbarrières, opgesteld door Walter, aangegeven in een schema, ontleend aan Spatz (1934).

- |   |  |
|---|--|
| 1. Granulatie van Pacchioni.            | 8. Gliakamers.                         |
| 2. Dura mater.                          | 9. Ruimte van Virchow-Robin.           |
| 3. Spatium subdurale.                   | 10. Ventriculus IV.                    |
| 4. Arachnoidea.                         | 11. Stroma van den plexus chorioideus. |
| 5. Spatium subarachnoidale.             | 12. Bloedvat van den plexus.           |
| 6. Pia mater.                           | 13. Epithelium van den plexus.         |
| 7. Membr. limitans gliae superficialis. | 14. Foramen Magendi.                   |
- IA. *Bloed-liquorbarrière* in den plexus chorioideus, event. omvattende vaatendothelium, mesenchym (histiocyten!) en plexus-epithelium.
- IB. *Bloed-liquorbarrière* in het spatium subarachnoidale, schuilend in den vaatwand, event. in het endothelium.
- IIA. *Liquor-hersenbarrière* in het ventrikel-ependym.
- IIB. *Liquor-hersenbarrière* in de oppervlakkige pia-gliamembraan.
- III. *Bloed-hersenbarrière*, event. gelegen in vaatendothelium, limitans gliae, perivasculaire histiocyten, gliacellen.



aquaeductus (Walter). Tot zoover dus geenerlei bezwaar om de belading van het ependym, die wij vaststelden, als eerste stadium van het indringen van het goud te zien. Doch er is meer; wanneer wij ons thans herinneren, dat wij bij konijn N<sup>o</sup> 1 een electief verhoogde belading van den hypothalamus zagen, terwijl nauwkeurig tegenover dat veld het infundibulaire ependym eveneens een uitgesproken beladings-maximum vertoonde, dan kan dit ongedwongen als volgt verklaard worden. Nadat het goud in den liquor is overgegaan, begint het gelijkmatig door het ependym heen in de hersenmassa naar binnen te diffundeeren. Niet zoodra echter begint één celgroep zich sterker dan de omgeving te beladen, of de verhoudingen wijzigen zich en er treedt daar ter plaatse een sterker strooming op, in ons geval zich uitend in sterker belading van het ependym.

Tenslotte de derde barrière, n.l. tusschen bloed en hersenen; te dezer zake verschaffen onze praeparaten drie gegevens: belading van het vaatendothelium, belading van perivasculaire histiocyten en belading van vaatuitloopers van astrocyten. In deze laatste kan men de goudkorrels vinden zoowel aan de zijde van het vat als midden in den uitlooper en ook op de plaats waar deze het cellichaam verlaat. Overeenkomstige beelden beschrijft Held (1909) in praeparaten van normale hersenen, waarin dan kleurbare granula van onbekenden aard de plaats van onze goudkorrels innemen; evenals hij mogen wij concludeeren, dat hier een stoftransport zichtbaar is, waarvan de richting echter niet zonder meer blijkt. Van belang is evenwel, dat er met hooge waarschijnlijkheid de doorgankelijkheid der bloed-hersenbarrière voor goud uit afgeleid kan worden.

In de gedachtengang van Spatz-Riser ligt de bloed-hersenbarrière in het endothelium der hersenvaten. Spatz merkt daarbij nog op, dat het verschijnen van een kleurstof in eenig weefselement bewijst, dat de barrière reeds doorbroken is. Dit aannemende zou dus de regelmatige aanwezigheid van goud in het endotheel der hersenvaten zichtbare uitdrukking zijn van de permeabiliteit der bloed-hersenbarrière voor goud(zouten), een hypothese, die belangrijken steun vindt in bovenbeschreven gedrag der astrocyten.

Aangaande de wegen, waarlangs het goud de hersenen verlaat



— de noodzakelijkheid van hun bestaan blijkt uit het gedrag van het c.z.s. der twee laatste dieren, in het vorige hoofdstuk beschreven —, zijn onze waarnemingen nog zoo onvolledig, dat wij moeten volstaan met een verwijzing naar het referaat van K a f k a (1934), die vermeldt hoe, naast de welbekende afvoerwegen van den liquor, een directe overgang van stoffen uit de hersenen in het bloed moet bestaan.

Verlaten wij thans het barrière-probleem om de goudbeelden der gliacellen te vergelijken met hun gedrag ten opzichte van andere stoffen. Aangaande ijzer beschikken wij over een nauwkeurige beschrijving van M e t z (1926) voor gevallen van juveniele paralyse en chorea van Huntington. Wanneer wij daarin lezen hoe de astrocytenkern vaak excentrisch in de korrels ligt, die soms de breede aanvangsstukken der uitloopers markeeren, dat de oligoglia slechts weinig bevat en dat deze cellen de ijzerkorrels op eenigen afstand van de kern deponeren en dat tenslotte de microgliacellen dicht samengedrongen ijzerkorreltjes op de kernpool vertoonen, die zich soms in de hoofd- en zij-uitloopers voortzetten, dan komt dit alles zoo nauwkeurig overeen met wat in onze goudpraeparaten te zien is, dat wij wel sterk den indruk krijgen, dat zich in het bewuste beladingstype fundamenteele eigenschappen der gliacellen manifesteren. Vooral ten opzichte van de Hortega-glia krijgt deze meening nog aanzienlijken steun door het werk van S t r u w e (1926), waaruit blijkt, dat de vorm, waaronder deze cellen zich met vet beladen, grootendeels met dien voor ijzer — en dus ook voor goud — overeenkomt. Terecht betoogt S p a t z, dat het mogelijk geweest ware om de „Sonderstellung” van deze gliacel uit het ijzerbeeld af te lezen; na het voorgaande zal het duidelijk zijn, dat wij met goed recht hetzelfde voor het goudbeeld kunnen poneeren.

Thans willen wij ons de vraag voorleggen of het mogelijk is om uit bovenstaande neuro-histologische en -physiologische overwegingen eenige aanwijzing voor de neurologische kliniek af te leiden. Wij stellen daarbij voorop, dat reeds in het laboratorium gebleken is hoe recurrens-spirochaeten in het c.z.s. van muriden gedurende de immuunperiode door Solganal-kuren vernietigd kunnen worden, terwijl arseno-benzolen dan werkeloos zijn; men zie hiervoor S t e i n e r en F i s c h l (1929), die hun artikel be-

sluiten met de opmerking, dat het thans gerechtvaardigd schijnt te trachten deze ervaring ook ten nutte van de kliniek te doen komen. Het ligt voor de hand deze werking van een goudverbinding op spirochaeten, die in het c.z.s. persisteeren, in verband te brengen met de door ons aangetoonde permeabiliteit der hersenbarrière(s) voor goud; het zij ons toegestaan te dezer zake *Walter* (1934) nog eens te citeeren: „..... stellen doch (die Schranken) ein Hindernis für die chemotherapeutische Beeinflussung zentral nervöser Erkrankungen dar”.

Aannemende, dat het ook bij den mensch mogelijk zal zijn goud (zouten) in het nerveuse parenchym te doen binnengaan, moet het verder ter beoordeeling van den clinicus blijven of, en zoo ja voor welke gevallen hij een goud-therapie voor aandoeningen van het c.z.s. wil instellen, eventueel gecombineerd met maatregelen, die verhooging van de doorlaatbaarheid der grensvlakken beoogen (ent-malaria en diathermie).

In de literatuur verspreid vindt men reeds eenige mededeelingen, die niet onbemoedigend schijnen. *Broadway* (1933) bericht van een aanvankelijk gunstige wending in een geval van tuberculeuse meningitis onder invloed van Sanocrysine; *Gelbenger* (1933) vermeldt genezing van twee gevallen van lymphocyttaire en twee van etterige meningitis door intra-lumbale Solganal-behandeling, en raadt eenzelfde therapie aan in gevallen van spastische spinaalparalyse, post encephalisch Parkinsonisme en multipele sclerose; *Steinfeld* (1930) heeft een gunstigen indruk van Solganal B-behandeling bij multipele sclerose. Deze voorbeelden zouden zeker nog vermeerderd kunnen worden, doch wij volstaan ermede, als voldoende onzen gedachtengang belichtend.

Dat intusschen de goud-therapie ook aanleiding kan geven tot neurologische stoornissen, blijkbaar voornamelijk van peripheren aard — men zie hiervoor *Leitner*, 1931 —, zal vooral aanleiding moeten zijn een voorzichtige doseering toe te passen, van geval tot geval in overeenstemming met de tolerantie van den patiënt; eventueel passe men gelijktijdig een calcium-therapie toe, die volgens sommigen — *Leitner* e.a. — de schadelijke invloeden van het metaal tegenwerkt.

Met bovenstaande overwegingen van klinischen aard zijn wij reeds overgegaan tot het laatste deel van dit hoofdstuk, waarin



wij ons voorstelden om eventueele mogelijkheden, die het goud-onderzoek door middel van physische ontwikkeling nog kan bieden, onder het oog te zien. Na de practische „outlook” moge dus thans de theoretische volgen.

Slaan wij nog eens het groote referaat van Spatz (1934) over vitaalkleuring en c.z.s. op, dan vinden wij daarin, dat binnen de grijze stof een volkomen regelmatige verspreiding der kleurstoffen plaats vindt; ophooping in bepaalde centra is tot dusverre niet vastgesteld. Realiseeren wij ons, dat hier kleurstoffen genoemd worden, aangezien deze optisch te volgen zijn op hun weg door de weefsels, en ziende, dat physische ontwikkeling dezelfde eigenschap aan goud verleent — met dien verstande dan, dat het metaal in zeer veel geringer hoeveelheid aangetoond kan worden dan de vitale kleurstof —, dan is, waar wij wél een „lokale Anreicherung” voor een aantal centra buiten twijfel vaststelden, hiermede een belangrijke stap voorwaarts gedaan.

Ware het nu verder, vervolgt Spatz, mogelijk om stoffen te vinden, die naast deze locale en zichtbare ophooping een specifieke, plaatselijke werking ontvouwd, dan „wäre damit ein neuer Weg für die Erforschung der Lokalisation eröffnet”. Het eerste gedeelte der voorwaarde wordt dus door het goud bijzonder goed vervuld; na te gaan of ook aan den tweeden eisch voldaan wordt, ligt niet in de eerste plaats op den weg van den histoloog. Slechts in samenwerking met onderzoekers op neurologisch, physiologisch en pharmacologisch terrein, zou deze vraag ten volle beantwoord kunnen worden. De aanduidingen van omschreven degeneratie, zooals wij die b.v. in de zwaarbeladen cellen van het ganglion basale opticum van konijn N<sup>o</sup> 14 meenden te zien, stemmen ook in dit opzicht optimistisch.

In een overeenkomstige gedachtenwereld beweegt zich voorts het pathoklise begrip van Vogt (1925), waaronder deze auteur verstaat de direct verhoogde vulnerabiliteit van den drager van een in functioneel samenhangende gebieden gelocaliseerd ziekteproces, onverschillig of deze gebieden ook in de ruimte samenhangen, of niet. Ook met deze onderzoekingen schijnen aanknopingspunten aanwezig; Vogt geeft als voorbeeld de Ammonshornsclerose, die successievelijk meerdere scherp begrensde deelen van den Ammonshoorn aantast. Door ons werden in de laag der



pyramidecellen van den Ammonshoorn, op grond van het beladingstype, een drietal afdeelingen waargenomen: beter point de repère voor een onderzoek in deze richting laat zich nauwelijks denken.

Tot slot nog een blik op het barrière-probleem. Wij zijn ervan overtuigd, dat het mogelijk zal zijn om met nieuwe reeksen van goud-experimenten scherper antwoorden te geven op vragen naar de plaats van binnendringen en afvoeren van het metaal, dan wij hier konden bieden. Analysen in bloed en liquor, extirpatie van de plexus chorioidei, nauwkeurige waarnemingen omtrent tijdstip van eerste aanwezigheid van goud in liquor, gangliëncellen, gliacellen, vaatendotheel, perivasculaire histiocyten, meningen, enz., dit alles — boven onze aanvankelijke exploreerende probleemstelling uitgaande — kan bij de hooge gevoeligheid der physische ontwikkeling niet anders dan een rijken oogst van feiten inzake barrière-vraagstukken afwerpen, in practisch en theoretisch opzicht een van de meest boeiende en belangrijke problemen der neurologische wetenschap.

## SAMENVATTING.

Het onderzoek beoogde cellulaire localisatie van goud na injectie van Sanocryesine; de goudkorrels worden zichtbaar gemaakt door er zilvermantels omheen te praecipiteeren, z.g. physische ontwikkeling. De methode is zeer gevoelig;  $1\frac{1}{2}$  mg. goud/kg. dier geeft reeds aantoonbare goudkorrels in de niercellen. Vergelijking met andere methoden leert, dat deze tot de gevoeligste te rekenen valt, wellicht zelfs de grootste gevoeligheid bezit.

Aangetoond wordt, dat de placenta van ratten, muizen en konijnen voor goudzouten doorgankelijk is (Figuur N<sup>o</sup> 2).

Uit de relatief zeer zware belading van het foetale c.z.s. wordt afgeleid, dat in het embryonale lichaam geen barrière op de toegangswegen tot het centrale zenuwstelsel aanwezig is. Reeds voor de tweede helft der graviditeit worden histiocyten in het foetale bindweefsel aangetroffen.

Bij voldoende belading van het volwassen dier ( $\pm$  300 mg. goud/kg. dier) blijkt het goud in alle cellen van het c.z.s. aanwezig; aldus de doorgankelijkheid der hersenbarrière voor goud aantoonende, wordt getracht den weg van het metaal door de barrières te volgen; de verkregen beelden maken binnendringen langs liquorweg en bloedweg waarschijnlijk.

De retina vertoont het goud in matige hoeveelheid op de membrana limitans externa, voorts in bijna alle bipolaire cellen, in slechts enkele amakriene en tenslotte weer zonder uitzondering in de opticus-gangliëncellen.

Voor een aantal proefdieren wordt de localisatie in het c.z.s. beschreven; nadruk wordt daarbij gelegd op de volgende feiten: astrocyten, oligo- en microglia vertoonen eigen beladingstypen (zie figuur N<sup>o</sup> 7); in een aantal gevallen wordt een typeerende verdeelingsvorm van het goud gevonden in bepaalde celsoorten (voorbeeld: mitraalcellen en Purkinjecellen); behalve dit verschil

in verdeelingsvorm bestaan er daarenboven markante verschillen in affiniteit; de kernen van oculomotorius, hypoglossus, vagus (dorsaal), Deiters e.a. worden als voorbeelden van reeds bij geringe doseering intensief zich beladende gebieden besproken.

Waar hier voor het eerst een metaal in zijn cellulaire en topografische localisatie in het c.z.s. uitvoerig en gedetailleerd waargenomen en beschreven is, wordt aan de hand van de histologische feiten de functie van de barrière in physiologische, pharmacologische en neurologisch-clinische beteekenis in een slot-hoofdstuk in beschouwing genomen.



## ZUSAMMENFASSUNG.

Die vorliegenden Untersuchungen beabsichtigen zelluläre Lokalisation des Goldes nach Sanocrysin-behandlung; die Goldkörner werden sichtbar gemacht durch Anlagerung silberner Hüllen, sog. physikalische Entwicklung. Die Erfassungsgrenze der Methode liegt sehr tief;  $1\frac{1}{2}$  mg. Gold/kg. Tier genügt zum Nachweis des Metalles in den Nierenzellen. Vergleich mit andern Hilfsmitteln zum Goldnachweis lehrt, dass physikalische Entwicklung zu den empfindlichsten Methoden gehört, vielleicht sogar an der Spitze steht.

Es wird gezeigt, dass die Nagerplazenta (Ratte, Maus, Kaninchen) für Goldsalze durchgängig ist (Figur N<sup>o</sup> 2).

Aus der relativ sehr schweren Speicherung im fetalen Gehirn wird gefolgert, dass im embryonalen Körper keine Hirnschranken bestehen. Schon vor der zweiten Hälfte der Gravidität finden sich Histiocyten im fetalen Bindegewebe.

Bei genügender Beladung des erwachsenen Tieres (ungefähr 300 mg. Gold/kg.) zeigt sich das Gold in allen Zellen des Zentralnervensystems. Nach diesem Beweis für die Durchgängigkeit für Gold der Hirnschranken des erwachsenen Tieres, wird versucht den Weg des Metalles durch die Barrieren nachzuweisen; aus den Präparaten wird zu einer Benützung des Liquorweges und des Blutweges geschlossen.

Die Retina zeigt das Gold in mässiger Menge auf der Membrana limitans externa, weiter in fast allen Bipolaren, in nur einigen Amacrinen und schliesslich wieder ohne Ausnahme in den Optikusganglienzellen.

Für eine Anzahl Versuchstiere wird die Lokalisation des Metalles im Zentralorgan beschrieben, wobei folgende Befunde betont werden: Astro-, Oligo- und Mikroglia zeigen eigene Speicherungstypen (Figur N<sup>o</sup> 7); bestimmte Zellarten weisen charak-

teristischen Verteilungsmodus des Goldes auf (Beispiel: Mitral- und Purkinjezellen); es bestehen weiter ausgesprochene Affinitätsunterschiede: die Kerne des Oculomotorius, Hypoglossus, Vagus (dorsal) und andere werden als Beispiel schon bei geringer Beladung intensiv speichernder Gebiete besprochen.

Wo hier eine erstmalige detaillierte Beschreibung der zellulären und topografischen Lokalisation eines Metalles im Zentralnervensystem vorliegt, wird, unter Zugrundelegung der histologischen Tatsachen, die Schrankenfunktion in physiologischer, pharmakologischer und neurologisch-klinischer Hinsicht einer Betrachtung unterzogen.

## SUMMARY.

Research concerning the cellular localisation of gold after the injection of Sanocryesine; the goldgrain is made visible by precipitation of silver-mantles round it, so-called physical development. This technique is very sensitive;  $1\frac{1}{2}$  mg. gold/kg animal is sufficient to demonstrate the metal in the cells of the kidney. Comparison with other methods goes to show that physical development is probably the most efficient and sensitive means for the detection of gold.

It is shown that the placenta of the rat, rabbit and mouse cannot keep gold from entering the fetal body (figure 2).

From the presence of gold in relatively high quantity in the central nervous system, it is concluded that during intra-uterine life no barrier exists. Before the second half of pregnancy histiocytes are found in fetal connective tissue.

Given sufficient dosage of the full-grown animal (about 300 mg. gold/kg.), the gold appears in every cell of the central nervous system; thus showing barrier permeability for gold, an attempt is made to follow the metal in its course through the barrier; the pictures concerned point strongly to the possibility of penetration with the liquor and directly from the vessels.

In the retina a moderate amount of gold is found on the membrana limitans externa; further, the metal is present in practically all of the bipolars, in only a few of the amacrine and finally again without exception in the ganglionic cells of the optic nerve.

For a number of experimental animals cellular and topographical localisation in the cerebro-spinal axis is given. The following facts are being emphasized: astro-, oligodendro- and microgliaocytes show specific gold-pictures (figure N° 7); from a number of cases also certain nerve cell-types appear to have characteristic gold-pictures (example: mitral- and Purkinjcells).



Moreover marked differences in affinity towards gold have been observed: the nuclei of oculomotor, hypoglossal and vagal nerves are discussed as examples of territories, showing extensive storage of the metal very early in the treatment.

This being the first detailed description of cellular and topographical localisation of a metal in the central nervous system, the histological facts are taken as a basis on which physiological, pharmacological and clinico-neurological considerations are being put forward.

---

## LITERATUUR.

- Anstett, P. 1933. Comparaison Méthodes détection de l'or. Thèse de Lyon.
- Bechhold, H. en B. Villa. 1925. Sichtbarmachung subvisibeler Gebilde. Bioch. Ztschr., Bnd. 166, pag. 350.
- Becker, J. 1928. Ausbildung und Leistung des R.E.S. Ztschr. ges. exp. Med., Bnd. 61, pag. 728.
- Behnsen, G. 1926. Farbstoffspeicherung im Z.N.S. in verschiedenen Alterszuständen. Ztschr. Zellf. und Mikr. Anat., Bnd. 4, pag. 515.
- Bennhold, H. 1932. Vehikelfunktion Serumeiweisskörper. Ergebn. innere Med., Bnd. 42, pag. 273.
- Berg, R. 1925. Bioch. Ztschr., Bnd. 165, pag. 461.
- Berkelbach van der Sprekel, H. 1932. Persistenz Dottergefässe in Embryonen Fledermäuse. Ztschr. mikr. anat. Forsch., Bnd. 28, pag. 185.
- Bernard, L. en Chr. Mayer. 1931. Chrysothérapie chez les Enceintes. Presse Méd., No. 80, pag. 1469.
- Bertrand, A. 1932. Comptes rendues de l'ac. Sc. Tome 137, pag. 266.
- Borchardt, H. 1928. Histochemischer Nachweis des Goldes. Virchow's Archiv, Bnd. 267, pag. 272.
- Branca, A. 1923. Vésicule ombilicale des Rongeurs. Arch. de biol. Tome 33, pag. 605.
- Broadway, T. B. 1933. Sanocrysin in tuberculous Meningitis. British Med. Journ., pag. 972.
- Bryce, Th. en N. Maclaren. 1933. Development of Cavia. Trans. R. Soc. Edinburgh, Vol. 57, pag. 647.
- Bumke, O. en E. Krapf. 1936. Exogene Vergiftung Nervensystem. Handb. Neur. Bumke & Förster, Bnd. 13, deel II, pag. 694.
- Cajal, Ramon y. 1911. Histologie du Système nerveux.
- Christeller, E. 1927. Mikrochemischer Goldnachweis im Gewebe. Verhandl. deutsch. Pathol. Gesell., 22. Tagung, Danzig, pag. 173.
- Cottard, Ph. 1935. L'Or, action sur organes sanguiformateurs. Jouve & Cie., Paris.
- Cowdry, E. V. 1928. Architecture of Nervecells. Special Cytology (Edited by Cowdry), pag. 965.
- Duval, M. 1892. Placenta des Rongeurs.
- Feldt, A. 1913. Dtsch. med. Wschr., Nr. 12.
- Feldt, A. 1926. Chemotherapeutische Versuche mit Gold. Zbl. f. Bakt., Parasitenkunde, Infektionskrankh., 1e Abt. Referate, Bnd. 81, pag. 281.

- Feldt, A. 1928. Chemotherapeutische Versuche mit Gold. Kl. Wschr., 1e half-jaar, pag. 1034.
- Feldt, A. en E. Heise. 1929. Histochem. Nachweis Funktionszustandes Mesenchym bei Infektion und Chemotherapie. Ztschr. ges. exp. Med., Bnd. 67, pag. 166.
- Filedt Kok, J. A. en H. Schaeffer. 1930. Ned. Tijdschr. Geneesk., No. 74, pag. 622.
- Filedt Kok, J. A. 1933. Bereiding en werking voedsel, bevrijd van zware metalen. Diss. Amsterdam.
- Frandsen, Joh. 1925. Goldausscheidung bei Sanocrysin-Behandlung. Act. Tub. Scand., Vol. I, pag. 215.
- Gallinál, J. A. 1927. Goldreaktion an Organen sanocrysinbehandelter Tuberkulöser. Ztschr. Tuberkulose, Bnd. 48, pag. 433.
- Gelbenegger, 1933. Solganalbehandlung Meningitis. Wiener Kl. Wschr., No. 8, pag. 238.
- Gérard, P. 1925. Recherche sur la vésicule ombilicale des Rongeurs. Arch. de biol. Tome 35, pag. 269.
- Gerlach, W. en W. 1931. Elementnachweis im Gewebe. Gold. Virchow's Arch., Bnd. 282, pag. 209.
- Goldmann, E. E. 1909. Auss. und innere Sekr. im Lichte der vitalen Färbung. Beitr. zur klin. Chir., Bnd. 64, pag. 192.
- Goldmann, E. E. 1913. Vitalfärbung Zentralnervensystem. Abh. preusz. Akad. Wiss. Physik. math. Klasse, Bnd. 1, pag. 1.
- Grassi, A. 1932. Ricerche istochim. in animali sani e tuberc. trattati con oro. Il Morgagni No. 5, pag. 155.
- Grosser, O. 1927. Frühentwicklung Eihautbildung Placentation.
- Grünstein, A. en N. Popowa. 1929. Experimentelle Manganvergiftung. Arch. für Psych., Bnd. 87, pag. 742.
- Haan, J. de en A. Bakker. 1923. Ausscheidung sauren Vitalfarbstoffen. Pflüger's Archiv, Bnd. 199, pag. 125.
- Hansborg, H. 1925. Untersuchungen Zirkulation usw. des Goldes bei Sanocrysinbehandlung. Acta Tub. Scand., Vol. 1, pag. 255.
- Hansborg, H. 1927. Verhältnisse des Goldes während Sanocrysin-Behandlung. Acta Tub. Scand., Vol. II, pag. 348.
- Hansborg, H. 1928. Ablagerung Gold in Vivo. Acta Tub. Scand. Vol. IV, pag. 124.
- Held, H. 1909. Neuroglia marginalis Grosshirnrinde. Monatschr. für Psych. und Neur., Ergänzungsheft Bnd. 26, pag. 360.
- Hortega, P. del Rio. 1932. Microglia. Cytology and Cellular Pathology of the nervous System (edited by W. Penfield).
- Issekutz, B. von en M. Leinzinger. 1930. Pharmakologie Goldverbindungen. Arch. exp. Pathol., Bnd. 152.
- Jahnel, F., I. Page en E. Müller. 1932. Tellur und Nervensystem. Ztschr. ges. Neur. und Psych., Bnd. 142, pag. 214.



- Jancsó Jr., N. von. 1928. Histochemische Methode Salvarsan-Nachweis. Ztschr. ges. ex. Med., Bnd. 61, pag. 63.
- Jancsó Jr., N. von. 1929. Ztschr. ges. exp. Med., Bnd. 64—65.
- Jiménez de Asúa, C. en K. Kuhn. Neosalvarsan und R.E.S. Rev. Soc. argent. Biol. Bnd. 4, pag. 187.
- Kafka, V. 1934. Pathologie Stoffaustausches zwischen Gehirn und übrigem Körper. Arch. für. Psych., Bnd. 101, pag. 231.
- Kappers, C. U. Ariëns, C. Huber en E. Crossby. 1936. Comparative anatomy of the nervous system.
- Keiding, E. en J. Keiding. 1925. Goldnachweis in organischer Substanz. Act. Tub. Scand., Vol. I, pag. 200.
- Koch, R. 1890. Dtsch. Med. Wschr., Bnd. 33, pag. 756.
- Korteweg, R., Waterman en C. Winkler Prins. 1928. Goudafzetting na Sanocrysine-behandeling. Ned. Tijdschr. Geneesk., No. 72 I, pag. 2063.
- Kurosu, S. 1927. Histochemischer Goldnachweis. Ztschr. ges. exp. Med., Bnd. 57, pag. 77.
- Lebeuf, F., H. Mollard en P. Pauget. 1931. Présence de l'or liq. céphalo-rachidien. Bull. Soc. franc. Dermat. Syph., 38e Jrg., pag. 513.
- Leitner, J. 1931. Ergebnisse Goldbehandlung bei Tuberkulose. Zbl. ges. Tuberkuloseforschung. Bnd. 35, pag. 457.
- Leuret, E. 1936. Technik Goldsalz-Behandlung der Tuberkulose. Journ. de Méd. de Bordeaux, 20 Januari 1936.
- Liesegang, R. E. en W. Rieder. 1921. Keimmethode zum Nachweis von Silber in Gewebsschnitten. Ztsch. wiss. Mikr., Bnd. 38, pag. 334.
- Lombardo, C. 1916. Ricerche istochimiche su alcuni preparati di oro. Lo Sperimentale, Vol. 70, pag. 532.
- Lomholt, S. v. 1925. Ugeskrift for Laeger, Bnd. 44, pag. 961.
- Mella, H. 1924. Experimental Production Basal Ganglion Symptomatology in Macacus. Arch. of Neur. and Psych., Vol. 11, pag. 405.
- Merejkowski, B. K. 1933. Bull. Soc. chim. biol., Tome 15, pag. 1336.
- Metz, A. 1926. Gliazellarten und Eisenstoffwechsel. Ztschr. ges. Neur. und Psych., Bnd. 100, pag. 428.
- Michaelis, O. 1930. Brauchbarkeit histochem. Methoden des Goldnachweises. Biochem. Ztschr., Bnd. 225, pag. 478.
- Möllendorff, W. von. 1920. Vitale Färbungen an tierischen Zellen. Ergeb. Physiol., Bnd. 18, pag. 141.
- Møllgaard, H. 1924. Chemotherapy of Tuberculosis.
- Okkels, H. 1929. Détection histochimique de l'or. Comptes rendus Soc. Danoise Biol., Tome III, pag. 1089.
- Pagel, W. 1926. Meerschweinchentuberkulose und Metallvergiftung. Krankh. Forsch., Bnd. 3, pag. 372.
- Petey, M. L'Histospectrographie. Travail de l'Institut d'Histologie de Lyon.
- Policard, A., A. Dufourt, P. Anstett en M. Petey. 1933. Histospectrographie et localisation de l'or. Bull. d'Hist., Bnd. X, pag. 59.

- Robinson, A. 1892. On formation of placenta. Journ. Anat. and Physiol., Bnd. 38, pag. 1, pag. 325.
- Sansom, G. 1922. Placentation Aviola. Journ. Anat, Vol. 56, pag. 333.
- Schaltenbrand, G. en Bailey. 1928. Perivaskulare Pia-gliamembran. Journal Psychol. und Neur., Bnd. 35, pag. 199.
- Schilling, K. 1936. Farbstoffspeicherung im Z.N.S. Hühner-embryonen. Arch. exp. Zellforsch., Bnd. 18, pag. 481.
- Schlossmann, H. 1932. Stoffaustausch durch die Placenta. Ergeb. Physiol., Bnd. 34, pag. 750.
- Schlossmann, H. 1934. Heffter-Heubner Handb. exper. Pharmak., Bnd. III, 3e deel, pag. 2118.
- Shimidzu, Y. 1922. Placental permeability to dyes. Amer. Journ. Physiol., Vol. 62, pag. 200.
- Snoo, K. de. 1933. Leerboek der Verloskunde.
- Spatz, H. 1934. Bedeutung vitalen Färbung für Lehre Stoffaustausch zwischen Z.N.S. und übrigen Körper. Arch. für Psych., Bnd. 101, pag. 267.
- Steiner, G. en V. Fischl. 1929. Goldpraeparate bei experiment. Recurrens Klin. Wochenschr., 1e halfj., pag. 582.
- Steinfeld, J. 1930. Chemotherapie bei Multipeler Sklerose. Therapie der Gegenwart, 71e Jrg., pag. 345.
- Stöhr, Ph. 1923. Architektur Nervenzellen im Ultraviolett. Verhandl. Anat. Ges., Ergänzungsheft zum 57. Band des Anat. Anz., pag. 154.
- Struwe, F. 1926. Fettspeicherung der drei Glia-arten. Ztschr. ges. Neur. und Psych., Bnd. 100, pag. 450.
- Timm, F. 1932. Zellmikrochemie der Schwermetallgifte. Diss. Leipzig.
- Valléry-Radot, P., E. Gilbrin en P. Gauthier. 1935. Néphrites exp. par les sels d'or. Annales de Méd., Tome 37, pag. 145.
- Vogt, O. 1925. Der Begriff der Pathoklise. Journ. für Psychol. und Neur., Bnd. 31, pag. 245.
- Walter, F. K. 1934. Grundlagen des Stoffaustausches zwischen Z.N.S. und übrigen Körper. Arch. für Psych., Bnd. 101, pag. 195.
- Winkler, C. en A. Potter. Guide to research on rabbit's brain.





## STELLINGEN

---

### I.

Ten onrechte meent Valléry—Radot, dat de placenta van knaagdieren voor goudzouten niet doorgankelijk is.

*Annales de Médecine* 1935, Bnd. 37, pag. 145.

### II.

De uitslag der desbetreffende onderzoekingen rechtvaardigt tot op heden niet het aannemen van een barrière tusschen centraal zenuwstelsel en overig lichaam gedurende het foetale leven.

### III.

De bloed-hersenbarrière van het volwassen knaagdier is doorgankelijk voor goudzouten.

### IV.

Het belang der volksgezondheid maakt algemeene vaccinatie gewenscht.

### V.

Bij behandeling van gravidæ met goudzouten moet rekening worden gehouden met de mogelijkheid, dat het metaal in het foetale lichaam doordringt.

### VI.

Het is onjuist om in het algemeen een parasitotrope werking van chemotherapeutica te ontkennen.

## VII.

In gevallen van partieele spierdegeneratie door zenuwletsel is, naast de chronaxiebepaling, het onderzoek met de progressieve stroomen volgens Lapicque noodzakelijk.

Bulletin Académie des Sciences, Nov. 1915.

## VIII.

Het verdient aanbeveling den naam van de gonorrhöische ontsteking, bekend als Tysonitis, te vervangen door parafrenulair absces.

## IX.

Bij behandeling van lijders aan dementia paralytica beproeven men — te beginnen bij malaria-resistente gevallen — een goudtherapie, eventueel gecombineerd met koortsbehandeling.











D  
U  
19