
Z Zakładu Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu M. C. S. w Lublinie
(Kierownik: Zast. Prof. Doc. Dr med. Stanisław Grzycki)

Stanisław GRZYCKI i Barbara KOBUSÓWNA

Arsen i chemiczne związki arsenowe w ośrodkowym układzie nerwowym

Arsenic and its chemical compounds in the central nervous system

W roku 1921 Kolmer i Lucke, następnie w 1922 roku Hooper, Kolls i Wright, a także Kalberlah wstrzykując królikom dożylnie roztwory salwarsanu w dawce „dosis bene tolerata” wykazują obecność jego w komórkach Kupffera (wątroba), w komórkach śledziony i szpiku kostnego. Badania te zostają później potwierdzone i przez innych badaczy.

Jacobsohn i Sklarz, a przede wszystkim Schlossberger w pracy p.t. „Die experimentellen Grundlagen der Salvarsantherapie” dochodzą do wniosku, że dożylnie podany salwarsan jest wyłapywany przez komórki mezenchymalne, należące do układu siateczkowo-śródbłonkowego.

„Komórki typu histiocytarnego i śródbłonki naczyń włosowatych, pisze Schlossberger, które wyłapują i fagocytują krążące we krwi ciała obce nie wyłączając salwarsanu, stanowią specjalne urządzenie obronne dla narządów ustroju zwierzęcego. Jak długo śródbłonki naczyń krwionośnych, komórki systemu siateczkowo-śródbłonkowego i narządy wydalnicze ustroju pracują normalnie, tak długo koloidalny salwarsan krążący we krwi nie może dostać się do komórek narządów i tym samym uszkodzenie tych komórek jest wykluczone”.

Że komórki czynnej mezenchymy mają zdolność magazynowania arsenu i jego przetworów podanych dożylnie, dowodzą także badania Jancšo, Demidowej, Kruczewsky'ego, Lebediewa,

Castela, Żółtakowa, Grzyckiego i innych. Oni to, po zastosowaniu odpowiednich histochemicznych metod, w zależności od sposobów postępowania otrzymywali żółte, brunatne, zielone, lub czarne ziarna połączeń kompleksowych arsenu i jego związków z solami srebra, złota, względnie miedzi. Podkreślić przy tym należy, że Demidowa uzyskiwała dodatnie wyniki do 144 godzin od chwili ostatniego podania arsenu, a Grzycki jeszcze po 30 dniach mógł wykazać zielone ziarna arsenu w komórkach Kupffera i w komórkach śledziony.

Jednym jednak z bodajże najważniejszych zagadnień tak z punktu widzenia kliniki jak i morfologii oraz histofizjologii, jest sprawa przechodzenia arsenu, oraz jego związków, do tkanki nerwowej i neuroglejowej mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego.

Ullmann, Burnaschow, Riebes i Stühmer badając ośrodkowy układ nerwowy po zastrzykach salwarsanu zgodnie podkreślają, że „w doświadczeniach na zwierzętach prawie zupełnie nie znaleziono arsenu ani w mózgu, ani w rdzeniu kręgowym, a tylko po wielokrotnym wstrzyknięciu można było obserwować w tych tkankach zaledwie jego ślady (Stühmer)”. Weichbrodt natomiast w mózgach paralityków leczonych wlewaniem salwarsanu znajduje duże ilości arsenu, bo mniej więcej na 100 g tkanki otrzymuje od 0,18 mg do 0,23 mg. Także Voegtlin, Smith, Dyer i Thompson po wysokich dawkach salwarsanu, neosalwarsanu i srebrowego salwarsanu wykazują wyższe połączenia arsenu u królików w ośrodkowym układzie nerwowym.

Dowodem stwierdzającym zdolność umiejscowiania się arsenu w tkance nerwowej, są także wyniki badań Marschalkó i Veszprémi, którzy po dożylnym wstrzyknięciu królikom 1% roztworu salwarsanu otrzymują makroskopowy i mikroskopowy obraz krwotocznego zapalenia mózgu. Również Dietrich, Staemmler i Klinger w klinicznych przypadkach zejścia śmiertelnego po salwarsanie obserwują obrazy histologiczne, charakterystyczne dla krwotocznego zapalenia mózgu (encephalitis haemorrhagica).

Zmiany anatomo-patologiczne w omawianych przypadkach dotyczą przeważnie samego mózgu i jak podaje Staemmler „duże ognisko krwawe powstaje przez połączenie się licznych, drobnych wybroczyn”. W tym miejscu, gdzie one się nagromadzają widoczne jest zawsze zniszczenie i rozmięknienie tkanki mózgu. Zmiany te oczywiście są wynikiem ciężkich zaburzeń krążenia. Salwarsan bowiem, jak sądzi Czubalski, Ricker i Knape, oraz Klinger jest środkiem drażniącym unerwienie układu naczyniowego i wywołującym rozszerzenie łożyska krwiobiegu. W wyniku tego następuje zwolnienie szybkości prądu krwi, zastoina, obrzęk mózgu, oraz pojawiają się krwawe punkcikowate wybroczyny.

O podobnych zmianach, ale w rdzeniu kręgowym, wspomina już w roku 1885 — *Kreissig*, omawiając zatrucia ostre i przewlekłe arsenikiem i fosforem u królików.

Mając więc przed sobą tak różne wyniki, a przede wszystkim nieujednostajnione obrazy histologiczne doświadczalne i kliniczne postanowiliśmy, stosując histochemiczne metody wykrywania arsenu i jego związków w komórkach i tkankach odpowiedzieć na pytania:

1) które komórki ośrodkowego układu nerwowego wykazują zdolności żerne względem arsenu i jego przetworów, oraz

2) jakie zmiany cytologiczne występują i czy wogóle występują w komórkach mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego pod wpływem podawanych chemicznych związków arsenowych.

Ecker i *Kernohan* bowiem uważają, że wszelkie zmiany, jakie można obserwować w komórkach zwojowych ośrodkowego układu nerwowego, nie są specyficzne dla zatruc arsenowych. „Chromatolysis of the bodies of the nerve cells was generally present in moderate degree, but it is questionable whether these alterations signify ante mortem or post mortem degenerative changes. Pyknosis was generally absent“.

Materiał i metodyka badań

Badania przeprowadzono na królikach albinosach wagi od 2300 g do 3000 g. Polegały one na podawaniu per os, względnie na wstrzykiwaniu w tkankę podskórną, lub do krwiobiegu w żyłę brzezną małżowiny usznej arsenu i jego związków chemicznych.

Z połączeń nieorganicznych arsenu użyto do doświadczeń kwas arsenawy i arsenin potasowy. *Kwas arsenawy* (*acidum arsenicosum*) podawaliśmy jednej grupie królików per os w roztworze 0,1% po 1 ccm codziennie i drugiej grupie również per os, ale w pigułkach azjatyckich (*Acidi arsenicosi* 0,75!, pulv. rad. Alth. 2,00, pulv. gummi arab. 1,50, pulv. piper. nigr. 6,00, aq. dest. q. s. ut f. pill. Nr C.) codziennie po jednej.

Roztwór *arseninu potasowego* (*liquor kalii arsenicosi* s. *solutio Fowleri*) natomiast podawano trzeciej grupie zwierząt doświadczalnych, codziennie o jedną kroplę więcej do 10 kropli, a następnie po 10 i 15 kropli dziennie przez dalszych dni 10, zawsze per os.

Z organicznych związków arsenu szeregu tłuszczowego (alifatycznego) mieliśmy do dyspozycji tylko *solarson* (kwas heptyno-chlorarsynowy). Wstrzykiwaliśmy go doskórnice i podskórnice czwartej grupie królików, jako roztwór 1% po 1 ccm codziennie przez 20 dni, przyczym 1 ccm tego roztworu odpowiadał 0,004 g As_2O_3 .

Z organicznych związków arsenu szeregu benzolowego użyliśmy do doświadczeń *stovarsol*, *novarsenobenzol* i *neosalvarsan*. *Stovarsol* (kwas

acetylo-oksyo-amino-fenyl-o-arsinowy) o dużej zawartości arsenu 5-cio wartościowego (pierścień benzolowy + azot) podawaliśmy w tabletkach po 0,01 g 5-piętej grupie królików per os, po jednej tabletkce dziennie, zwykle z jedzeniem. Szóstej i siódmej grupie zwierząt wstrzykiwaliśmy novarsenobenzol (sól sodowa dwu-oksyo-dwu-amino-arsenobenzolo-metyleno-sulfoksyłanu) o 19,5% As i neosalvarsan (sól sodowa kwasu m-dwuamino-p-dwuoksyoarsenobenzeno-metyleno-sulfoksyłowego) o 19,5% zawartości As. Novarsenobenzol i neosalvarsan wlewane były dożylnie co drugi dzień po 0,15 — 0,30 g w 10 ccm wody dwukrotnie destylowanej. Dawka 0,15 g Neosalvarsanu odpowiadała 0,1 g Salvarsanu.

Po 1 — 20 dniowym podawaniu arsenu i jego chemicznych związków przerywano doświadczenie i po jednym, pięciu, dziesięciu i trzydziestu dniach od ostatniego zastrzyku względnie od ostatniego podania As wycinano tkankę mózgu z okolicy czołowej i ciemieniowej, tkankę mózdzku i rdzeń kręgowy z odcinka piersiowego i lędźwiowego. Pobrane tkanki utrwalano metodą Castella i modyfikacjami tej metody opracowanymi przez nas (Metoda I i II).

Postępując według metody I utrwalaliśmy przeznaczone do badania tkanki przez 3 — 5 dni w 10% obojętnym roztworze formaliny, do którego na 100 ccm dodaje się 3,5 g dwuchlorku miedzi (Cuprum bichloratum pur.), względnie siarczanu miedzi (Cuprum sulfur.). Czas utrwalania można jednakże skrócić do 24 — 48 godzin, utrwalając w termostacie w temperaturze 30 — 37° C.

Po następowym bardzo dokładnym przepłukaniu w wodzie bieżącej przez 24 godziny, przeprowadza się badany materiał przez alkohole do ksylenu i zatapia w parafinie. Skrawki mikrotomowe zamyka się w balsamie kanadyjskim, albo niepodbarwione, albo lekko podbarwione hemalaunem i eozyną. Wynik: lśniące zielone ziarenka związków arsenu z miedzią w komórkach tkanki badanej.

Dobre wyniki otrzymaliśmy także utrwalając (metoda II) tkanki w alkoholu 80% po dodaniu do niego na 100 ccm, 2 — 2,5 g siarczanu miedzi, lub dwuchlorku miedzi. Po 48 godzinach przenosi się badany materiał bezpośrednio do alkoholu 90%, 96% i bezwodnego, następnie do ksylenu i zamyka się w parafinie. Skrawki mikrotomowe po odparowaniu można podbarwiać hemalaunem i eozyną. Wynik: zielono-żółte ziarna związków arsenowych.

Oprócz tych metod stosowaliśmy jeszcze metody srebrne, działając na badane tkanki amoniakalnym roztworem srebra wg. de Asuá i Kuhna, oraz Demidowej i Lebidiewa.

Dla dokładniejszego odczytania obrazu cytologicznego komórek kory mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego podbarwiano skrawki 1%

błękitem metylenowym, 1% błękitem toluidyny, 1% czerwienią obojętną i sudanem III, lub IV.

Błękit metylenowy i toluidynowy wybarwiał ciała zasadochłonne N i s l a i jądra komórek, czerwienią obojętną staraliśmy się wykazać wakuole myeliny w komórkach nekrobiotycznych, zaś sudan III i IV był pomocny w wybarwieniu ziarenek tłuszczowych.

Zachowanie się zwierząt doświadczalnych w czasie podawania arsenu i jego związków chemicznych było rozmaite. Zwykle na drugi, lub trzeci dzień oddech stawał się szybszy, zwracało uwagę wyraźne rozszerzenie naczyń krwionośnych na obu małżowinach usznych utrzymujące się przez kilka, lub kilkanaście godzin, wreszcie, i to przeważnie po kwasie arsenawym (roztwór, pigułki), można było zaobserwować porażenie obu kończyn tylnych trwające przez czas dłuższy.

Dalsze dawki doświadczalne arsenu powodowały u zwierząt brak apetytu i częste drgawki tonicznie-kloniczne kończyn tylnych, czasem i przednich.

Kilka zwierząt, którym podawano kwas arsenawy (roztwór, pigułki), roztwór arseninu potasowego, solarson i stovarsol, padło w pierwszych dniach (3—7 dzień doświadczenia) wśród objawów zatrucia. Dokonana sekcja mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego dawała zawsze, lub prawie zawsze, obrazy przypominające krwotoczne zapalenie mózgo-rdzenia (encephalo-myelitis haemorrhagica) z mniej lub więcej licznymi punkcikowatymi wybroczynami krwawymi.

Podobne zmiany mogliśmy zaobserwować w zatruciu novarsenobenzolem i neosalvarsanem. Króliki padały w ciągu kilku lub kilkunastu godzin, po jedno — lub dwurazowym zastrzyku dożylnym roztworów NAB i NS w ilości 0,45 g — 0,60 g w 10 ccm wody dwukrotnie destylowanej.

Z pierwszych i drugich zatrutych zwierząt pobierano zawsze materiał do badań histologicznych.

Badania własne

1.

W pierwszej serii naszych doświadczeń podawaliśmy królikom przez 1, 5, 10 i 20 dni arsen, oraz jego związki chemiczne i po upływie 20 — 24 godzin od ostatniego zastrzyku, względnie od ostatniego podania As, pobieraliśmy materiał do badań histochemicznych i histologicznych. W pierwszej grupie doświadczeń umieściliśmy także króliki, które padły na 3, 5, 6, 7, 16, 17 i 18 dzień z powodu zatrucia kwasem arsenawym, arseninem potasowym, solarsonem i stovarsolem.

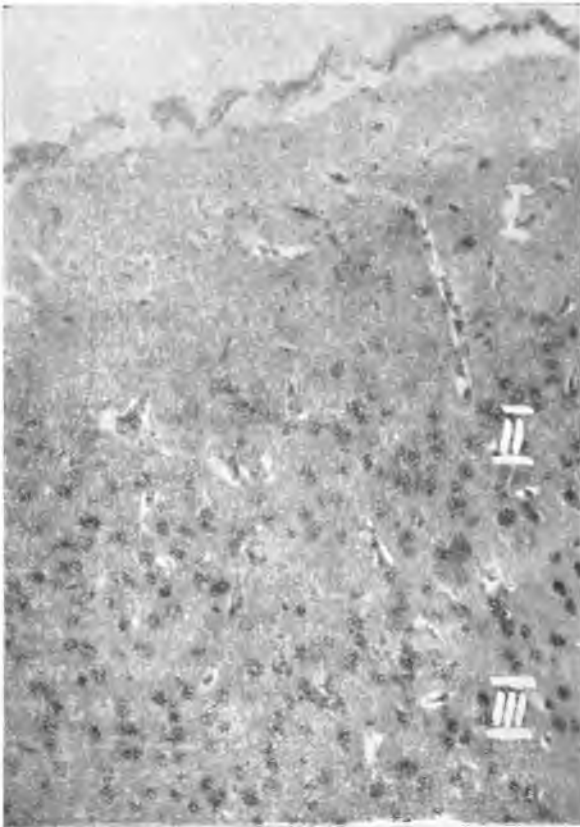
Nieorganiczne związki arsenu (kwas arsenawy, arsenin potasowy)

Pierwszy dzień podawania kwasu arsenawego (roztwór, pigułki) i roztworu arseninu potasowego nie dał żadnych zmian w preparatach drobnowidowych mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego. Obraz drobnowidowy badanych tkanek nie odbiegał w niczym od obrazu podobnych tkanek pobranych ze zwierząt kontrolnych. Cytoarchitektoniczna i myeloarchitektoniczna budowa kory mózgowej, mózdzku i rdzenia kręgowego nie wykazywała żadnych odchyień od normy, a bardzo dokładne badanie śródbłonka naczyń włosowatych, cechującego się przecież wybitną żernością, nie wykryło w komórkach ziarenek

arsenu. Podawane per os nieorganiczne związki arsenu utknęły najprawdopodobniej więc w innych narządach, zanim dostały się do ośrodkowego układu nerwowego.

Zielone, żółto - zielone, lub brunatne (brunatno-czarne) ziarenka arsenu w komórkach śródbłonka naczyń włosowatych, tworzących angioarchitekturę kory mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego, znaleźliśmy dopiero po 5-krotnym zastosowaniu związków arsenu. Najwięcej jednak ziarenek arsenu mogliśmy zaobserwować w śródbłonkach włosnic mózgu, o wiele mniej w mózdzku i rdzeniu kręgowym.

Ilość sfagocytowanych ziarenek As w komórkach śródbłonka zwiększała się z każdym dniem w miarę podawania arsenu, przy czym obecność jego nie

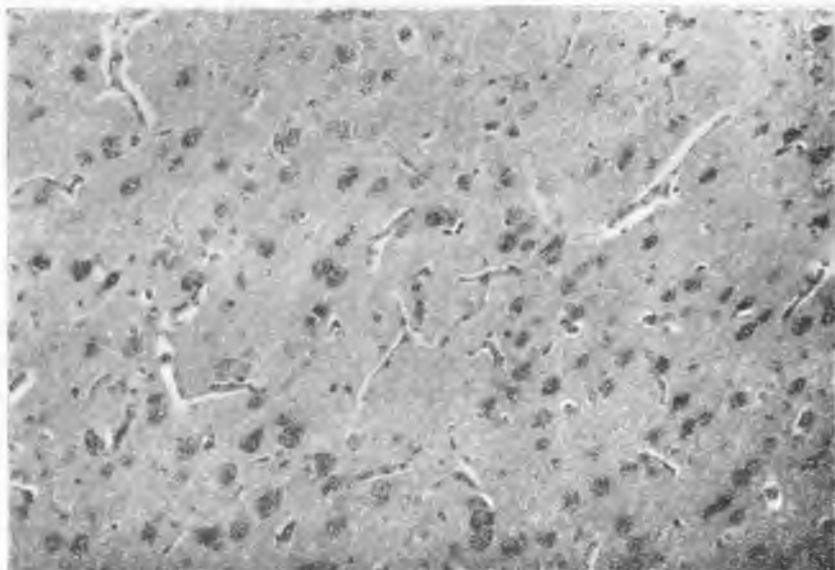


Mikrofotografia Nr. 1.

pozostawała bez wpływu na protoplazmę i jądro tych komórek.

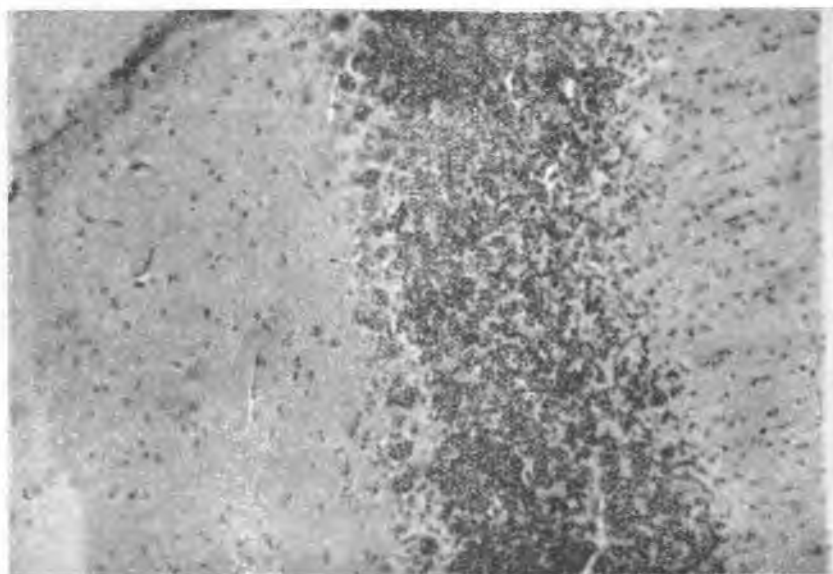
W 10 dniu doświadczenia widziało się bowiem na preparatach mikroskopowych, że wszystkie naczynia włosowate badanych wycinków i w obrę-

bie kory (istoty szarej) i w warstwach podkorowych (istota biała) są zatokowato i wrzecionowato poroszerzane (mikrofotogr. Nr 1 i 2), że komórki śródblodka są duże, jakgdyby napęczniałe i protoplazma ich nie barwi się jak zwykle kwaśnymi barwikami, ale raczej jest niezabarwiona, lub lekko zasadochłonna. Sudan III i sudan IV wybarwiają w protoplazmie drobniutkie kuleczki tłuszczu, co świadczyłoby o rozpoczynającym się w tych komórkach procesie zwyrodnienia tłuszczowego. Szczególnie dużo, zabarwionych na kolor pomarańczowy, lub brunatny kuleczek tłuszczowych obserwowaliśmy w komórkach przeładowanych ziarnami As, a zatem w komórkach najprawdopodobniej zablokowanych i zmienionych.



Mikrofotografia Nr. 2.

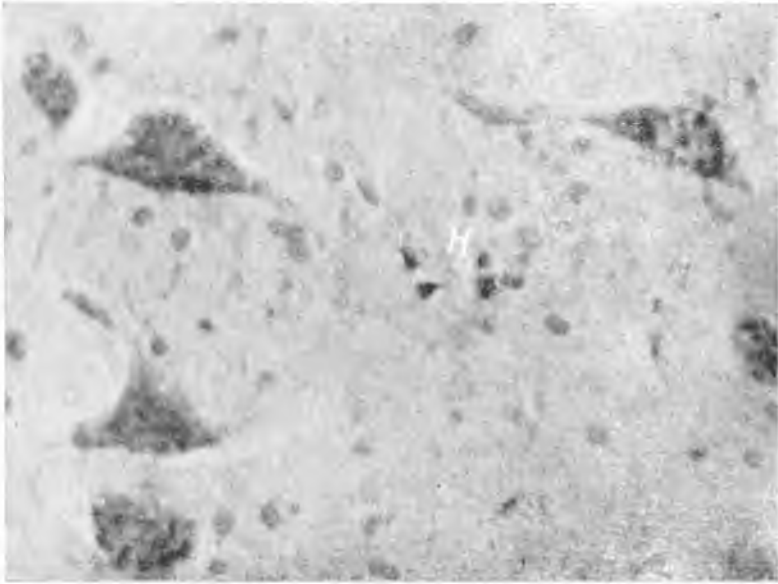
Na preparatach z tej serii doświadczeń oglądaliśmy także tu i ówdzie, w bezpośredniej bliskości naczyń krwionośnych kory i istoty białej podkorowej mózgu i rdzenia kręgowego komórki wrzecionowatego kształtu, o dwóch, lub trzech długich wypustkach protoplazmatycznych wypełnionych ziarenkami arsenu wybarwionego histochemicznie (mikrofogr. Nr 2, 3, 7). Kształt tych komórek był różny, przeważały jednak wrzecionowate. Zmiana kształtu, jak mogliśmy zauważyć, zależna była od miejsca, w którym się one znajdowały, oraz od stopnia wypełnienia sfagocytowanymi ziarenkami. Zdolność zmiany kształtu, zdolność ruchu i zdolność fagocytowania ciał zewnątrzpochodnych pozwoliła nam na zaliczenie tych komórek do typu histiocytów wędrujących i utożsamienie ich z mezoglejowymi komórkami Hortegi, opisywanymi w grupie komórek mikroglejowych.



Mikrofotografia Nr. 3.

W 16, 17 i 18 dniu zwierzęta z tej serii doświadczalnej padły z objawami zatrucia, które wyrażało się drgawkami toniczno-klonicznymi kończyn tylnych, czasem przednich, bardzo szybkim oddechem, sinicą błon śluzowych widocznych od zewnątrz i rozszerzeniem, wraz z obfitym wypełnieniem krwią całej siatki naczyń krwionośnych małżowin usznych. Sekcja mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego wykazała lekki obrzęk tych tkanek i punkcikowate krwawienia z rozszerzonych naczyń krwionośnych, przeważnie w korze i istocie podkorowej mózgu i mózdzku, oraz w istocie szarej i białej rdzenia kręgowego. Przekroje histologiczne natomiast wskazywały na krwotoczne zapalenie mózgo - rdzenia. W zmienionych śródbłonkach naczyń włosowatych, przede wszystkim mózgu i rdzenia kręgowego znajdowały się wewnątrz komórkowo ziarenka arsenu. W niektórych miejscach nawet komórki śródbłonka były zniszczone, dowodem czego są mniejsze, lub większe wynaczynienia morfotycznych składników krwi, licznie gromadzące się dokoła wybroczyn komórki mezodermalne Hortegi i komórki oligodendryczne, oraz mniej lub więcej liczne ziarna As pozakomórkowo (mikrofotogr. Nr 10). Najbliższe otoczenie tych punkcikowatych ognisk było również zmienione. Zmiany te dotyczyły przeważnie zwojowych komórek nerwowych, a to wielkich piramid Betza w korze mózgowej, komórek ruchowych korzonkowych w rdzeniu kręgowym i dużych komórek Purkiniego w korze mózdzku.

Pierwsze zmiany w protoplazmie i jądrze wielkich komórek nerwowych zauważyliśmy już w piątym dniu doświadczenia. Były to: nie-

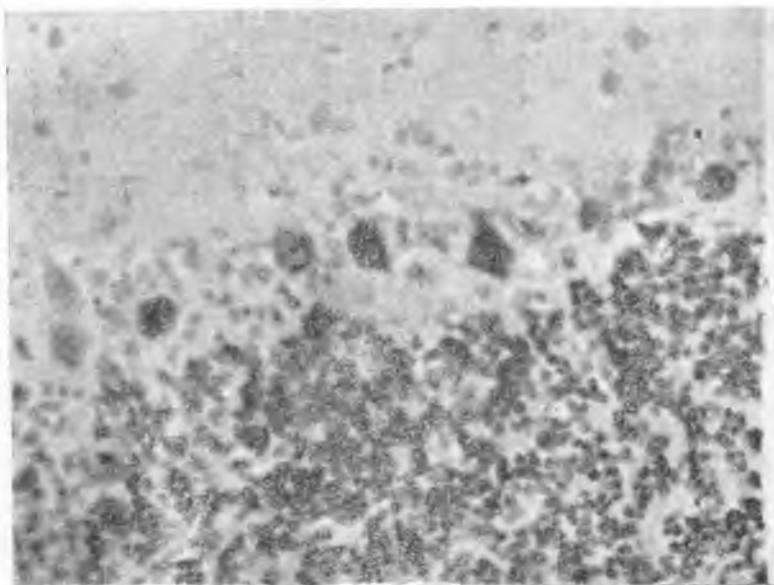


Mikrofotografia Nr. 4.

barwność, lub niejednorodność barwienia zrębu jądrowego, i zbijanie się w większe grudki ciałek zasadochłonnych Nissla. Grudki zasadochłonne układają się na obwodzie komórki, są nierówne, wielkości jąderka, a ilość ich w jednej komórce waha się od 16 do 20. Zawsze jednak okazują one dążenie do dalszego zgrupowywania się. Dokładne obrazy rozmieszczenia i zachowania się grudek Nissla dawały preparaty barwione błękitem metylenowym i błękitem toluidynowym (mikrofotogr. Nr 4, 5, 9).

Łączenie się ciałek Nissla w większe grudki jest pierwszym dowodem zmienionej czynności fizjologicznej komórek zwojowych, pewną dezorganizacją ich przemiany materii, drugim zaś dowodem jest wykazanie w protoplazmie sudanem III i IV drobniutkich kuleczek tłuszczowych. Zwyródnienie tłuszczowe wystąpiło najwyraźniej po 10 dniach podawania kwasu arsenawego i roztworu arseninu potasowego. Czy zwyródnienie to jest zależne właśnie od podawanych związków arsenu trudno powiedzieć, mimo, że tylko te komórki zwojowe są zmienione, które znajdują się w bezpośredniej bliskości śródbłonka naczyniowego, względnie komórek histocytycznych Hortegi wypełnionych sfagocytowanymi ziarnami As.

Stan stłuszczenia komórek nerwowych nie trwa długo. Już bowiem w 15, 16 dniu doświadczenia, a najdokładniej u zwierząt zatrutych można było wybarwić czerwienią obojętną różnej wielkości wakuole myeliny. Ilość wakuol myeliny była zawsze w stosunku odwrotnie proporcjonalnym do wielkości jądra danej komórki. Na dwóch preparatach nawet udało się nam zobaczyć całkowite zniszczenie komórek ruchowych korzonko-



Mikrofotografia Nr. 5.

wych w rdzeniu lędźwiowym, przy czym inne komórki tego preparatu nie wykazywały wyraźnych zmian cytologicznych poza zgrupowaniem się ciałek Nissla. Zmienione komórki tworzyły jak gdyby ogniska rozmiękania tkanki nerwowej i neuroglejowej (necrosis, gliosis, satellitosis), nie barwiące się używanymi zwykle przez nas barwikami histologicznymi.

Podkreślić musimy, że w ani jednym preparacie nie udało się nam przy zastosowaniu używanych przez nas metod histochemicznych znaleźć choćby śladów arsenu w protoplazmie komórek nerwowych mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego.

Organiczne związki arsenu-alifatyczne

(Solarson)

Solarson wstrzykiwany był doskórnie i podskórnie w okolicy grzbietu codziennie w ilości 1 ccm, przy czym 1 ccm 1% roztworu odpowiadał 0,004 g As_2O_3 .

Makroskopowo skóra w miejscu zastrzyków nie wykazywała zwykle żadnych widocznych objawów zapalnych, a niewielkie podniesienie powłok w postaci płasko wyniosłego guza spowodowane nagromadzeniem Solarsonu znikало w ciągu 1—2 godzin. Można jednak było zauważyć u niektórych królików po zniknięciu guza utrzymujący się lekki obrzęk miejscowy, bolesność i miejscowe przekrwienie, które ustępowało bez śladu po 8—10 godzinach. Jak się później okazało, króliki te były szczegó-

nie wrażliwe na Solarson i padały z objawami zatrucia w 5, 6 i 7 dniu doświadczenia.

Po pierwszym dniu doświadczenia obraz histologiczny mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego nie wykazywał wyraźnych odchyień od normy, chociaż można było zauważyć porozszerzanie naczyń włosowatych w tych tkankach i ich znaczne przekrwienie. W śródbłonku naczyniowym jednak stosowanymi przez nas metodami histochemicznymi nie potrafiliśmy wykazać arsenu.

Dodatnie próby histochemiczne wypadły dopiero po pięciokrotnym podawaniu Solarsonu. Zielone, lub brunatne ziarenka kompleksowych połączeń arsenu znajdowały się śródplazmatycznie w komórkach śródbłonka naczyń włosowatych i w przylegających do nich od zewnątrz komórkach typu Hortegi. Same komórki śródbłonka zmian nie wykazywały: były płaskie, jasne, a jądro ich barwiło się dokładnie hematoksyliną. Natomiast mikroglejowe komórki Hortegi grupowały się zawsze w pobliżu naczyń włosowatych, zachowywały swój mniej lub więcej wrzecionowaty kształt, a wypustki ich sięgały głęboko w tkankę nerwową.

10 i 20 dzień doświadczenia na wszystkich preparatach histologicznych ośrodkowego układu nerwowego wyrażał się rozszerzeniem światła naczyń włosowatych, przekrwieniem tych naczyń, a także zmianami ich śródbłonka. Komórki śródbłonka są na tych preparatach duże, jakgdyby napęczniałe, nie barwią się, w jądrach nie można odróżnić zrębu chromatynowego, a w protoplazmie obok ziarenek arsenu sudan IV zabarwia drobniutkie kuleczki tłuszczu. Także w komórkach Hortegi, które nagromadziły się dokoła naczyń włosowatych w większej ilości, na kilku preparatach widzieliśmy brunatne kuleczki tłuszczu wybarwione sudanem IV. Zniszczeń śródbłonka i wylewów krwawych do kory mózgu, mózdzku i istoty szarej rdzenia kręgowego nie znajdowaliśmy.

Przy oglądaniu preparatów z 20 dnia doświadczenia, a szczególnie ze zwierząt padłych w czasie doświadczenia, zwraca uwagę niejednostajność zabarwiania się istoty szarej. Ta niejednostajność barwienia dotyczy głównie najbliższego otoczenia naczyń włosowatych których śródbłonek jest zmieniony, i dokoła których nagromadziły się mezoglejowe komórki wypełnione sfagocytowanymi ziarnami solarsonu. Obraz ten bardzo przypomina obserwowane już przez nas ogniska rozmiękania tkanki nerwowej pod wpływem zatrucia nieorganicznymi związkami arsenu. Można jednak jeszcze odróżniać w tych miejscach cytoarchitekturę, mimo wielkich zniszczeń w dużych komórkach nerwowych.

W wielkich piramidach Betza, jak i w komórkach piramidalnych III cytoarchitektonicznej warstwy kory mózgowej, także w komórkach ruchowych korzonkowych rdzenia kręgowego, obok stłuszczenia, obok słabo barwiących się czerwienią obojętną wakuoli myeliny, obserwuje się rozpad wypustek zarodkowych i osiowych. Ciałek zasadowych Nissla w tych

komórkach wykazać nie potrafiliśmy. W komórkach zwojowych kory mózgu natomiast zaznacza się w tym czasie niebarwliwość jąder i zlepianie się w duże grudki ciałek Nissla.

Cytologiczne zmiany w komórkach nerwowych po wstrzykiwaniach Solarsonu wystąpiły dopiero 10 dnia doświadczenia i to wyłącznie w najbliższym otoczeniu naczyń włosowatych. U królików zaś padłych wcześniej, zmiany te występowały również dokoła naczyń włosowatych, ale już w 5 dniu wstrzykiwania.

I w tej grupie doświadczalnej, jak mogliśmy zauważyć na naszych preparatach, pierwszymi zmianami protoplazmy i jądra komórek zwojowych mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego była niebarwliwość zrębu jądrowego, oraz łączenie się w większe grudki ciałek Nissla. Grudki układały się raczej na obwodzie komórek, były nierówne, różnej wielkości i różnej ilości.

Zwyrodnienie tłuszczowe protoplazmy tych komórek jest drugim etapem zmian. Kuleczki tłuszczu barwią się wybiórczo sudanem III i sudanem IV, jednak ilość tych kuleczek jest niewielka. Jaka jest wielkość jądra komórki w tym okresie doświadczalnym, czy ono nawet wogóle jeszcze istnieje, trudno powiedzieć. Nie barwi się ono ani hematoksyliną, ani błękitem metylenowym i toluidynowym, podczas gdy jąderko jest zawsze mniej, lub więcej wyraźnie zabarwione.

W ani jednym preparacie, przy bardzo dokładnym przeglądaniu nie udało się nam znaleźć choćby śladów Solarsonu w protoplazmie komórek nerwowych.

Organiczne związki arseno - benzolowe

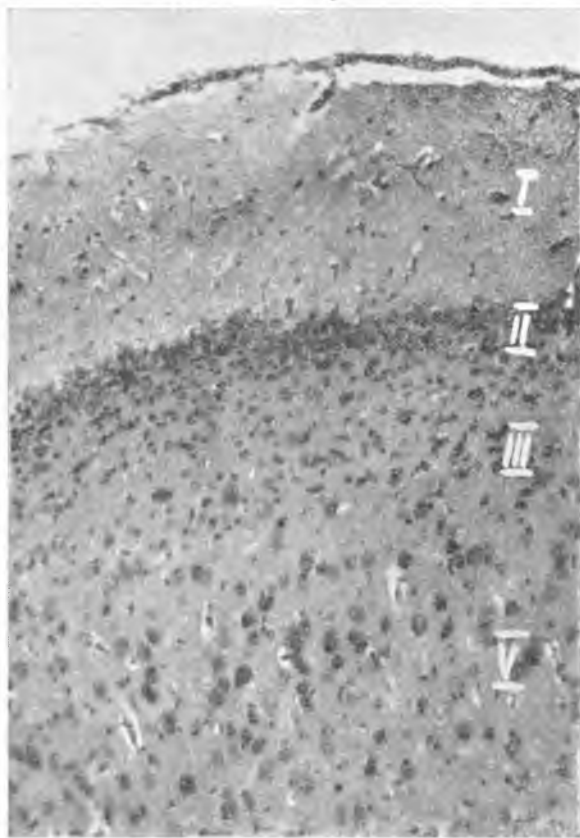
(Stovarsol, Novarsenobenzol, Neosalvarsan)

Najmniej odpowiednim do naszych doświadczeń okazał się Stovarsol; wszystkie bowiem króliki na 3—5 dzień padły z objawami zatrucia typu żołądkowo-jelitowego. Sporządzone preparaty z ośrodkowego układu nerwowego po trzech dniach, to znaczy po 0,03 Stovarsolu, nie wykazywały obecności arsenu ani w śródbłonku naczyń włosowatych, ani w komórkach histiocytarnych typu Hortegi. Nie zaobserwowano także zmian w komórkach zwojowych. Po pięciu dniach natomiast tylko w jednym preparacie udało nam się zobaczyć kilka zabarwionych ziarenek arsenu w śródbłonku włóscin kory mózgowej.

Z organicznych związków arsenu szeregu benzolowego stosowaliśmy także *Novarsenobenzol* (L.L. Spiess) i *Neosalvarsan* (Bayer). Wstrzykiwane one były dożylnie co drugi dzień w dawkach po 0,15 i 0,30 g natychmiast po rozpuszczeniu w 10 ccm wody dwukrotnie destylowanej. W ten sposób, w przeciągu 20 dni, wprowadziliśmy dożylnie jednym królikom 1,50 g, a drugim królikom 1,80 g NAB i NS. Zrówno króliki po Novar-

senobenzolu jak i króliki po Neosalvarsanie były zdrowe, przybrały nawet na wadze mniej więcej po 200–300 gramów.

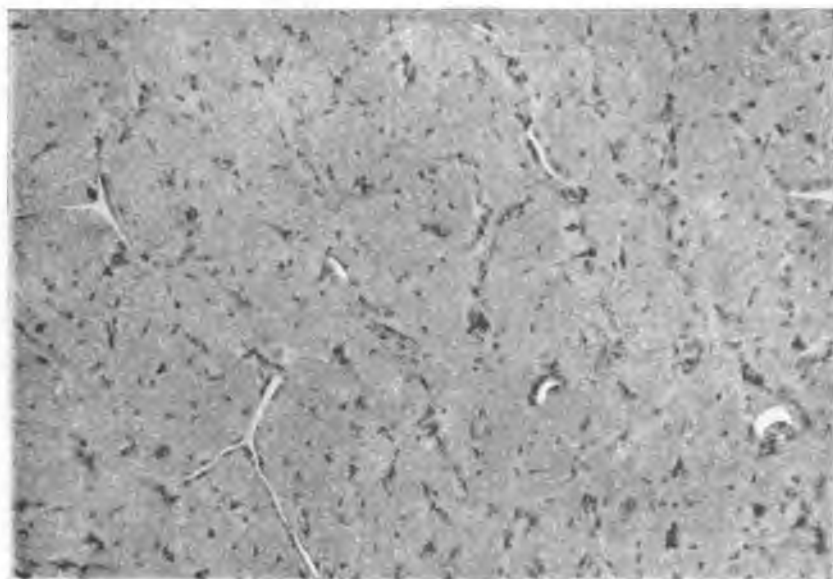
Obraz histologiczny wycinków mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego był podobny do tego, jaki otrzymaliśmy w poprzednich doświadczeniach z tą tylko różnicą, że już po pierwszym zastrzyku (0,15) można było wykazać amoniakalnym roztworem azotanu srebrowego, metodą Castela i naszymi modyfikacjami, drobne ziarna kompleksowych związków arsenu uwolnione z zespołu połączeń salwarsanu. Salwarsan po wstrzyknięciu, krążąc w ustroju, wychwytywany jest w pierwszym rzędzie przez komórki śródbłonka naczyń włosowatych różnych narządów, następnie przez histocyty osiadłe wątroby, śledziony nerki, nadnercza i t.p., wreszcie przez histocyty wędrujące przede wszystkim skóry. Doświadczenia Bernharta na zwierzętach potwierdzają, że największa ilość arsenu gromadzi się w wątrobie. Znalazł on bowiem 0,006 mg arsenu w wątrobie, takąż samą ilość w jelitach, w skórze i płucach po 0,003 mg As, a w nerkach i mózgu po 0,002 mg. Także Bruhns, Jacobsohn i Sklarz stwierdzają duże nagromadzenie się arsenu w wątrobie i nerce, co objawiało się zwyrodnieniem tłuszczowym komórek Kupffera i śródbłonek naczyń włosowatych, a w nerce niebarwnością jąder komórek kanalików krętych i również ich zwyrodnieniem tłuszczowym.



Mikrofotografia. Nr. 6.

Obecność arsenu w komórkach śródbłonka naczyń włosowatych kory mózgu i mózdzku (mikrofotogr. Nr 6), oraz istoty szarej i białej rdzenia kręgowego obserwowaliśmy na wszystkich preparatach, przy czym

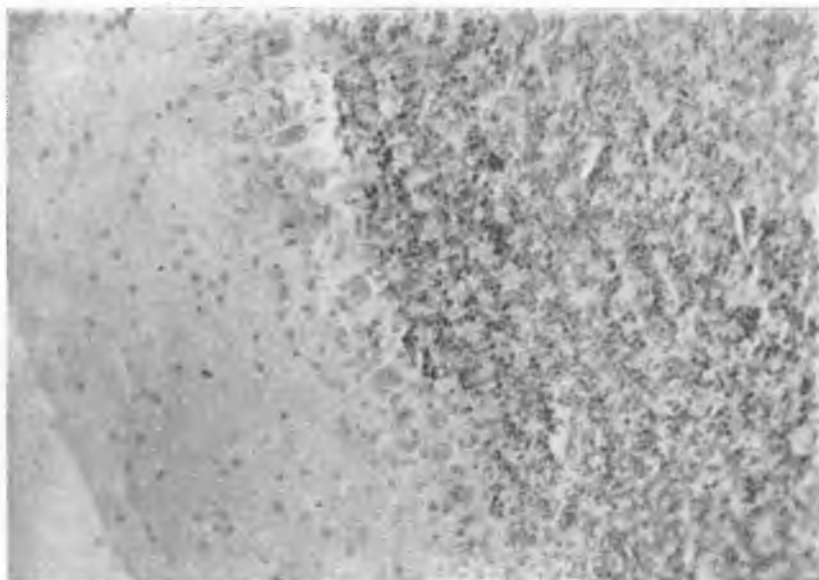
już w 10 dniu doświadczenia (0,90 NS i NAB) zauważyliśmy niebarwliwość jąder komórkowych śródbłonka, a sudanem wykazaliśmy w nim nieliczne kuleczki tłuszczu. W tym także czasie blisko naczyń krwionośnych zjawily się w większej ilości komórki mezoglejowe zawierające w protoplazmie mniej, lub więcej liczne ziarenka arsenu (mikrofotogr. Nr 7).



Mikrofotografia Nr. 7.

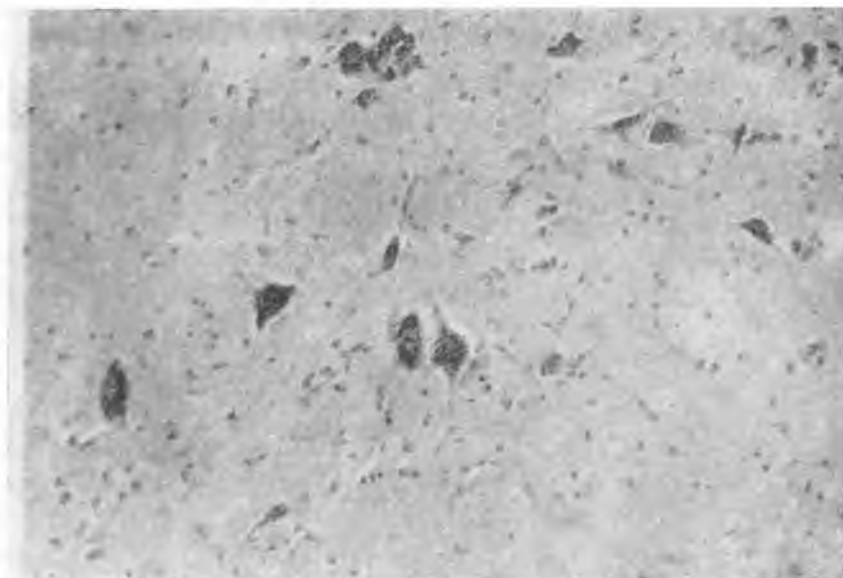
Dalsze wstrzykiwanie Novarsenobenzolu i Neosalvarsanu do łącznej dawki 1,50 i 1,80 zaznaczyło się nie tylko zmianami zwyrodnienia tłuszczowego komórek śródbłonka naczyń i komórek Hortegi, ale także zmianami najbliższego otoczenia, to znaczy w komórkach nerwowych zwojowych (mikrofotogr. Nr 8). Przede wszystkim tkanka nerwowa tych miejsc traci swoją barwliwość. Hematoksyliną i błękitem metylenowym nie można zabarwić zębca jądrowego. Ciałka zasadochłonne Nissla zbijają się w duże grudki, a w niebarwiającej się prawie protoplazmie można wykazać sudanem kuleczki tłuszczu w niewielkiej ilości. Jednak w tych komórkach w ani jednym przypadku nie obserwowaliśmy arsenu.

Podobny obraz opisuje i Schmorl u człowieka: wybroczyny, dokoła nich ogniska rozmiękania, w zasięgu których tkanka nerwowa i glejowa była całkowicie zniszczona; w tych miejscach znaleziono liczne komórki wypełnione ziarenkami tłuszczu.



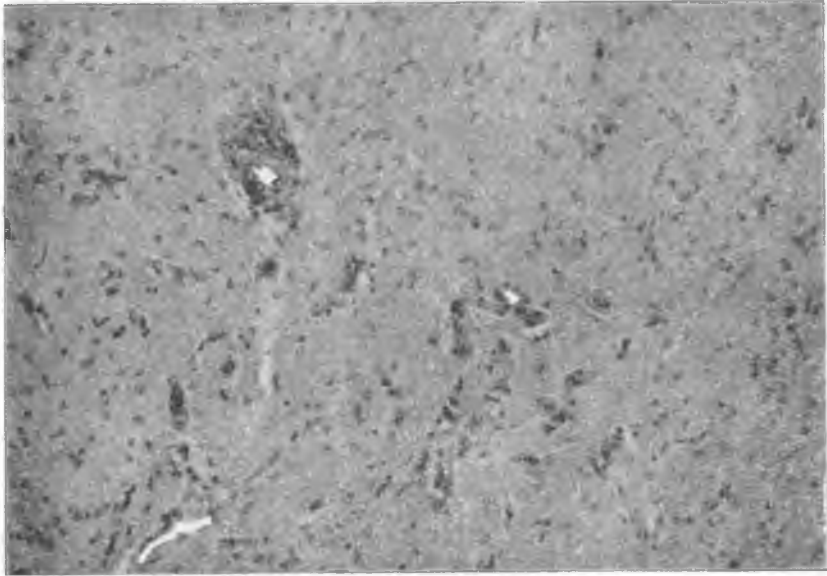
Mikrofotografia Nr. 8.

Po ostatnich zastrzykach padło kilka królików, a objawowo, sekcyjnie i mikroskopowo stwierdzić można było u nich zapalenie krwotoczne mózgo-rdzenia (mikrofotogr. Nr 9, 10).



Mikrofotografia Nr. 9.

Punkcikowate wybroczynki krwawe znajdowały się przeważnie w korze mózgowej i w podkorowej istocie białej, w mniejszej ilości w istocie szarej i białej rdzenia kręgowego, w bardzo małej ilości natomiast w korze i istocie białej mózdzku. Szczególną uwagę zwróciliśmy właśnie na umiejscowienie tych wybroczyn.



Mikrofotografia Nr. 10.

Według bowiem Nielsena, Ivesa, Reissnera i innych wybroczyny w zapaleniu krwiotocznym mózgu po salwarsanie powinny znajdować się w jądrach szarych mózgowia i w istocie białej podkorowej. Bruhns i Henneberg obserwując wybroczynki w jądrze soczewkowatym, we wzgórzu wzrokowym i istocie białej uważają, że środkowe części mózgowia są „die Präilektionsstellen für die Salvarsanpurpura“. Do tych samych wniosków dochodzą Krainer, Black, Mc Gill i Rao, a także Ecker i Kernohan, którzy podkreślają, że „the gray and the white matter were equally affected“.

II.

Drugą serię naszych doświadczeń tworzyły zwierzęta, które otrzymywały przez 20 dni chemiczne związki arsenu, a następnie po 5, 10 i 30 dniach od ostatniego zastrzyku, względnie od ostatniego podania arsenu były sekcjonowane. Tkanki natychmiast utrwalało i badano drobnowidowo. Z nieorganicznych związków arsenu był użyty roztwór arseninu potasowego (razem 150 kropli), a z organicznych związków szeregu benzolowego tylko Neosalvarsan (razem 1,50 g).

Kilka królików z jednej i drugiej grupy doświadczalnej padło pomiędzy 5 a 10 dniem, a w pobranych z nich wycinkach ośrodkowego układu nerwowego ani makroskopowo, ani mikroskopowo nie obserwowaliśmy zmian przypominających krwiotoczne zapalenie mózgo-rdzenia. W jednym tylko przypadku (6 dzień po 150 kroplach Sol. Fowleri) mogliśmy sudanem III wykazać w kilku miejscach podkorowej istoty białej mózgu wyraźne zwyrodnienie tłuszczowe komórek śródbłonka naczyń włosowatych. W komórkach nerwowych kory mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego żadnych zmian nie było; barwliwość jądra i protoplazmy pozostała zachowana. Amoniakalny roztwór srebra, siarczan miedzi i dwuchlorek miedzi ujawniły ziarna arsenu w miernej ilości w komórkach śródbłonka naczyniowego.

Po 10 i 30 dniach doświadczenia badania nasze były poprowadzone przede wszystkim w kierunku obecności arsenu w tkankach ośrodkowego układu nerwowego.

Nieorganiczne związki arsenu (Sol. Fowleri)

Okres pozostawania arsenu w ustroju zwierzęcia mierzony mniej lub więcej długą przerwą, jaka powstaje od chwili ostatniego podania per os, lub zastrzyku, był opracowywany tylko przez nielicznych autorów. Chociaż Frenkel Heiden i Navassart, a także Fischer i Hoppe, oraz Fischer i Zernick mogli nawet po siedmiu i dziewięciu miesiącach wykazać obecność arsenu po zastrzykach domięśniowych, to jednak Jancso już po upływie 24 godzin nie znajdował arsenu w badanych przez siebie tkankach. Demidowa natomiast w 144 godzinie, używając metody srebrowej, potrafiła wykazać ziarenka arsenu w komórkach czynnej mezenchymy. Jak również z poprzednich naszych badań wynika zielone ziarenka arsenu w komórkach Kupffera i w komórkach śledziony mogły być zaobserwowane nawet po 30 dniach. Obserwacje te w zupełności pokrywają się z wynikami jakie otrzymaliśmy, badając po 10 i 30 dniach wycinki z ośrodkowego układu nerwowego królików, którym podawano roztwór arseninu potasowego.

W protoplazmie komórek śródbłonek naczyń włosowatych rdzenia kręgowego oraz kory i istoty białej podkorowej mózgu, można było po 30 dniach zabarwić siarczanem miedzi i dwuchlorkiem miedzi zielone ziarna arsenu. Ilość ziarenek była niewielka, a dodać należy, że znajdowały się one nie we wszystkich komórkach śródbłonka. Same komórki były jednak duże, jak gdyby napęczniałe, przy czym zachowywały barwliwość protoplazmy i jądra, i nie wykazywały zwyrodnienia tłuszczowego.

W komórkach nerwowych i mikroglejowych żadnych zmian nie stwierdzono. W korze i istocie podkorowej mózdzku arsenu nie znaleziono. Barwliwość tkanki nerwowej we wszystkich odcinkach była zachowana.

Organiczne związki arsenu (Neosalvarsan)

I w tej grupie zwierząt doświadczalnych, po zastosowaniu metody Castela i naszych modyfikacji, mogliśmy po 10 i 30 dniach wykazać w śródblonku włośnic zielone ziarenka kompleksowych połączeń arsenu z miedzią, które najprawdopodobniej są już połączeniami biologicznie nieczynnymi, brak bowiem zmian zwyrodnienia tłuszczowego jakie spotykaliśmy w zatruciach ostrych.

Cytoarchitektoniczna budowa kory mózgowej i istoty szarej rdzenia kręgowego nie wykazywała odchyień od normy. W korze i istocie podkorowej mózdzku arsenu nie znaleziono. Komórki mezoglejowe Hortegi były obecne wszędzie dokoła naczyń, jednak w ich protoplazmie ziarenek arsenu po 30 dniach już nie znaleziono.

Omówienie wyników badań

Na wstępie naszych doświadczeń musieliśmy odpowiedzieć na pytanie: czy w warunkach fizjologicznych znajduje się w komórkach zwierzęcych arsen i czy można go wykazać metodami histochemicznymi?

Kunkel nie wyklucza tej możliwości, podkreśla jednak, że jeżeli arsen istnieje w komórkach, to w ilości minimalnej, która już fizjologicznie nie posiada żadnego znaczenia, a tymbardziej nie może być brana pod uwagę ani w omawianiu wyników badań histochemicznych, ani przy analizie ilościowej.

Materiał do naszych badań próbnych pochodził z królików albinośw zdrowych, jednorocznych, wagi około 2000—3000 g. Pobieraliśmy wycinki wątroby, śledziony, mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego. Stosowanymi przez nas metodami histochemicznymi, a to amoniakalnym roztworem srebra, metodą Castela i modyfikacjami tej metody opracowanymi przez nas, w ani jednym preparacie nie stwierdziliśmy obecności arsenu w komórkach. Stan ten pozwolił na krytyczne omawianie wyników badań doświadczalnych, które polegały na wprowadzeniu do ustroju zwierzęcia arsenu pod postacią chemicznych związków nieorganicznych i organicznych szeregu alifatycznego i benzołowego.

Arsen i jego związki, bez względu na sposób podawania, jest zawsze wychwytywany i magazynowany śródplazmatycznie przez komórki czynnej mezenchymy odpowiednich tkanek. Znajdowaliśmy go bowiem w komórkach Kupffera, w śródblonkach zatok i włośnic śledziony, w histiocytach wędrujących i osiadłych tkanki podskórnej i skóry właściwej, w śródblonkach naczyń włosowatych płuc, serca i nerek. W ośrodkowym układzie nerwowym zdolności żerne względem arsenu i jego przetworów ujawniły w naszych doświadczeniach przede wszystkim śród-

blonki naczyń włosowatych istoty szarej i białej mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego, a następnie mezoglejowe komórki Hortegi.

Ilość sfagocytowanych ziarenek As w komórkach śródbłonka zwiększała się w miarę podawania arsenu, przy czym obecność jego nie pozostawała bez wpływu na protoplazmę i jądro tych komórek. J. Schumacher sądzi, że arsen łączy się z lipoproteinami i kwasem nukleinowym komórki. Prowadziłyby to więc miało z jednej strony do zniszczenia struktury jądra (karyopygnosis, chromatolysis, karyolysis), a z drugiej strony do dezorganizacji przemiany materii w komórce, prowadzącej do zmian wstecznych, które wyrażają się zwyrodnieniem tłuszczowym protoplazmy. I jedno i drugie stwierdzaliśmy na naszych preparatach, przy czym obserwowaliśmy nawet całkowite zniszczenie komórki śródbłonka, które prowadziło do wytworzenia w tkance otaczającej małych, punkcikowatych wybroczyn krwawych.

Na wszystkich preparatach, bez względu na rodzaj chemicznego związku arsenu, zauważaliśmy także dokołanaczyniowe gromadzenie się elementów komórkowych. Jednak ilość tych elementów była zależna i od ilości podanego arsenu i od zmian jakie arsen powodował w śródbłonkach naczyń.

Ze względu na to, że zawsze dokoła i w pobliżu naczyń krwionośnych, oraz dużych komórek nerwowych kory mózgu, mózdzku i istoty szarej rdzenia kręgowego był obecny ten sam typ wrzecionowatych, podługowatych, małych komórek, że zawsze tylko te komórki miały zdolność gromadzenia ziarenek arsenu w protoplazmie, zaliczyliśmy je do typu komórek histiocytarnych. Tworzą one więc tak zwany „trzeci element ośrodkowego układu nerwowego”, system komórek czynnej mezenchymy. System ten przez Zawarżina, Rumjancewa, Schaffera, Sobottę i Möllendorffa został nazwany systemem komórek mezoglejowych. Na komórki mezoglejowe zwrócił uwagę po raz pierwszy Rio del Hortega, następnie Costero i Cooper, nazywając je komórkami satelitowymi. Gromadzą się one bowiem zwykle w bliskości dużych komórek zwojowych ośrodkowego układu nerwowego, a także w bliskości włosowatych naczyń krwionośnych, tworzących angiarchitekturę mózgowia, mózdzku i rdzenia kręgowego. Są to komórki pochodzenia mezodermalnego, które dostają się do tkanki nerwowej, jak twierdzi Zawarżin i Rumjancew, razem z wrastającymi do niej naczyniami krwionośnymi. Komórki te cechuje zdolność ruchu, zdolność zmiany kształtu od ameboidowego do wrzecionowatego, rozplem, oraz wybitna zdolność fagocytozy. Spełniają one rolę nie tylko komórek podporowych glejowych, ale także biorą czynny udział w obukierunkowym przenoszeniu produktów odżywczych, względnie produktów przemiany materii z naczyń krwionośnych do komórek nerwowych i od-

wrotnie. Stanowią one więc jak gdyby pomost pomiędzy naczyniami krwionośnymi a tkanką nerwową.

Ani komórki makroglejowe, ani oligodendryczne nie wykazywały zdolności żernych, twierdzenie więc E c k e r a i K e r n o h a n a, jakoby przede wszystkim komórki oligodendryczne należały do komórek najbardziej czynnych okazuje się mało prawdopodobne.

Streszczając wyniki naszych badań doświadczalnych możemy powiedzieć, że „trzeci element ośrodkowego układu nerwowego” utworzony jest przez układ komórek czynnej mezenchymy, a to przez 1) mezoglejowe komórki Hortegi, występujące przeważnie w istocie szarej mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego, i 2) śródbłonki naczyń włosowatych kory i istoty białej mózgu, kory i istoty białej mózdzku, oraz istoty szarej i białej rdzenia kręgowego. Komórki Hortegi pozostają w ścisłej łączności z śródbłonkiem naczyń, oplatają one bowiem rurki naczyniowe od zewnątrz, tworzą protoplazmatyczne drogi i mogą spletać koszyczki dookoła wielkich komórek nerwowych.

Gromadzenie się arsenu w protoplazmie komórek mezoglejowych prowadzi również do zniszczenia struktury jądra, zwyrodnienia tłuszczowego protoplazmy, a ostatecznie i do całkowitego zniszczenia komórki. Przyczynia się to więc do zahamowania jej przejawów życiowych, a tym samym pozostawia elementy nerwowe ośrodkowego układu nerwowego bez dowozu materiałów odżywczych. Pierwsze zaburzenia przemiany materii w komórkach mezoglejowych i śródbłónkach naczyniowych odzwierciedlają się niespecyficznymi dla arsenu zmianami w ciele komórek nerwowych.

Wstępny zmianami „zatrucia arsenowego” w ciele komórek nerwowych było: niebarwliwość, lub niejednostajność barwienia zrębu jądrowego, oraz zbijanie się w większe grudki ciałek zasadochłonnych Nissla. Grudki zasadochłonne układają się na obwodzie komórki, są nierówne, a ilość ich w jednej komórce waha się od 16 do 20. Zawsze jednak okazują one dążenie do dalszego zgrupowywania się.

Drugim dowodem zmienionej czynności fizjologicznej komórek zwojowych jest pojawienie się kuleczek tłuszczowych zwyrodnienia tłuszczowego. Wreszcie mogliśmy obserwować zniszczenia jądra, wakuole myeliny i rozpad całkowity komórki nerwowej. Zawsze dokoła takich komórek widoczne były liczne komórki mezoglejowe i wrastające pomiędzy nie komórki oligodendryczne.

Zmiany obserwowane w komórkach nerwowych są, jak już zaznaczyliśmy, zmianami niespecyficznymi dla arsenu. Są to zmiany raczej drugorzędne. W protoplazmie bowiem komórek nerwowych mózgu, mózdzku i rdzenia kręgowego, przy zastosowaniu używanych przez nas metod histochemicznych nie znaleźliśmy nawet śladów arsenu.

Arsen i jego związki, zmagazynowane przez układ komórek czynnej mezenchymy, pozostaje w ustroju zwierzęcia przez czas dłuższy. Jeszcze po 30 dniach od chwili ostatniego podania arsenu mogliśmy wykazać w śródbłonkach naczyń włosowatych mniejszą, lub większą ilość ziarenek arsenu. W komórkach Hortegi w tym czasie już nie wybarwialiśmy poszukiwanych ziarenek. Usuwanie arsenu z ustroju odbywa się więc najprawdopodobniej na drodze krwionośnej i w końcu przez nerki.

Objaśnienia do mikrofotografii

- Mikrofot. Nr 1. KRÓLIK. Kora mózgu. Cytoarchitektoniczne warstwy I, II i III. Roztwór arsenianu potasu. 10 dzień doświadczenia. Porozszerzane naczynia włosowate. Komórki śródbłonka duże, jasne. Dalsze objaśnienia w tekście. Histochemiczna metoda nr I. Preparat podbarwiany hematoksyliną i eozyną. Powiększenie ca 300 x.
- Mikrofot. Nr 2. KRÓLIK. Istota biała podkorowa mózgu. Kwas arsenawy (pigułki azjatyckie). 16 dzień doświadczenia. Porozszerzane naczynia krwionośne włosowate. Mezoglejowe komórki Hortegi w bezpośredniej bliskości naczyń. Obrzęk mózgu. Histochemiczna metoda nr I. Preparat podbarwiany hematoksyliną i eozyną. Powiększenie ca 300 x.
- Mikrofot. Nr 3. KRÓLIK. Kora mózdzku. Kwas arsenawy (pigułki azjatyckie). 15 dzień doświadczenia. Rozszerzone naczynia włosowate. Mezoglejowe komórki Hortegi grupują się w pobliżu naczyń i komórek nerwowych Purkiniego. Histochemiczna metoda nr II. Preparat podbarwiany błękitem toluidynowym. Powiększenie ca 150 x.
- Mikrofot. Nr 4. KRÓLIK. Rdzeń kręgowy lędźwiowy. Duże komórki ruchowe korzonkowe. Roztwór arsenianu potasu. 10 dzień doświadczenia. Duże grudki ciałek zasadochłonnych Nissla. Komórki mezoglejowe Hortegi (H). Histochemiczna metoda nr I. Preparat podbarwiany błękitem metylenowym. Powiększenie ca 450 x.
- Mikrofot. Nr 5. KRÓLIK. Kora mózdzku. Roztwór arsenianu potasu. 16 dzień doświadczenia. Duże nagromadzenie komórek mezoglejowych Hortegi dokoła komórek zwojowych Purkiniego, które wykazują niebarwliwość i rozpad wypustek zarodkowych. Histochemiczna metoda Castela. Preparat podbarwiany błękitem toluidynowym. Powiększenie ca 300 x.

- Mikrofot. Nr 6. KRÓLIK. Kora mózgu. Cytoarchitektoniczne warstwy I, II, III i V. Neosalvarsan 0,45 g. 5 dzień doświadczenia. Porozszerzane naczynia włosowate. Lekki obrzęk mózgu. Histochemiczna metoda nr I. Preparat podbarwiany hematoksyliną i eozyną. Powiększenie ca 150 x.
- Mikrofot. Nr 7. KRÓLIK. Istota biała mózgowia. Neosalvarsan 0,90 g. 10 dzień doświadczenia. Dokoła porozszerzanych naczyń włosowatych olbrzymie nagromadzenia komórek Hortegi. Tworzą one jakgdyby pasma komórkowe łączące się w rodzaj sieci protoplazmatycznej. Histochemiczna metoda nr I. Preparat podbarwiany hematoksyliną. Powiększenie ca 300 x.
- Mikrofot. Nr 8. KRÓLIK. Kora mózdzku. Novarsenobenzol 1,50 g. 16 dzień doświadczenia. Niebarwliwość komórek zwojowych Purkiniego (cienie komórkowe). Komórki mikroglejowe i oligodendryczne w I warstwie cytoarchitektonicznej. Niejednostajność barwienia komórek ziarnistych (III warstwa cytoarchitektoniczna). Histochemiczna metoda nr I. Preparat podbarwiany hematoksyliną i eozyną. Powiększenie ca 150 x.
- Mikrofot. Nr 9. KRÓLIK. Rdzeń kręgowy lędźwiowy. Komórki ruchowe korzonkowe. Neosalvarsan 1,80 g. 20 dzień doświadczenia. Duże nagromadzenie komórek Hortegi w bezpośredniej bliskości naczyń włosowatych i komórek nerwowych. Histochemiczna metoda nr II. Preparat podbarwiany błękitem toluidynowym. Powiększenie ca 150 x.
- Mikrofot. Nr 10. KRÓLIK. Istota biała podkorowa mózgu. Neosalvarsan 1,80 g. 20 dzień doświadczenia. Punkcikowata wybroczynka krwawa dokoła naczynia włosowatego. Bardzo liczne komórki mezoglejowe i oligodendryczne. Lekki obrzęk mózgu. Histochemiczna metoda nr II. Preparat podbarwiany hematoksyliną. Powiększenie ca 300 x.

PIŚMIENNICTWO.

- 1) Bernhardt R. Przegl. Dermatol. 1923.
- 2) Bruhns C. Med. Klinik Nr 10 1924.
- 3) Burnaschow A. Russk Wratsch. Nr 13, 1912 (streszczenie w Deutsch. Med. Wochenscht. Nr 29. 1912).
- 4) Castel P. Bull. d. Histol. Appliq. Nr 13. 1936.
- 5) Cooper E. R. A. Human Histology. Ed. II. London 1948.
- 6) Costero J. Zeitscht. f. d. gesamt. Neurol. u. Psych. Nr 132. 1931.

- 7) Czubalski F. Lwowski Tyg. Lek. Vol. 7. 1912.
- 8) Dietrich A. Zeitschft f. d. gesamt. Neurol. Tom. 68. 1921.
- 9) Ecker A. D. — Kernohan J. W. Arch. of Neurol. a Psychiatry. Vol. 45. 1941.
- 10) Frenkel-Heiden i Navassart E. Berl. Klin. Wochenshft. Nr 30. 1911.
- 11) Fischer Ph. i Hoppe J. Münch. Med. Wochenshft. Nr 29. 1910.
- 12) Fischer W. i Zernick F. Berl. Klin. Wochenshft. Nr 34. 1911.
- 13) Grzycki St. Med. Wet. Nr 10. 1947.
- 14) Hooper C. W., Kolls A. C. i Wright K. D. Jour. of Pharmac. Vol. 18. 1922.
- 15) Henneberg J. Klin. Wochenshft. Nr 5. 1922.
- 16) Ives E. R. Bull. Los Angeles Neurol. Soc. 2. 140. 1937.
- 17) Jacobsohn F. i Sklarz E. Med. Klin. Nr 18. 1922.
- 18) Kalberlah F. Münch. Med. Wochenshft. Nr 4. 1922.
- 19) Klinger P. Now. Lekars. Nr 15—16. 1933.
- 20) Kolmer J. A. i Lucke B. Arch. of Derm. Syphil. 3. 1921. na stronie 483.
- 21) Kolmer J. A. i Lucke B. Arch. of Derm. Syphil. Vol. 3. 1921. str. 515.
- 22) Krainer L., Black A. K., Mc Gill R. J. i Rao N. V. Journ. of Neurol. Neurosurg. a Psychiatry Vol. X, Nr 4, 1947,
- 23) Kreissig A. Virch. Arch. Tom 102. 1885.
- 24) Kunkel — cyt. wg pracy Nr 9 (Ecker i Kernohan).
- 25) Marschalko Th. i Veszpremi D. Deutsch. Med. Wochenschrift. Nr 26. 1912.
- 26) Möllendorff W. Lehrbuch d. Histologie. Ed. XXV. Jena. 1943.
- 27) Nielsen J. M. Textbook of Clinical Neurology. Ed. II. 1946.
- 28) Reissner H. Wien. Klin. Wochenshft. Nr 8. 1941.
- 29) Ricker G. i Knape W. Med. Klin. Nr 31. 1917.
- 30) Riebes E. Arch. f. Dermat. u. Syphil. Tom 118. 1913.
- 31) Rio del Hortege P. Arch. de Neurobiol. Nr 2. 1921.
- 32) Schlossberger H. Hand. d. Salvarsantherapie-Kolle u. Zieler. 1924.
- 33) Schmorl G. Ges. f. Nat. u. Heilkunde. 1918.
- 34) Schumacher K. Zentralbl. f. Haut u. Geschlechtskrht. Nr 1. 1921.
- 35) Schumacher J. Med. Klin. 1922.
- 36) Sobotta J. Atlas u. Lehrbuch d. Histol. u. mikr. Anatom Ed V. Tom 9. 1938.
- 37) Staemmler M. Med. Welt. Nr 3. 1929.
- 38) Stühmer A. Arch. f. Derm. u. Syphil. Tom 70. 1914.
- 39) Stühmer A. Münch. Med. Wochenshft. Nr 11, 20, 49. 1914.
- 40) Ullmann K. Arch. f. Dermat. Tom 114. 1913.
- 41) Ullmann K. Wiener Klin. Wochenshft. Nr 28. 1913.
- 42) Ullmann K. Wiener Klin. Wochenshft. Nr 24. 1914.
- 43) Weichbrodt R. Deutsch. Med. Wochenshft. Nr 3. 1921.
- 44) Voegtlin C., Dyer H. i Leonard C. S. Publ. Health Reports Vol. 38. Nr 33. 1923.
- 45) Voegtlin C., Smith M. J., Dyaer H. i Thompson J. W. Publ. Health Reports Vol. 38. Nr 19. 1923.
- 46) Schaffer J. Lehrb. d. Histologie u. Histogenese. Ed. III. Wiedeń 1933.
- 47) Zawarzin A. A. i Rumjancew A. W. Kurs gistologii. Ed. VI. Moskwa 1946.
- 48) Żeltakow M. M. Westn. Wener. i Dermat. Nr 1. 1946.

S U M M A R Y

Having before us different opinions and above all diverse experimental histological and clinical pictures obtained by various scientists, we attempted, using histochemical methods for the arsenic detection in the cells and tissues, to answer the following questions: 1^o — which cells of the central nervous system possess phagocytic powers with regard to arsenic and its compounds, and 2^o — of what character are the cytological alterations, if any, in the brain, cerebellum and the spinal cord cells, ensued by administration of arsenic and its chemical compounds.

The tests, carried out on albino rabbits of 2300—3000 g of weight, consisted in administering arsenic and its compounds either per os, or by injecting them subcutaneously or intravenously into the marginal vein of the concha.

In the first series of our experiments arsenic and its compounds were administered for 1, 5, 10 & 20 days, and the material for the histochemical and histological examinations was collected 20 — 24 hrs after the last administration of As either per os, or by injection. In this series also those animals were included which died on the 3rd, 5th, 6th, 7th, 16th, 17th, and 18th day of poisoning from arsenious acid, potassium arsenite, solarson, or stovarsol.

Inorganic arsenic compounds**(arsenious acid, potassium arsenite)**

After the first day of administration of arsenious acid (solution, pills) and potassium arsenite no changes in the microscopic pictures of the brain, cerebellum and spinal cord were brought about; no difference was seen between these microscopic pictures and those made of the control animals, either. Cyto — and myeloarchitectonic structure of the above mentioned organs did not show any abnormalities, and some very scrupulous observations of the highly phagocytic capillary endothelium failed to reveal any arsenic grains. Most probably, the inorganic arsenic compounds having been given per os, „got stuck“ in some other organs, before they could reach the central nervous system.

Green, yellow-green, or brown (brownish-black) grains of arsenic compounds in the endothelial cells of the capillary vessels, forming angioarchitectonic structure of the brain, cerebellum and the spinal cord no sooner were revealed than after the fifth administration of As. Most numerous grains of arsenic, however, were found in the cerebral endothelium and also, though to much lesser extent, in the cerebellum and the spinal cord. The amount of arsenic grains taken up by the endothelial cells increased every day as a result of a prolonged administration which affected both

the protoplasm and the nucleus of these cells, viz. on the tenth day of experiments all the capillary vessels, both within the cortical grey matter and subcortical strata of the white matter, revealed fusiform and sinusoidal dilatations (photo No 1 and 2), enlarged endothelial cells of somewhat swollen appearance, while the protoplasm instead of being oxyphil in character, as it usually is, remained either unstained, or was slightly basophil. Sudan III & IV stained within the cell plasm tiny fatty balls, what indicated the process of fatty degeneration had ensued. Especially numerous were orange or brown stained fatty granules in the cells loaded with As grains, i.e. in such cells that probably had been blocked and subsequently altered.

In preparations of this series of experiments, in close vicinity of blood vessels of the cortex and subcortical white matter of the brain and spinal cord, the fusiform cells with two or three pseudopodes filled with stained arsenic grains, were visible (photo No 2,3 and 7). Their shape, so far as we could notice, varied considerably, however, fusiform forms prevailed according to their site and the degree of filling with As grains. Their capacity for changing shape, motility, and phagocytic powers allowed us to include them into the wandering histiocyte type of cells, and identify them as the Rio del Hortege's mesoglia cells which are usually described as the microglial cells.

On the 16th, 17th, or 18th day, the animals of this experimental series died with symptoms of poisoning which manifested itself in tonic-clonic convulsions of both hindlegs (sometimes forelegs), quick breathing, cyanosis of the mucous membranes visible from the outside, and the dilatation of the whole reticulum of blood vessels of the auricular conchae, combined with abundant saturation with blood. The autopsy of the brain, cerebellum, and the spinal cord revealed slight swelling of these tissues and spotty hemorrhages from the dilated vessels, mostly in the area of the cerebral and cerebellar cortex and subcortex, as well as in the grey and the white matter of the spinal cord. Histological sections, on the other hand, showed a picture of the encephalo myelitis hemorrhagica.

In the altered endothelium of the capillary vessels, mostly in the brain and spinal cord intracellularly deposited grains of arsenic were present. In some areas the endothelial cells were damaged, what was made evident by smaller or greater effusions of the morphotic blood components, numerous mesodermal Rio del Hortege's, and oligodendric cells aggregated around the hemorrhages, and more or less numerous As grains lying extracellularly (photo No 10) The closest neighbourhood to the hemorrhages was also changed. The ganglion nerve cells were mostly affected, viz. big pyramidal Betz cells in the cortex, motor root cells in the spinal cord, and big Purkinje cells in the cerebellar cortex.

First alterations in the cell protoplasm and in the nucleus of the big pyramidal cells were already visible on the fifth day of the experiments. They were: unstainability or want of uniformity in stain absorption, of the nuclear stroma and clodding of the Nissl's basophil bodies at the peripheral portion of the cell; the latter were rough in appearance and of the size equal to that of a nucleus, and their quantity in a cell varied from 16-20, a marked tendency to further grouping, being evident. Accurate pictures of their distribution and behaviour were obtained by means of staining the preparations with methylen blue and toluidine blue (photo No 4,5 and 9). The phenomenon of aggregation of the Nissl's bodies was the first proof of the changed physiological activity of the ganglion cells, and of the disorganisation of the cellular metabolism. The second proof was the demonstration by means of Sudan III & IV of tiny, fatty balls, present in the protoplasm. The fatty degeneration was most striking after 10 days of administration of arsenious acid and potassium arsenite. Whether this degeneration was just due to the administered arsenic compounds is still difficult to say, although only those of the ganglion cells were altered which were situated either in the vicinity of the vascular endothelium or close to the Rio del Hortega's histiocytic cells filled with the phagocytosed grains of As.

The condition of fatty degeneration did not last long; for already on the 15 th, or 16 th day of experiments, especially in the poisoned animals, myeline vacuoles of various size could be stained with neutral red. The number of vacuoles stood always in reverse relation to the actual size of the nucleus. On two preparations complete destruction of the motor root cells of the lumbar segment of the spinal cord was visible, although no distinctive cytologic changes in the other cells of the same preparation, save for some aggregation of Nissl's bodies, were detectable. The altered cells formed some sort of foci with softened nerve and neuroglial tissues (necrosis, gliosis, satelitosis) unstainable with histological stains which were usually applied.

We must stress, however, the fact that in none of these preparations the traces of arsenic were detectable in the protoplasm of the nerve cells of the brain, cerebellum, or the spinal cord.

The organic arsenic compounds of the aliphatic series (Solarson)

Solarson, was injected intracutaneously and subcutaneously into the dorsal regions everyday, in the quantity of 1 cc (1 cc of 1% sol. corresponded to 0.004 g of As_2O_3).

After the first day of experimenting no distinctive changes in the histological picture of the brain, cerebellum, or spinal cord were detectable, though dilation of the capillary vessels in these tissues, as

well as considerable stasis, was noted. No arsenic grains in the capillary endothelium were detected by our histochemical methods.

The positive histochemical tests were obtained only after the fifth administration of Solarson. The complex arsenic compounds in a form of green and brownish grains were found both in the protoplasm of the endothelial cells of the capillary vessels and in the Rio del Horteiga type of cells, adjoining from the outside. The structure of the endothelium cells remained unchanged: they were flat, clear, with the nucleus thoroughly stained with hemalum. The Rio del Horteiga microglial cells, more or less fusiform in shape, with their pseudopodes reaching far into the nerve tissue, stayed always in close vicinity of the capillary vessels.

The changes in histological sections of the central nervous system on the 10th and 20th day of experiments were marked by dilation of the lumen of the capillary vessels, stasis, and some changes in their endothelium. The endothelial cells in these sections were big, of somewhat swollen appearance, unstainable, and the chromatine stroma of the nucleus was undistinguishable; in the protoplasm of these cells besides As grains tiny, fatty balls were stained with Sudan IV. In several preparations, also in the Rio del Horteiga cells, aggregated in considerable numbers round the capillary vessels- brown, fatty balls stained with Sudan IV were visible. Neither destructions of the endothelium, nor any hemorrhages into the cerebral cortex, cerebellum, or grey matter of the spinal cord, were found.

When examining the sections of the 20th day of experiments, and especially of those animals which died during these tests, our attention was called to a great ununiformity in staining the grey matter. The above mentioned phenomenon pertained mostly to the area lying in close vicinity of the capillary vessels. The endothelium of the latter was altered, and the mesogial cells filled with phagocyted Solarson grains were present. This picture resembled closely the foci in the softened nerve tissue observed in cases of poisoning from inorganic arsenic compounds. The cytoarchitectonic structure of that area, in spite of a serious damage of the big nerve cells, was still recognisable.

In great pyramidal Betz cells, in the pyramidal cells of the third cytoarchitectonic layer of the brain cortex, and also in the motor root cells of the spinal cord a disintegration of protoplasmatic and axon fibers was observed. Some fatty degenerative changes and neutral red stained myelin vacuoles were also present. The Nissl's bodies, however, were not seen. At the same time, in the ganglion cells of the cerebellar cortex unstainability of the nuclei and large clusters of conglomerated Nissl's bodies, were present. The cytological changes in the nerve cells after Solarson injections appeared on the 10th day of

experiments and only in close neighbourhood to the capillary vessels. In rabbits which died earlier the changes were of similar character, but appeared already on the fifth day.

Organic arsenic compounds of the benzole group

(Stovarsol, Novarsenobenzol, Neosalvarsan)

Stovarsol was shown to be the least suitable for this purpose, since all rabbits died on the 3rd or 5th day with general symptoms of gastro-intestinal type of poisoning. In the sections prepared after 3 days i. e. after 0,03 g of Stovarsol, no evidence of arsenic in the capillary endothelium and in the histiocytic Rio del Hortega cells was present. No changes in the ganglion cells were revealed, either. After 5th days, however, in one section a few arsenic grains were detected in the capillary endothelium of the brain cortex.

Of the benzole group there were also such drugs used like Novarsenobenzol (L. L. Spiess) und Neosalvarsan (Bayer). The drugs were injected intravenously every second day in doses à 0,15 or 0,30 g immediately after dissolving them in 10 cc of doubly distilled water. Thus, during 20 days — one lot of animals received 1,50 g, the other 1,80 g NAB & NS. The rabbits after Novarsenobenzol as well as those after Neosalvarsan kept healthy, and even gained in weight, from 200-300 g.

The histological pictures of the brain, cerebellum and the spinal cord sections resembled closely those obtained during our previous experiments, with the exception that in this case, already after the first injection (0,15), one saw grains of complex arsenic compounds which could be detected either by means of ammonium solution of silver nitrate, or by Castel method with our modifications.

The injected salvarsan circulating in the blood is, in the first place, taken up by the capillary endothelial cells of various organs, then by the „settled” histiocytes of the liver, spleen, kidney, or the suprarenal glands etc., and finally — by the „wandering” histiocytes (mostly of the skin)

In all sections there was a marked presence of arsenic in the capillary endothelium cells of the cerebral and the cerebellar cortex (photo No 6), as well as in the grey and the white matter of the spinal cord. Moreover, already on the tenth day of experiments (0,90 NS & NAB) unstainability of the endothelial cellular nuclei was observed, where as staining with Sudans revealed some fatty balls. At the same time in the vicinity of vascular system great amounts of mesogial cells appeared, with more or less numerous arsenic grains within their protoplasm (photo No 7).

Prolonged injections of Novarsenobenzol and Neosalvarsan, to the total of 1,50 and 1,80, produced some fatty degenerative changes in the

vascular endothelium and in the Rio del Hortega cells; these changes were present also in the adjacent area, i. e. in the ganglion nerve cells (photo No 8). First of all the nerve tissue loses its stainability. Neither hemalum nor methyl blue could stain the nuclear stroma, the Nissl basophil bodies conglomerate in big clusters, and in the slightly stained protoplasm one could see not very numerous Sudan stained fatty balls. Arsenic grains however were not detected.

A few rabbits died after last injections. In these animals symptomatically, grossly, and microscopically the symptoms of hemorrhagic encephalomyelitis could be observed (photo No 9 and 10). Little spotty hemorrhages were present mostly in the cerebral cortex and in the subcortical white matter, and also, though not to such a degree, in the white and the grey matter of the spinal cord. The amounts of arsenic found in the cerebellar cortex and subcortex were smaller than in two previous cases.

The second series of our experiments comprised the animals that were receiving administration of arsenic for twenty days. The animals were killed on the 5th, 10th and 30th day after the last administration of arsenic, and then sectioned. The tissues were immediately fixed and examined microscopically. Of the inorganic arsenic compounds the solution of potassium arsenite was used, and of the organic ones Neosalvarsan.

After 10 & 30 days our experiments went mostly in the direction of detecting arsenic in the tissues of the central nervous system.

Inorganic arsenic compounds

(Sol. Fowleri)

The period for which arsenic remains in the organism is measured by a longer or shorter interval after the last administration of arsenic and is given by few authors only.

In the protoplasm of the capillary endothelium, spinal cord, cortex or subcortical white matter, green arsenic grains remained stained still after 30 days, though they were not very numerous and did not appear in all endothelial cells. The cells themselves were quite large and of somewhat swollen appearance though their affinity for stain was still maintained, and no fatty degenerations revealed. There were no changes in the nerve or microglial cells. In the cerebellar cortex, or in the subcortical matter of the cerebellum arsenic was not detected. Affinity for stain was maintained.

Organic arsenic compounds

(Neosalvarsan)

Also in this series of test animals, with the aid of the Castel method applied with our modifications we were able to detect after 10 and 30 days green arsenic grains of the complex cooper arsenic com-

pounds which were most probably biologically inactive, as no fatty degenerations were visible. The cytostructure of the brain, cortex, or the grey matter of the spinal cord did not show any abnormalities.

In the cerebellar cortex or subcortex arsenic was not found. The Rio del Hortega cells were always encircling the blood vessels; after 30 days, however, the presence of arsenic grains within their protoplasm was not revealed any longer.

Discussion

In the introductory part of our investigations one question was to be answered: is arsenic present in the physiological conditions and if so, is it possible to detect it by histochemical methods?

Although Kunkel does not deny this possibility, he stresses nevertheless that arsenic, if present, exists in negligible quantities, which is of no physiological significance and cannot be taken into account either when discussing histochemical results, or in the quantitative analysis.

The material for our research consisted of albino rabbits. The excised sections came from the liver, spleen, brain, cerebellum, and spinal cord. The applied histochemical methods, viz. ammonium sol. of silver, Castel method modified by Grzycki failed to reveal the arsenic grains in the cells in any of these preparations. This enabled us to undergo a critical discussion of the results of experimental tests consisting in introducing arsenic to the animal organism in a form of inorganic as well as organic compounds of the aliphatic and the benzole group.

Arsenic or its compounds, regardless of the way of administration, is always taken up and stored by the active mesenchymal cells within their protoplasm. It was found in the Kupffer cells in the endothelium of the sinuses and capillary vessel in the spleen, in the wandering or settled histiocytes in the tela subcutanea and the skin, in the capillary endothelium of the lungs, heart, or kidneys. In the central nervous system the phagocytic capacity for taking up arsenic and its compounds in our experiments was manifested first of all by the capillary endothelium of the grey and white matter of the brain, cerebellum, and spinal cord, and then by the Rio del Hortega mesogial cells. The number of phagocytosed As grains increased with the prolonged administration of arsenic, and it is noteworthy that their presence did affect the protoplasm and the nucleus of the cells. Schumacher maintains that arsenic combines with lipoproteins and nucleus acid of the cell. It would lead on one hand to the damage of the nuclear structure, and on the other, to some disorders in the cellular metabolism, which in turn would cause the fatty degeneration of the protoplasm. Both categories of these changes were seen in our prepa-

rations, sometimes even complete destruction of the endothelial cells, which led in the surrounding tissues to the formation of small spotty hemorrhages.

In all sections, no matter what sort of chemical arsenic compounds had been used, the perivascular aggregations of the cellular elements were observed. Their amount, however, depended firstly on the quantity of administered arsenic, and secondly on the changes produced by arsenic in the vascular endothelium. Owing to the fact that around, and in the vicinity of, the blood vessels, the big nerve cells of the cerebral and cerebellar cortex, or the grey matter of the spinal cord, the same type of small oblong and fusiform cells were always present, and that only these cells were capable of storing up arsenic within their protoplasm, — they have been included by us in the histiocyte type of cells. Thus „*the third element*“, or the system of the active mesenchyme cells is formed. The above mentioned system is called by Zawarzin, Rumjancew, Schaffer, Sobotta, and Möllendorff a mesogial cells system.

For the first time a special attention was paid to these cells by Rio del Horta and then by Costero and Cooper, who called them „satellite cells“. since they aggregate usually in the vicinity of big nerve cells and the capillary vessels forming the angiostructure of the brain, cerebellum, and spinal cord. The above mentioned cells are of the mesodermal origin and according to Zawarzin and Rumjancew, have got into the nervous tissue together with the growing in blood vessels; they are characterised by their mobility, capacity for changing the shape from the amoeboidal to the fusiform one, multiplication, and outstanding fagocytic powers. They play the role not only of supporting glial cells, but also take active part in carrying the nutritional substances in both directions, as well as in the conveying the metabolic products from the blood vessels to the nerve cells and vice versa, forming thus some sort of a gangway between the blood vessels and the nerve tissue.

As the macroglial and the oligodendric cells did not show any phagocytic powers, the statements made by Ecker and Kernohan that the oligodendric cells would belong to the most active type of cells, seem little justified.

The present results of our work seem to leave no reasonable doubt that the third element of the central nervous system is composed of the active mesenchyme cells viz. 1) of the mesogial mesenchymal cells existing mostly in the grey matter of the brain, cerebellum, and spinal cord, 2) of the capillary endothelium of the cortex and the white matter of the brain and cerebellum, and in the grey and white matter of the spinal cord. Rio del Horta cells remain in close connection with the vascular

endothelium plaiting from outside around the vascular tubes, forming protoplasmic pathways and wreathing little baskets around the big nerve cells.

Aggregations of arsenic in the protoplasm of the mesogial cells lead also to the damage of the nuclear structure, fatty degenerations of the protoplasm and finally to the complete destruction of the cell, thus causing a considerable hindrance for vital processes, and cutting off the supply of nutritional substances to the central nervous system. The first metabolic disorders in the mesogial cells and in the vascular endothelium are manifested by the nonspecific changes viz. by the changes in the body of the nerve cells.

The following initial changes in the „arsenic poisoning“ were observed: unstainability, or ununiformity in staining of the nuclear stroma, and clodding of the Nissl bodies into big lumps. The latter, irregular in shape, were arranged at the periphery of the cell, and amounted from 16—20 in one cell. A marked tendency to further clodding was always present.

Another proof of the changed physiological activity of the ganglion cells were the fatty balls resulting from the fatty degeneration. Finally cases of the complete destruction of the nucleus, myelin vacuoles, and disintegration of the very cell, could be observed; around such cells numerous mesogial cells and growing between them oligodendric cells were visible.

It was already stressed that the changes in the nerve cells are not specific for arsenic, and are secondary in character. In the protoplasm of the cells of the brain, cerebellum or spinal cord, with the aid of the used by us histochemical methods, no traces of arsenic could be found.

Arsenic and its compounds stored up by the system of the active mesenchyme cells remains in the animal organism for quite a long time. Still after 30 days we were able to detect more or less numerous arsenic grains in the capillary endothelium. In the Rio del Hortega cells, however, arsenic was not present so long. Thus the removal of arsenic from the animal organism probably takes place via blood vessels and then through the kidneys.

Explanation of plates

Photo 1. RABBIT. Cerebral cortex. Cytoarchitectonic layers No I, II & III. Sol. of arsenite potassium. 10th day of experiments. Dilated capillary vessels. Endothelial cells big, clear. Further

explanations in the text. Histochemical method No I. Stained with hemalum and eosin. Ca x 300.

Photo 2 RABBIT. White matter of the cerebral cortex. Arsenous acid (Asiatic pills). 16th day of experiments. Dilated capillary vessels. Mesoglia Rio del Hortega cells in the immediate vicinity of vessels. Oedema of the brain. Histochemical method No I. Stained with hemalum and eosin. Ca x 300.

Photo 3. RABBIT, Cerebellar cortex. Arsenous acid (Asiatic pills). 15th day of experiments. Dilated capillars. Mesoglia Rio del Hortega cells grouped in the vicinity of vessels and Purkinje cells. Histochemical method No II. Stained with toluidine blue. Ca x 150.

Photo 4. RABBIT. Lumbar segment of the spinal cord. Big root motor cells. Sol. of arsenite potassium. 10th day of experiments. Big lumps of Nissl basophil bodies. Rio del Hortega cells (H). Histochemical method No I. Stained with toluidine blue. Ca x 450.

Photo 5. RABBIT. Cerebellar cortex. Sol. of potassium arsenite. 16th day of experiments. Extensive aggregations of the Rio del Hortega mesoglia cells around the Purkinje cells, the latter showing instability and disintegration of the protoplasmic processes. Castel histochemical method. Stained with toluidine blue. Ca x 300.

Photo 6. RABBIT. Cerebral cortex. Cytoarchitectonic layers I, II, III & V. Neosalvarsan 0,45 g. 5th day of experiments. Dilated capillars. Slight oedema of the brain. Histochemical method No I. Stained with hematoxylin and eosin. Ca x 150.

Photo 7. RABBIT. White matter of the brain. Neosalvarsan 0,90 g. 10th day of experiments. Around the dilated capillars great aggregations of the Rio del Hortega cells, forming some sort of cellular band, and joining together in a protoplasmic net. Histochemical method No I. Stained with hematoxylin. Ca x 300.

Photo 8. RABBIT. Cerebellar cortex. Novarsenobenzol 1,50 g. 16th day of experiments. Instability of the Purkinje ganglion cells. Microglial and oligodendritic cells in the I cytoarchitectonic layer. Ununiformly stained granular cells of the III cytoarchitectonic layer. Histochemical method No I. Stained with hematoxylin and eosin. Ca x 150.

Photo 9. RABBIT. Lumbar segment of the spinal cord. The root motor cells. Neosalvarsan 1,80 g. 20th day of experiments.

Large aggregations of the Rio del Hortega cells in the immediate vicinity of the capillary vessels and nerve cells. Histochemical method No II. Stained with toluidine blue. Ca x 150.

Photo 10. RABBIT. White matter of the cerebral subcortex. Neosalvarsan 1,80 g. 20th day of experiments. A small, spotty hemorrhage around the capillary vessel. Very numerous mesogial and oligodendric cells. Slight oedema of the brain. Histochemical method No II. Stained with hematoxyline. Ca x 300.
