

TOKSIKOLOŠKO ZNAČENJE ERITROCITNIH INKLUZIJA

T. BERITIĆ

*Institut za medicinska istraživanja Jugoslavenske akademije znanosti i umjetnosti,
Zagreb*

(Priljeno 3. VI. 1957.)

The red cell is a reagent of great sensitivity ...

S. Granick, Blood, 4 (1949) 404

Prikazani su rezultati višegodišnjih kliničkih istraživanja o pojavi eritrocitnih inkluzija kod različitih otrovanja te o pojavi nekih inkluzija kod životinja. Istaknuta je opravdanost istraživanja morfoloških promjena eritrocita ne samo zbog dijagnostike već i zbog prevencije otrovanja. Rad obuhvaća bazofilne punktacije eritrocita, Heinzova tjelešca i siderotičke granulacije. U obilnom prikazu literature i vlastitih zapažanja obuhvaćene su kvantitativne i kvalitativne promjene eritrocita i eritroblasta kod kliničkog saturnizma. Istaknuto je značenje bazofilnih punktacija u koštanoj srži: kod djelovanja olova te su inkluzije u srži ne samo prisutne nego i mnogo brojnije nego u eritrocitima periferne krvi. Prikazom literature i vlastitih iskustava kod hemolitičkih anemija upozoruje se, da je kod nastajanja punktacije pokrenut neki endogeni mehanizam dishemopoieze. Određivanje broja punktiranih eritrocita može se korisno upotrebiti u higijeni rada, da se utvrdi ne samo individualna nego i kolektivna ekspozicija olovu.

O proučavanju Heinzovih tjelešaca iznesena su klinička zapažanja, a zatim rezultati istraživanja pojave Heinzovih tjelešaca kod mačaka. Određivanje je vršeno na velikom broju životinja (63). Kod 4 životinje izvršena je splenektomija, da se utvrdi utjecaj endogenih faktora na frekvenciju eritrocitnih inkluzija. Nađeno je, da je kod splenektomiranih životinja broj eritrocitnih inkluzija prije i poslije operativnog zahvata jednak. Konačno je prikazana vrijednost eksperimentalnog izazivanja Heinzovih tjelešaca *in vitro*, osobito za prevenciju oštećenja, što se mogu pojaviti u toku liječenja kemoterapeuticima.

Siderotičke granulacije proučavane su kod otrovanja olovom. Nađeno je, da su prisutne u vrlo velikom broju u koštanoj srži. Naročito je ukazano na njihov odnos prema bazofilnim punktacijama, pa je dokazano, da te dvije vrste eritrocitnih inkluzija nisu identične. Naročito je istaknuto opažanje, da se siderotičke granulacije kod otrovanja olovom nalaze smještene u perinuklearnoj zoni eritroblasta, što bi se moglo protumačiti kao znak poremetnje korištenja željeza u sintezi hemoglobina.

Pojavljivanje kliničkih simptoma otrovanja označuje obično već razvijenu pa i uznapredovalu, a katkada čak i konačnu fazu bolesti. Zbog toga je, dakle, prirodno i opravdano nastojanje, da se dijagnostički zahvati u početnu, ranu fazu sumnjivog zbiljanja, da se kod toga koristi svaka, pa i najmanja promjena i retragama pristupačnih elemenata tijela, a da se to ipak izvede jednostavnom, brzom i jeftinom laboratorijskom tehnikom. Hematološko promatranje eritrocita u perifernoj krvi i eritroblasta u koštanoj srži je upravo takav zahvalni postupak. Kao jedinice visoko diferenciranih biokemijskih svojstava, vrlo male rezistencije prema supstancijama stranima tijelu, a kraj toga s najvećim regenerativnim potencijalom, crvene krvne stanice zauzimaju važno mjesto u proučavanju toksičkih promjena krvi (1). U tim se promjenama nastoji naći fini indikator štetnog djelovanja neke kemijski aktivne tvari, jer je crvena krvna stanica zaista, kako kaže *Granick* (2). »reagens velike osjetljivosti«. To su bili razlozi, da sam se kroz posljednjih deset godina prihvatio sistematskog proučavanja eritrocitnih inkluzija, da bi ih – kao dijagnostičko pomagalo – mogao praktički upotrebiti ne samo u klinici nego i u prevenciji profesionalnih intoksikacija.

Nekoliko vrsta tvorba u crvenim stanicama označuju se danas zajedničkim nazivom »inkluzije«. Ma da taj naziv nije nikada bio jasno definiran, on se obično odnosi na citoplazmatske tvorbe, što nastaju kao morfološka manifestacija među sobom različitih i još nedovoljno proučenih biokemijskih promjena eritrocita. Te tvorbe su: bazofilne punktacije, Heinzova tjelešca i siderotičke granulacije.

Radi se, dakle, o poznatim morfološkim fenomenima, što se u većem ili manjem broju katkad javljaju kao pratioci endogenih hemopatija, a gotovo redovno i u velikom broju kod mnogih egzogenih otrovanja. Upravo zbog toga, što te tvorbe nisu samo posljedica djelovanja egzogene nokse, trebalo je proučiti njihove biološke karakteristike. No kako se većina tih tvorba u eksperimentalnoj i kliničkoj toksikologiji vrlo često među sobom i zamjenjuje pogotovu kad se pojave u isto vrijeme, trebalo je proučiti i njihove diferencijalne karakteristike. Tek poznavanje tih karakteristika opravdava praktičko značenje eritrocitnih inkluzija u toksikološkim pretragama.

1. Bazofilne punktacije

Kromatološkim metodama prikazane bazofilne punktacije vide se kao multipla, većinom okrugla ili ovalna, rijetko štapčasta ili nepravilna tjelešca, raspoređena difuzno po tijelu crvenih krvnih stanica. Veličina im varira, no redovno su to vrlo sitne tvorbe, s promjerom od jedne ili više desetinki mikrona. Vrlo rijetko, obično samo u eritroblastima, prelaze veličinu od jednog mikrona. Nisu vidljiva u nativnom preparatu, ni nakon supravitalnog bojadisanja razmaza krvi, a vrlo dobro se vide

bojadisanjem bazičkim bojama (sl. 1). Obojene punktacije naročito se jasno vide u tamnom polju. Selektivne slike nastaju bojadisanjem metilenskim modrilom. U faznoj optici ne mogu se bazofilne punktacije vidjeti nativno. Metode prikazivanja, tehniku bojadisanja i tumačenje nalaza opisao sam u ranijim publikacijama (1, 3).

Bazofilne punktacije eritrocita prvi put je točno opisao *Askanazy* (4) 1893. g., kao popratnu pojavu kod anemije. Nekoliko godina kasnije (1899) je *Behrendt* (5), u diskusiji na Littenovo predavanje o endoglobularnim tvorbama eritrocita, prvi upozorio na »izvanredno mnoštvo zrnastih eritrocita«, koje je – uz minimalne znakove »anemične degeneracije« – vidio u krvnom razmazu nekog na izgled inače neobično »anemičnog« ličilca, bolesnika u napadaju olovnih kolika. Ubrzo nakon toga su *Grawitz* (6) i *Hamel* (7) ukazali na dijagnostičko značenje tih stanica kod otrovanja olovom. Kako je, osim toga, opaženo, da se bazofilne punktacije eritrocita javljaju ne samo kod različitih anemija nego i kod zdravih ljudi (8, 9), započelo je njihovo kliničko i eksperimentalno proučavanje potaknuto ne samo općim hematološkim interesom za te tvorbe, nego i interesima higijene rada, naročito u prevenciji industrijskog saturnizma. Tako se o bazofilnim punktacijama eritrocita postepeno nagomilala nepregledna literatura, iz koje ću navesti samo one podatke, koji su važni za kliničku toksikologiju olova.

Već se vrlo rano postavlja u literaturi pitanje, da li su bazofilne punktacije manifestacija regenerativnih ili degenerativnih promjena eritrocita. Autori prvih eksperimentalnih istraživanja (10, 11) zaključuju, da se radi o »granularnoj degeneraciji eritrocita«, pa se to mišljenje dugo zadržalo u literaturi. Pojava bazofilnih punktacija još se u novije vrijeme katkad naziva »bazofilnom degeneracijom« (*Fairhall* i *Sayers*, 12). *Ferrata* (13) g. 1910. u opširnoj studiji navodi mišljenja raznih autora i njihove argumente za degenerativni, odnosno regenerativni karakter punktacija. Jedna od glavnih pretpostavki o degenerativnoj naravi punktacija temeljila se na tvrdnji, da se one ne javljaju u koštanoj srži, pa da prema tome nastaju u perifernoj cirkulaciji. *Bell* i suradnici (14) i *Key* (15) nisu našli kod eksperimentalnog otrovanja olovom bazofilno punktirane stanice u srži, ma da ih je u isto vrijeme bilo mnogo u perifernoj krvi. Štoviše, *Speransky* i *Sklianskaja* (16), a tako isto i *Seiffert* i *Arnold* (17) vidjeli su i bazofilno punktirane eritroblaste u perifernoj krvi otrovanih životinja, ali tvrde, da eritroblasti u koštanoj srži nikad ne sadržavaju bazofilnih punktacija. *Aub* i suradnici (18) napisali su 1926. g. klasičnu monografiju o otrovanju olovom, pa u poglavlju o djelovanju olova na krvne stanice kažu, da olovo djeluje na mlade eritrocite pošto su ušli u perifernu cirkulaciju, i to na taj način, što njihovu bazofilnu supstanciju koagulira tako, da te mlade stanice dobiju svoj karakteristični zrnasti izgled poznat pod nazivom »bazofilne punktacije«. Ma da su to pitanje evropski hematolozi, naročito *Ferrata* i *Naegeli*, davno prije Aubove monografije riješili i dokazali, da se ne

radi o perifernoj degeneraciji, ipak se to mišljenje u industrijskoj toksikologiji zadržalo gotovo sve do naših dana. Tako *Hunter* (19) 1944. g. još uvijek podržava Aubovo mišljenje, a *Lloyd Davies* 1948. g. u svojoj knjizi »The Practice of Industrial Medicine« (20) tvrdi, da olovo nema nikakvog djelovanja na koštanu srž i da je njegovo djelovanje na krv samo periferno, da su pogođene mlade stanice, koje sadržavaju olovo u obliku netopljivog olovnog fosfata. Smatrajući da je to sporno pitanje od bitne važnosti za razumijevanje toksičkog djelovanja olova, pokušavao sam nekoliko godina kvantitativne i kvalitativne promjene eritropoeze kod kliničkog saturnizma.

Biopsija koštane srži, kao klinička metoda pretrage, počela se vršiti tek od godine 1929., pa su se prva istraživanja o djelovanju olova na hematopoetski organ poduzimala samo kod životinja i kod rijetkih smrtnih slučajeva saturnizma. Pa i tada su se opažanja svodila gotovo samo na procentualni celularni sastav koštane srži, i na one kvalitativne promjene stanica, koje su se mogle prikazati histološkom tehnikom mikroskopske pretrage. *White i Pepper* (10) nalaze već 1901. g. u srži eritrocite s bazofilnim punktacijama, a iduće godine *Stengel, White i Pepper* (11) nalaze i bazofilno punktirane eritroblaste u srži eksperimentalno otrovanih pasa. I *Naegeli* je našao punktirane eritrocite i eritroblaste u srži otrovanih životinja, ali kasnije je o tome u literaturi malo podataka. Tek 1937. g. *Klima i Seyfried* (22) pišu opet o prisustvu tih stanica u srži otrovanih kunića i zamorčadi, a zatim i mnogi drugi autori, uglavnom kod slučajeva kliničkog (23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 i 34), ali i eksperimentalnog saturnizma (35, 36). I ja sam već 1948. g. objavio (1) rezultate prvih opažanja, da kod kliničkog otrovanja olovom velik postotak normoblasta u srži sadržava bazofilne punktacije. Štoviše, *Ucdekar* i ja (38) smo kasnije našli i kod velikog broja eksponiranih radnika takve promjene u srži. Na temelju dosadašnjega iskustva, a dijelom i prema podacima iz literature (33), zaključujem, da je fenomen bazofilnih punktacija rezultat djelovanja olova na eritroblaste u srži. Procenat punktiranih normoblasta od sveukupnog broja eritroblasta u srži mnogo je veći nego što je procenat punktiranih eritrocita od sveukupnog broja eritrocita u periferiji. I kod najtežih kliničkih otrovanja olovom, koja sam promatrao, bazofilno punktirani eritrociti ne prelaze vrijednost od 5% svih eritrocita u periferiji. U srži smo, naprotiv, mogli redovno naći i do 37% punktiranih eritroblasta (37). Neosporna je, dakle, činjenica, da su bazofilno punktirane stanice u srži bolesnika otrovanih olovom (Sl. 2 i 3) ne samo prisutne nego i kudikamo brojnije nego u periferiji. Uostalom, vršeći eksperimente na ljudima *Albahary* (29) je pokazao, da se bazofilno punktirani eritrociti javljaju mnogo prije u srži nego u perifernoj krvi.

Time se može smatrati dokazanom stara *Cadwaladerova* (39) hipoteza, da bazofilne punktacije u eritrocitima periferne krvi zaista potječu iz koštane srži.

Većina autora ističe kao karakterističan znak djelovanja olova hiperplaziju eritropoetskih stanica srži. I ja sam opazio (1. 37, 38) neobično jaku eritropoetsku aktivnost, kojoj odgovaraju i kvantitativne i kvalitativne promjene u eritroblastima. Ta pojačana eritropoeza je zapravo u upadljivom nesrazmjeru s neznatnom olovnom anemijom, pa već *Cadwalader* (39) 1906. g. s pravom primjećuje, da se ni kod jedne druge anemije ne vidi u srži »tako velik napor, da se ispravi i tako mala anemija« kao što je to kod otrovanja olovom. Najmarkantnija kvalitativna promjena u toj jakoj eritroblastičkoj proliferaciji je nesumnjivo pojava bazofilno punktiranih eritroblasta (37). S druge strane već se odavno uočilo i dobro je danas poznato, da je pojava bazofilnih punktacija neovisna o djelovanju olova i da je naročito česta, iako ne konstantna, upravo kod anemija s jakom regeneracijom (većina pernicioznih anemija, neki slučajevi hemolitičkih anemija) i u embrionalnoj krvi (13, 40, 41), a da punktirani eritrociti u perifernoj krvi potijuno manjkaju kod aplastičnih anemija (42). Time je postalo najvjerojatnije da se radi o fenomenu regeneracije, t. j. o mladim stanicama, a da je stimulirana eritrocitogeneza, bez obzira na njene uzroke, zajednički izvor bazofilnih punktacija. Prema tome se čini, da su te stanice rezultat regenerativnih procesa u srži. Ipak *Albahary* (29) u novije vrijeme (1944-1945) smatra, da punktirani eritrociti nisu regenerativne stanice već ih duhovito naziva »infantilnim stanicama«, budući da su one »u odrasloj dobi sačuvale neke karakteristike eritroblasta«. Međutim, kod otrovanja olovom ne nastaju bazofilne punktacije zbog anemije, jer se javljaju i prije anemije (43), a katkad i uopće bez anemije, pa je vjerojatno fiziološka regeneracija, koja se neprestano vrši u srži, jednim dijelom bar skrenuta pod djelovanje olova sa svog normalnog puta. Bazofilno punktirani eritrociti nisu, naime, normalna karika u lancu nesmetanog razvitka eritrocita odrasla čovjeka, nego obično popratna pojava različitih patoloških stanja krvi (1), pa se zato smatraju znakom »patološke regeneracije« (*PAPPENHEIM*, 44) ili, po *Schillingu* (45), znakom »degenerativnih promjena regenerativnih stanica«. Uostalom, ma da se i radi o mladim stanicama iz hematopoetskog organa, još uvijek je moguće, da su granulacije u njima nastale degenerativnom promjenom neke preformirane tvorbe. Pojam »patološke regeneracije« ili »degenerirane regeneracije« tražio je, dakle, dalje objašnjenje o porijeklu i mehanizmu nastajanja bazofilnih punktacija.

Dugo je vremena bilo u literaturi sporno pitanje, da li su bazofilne punktacije kariogenog ili citoplazmatskog porijekla. O tom je pitanju naročito opširno pisao *Ferrata* (13). Da postoji neka veza između jezgre eritroblasta i bazofilnih punktacija, pomišljalo se u prvom redu zbog istovremenog prisustva bazofilno punktiranih eritrocita i brojnih eritroblasta u perifernoj cirkulaciji kod otrovanja olovom. Ta veza se činila očitom i zbog toga, što su jezgre eritroblasta u periferiji bile vrlo često u dezintegraciji. Tako već *Sabrazes* i suradnici (16) spominju 1900. g.

kod saturnizma bazofilno punktirane eritroblaste u perifernoj krvi s promjenama jezgre, i to smatraju dokazom, da su bazofilne punktacije jezgrinog porijekla. *Dumas* 1903. g. (47) ističe, da se denuklearizacija eritroblasta kod zdrava čovjeka izuzetno vrši fragmentacijom jezgre, a da je fragmentacija, naprotiv, vrlo česta kod otrovanja olovom. *Vaughan* (8) iste godine piše, da se velik broj bazofilno punktiranih eritrocita može naći upravo kod svih patoloških stanja, koja su popraćena prisustvom eritroblasta u perifernoj cirkulaciji – pa zaključuje, da su bazofilne punktacije ostaci razgrađene jezgre eritroblasta. *Caldwaller* (9) 1905. g. ističe, da se uz bazofilno punktirane eritrocite kod otrovanja olovom nalaze i eritroblasti vrlo često u perifernoj krvi čak i onda, kad je sveukupni broj eritrocita samo neznatno snižen, pa zaključuje, da je njihova međusobna veza vrlo vjerojatna. On je ujedno opazio, da je porast bazofilno punktiranih eritrocita najveći onda, kad su eritroblasti u periferiji u opadanju, pa smatra, da su bazofilne punktacije vjerojatno ostaci fragmentirane jezgre eritroblasta. I *Ferrata* 1910. g. drži, da su punktacije kariogenog porijekla, i to naročito zbog toga, što u eritroblastima pokazuju karakterističnu perinuklearnu lokalizaciju. Mišljenje o kariogenom postanku bazofilnih punktacija zadržalo se i kasnije u literaturi, pa je čak i veliki hematolog *Naegeli* (13) bio sklon mišljenju, da su bazofilne punktacije kariogenog porijekla. Različito bojadisanje jezgre i Jollyjevih tjelešaca s jedne strane, a bazofilno punktiranih eritrocita s druge strane tumačilo se kemijskim promjenama, što navodno nastaju u nekrobiotičkoj jezgri. Međutim, dok sam *Naegeli* kasnije dopušta mogućnost citoplazmatskog porijekla (42), dotle *Schmidt* još 1937. g. (48) misli, da su punktacije nastale iz jezgre, koja je uz morfološke promjene bila podvrnuta i nekim kemijskim promjenama, koje su odgovorne za različito bojadisanje jezgre i punktacija.

Ali jedan dio autora već od početka podržava staro *Ehrlichovo* i *Askaničjevo* mišljenje (13), da se radi o tvorbama citoplazmatskog porijekla. Tako su već spomenuti *Stengel* i suradnici (11) ukazali na »kariomitozu u granuliranim eritrocitima«, što bi bilo dokazom, da punktacije sigurno ne nastaju zbog karakterističnog raspadanja jezgre, jer »nije vjerojatno, da bi jezgra u isto vrijeme mogla biti i u stadiju aktivne mitoze i u karioreksi«. Danas je citoplazmatsko porijeklo bazofilnih punktacija potpuno dokazano ovim činjenicama (1): 1. Bazofilne se punktacije javljaju već, kako smo vidjeli, u normoblastima, i to kad je još jezgra vrlo dobro očuvana (12), što sam ja i mikrofotografijom pokušao dokumentirati (1). Našao sam bazofilne punktacije ne samo u ortokromatskim normoblastima kod potpuno intaktne jezgre nego i u mlađim polikromatskim normoblastima u srži, kad jezgra obično još ne podliježe procesima konačnog nestajanja. Bazofilne punktacije su, osim toga, prisutne i u raznim stadijima kariokineze, kako je već opisao *Stengel* sa suradnicima (11), a kasnije i drugi autori (12). Na priloženim mikrofotografijama eritroblasta iz vlastitih punktata srži može se

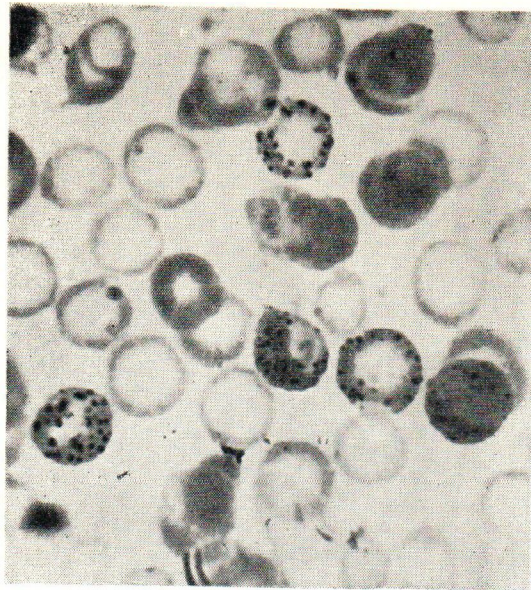
vidjeti kariokineza u prisustvu bazofilnih punktacija (Sl. 5). Štoviše, *Vandekar* i ja smo mikrofotografijom pokazali, da se brižnim promatranjem razmaza mogu naći svi prijelazi od košaraste ili mrežaste citoplazme do bazofilnih punktacija (37) (Sl. 4.) 2. Giemsinom otopinom bojadišu se jezgrine grudice azur-crvenkasto, dok bazofilne punktacije pokazuju plavu boju pojačanog tona polikromazije (45). 3. Najvažniji dokaz citoplazmatskog porijekla bazofilnih granulacija je negativna Feulgenova nuklearna reakcija, koja je specifična na prisustvo deoksiribonukleinske kiseline, koja je glavni kemijski sastojak jezgre (49). Citokemijska istraživanja, koja su u novije vrijeme vršili *Dustin* (50), *Thoma* (51) i *Sano* (52, 53) pokazala su, da bazofilne punktacije duguju svoj afinitet prema bazičkim bojama upravo prisustvu ribonukleinske kiseline, koja, kako je poznato, daje negativnu Feulgenovu reakciju, a glavni je kemijski sastojak citoplazme i nukleolura eritroblasta. Time je konačno riješeno, da se radi o tvorbama citoplazmatskog porijekla.

Bazofilna supstancija punktiranih eritrocita može se, dakle, po porijeklu i citokemijskom sastavu smatrati ostatkom citoplazmatske bazofilne supstancije. Kako su polikromatska supstancija iz polikromatskih eritrocita i granulo-filamentozna supstancija iz retikulocita isto tako ostaci te bazofilne supstancije eritroblasta, postavlja se opravdano pitanje, u kakvom su međusobnom odnosu ta tri morfološka fenomena. *Schilling* (45) misli, da su bazofilne punktacije zapravo degeneracija polikromazije, a da sama polikromazija može prethoditi pojavi bazofilno punktiranih eritrocita, pa da čak »ima stadija i forma otrovanja olovom, koji pokazuje samo polikromatske eritrocite, a uopće nemaju bazofilno punktiranih eritrocita«. I *Rosegger* (54) dovodi ta dva fenomena u najužu vezu pa kaže, da nalaz polikromazije i bazofilne punktacije idu uporedo, pa da su bazofilne punktacije izmijenjena manifestacijska forma polikromazije. U razmazu se mogu naći i »sve prijelazne forme od polikromatskih do bazofilno punktiranih eritrocita«. *Rosegger* ističe, da se bazofilne punktacije mogu smatrati produktom zgusnuća polikromatske supstancije. To zgusnuće polikromatske supstancije naziva »retrakcijom«. I *Goldblatt* (55) u najnovije vrijeme (1955) piše, da je bazofilno punktirani eritrocit zapravo polikromatski eritrocit, čije su granulacije gusto stisnute jedna uz drugu, tako da se ne vide odijeljene pa daju utisak difuzne, ravnomjerne bazofilije. *Dustin* je čak nedavno uspio da metodom »polaganog sušenja« izazove in vitro prijetvorbu polikromatskih u bazofilno punktirane eritrocite. *Leitner* (30) ispoređuje bazofilne punktacije eritrocita s »toksičkin« granulacijama granulocita pa kaže, da se prve ponašaju prema normalnoj »vitalnoj« granulaciji eritrocita kao druge prema normalnoj granulaciji granulocita. Proučavajući odnos bazofilno punktiranih eritrocita i retikulocita kod životinja dvostruko trovanih olovom i fenilhidrazinom, *Whitby* i *Britton* (56) su došli do zaključka, da su i bazofilne

punktacije i polikromazija manifestacije istog fenomena »retikulacije«. *Rosegger* je 1946. g. (54) našao, da je izoelektrična točka ista i za bazofilne punktacije, i za polikromaziju, i za retikulum. Kemijski identitet bazofilnih punktacija i granulofilamentozne supstancije u retikulocitima dokazao je u najnovije vrijeme *Sano* (53). Međutim, obje vrste tvorba razlikuju se, kako je poznato, bitno u načinu prikazivanja i ponašanja prema postupcima bojadisanja, pa još uvijek ostaje neriješen njihov međusobni odnos. Retikulociti su kod otrovanja olovom redovni pratilac bazofilnih punktacija, pa je očito, da se u njihovom broju reflektira podražna eritropoetska aktivnost srži. *Koelsch* smatra, da povećani broj retikulocita kod djelovanja olova ima dijagnostičko značenje. Sličnog su mišljenja *Dreesen* (57) i u novije vrijeme *Borges* (58). Ja sam našao kod svih slučajeva otrovanja olovom povišen broj retikulocita, a isto tako i kod svih slučajeva abnormalne apsorpcije olova (tablica). Brojenje retikulocita je zbog toga dio standardne hematološke pretrage pri pregledu radnika izloženih olovu. Ni kod jednog slučaja nismo našli povišene brojeve bazofilno punktiranih eritrocita bez povišenih brojeva retikulocita.

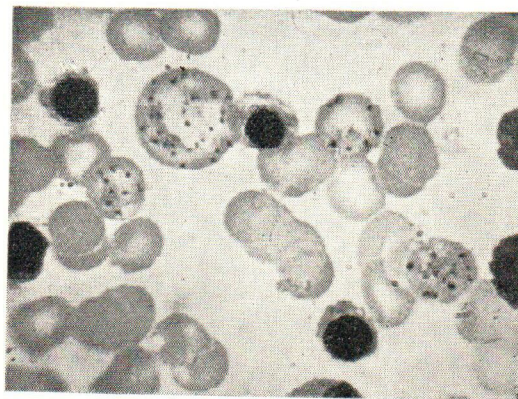
Odnos bazofilno punktiranih eritrocita prema mitohondrijima proučavali su *Key* (59), *Albahary* (29) i u najnovije vrijeme *Sano* (53). Ovaj posljednji autor je pokazao, da bazofilne punktacije nastaju zbog vitalne agregacije ribonukleinske kiseline oko mitohondrija. *Sano* je našao, da mitohondriji persistiraju u eritrocitima kod otrovanja olovom, dok inače, kako je poznato, iščezavaju iz zrelih eritrocita zdrava čovjeka (2).

Pregledavajući literaturu može se zaključiti, da su gotovo sva proučavanja o naravi bazofilnih punktacija u najužoj vezi s toksikološkim proučavanjem tih tvorba kod otrovanja olovom. Ta vrsta inkluzija može se, doduše, naći u manjem broju i kod drugih otrovanja (1), naročito zlatom (60), ali je njihov broj tako konstantno visok kod otrovanja olovom, da nije čudo, što se u prvo vrijeme mislilo, da su te tvorbe patognomonične za saturnizam, pa su se čak i slučajevi perniciozne anemije zamjenjivali s otrovanjem olovom (61) i nazivali »Bleipernicioza« (62). *Rosegger* (54) upozoruje na tu zabludu pa ističe, da se i kod drugih stanja može naći velik broj bazofilno punktiranih eritrocita u perifernoj krvi. I precjenjivanje nalaza u srži može se naći u literaturi, što je, dakako, praktički neobično važno, jer dovodi do dijagnostičkih zabluda. Tako se u jednom često citiranom slučaju navodnog otrovanja (63) dijagnoza saturnizma postavila isključivo na temelju nalaza bazofilno punktiranih eritrocita u koštanoj srži. *Movitt* (31) također misli, da se nalaz bazofilno punktiranih eritroblasta u srži, a bez punktiranih eritrocita u periferiji, može smatrati odlučnim za di-



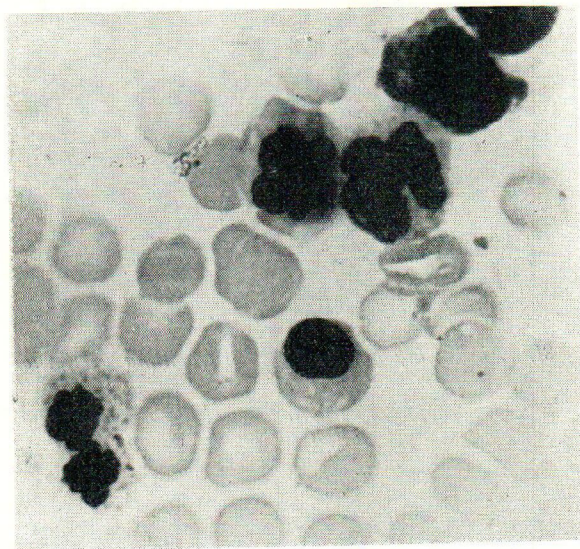
Sl. 1. Bazofilne punktacije u eritrocitima periferne krvi

Fig. 1. Basophilic stippling in erythrocytes of the peripheral blood



Sl. 2. Bazofilne punktacije u eritrocitima koštane srži

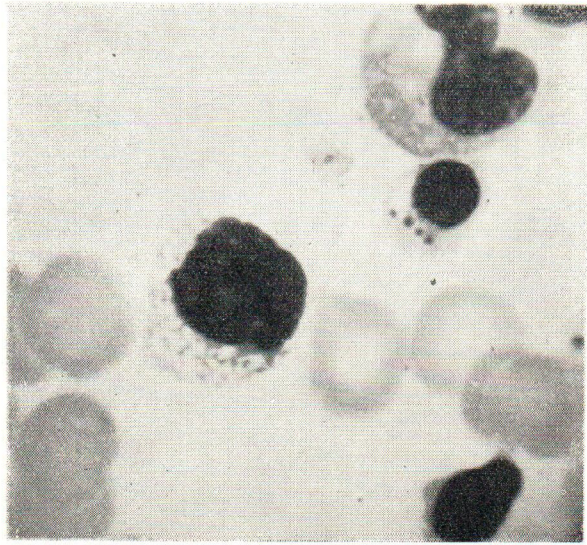
Fig. 2. Basophilic stippling in erythrocytes of the bone marrow



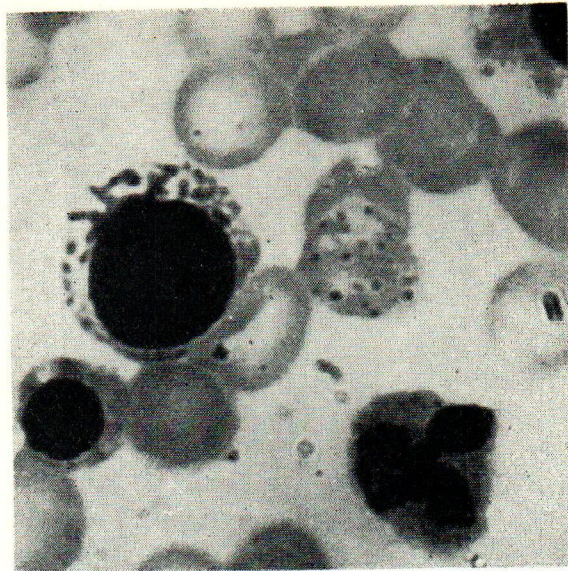
Sl. 3. Bazofilne punktacije u eritroblastima koštane srži
Fig. 3. Basophilic stippling in erythroblasts of the bone marrow



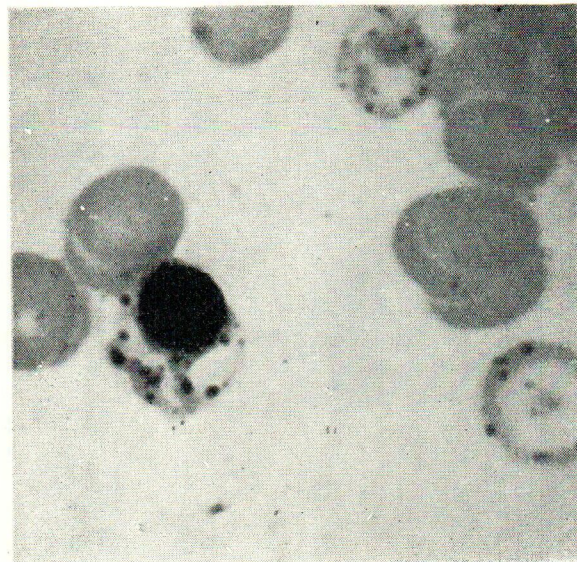
Sl. 4/1



Sl. 4/2



Sl. 4/3



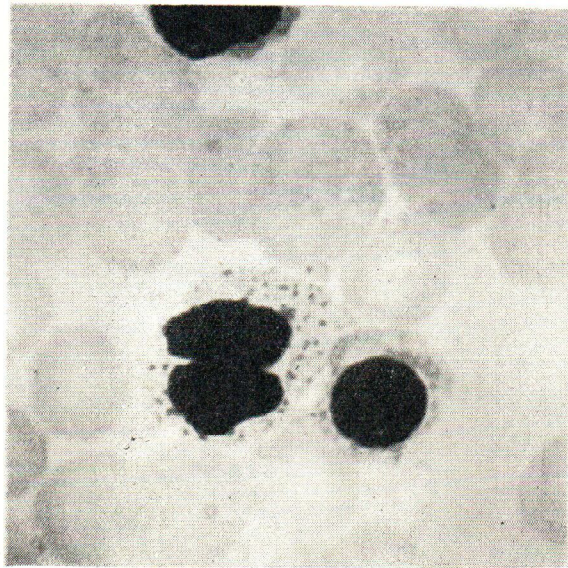
Sl. 4/4

Sl. 4/1—4. Bazofilne punktacije u eritroblastima s defektnom hemoglobinizacijom. Mrežasta struktura citoplazme ukazuje na početno stvaranje punktacija

Fig. 4/1—4. Basophilic stippling in erythroblasts showing defective haemoglobinization



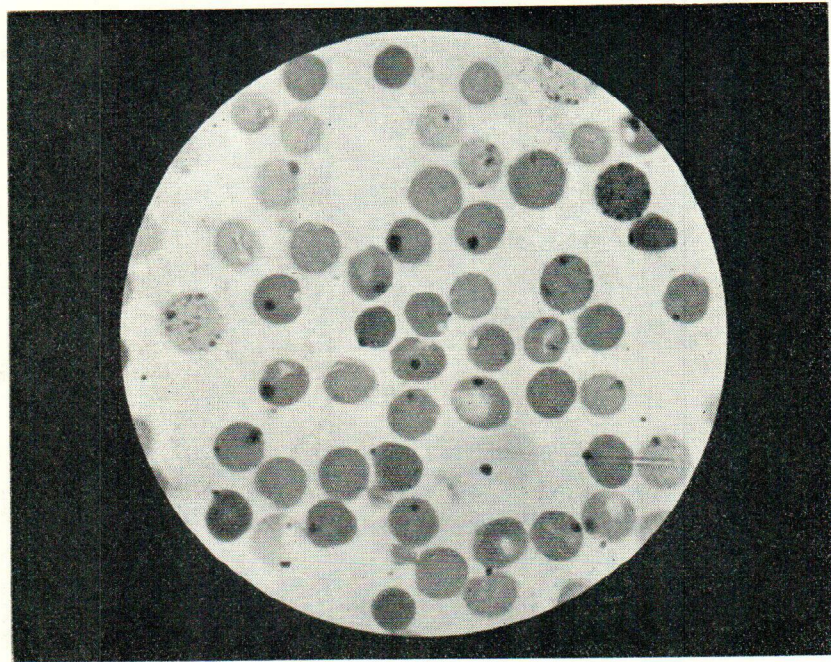
Sl. 5/1



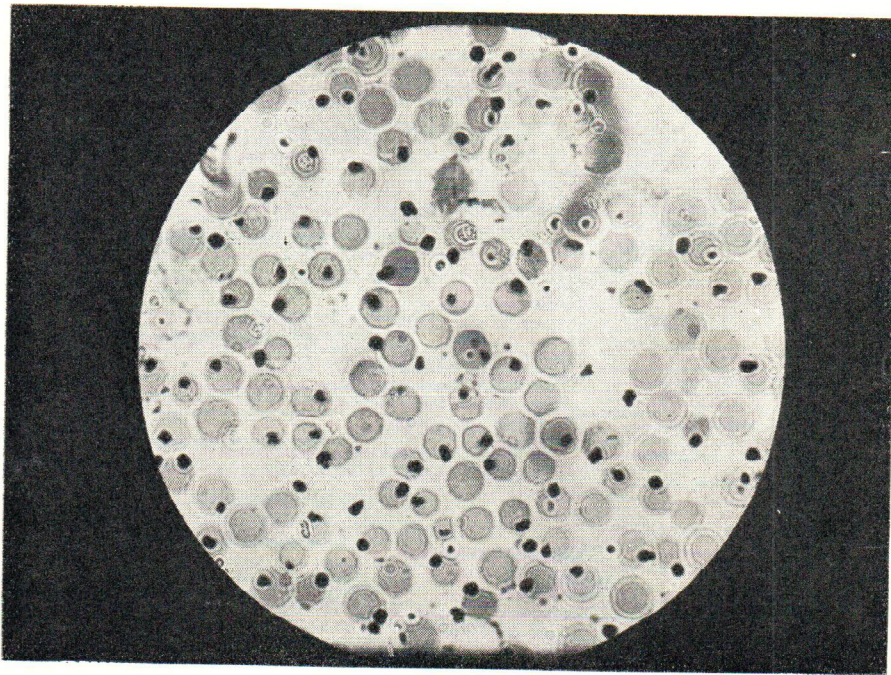
Sl. 5/2

*Sl. 5/1—2. Eritroblasti u kariomitozi s bazofilnim
punktacijama*

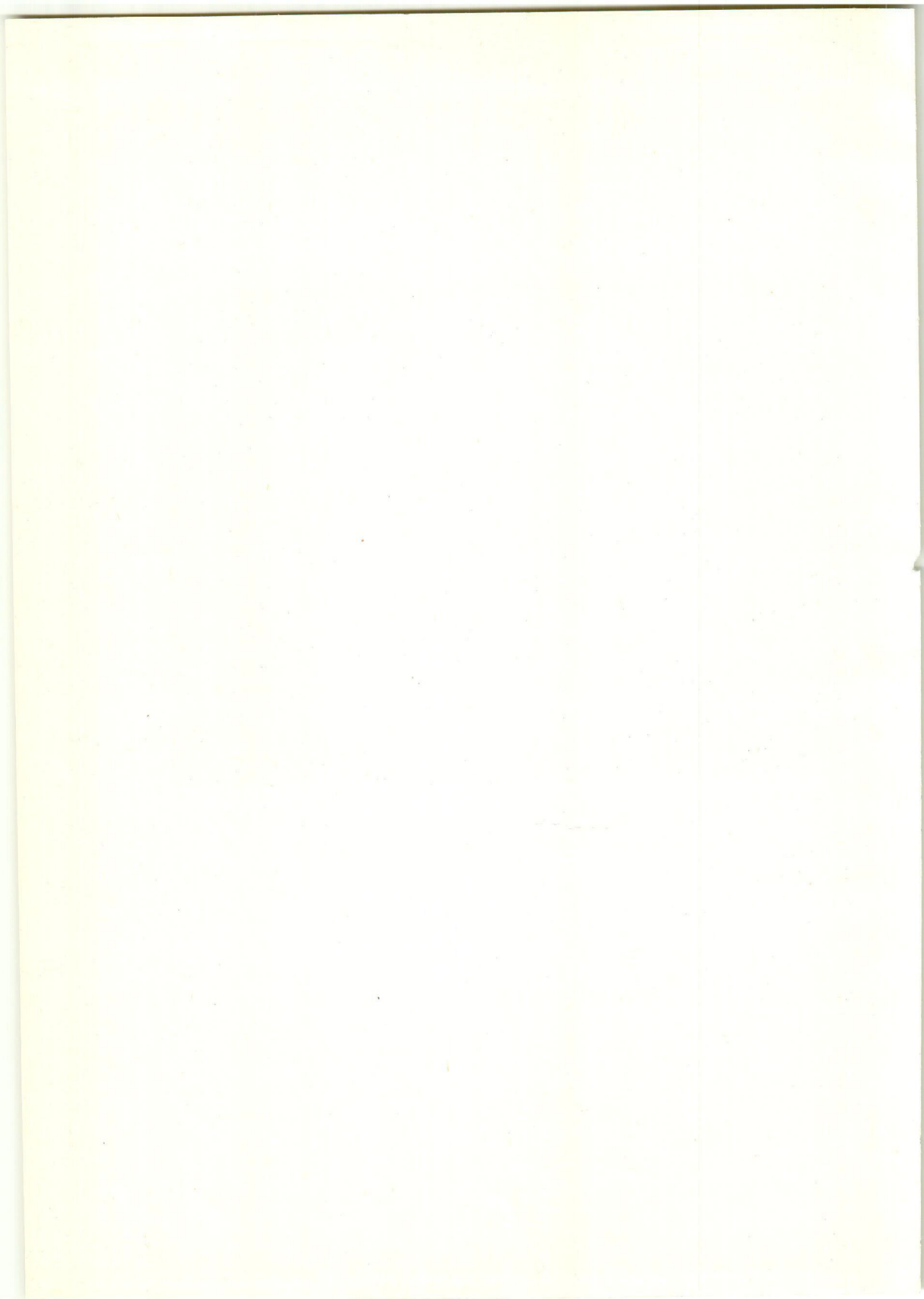
*Fig. 5/1—2. Erythroblasts with karyokinesis and
basophilic stippling*



Sl. 6. Heinzova tjelešca kod kliničkog otrovanja meta-dinitrobenzenom
Fig. 6. Heinz bodies in clinical m-dinitrobenzene poisoning



Sl. 7. Schmauchova tjelešca u eritrocitima zdrave mačke
Fig. 7. Schmauch's bodies in erythrocytes of normal cats



jagnozu saturnizma. Međutim, već je *Kopasz* (64), a kasnije i *Saita* (65) pokazao, da se brojni punktirani eritroblasti mogu naći u koštanoj srži ne samo kod perniciozne anemije nego i kod različitih patoloških stanja. Bazofilne punktacije u upadljivo velikom broju nađene su u novije vrijeme i kod različitih tipova hemolitičkih anemija (66, 67) i kod jedne hereditarne anomalije eritroblasta s poliploidijom a bez anemije (!) (68). I kod tih su stanja u koštanoj srži bilo brojnije bazofilne punktacije nego u perifernoj krvi. *Hauptmann* i ja (69) smo u najnovije vrijeme promatrali dva slučaja stečene hemolitičke anemije s velikim brojem bazofilno punktiranih eritrocita odnosno eritroblasta. Prema tome se može pretpostaviti, da postoji i jedan endogeni tip poremećene eritropoeze, koji se morfološki manifestira fenomenom bazofilnih punktacija. Točni mehanizam te »dishemopoieze« nije poznat, ali bi se o'rovanje olovom moglo smatrati takvom dishemopoiezom poznate etiologije.

Međutim, dok su kod različitih hematoloških oboljenja bazofilne punktacije općenito rijetke i samo izuzetno u velikom broju prisutne, dotle je kod o'rovanja olovom opravdan *Baaderov* zaključak (70): »nema o'rovanja olovom bez bazofilno punktiranih eritrocita«. Od ukupno 70 teških slučajeva o'rovanja olovom, koje sam promatrao i verificirao kemijskim određivanjem olova u krvi i porfirina u mokraći, kao i »k'lasičnim« kliničkim simptomima (olovni rub, kolike, artralgije, polineuritis, encefalopatija), nije bilo ni jednog slučaja, kod kojeg ne bi bilo bazofilnih punktacija u vrlo velikom broju (od 5000 na milijun do 51000 na milijun). Na temelju tog iskustva možemo danas zaključiti, da se kod bolesti popraćenih pojavom bazofilnih punktacija, pošto se isključe rijetke hemopatije, a postoje klinički simptomi saturnizma, može nalaz bazofilnih punktacija praktički upotrebiti za postavljanje dijagnoze o'rovanja olovom. Bazofilne punktacije eritrocita su najvažniji i najsigurniji element u dijagnostici saturnizma.

Međutim, nalaz bazofilno punktiranih eritrocita ima u industrijskoj toksikologiji ne samo dijagnostičko već i preventivno značenje. U tom je pogledu dragocjeno opažanje, da se bazofilne punktacije kod djelovanja olova javljaju i prije anemija (29, 43) ili kod neznatne anemije (9, 39, 62) kao i opažanje, da se javljaju već nekoliko sati nakon eksperimentalnog davanja olova ljudima (29) ili životinjama (43). Radnici, koji su izloženi profesionalnom utjecaju olova, mogu, naime, imati povećani broj bazofilno punktiranih eritrocita bez subjektivnih, objektivnih ili laboratorijskih znakova anemije, štoviše, nalaz bazofilno punktiranih eritrocita bez anemije upravo je karakterističan znak za djelovanje olova (62), budući da i druge, neolovne, anemije mogu, kako smo vidjeli, već same po sebi imati bazofilno punktirane eritrocite. Manjak subjektivnih simptoma, koji su vezani za anemiju, diferencira, osim toga, stanje t. zv. abnormalne apsorpcije olova prema kliničkom o'ro-

vanju. Prema tome se toksičko djelovanje olova može utvrditi kod klinički potpuno zdravih ljudi, odnosno radnika, dok još nesmetano vrše svoj redovni posao. Konačno, određivanje broja bazofilno punktiranih eritrocita je tehnički jednostavniji i brži laboratorijski postupak nego određivanje same crvene krvne slike, koja bez prisustva bazofilno punktiranih eritrocita još ne može otkriti opasnost toksičkog djelovanja olova. Zbog svega toga određivanje broja bazofilno punktiranih eritrocita, kao mjerilo profesionalne ekspozicije olovu, ima izvanredno toksikološko značenje u industrijskoj higijeni.

Određivanje broja bazofilno punktiranih eritrocita može poslužiti ne samo kao mjerilo individualne ekspozicije nego i kao mjerilo kolektivne ekspozicije pojedinih grupa radnika, koje su različito izvrgnute djelovanju olova. U jednom ekipnom terensko-istraživačkom radu, što sam ga izvršio s ostalim članovima Instituta za higijenu rada, bio je radni zadatak klasificirati radna mjesta prema stupnju radnog rizika te ispitati broj i stupanj ugroženih radnika u jednom rudniku i topionici olova. Radnike smo podijelili u dvije grupe, koje je trebalo među sobom i prema kontrolnoj grupi isporediti s obzirom na nalaz bazofilno punktiranih eritrocita. Prva grupa, nazvana topioničari (T), obuhvatila je 221 radnika kod visoke peći, kod električnog precipitatora, kod t. zv. mehaničkih ognjišta, u rafineriji olova, kod prženja olova i t. d. Druga grupa nazvana rudari (R), obuhvatila je 121 radnika u jami, kopača, vozača, minera, jamskih strojara, jamskih zidara, jamskih tesara i t. d. Treća kontrolna grupa, obuhvatila je 19 radnika iz drugog poduzeća, koji nisu bili u profesionalnom kontaktu s olovom. Kako vidimo iz priložene tablice, grupna razdioba bazofilno punktiranih eritrocita pokazuje jasno skretanje grupe topioničara. Iz statističke obrade rezultata izlazi, da je 32,4% pregledanih radnika iz topionice pokazivalo povišeni broj bazofilno punktiranih eritrocita iznad vrijednosti od 1000 na milijun, a to prema našim iskustvima (3) znači abnormalnu apsorpciju olova. U grupi rudara taj procenat iznosi 4,1 a u kontrolnoj grupi 0,0. Prema tim nalazima mogli smo zaključiti, da je grupa topioničara kao cjelina kudikamo više izvrgnuta toksičkom djelovanju olova nego grupa rudara.

U zaključku smatram, da je poznavanje mehanizma nastanka bazofilnih punktacija i patoloških stanja, kod kojih se javljaju ove tvorbe, prijeko potrebno za pravilno ocjenjivanje njihova značenja u kliničkoj toksikologiji saturnizma. Ma da u lancu hematoloških zbivanja kod otrovanja olovom još mnoga karika ostaje nepoznata i zagonetna, ipak se eritrocitne inkluzije, poznate pod nazivom »bazofilne punktacije«, mogu već korisno upotrebiti za dijagnozu i prevenciju ove najčešće profesionalne intoksikacije. Dalje proučavanje ovih inkluzija razjasnit će osim toga i mnoge nejasnoće u problemu endogenih poremetnja hematopoeze.

Bazofilno punktirani eritrociti na milijun eritrocita

	Broj			‰		
	T	R	K	T	R	K
0	31	57	12	14,0	47,1	63,2
Manje od 500	74	50	7	33,3	41,3	36,8
500-999	45	9	—	20,3	7,5	—
1000-1999	31	3	—	14	2,5	—
2000-2999	15	1	—	6,7	0,8	—
3000-3999	15	1	—	6,7	0,8	—
5000 i više	11	—	—	5,0	—	—
N	222	121	19	100	100	100

Srednje vrijednosti i standardna pogreška

	S	σ	σ_1
T	1224,1	1841.—	123,56
R	243,8	450.—	40,90
K	92,1	129.—	29,59

Retikulociti u promile vrijednosti

	Broj			‰		
	T	R	K	T	R	K
Manje od 1	116	98	16	52,5	81,0	84,2
1-1,4	68	18	3	30,8	14,9	15,8
1,5-1,9	23	3	—	10,4	2,5	—
2-2,4	9	1	—	4,1	0,8	—
2,5-2,9	3	1	—	1,3	0,8	—
3 i više	2	—	—	0,9	—	—
N	221	121	19	100	100	100

Srednje vrijednosti i standardna pogreška

	S	σ	σ_1
T	1,09	0,5484	0,0369
R	0,82	0,376	0,0342
K	0,75	0,2887	0,0662

2. *Heinzova tjelešca*

Morfološke, kromatološke i biološke karakteristike Heinzovih tjelešaca kao i njihov kemizam opisao sam u jednom od ranijih radova (1). Njihovo otkriće pripada u vrijeme, kad je čovjek stupio u profesionalni i terapijski kontakt s nizom novootkrivenih kemijskih spojeva, osobito iz grupe amino i nitro derivata benzola. Prema tome su Heinzova tjelešca kao simptom otrovanja već i historijski vezana na toksikološka istraživanja. Pošto je sintetiziran fenilhidrazin i njegovi derivati, proučavanje farmakoloških i toksikoloških svojstava tih spojeva pokazalo je, da većina ima destruktivno djelovanje na eritrocite, što se morfološki manifestira toksičkim promjenama na eritrocitima, poznatim danas pod skraćivim imenom Heinzova tjelešca. Te inkluzije u eritrocitima prvi je opazio *Riess* (2) 1882. g. kod kliničkog otrovanja kalijevim kloratom, ali ih je prvi točno opisao farmakolog *Heinz* (3), koji ih je u velikom broju eritrocita našao kod kunića eksperimentalno otrovanih fenilhidrazinom, a kasnije i kod pasa i mačaka otrovanih sličnim kemijskim spojevima. Otad do danas je u čitavoj svjetskoj literaturi objavljeno svega 29 radova (2–28) iz kliničke kazuistike otrovanja, kod kojih su opažena Heinzova tjelešca (tablica 1).

Donedavno se mislilo, da Heinzova tjelešca nastaju isključivo djelovanjem egzogene kemijske tvari, pa bi tako izazvana toksička stanja bila tipičan primjer tzv. bolesti, što ih stvara sam čovjek («man-made disease»). Međutim, čini se, da postoji i endogeno stvaranje tih eritrocitnih inkluzija. Već je *Ehrlich* (29) spomenuo te tvorbe kod anemija bez označenog egzogenog uzroka, a danas se tvrdi, da Heinzova tjelešca mogu nastati kod kronične mijeloične leukemije (7, 30) i kod hereditarne hemolitičke anemije (*Jürgens* i *Schürer*) (31). Spontano nastajanje Heinzovih tjelešaca opisano je kod nedonošene djece (32), zatim kod novorođenčadi sa slabom funkcijom slezene (19, 33) te kod ageneze slezene (34). Nedavno je *Cathie* (35) opisao slučaj hemolitičke anemije s Heinzovim tjelešcima kod dojenčeta, kod kojega te inkluzije persistiraju u velikom broju i nakon splenektomije. Konačno *Freifeld* i suradnici (9) i *Jung* (20) napominju, da se i u normalnoj krvi odraslih ljudi mogu pojaviti spontano Heinzova tjelešca. Prvi autori (9) dovode tu pojavu u vezu s enterogenom autointoksikacijom.

Toksikološka istraživanja o pojavi Heinzovih tjelešaca vršena su s velikim brojem otrova na različitim specijesima pokusnih životinja. Koliko je zanimanje za te tvorbe poraslo u posljednje vrijeme, vidi se po tome, što je velika većina radova objavljena u prošlih 15 godina (tablica 2). Istraživanja su vršena s jedne strane u cilju, da se prouče toksikološka svojstva neke kemijske supstancije, pri čemu je pojava Heinzovih tjelešaca služila kao test toksičkog djelovanja supstancije, a s druge strane su vršena u cilju proučavanja mehanizma nastajanja tih eritrocitnih inkluzija, pri čemu su upotrebljene toksičke supstancije služile kao izazivači tvorba. Supstancije, koje su uzrokovale kliničku pojavu

Tablica 1.

Pregled kliničke kazuistike otrovanja s nalazom Heinzovih tjelešaca

Autor	Godina	Otrov
Riess (2)	1882, 1908	kalijev klorat
Heinz (3)	1890	acetilfenilhidrazin (pirodin)
Ehlich i Lindenthal (4)	1896	nitrobenzen
Huber (5)	1912	kalijev klorat
Schilling (6)	1927	acetanilid (antifebrin), anilin
Zadek i Burg (7)	1930	anilin
Genkin i Raschewskaja (8)	1933	anilin
Freifeld, Schilova i Ludvinowsky (9)	1937	anilin, dinitrobenzen i dinitrotoluen
Ungricht (10)	1938	acetilfenilhidrazin, fenilsemikarbazid, nitroglicerol
Moeschlin (11)	1940	sulfapiridin
Rohr (12)	1940	nitrobenzen
Docring (13)	1941	dimetildiaminodifenilsulfon
Dustin (14)	1941	kolhicin
Willi (15)	1942	guajakol (monometileter breznkatehina)
Markoff (16)	1943	sulfonamidi
Sievers (17)	1945	trinitrotoluen
Fertman i Doan (18)	1945	eritrotetranitrat
Willi (19)	1947	sulfanilamino-dimetil-pirimidin (Elkosin)
Jung (20)	1947	dinitrobenzen
Jasinski (21)	1948	anilin
Zuelzer i Apt (22)	1949	naftalin
Redeck i Weschhaus (23)	1952	anilin
Hughes i Treen (24)	1954	anilinski spojevi
Friedrich (25)	1954	fenotiazin
Fischer (26)	1955	gantrisin (dimetil-sulfanil-amido- izoksazol), lizol (krezol)
Beritić (27)	1956	dinitrobenzen
Davies (28)	1956	kalijev klorat

Heinzovih tjelešaca, odnosno supstancije, kojima je uspjele izazvati Heinzova tjelešca kod pokusnih životinja možemo, prema *Fertmanu* i *Fertmanu* (36) podijeliti u 6 grupa:

I. grupa

Aromatski amini

Anilin	Tolilhidroksilamin
Toluidin	Acetanilid
Ksilidin	Fenacetin
Para-aminfenol	Fenilendiamin
Para-aminobenzojeva kiselina	Toluilendiamin
Etilam'nobenzoat	Fenilhidrazin i njegovi derivati
Fenilhidroksilamin	Para-acetilamino-benzal-tiosemi-
Sulfonamidi	karbazon (konteben)

II. grupa

Aromatski nitro-spojevi

Nitrobenzen	Trinitrobenzen
Nitrotoluen	Trinitrotoluen
Dinitrobenzen	Meta-nitroanilin
Dinitrotoluen	Para-nitroanilin
D'nitroksilen	Mononitrotolil-hidroksilamin
Dinitrotolil-hidroksilamin	

III. grupa

Kompleksni aromatski amino-spojevi

Sulfat nilskog modrila	Feno'iazin
Metilensko modrilo	Kolhicin
Azo-spojevi	

IV. grupa

Alifatski i heterociklički spojevi, koji sadržavaju dušika

Etil nitrat	Manitol heksanitrat
Glikol nitrat	Aloksan
Nitroglicerol	D'alurična kiselina
Eritrol tetranitrat	Aloksantin

V. grupa

Organski spojevi bez dušika

Guajakol	Naftalin
Pirogalol	Askorbinska kiselina (in vitro)
Diklorfenol (in vitro)	Saponin

VI. grupa

Anorganski spojevi

Hidroksilamin	Natrijev sulfit
Natrijev azid (in vitro)	Natrijev metasulfit
Natrijev nitrat	Dikromati
Natrijev nitrit	Arsenovodik
Klorati	Stibin

Kod pokusa na životinjama opaženo je (37), da postoje razlike prema specijesu pokusne životinje s obzirom na nastajanje Heinzovih tjelešaca. Kod kanarinca se metilenskim modrilom ne mogu izazvati te tvorbe (38). Kod kunića je mnogo teže izazvati Heinzova tjelešca nego kod mačke.

Tablica 2.

Pregled eksperimentalnih otrovanja kod životinja s nalazom Heinzovih tjelešaca

Autor	Godina	Species	Otrov
Heinz (47, 48)	1890-1901	kunić	anilin, toluidin, p-aminofenol, etilamino-benzoat, fenilhidroskilamin, tolulien-diamin, fenilhidrazin i derivati, nitrobenzen, dinitrobenzen, hidroksilamin
Huber (49)	1891	kunić	hidroksilamin
Schmauch (46)	1899	kunić	fenilhidrazin
Schwalbe i Solley (50)	1902	kunić, zamorac i pas	toluilendiamin
Von Domarus (51)	1908	kunić	fenilhidrazin, pirogal
Itami i Pratt (52)	1909	kunić	fenilhidrazin
Hess i Müller (53)	1913	štakor	acetilfenilhidrazin
Deutsch (54)	1928	mačka	toluilendiamin s acetil-fenilhidrazinom
Gutstein i Walbach (55)	1928	kunić, miš	toluilendiamin s acetil-fenilhidrazinom, sulfat nilskog modrila
Strampelli (56)	1930	kunić	fenilhidrazin
Hueper (57)	1936	štakor	acetilfenilhidrazin
Moeschlin (58)	1941	miš	natrijev nitrit
Richardson (59)	1941	miš	sulfonamidi, natrijev nitrit
Bredow i Jung (60)	1942	mačka	nitrobenzen, nitrotoluen, dinitrobenzen, dinitro- toluen, dinitroksilen, trinitrobenzen, trinitro- toluen
Gross et al. (61)	1942	mačka	dinitroglikol, nitro- glicerin
Pulina (62)	1942	mačka	etilnitrat, natrijev nitrat
Wilhelmi (40)	1942	mačka	etilnitrat, dinitroglikol, nitroglicerin
Willi (15)	1942	miš	guajakol
Kiese i Seipelt (63)	1943	pas, štakor	fenacetin, toluilendiamin, sulfonamidi, dinitro- benzen, dinitroglikol, klorati
Schlimme (64)	1943	mačka	fenilhidroksilamin, tolilhidroksilamin
v. Oettingen et al. (65)	1944	pas	trinitrotoluen

Autor	Godina	Species	Otrov
Fertman i Doan (18)	1945	mačka	eritroltetranitrat, manitol heksanitrat, natrijev nitrit
Figge (66)	1946	miš	sulfonamidi
Bock (38)	1947	miš, štakor, zamorac, kunić, mačka, pas	metilensko modrilo
Cruz i Pimenta de Mello (67)	1947	kunić, majmun, zamorac	kriogenin i srodni spojevi
Haas (68)	1947	mačka	tolilhidroksilamin, mononitrotolil-hidroksilamin, dinitrotolil-hidroksilamin
Lambrechts et al. (69)	1947	miš,	sulfonamidi
v. Oetingen et al. (70)	1947	mačka, miš, pas, majmun,	ksilidin
Rejsek (71)	1947	kunić	dinitrobenzen
Roubal (72)	1948	pas	nitrobenzen, dinitrobenzen, trinitrooluen, meta-nitroanilin
Spicer et al. (45)	1948	mačka	boje (vjerojatno paranitroanilin)
Spicer (73)	1949	mačka	ksilidin, ksilidin sa p-aminobenzojevom kselinom, p-aminobenzojeva kiselina
Treon et al. (74)	1949	mačka, kunić	ksilini, toluidin
Spicer i Thompson (75)	1949	mačka	anilin s metilenskim modrilom, metilensko modrilo
Webster et al. (76)	1949	miš	saponin, hidroksilamin, arsenovodik, st bin, natrijev nitrat, natrijev nitrit, natrijev sulfit, klorati
Zuelzer et al. (22)	1949	pas	naftalin
Braunsteiner et al. (77)	1950	miš	sulfonamidi
Heubner i Jung (78)	1951	pas, mačka, miš, kunić	fenilendiamin, toluidendiamin, anilin, kriogenin, dinitrobenzen
Merlini (79)	1951	pas, štakor, kunić, zamorac, pile, golub	aloksan s askorbinskom kiselinom, d alurična kiselina, aloksantin
Rigdon i Breslin (80)	1951	majmun	kriogenin
White et al. (81)	1951	nenaznač.	acetilfenilhidrazin

Autor	Godina	Species	Otrov
Siebenmann i Zubrys (82)	1952	miš	para-acetilamino-benzal-tio-emikarbazon (konte-bcn), fenotiazin
Rosza i Spicer (44)	1953	mačka	anilin
Wingler (83)	1953	mačka	azo-derivati
Stahl i Jung (42)	1953	mačka	fenilendiamin, toluilen-diamin
Treon et al. (43)	1955	mačka, kunić, zamorac, štakor, miš	amilni nitrat

Isti otrov, na primjer, kod miševa treba 4 dana da izazove Heinzova tjelešca, a kod mačaka tek 20 minuta (MOESCHLIN, 39; WILHELMI, 40). Eritrol-tetranitrat u subletalnoj dozi ne izaziva kod kunića ni kod majmuna Heinzova tjelešca uopće, dok i mnogo manja doza uzrokuje jak porast tih tvorba kod mačke (FERTMAN i DOAN, 41). Djelovanjem fenilendiamina i toluilendiamina pojave se već nakon nekoliko sati Heinzova tjelešca kod mačke u velikom broju, sporije i manje kod pasa, dok se kod kunića i zamoraca uopće ne pojave (42). Slična su opažanja objavili Treon et al. 1955. g. (43) proučavajući toksičnost amilnitrita na mačkama, zamorcima, kunićima, štakorima i miševima. Zbog toga se kod mnogih eksperimentalnih izazivanja Heinzovih tjelešaca uzima vrlo često mačka kao pokusna životinja. Međutim, kod mačke mogu te tvorbe biti prisutne i »fiziološki«, a to, dakako, otežava pravilno prosuđivanje eksperimentalnih rezultata kod izazivanja tih tvorba. Unatoč tome, kako sam već prije istaknuo (1), ta je činjenica malo poznata i nedovoljno proučena, pa je neki autori u svojim eksperimentima na mačkama čak ni ne spominju (43, 44, 45). Začudo, ni Jung (20), jedan od najboljih poznavalaca pojave Heinzovih tjelešaca, ne obraća toj činjenici dovoljno pažnje. Kod mačke se, kaže Jung, »kao i kod zdravog čovjeka« nađu te inkluzije »u vrlo malom procentu«, a samo ih je »u jednom neobjašnjem slučaju« našao čak i u 80% mačkinih eritrocita. Zbog toga sam poduzeo ispitivanja o endogenoj pojavi Heinzovih tjelešaca kod mačke. Smatram, naime, da je to ne samo prijeko potrebno za procjenjivanje rezultata eksperimentalnih otrovanja kod mačaka, već i za upoznavanje bioloških karakteristika »endogenih« inkluzija.

Otkako je Schmauch 1899. prvi opazio i opširno i detaljno opisao (46) endoglobularna tjelešca kod mačaka, vrlo rijetko se o toj pojavi pisalo u eksperimentalnoj medicini. U veterinarskoj literaturi, koja mi je bila pristupačna, našao sam samo nekoliko radova o eritrocitnim inkluzijama, koje se u veterinarskoj medicini nazivlju Schmauchovim tjelešcima (tablica 3). Podaci o broju odnosno približnom nalazu tih tvorba kod zdravih (neotrovanih) mačaka sabrani su u tablici 3.

Tablica 3.

Broj eritrocita sa Schmauchovim tjelešcima kod mačaka prema podacima iz literature

Autor	Godina	Broj ispitanih životinja	% E sa Schmauchovim tjelešcima	Metoda bojanja
Schmauch (46)	1899	15	1—80	metilviolet
Natscheff (97)	1931	13	0,2—85	brilijant-krezilno modrilo
Freifeld et al. (9)	1937	neoznačen	veći kod odraslih mačaka	sulfat nilskog modrila
Hofbauer (98)	1937	22	0,1—71,4	brilijant-krezilno modrilo
Wirth i Schratt (99)	1937	2	27,9 i 78,6	„
Ottawa (100)	1938	10	0,4—3,8	„
Gross et al. (61)	1942/43	neoznačen	10—30	sulfat nilskog modrila
Jung (20)	1946/47	neoznačen	samo pojedinačno (kod jedne mačke 80%)	neoznačena
Bock (38)	1947	neoznačen	cca 20	sulfat nilskog modrila
Fertman i Doan (41)	1948	neoznačen	veći kod starih mačaka	brilijant-krezilno modrilo
Wirth (85)	1950	neoznačen	0,1—71,4	neoznačena

Tolweth i ja (84) smo kod velikog broja mačaka (63 životinje) našli, da se procenat eritrocita, koji sadržavaju Schmauchova tjelešca, kreće između 0,3 i 96,1 (tablica 4). Kako se vidi iz tablice, nešto više od polovice svih ispitanih životinja imalo je te tvorbe u manje od 10% eritrocita, ali su praktički sve ostale životinje imale preko 10% eritro-

Tablica 4.

Broj eritrocita sa Schmauchovim tjelešcima kod 63 zdrave mačke

Procenat eritrocita s inkluzijama	Broj životinja	Procenat životinja
manje od 1	1	1,6
1—9	33	52,6
10—19	11	17,5
20—29	8	12,7
30—39	4	6,4
40—49	3	4,5
50—59	0	0,0
60—69	1	1,6
70—79	1	1,6
80—89	0	0,0
90—99	1	1,6
N	63	100,0

cita sa Schmauchovim tjelešcima. Samo je jedna životinja imala ispod 1%, a tri životinje su imale iznad 50% Schmauchovih tjelešaca. (Sl. 7). Naši se rezultati, dakle, slažu s većinom naprijed navedenih rezultata, ali su točniji s obzirom na mnogo veći broj ispitanih životinja.

Pitanje mehanizma nastajanja Schmauchovih tjelešaca kod mačaka ostalo je gotovo sasvim neistraženo. Sam *Schmauch* je smatrao, da su te endoglobularne tvorbe posljedica djelovanja endogenih toksina iz crijeva životinja. Neki autori, prema navodu *Wirtha* (86), dovode te tvorbe u vezu s nedovoljnom funkcijom slezene. *Freifeld* i suradnici (9) tvrde, da ih je kod mladih mačaka malo, a da svaka odrasla mačka ima te tvorbe, da Schmauchova tjelešca nisu nikad našli kod novorođenih mačaka; *Fertman* i *Doan* (41) ističu, da stare životinje imaju Schmauchova tjelešca.

Odabirući mačke za naša ispitivanja uzimali smo samo životinje, kojih smo starost znali prema navodima vlasnika. Prema podacima iznesenima u tablici 5 možemo zaključiti, da ne će vjerojatno biti točan navod, da novorođene mačke nemaju Schmauchovih tjelešaca. Iz tablice se vidi, da ih kod mladih mačaka (do jedne godine starosti) uvijek ima, pa i u vrlo velikom broju. Uostalom u našem materijalu nije bilo ni jedne životinje, koja ne bi imala Schmauchovih tjelešaca.

Tablica 5.

Procenat eritrocita sa Schmauchovim tjelešcima prema starosti mačaka

Starost	Broj ispitanih životinja	Nalaz u procentu	
		Od — do	prosjek
2 dana	9	2,2—6,3	4,4
4—7 tjedana	12	0,3—96,1	13,6
2—8 mjeseci	16	2,2—49,6	22,6
1 godina	12	5,3—70,2	20,3
2 godine	4	6,2—7,9	7,4
3—4 godine	4	10,3—36,4	20,7
5—8 godina	4	2,6—69,6	20,2
preko 10 godina	2	3,6—9,1	6,3

Mi smo kod 4 životinje izvršili splenektomiju. Brojanjem eritrocita sa Schmauchovim tjelešcima prije i poslije splenektomije mogli smo utvrditi, da splenektomija uopće ne utječe na pojavu Schmauchovih tjelešaca. Štoviše, mi smo kod dvije životinje za vrijeme operacije uzimali krv iz vene odnosno arterije linealis i utvrdili smo, da nema razlike u broju inkluzija između venske i arterijske krvi. Dalja istraživanja o pojavi Schmauchovih tjelešaca kod mačaka su u toku.

Da su Schmauchova endogena tjelešca identična s Heinzovim tjelešcima zaključujem po potpuno jednakom ponašanju obiju inkluzija prema metodama prikazivanja (jednaka slika u faznoj optici, jednak afinitet prema bojama, iščezavanje obiju vrsta tvorbi nakon fiksiranja etilnim ili metilnim alkoholom). Za njihov identitet govori osim toga i činjenica, da se egzogeno izazvana tjelešca kod iste životinje većinom morfološki ne mogu razlikovati od već prisutnih endogenih tjelešaca. Prema tome je, dakle, od odlučne važnosti poznavanje Schmauchovih tjelešaca u eksperimentalnoj toksikologiji.

Razlike u pojavi Heinzovih tjelešaca postoje i kod kliničkih otrovanja. Na tu je činjenicu ukazao *Markoff* 1943. g. (16) kod terapije sulfonamidina. *Reiner* je 1950. g. (86) opisao slučaj kliničke upotrebe sulfatijazola, kod koje je došlo do pojave brojnih Heinzovih tjelešaca, što je inače velika rijetkost s obzirom na široku upotrebu tog relativno netoksičkog spoja. Ja sam nedavno objavio slučaj otrovanja metadinitrobenzenom kod dviju radnica s istog radnog mjesta (27). Nakon jednake ekspozicije otrovu i uz gotovo jednaku kliničku sliku (metemoglobinemija, oštećenje jetre) kod jedne je radnice nađen visok procenat Heinzovih tjelešaca (38%) (Sl. 6), dok se kod druge nisu u čitavom toku bolesti uopće pojavile te tvorbe.

Za razliku od bazofilnih punktacija Heinzova tjelešca nastaju isključivo u perifernoj krvi (87), pa se mogu i in vitro izazvati djelovanjem različitih otrova. *Lewin* (1) je i prije Heinzova opisa promatrao stvaranje inkluzija u eritrocitima pod djelovanjem hidroksilamina in vitro. Kasnije su i mnogi drugi autori opisali nastajanje tih tvorbi in vitro

(14, 22, 39, 76, 88, 89, 90, 91, 92, 93). Prema opisima rezultata raznih autora može se zaključiti, da broj, veličina i lokalizacija tvorbi zavise o nizu eksperimentalnih uvjeta (kemijska struktura, koncentracija otrova, pH otopine, vrijeme djelovanja, temperatura, prisutnost zraka, prisutnost krvne plazme i t. d.). Povećavanjem koncentracije fenilhidrazina našao sam također (1), da nastaju sve sitnije i mnogobrojnije tvorbe, dok hidroksilamin ni u mnogo jačim koncentracijama ne izaziva tako sitna tjelešca. Ove morfološke varijacije naročito je detaljno proučavao *Jung* (20) upotrebom elektronskog mikroskopa. Na temelju promatranja morfoloških zbivanja *Jung* je došao do zaključka, da Heinzova tjelešca nisu jedinstvene tvorbe, budući da su ona, već prema vrsti i trajanju otrovanja, vrlo različitog oblika i lokalizacije. Zbog toga *Jung* i izbjegava naziv »Heinzova tjelešca«, jer se katkada uopće i ne radi o distinktnim, kompaktnim solitarnim ili multiplim »tjelešcima«, već samo o vrlo sitnim, nejednakim zrcima, često vidljivim tek elektronskim mikroskopom. I *Nizet* (94) je istog mišljenja, pa predlaže za te sitne tvorbe naziv »Heinzove granulacije«. Toksička oštećenja eritrocita *Jung* dijeli prema tipu djelovanju nekog otrova u 4 grupe, između kojih, dakako, nema oštrih granica. Kod djelovanja kalijeva klorata ili arsenovodika, na primjer, nastale se tvorbe sastoje uglavnom od denaturiranog hemoglobina. Proces denaturacije je u tom slučaju difuzan i izoliran. Kod fenilhidrazina se također radi o denaturaciji i obaranju hemoglobina, ali proces zahvaća nekoliko »centara koagulacije«, t. j. mjesta početnog stvaranja tvorbi. Djelovanjem dinitrobenzena nastaje pretežno difuzno i izolirano obaranje stromatina, dok se kod fenilendiamina radi o denaturaciji stromatina iz jednog ili više centara koagulacije.

Individualne razlike mogu se opaziti i kod djelovanja istog otrova in vitro na ljudsku krv raznih osoba (39). Ta je činjenica u najnovije vrijeme vrlo korisno upotrebljena za testiranje preosjetljivosti prema primakinu (8-aminokinolin) u kemoterapiji malarije. *Hochwald* i suradnici (95) i *Dern* i suradnici (96) su, naime, opazili, da se kod liječenja primakinom kod izvjesnog broja osjetljivih ljudi može pojaviti akutna hemoitička anemija. Ovi posljednji autori su pokazali, da se ta neobična osjetljivost ima pripisati »nekom unu'arnjem defektu eritrocita«. Kasnije su isti autori utvrdili, da su ti eritrociti osjetljivi ne samo prema primakinu već i na niz drugih spojeva, za koje znamo da izazivaju Heinzova tjelešca (fenilhidrazin, acetanilid, fenacetin, sulfanilamid i t. d.). Osobe, kojih su eritrociti osjetljivi, čine jasno odijeljenu grupu ljudi, jer gradacija u osjetljivosti gotovo i nema. U eritrocitima osjetljivih osoba stvara se in vivo i in vitro mnogo veći broj Heinzovih tjelešaca pod djelovanjem primakina nego u eritrocitima neosjetljivih osoba. Na temelju tog opažanja su *Beutler* i suradnici (101) izradili jednostavni laboratorijski test, kojim se u krvi in vitro pomoću acetilfenilhidrazina određuje osjetljivost na primakin kod osoba, koje će se podvrgnuti liječenju malarije. Kod osjetljivih osoba se tako može predskazati hemoitičko djelovanje primakina.

Heinzova tjelešca imaju, dakle, veliku vrijednost u kliničkoj i eksperimentalnoj toksikologiji. Ona imaju direktno dijagnostičko značenje, jer upućuju na djelovanje nekog egzogenog hemolitičkog otrova. Ona imaju i preventivno značenje, jer njihova pojava, prije ostalih simptoma otrovanja ili u testiranoj krvi in vitro, služi kao znak opasnosti i preosjetljivosti.

3. Siderotičke granulacije

Prisutnost željeza u hemoglobinu ne može se otkriti histokemijski, pa eritrociti zdrava odrasla čovjeka daju negativnu reakciju berlinskog modrila (1). Međutim, *Grüneberg* je 1941. g. (2) pokazao, da se u embrionalnoj krvi zdravih štakora, miševa i ljudi mogu pojedinačno pojaviti eritrociti, koji uz hemoglobin sadržavaju i slobodno ili »lako od-cjepljivo« željezo. To se željezo može prikazati pomoću reakcije berlinskog modrila. Eritrocite, što sadržavaju željezo u tom obliku, nazvao je *Grüneberg* »siderociti«. Kasnije (1942 i 1943) je *Grüneberg* našao (3) siderocite u vrlo velikom broju u krvi miševa oboljelih od prolaznog oblika anemije, vezane na recesivni »gen za zavijeni rep i za mrlju na trbuhu«. Stupanj anemije kod tih životinja bio je u direktnom omjeru s procentom siderocita. Istražujući ovu zanimljivu pojavu *Grüneberg* je dalje tragao za stanjima u humanoj patologiji, kod kojih bi se mogli naći siderociti u većem broju. Tako su *Doniach*, *Grüneberg* i *Pearson* 1943. g. opisali (1) pojavu siderocita kod bolesnika s bilijarnom cirozom jetre, koji je bio splenektomiran, zatim kod četiri bolesnika, koji su bili splenektomirani zbog anemije, trombocitopenične purpore ili traumatske rupture slezene, te konačno kod dva bolesnika, koji su bolovali od kronične uremije. Pojava siderocita protumačena je kao znak »neke griješke u metabolizmu željeza«. Proučavanjem diferencijalnih karakteristika siderotičke supstancije autori su ukazali na razlike prema hemosiderinu, koji se može vidjeti u obliku zlatnožutih zrnaca i u nativnom razmazu, a koji, uostalom, nikad nije bio opažen u intaktnom eritocitu. Za razliku od bazofilnih punktacija i Howell-Jollyjevih tjelešaca, siderociti se mogu lako naći i bez bojadisanja bazičkim bojama. Ubrzo nakon ovih radova *Grüneberg*a i njegovih suradnika opisali su u SAD *Pappenheimer* i suradnici (4) pojavu eritrocitnih inkluzija kod tri bolesnika s anemijom, što je persistirala i nakon splenektomije. Kod dva od tih bolesnika anemija je bila hemolitičkog tipa, a kod jednog »neodređenog tipa«. Za razliku od *Grüneberg*ovih siderotičkih granulacija, *Pappenheimer*ove inkluzije u eritrocitima su se bojadisale ne samo specifičnom reakcijom na željezo već i bojama Romanowskoga, t. j. mogle su se prikazati i u razmazu bojadisanom po Giemsi. Slijedeći opažanja *Pappenheimera* i suradnika *Dacie* i *Doniach* (5) su također pokazali, da siderociti mogu imati svojstva bazofilnih punktacija, t. j. da pokazuju

bazofilni kromafinitet, kad se bojadišu metilenskim modrilom ili jednom od metoda bojadisanja Romanowskoga. Oni razlikuju »difuznu točkastu bazofiliju« od bazofilnih punktacija: ta difuzna točkasta bazofilija daje negativnu reakciju berlinskog modrila isto tako kao što na pr. Howell-Jollyjeva tjelešca daju negativnu reakciju na željezo. Siderotička zrnca su bila prisutna i u eritroblastima koštane srži. Iste godine su *McFadzean* i *Davis* (6) u opširnoj studiji iznijeli opažanja kod 7 slučajeva stečene idiopatske hemolitičke anemije. Prije splenektomije, koja je bila izvršena kod 6 bolesnika, sidero-pozitivne inkluzije su bile vrlo brojne u koštanoj srži, ali relativno oskudne u perifernoj krvi. Nakon splenektomije su zrnca, pozitivna na željezo, bila u jednakoj množini nađena u srži, ali je u perifernoj krvi nastao nagli porast tih inkluzija, paralelno s porastom sveukupnog broja eritrocita. Taj porast siderocita autori tumače manjkom slezene, koja je po njihovu mišljenju vjerojatno vršila odstranjivanje siderocita iz periferne cirkulacije. Sidero-pozitivne inkluzije u eritrocitima su opazili kod drugih hematoloških poremećenja, ali ni kod jednog stanja u toj množini kao kod stečene idiopatske hemolitičke anemije. Granulacije, što ih opisuju *McFadzean* i *Davis*, su se bojadisale vrlo dobro i bojama Romanowskoga, zbog čega ih autori nazivaju Pappenheimerovim tjelešcima. Kako su multipla »Pappenheimerova« zrnca, vidljiva bojadisanjem po Giemsi, plavkasto-ljubičasta pa prema tome vrlo slična bazofilnim punktacijama, koje se vide kod otrovanja olovom, autori su promatrali odnos bazofilnih punktacija kod kliničkog i eksperimentalnog otrovanja olovom prema siderotičkim granulacijama. Našli su, da su grublje punktacije kod otrovanja olovom često pokazivale pozitivnu reakciju na željezo, dok su manja granula većinom bila negativna na željezo. Kasnije su isti autori (7) još posebno proučavali taj odnos pa su utvrdili, da kod kliničkog otrovanja olovom samo jedan dio bazofilnih punktacija u eritrocitima periferne krvi daje pozitivnu reakciju na željezo. Broj bazofilno punktiranih eritrocita u preparatima bojadisanim po Leishmanu (Giemsi) bio je otprilike dvostruko veći od broja siderocita prikazanih reakcijom berlinskog modrila. Što je intoksikacija olovom bila teža, a bazofilne punktacije grublje, to je i veći procenat tih punktacija davao pozitivnu reakciju na željezo. Grube granulacije u normoblastima u perifernoj krvi, koje su bile smještene uz samu jezgru, redovno su bile pozitivne na željezo. U razmazima koštane srži sidero-pozitivna tjelešca su sadržavali normoblasti, eritrociti i fagociti. Za razliku od odnosa eritrocita s bazofilnim punktacijama i siderocita u perifernoj krvi, eritroblasti sa siderotičkim granulacijama su bili brojčano jednako zastupljeni u koštanoj srži kao i eritroblasti s bazofilnim punktacijama. Dekoloriranjem bazofilno punktiranih eritroblasta u razmazu bojadisanom po Leishmanu i naknadnom primjenom reakcije berlinskog modrila autori su utvrdili, da su bazofilne punktacije dijelom pozitivne na željezo. Prema tim bi se opažanjima, dakle, bazofilne punktacije, s obzirom na reakciju na željezo, mogle podijeliti u dvije grupe: u bazofilne punktacije, koje daju pozitivnu reakciju na

željezo, i u one, koje daju negativnu reakciju na željezo. Međutim, ističu autori, granulacije, koje se dotiču jezgre, uvijek su pozitivne na željezo, a one, koje su razasute po citoplazmi stanice, samo djelomično. Ispoređujući siderotičke granulacije kod stečenih hemolitičkih anemija sa siderotičkim granulacijama kod otrovanja olovom autori zaključuju, da se kod oba stanja radi vjerojatno o sličnom defektu u sintezi hemoglobina. Siderotičke granulacije, što se u velikom broju mogu naći u koštanoj srži kod otrovanja olovom, bile bi, prema tome, morfološki dokaz valjanosti hipoteze, da se kod otrovanja olovom radi o spriječenju ugradnji željeza u porfirinski prsten. Konačno, autori su našli, da kod životinja, koje su bile splenektomirane i naknadno otrovane olovom, broj siderocita u perifernoj krvi naglo raste i ostaje visok za čitavo vrijeme djelovanja olova pa zaključuju, da se i kod otrovanja olovom kao i kod hemolitičkih anemija smanjenje sveukupnog broja eritrocita ima pripisati eliminatornoj funkciji slezene, koja odstranjujući defektne eritrocite snizuje istovremeno i sveukupni broj eritrocita.

Radovi *McFadzeana* i *Davisa* pokazali su, dakle, da se kod otrovanja olovom, kao i kod drugih krvnih bolesti, mogu pojaviti u velikom broju siderotičke granulacije. Dalja klinička i eksperimentalna istraživanja su potvrdila ta opažanja. Tako je *Pirrie* (14) eksperimentalnim otrovanjem olovom pokazao, da su i bazofilne punktacije i siderocitne granulacije manifestacija dishemopoieze kod otrovanja olovom. *Kaplan* i suradnici (8) su nedavno vidjeli kod 8 djece otrovane olovom, da eritroblasti u vrlo visokom procentu sadržavaju siderotičke granulacije, koje su ne samo brojne u pojedinim stanicama nego i po veličini istaknute.

Budući da smo (BERIĆ, HAHN, HAUPTMANN, KELLER, 9) već prije četiri godine ukazali na činjenicu, da je metabolizam željeza kod trovanja olovom poremećen u smislu povećanja serumskog željeza, a kako su siderotičke granulacije kao eritrocitne inkluzije od naročitog značenja za toksikološka istraživanja, smatrali smo potrebnim proučiti ovu pojavu kod kliničkog otrovanja olovom. *Grgić, Širec i ja* (10) smo promatrali broj eritroblasta sa siderotičkim granulacijama u koštanoj srži bolesnika otrovanih olovom. Kod pet slučajeva kliničkog otrovanja našli smo, da se procenat eritroblasta sa siderotičkim granulacijama kreće između 75-95%. Naročito nas je zanimao morfološki izgled ovih inkluzija i njihov odnos prema bazofilno punktiranim eritrocitima. Mi smo upotrebili tehniku bojadisanja, koju preporučuje *Dacie* (11), a kao kontrastnu boju karbolfuksin. Promatrajući morfološki izgled i lokalizaciju inkluzija, koje daju pozitivnu reakciju berlinskog modrila, došli smo do zaključka, da bazofilne punktacije i siderotičke granulacije nisu identične tvorbe. Ispravnom tehnikom reakcije i kontrastnog bojadisanja može se, naime, vidjeti, da se bazofilne punktacije u istoj individualnoj stanici, eritrocitu i eritroblastu, bojadišu jasno crveno, a siderotičke granulacije jasno plavo. To smo mi na kolor-mikrofotografijama uspjeli dokumentirati. Osim toga smo utvrdili, da zapravo kod otrovanja olo-

vom, kao ni kod drugih stanja, koja su popraćena siderocitima, nije opravdano govoriti o »granulacijama«, jer se ne radi uvijek o granulacijama ni o distinktnim tvorbama već o supstanciji, koja može primiti različite oblike. Ta se supstancija može vidjeti i u obliku nakupina, kako smo to na jednoj mikrofotografiji prikazali u jednom eritroblastu sa dvije jezgre, u kojem je siderotička supstancija smještena kao nakupina plave boje između obje jezgre. Siderotička supstancija se može vidjeti i kao vrlo uska kontinuirana plava zona oko jezgre. Štoviše, mi smo naišli i na eritroblaste, čija je čitava citoplazma sideropozitivna i prema tome sasvim homogena plava. Takve stanice su vidjeli *McFadzean i Davis*. Što se tiče morfološkog odnosa bazofilnih punktacija i siderotičkih čestica mogli smo utvrditi, da postoje jasne razlike između obje vrste tvorbi. Bazofilne punktacije su većinom okruglaste sitne grudice, manje ili više jednake veličine, ali općenito gotovo jednaka izgleda u svim stanicama. Siderotičke čestice u istoj stanici se obično posve razlikuju po izgledu od bazofilnih punktacija, jer su nepravilna i neodređena oblika, poput štapića ili zareza ili nejednakih zrnaca, a redovno različitog rasporeda i smještaja u eritrocitu i različitog izgleda u pojedinim eritrocitima. U eritroblastima su čestice poredane gotovo uvijek uz samu jezgru, ili sasvim blizu nje, što većinom nije slučaj kod bazofilnih punktacija. One su zapravo tako tijesno uz jezgru smještene, da ih je moguće od jezgre odijeljene vidjeti upravo samo zato, što su sideropozitivne na reakciju berlinskog modrila i zbog toga izrazito plave boje, pa su vrlo kontrastne prema tamnocrvenoj boji jezgre. Vrlo često, kako smo rekli, siderotička supstancija čini samo jedan uski kontinuirani perinuklearni pojas, koji se potpuno dodiruje jezgre. Gotovo ni kod jednog drugog stanja nije sideropozitivna supstancija u tako intimnom kontaktu s jezgrom kao kod otrovanja olovom. *Douglas i Dacie* (12), koji su nedavno potanko opisali morfologiju siderotičkih granulacija, kažu, da granula katkad čine prsten oko jezgre. Taj smo konstantni perinuklearni siderotički pojas vidjeli zapravo samo još kod jednog slučaja stečene hemolitičke anemije. Zanimljivo je, da je upravo u tom slučaju nađen i neobično visok (17.000 na milijun) broj bazofilno punktiranih eritrocita, što se također nađe gotovo samo kod otrovanja olovom. Taj slučaj potpuno odgovara slučaju, koji su opisali 1950. god. *Mills i suradnici* (13). Razmatrajući mehanizam nedovoljne sinteze hemoglobina kod svog slučaja i sličnih slučajeva iz literature, *Mills i suradnici* pretpostavljaju, da se kod tih bolesnika radi o endogenom defektu, koji pogađa izmjenu željeza između jezgre i citoplazme. Tu su pretpostavku eksperimentalno dokazali upotrebom radioaktivnog željeza, a kao dokaz, da se kod njihova slučaja zaista radi o toj spriječenoj izmjeni željeza, navode »početnu akumulaciju siderotičkih granula u paranuklearnoj zoni«. Bazofilne punktacije u razmazu bojadisanom po Giemsi se međutim vide, kažu autori, više prema periferiji i difuzno po eritroblastu. Taj odnos je procentualno pokazan na tablici 6.

Tablica 6.

Lokalizacija granulacija u punktiranim eritroblastima prema Millsu i suradnicima

Metoda bojadisanja	L o k a l i z a c i j a		
	Centralna (paranuklearna)	Difuzna	Periferna
Wright-Giemsa	14 ⁰ / ₀	44 ⁰ / ₀	42 ⁰ / ₀
Reakcija berlinskog modrila	50 ⁰ / ₀	30 ⁰ / ₀	20 ⁰ / ₀

Zrelanjem eritroblasta siderotičke se granulacije »pomiču« od paranuklearnog smještaja sve više prema periferiji i time, prema autorima, sve više gube pozitivnu reakciju na željezo, t. j. od siderotičkih postaju bazofilne punktacije.

Ma da ovaj odnos nije proučen na većem materijalu, on pokazuje, da je vjerojatno u nastajanju bazofilnih punktacija pokrenut neki endogeni mehanizam kao i kod nastajanja siderotičnih granulacija.

Ispitivanja o pojavi inkluzija, koje daju pozitivnu reakciju na željezo, malobrojna su, pa su i iskustva još oskudna. Međutim, ni u jednom od dosadašnjih radova iz prikazane literature nije jasno istaknuta činjenica, da postoje dvije vrste sidero-pozitivnih inkluzija: jedne, koje je prvi opisao *Grüneberg*, mogu se prikazati samo i isključivo reakcijom berlinskog modrila, a druge, koje je prvi opazio *Pappenheimer*, mogu se prikazati i bojama Romanowskoga i reakcijom berlinskog modrila. Njihovo slabo međusobno razlikovanje u literaturi uzrokovano je i zajedničkim imenom: i oni eritrociti, koji posjeduju *Grünebergove* granulacije, i oni, koji posjeduju *Pappenheimerove* granulacije, nazivaju se istim imenom: siderociti. Uostalom, obje vrste sideropozitivnih granulacija ne daju posve jednaku reakciju berlinskog modrila: u razmazima tretiranim na posve jednak način i primjenom posve jednakog kontrastnog bojadisanja bazičkim fuksinom *Grünebergove* granulacije pokazuju jasnu plavu boju, a *Pappenheimerove* granulacije zagasitu, tamnoplavu boju, vjerojatno nastalu kombinacijom plave boje berlinskog modrila i tamnoljubičaste boje neke kemijski još nedefinirane supstancije, prisutne u *Pappenheimerovim* granulacijama. Prema tome postoje i dvije vrste siderocita, koje bismo mogli nazvati »siderociti tipa *Grüneberg*« i »siderociti tipa *Pappenheimer*«. Kod otrovanja olovom nastaju, prema našem mišljenju (10), siderociti tipa *Grüneberg*, t. j. siderotičke inkluzije se kod otrovanja olovom mogu prikazati jedino reakcijom na željezo. Te su inkluzije često prisutne i u eritrocitima, koji sadržavaju bazofilne punktacije, ali su uvijek jasno plave i obično

nemaju morfološki izgled granulacija, pa se ne možemo složiti s mišljenjem *McFadzeana* i *Davisa*, da se kod otrovanja olovom nalaze »Pappenheimerova tjelešca«.

Da li je željezo u siderocitima tipa *Grüneberg* nastalo nekim patogenetskim mehanizmom, koji se razlikuje od onoga, kojim nastaje željezo u eritrocitima tipa *Pappenheimer*, nije poznato. Međutim, vjerojatno je, da i jedna i druga vrsta siderotičkih inkluzija nastaje kao morfološka manifestacija poremećene sinteze hemoglobina. Stanja, koja obiluju i jednom i drugom vrstom granulacija, popraćena su visokim serumskim željezom i anemijom manjeg ili većeg stupnja. Kako se takva stanja mogu izazvati i različnim egzogenim kemijskim toksama (otrovanje olovom, 6, 7, 8, 14, otrovanje fenilhidrazinom, 12) neosporno je, da je proučavanje siderotičkih čestica neobično važno za razumijevanje hemato-toksičkog djelovanja različitih otrova.

Zaključak

Eritrocitne inkluzije kao morfološke manifestacije biokemijskih zbivanja, što nastaju pod utjecajem niza kemijskih otrova u osjetljivim stanicama crvene krvne loze, ma da još nedovoljno proučene, ipak su našle definitivno mjesto u rutinskim toksikološkim pretragama. Neobično velik porast egzogenih otrovanja, što ide u korak s razvitkom industrijalizacije, opravdava dalje proučavanje tih tvorbi.

Literatura

1. Bazofilne punktacije

1. *Beritić, T.*: Arh. med. rada 3 (1948), 224, Arh. hig. rada, 3 (1951) 311.
2. *Granick, S.*: Blood 4 (1949), 404.
3. *Beritić, T., Fleischhacker, M.*: Lij. Vjes. 77 (1955), 367.
4. *Askanazy, S.*: Zt. f. kl. Med. 23 (1893), cit Günther, H.
5. *Behrendt, N.*: Dtsch. med. Wschr. 42 (1899), 254.
6. *Grawitz, E.*: Dtsch. med. Wschr. 25 (1899), 585.
7. *Hamel, N.*: Dtsch. Arch. f. kl. Med. 67 (1900), 357, cit. Cantarow i Trumper.
8. *Vaughan, U.*: J. Med. Res. 10 (1903), 342.
9. *Cadwalader, W.*: Bull. Ayer Clin. Lab. Hosp. 2 (1905), 29.
10. *White, C., Pepper, W.*: Am. J. med. Sci. 122 (1901), 266.
11. *Stengel, A., White, C., Pepper, W.*: Am. J. med. Sci. 123 (1902), 872.
12. *Fairhall, L., Sayes, R.*: Public Health Bull. No. 253, 1943.
13. *Ferrata, A.*: Fol. Haematol. 9 (1910), 253.
14. *Bell Blair, W., Williams, W., Cunningham, L.*: Lancet 2 (1925), 793.
15. *Key, J.*: Am. J. Physiol. 70 (1924), 86.
16. *Speransky, J., Sklianskaja, R.*: Fol. Haematol. 36 (1928), 289.
17. *Seiffert, G., Arnold, A.*: Arch. Hyg. 99 (1928), 272.
18. *Aub, J., Fairhall, L., Minot, A., Reznikoff, P.*: Lead poisoning, Williams i Wilkins, London-Baltimore, 1926.

19. *Hunter, D.*: Industrial Toxicology, London 1944.
20. *Lloyd Davies, T.*: The practice of industrial medicine, Churchill Ltd., London, 1948.
21. *Naegeli, O.*: cit. Ferrata.
22. *Klima, R., Seyfried, H.*: Fol. Haematol. 57 (1937), 283.
23. *de Weerd, W.*: Rev. Belge Sc. méd. 11 (1939), 297.
24. *Montegrosso, G.*: Med. Lavoro 30 (1939), 1.
25. *Henning, N., Keilhack, H.*: Dtsch. med. Wschr. 66 (1940), 323.
26. *Spühler, O.*: Schweiz. med. Wschr. 70 (1940), 369.
27. *Thaddea, S.*: Dtsch. med. Wschr. 66 (1940), 992.
28. *Pelaez Redondo, J.*: Rev. Clin. espan. 2 (1941), 426.
29. *Albahary, C.*: Sang 16 (1944-1945), 341.
30. *Leitner, S.*: Die Hämatologie im Lichte der Sternalpunktion. Basel, Schwalbe, 1946.
31. *Movitt, E.*: Am. J. Clin. Path. 15 (1945), 557.
32. *Saita, G.*: Med. Lavoro 37 (1946), 358.
33. *Mc Fadzean, A., Davis, L.*: Quart. J. Med. 18 (1949), 57.
34. *Rohr, K.*: Das menschliche Knochenmark, Thieme, Stuttgart, 1949.
35. *Chiodi, H.*: Publ. centro investig. fisiol. 9 (1945), 155.
36. *Pirrie, R.*: J. Path. Bact. 54 (1952), 211.
37. *Beritić, T., Vandeckar, M.*: Blood 11 (1956), 114.
38. *Beritić, T., Vandeckar, M.*: Atti XI Congr. Intern. Med. Lavoro, Napoli, 1954.
39. *Cadwalader, W.*: Bull. Ayer Clin. Lab. Penn. Hosp. 3 (1906), 44.
40. *Naegeli, O.*: Fol. Haematol. 7 (1908), 525.
41. *König, H.*: Fol. Haematol. 9 (1910), 278.
42. *Günther, H.*: Handbuch der allgemeinen Hämatologie, I/1. Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien, 1932.
43. *Schmidt, P., Barth, E.*: Arch. Schiffs- u. Tropenhygiene, Beihefte, 29 (1925), 326.
44. *Pappenheim, A.*: Fol. Haematol. 9 (1910), 302.
45. *Schilling, U.*: Blut u. Trauma, Fischer, Jena, 1933.
46. *Sabrazes, J., Bourret, Léger, M.*: J. Physiol. Pa. hol. gén. 2 (1900), 941.
47. *Dumas, R.*: Arch. génér. de Med. 192 (1903), 2576.
48. *Schmidt, P.*: Festschr. Nocht (1937), 557.
49. *Humperdinck, K.*: Ztbl. Gewerbehygiene 27 (1940), 185.
50. *Dustin, P.*: Sang 15 (1944-1945), 341.
51. *Thoma, K.*: Klin. Wschr. 28 (1950), 215.
52. *Sano, S.*: Acta haemat. jap. 18 (1955), 626.
53. *Sano, S.*: ibid 18 (1955), 631.
54. *Rosegger, H.*: Klin. Wschr. 15 (1936), 158.
55. *Goldblatt, M.*: Brit. J. industr. Med. 12 (1955), 1.
56. *Whitby, L., Britton, C.*: Lancet I (1933), 1173.
57. *Dreesen, W.*: J. industr. Hyg & Toxicol. 25 (1943), 60.
58. *Borges, D.*: Rev. Paulista Med. 36 (1950), 39.
59. *Key, J.*: Arch. Int. Med. 28 (1921), 511.
60. *Moeschlin, S.*: Klinik und Therapie der Vergiftungen, Thieme, Stuttgart, 1952.
61. *Pellegrini, G.*: Riforma Med. 51 (1935), 589.
62. *Naegeli, O.*: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, Springer, Berlin, 1931.
63. *Benisäth, A., Uarga, S.*: Dtsch. med. Wschr. 66 (1940), 1194.
64. *Kopasz, E.*: Fol. Haematol. 67 (1943), 292.
65. *Saita, G.*: Med. lavoro 37 (1946), 207.
66. *Haden, R.*: Am. J. med. Sci. 214 (1947), 255.
67. *Feinberg, A., Watson, J.*: Blood 6 (1951), 357.
68. *Wolf, J., von Hoffe, F.*: Blood 6 (1951), 1274.
69. *Hauptmann, E., Beritić, T.*: neobjavljeni podaci.
70. *Baader, E.*: Arch. Gewerbepath. 7 (1937), 597.
71. *Cantarow, A., Trumper, M.*: Lead poisoning, Wilkins, Baltimore, 1944.

2. Heinzova tjelešca

1. Beritić, T.: Arh. hig. rada 3 (1951), 311.
2. Riess, L.: Berl. klin. Wchschr. 19 (1882), 785.
3. Heinz, R.: Virchows Arch. 122 (1890), 112.
4. Ehlich, K., Lindenthal, O.: Ztschr. f. klin. Med. 30 (1896), 427.
5. Huber, O.: Dtsch. med. Wschr. 38 (1912), 1923.
6. Schilling, U.: Ztschr. f. klin. Med. 108 (1928), 709.
7. Zadek, I., Bug, K.: Fol. Haematol. 41 (1930), 333.
8. Genkin, S., Raschewskaja, A.: Ztbl. f. Gewerbehyg. 10 (1933), 29.
9. Freifeld, F., Schilowa, A., Ludwinowsky, R.: Fol. Haematol. 56 (1937), 333.
10. Ungricht, M.: Fol. Haematol. 60 (1938), 145.
11. Moeschlin, S.: Schw. med. Wschr. 70 (1940), 786.
12. Rohr, K.: Das menschliche Knochenmark, Thiemc, Leipzig, 1940
13. Doering, L.: Med. Klin. 37 (1941), 354.
14. Dustin, P., Jr.: Bull. Acad. roy. de méd. de Belgique 6 (1941), 505.
15. Willi, H.: Ann. paed. 159 (1942), 282.
16. Markoff, N.: Schw. med. Wschr. 73 (1943), 656.
17. Sievers, R. et al.: Pub. Health Bull. 291, 1945.
18. Fertman, M., Doan, C.: Proc. Central Soc. Clin. Research 18 (1945), 66.
19. Willi, H.: Schw. med. Wschr. 77 (1947), 243.
20. Jung, F.: Klin. Wschr. 24-25 (1946-1947), 459.
21. Jasinski, F.: Schw. med. Wschr. 78 (1948), 1282.
22. Zuelzer, W., Apt, L.: J. A. M. A. 141 (1949), 185.
23. Rodeck, H., Westhaus, H.: Arch. Kinderh. 145 (1952), 77.
24. Hughes, J., Treon, J.: A. M. A. Arch. industr. Hyg. & Occup. Med., 10 (1954), 192.
25. Friedrich, E.: Med. Klin. 49 (1954), 1222.
26. Fischer, B.: Am. J. med. Sci. 230 (1955), 143.
27. Beritić, T.: Brit. J. industr. Med. 13 (1956), 114.
28. Davies, L.: Lancet 2 (1956), 378.
29. Ehrlich, P.: Verh. Congr. inn. Med. 11 (1892), 33.
30. Ninni, M.: Haematologica 36 (1952), 943.
31. Virgens, R., Schürer, W.: Schw. med. Wschr. 75 (1945), 1055.
32. Gasser, C., Karrer, J.: Schw. med. Wschr. 78 (1948), 974.
33. Willi, H., Hartmeier, F.: Schw. med. Wschr. 80 (1950), 1091.
34. Gasser, C., Willi, H.: Helv. paed. acta 7 (1952), 369.
35. Cathie, I.: Great Ormond Street J. 43 (1952), 43.
36. Fertman, M., Fertman, M.: Medicine 34 (1955), 131.
37. Heubner, W.: Klin. Wschr. 21 (1942), 520.
38. Bock, M.: Arch. exp. Path. u. Pharmakol. 204 (1947), 595.
39. Moeschlin, S.: Fol. Haematol. 65 (1941), 345.
40. Wilhelmi, H.: Arch. exp. Path. u. Pharmakol. 200 (1942-1943), 305.
41. Fertman, M., Doan, C.: Blood 3 (1948), 349.
42. Stahl, K., Jung, F.: Arch. exp. Path. u. Pharmakol. 220 (1953), 503.
43. Treon, J., Cleveland, F., Duffy, J.: A. M. A. Arch. Industr. Health 11 (1955) 290.
44. Rozsa G., Spicer, S.: Nature 171 (1953), 84.
45. Spicer, S., Hanna, C., Neal, P.: J. Pediat. 33 (1948), 739.
46. Schmauch, G.: Virchows Arch. 156 (1899), 201.
47. Heinz, R.: Virchows Arch. 122 (1890), 112.
48. Heinz, R.: Zieglers Beitr. path. Anat. 29 (1901), 299.
49. Huber, A.: Virchows Arch. 126 (1891), 240.
50. Schwalbe, E., Solley, J.: Virchows Arch. 168 (1902), 399.
51. Domarus, A.: Arch. exp. Path. u. Pharmakol. 58 (1908), 319.
52. Itami, S., Pratt, J.: Biochem. Ztschr. 18 (1909), 302.
53. Hess, L., Müller, H.: Wien. Klin. Wschr. 26 (1913), 1831.
54. Deutsch, I.: Ztschr. klin. Med. 108 (1928), 747.

55. *Gutstein, M., Wallbach, G.*: Virchows Arch. 267 (1928), 144.
56. *Strampelli, B.*: Haematologica 11 (1930), 397.
57. *Hueper, W.*: J. industr. Hyg. & Toxicol. 18 (1936), 17.
58. *Moeschlin, S.*: Fol. Haematol. 65 (1941), 345.
59. *Richardson, A.*: J. Pharmacol. & Exper. Therap. 71 (1941), 203.
60. *Bredow, M., Jung, F.*: Arch. exp. Path. u. Pharmacol. 200 (1942-1943), 335.
61. *Gross, E., Bock, M., Helbrung, F.*: ibid. 200 (1942-1943), 271.
62. *Pulina, B.*: ibid. 200 (1942-1943), 324.
63. *Kiese, M., Seipelt, L.*: ibid. 200 (1942-1943), 648.
64. *Schlimme, H.*: ibid. 202 (1943), 60.
65. *Oettingen, W. von.*: Pub. Health Bull. 285, 1944.
66. *Figge, F.*: Anat. Rec. 94 (1946), 461.
67. *Gruz, W., Pimenta de Mello, R.*: Mem. Inst. Oswaldo Cruz 45 (1947), 63.
68. *Haas, E.*: Arch. exp. Path. u. Pharmacol. 204 (1947), 130.
69. *Lambrechts, A., Nizet, A., Khady, E.*: Experientia 3 (1947), 189.
70. *Oettingen, W. von, et al.*: Natl. Inst. Health Bull. 188, 1947.
71. *Rejsek, K.*: Č. L. Č. 86 (1947), 1183.
72. *Roubal, J.*: Č. L. Č. 87 (1948), 939.
73. *Spicer, S.*: J. industr. Hyg. & Toxicol. 31 (1949), 204.
74. *Treon, J. et al.*: ibid. 31 (1949), 1.
75. *Spicer, S., Thompson, E.*: ibid. 31 (1949), 206.
76. *Webster, S., Liljegren, E., Zimmer, D.*: J. Pharmacol. & Therap. 95 (1949), 201.
77. *Braunsteiner, H., Pakesch, F., Reimer, E.*: Wien. klin. Wschr. 62 (1950), 244.
78. *Heubner, W., Jung, F.*: Sang 22 (1951), 166.
79. *Merlini, D.*: Folia endocrin. 4 (1951), 107.
80. *Rivdon, R., Breslin, D.*: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 76 (1951), 242.
81. *White et al.*: Brit. M. J. 2 (1951), 357.
82. *Siebenmann, C., Zubrys, A.*: Nature 169 (1952), 505.
83. *Wingler, A.*: Ztschr. Krebsforsch. 59 (1953), 134.
84. *Beritić, T., Tolweth, B.*: neobjavljeni podaci.
85. *Wirth, D.*: Klinische Hämatologie der Haustiere, Urban & Schwarzenberg, Wien i Innsbruck, 1950.
86. *Reimer, E.*: Wien. Klin. Wschr. 62 (1950), 26.
87. *Rohr, K.*: Das menschliche Knochenmark, Thieme, Stuttgart, 1949.
88. *Pappenheim, A., Suzuki, T.*: Fol. Haematol. 13 (1912), 205.
89. *Bratley, F. et al.*: Am. J. med. Sci. 182 (1931), 597.
90. *Gajdos, A., Típrez, G.*: Sang 18 (1947), 35.
91. *Jung, F.*: Arch. exp. Path. u. Pharmacol. 208 (1949), 20.
92. *Buckell, M., Richardson, J.*: Brit. J. industr. Med. 7 (1950), 131.
93. *Brenner, S., Allison, A.*: Experientia, 9 (1953), 381.
94. *Nizet, A.*: Comt. rend. Soc. de Biol. 140 (1946), 1094.
95. *Hochwald, R. et al.*: J. A. M. A. 149 (1952), 1568.
96. *Dern, R. et al.*: J. Lab. & Clin. Med. 43 (1954), 303.
97. *Natscheff, B.*: Wien tierärztl. Mschr. 18 (1931), 259.
98. *Hofbauer, H.*: Schmauchsche Körperchen, Katze. Diss., Wien, 1937.
99. *Ottawa, F.*: Schmauchsche Körperchen, Diss., Wien, 1938.
100. *Wirth, D., Schratt, H.*: Fol. Haematol. 58 (1937), 358.
101. *Butler, E., Dern, R., Alving, A.*: J. Lab. & Clin. Med. 45 (1955), 40.

3. Siderotičke granulacije

1. *Doniach, I., Grüneberg, H., Pearson, E.*: J. Path. Bact. 55 (1943), 23.
2. *Grüneberg, H.*: Nature 148 (1941), 114; 148 (1941), 469.
3. *Grüneberg, H.*: J. Gent. 44 (1942), 246.
4. *Pappenheimer et al.*: Quart. J. Med. 14 (1945), 75.
5. *Dacie, J., Doniach, I.*: J. Path. Bact. 59 (1947), 684.
6. *McFadzean, A., Davis, L.*: Glasgow med. J. 28 (1947), 237.

7. *McFadzean, A., Davis, L.*: Quart. J. Med. 18 (1949), 57.
8. *Kaplan, E., Zuelzer, W., Mouriquand, C.*: Blood 9 (1954), 203.
9. *Beritić, T., Hahn, A., Hauptmann, E., Keller, M.*: Serumsko željezo kod kliničkog otrovanja olovom. II. Sastanak hig. rada, Zagreb, 1953.
10. *Beritić, T., Grgić, Z., Širec, A.*: neobjavljeni podaci.
11. *Dacie, J.*: Practical Haematology, Churchill, London, 1905.
12. *Douglas, A., Dacie, J.*: J. clin. Path. 6 (1953), 307.
13. *Mills, H., Huff, R., Krupp, M., Garcia, J.*: Arch. int. med. 86 (1950), 711.
14. *Pirrie, R.*: J. Path. Bact. 54 (1952), 211.

Summary

TOXICOLOGICAL SIGNIFICANCE OF ERYTHROCYTIC
INCLUSIONS BODIES

Determination of inclusion bodies in the erythrocytes (basophilic stippling, Heinz bodies, and iron-containing particles) has been described as a simple clinical tool for the recognition and appraisal of the exposure to toxic chemicals. None of these phenomena is confined solely to the exogenous toxic influence. However, their significance with regard to the diagnosis and prevention of incipient intoxications, is emphasized.

The hypotheses of the origin and the microchemistry of stippling are recorded and discussed. The changes in erythroblasts in the bone marrow in human lead poisoning are briefly reported. The evidence that the phenomenon of stippling results from the fault in the development of the red cell precursors in the bone marrow is supported not only by the findings in lead poisoning but also by the identical findings in certain cases of acquired haemolytic anaemia due to the faulty haemoglobin synthesis and showing basophilic stippling in the peripheral blood. Both conditions are due to an endogenous mechanism of dyshaemopoiesis. Through an example of the field research work in a lead mine and a smelting plant it is shown how the enumeration of stippled cells may reveal the degree of individual and collective exposure to lead in miners and in smelters respectively.

Clinical data and toxic chemicals producing Heinz bodies in humans and animals are listed. The literature is reviewed dealing with the individual and species differences in the incidence of Heinz bodies. The spontaneous occurrence of Heinz bodies as observed by various authors in the newborn infants with and without splenic pathology is discussed. The occurrence of Heinz bodies in the erythrocytes of normal cats («Schmauch's bodies») due to the unknown endogenous factor has been studied. The incidence of affected erythrocytes was found to vary between 0.3 and 95.1 per cent. These differences were not related to the age of animals. Splenectomy, performed in 4 animals, did not result in any difference in the number of affected cells before and after operation. The number of erythrocytes containing Schmauch's bodies found in the blood of vena linalis was approximately equal to that of arteria linealis. The value of experimental production of Heinz bodies in vitro is described, particularly in the prevention of the injury to the red cells which may appear in the course of treatment with chemotherapeutics.

The morphology of stainable iron particles in erythrocytes and erythroblasts is described and the relationship of the siderotic granules to the granules of basophilic stippling in lead poisoning is discussed.

*Institute for Medical Research,
Zagreb*

*Received for publication
June 3, 1957.*