

TIHOMIL BERITIĆ:

HEINZOVA TJELEŠCA U KLINIČKOJ I EKSPERIMENTALNOJ TOKSIKOLOGIJI

1. U pregledu cjelokupne pristupačne literature prikazana su današnja naziranja o značenju Heinzovih tjelešaca u kliničkoj i eksperimentalnoj toksikologiji. 2. Usvojen je naziv »Heinzova tjelešca« kao najispravniji, jer ne prejudicira ni jednu od spornih značajki tih tvorbi. 3. Opisane su metode prikazivanja i kvantitativnog određivanja Heinzovih tjelešaca. 4. Zastupa se mišljenje da su Schmauchova tjelešca kod mačaka i Heinzova tjelešca ne samo identične tvorbe, već da Schmauchova endogena tjelešca predstavljaju zapravo morfološki prototip Heinzovih tjelešaca. 5. Prikazane su međusobne razlike eritrocitarnih tvorbi: bazofilno punktiranih eritrocita, retikulocita, siderocita i Jolly—Howellovih tjelešaca. Ističe se, da su Heinzova tjelešca i corpora marginalia kromatološki, a vjerojatno i biološki identične tvorbe. 6. Tvrdi se, da je polimorfizam Heinzovih tjelešaca, koji je opažen i kod vlastitih pokusa in vitro, osjetljivo ovisan o svim eksperimentalnim uvjetima (kemijska struktura otrova, koncentracija, pH miljea, temperatura, vrijeme djelovanja, prisutnost zraka i t. d.). 7. Istaknuta je uloga slezene kod kliničkog i eksperimentalnog nastajanja Heinzovih tjelešaca. 8. Nabrojeni su otrovi, koji in vivo ili in vitro, ili pak na oba načina izazivaju stvaranje Heinzovih tjelešaca. Ističe se vrijednost, koju Heinzova tjelešca imaju pri proučavanju metabolizma pojedinih otrova. 9. Iznesena su naziranja o mikrokemizmu i citokemijskoj lokalizaciji Heinzovih tjelešaca. Smatra se najvjerojatnijom Jungova hipoteza, da su Heinzova tjelešca denaturirana bjelančevina strome, odnosno denaturirana bjelančevina hemoglobina. 10. Prikazane su hipoteze o odnosu methemoglobina, verdoglobina i Heinzovih tjelešaca. Usvojen je kao najispravniji Heubnerov zaključak, po kojemu su ta tri fenomena različite, među sobom potpuno neovisne posljedice izvjesnih otrovanja, kojima je jedina zajednička osobina oksidativni karakter njihova nastajanja. 11. Ukazuje se na kongenitalne methemoglobinemije, koje mogu poslužiti kao dokaz, da Heinzova tjelešca i methemoglobin, odnosno methemoglobin i anemija nemaju među sobom veze. Protumačeno je nastajanje porfirina kod hemolitičkih anemija uz prisustvo Heinzovih tjelešaca. 12. Konačno je istaknuto dijagnostičko, prognostičko i preventivno značenje Heinzovih tjelešaca.

Razvoj industrije u okviru suvremenog života neizbježno je postavio čovjeka u središte djelovanja brojnih kemijskih otrova. Profesionalni, terapijski, kozmetički pa i svaki drugi kontakt s raznim kemikalijama postavlja stoga na liječnika, svakim danom sve više, težak i ozbiljan zahtjev da nadzire vladanje tih stranih supstancija u tijelu eksponiranih ljudi.

Slijediti nedovoljno poznat način njihova djelovanja stalnim kemijskim i fizikalno-kemijskim kontrolama biološkog materijala ugroženog individua redovno je kompliciran, a često dugotrajan i skup postupak. Čekati pak na pojavu kliničkih manifestacija otrovanja, ponekad tek slučajno zapažanih, opasno je i nije u skladu s medicinskim načelima. Pojavljivanje kliničkih simptoma označuje obično već razvijenu pa i uznapredovalu, a katkada čak i konačnu fazu oboljenja. Preostaje, dakle, prirodno i opravdano nastojanje da se zahvati u početnu, ranu fazu sumnjivog zbivanja, da se kod toga koristi svaka pa i najmanja promjena mikroskopski pristupačnih elemenata tijela, a da se to ipak izvede jednostavnom, brzom i jeftinom laboratorijskom tehnikom.

Hematološko promatranje eritrocita u perifernoj krvnoj slici bez sumnje 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, eritrociti su zauzeli istaknuto mjesto u proučavanju morfoloških fenomena krvnih stanica. Nije stoga čudo, da su upravo toksičke promjene u njima privukle toliku pažnju i da se u njima nastoji naći fini indikator štetnog djelovanja neke kemijski aktivne tvari.

U kliničkoj medicini te su promjene eritrocita poznate kao nerijetki pratilci toksičkih hemopatija. U preventivnoj medicini one se stalno ispituju kao redovni signalni prethodnici takvih stanja. Zbog toga smo se u Institutu za higijenu rada prihvatili njihova sistematskog proučavanja, da bi ih kao dijagnostička pomagala mogli praktički upotrebiti ne samo u klinici već i u prevenciji profesionalnih intoksikacija.

U jednoj od prijašnjih radnja (1) prikazali smo naša prva opažanja o pojavi i značenju bazofilnih punktacija u eritrocitima kod profesionalnog otrovanja olovom. Naš idući zadatak bio je ispitivanje drugog zanimljivog fenomena u crvenim krvnim stanicama. To je pojava t. zv. *Heinzovih tjelešaca*, eritrocitarnih tvorbi, koje nastaju u prisustvu jednoga cijelog niza gotovo isključivo egzogenih kemijskih otrova.

Ma da su te tvorbe već dugo poznate, naročito zanimanje za njih oživjelo je tek u posljednje vrijeme, u toku prošlog decenija, u godinama najjače industrije eksploziva i najšire terapije sulfamidima. Danas već gotovo nepregledna literatura o *Heinzovim tjelešcima* počinje pod konac prošloga stoljeća, kada je *Riess* 1882. (2) prvi opazio, a *Robert Heinz* 1890. (3) prvi detaljno opisao te promjene. Dalji i glavni izvor naših podataka predstavljaju priopćenja evropskih autora, dok se angloamerička literatura bavi tek u najnovije vrijeme tim zaboravljenim problemom.

Za svoga prošlogodišnjeg boravka u Londonu, gdje sam bio kao stipendista Američkog fonda za pomoć Jugoslaviji, imao sam prilike da, ljubeznošću *dra. D. Huntera* i *M. Buckellove* u Savjetu za me-

dicinska istraživanja; Odjeljenju za istraživanja u industrijskoj medicini, dobijem neposredan uvid u eksperimentalne radove vršene u to vrijeme na problemu značenja Heinzovih tjelešaca. Tamo stečena iskustva bila su mi dalji poticaj da nastavim započeta ispitivanja.

U našoj medicinskoj literaturi Heinzova se tjelešca spominju vrlo rijetko i skoro bez ikakva opisa, pa su, dakle, kod nas praktički ostala nepoznata. Smatramo stoga u prvom redu potrebnim detaljnije opisati Heinzova tjelešca i prikazati njihovo značenje u kliničkoj i eksperimentalnoj toksikologiji.

1. NOMENKLATURA

Od vremena njihova otkrića te se promjene eritrocita različito nazivaju. Heinz ih je nazivao »Blaukörper«, Ehrlich »hämoglobinämische Innenkörper«, Schilling »methämoglobinämische Innenkörper«; ponekad se nazivaju i »Binnenkörper«, vrlo često »Innenkörperchen«, a u engleskoj literaturi »inner bodies«, »inclusion bodies« ili samo »inclusions«. No ni jedan od tih naziva nije mogao — kako ćemo kasnije redom vidjeti — pravilno obuhvatiti sve morfološke, kromatološke i mikrokemijske karakteristike tih tvorbi, a isto tako ni opravdati njihovo porijeklo ili značenje. Zbog toga se ta tjelešca najčešće ipak nazivaju »Heinzovim tjelešcima« (HT). Mislimo, da je taj naziv zasada i najispravniji, jer ne prejudicira ni jednu od spomenutih spornih značajki; stoga ćemo se i mi tim nazivom ubuduće služiti.

U literaturi nalazima katkada, da se Heinzova tjelešca označuju i kao Heinz-Ehrlichova ili i Ehrlich-Heinzova tjelešca. Štoviše, otkriće je tih tvorbi bilo čak pripisano i samom Ehrlichu (4). Međutim, upravo je već iz Ehrlichove radnje (5) jasno vidljivo, da prioritet nesumnjivo pripada Heizu.

2. MORFOLOŠKE I KROMATOLOŠKE KARAKTERISTIKE

Heinzova tjelešca su malene, većinom okrugle ili lagano ovalne, kuglaste ili kruškolike, rijetko račvaste ili nepravilno štapičaste tvorbe, smještene obično na samoj periferiji eritrocita.

Kod *kliničkih* otrovanja pokazuju te tvorbe nekoliko karakteristika, po kojima se već na prvi pogled mogu razlikovati od drugih morfoloških promjena eritrocita. Najčešće se pojavljuju solitarno, kao jedno do dva, katkada i tri, no vrlo rijetko i kao više zrnaca u jednom eritrocitu. Veličina im varira od 0,25—0,5—2 mikrona; što im je broj veći, to im je redovno i opseg manji.

Heinzova tjelešca su vidljiva već i u nativnom preparatu kao gusta, naročito refraktilna korpuskula oštih kontura. Njihova glavna kromatološka karakteristika je *naročiti afinitet prema »vitalnim«*

bazičnim bojama: bazičkim bojadisanjem tako intenzivno primaju boju, da je suvišno svako kontrastno prikazivanje. Ona se, uostalom, ni ne daju obojiti ni jednom od panoptičkih metoda bojenja. Za razliku od svih drugih eritrocitarnih tvorbi gube običnim metodama fiksacije Heinzova tjelešca potpuno svoju bazofiliju.

Od ispitanih boja daju pozitivne nalaze: briljant krezilno modrilo, sulfat nilskog modrila, fuksin, neutralno crvenilo, metilensko modrilo (6), Bismark-smeđe i azur II (7). May—Grünwaldovom, Giemzinom i sličnim otopinama se ne boje; bojadisanje po Gramu, krizoidinom i pirodinom daje također negativne rezultate; isto je tako i reakcija peroksidaze i berlinskog modrila negativna. Među bazičkim bojama preporučuju se naročito metilviolet, kojim se već i Heinz služio, zatim mnogo osjetljivije briljant krezilno modrilo i napokon kao najbolji sulfat nilskog modrila, koji daje neosporno najselektivnije slike. Kao najčešći način spremanja razmaza spominje se metoda vlažne komore sa 0,5% alkoholnom otopinom boje, zatim razne modifikacije te metode. Tu metodu preporučuje i Undritz u Sandozovim hematološkim tablicama 1950. (96) Sulfatom nilskog modrila smo se i mi najviše služili, no kod toga smo upotrebljavali 1% boju u fiziološkoj otopini, po metodi, koju je preporučio Rejsek (8), a kod koje nije potrebno držati razmaz u vlažnoj komori: u parafinirano »satno« staklo postavimo zrnce natrijeva oksalata i 0,5 ccm boje, zatim dodamo 0,2 ccm krvi služeći se pritom (»glikemičkom«) mikropipetom. Dobro promiješana, smjesa ostaje u satnom staklu 5—7 minuta. Iz jedne kapi smjese napravljeni razmaz promatra se nakon sušenja pod uljenom imerzijom. Jürgens-Schüre-rova modifikacija bojadisanja (9) dopušta prethodno fiksiranje (tanksi se razmaz nakon sušenja od nekoliko minuta fiksira metilnim alkoholom dvije minute i smjesta se dodaje 5% vodena otopina bazičke boje). Tom metodom mi nismo dosad uspjeli obojiti Heinzova tjelešca. Prema Friedsteinovoj (10) to nije ni moguće, jer u fiksiranim razmazima Heinzova tjelešca postaju oksifilna. Godine 1948. su Webster i suradnici (11) također izradili metodu bojadisanja i istodobnog fiksiranja metilvioletom otopljenim u ctilnom alkoholu. Oni ističu općenite prednosti metilvioleta i gencijana-violeta pred sulfatom nilskog modrila. Godine 1950. su objavljene još dvije metode bojadisanja i fiksiranja (12), (13), no kako nam sve te tri radnje zasada nijesu u originalu pristupačne, nijesmo mogli predložene metode primijeniti i ispitati. Kod promatranja neobojenih suhih razmaza ne smije se upotrebiti imerziono ulje, balzam ili slična medija, jer tada Heinzova tjelešca iščezavaju (14).

Loše strane »vitalnog« bojadisanja kao i osjetljivost Heinzovih tjelešaca prema raznim tehničkim postupcima dovela su, dakle, do opravdanog nastojanja, da se poboljšaju metode njihova prikazivanja. Prema našim iskustvima nije čak ni bojadisanje sulfatom nilskog modrila uvijek uspješno: brojni artefakti, i to obično talozi boje u obliku okruglih grudica, koji se naročito često vide kod eksperimen-

mentalnog izazivanja Heinzovih tjelešaca, zahtijevaju temeljito proučavanje fizikalno-kemijskih faktora, koji sudjeluju pri ispravnom bojadisanju. Međutim, ispitati točno kromatološke osobine Heinzovih tjelešaca znači ulaziti u nejasan, vrlo kompliciran i nedovoljno ispitivan problem njihove kemijske strukture. Ne smijemo zaboraviti, da je i samo bojadisanje jedan kemijski proces, koji već sam po sebi mijenja i onako osjetljivu strukturu kemijskog sadržaja crvene krvne stanice, to više, što je velik dio boja po svom kemijskom sastavu vrlo blizu bar nekima od onih supstancija, koje izazivlju stvaranje Heinzovih tjelešaca. Zanimljivo je, napokon, da je doista uspjelo takvim bojama i izazvati Heinzova tjelešca. Tako je to javljeno za metilensko modrilo (15) pa i za sam sulfat nilskog modrila (16).

Heinzova tjelešca se mogu promatrati i *faznim mikroskopom*. Prema vladanju u faznoj slici (17), (18), razlikuju se dvije vrste Heinzovih tjelešaca: faznopolitivna tjelešca, koja se u vitalno obojenom preparatu vide kao tamne tvorbe, i faznonegativna, koja se istom tehnikom vide kao jasno svijetle kuglice.

Belgijanac *Nizet* je prikazao metodu gledanja Heinzovih tjelešaca u *tamnom polju* (19). Tu su metodu prihvatili Francuzi (20), (21), (22), (23), tvrdeći, da je mnogo pouzdanija od bilo koje metode gledanja u svijetlom polju.

Kvantitativno određivanje Heinzovih tjelešaca vrši se obično tako, da se u obojenom razmazu broje pogođeni eritrociti, a rezultati se izrazuju u procentnim ili promil vrijednostima. U najnovije vrijeme (1951) predložena je (24) »jedna jednostavna i brza« metoda *izbrojavanja slobodnih Heinzovih tjelešaca u komorici* za uobičajeno standardno brojenje eritrocita. Spominje se i *nefelometrička metoda* (25), kod koje se ne broje individualno Heinzova tjelešca, već stupanj zamućenja, što ga netopljiva Heinzova tjelešca stvaraju u hemoliziranoj krvi (26); vrijednost se izrazuje kao razlika između zamućenje necentrifugiranog i centrifugiranog uzorka (27). Jasno je, da stupanj zamućenja ne ovisi samo o broju Heinzovih tvorbi, već i o njihovoj veličini (98). Zanimljivo je, da je određivanje stupnja zamućenja (»turbidity ratio«) kao indeksa oštećenja stanice (odnosno destrukcije hemoglobina) vršeno katkada i bez ikakva spomena o vezi tog zamućenja s prisustvom Heinzovih tjelešaca (97).

Sulfatom nilskog modrila bojadisana Heinzova tjelešca vidimo kao tamne, crno-plave tvorbe na rubu svijetle, zeleno-plave pozadine eritrocita.

Upravo taj njihov tipični periferni smještaj — »na rubu« stanice — je glavna morfološka karakteristika Heinzovih tjelešaca. To nije samo projekcijski dojam kod foto-optičkog mikroskopskog promatranja, već je to činjenica dokazana (28), (29) i ispitivanjem u elektronskom mikroskopu, kojim je uspjelo pokazati, da se Heinzova tjelešca zaista nalaze upravo uza sam granični sloj staničnog tijela, dakle uz

onaj dio eritrocita, koji se nazivlje membranom. Staviše, u nekim je slučajevima svojstvo periferne lokalizacije već kod gledanja običnim mikroskopom toliko upadno i konstantno, da se te »rubne« tvorbe uporno nastoje razlikovati (9) od »pravih« Heinzovih tjelešaca kao samostalni morfološki fenomen, koji je i opisan pod posebnim imenom kao »corpora marginalia« (Röhlsche Randkörperchen, Relova rubna tjelešca) (30). Pa i onda, kada se tjelešce i nalazi u sredini vidljive plohe eritrocita, ono još uvijek pripada tom vanjskom dijelu stanice, dok je endoglobularna lokalizacija tek optička varka; ne zaboravimo, da eritrocit nije kružnica, već trodimenzijska bikonkavna ploča određenog volumena. I u patološkom eritrocitu (megalocitu, sferocitu i ovalocitu) Heinzovo tjelešce zauzima jednaki ekscentrični položaj (6).

Čini se, dakle, sigurno, da se — bar definitivno stvorena — Heinzova tjelešca nikada ne nalaze u unutrašnjosti stanice, pa je — prema tome — toliko uobičajeni naziv autora njemâčkog jezičnog područja — »Innenkörper«, »unutrašnja tjelešca« — postao očito neopravdan i neodržljiv, te je, kako kaže Heubner (5), vrijeme, da iščezne.

Prototip Heinzovih tjelešaca, sa svim opisanim morfološkim i kromatološkim karakteristikama, predstavljaju t. zv. *Schmauchova tjelešca* u eritrocitima zdravih (starih?) mačaka (sl. 1). No, začudo, ta je činjenica malo poznata i nedovoljno proučena unatoč tome, što se upravo na mačkama vrlo mnogo eksperimentiralo. Ni sam *Schmauch* (31) nije bio siguran, da li se tu radi zapravo o istoj tvorbi, koju je Heinz opisao kod otrovanja fenilhidrazinom. Štaviše, *Friedsteinova* je ustanovila, da su *Schmauchove* tvorbe »bar jednim dijelom Jolly-Howellova tjelešca« (32). Prenošenjem neprovjerenih navoda to se mišljenje djelomično zadržalo i sve do danas. Neka se zabuna vjerojatno osniva i na tome, što su Heinzova tjelešca kod mačke katkada relativno vrlo velika. Čak i u najnovijim (1949, 1950) vrlo opširnim angloameričkim prikazima o Heinzovim tjelešcima (7), (33) autorima, čini se, nije jasan odnos *Schmauchovih* tvorbi prema Heinzovim tjelešcima. No već danas možemo gotovo sa sigurnošću reći, da skoro sve mačke imaju *Schmauchova* tjelešca u većem ili manjem procentu, koji prema *Grossu* i suradnicima (34) iznosi 10—30.

Da se tu doista radi o identičnom morfološkom fenomenu, referirat ćemo drugom prilikom.

3. DIFERENCIJALNE KARAKTERISTIKE ERITROCITARNIH TVORBI

Iako su, dakle, Heinzova tjelešca morfološki jasno definirane tvorbe, ipak ih treba katkada, bar s teoretskog gledišta, razlikovati od drugih eritrocitarnih tvorbi, to više, što se često u kliničkoj praksi te tvorbe zamjenjuju. Uostalom, one se katkada, naročito u eksperimentalnoj toksikologiji, javljaju i istovremeno. Na tablici 1 prikazani su najvažniji kriteriji, po kojima ih možemo razlikovati.

TABLICA 1
DIFERENCIJALNE KARAKTERISTIKE ERITROCIRANIH TVORBI

Naziv tvorbe	Bazofilne punktacije eritrocita	Retikulo- citi	Heinzova tjelešca	Corpora marginalia	Siderociti	Jolly- Howellova tjelešca
Shematski izgled tvorbe						
Autor i godina opisa	Askaniazy 1893	Ehrlich 1886	Heinz 1890	Röhl 1890	Grüneberg 1941	Jolly 1905
Najčešća pojava kod	otrovanja olovom	regenera- tivnih ane- mija	otrovanja amino i ni- tro spojevi- ma benzola	sideropeni- čni anemi- ja. Spontano	hemolitič- ne anemije nakon sple- nektomije	regenera- tivnih ane- mija
Specifične reakcije	Feulgen	-	-	-	-	+++
	Berlinsko modrilo	-	-	-	+++	-
	Peroksidaza	-	-	-	-	-
Kromafinitet	May-Grünwald Giemsa	++	-	(nestaje!)	(nestaje!)	+++
	Löfflerovo metilensko modrilo	+++	+	+	+	
	Briljant kre- zilno modrilo	+	+++	++	++	
	Sulfat nilskog modrila	+	++	+++	+++	+
Vitalnost	u nativnom preparatu	-	-	+++	+++	+
	u tamnom polju	+++	+++	++	+	
Vjerojatni kemizam tvorbe	Ribonukleo protein		Denaturirani protein		lako odoje- pljivo že- ljezo	Dezoksiri- bonukleo- protein
Zrelost nosioca tvorbe	N	N	Z	Z (?)	Z	N

Dok je razlikovanje prema bazofilno punktiranim eritrocitima dosta lako, dotle je prema retikulocitima ono otežano činjenicom, što se »vitanim« bojadisanjem s briljant krezilnim modrilom obje vrste tvorba mogu dobro prikazati. Osobito je to važno onda, kad je retikularna supstancija prisutna u obliku točkica, kod t. zv. punktiranih retikulocita (Heilmeyerov IV. stadij dozrijevanja). Tako i

Naegeli (35) smatra, da su rubne granulacije, koje se vitalno bojadisu, zapravo jedna vrsta retikulocita. U sumnjivim je slučajevima, međutim, dovoljno naknadno bojadisati razmaz jednom od panoptičkih metoda bojenja; retikulociti će sačuvati svoju granulaciju, dok će Heinzova tjelešca bez traga nestati.

U vezi s retikulocitima nastalo je sporno pitanje, da li se oba fenomena mogu pojaviti u istoj mladoj stanici. *Schilling* (36), a u novije vrijeme i drugi (37), (65) tvrde, da su Heinzova tjelešca vidjeli čak i u normoblastima, perinuklearno smještena. *Jürgens* i *Schürer* (9) tvrde, da se Heinzova tjelešca pojavljuju redovno u retikulocitima miševa i štakora. Ispitujući sternalne punktate u slučajevima kliničkih otrovanja *Rohr* (38) nije našao Heinzova tjelešca u koštanoj srži pa zaključuje, da ona nastaju isključivo u perifernoj krvi. Većina autora ipak smatra, da se Heinzova tjelešca mogu pojaviti samo u zrelom eritrocitu. Uostalom, brojni pokusi na životinjama pokazuju, da je i sam tok bioloških reakcija za te dvije vrste tvorba potpuno različit. Kod otrovanja fenilhidrazinom broj Heinzovih tjelešaca, koja primarno nastaju, opada onda, kad su retikulociti, koji sekundarno nastaju, u porastu. Obrnuti tok krivulje retikulocita i Heinzovih tjelešaca opažen je i kod kliničkih otrovanja (39), (65). Konačno, *Moeschlin* (4) smatra, da se Heinzova tjelešca ne mogu pojaviti u retikulocitima već i zato, što za njihovo nastajanje treba najmanje 2 do 3 dana, a to je vrijeme dovoljno, da jedan retikulocit postane zrela stanica. Kako ćemo kasnije vidjeti, ta tvrdnja, iako u konkretnom pokusu poučna i opravdana, ipak ne će vrijediti za sve otrove, sve koncentracije i sve životinje jednako.

Sasvim različite kromatološke osobine *Jolly-Howellovih tvorba* čine njihovo razlikovanje od Heinzovih tjelešaca naročito laganim. Pa ipak postoji često zamjenjivanje. S jedne strane ono je uzrokovano *Schillingovom* tvrdnjom (25), (36), (40), da je »vidio sve prijelaze između *Jolly-Howellovih* i kapsularnih (= HT) tjelešaca« te da se »*Jolly-Howellova* tjelešca mogu pojaviti kao unutarnja tjelešca obavijena kromatinom«. S druge strane, kako ćemo kasnije vidjeti, oba se fenomena mogu pojaviti u većem broju nakon splenektomije.

I *siderociti*, t. j. eritrociti, koji daju pozitivnu reakciju berlinskog modrila, a sadržavaju »lako odcjepljivo željezo« (41), mogu se također katkada zamijeniti s Heinzovim tvorbama, pogotovu stoga, što je i njihova pojava najčešća kod splenektomiranih hemolitičkih anemija. I ovdje su kromafina svojstva od odlučne važnosti.

Od čisto teoretskog značenja je i razlikovanje prema *parazitarnim tvorbama* eritrocita. Tu naročito dolazi u obzir *Bartonella bacilliformis*, uzročnik t. zv. Oroya groznice.

Već smo spomenuli, da se nastoji izdvojiti jedan dio Heinzovih tjelešaca kao posebne tvorbe, jer su mnogo manje, obično brojnije, a smještene isključivo »na rubu« eritrocita, zbog čega im se i daje

značajno ime »*corpora marginalia*«. Te je tvorbe prvi opisao Röhl (30) kao sitne točkice, koje se nalaze na samom kraju onih eritrocita, koji propadaju u obliku t. zv. »krvnih sjena«. I Heinz je 1901. (42) opazio *corpora marginalia*, i to kod otrovanja anilinom, hidroksilaminom i nitrobenzolom — dakle upravo onim supstancijama, koje naročito jako izazivlju i Heinzova tjelešca. No — za razliku od »pravih« Heinzovih tjelešaca — *corpora marginalia* mogu mnogo češće nastati i bez djelovanja nekog egzogenog otrova (kod sideropeničnih, pernicioznih i malaričnih anemija) (7). Osim toga već i dužim (24—48 h) stajanjem krvi izvan tijela mogu da se pojave *corpora marginalia* kod stalne temperature od 37° C (6), (7). *Corpora marginalia* se, navodno, mogu razlikovati i upotrebom fazne optike: u faznoj slici Heinzova tjelešca su tamne, a *corpora marginalia* vrlo svijetle tvorbe (17). Međutim je neosporno, da se prema raznim metodama bojadisanja *corpora marginalia* vladaju sasvim jednako kao i Heinzova tjelešca. Štaviše, ona se vide točno na onim mjestima u eritrocitu, gdje se pojavljuju i Heinzova tjelešca. Prema tome, dakle, nema dovoljno dokaza, koji bi išli u prilog tvrdnji, da su *corpora marginalia* posebne tvorbe.

4. HEINZOVA TJELEŠCA IN VITRO

Zanimljivo je, da mnogi otrovi mogu i in vitro izazvati pojavu Heinzovih tjelešaca. (Lewin (43) je čak prije Heinzova opisa opazio stvaranje zrnaca u eritrocitima tretiranim hidroksilaminom in vitro). Ta neobična činjenica, koja će bez sumnje otvoriti nove putove toksikološkom istraživanju sumnjivih supstancija, osigurala je već sama po sebi Heinzovim tjelešcima posebno mjesto među svim drugim poznatim eritrocitarnim tvorbama. Uz to će pristupačnost takvog eksperimentiranja mnogo olakšati i mogućnost njihova morfološkog proučavanja. Heinzova tjelešca nastala in vitro nemaju, naime, onaj pravilan i gotovo jednoličan izgled, koji se vidi kod izraženih kliničkih otrovanja, kod pokusa in vivo i, naročito, fiziološki kod mačaka. Njihov broj, veličina i lokalizacija osjetljivo ovise gotovo o svim eksperimentalnim uvjetima (kemijska struktura otrova, koncentracija, pH otopine, vrijeme djelovanja, temperatura, prisutnost zraka, prisutnost krvne plazme i t. d.). Mijenjanjem samo jednoga od tih uvjeta možemo u istoj krvi bitno promijeniti i morfološki izgled tvorba. Povećavanjem koncentracije fenilhidrazina dobiju se na pr. sve sitnije i mnogobrojnije tvorbe (sl. 2). Za hidroksilamin, koji je, kao i fenilhidrazin, naročito aktivan u izazivanju Heinzovih tjelešaca, mi smo našli, da ni u mnogo jačim koncentracijama ne izazivlje tako sitne tvorbe, štaviše duljim djelovanjem otrova one postaju još krupnije (sl. 3). Anilin ni u jakim koncentracijama ne izazivlje Heinzovih tjelešaca in vitro, ma da je inače vrlo aktivan duljim djelovanjem in vivo. Fenilendiamin i kod manjih koncen-

tracija stvara tvorbe slične djelovanju hidroksilamina (sl. 4). Neke supstancije, kao na pr. sulfapiridin, iznad izvjesnog graničnog titra ni u pojačanoj koncentraciji ne stvaraju u povećanoj mjeri Heinzovih tjelešaca (6).

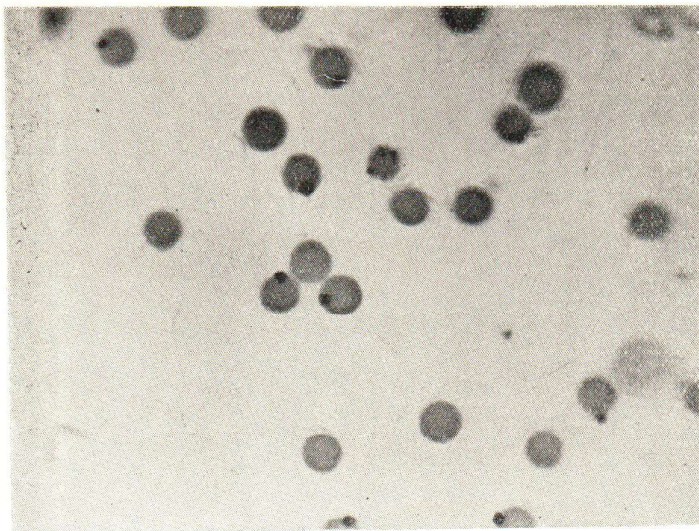
Kod *temperature od 0° C* Heinzova se tjelešca in vitro uopće ne stvaraju ni djelovanjem fenilhidrazina (44), čak ni nakon 8 dana (6). Utjecaj *koncentracije vodikovih iona* u miljeu također je od odlučne važnosti: djelovanjem fenilhidrazina kod pH 6,6 manjak Heinzovih tjelešaca je potpun i konstantan, dok su kod pH 7,0 oña prisutna gotovo u svim eritrocitima; štaviše, pomicanje prema alkalnoj strani i dalje pogoduje stvaranju tjelešaca: »... kad su svi ostali eksperimentalni uvjeti potpuno identični, kod pH 8,0 ili 9,0 ima više Heinzovih tjelešaca nego kod pH 7,0« (44).

Očito je, dakle, da je raznolikost tih promjena in vitro u direktnom omjeru sa spomenutim eksperimentalnim uvjetima. No sigurno je, da kod stvaranja tih fenomena in vivo osim ovih momenta ima odlučnu ulogu i prisutnost svih onih nepoznatih bioloških faktora, kojih se sudjelovanje u tako maloj količini eksponirane krvi ne može po volji udesiti kod pokusa in vitro. Vjerojatno je zbog toga u živom organizmu ograničen i stupanj morfoloških varijacija. Najbolji dokaz za to su Schmauchova »endogena Heinzova tjelešca«, koja imaju neprekidnu tendenciju da zadrže tipični izgled tvorbe. U tijelu mora, dakle, biti stavljena u pogon neka vitalna [stanična ?, (36)] funkcija, možda neka »kemijska obrana tijela«, koja sprečava brzi razvoj Heinzovih tjelešaca.

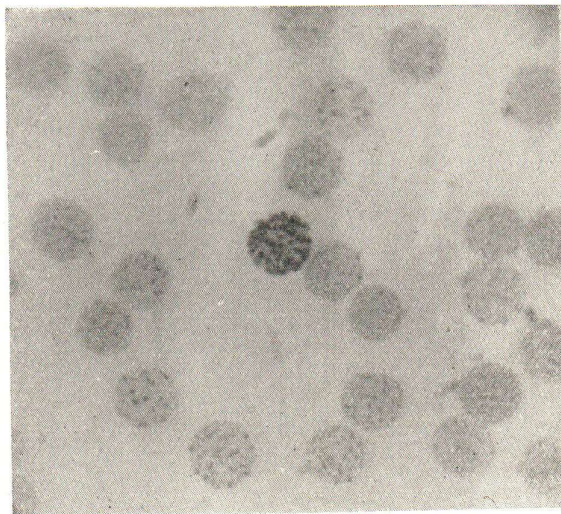
Točni mehanizam stvaranja Heinzovih tjelešaca nije, dakako, do danas poznat. Može se, međutim, pratiti njihovo nastojanje i »rast« bar pod eksperimentalno udešenim prilikama. *Bratley* i suradnici (45) su promatrali taj proces u »visećoj kapi« te ga opisuju ovako:

»Najprije nastaje lagana nazubljenost eritrocita, dok otrov ne uđe u stanicu, no već nakon jedne minute, kad je postignuta osmotska ravnoteža, vraća se normalna, okrugla kontura stanice. Zatim se u eritrocitu pojavljuje neprozirna sjena, koja zauzima gotovo četvrtinu njegove površinske plohe, nepravilna je oblika i nejasna obrisa. To tjelešce poput sjene postaje zatim oštrije ograničeno i manje, povećava mu se prozirnost i lom svijetla pa izgleda gotovo kao vakuola. »Vakuole« se kreću slobodno u samoj stanici, ali nikada ne prelaze graničnu membranu. Ponekad se više takvih »vakuola« slijevaju, a to prati slabljenje boje eritrocita. Stanica postaje sve više bezbojna i prozirna »poput sablasti« (»ghost cells« = krvne sjene ili Blutschatten njemačkih autora), sastoji se još samo iz membrane, unutar koje se nalazi »unutrašnje tjelešce« i inače potpuno nevidljivo stanično tijelo. Konačno se membrana »sablasne« stanice potpuno razilazi oslobađajući tako Heinzovo tjelešce.«

Kada su Heinzova tjelešca vrlo mala, ona pokazuju izrazito Brownovo gibanje u eritrocitu (25), (57).

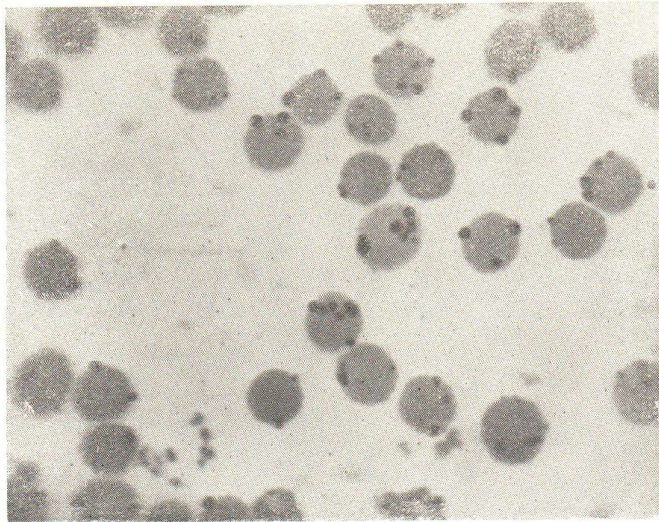


Slika 1. Schmauchova tjelešca, prototip Heinzovih tjelešaca

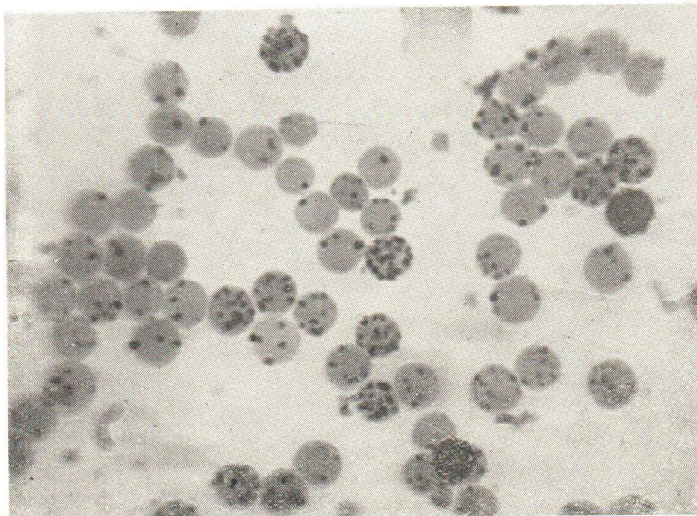


Slika 2. Vrlo sitna Heinzova tjelešca. Djelovanje fenilhidrazina

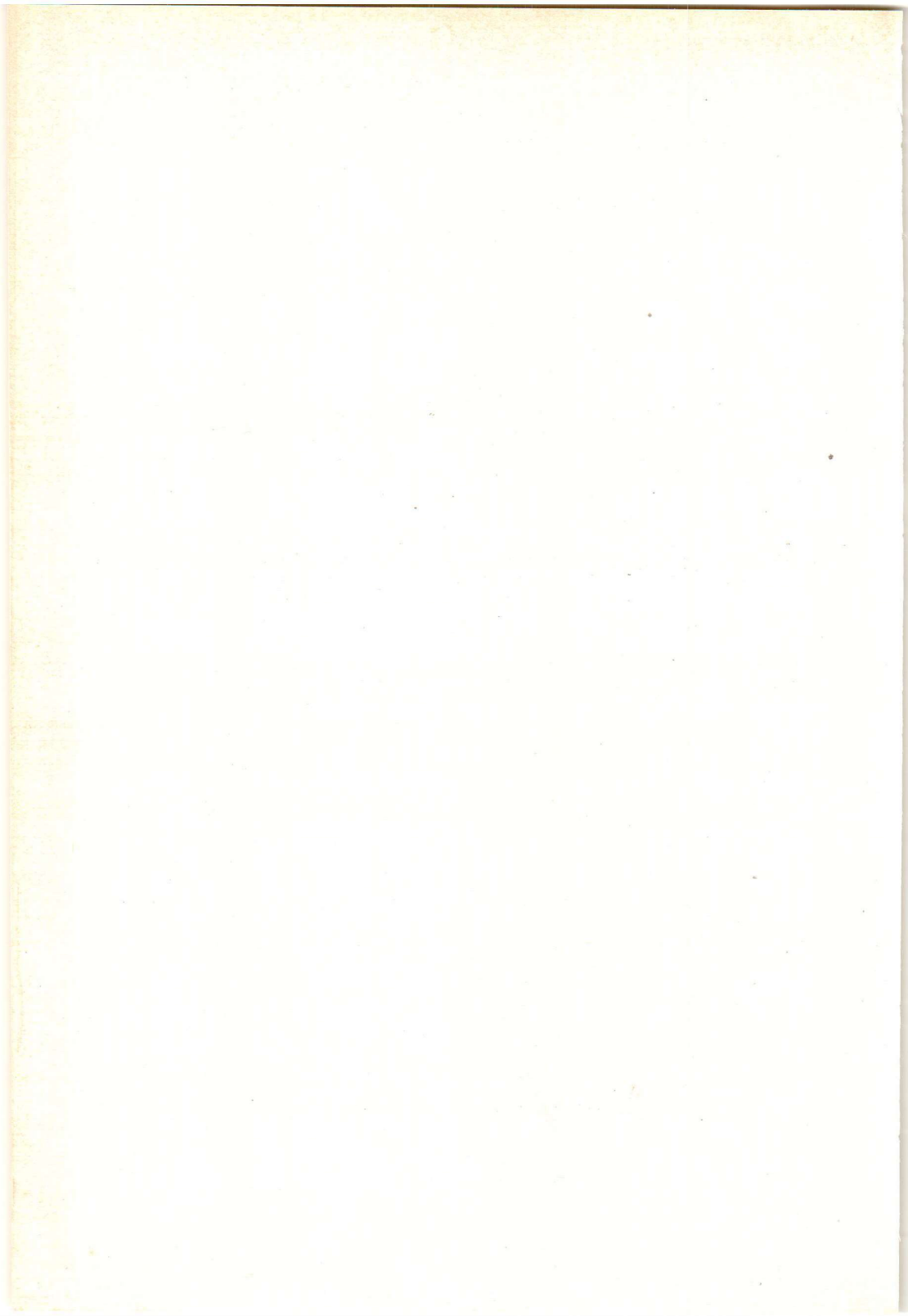




Slika 3. Krupna Heinzova tjelešca nastala djelovanjem hidroksilamina



Slika 4. Heinzova tjelešca izazvana djelovanjem p-fenilendiamina



Mi smo pokušali ponoviti pokuse Bratleya i suradnika upotrebljujući mjesto fenilhidrazina hidroksilamin kao toksični agens, a mjesto pseće uzeli smo ljudsku krv razrijeđenu 1 : 100 u fiziološkoj otopini. Uzimajući u pravilnim vremenskim razmacima uzorke otopine i promatrajući ih u visećoj kapi, mi smo nakon 45 minuta vidjeli, kako se tvorbe zaista stvaraju u eritrocitima na naprijed opisani način, ali na naše veliko iznenađenje, izlaze kroz intaktnu površinu stanice i smjesta netragom iščezavaju, čim nestaje spoja sa stanicom. Ubrzo zatim nestaje i stanica ili bolje, sjena stanice. No već nakon nekoliko minuta nijesmo mogli vidjeti istu sliku: tvorbe su se doduše i dalje stvarale, ali više nijesu izlazile iz stanice. One su bile mnogo manjeg opsega od onih, koje su izlazile, dok su na koncu u novim eritrocitima bile sasvim sitne, tako da su se napokon u kapi mogle razlikovati tri vrste stanica: krvne sjene, eritrociti s pojedinačnim većim tvorbama (= HT) i eritrociti posuti sitnim granulacijama, koje osobito na rubu jako lome svjetlo (= corpora marginalia ?). Kod tog smo promatranja opazili i to, da se tvorba ne kreće unutar eritrocita, već da se eritrocit, nošen strujom viseće kapi, uvijek okreće oko tvorbe, kao da je ona teža od njega, kao da ga priteže na jednu stranu.

Naša su iskustva zasada, dakako, premalena, da bismo mogli dati konačni sud o ovim zaista zanimljivim pojavama u visećoj kapi. Sigurno se i ovo zbivanje ravna po vrlo kompliciranim fizikalno-kemijskim zakonima, koje je nama zasada nemoguće preciznije ustanoviti ili slijediti, to više, što se vjerojatno uvjeti sami od sebe u raznim fazama pokusa mijenjaju.

Da li se zbivanja u visećoj kapi događaju i in vivo na jednaki način, teško je, dakako, kazati. »Oslobađanjem« Heinzovih tjelešaca iz propalih stanica nastat će mnoštvo ekstracelularnih tvorbi, »koje slobodno plivaju u plazmi«, a koje bi se — prema tome — redovno morale naći i u razmazima. Međutim, upravo je ta ekstracelularna pojava Heinzovih tjelešaca još uvijek sporna. Dok se u klasičnim opisima Heinzovih tjelešaca neprestano tvrdi, da se ona mogu naći i ekstracelularno, da izlaze iz eritrocita ili, štaviše, da ih eritrocit sam aktivno izbacuje, dotle *Moeschlin* (6) uporno brani svoje gledište, po kojemu je ekstracelularni nalaz isključivo arteficialnog uzroka: kod pravljenja razmaza mehanički se istisne tvorba iz oštećene stanice. Na temelju promatranja nativnog preparata u visećoj kapi zaključuje, da unatoč konstantnoj perifernoj lokalizaciji pa i izbočenju same stanice na tom mjestu, nijednom nije vidio, da bi se stvorena tvorba na bilo koji način odijelila od »matične« stanice, čak ni nakon 24 sata. *Gross* i suradnici (34) također nisu vidjeli kod promatranja eksperimentalno izazvanih maćih Heinzovih tjelešaca, da bi tvorbe u visećoj kapi, zagrijanoj na 37°, izlazile iz pogodnih eritrocita.

Međutim, unatoč protivnim tvrdnjama, *Braunsteiner* i suradnici su također opazili (46), (47), (48), da je moguće izlaženje Heinzovih

tjelešaca kroz neoštećenu membranu. Ispitujući odnos stanične membrane i Heinzovih tjelešaca u elektronskom mikroskopu, na naročito priređenim krvnim razmazima miševa otrovanih sulfanilamidom, oni su ustanovili, da su tjelešca zapravo promijenjena stroma eritrocita i da ona, ma da viskozija, zaista prolaze kroz intaktnu membranu upravo kao i sam hemoglobin. I *Cruz* (25) tvrdi, da Heinzova tjelešca mogu napustiti stanicu. Uostalom, izlaženje Heinzovih tvorbi iz eritrocita opaženo je već mnogo puta i kod kliničkih otrovanja, čak i u najnovijoj literaturi (37).

5. HEINZOVA TJELEŠCA IN VIVO

Tvrdi se, da postoje konstantne individualne razlike ne samo kod kliničkih otrovanja (49), već i kod pokusa s ljudskom krvi in vitro (6). Nesumnjivo je pak utvrđeno, da kod pokusa in vivo postoje izrazite *razlike prema speciesu* pokusne životinje. Općenito je na pr. opaženo, da je kod kunića mnogo teže izazvati Heinzova tjelešca nego kod mačke. Tako eritroltetranitrat u subletalnoj dozi ne izazivlje kod kunića ni kod majmuna Heinzova tjelešca uopće, dok i mnogo manja doza uzrokuje jak porast Heinzovih tjelešaca kod mačke (37). I morfološke varijacije mogu biti ovisne o speciesu (29). Tako je na pr. objavljeno (34), da male količine nitroglikola izazivlju multiple tvorbe kod psa i kunića, a solitarne kod mačke. Dalje, kod istih se mačaka, pod potpuno jednakim eksperimentalnim uvjetima mogu istodobno izazvati i fine punktacije i velike solitarne tvorbe, koje »prije nestaju iz cirkulacije« (50). Konačno, i brzina stvaranja Heinzovih tjelešaca također ovisi o speciesu. Isti otrov kod miševa treba 4 dana da izazove Heinzova tjelešca, a kod mačaka tek 20 minuta (6), (50). Jasno je, da kod tih eksperimenata na mačkama ne smijemo zaboraviti na prisustvo Schmauchovih tjelešaca, i možemo smatrati za pouzdane samo one zaključke, koji se temelje na komparativnim ispitivanjima mačje krvi neposredno prije i poslije eksperimenta.

Dalja sudbina oslobođenih Heinzovih tjelešaca in vivo također nije točno poznata. Zbog njihove otpornosti ona svakako preživljuju svoj eritrocit i krvnom strujom nošena vjerojatno dospjevaju u retikulo-endotelijalni sistem, gdje budu fagocitirana (34). Da kod toga neosporno važnu ulogu ima *slezena*, pokazali su već 1913. *Hess* i *Müller* (51) našavši brojna Heinzova tjelešca u makrofazima slezene kod štakora otrovanih pirodinom. Vena lienalis u tim slučajevima nije sadržavala ovih tvorbi. Zanimljivo je i jedno slučajno Schillingovo opažanje (36) otrovanja acetanilidom. Tu su tek nakon splenektomije, izvršene zbog sumnje na hemolitički ikterus, nađena brojna Heinzova tjelešca u eritrocitima. Pa već je i *Riess* (52), koji je prvi opazio kliničku pojavu tih tvorbi, kod obdukcije svoga drugog fatalnog slučaja otrovanja kalijevim kloratom (1908) kod patološko-

anatomskog pregleda slezene našao u njoj brojna slobodna tjelešca. I mnogi pokusi na životinjama su pokazali povećanje slezene kod eksperimentalnog izazivanja Heinzovih tjelešaca. Štaviše, kod zdravih, t. j. neotrovanih, splenektomiranih miševa mogu se spontano javiti Heinzova tjelešca (36), (53). Napokon je Schilling, a iza njega i mnogi drugi, pokazao, da splenektomirane životinje mnogo brže i mnogo više stvaraju Heinzova tjelešca nego nesplenektomirane. To je potvrđeno u najnovije vrijeme (1951) i pokusima na majmunima (24), za koje smo već spomenuli, da pokazuju izvjesnu otpornost prema izazivanju Heinzovih tjelešaca. Tako je došlo do mišljenja, da normalna slezena »čisteći« krv od senilnih i oštećenih eritrocita »filtrira« i one, koji sadržavaju Heinzova tjelešca. Pa i fiziološka pojava endogenih Heinzovih tjelešaca kod mačaka nastoji se protumačiti time, što kod starih životinja prevladavaju tobože katabolički procesi, a funkcija slezene postaje insuficijentna (54).

Prema podacima, koji potječu od raznih autora (14), (15), (24), (25), (33), (41), očito je, da je brzina nestajanja Heinzovih tjelešaca iz cirkulacije ovisna ne samo o koncentraciji i kemijskoj naravi otrova, već i o specijesu životinje. Heinzova tjelešca mogu zaostati u krvi otrovane životinje i nakon nestanka svih ostalih simptoma otrovanja (29).

Pojedini autori tvrde, da se i kod čovjeka može vidjeti pojava Heinzovih tjelešaca zbog nekog »endogenog« uzroka: kod malarije (36), kod kronične mijeloične leukemije, kod aplazije slezene te kod familijarnog hemolitičkog ikterusa (9). Moeschlin's pravom sumnja, da se kod svih tih nalaza doista radi o Heinzovim tjelešcima, to više što i sami autori kažu, da se kod raznih hipofunkcija i disfunkcija slezene, a naročito kod familijarnog hemolitičkog ikterusa mogu naći i brojna Jolly-Howellova tjelešca, što je, uostalom, i eksperimentalno kod životinja opaženo. Mi bismo dodali, da tu treba naročito uzeti u obzir i pojavu t. zv. siderocita, koji se upravo kod tih stanja, prema najnovijim istraživanjima, javljaju u naročito velikom broju nakon splenektomije.

Spontano nastajanje Heinzovih tjelešaca kod novorođenčadi (18), (55) također se dovodi u vezu sa slabom funkcijom slezene. Krivulja postnatalnog porasta tih tvorbi ukazuje na to, da je njihovo vladanje slično vladanju ostalih znakova poremetnji u prilagođivanju (Anpassungsstörungen). Opisan je i slučaj spontanog nastajanja Heinzovih tjelešaca kod nedonoščeta (101).

6. DJELOVANJE »KRVNIH OTROVA«

Od najveće je važnosti, međutim, pojava Heinzovih tjelešaca kod otrovanja t. zv. *krvnim otrovima*. Kako vidimo iz tablice 2, jedan cijeli niz takvih kemijskih spojeva što organskih, što anorganskih može da bilo in vivo ili in vitro, ili na oba ta načina, izazove taj

fenomen u crvenim krvnim tjelešcima. Jedan dio tih spojeva pojavljuje se u industriji eksploziva u obliku sirovina, međuprodukata i konačnih produkata (dinitroglikol, nitroglicerín, trinitrotoluol, dinitrobenzol). Drugi dio su poznati lijekovi, koji su se nekada mnogo upotrebljavali (antifebrin, sulfanilamid, sulfapiridin) ili se još upotrebljavaju (fenilhidrazin, nitroglicerín, eritroltetranitrat). Jedan je spoj kozmetička supstancija, koju naročito rado upotrebljavaju za bojadisanje kose, osobito pod poznatim tvorničkim imenom »Imedia« (p-fenilendiamin). Treba spomenuti i anilin, koji je izlazna supstancija u proizvodnji poznatih anilinskih boja. Tu vidimo i naftalin, omiljeno kućno sredstvo protiv moljaca. Historijsko mjesto pripada kalijevu kloratu i fenilhidrazinu. Kod otrovanja prvim opažena su prvi put Heinzova tjelešca, a s drugim su prvi put eksperimentalno izazvane i točno opisane te tvorbe. Na ovoj tablici, međutim, nabrojene su samo praktički najvažnije supstancije. Ipak, među svim ovim otrovima vidimo i jednu fiziološku supstanciju, vitamin C, koja također može — dakako samo in vitro — izazvati Heinzova tjelešca (56). Od čisto teoretske važnosti je izazivanje Heinzovih tjelešaca kobaltom (33) i stibinom (SbH₃) (57).

TABLICA 2
Supstancije koje izazivaju stvaranje Heinzovih tjelešaca*

Kemijski spoj	In vivo		In vitro
	čovjek	životinja	
Acetanild (antifebrin)	+		
Acetilfenilhidrazin (pirodin)	+	+	+
p-Aminobenzojeva kiselina			
p-Aminofenol			
Anilin	+	+	—
Arsenovodik			+
Askorbinska kiselina	—	—	+
Dimetildiaminodifenilsulfon	+		
m-Dinitrobenzol	+	+	
Dinitrotoluol	+		
Eritroltetranitrat	+	+	
Etilnitrit		+	
Etilaminbenzoat			

Kemijski spoj	In vivo		In vitro
	čovjek	životinja	
Fenilendiamin	+	+	+
Glikol dinitrat		+	
Hidroksilamin		+	+
Kalijev klorat	+		-
Ksilidin		+	
Manitol heksanitrat		?	
Natrijev nitrat		+	
Natrijev nitrit		+(?)	
Naftalin	+	+	
Nitrobenzol	+	+	
Nitroglicerol	+	+	
Sulfanilamid	+	+	+
Sulfapiridin	+	+	+
Toluilendiamin	+	+	
Trinitrobenzol		+	
Trinitrotoluol	+	+	

* Za neoznačena mjesta u pojedinim rubrikama na tablici nedostaju podaci. Djelomično je tome uzrok nedovoljno ispitano djelovanje kemijskog spoja, a djelomično manjak originalnih publikacija.

Najveći dio tih spojeva predstavlja, dakle, važnu grupu nitrogenih supstancija, koje su od velike praktične koristi za čovjeka i, prema tome, čovjek neminovno dolazi s njima u opasni kontakt. Poznavanje sudbine tih spojeva u živom organizmu zbog toga je vrlo važno za razumijevanje mehanizama, po kojima ti spojevi izazivlju toksičko djelovanje na čovjeka. Heinzova tjelešca su bez sumnje jedan od najpristupačnijih morfoloških znakova toga djelovanja. No, iz *v. Oettingenova* pregleda svjetske literature o amino spojevima i nitro-spojevima (97) vidimo, da se Heinzovim tjelešcima do 1941. g. obraćala vrlo mala pažnja.

Početak *eksperimentalnog* izazivanja Heinzovih tjelešaca pripada još u prošlo stoljeće. Nakon što je 1875. E. Fischer sintetizirao *fenilhidrazin*, taj derivat anilina se naročito rado upotrebljavao u istraživanjima o razgradnji eritrocita zbog njegova zanimljivog fiziolo-

škog vladanja, a osobito zbog njegova jakog destruktivnog djelovanja na crvena krvna tjelešca. Osobitu je pažnju kod toga privukla pojava Heinzovih tjelešaca. Sam Heinz je u početku smatrao te tvorbe upravo patognomičnim za otrovanje fenilhidrazinom i njegovim derivatima. Intoksikacije opažene kod kliničke upotrebe pirodina (acetilfenilhidrazina) bile su dalji povod, da se taj fenilhidrazinov derivat počeo upotrebljavati kao agens eksperimentalnih hemolitičkih anemija i izazivač Heinzovih tjelešaca (23), (25), (32), (46), (51), (58 i drugi). Konačno je najveća važnost pripala fenilhidrazinu, kada ga je Eppinger 1918. uveo u terapiju policitemija. Međutim, nakon nekoliko vrlo vrijednih radova zanimanje je za sama Heinzova tjelešca, na žalost, ubrzo opet palo u zaborav. Zasluga je Moeschlinova, da je kod proučavanja toksikologije sulfamida ponovo oživio interes za te tvorbe. Kako je poznato, već su se kod liječenja prontosilom (Prontosil album), a kasnije i sulfanilamidskim i sulfapiridskim preparatima, opazile opasne *hemolitičke anemije*. Kod njih se, pored kliničkih znakova intoksikacije, redovno mogao naći i velik procenat Heinzovih tjelešaca u krvi. Tu je činjenicu iskoristio Moeschlin (50), (60) za određivanje toksičnosti pojedinih preparata, te je eksperimentima na miševima ustanovio, da sulfanilamid izazivlje najjače stvaranje Heinzovih tjelešaca, sulfapiridin nešto manje, a sulfatijazol uopće ne stvara tih tvorbi. On zaključuje: ako jedan preparat ni u najvećim dozama ne izazivlje kod životinja stvaranje Heinzovih tjelešaca, on ne će ni klinički izazvati hemolitičke anemije. Prema procentu Heinzovih tjelešaca on određuje i stupanj otrovanja.

Stupanj otrovanja	Procenat Heinzovih tjelešaca	Značenje	Potrebno je
I.	do 20	—	—
II.	20—50	Opasnost hemolitičke anemije	Stalna kontrola hemograma
III.	preko 50	Teška hemolitička anemija	Transfuzija krvi

I sa sulfamidima se mogu in vitro izazvati Heinzova tjelešca (6), (9), (57), ali zbog velikih individualnih varijacija taj način eksperimentalnog ispitivanja nije prikladan za određivanje toksičnosti. *Lambrechts* i suradnici (20), (21), (22) nijesu uopće mogli ustanoviti nastajanja Heinzovih tjelešaca in vitro djelovanjem sulfamida.

Interesantno je spomenuti, da je usprkos brojnim navodima, da sulfatijazoli ne izazivlju Heinzova tjelešca, prošle godine (1950) u Beču prikazan slučaj kliničke upotrebe sulfatijazola, kod koje je

ipak došlo do stvaranja Heinzovih tjelešaca (61). Čudno je, međutim, da autor nije uzeo u ozbiljno razmatranje činjenicu, da je pacijent bio po zanimanju vlasuljar i da je, prema tome, mogao biti eksponiran i p-fenilendiaminu.

Klinička otrovanja, kod kojih je navedeno i prisustvo Heinzovih tjelešaca u eritrocitima, zapravo su relativno izvanredno rijetka s obzirom na broj opisanih otrovanja, kod kojih bi se te promjene mogle očekivati. Webster je iz cjelokupne literature do 1949. (33) sabrao jedva dvadesetak takvih publikacija. Sigurno je, da se kod mnogih kliničkih intoksikacija još ni danas ne obraća potrebna pažnja hematološkom dokazivanju Heinzovih tjelešaca. Dijelom je to zbog toga, što su te tvorbe i njihovo kliničko značenje nedovoljno poznate, a dijelom i zbog nepouzdanosti dosadašnjih metoda prikazivanja. Međutim, moramo istaknuti, da su Heinzova tjelešca dragocjen putokaz u diferencijalnoj dijagnozi hemolitičkih stanja.

Među otrovanjima popraćenim prisustvom Heinzovih tjelešaca najbrojnija su terapijska i profesionalna. Poznata su i slučajna otrovanja kod djece ingestijom raznih boja (olovke, igračke), paste za cipele, naftalinskih kuglica i t. d.

Kazuistika *profesionalnih otrovanja* otrovima, koji izazivlju Heinzova tjelešca, već je dosta obilna te se na ovom mjestu neću na njoj zadržati. Dovoljno je, mislim, istaknuti, da je upravo profesionalni kontakt sa supstancijama, koje izazivlju stvaranje Heinzovih tjelešaca, za nas, dakako, od goleme važnosti, jer je obično najjači i stoga najopasniji. Kako smo već spomenuli, najčešća su otrovanja u industriji eksploziva. Za prošloga rata je ispitivanje Heinzovih tjelešaca korisno poslužilo kod periodičkih pregleda radnika zaposlenih u industriji eksploziva (7), (62), ugroženih raznim nitro-spojevima, naročito trinitrotoluolom (26), (27) i nitroglikolom (34). No gotovo sa svim supstancijama, koje su na tablici iznesene, može doći do profesionalnog kontakta. Jasno je, dakle, da kod nadziranja zdravlja ugroženih radnika Heinzova tjelešca imaju nezamjenjivu vrijednost, jer su jedan od najodlučnijih znakova opasne ekspozicije.

Prema našem mišljenju Heinzova tjelešca imaju veliko značenje i u onom dijelu toksikoloških ispitivanja, koja proučavaju *metabolizam otrova*. Već je davno poznato, da na pr. anilin izazivlje sporo, ali jako stvaranje Heinzovih tjelešaca in vivo, no nikada in vitro. Međutim, jedan od njegovih glavnih metabolita, paraaminofenol, izazivlje Heinzova tjelešca i in vitro i in vivo. Prema tome bi se moglo, dakle, zaključiti, da je u metabolizmu anilina p-aminofenol onaj, koji je — bar što se tiče toksičkog djelovanja na eritrocitima — odgovoran za otrovnost anilina. Ono što vrijedi za anilin, vjerojatno će vrijediti i za mnoge druge supstancije, kojih je metabolizam u tijelu ostao potpuno neistražen i nepoznat.

7. MIKROKEMIZAM I CITOKEMIJSKA LOKALIZACIJA
HEINZOVIH TVORBI

Čim je postalo jasno, da se Heinzova tjelešca mogu eksperimentalno izazvati relativno jednostavnim kemijskim zahvatima, veliko je zanimanje pobudilo pitanje njihova mikrokemizma, to više, što se činilo vrlo vjerojatno, da se radi o promjeni fiziološki toliko važne supstancije — hemoglobina.

Činjenica, da je prisustvo Heinzovih tjelešaca uvijek popraćeno *opadanjem hemoglobina*, da ga pojedini pogođeni eritrociti postepeno gube, »tako da konačno zaostaju još samo Ponfickove sjene« (62), dovela je Ehrlicha do zaključka, da Heinzova tjelešca sadržavaju hemoglobin te ih je zato i nazvao »hämoglobinämische Innenkörper«. Međutim, kada je ustanovljeno, da Heinzova tjelešca ne hemoliziraju (32), (63), (64), tek tada je bilo omogućeno njihovo izoliranje, a time i točnije analitičko ispitivanje. Tako je već 1912. uspjelo dokazati (32), (63), da Heinzova tjelešca sadržavaju neku bjelančevinu kao glavnu sastavinu, zatim jedan difosfatid, neznatnu količinu kolesterina i u tragovima jedan derivat hemoglobina, koji posjeduje dvovaljano željezo. Kasnije je nađeno da su »čista« Heinzova tjelešca smeđe boje i da su vrlo otporna: otapaju se samo u koncentriranoj solnoj kiselini, a tek nešto malo i u dušičnoj; pepsin sa solnom kiselinom ih probavlja, ali tripsin ne (34). Izoelektrična točka za Heinzova tjelešca postavljena je kod pH 5,4 (66). Utvrđeno je dalje, da Heinzova tjelešca imaju svojstva jedne amfoterne bjelančevine (67). Kasnije su ti nalazi s više strana potvrđeni, tako da je danas proteinska narav tih tvorbi nesumnjiva, pa je gotovo sigurno, da su Heinzova tjelešca dijelovi oštećene stanične bjelančevine. No još uvijek nije riješeno porijeklo te bjelančevine. Da ona nije kariogena, bilo je već očito po tome, što Heinzova tjelešca i jezgra normoblasta imaju različite karakteristike bojadisanja. To je u najnovije vrijeme (1950) dokazano i fermentno-kemijskim putem: ni dezoksiribonukleaza (ferment, koji razgrađuje dezoksiribonukleoprotein, iz kojeg su građeni membrana i kromatin jezgre), ni ribonukleaza (ferment, koji razgrađuje ribonukleoprotein, iz kojeg je građen nukleolus) ne razgrađuju Heinzova tjelešca (18).

Schilling (36) nalazi Heinzovim tjelešcima posebno mjesto u svojoj anatomskoj shemi idealne građe eritrocita te smatra, da su tvorbe svrsishodna promjena jednog prethodno modificiranog perifernog dijela eritrocita, »jedne važne stanične organele, koja se nalazi u arhoplazmi stanice«, a koju je on, prema njenom obliku, nazvao »kapsularnim tjelešcem«. Kod nekih je otrovanja to tjelešce prožeto »jednom naročitom vrsti hemoglobina, koja je otpornija«, jače lomi svijetlo i time postaje pristupačnija tehničkom prikazivanju. I *Günther* (68) u Hirschfeld-Hittmairovoj Hematologiji, u poglavlju o unutarnoj strukturi eritrocita, prilazeći nesigurno tom problemu, smatra »unutarnja tjelešca« znakom abnormalne endo-

globularne raspodjele hemoglobina: unutarnja struktura može biti poremećena tako, da se u eritrocitu odjeljuje jedna vanjska zona od jedne unutarnje. Tvorbe nastale takvim odjeljivanjem hemoglobina mogu izazvati i razni »krvni otrovi«, a »samo su djelomično identične s Heinzovim tjelešcima«. *Gutstein* i *Wallbach* (16) razlikuju »Innenkörper« i »Innenkörperchen« te drže, da su »Innenkörperchen« zapravo Schillingova »staklasta tijela« (Glasskörper), a ujedno i preformirana Heinzova tjelešca. Konačno u novije vrijeme i *Gajdos* i *Tiprez* (56) misle, da se Heinzova tjelešca stvaraju na naročitoj frakciji hemoglobina, i to na onoj, koja je najosjetljivija, na t. zv. »inaktivnom hemoglobinu« Polonovskog i Santenoise-a.

Cinilo bi se, dakle, da je zaista pogodeno jedno preformirano mjesto u eritrocitu [»teorija preegzistencije« (33)], koje je i pod drugim okolnostima sklonu degenerativnim promjenama. No još uvijek ostaje neriješeno pitanje, koje je to mjesto, t. j. da li patološka promjena pogađa strukturni protein, stromatin ili protein krvne boje, globin. Budući da se Heinzova tjelešca, kao i lipoidi, tope u alkoholu, *Jasinski* (65) pretpostavlja, da su ona toksično-degenerativna promjena jednog lipo-proteinskog kompleksa.

Heubner (69) je na temelju Jungovih istraživanja elektronskim mikroskopom došao do zaključka, da su Heinzova tjelešca izraz oštećenja stanične membrane. *Braunsteiner* i suradnici (48) tvrde također na temelju proučavanja Heinzovih tjelešaca u elektronskom mikroskopu (1950), da Heinzova tjelešca nijesu dijelovi oštećene stanične membrane već strome eritrocita. Njihova tvrdnja, međutim, nije dosta uvjerljiva, jer je donesena na temelju eksperimenata vršenih s jednom jedinom kemijskom supstancijom (Irgafen = sulfanilamid) i jednom jedinom životinjskom vrstom (miševi). *Jung* (18), (29) je, naprotiv, sistematski ispitivao razne supstancije, razne koncentracije i razne životinjske vrste, pa je na osnovu takvih ispitivanja došao do zaključka, da Heinzova tjelešca nijesu jedinstvene tvorbe. Stoga ih on ni ne naziva Heinzovim tjelešcima, već samo »toksičkim promjenama eritrocita« tvrdeći, da njihov oblik i lokalizacija ovise isključivo o načinu trovanja i o vrsti pokusne životinje. *Jung* dijeli te tvorbe u tri grupe: u prvoj su grupi tjelešca, koja se vide kod otrovanja aromatskim nitrospojevima i esterima dušične kiseline. U toj su grupi membrane oboljelih stanica normalne, osmotska je rezistencija nepromijenjena. U drugu grupu pripadaju tvorbe, koje nastaju djelovanjem fenilhidrazina, arsenovodika i kalijeva klorata. Njihova je glavna karakteristika, što sadržavaju i veće količine krvne boje, pojavljuju se gotovo uvijek u grupama i ne dostižu veličinu tvorbi iz prve grupe. Ovdje osmotska rezistencija opada, stanice bubre i spontano hemoliziraju. Obaranje hemoglobina popraćeno je i alteracijama membrane. U trećoj grupi, djelovanjem fenilendiamina, ne nastaju nikakva posebna tjelešca; eritrocit najprije dobije vrlo fina zrnca, a zatim vrlo brzo hemolizira. Elektronskim se mikroskopom tu može dokazati potpuno uništenje membrane. *Jung* na

koncu zaključuje, da razlike u djelovanje pojedinih otrova nastaju tako, da je jednom pogoden više hemoglobin, a drugi put više bjelančevina strome. U jednom se i u drugom slučaju zbog djelovanja nokse bjelančevina obara, denaturira. Ponder (70) drži, da su Heinzova tjelešca u »intaktnoj« (misli, valjda, još nehemoliziranoj?) stanici denaturirani globin, koji on naziva *globan*. Ta se mišljenja potpuno slažu s nalazima, do kojih su došli Warburg i suradnici (99) proučavajući kemizam, a ne morfološke promjene eritrocita kod životinja trovanih fenilhidrazinom. Ne spominjući uopće Heinzova tjelešca, oni su našli, da eritrociti otrovanih životinja sadržavaju neku netopljivu supstanciju, koja je po svojim fizikalnim svojstvima i analitičkom sastavu identična s denaturiranim globinom. Količina te supstancije u direktnom je kvantitativnom omjeru s količinom razorenog hemoglobina.

Jungovim se zapažanjima mogu opravdati ne samo razni zaključci i oprečni rezultati u literaturi, nego i onaj polimorfizam tvorbi, kojeg smo i mi našli kod pokusa *in vitro*. Osim toga postaje vjerojatnom Ehrlichova pretpostavka, koju je on postavio još prošlog stoljeća, da su, naime, Heinzova tjelešca »samo izvjesni stadiji propadanja eritrocita«. Konačno, Jung je prvi pokušao određivati specifičnost morfoloških reakcija na djelovanje pojedinih otrova. Njegova zapažanja su prema tome temelj daljih morfoloških istraživanja Heinzovih tjelešaca u eksperimentalnoj toksikologiji.

8. BIOLOŠKO ZNACENJE HEINZOVIH TJELEŠACA

Najveći interes pa čak i naučne polemike izazvalo je pitanje *kemijskih promjena hemoglobina* u vezi s nastajanjem Heinzovih tjelešaca. Upadna činjenica, da gotovo svi otrovi, koji izazivaju stvaranje Heinzovih tjelešaca, mogu izazvati i stvaranje *methemoglobina*, dovela je do brzog i prenagljenog zaključka, da postoji kauzalna veza između *methemoglobina* i Heinzovih tjelešaca. Već je Ehrlich na temelju toga pretpostavio, da je »otpornija forma« hemoglobina možda *methemoglobin*, a Schilling se požurio da zbog toga Heinzova tjelešca i nazove »*methämoglobinämische Innenkörper*«, pa je čak u jednom slučaju i našao, da Heinzova tjelešca sadržavaju — *methemoglobin*. Štaviše, on je o toj vezi toliko uvjeren, da smatra, da je nalaz Heinzovih tjelešaca klinički ekvivalentan dokazu *methemoglobina*.

Kako smo već vidjeli, stvaranje Heinzovih tjelešaca je ovisno o speciesu, naročito s obzirom na broj i izgled tvorbi. Stvaranje *methemoglobina* također ovisi o speciesu: dok su kunići, kao i sva herbivora, naročito otporni prema stvaranju *methemoglobina*, dotle su mačke izvanredno osjetljive (71), (72), (73). Lester (74) je poredao životinje prema toj osjetljivosti ovim redom: mačka, čovjek, pas, štakor, dok kunić i majmun praktički uglavnom uopće i ne stvaraju

methemoglobin. Te razlike u speciesu naročito su lijepo jednim pokušom pokazali *Jung* i *Gelinsky* (75). Oni su intravenozno uštrcali mačkama, štakorima i kunićima vlastite eritrocite, kojih su hemoglobin prethodnim postupkom pretvorili u methemoglobin. Našli su, da je redukcija methemoglobina nastala vrlo brzo kod kunića, a vrlo sporo kod mačaka, dok je vrijeme redukcije kod štakora bilo točno u sredini. Nema, na žalost, bar koliko je nama poznato, ni jedne radnje o uporednim nalazima Heinzovih tjelešaca i methemoglobina kod spomenutih životinjskih vrsta. Ipak se, prema sakupljenim podacima iz literature, čini, da stvaranje Heinzovih tjelešaca ide točno istim redom kao i osjetljivost prema stvaranju methemoglobina na spomenutoj Lesterovoj ljestvici (76), (98). Štaviše, upravo je kod mačke, za koju znamo da i »fiziološki« posjeduje Heinzova tjelešca, nađeno (77), da i »normalno« ima »neočekivano visok« procenat methemoglobina (srednja vrijednost 19 ispitanih životinja iznosi 1 g na 100 ccm svježe krvi ili 8,6% od cjelokupne količine hemoglobina). Prema tim iskustvima na životinjama činilo bi se, dakle, očito, da su methemoglobin i Heinzova tjelešca u direktnoj međusobnoj ovisnosti.

Tu je tezu u kliničkoj toksikologiji naročito uporno branio Moeschlin. U početku sulfamidne ere opazilo se, da razni sulfanilamidski i sulfapiridinski preparati imaju i toksičke efekte klinički izražene jakom *cijanozom*, a hematološki *hemolitičkom anemijom* uz prisustvo Heinzovih tjelešaca. Budući da je kod takvih otrovanja *spektroskopski* uvijek utvrđen i methemoglobin, smatralo se, da su Heinzova tjelešca neposredna posljedica stvaranja methemoglobina, štaviše, da su ona morfološki znak methemoglobinemije. Takva su se klinička stanja počela nazivati »anemijama zbog stvaranja methemoglobina« [*»Innenkörperanämie durch Methämoglobinbildung«* (59)], pa su se takvom klasifikacijom počeli služiti i autori hematoloških udžbenika (78).

Protiv takvog naziranja oštro je ustao *Heubner* (5), (79), koji je na čelu sa svojom školom najzaslužniji za proučavanje mehanizma nastajanja methemoglobina. On dopušta da Heinzova tjelešca i methemoglobin mogu biti istovremeno prisutni, ali tvrdi, da među njima nema nikakve kauzalne veze. Svoje stajalište *Heubner* opravdava:

1. Činjenicom, da su Heinzova tjelešca ireverzibilna promjena, dok je stvaranje methemoglobina, kako je poznato, reverzibilan proces.

2. Ima otrova, koji vrlo jako stvaraju methemoglobin, ali ne izazivaju Heinzova tjelešca.

3. Kod kunića se ipak, iako teško, mogu izazvati Heinzova tjelešca, a da kod toga ne nastaje pigment s apsorpcijskim crtama u spektru, karakterističnim za methemoglobin, kako je to već i *Heinz* opazio.

Heubner se naročito obara na izraz »toksičke hemolitičke anemije zbog stvaranja methemoglobina«. Kao dokaz neispravnosti tog izraza navodi radove svojih učenika, koji su pokazali, da natrijev nitrit ni u najjačim dozama ne izaziva anemije, iako velik dio hemoglobina pretvara u methemoglobin. V. Issekutz (80) je pokazao, da i kod najjačeg stvaranja methemoglobina cjelokupna količina krvne boje u vrijeme trovanja i nakon njega ostaje ista. Proučavajući toksikologiju ksilidina u eksperimentima na životinjama v. Oettingen (98) nije našao nikakav pravilan odnos između stupnja methemoglobinemije i procenta Heinzovih tjelešaca. Odnos methemoglobina i Heinzovih tjelešaca kod kliničkih otrovanja anilinom pratili su Jusinski (65) i 1951. talijanski autori Ghiringhelli i Molina (81). Oni su opazili, da broj Heinzovih tjelešaca u krvi otrovanih ljudi raste unatoč stalnom opadanju i konačnom nestanku methemoglobina. Pokušima na psima provjerili su ta klinička iskustva i došli do istog zaključka.

Međutim, dakako, ostaje ipak neosporna činjenica, da kod trovanja popraćenih Heinzovim tjelešcima nastaju *hemolitičke anemije*, kojih je stupanj u direktnom omjeru s procentom pogođenih eritrocita. Heubner to tumači ovako (5):

»Osim relativno neznatnih promjena (t. j. stvaranja methemoglobina), kemijska struktura molekule hemoglobina može biti pogođena i jednim dubljim zahvatom, koji ide istim onim putem, kojim se kreće i normalna, fiziološka razgradnja krvne boje. Kod toga se, umjesto četiri pirolske jezgre i četiri mosta s atomom ugljika, stvara opruženi lanac (danas se može dodati: »... ili otvoreni prsten« [naša opaska]) i dalje sa četiri pirolve jezgre, ali sada samo sa tri mosta. Nekim je, dakle, oksidativnim procesom izbijen jedan ugljikov atom. Izbijanje jednog ugljikovog atoma je ipak sasvim nešto drugo nego oksidacija dvovaljanog željeza na trovaljano: ugljikov se atom, naime, ne da samo tako lako ubaciti natrag u jednu tako kompliciranu molekulu, čak ni u kemičarskoj epruveti, a kamo li u živom organizmu.«

Ta je promjena, dakle, ireverzibilna i neizbježno dovodi do konačnog propadanja molekule hemoglobina. Nastali se produkt, prema tome, bitno razlikuje i sasvim se drugačije vlada nego methemoglobin, jer neminovno podliježe daljoj razgradnji, dok se methemoglobin normalnom funkcijom organizma neprestano reducira i potpuno regenerira u oksihemoglobin.

Čisti produkti, nastali oksidativnim cijepanjem porfirinskog prstena, nazivaju se *verdohromogenima* [»verdo« zato, što su to supstancije zelene boje, a »hromogeni« — iz opreza, da se pobljže ne označi nejasna narav partnera prostetične grupe (69)] ili *verdoglobinima* (ako je partner ostao nepromijenjena bjelančevina). Ima više takvih verdohromogena, koji raznim postupcima mogu nastati *in vitro*. Jedan je od njih poznat i kliničarima, jer nastaje i *in vivo*, a nazivaju ga *sulfhemoglobin*; on je to ime po tome dobio, što se

može in vitro izazvati djelovanjem sumporovodika. Da li je novo-nastali pigment spoj hemoglobina i sumpora, danas je još sporno pitanje. Kemičari ga zovu »Verdoglobin S« (82), jer je u međuvremenu postalo jasno, da je bar u tom spoju bjelančevinski dio krvne boje ostao potpuno nepromijenjen.

Doista, istraživanja sa *spektralnim fotometrom* ubrzo su pokazala, da se i nakon uklanjanja methemoglobina u krvi otrovanih životinja u prisustvu Heinzovih tjelešaca još uvijek mogu naći u crvenom dijelu spektra apsorpcijske crte specifične za prisustvo zelenih pigmenata — verdoglobina. Uzmemo li u obzir, da se apsorpcijske crte methemoglobina i verdoglobina nalaze vrlo blizu jedna drugoj (za methemoglobin kod 630 milimikrona, a za verdoglobin kod 615—628 milimikrona), onda nam postaje sasvim jasno, zašto je običnim spektroskopskim ispitivanjem prisustvo zelenih supstancija moglo ostati nezapaženo. No ono, što je, dakle, izbjeglo oku, nije moglo izbjeći osjetljivijem fotometru. Kod djelovanja nekih »krvnih otrova« fotometrijska su ispitivanja redovno pokazala prisustvo verdoglobina. U eksperimentalnoj se toksikologiji i opet pokazao kao najaktivniji stvaralac verdoglobina fenilhidrazin i njegov jednako aktivni derivat acetilfenilhidrazin (pirodin); za obje te supstancije već znamo, da vrlo jako stvaraju i Heinzova tjelešca. Pa i klinička su opažanja sve više ukazivala na cijanoze uzrokovane »sulfhemoglobinemijom« kao toksičkom posljedicom djelovanja sulfanilamidskih preparata.

Zbog svega toga *Heubner* (5) zaključuje, da mimo stvaranja »relativno nedužnog methemoglobina« duljim djelovanjem izvjesnih otrova može nastati i *teško oštećenje eritrocita*, koje se kemijski manifestira pojavom verdoglobina, a morfološki pojavom Heinzovih tjelešaca. Za same Heinzove tvorbe *Heubner* misli, da »možda znače promjenu na ostatku bjelančevine hemoglobina« uz istovremenu pretvorbu hemoglobina u verdoglobin.

Nakon toga *Heubnerova* priopćenja nastaje zanimljiva naučna polemika (79), (83), u kojoj *Moeschlin*, braneći i dalje svoje stajalište o kauzalnoj vezi methemoglobina i Heinzovih tjelešaca, tvrdi (6), da je nitritom ipak uspio, iako u neznatnoj mjeri, izazvati kod miševa Heinzova tjelešca. Osim toga, za dalji dokaz te veze, *Moeschlin* upozorava (60) na prisustvo *porfirinurije* kod sulfanilamidskih hemolitičkih »Innerkörper«-anemija. Taj porfirin ne može, dakako, biti posljedica nastajanja verdoglobina, jer porfirin ima sva četiri mosta intaktna i sva četiri ugljikova atoma prisutna, dok verdoglobin, kako smo vidjeli, ima samo tri mosta i samo tri ugljikova atoma na preostalim mostovima.

Što se tiče nitrita, *Heubnerov* je učenik *Pulina* (84) dao nepo- bitne dokaze, da oni nikada ne izazivaju Heinzova tjelešca, već to rade od nitrita u tijelu nastale neznatne količine nitrata. U živom organizmu, dakle, nitriti ne djeluju dalje, već samo do methemoglobina (5). Time se konačno *Moeschlin* (83) zadovoljava i potpuno

napušta svoje pređašnje gledište priznavajući u cijelosti Heubnerove zaključke. Zanimljivo je, da se taj završeni i riješeni spor oko odnosa nitrita, Heinzovih tjelešaca i anemije ponavlja — ma da ne u obliku polemike — u najnovije vrijeme u američkoj literaturi. *Finch* (85) i *Webster* (33), (57) zastupaju mišljenje, da se Heinzova tjelešca i anemija mogu izazvati djelovanjem nitrita. No i tamo je to mišljenje konačno ove godine (1951) oboreno (86).

Nastajanje *porfirina* kod Moeschlinovih hemolitičkih »Innenkörper«-anemija mi tumačimo ovako:

Tako dugo, dok je methemoglobin unutar intaktnog eritrocita, on se ne razgrađuje nego se, štaviše, stalno reducira, t. j. hemoglobin se regenerira. No ako su uz methemoglobin prisutna i Heinzova tjelešca — to već znači oštećenje, t. j. dezintegraciju stanice. Čim je eritrocit oštećen, iz njega hemolizom izlazi krvna boja, u ovom slučaju methemoglobin, koji se tek onda, oslobođen, razgrađuje u plazmi, i to, kako je poznato, preko *porfirina* (87), (88). Otud, dakle, nastaje *porfirinurija*. Drugim riječima: jedan će »krvni otrov« tek onda izazvati *porfirinuriju*, ako uz stvaranje methemoglobina oštećuje i stromu eritrocita, a to će se pokazati pojavom Heinzovih tjelešaca, hemolizom i konzekventnom anemijom. Nitriti stvaraju methemoglobin, ali ne oštećuju strome [bar ne strome normalnih eritrocita (89)]: nema, dakle, Heinzovih tjelešaca, nema anemije, nema *porfirinurije*. A svi oni otrovi, koji stvaraju i methemoglobin i Heinzova tjelešca — dovode i do anemije i do *porfirinurije*. U prilog našeg tumačenja govore dvije najnovije radnje iz 1951. U prvoj od njih (81) se na temelju kliničkih iskustava tvrdi, da kod otrovanja anilinom stupanj anemije ne stoji ni u kakvom omjeru prema nivou methemoglobina, dok je u očitj vezi s brojem Heinzovih tjelešaca. U drugoj radnji *Clark* i *Morrissey* (86) nisu mogli izazvati anemiju kod pasa, kod kojih su dnevnim dozama natrijeva nitrita podržavali dugotrajnu kroničnu methemoglobinemiju. Oni zaključuju, da je »stvaranje methemoglobina nezavisian efekt, a ne dio hemolitičkog djelovanja izvjesnih kemijskih agensa«.

U toku su radovi, kojima ćemo pokušati eksperimentalno dokazati takvo tumačenje. Uostalom, već i jedno naše kliničko iskustvo pokazuje, da bi to shvaćanje moglo biti ispravno. Ispitivanjem jednog slučaja t. zv. *idiopatske kongenitalne methemoglobinemije* nijesmo našli patološke *porfirinurije*, a niti anemije (već, naprotiv, poliglobuliju!) unatoč visokom procentu methemoglobina. No u tom slučaju nije bilo također ni tragova Heinzovih tjelešaca (90), a ni bilo kojih drugih znakova oštećenja eritrocita. Te smo nalaze mogli nedavno potvrditi na još jednom slučaju kongenitalne methemoglobinemije. Ti slučajevi potpuno opravdavaju *Hitzenbergerov* (9) naziv za ova stanja: »intraglobularna methemoglobinemija«, jer se tu methemoglobin uopće ne pojavljuje ekstracelularno, on se, dakle, ni ne razgrađuje i zbog toga ne će biti ni *porfirinurije*. Patološka je promjena prema tome samo u krvnoj boji, ali ne u eritrocitu, jer on

ostaje intaktan, ne propušta svoj sadržaj napolje ni onda, kada je to patološki promijenjen hemoglobin — methemoglobin. Ti klinički slučajevi mogu, dakle, vrlo dobro poslužiti kao prilog Heubnerovoj tvrdnji, da Heinzova tjelešca i methemoglobin ne stoje u kauzalnoj vezi. Međutim Heinzova tjelešca nijesu ni s verdoglobinom u takvoj vezi. Ubrzo nakon takve pretpostavke Heubner napušta svoju hipotezu. Radovi njegovih učenika (50), (84) pokazali su, naimc, da su Heinzova tjelešca mnogo češća pojava nego stvaranje verdoglobina: ima mnogo otrova, koji izazivaju Heinzova tjelešca, ali nikada ne izazivaju verdoglobin. Te dvije pojave su jedna od druge potpuno nezavisne, zajedničko im ostaje jedino — oksidativni karakter u mehanizmu njihova nastajanja.

Jedan otrov ili njegovi metaboliti mogu, dakle, uzrokovati ili stvaranje methemoglobina, ili Heinzova tjelešca, ili verdoglobin, ili pak sve tri pojave zajedno, jednu uz drugu. Prema tome su Heinzova tjelešca, methemoglobin i verdoglobin tri različite posljedice izvjesnih otrovanja, koje mogu ići i paralelno, ali *potpuno nezavisno* jedna od druge (69).

Tczu, koje se Heubner sam odrekao, nastavili su kasnije braniti francuski autori *Gajdos* i *Tiprez* (56) iz škole Polonovskog. Njihovi se radovi temelje na Lembergovim zapažanjima (92), da jedan od verdoglobina (»holeglobin«) može nastati in vitro djelovanjem askorbinske kiseline na hemoglobin u prisustvu zraka. Budući da askorbinska kiselina nije toksična nego fiziološka supstanca, bilo je zanimljivo istražiti, da li će i ona izazvati Heinzova tjelešca, kad već može izazvati in vitro verdoglobin. Oni su to doista i uspjeli postići. Budući da su ispitivanjem daljih dviju aktivnih supstancija (fenilhidrazina i kalijeva cijanida) također dobili obje te pojave, smatraju da u prilog njihovoj tvrdnji o kauzalnoj vezi verdoglobina i Heinzovih tjelešaca govore ove činjenice: obje su pojave izazvane identičnim kemijskim supstancijama, jednakom brzinom i uz potpuno jednak utjecaj temperature. Štaviše, oni su kod svojih pokusa opazili, da je isto tako u prisustvu Heinzovih tjelešaca, kao i u prisustvu verdoglobina povećano t. zv. *lako odcjepljivo željezo*. Prema svemu tome zaključuju, da su Heinzova tjelešca »morfološki znak kemijske modifikacije hemoglobina u eritrocitima«. Ta modifikacija je »oksidacija porfirinskog prstena na metinskom mostu i odlazak lako odcjepljivog željeza iz tog spoja«.

No zaključke francuskih autora *Heubner* ne smatra ispravnim i on se i na njih, zajedno sa svojim suradnikom *Jungom*, nedavno (1951) osvrnuo (93). *Heubner* dopušta, da praktički svi otrovi, koji dovode do stvaranja verdoglobina, stvaraju ujedno i Heinzova tjelešca, no obrnute zaključke ne dopušta, te ostaje kod svog zaključka iz 1942., koji se temelji na činjenici, da ima otrova, koji izazivaju Heinzova tjelešca, ali ne prave u isto vrijeme i verdoglobin. Mi bismo tu dodali, da su *Gajdos* i *Tiprez* za svoje eksperimente i odabrali upravo one supstancije, za koje je poznato da izazivaju i Heinz-

ova tjelešca i verdoglobin istovremeno. Time se može protumačiti i pojava »lako odcjepljivog željeza«, koje je, kako je poznato, očekivani prati-lac verdoglobina, i vjerojatno je prisutno i kod djelovanja drugih otrova, koji stvaraju verdoglobine. Uostalom, za djelovanje fenilhidrazina i acetilfenilhidrazina je upravo karakteristično to povećavanje »lako odcjepljivog željeza« u plazmi (94). Zanimljivo je, da su opisani i slučajevi kliničkih toksičkih hemolitičkih anemija »sa stvaranjem verdoglobina sufhemoglobina«, a bez nalaza Heinzovih tjelešaca (100).

Otrovi, koji izazivaju Heinzova tjelešca, stvarajući uz njih ili mimo njih i methemoglobin i verdoglobine, djeluju, dakle, direktno ili indirektno oksidativno. Vjerojatno je, da pri tome nastaje kao intermedijarni produkt *vodikov peroksid*, koji onda djeluje kao glavni oksidativni agens. Vodikov peroksid, međutim, nastaje i inače u tijelu, kao intermedijarni produkt normalnog metabolizma. Djelotvornu obranu organizma od oksidativnog djelovanja vodikova peroksida predstavlja vrlo aktivan *ferment katalaza*, koji je obilno prisutan i u eritrocitima štiteći hemoglobin od oksidacije i razgradnje. Kemijski je katalaza spoj porfirina s trovaljanim željezom. Budući da mnogi krvni otrovi već u minimalnim koncentracijama inhibiraju djelovanje katalaze (95), misli se, da su oni zapravo »otrovi katalaze« (5). Methemoglobin, Heinzova tjelešca i verdoglobin bili bi, prema tome, posljedice graduelnih razlika u inhibitornom djelovanju krvnih otrova na katalazu ili drugim riječima, posljedice slabijeg ili jačeg djelovanja vodikova peroksida. Ta tri zanimljiva krvna fenomena bila bi, dakle, u kvantitativnom, a ne u kvalitativnom odnosu prema noksi, koja ih izaziva.

Biokemijska zbivanja odgovorna za nastajanje tih fenomena do danas su, međutim, slabo poznata.

ZAKLJUČAK

Zaključujući ovaj prikaz želimo istaknuti važnost, koju Heinzova tjelešca imaju u modernoj medicini. U kliničkoj medicini ona imaju direktno dijagnostičko značenje: u slučajevima hemolitičkih anemija nejasne etiologije nalaz Heinzovih tjelešaca ukazuje u prvom redu na djelovanje nekog egzogenog kemijskog otrova; ona imaju i prognostičko značenje: njihov porast javlja se neposredno prije naglog opadanja hemoglobina. U preventivnoj medicini njihova prva pojava znači početnu fazu hemolitičkog djelovanja nekog krvnog otrova. Konačno, u eksperimentalnoj toksikologiji Heinzova tjelešca nam mogu odlično poslužiti kao tumač mehanizma djelovanja krvnih otrova. Zbog toga smo pristupili njihovu sistematskom proučavanju.

*Institut za higijenu rada
Zagreb*

LITERATURA

1. Beritić, T.: Hematologija trovanja olovom u klinici, patologiji i prevenciji industrijskog saturnizma, *Arh. med. rada*, **3** (1948) 224
2. Riess: *Berl. klin. Wschr.*, **52** (1882) 185, cit. 36
3. Heinz, R.: Morphologische Veränderungen der rothen Blutkörperchen durch Gifte, *Virchows Arch.*, **122** (1890) 112
4. Ehlich, K. i Lindenthal, O.: Eigentümlicher Blutbefund bei einem Fall von protrahierter Nitrobenzolvergiftung, *Ztschr. f. klin. Med.*, **30** (1896) 427
5. Heubner, W.: Methämoglobin, Innenkörper der Erythrocyten und Anämie, *Klin. Wschr.*, **20** (1941) 137
6. Moeschlin, S.: Versuche über die Entstehung von Innenkörpern in Erythrocyten (Heinzsche Körperschen) in vivo und in vitro durch Sulfanilamidderivate und Phenylhydrazin, *Fol. Haematol.*, **65** (1941) 345
7. Buckell, M. i Richardson, J.: The Significance of Heinz Bodies in the Erythrocyte, *Brit. J. Industr. Med.*, **7** (1950) 131
8. Rejsek, K.: Vývoj Heinzových tělísek, *Č. L. Č.*, **86** (1947) 1183
9. Jürgens, R. i Schürer, W.: Ueber Heinzsche Innenkörper und Höhlsche Randkörperchen in den Erythrocyten, *Schweiz. med. Wschr.*, **75** (1945) 1055
10. Friedstein, D.: *Fol. Haematol.*, **12** (1911) cit. 64
11. Webster, S., Liljegren, E. i Zimmer, D.: Rapid Staining of Heinz Bodies in Smears, *Stain Technol.*, **23** (1948) 97, cit. 33
12. Leonhartsberger i Pakesch: cit. 48
13. Braunsteiner, cit. 48
14. Figge, H.: *J. Anat. Rec.*, **94** (1946) 461, cit. 24
15. Bock, M.: Production of Heinz Bodies and Methemoglobin by Methylene Blue, *Naunyn-Schmiedebergs Arch.*, **204** (1947) 595 (referat)
16. Gutstein, M. i Wallbach, G.: Ueber den Bau der Erythrocyten, III. Mitteilung. Untersuchungen über die Heinz-Ehrlichschen hämoglobinämischen Innenkörper, *Naunyn-Schmiedebergs Arch.*, **267** (1928) 144
17. Moeschlin, S.: Phasenkontrastuntersuchungen in der Hämatologie, *Acta Haematologica*, **2** (1949) 397
18. Willi, H. i Hartmeier, F.: Spontane Innenkörperbildung beim Neugeborenen, *Schweiz. med. Wschr.*, **80** (1950) 1091
19. Nizet, A.: *Acta biol. belg.*, 1941, t. 1, p. 402; *Acta med. scand.*, 1944, t. 117, p. 199, cit. 23
20. Lambrechts, A., Nizet, A. i Khady, E.: Sulfamidés et granulations de Heinz, *Experientia*, **3** (1947) 189
21. Lambrechts, A., Nizet, A. i Khady, E.: Sulfamidés, phénylhydrazine et granulations de Heinz in vitro, *Compt. rend. Soc. de biol.*, **140** (1946) 1091
22. Lambrechts, A., Nizet, A. i Khady, E.: Sulfamidés et granulations de Heinz in vivo, *Compt. rend. Soc. de biol.*, **140** (1946) 1093
23. Nizet, A.: L'action de la phénylhydrazine sur les hématies in vitro, *Compt. rend. Soc. de biol.*, **140** (1946) 1094
24. Rigdon, R. i Breslin, D.: Heinz Body Phenomenon in Monkey Erythrocytes, a Quantitative Method, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **76** (1951) 242
25. Cruz, W.: Acetylphenylhydrazine Anemia. I. The Mechanism of Erythrocyte Destruction and Regeneration, *Am. J. Med. Sci.*, **202** (1941) 781
26. Horecker, B.: Production of Methemoglobin and Denatured Globin in Dogs Poisoned with TNT, (US) *Public Health Bull.*, 285 (1944)
27. Horecker, B.: The Occurrence of Heinz Bodies in Trinitrotoluene Workers, *J. Ind. Hyg. & Toxicol.*, **27** (1945) 84
28. Jung, F.: Toxische Blutkörperchenveränderungen, *Naunyn-Schmiedebergs Arch.*, **208** (1948) 20
29. Jung, F.: Ueber Heinz-Körperchen, *Klin. Wschr.*, **22** (1943) 42

30. Röhl: Diss., Rostock, 1890, cit. 9
31. Schmauch, G.: Ueber endoglobuläre Körperchen in den Erythrocyten der Katze, *Virchows Arch.*, **156** (1899) 201
32. Suzuki, T.: Weitere Beiträge zur Kenntnis der Erythrocytenveränderungen bei Pyrodivergiftung, *Fol. Haematol.*, **13** (1912) 225
33. Webster, S.: Heinz Body Phenomenon in Erythrocytes, *Blood*, **4** (1949) 479
34. Gross, E., Bock, M. i Hellrung, F.: Zur Toxikologie des Nitroglykols im Vergleich zu der des Nitroglycerins, *Naunyn-Schmiedebergs Arch.*, **200** (1942/3) 271
35. Naegeli, O.: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, Springer, Berlin, 1931
36. Schilling, V.: Blut und Trauma, Fischer, Jena, 1932
37. Fertman, M. i Doan, C.: Irreversible Toxic »Inclusion Body« Anemia. A Rarely Recognized Syndrome; Clinical and Experimental Studies, *Blood*, **3** (1948) 349
38. Rohr, K.: Das menschliche Knochenmark, Thieme, Stuttgart, 1949
39. Zeulzer, W. i Apt, L.: Naphtalene Poisoning, *J. A. M. A.*, **141** (1949) 185
40. Schilling, V.: Ueber einen als Herzfehler erscheinenden Fall von »Innenkörperanämie«, aufgedeckt als chronische Antifebrinvergiftung und Coffeinsucht, *Ztschr. f. klin. Med.*, **108** (1928) 709
41. Grüneberg, H.: Siderocytes: a New Kind of Erythrocytes, *Nature*, **148** (1941) 114
42. Heinz, R.: Ueber Blutdegeneration und Regeneration, *Beitr. path. Anat.*, **29** (1901) 299
43. Lewin, L.: Ueber Hydroxylamin. Ein Beitrag zur Kenntnis der Blutgifte, *Naunyn-Schmiedebergs Arch.*, **25** (1889) 306
44. Gajdos, A.: Les corpuscules de Heinz, *Sang*, **18** (1947) 31
45. Bratley, F., Burroughs, H., Hamilton, D. i Kern, C.: The Effect of Pyrodiv Poisoning on the Blood and Hemolytotoipetic System, *Am. J. Med. Sci.*, **182** (1931) 597
46. Braunsteiner, H.: Hämatologische Forschung im Elektronenmikroskop, *Wien. Z. inn. Med.*, **31** (1950) 450
47. Braunsteiner, H. i Bernhard, W.: Reticulocyten und Innenkörper im Elektronenmikroskop, *Acta Haematologica*, **3** (1950) 167
48. Braunsteiner, H., Pakesch, F. i Reimer, E.: Neuere Ergebnisse über die Innenkörperstruktur, *Wikliwo*, **62** (1950) 244
49. Markoff, N.: Ueber Veränderungen des Blutes im Verlauf der Therapie mit Sulfanilamid und seinen Derivaten, *Schweiz. med. Wschr.* **73** (1943) 656
50. Wilhelmi, H.: Studien über Methämoglobinbildung, *XXIII*, *Naunyn-Schmiedebergs Arch.*, **200** (1942/43) 305
51. Hess, L. i Müller, H.: Ueber den Ablauf der Bluterstörung bei der Pyrodivanämie, *Wien. klin. Wschr.*, **26** (1913) 1831, cit. 33
52. Riess: *Arch. f. exp. Pathol.*, Supplementband, 1908, cit. 36
53. Zadek i Burg: *Fol. Haematol.*, **41** (1930) 333, cit. 36
54. Freifeld, H., Schilowa, A. i Ludwinowsky, B.: *Fol. Haematol.*, **56** (1936/37) 333, cit. 26
55. Willi, H.: Innenkörperbildung durch Elkosin und spontane Innenkörperbildung, *Schweiz. med. Wschr.*, **77** (1947) 243
56. Gajdos, A. i Tiprez, G.: Signification biologique des corpuscules de Heinz. Leur rapport avec les verdoglobines, *Sang*, **18** (1947) 35
57. Webster, S., Liljegren, E. i Zimmer, D.: Heinz Body, Formation by Certain Chemical Agents, *J. Pharmacol. & Exp. Therap.*, **95** (1949) 201
58. Cruz, W., Hawkins, W. i Whipple, G.: Acetylphenylhydrazine Anemia, 2., *Am. J. Med. Sci.*, **203** (1942) 848
59. Moeschlin, S.: Innenkörper-Anämien durch Entstehung von Methämoglobin infolge Dagénan (sulfapyridin)-Wirkung, *Schweiz. med. Wschr.*, **70** (1940) 786

60. Moeschlin, S.: Versuche über die Abhängigkeit der Toxizität verschiedener Sulfanilamidderivate auf die Erythrocyten (Innenkörperanämien) von ihrer chemischen Struktur, Schweiz. med. Wschr., **71** (1941) 789
61. Reimer, E.: Innenkörperbildung, Wikliwo, **62** (1950) 26
62. Ehrlich: Verh. d. d. Kongr. f. inn. Med., **11** (1892) 33, cit. 5
63. Kunkel, H.: Chemische Beiträge zur Kenntnis der Substanz der hämoglobinämischen Innenkörper (sog. Heinzkörper), Fol. Haematol., **14** (1913) 430
64. Hartwich, W.: Weitere Beiträge zur Kenntnis der Heinzschen Vergiftungskörper (Ehrlichsche hämoglobinämische Innenkörper), Fol. Haematol. **13** (1912) 257
65. Jasinski, B.: Akute Anilinvergiftung, ihr klinisch-hämatologischer Ablauf und ihre Behandlung, Schweiz. Wschr., **78** (1948) 1282
66. Dustin, P.: Rev. Belge Sci. Med., **14** (1942) 48, cit. 7
67. Dustin, P.: Arch. Biol. Paris, **55** (1944) 285, cit. 7
68. Günther, H.: Normale und pathologische Morphologie der Erythrocyten, u Hirschfeld-Hittmaiervoj: Handbuch der allgemeinen Hämatologie, Urban i Schwarzenberg, Berlin-Wien, 1932
69. Heubner, W.: Heinzkörperchen und Blutfarbstoff, Klin. Wschr., **21** (1942) 520
70. Ponder, E.: Certain Hemolytic Mechanism in Hemolytic Anemia, Blood, **6** (1951) 559
71. Heubner, W.: Studien über Methämoglobinbildung, XIV, Naunyn-Schmiedebergs Arch., **72** (1913) 239
72. Levin, S.: Shoe-dye Poisoning. Relation to Methemoglobin Formation, J. A. M. A., **89** (1927) 2178
73. Williams, R.: Detoxication Mechanisms, Chapman & Hall, London, 1949
74. Lester, D.: J. Pharm. Exp. Ther., **77** (1943) 154, cit. 73
75. Jung, F. i Gelinski: cit. Heubner, W.: Klin. Wschr., **21** (1942) 961
76. Pulver, R.: Untersuchungen über artspezifisch bedingte Wirkungen von Irgamid und anderen Sulfanilamidderivaten, Schw. med. Wschr., **71** (1941) 1608
77. von Issekutz, B.: Studien über Methämoglobinbildung, XVI. Mitteilung: »Normales Methämoglobin bei Katzen«, Naunyn-Schmiedebergs Arch., **193** (1939) 567
78. Schulten, H.: Klinische Hämatologie, Thieme, Leipzig, 1939
79. Heubner, W.: Ueber Heinzkörperchen und Methämoglobinbildung, Fol. Haematol., **67** (1943) 323
80. von Issekutz, B.: Studien über Methämoglobinbildung, XVII, Naunyn-Schmiedebergs Arch., **193** (1939) 569
81. Ghiringhelli, L. i Molina, C.: La metaemoglobinemia nell' intossicazione acuta da anilina nell'animale da esperimento e nell'uomo, Soui rapporti colla cianosi, l'anemia e i corpi di Heinz, Med. d. Lavoro, **42** (1951) 125
82. Kiese, M. i Seipelt, L.: Bildung und Elimination von Verdoglobinen, Naunyn-Schmiedebergs Arch., **200** (1942/43) 648
83. Moeschlin, S.: Bemerkungen zu den Ausführungen von Heubner in Bd. 67, H. 4. S. 323 dieses Archivs, Fol. Haematol., **68** (1944) 91
84. Pulina, B.: Studien über Methämoglobinbildung, XXIV, Naunyn-Schmiedebergs Arch., **200** (1942/43) 324
85. Finch, C.: Methemoglobinemia and Sulfhemoglobinemia, New Eng. J. Med., **239** (1948) 470
86. Clark, B. i Morrissey, R.: Relation of Methemoglobin to Hemolysis, Blood, **6** (1951) 532
87. Vannotti, A.: A propos de la méthémoglobinémie, Schweiz. med. Wschr., **78** (1948) 1252
88. Rimington, C.: Proc. Roy. Soc. Med., **32** (1939) 351, cit. 87

89. Moser, P.: Ueber eine Beziehung der experimentellen Methämoglobinämie zur speziellen Struktur der rothen Blutzelle, *Klin. Wschr.*, **28** (1950) 93
90. Beritić, T.: Cyanosis methaemoglobinaemica hereditaria, *Lij. Vjes.*, **62** (1950) 162
91. Hitzenberger, K.: Autotoxische Zyanose (Intraglobuläre Methämoglobinämie), *Wien. Arch. inn. Med.*, **23** (1932) 85
92. Lemberg, R., Lockwood, W. i Legge J.: Coupled Oxidation of Ascorbic Acid and Hemoglobin; Studies on the Formation of Bile Pigments from Choleglobin and Verdohemochromogen and on their Isolation from Erythrocytes, *Biochem. J.*, **35** (1941) 363
93. Heubner, W. i Jung, F.: Sur la question des corpuscules de Heinz et de la verdoglobine, *Sang*, **22** (1951) 166
94. Case, R.: Siderocytes in Mammalian Blood, *Nature*, **152** (1943) 599
95. Seide, G.: Ueber die Wirkung von Blutgiften auf die Katalase, *Biochem. Z.*, **308** (1941) 175
96. Undritz, E.: Planches d'hématologie Sandoz, Sandoz S. A., Bâle, 1950
97. v. Oettingen, W.: The aromatic Amino and Nitro Compounds, their Toxicity and Potential Dangers, *Pub. Health Bull.*, No. 271, 1941
98. v. Oettingen, W. i suradnici: Xilidine (C, C-Dimethylaniline): its Toxicity and Potential Dangers as Compared with those of Aniline and an Appraisal of the Potential Hazards from its Use in Blending Gasoline, *Nat. inst. Health Bull.*, No. 188, 1947
99. Warburg O., Kubowitz, F. i Christian, W., Ueber die Wirkung von Phenylhydrazin und Phenylhydroxylamin auf den Stoffwechsel der roten Blutzellen (Methode zur Messung des Stoffwechsels roter Blutzellen), *Biochem. Z.*, **242** (1931) 170
100. Jasinski, B.: Ueber zwei Fälle von toxischer, hämolytischer Anämie nach Phenacetin resp. Sulfonamiden mit Bildung intraglobulärer, pathologischer Blutfarbstoffderivate vom Typus der Verdohämochromogene resp. des Verdoglobins = Sulfhämoglobin, *Schweiz. med. Wschr.*, **78** (1948) 681
101. Gasser, C. i Karrer, J.: Spontan- »Innenkörperbildung« mit deletärer hämolytischer Anämie bei Frühgeburt, *Schweiz. med. Wschr.*, **78** (1948) 974

SUMMARY

HEINZ BODIES IN CLINICAL AND EXPERIMENTAL TOXICOLOGY

1. In this review current opinions on the significance of Heinz bodies in clinical and experimental toxicology are presented.
2. The name »Heinz bodies« is accepted as the only term which does not emphasize any of the many objectionable characteristics of the phenomenon.
3. Methods of detection and quantitative determination of Heinz bodies are described.
4. It is believed that Schmauch's bodies as seen in normal cats are not only identical to Heinz bodies but that the former phenomenon is probably the morphological prototype of the latter.
5. Differential characteristics of erythrocytic inclusions (basophilic stippling, reticulo-filamentous substance, siderotic granules and Howell-Jolly bodies) are summarized. There is a good deal of evidence that Heinz bodies are chromatologically and biologically identical to the marginal bodies of Röhl (corpora marginalia).
6. Variation in form of Heinz bodies which observed also in our own »in vitro« experiments is believed to be due to a variety of experimental conditions.
7. Role of the spleen in experimental as well as in clinical Heinz body formation is reviewed and discussed.

8. Some of the substances which are capable of producing Heinz bodies in vitro and/or in vivo, are listed.

9. The validity of Heinz body phenomenon in the study of the metabolism of certain organic compounds is emphasized.

10. The theories concerning the relationship between methemoglobin or verdoglobin and Heinz bodies are cited. Heubner's conclusion that the occurrence of Heinz bodies, methemoglobin and verdoglobin are three separate and independent phenomena is accepted as the most probable. The only common characteristic of these three phenomena is the oxydative nature of their formation.

11. It is pointed out that in the cases of congenital idiopathic methemoglobinemia there are no Heinz bodies in spite of the high level of methemoglobin. There is no connection between methemoglobinemia and anemia either. The presence of porphyrinuria in hemolytic anemias with Heinz body formation is explained.

12. Diagnostic, prognostic and preventive significance of Heinz bodies is emphasized.

Institute of Industrial Hygiene
Zagreb