

616.24-003.6-073.75-076.4:546.82

ELEKTRONMIKROSKOPICKÁ IDENTIFIKACE ČÁSTIC TiO_2 V PLICÍCHM. NOVÁK, V. ZACHARIÁŠOVÁ, J. FIALOVÁ⁺, J. DUŠEK⁺⁺, L. ŠPRINCL⁺⁺⁺

Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha

(náčelník: plk. MUDr. Vladimír Kotlář, CSc.)

⁺ Klinika nemocí z povolání FNŠP, Olomouc

(přednosta: MUDr. Jarmila Fialová, CSc.)

⁺⁺ Katedra patologické anatomie LF UP Olomouc

(přednosta: prof. MUDr. Rošislav Koďoušek, DrSc.)

⁺⁺⁺ Patologickoanatomické oddělení Ústřední vojenské nemocnice, Praha

(náčelník: plk. MUDr. Ladislav Šprincl, DrSc.)

Povrch oxidu titaničitého (TiO_2) je všeobecně pokládán za biologicky inertní a jen několik studií ve světovém písemnictví se zabývá otázkami vztahu mezi plicní fibrózou a akumulací titanu v plicní tkáni. Jednou z rychlých metod průkazu TiO_2 ve tkáni je transmisní elektronová mikroskopie (EM), řádkovací transmisní elektronová mikroskopie (STEM), rtg mikroanalýza, kterou mohou být částice a ložiska TiO_2 odlišena od antrakotického pigmentu, přítomného v plicní tkáni.

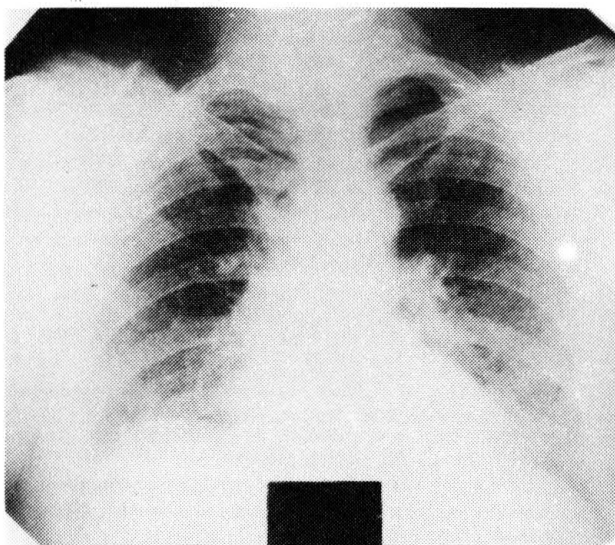
Při histologickém vyšetření jsme postihli ve dvou případech pneumokonióz prachová depozita různého tvaru a velikosti. Protože se jednalo v prvním případě o pracovníka závodu na výrobu titanové běloby, bylo nutné identifikovat mikroskopické a submikroskopické prachové částice a posoudit, zda mohou být příčinou plicní reakce. Provedli jsme proto rtg mikroanalýzu výrobních komponent používaných při výrobě titanové běloby za účelem potvrzení, že obsahují TiO_2 (z posudkových důvodů).

Ve druhém případě jsme prachová depozita různého tvaru a velikosti našli také u pneumokoniózy svářeče elektrickým obloukem, kde jsme rovněž pro-

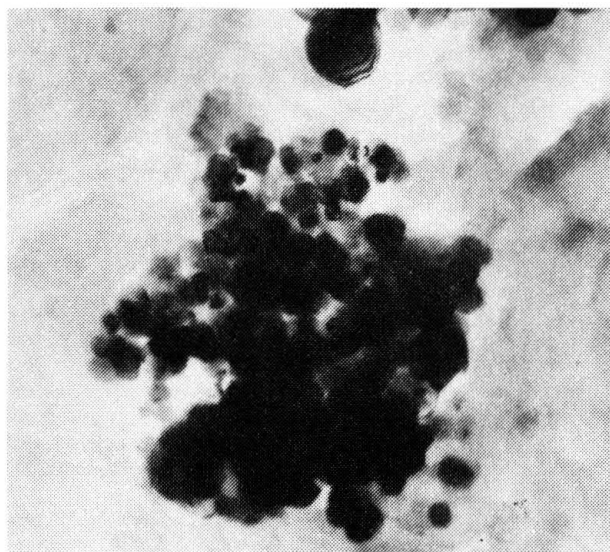
kázali částice TiO_2 a další částice obsahující železo. Předkládáme naše poznatky s průkazem TiO_2 v plicní tkáni u pacienta s pneumokoniózou, která byla zjištěna po víceleté expozici prachovými částicemi TiO_2 vzniklými při výrobě titanové běloby, které byly zobrazeny ve vysokonapěťovém EM s kvalitativním energiově disperzním spektrometrem (EDS). Získané poznatky potvrzují, že dlouhodobá expozice TiO_2 může mít za následek lehké a střední fibrotické změny v plicích. Rovněž se ukázalo, že je možné provádět kvalitativní analýzu i v bioptickém materiálu, který není speciálně zpracován pro účely prvkové analýzy. Nutné je však počítat s obtížnějším vyhodnocováním získaného spektra.

Materiál a metodika

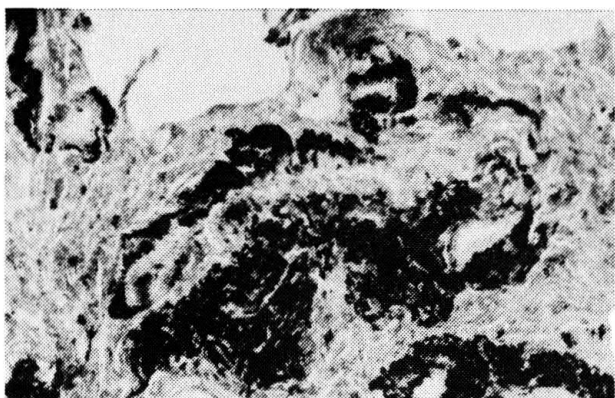
Použili jsme bioptický materiál z plicních diagnostických excízi za účelem identifikace mikroskopických a submikroskopických částic prachových depozit zjištěných v histologickém obraze k provedení EM vyšetření a mikroanalýzy. Z odebraných excízi byly



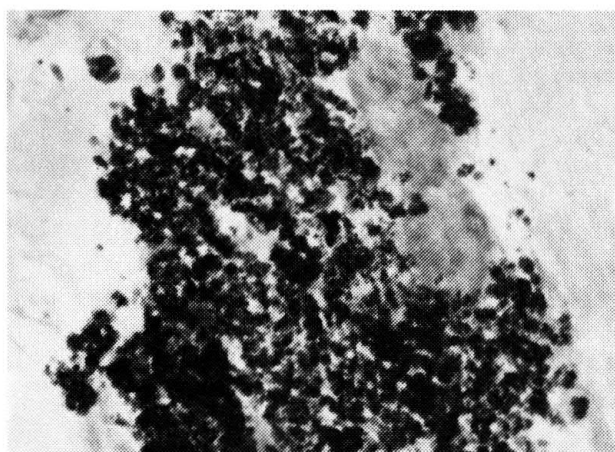
Obr. 1. Rtg plic: zvýrazněná intersticiální kresba (tečkovité stíny) je sledovatelná až do periférie



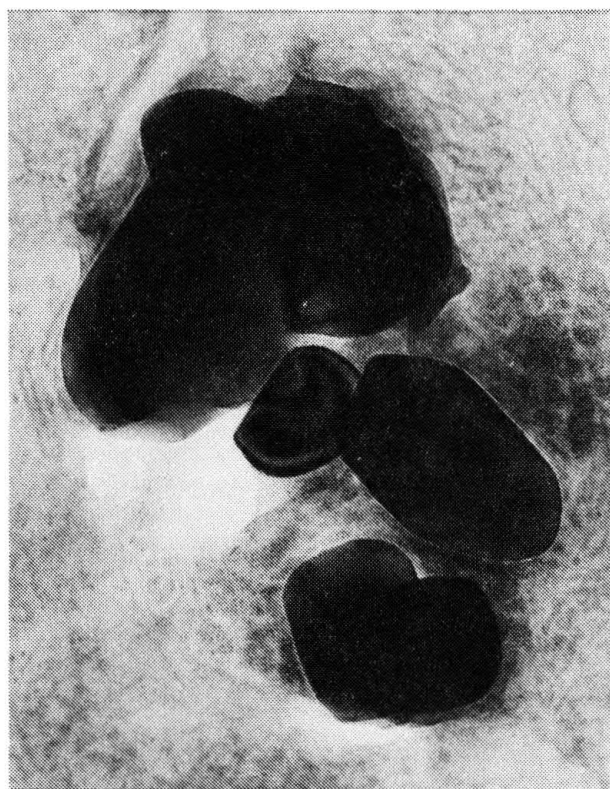
Obr. 4. Splývající částice TiO_2 v ložisku, 37 000krát – nekонтastovaný řez



Obr. 2. Na obrázku zastižen šikmý až podélný průřez větvi arteria pulmonalis s širokým perivaskulárním manžetovitým lemem pigmentu, hematoxylin-eozín, 120krát



Obr. 3. Část ložiska TiO_2 – nekонтastovaný řez, 6000krát



Obr. 5. Detail částic v ložisku při velkém zvětšení (70 000krát) nekонтastovaný řez

připraveny 200–300 nm silné řezy, které byly sbírány na měděné sítce pro EM. Řezy byly připraveny jednak z excize fixované 4% paraformaldehydem s 2% glutaraldehydem v 0,1 M kakodylátovém pufru pH 7,2 s následnou osmiovou fixací (1% OsO_4 v pufru podle Milloniga). Promývání bylo prováděno Millonigovým pufrem. U tzv. „svářčské plíce“ byly použity deparafinizované bločky fixované formolem,

kteřé byly následně zpracovány výše popsaným způsobem včetně fixace. Po odvodnění ve vzestupné řadě alkoholů s 1% uranylacetátem (UA) a v propylenoxidu byla tkáň zalita do Eponu 812. Řezy byly připraveny na ultramikrotomu LKB UT III. Příprava řezů byla znesnadněna přítomností ložisek TiO_2 ve tkáni. Depozita TiO_2 spolu s částicemi obsahujícími železo a křemík znehodnocovala rychle ostří skleněného nože, a proto bylo nutno vždy po odkrojení 2 až 5 řezů posunout ostří nože o šířku krájené plochy. S výhodou byly použity skleněné nože o úhlu 55° . Bločky byly krájeny při rychlosti 2–5 mm/s. Pro účely prvkové analýzy nebyly řezy kontrastovány (pouze při odvodňování 1% UA). Snímky byly pořízeny při urychlovacím napětí 160–200 kV na analytickém EM JEM 200 CX se zařízením ASID (rastrovací jednotka).

Prvková analýza byla prováděna na energiově disperzním spektrometru s polovodičovým detektorem Si (Li) k registraci charakteristického rtg záření vystupujícího ze vzorku, který byl excitován svazkem urychlených elektronů. Detektor je opatřen Be okénkem. Byl použit analyzátor LINK – model 816 pro kvantitativní analýzu. Použitý velkoplošný detektor má plochu 30 mm^2 . Náklon vzorku vůči detektoru byl vždy 40° . Čas analýzy se pohyboval v rozmezí 200 až 400 s. Vzdálenost Be okénka od elektronového svazku byla 0,018 m. Urychlovací napětí 100 kV. Byla prováděna jak plošná, tak i bodová analýza s rozlišením (20 nm) ve STEM modu při zvětšení 3000 až 15 000krát.

Kromě excizí z plicní tkáně jsme provedli analýzu vzorků jednotlivých komponent používaných při výrobě titanové běloby a výchozí suroviny – ilmenitu (FeTiO_3). Analýzy výrobních komponent včetně ilmenitu byly prováděny v SEM modu. Vzorky jsme připravili tak, že po jejich nanesení na držák byly překryty 20 nm silnou vrstvou Au v iontovém rozprašovači fy Polaron E 5100, aby bylo možné zároveň pořizovat snímky povrchu vyšetřovaných vzorků. Zároveň byly zajištěny parafínové řezy z rutinně fixovaných tkání formolem, které byly barveny hematoxylinem-eozínem podle van Giesona a alcianovou modří podle Perlse (průkaz trojmocného železa).

Poznámka

K metodické části poznamenáváme, že je důležité umísťovat zhotovené řezy na střed sítky, neboť uhlíkový držák pro rtg mikroanalýzu zastíňuje při náklonu svým horním kónickým otvorem část sítky. Výhodnější je používat pro mikroanalýzu silonové sítky (které jsou však z dovozu), neboť neruší spektrum přítomností jiných prvků. Rovněž speciální příprava preparátů (fixace, výběr vhodných pufrů, příp. zhotovení zmrazených řezů) je lepší, neboť do spektra se nezanášejí prvky, které mohou další hledané nebo předpokládané prvky překrývat. Je známo, že L a M spektrální čáry fixačních roztoků koincidují s čarami lehčích prvků od Na po Ca v oblasti 1 až 5 keV. Proto identifikace Si a P je velmi obtížná. S výhodou bylo použito silnějších řezů 200–300 nm, které lze snadno při 160 až 200 kV prozářit, mají dostatečný kontrast a větší výtežnost ve spektru.

Kasuistika

1. Pacient, 45letý muž, v letech 1969–1986 pracoval jako balič při výrobě titanové běloby. Celková expozice prachu u nemocného však činí 20 let. Jinou prašnou expozici neuvádí. V posledních letech si stěžuje na námahovou dušnost. Rtg viz obr. 1 – v obou plicních křídlech je intersticiální kresba zvýrazněna, v jejím průběhu jsou tečkovité stíny sledovatelné až do periférie (dle klasifikace ILO p3). V lednu 1989 byla provedena ze submammárního řezu vlevo diagnostická excize z linguly plic, při níž chirurg popisuje zcela bílou plíci.
2. Pacient, 54letý muž, pracující v letech 1967–1974 a 1979–1980 jako svářeč elektrickým obloukem. V roce 1980 přefazen a pracuje jako ošetřovatel skotu. Rtg srdce a plic: zmnóžená retikulární kresba, zejména v bazálních plicních polích s bilat. pleurální reakcí.

Výsledky

U pacienta exponovaného prachem TiO_2 při výrobě titanové běloby je v parafínových řezech (obr. 2) patrna masivní perivaskulární pigmentace, pigment vytváří široké kompaktní manžetovité lemy okolo větvi arteria pulmonalis většího a středního kalibru. Kromě toho je hrudkovitý pigment přítomen i v roztroušených alveolárních makrofázích, ty jsou však přítomny v alveolech jen ve velmi malém počtu. Ve speciálních barveních je patrna perivaskulární fibróza v oblastech s pigmentací. Na polotenkových řezech je patrna intracelulární lokalizace zrněk pigmentu v makrofázích uložených v perivaskulárním vazivu.

V EM bylo možné rozpoznat ložiska TiO_2 nerovnoměrně rozprostřená v intersticiu a cytoplazmě plicních makrofágů. Ložiska měla tvar velkých a malých vícevrstevných agregátů. Částice s obsahem TiO_2 jsou vysoce elektrodenní a je snadné je prokázat v nekontrastovaném materiálu. Bylo možné pozorovat jednotlivé částice okrouhlého až hexagonálního tvaru, které měly průměr $0,15 \mu\text{m}$ (plocha $0,2 \mu\text{m}^2$), z nichž některé mají výrazné ohraničení (obr. 8 a, b – stereopár).

Analýzovaná ložiska měla v průměru rozměr $2,6 \times 1,6 \mu\text{m}$ a plochy okolo $0,4 \mu\text{m}^2$ (obr. 3,4). Místy se nacházely i malé shluky složené jen z několika částic (obr. 5). Na (obr. 3, 4) jsou nekontrastovaná ložiska v plicní tkáni. Pořízený záznam spektra (obr. 6) z tohoto ložiska vykazuje spektrální čáry $\text{TiK}_{\alpha 1}$ a $\text{TiK}_{\beta 1}$ s vrcholy energií 4 480 keV a 4 960 keV. Vlevo od spektrální čáry titanu jsou přítomny tři malé vrcholy reflexního maxima (piky) $\text{SiK}_{\alpha 1}$ 1 740 keV/ $\text{OsM}_{\alpha 1}$ 1 910 keV, $\text{ClK}_{\alpha 1}$ 2 640 keV, $\text{UM}_{\alpha 1}$ 3 240 keV. Vpravo se pak nacházejí piky $\text{CuK}_{\alpha 1}$ a $\text{CuK}_{\beta 1}$. Kromě Ti a Cl souvisejí všechny zjištěné prvky s přípravou vzorku (OsO_4 fixace, UA ke zvýšení kontrastu během odvodňování). Cu spektrální čáry jsou z použité měděné sítky. Reflexní maxima u titanu mají tvar ideálního Gaussova rozdělení, jsou zcela průkazná a shodovala

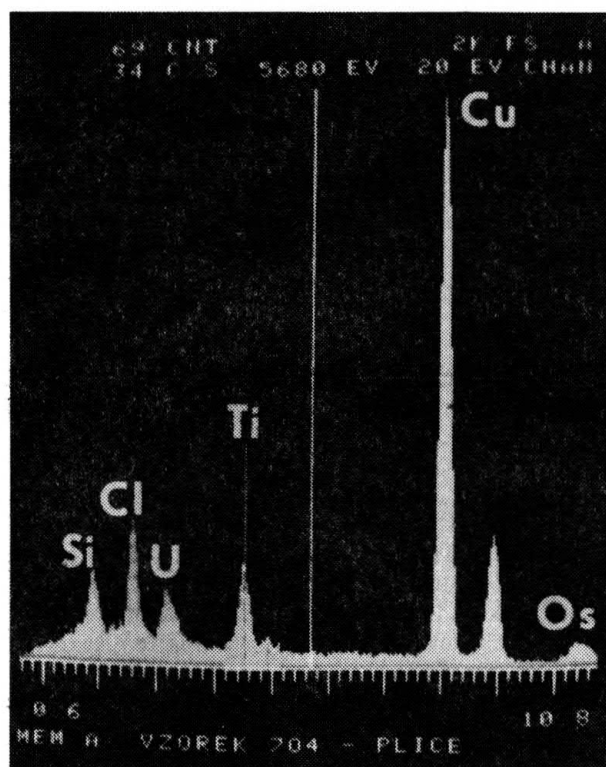
se s tabulkovými hodnotami v rozmezí pozorované chyby jako u ostatních prvků a byla potvrzena KLM značením (marker). Pro kontrolu byla provedena analýza části plicní tkáně, kde mikroskopicky nebyly zjištěny žádné částice TiO_2 . Na (obr. 7) je vidět porovnání spektrálních čar ložiska TiO_2 a spektra plicní tkáně. Jak je patrné, neobsahuje plicní tkáň titan, pouze jsme zde zaznamenali tři malé zřetelné piky Si (Os), Cl a U.

Spektrální čáry Fe nebyly postiženy, i když při jedné analýze byl ve spektru náznak spektrálních čar Fe stěžejí rozlišitelných od pozadí. Jinak tomu bylo, jak je uvedeno dále, s přítomností Fe ve spektru ložisek titanu u tzv. pneumokoniózy ze svařování.

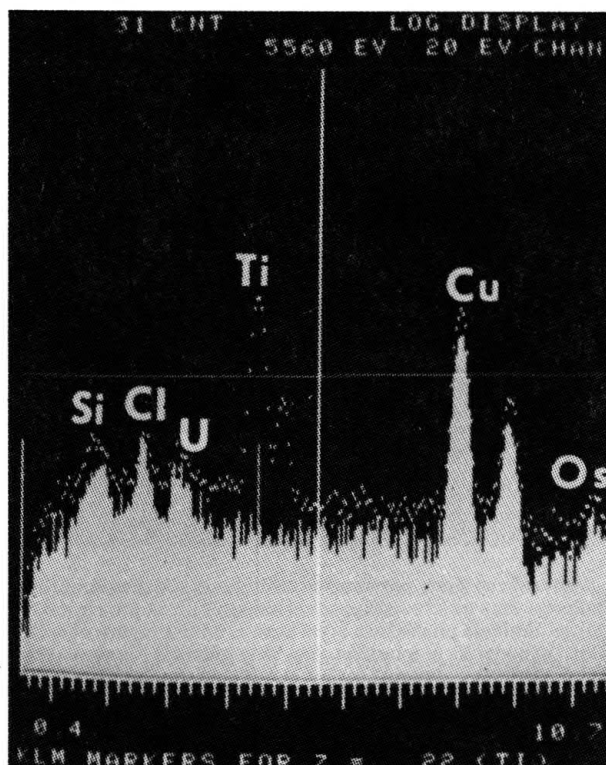
Dále pak byla provedena analýza vzorků výrobních komponent používaných při výrobě titanové běloby včetně výchozí látky – ilmenitu. Na obr. 9, 11 demonstrujeme spektrum vzorku FS a ilmenitu. Všechna spektra obsahují mohutný pik $\text{TiK}_{\alpha 1}$ a $\text{TiK}_{\beta 1}$. Spektrum ilmenitu pak na rozdíl od ostatních prvků obsahuje i průkazná reflexní maxima $\text{FeK}_{\alpha 1}$ a $\text{FeK}_{\beta 1}$ (6403 a 7057 keV). Z vybraného pásma energií byla použita propust v pásmu 4320 až 5120 keV k provedení distribuce Ti v ložisku (obr. 13, 14, 15), která rovněž potvrzuje přítomnost titanu a jeho rozložení. Snímek pořízený v SEM modu (obr. 12) ukazuje, že výchozí látka – ilmenit je velmi hrubé struktury a vzhledem k tomu, že obsahuje železo, které nebylo až na jeden případ analýzy vůbec prokázáno, jsme přesvědčeni, že nepřichází jako kontaminační látka u prvního pacienta v úvahu (pracoval jako balič finálního výrobku). Ostatní vzorky mají větší a menší částice, které po dalším zpracování (mletí) jsou velmi jemné a mohou se snadno usazovat v plicní tkáni. Nejmenší části jsme našli u vzorku FS – 0,2 μm (obr. 10).

U pacienta s profesionální pneumokoniózou, vyvolanou částicemi vdechovanými při sváření elektrickým obloukem, histologický náález potvrzuje četná ložiska, vytvořená nakupením makrofágů, zpravidla kolem drobných cévních větví (obr. 16). Makrofágy obsahují v objemné světlé cytoplazmě hojná zrnka různého pigmentu. Téměř ve všech makrofázích v těchto ložiskách je pozitivní Perlsova reakce na železo. Vedle toho však v mírně ztlustělé pleuře i v adventicii některých cév se nacházejí velká depozita jemného antrakotického pigmentu, která nedávají reakci na železo. Zřetelná fibróza je však jen ojediněle při pleuře.

V EM jsme mezi jinými částicemi zaznamenali pouze dva druhy částic, které ve spektru vykazovaly přítomnost jiných prvků oproti spektru plicní tkáně bez částic. První typ částic vytvářel ložiska uniformních částic bez výrazného ohraničení (obr. 18, 19), které se nacházely v cytoplazmě plicních buněk i v mezibuněčném prostoru, zejména ve zmnoženém vazivu. Délka částic se pohybovala v rozmezí 0,5 μm a šířka okolo 0,13 μm . Provedená rtg mikroanalýza ukázala přítomnost Si (Os), S, Cl, K, Ca, Fe, Cu a Os ve spektru (obr. 17). V plicní tkáni bez ložiska jsme prokázali Si (Os), Cl, U, Cu a Os. V jedné analýze jsme zaznamenali i přítomnost Al. Druhý typ částic

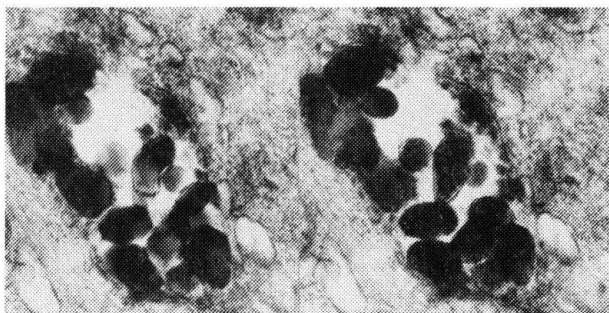


Obr. 6 Průkaz titanu (ložisko v plicní tkáni), KLM čáry potvrzují $\text{TiK}_{\alpha 1}$, $\text{TiK}_{\beta 1}$

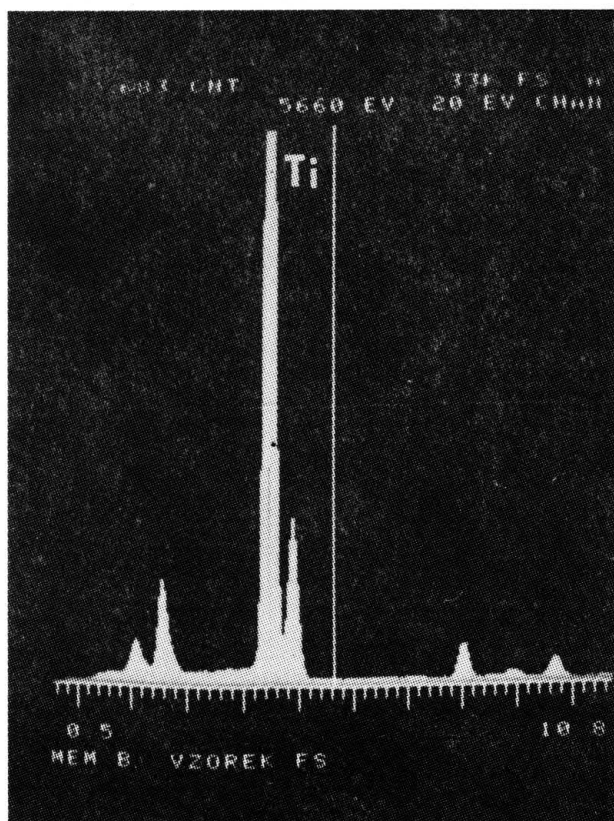


Obr. 7. Porovnání logaritmického spektra: analýza plicní tkáně bez částic (neobsahuje Ti) – plné spektrum; bodové spektrum z ložiska obsahuje Ti

opět vytvářel malá a větší uniformní ložiska o průměru 2,3 až 13 μm obsahující titanové částice. Tato ložiska vykazovala ve spektru obsah Si (Os), S, Cl, Ca, Ti, Fe a Os, přičemž spektrální čáry železa byly nízké, ale průkazné. Některá ložiska obsahovala oba typy částic (obr. 20, 21).



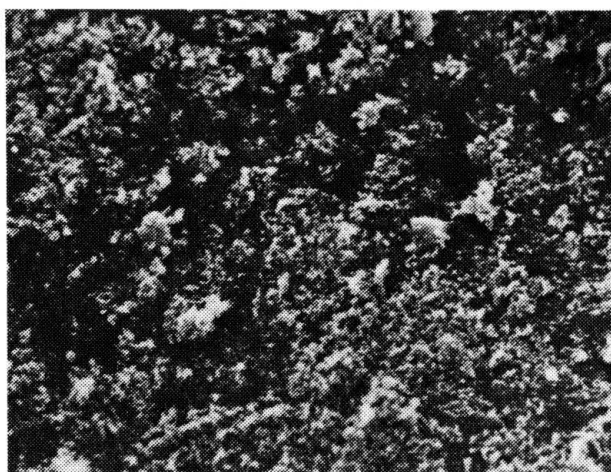
Obr. 8. a, b Stereopár $+5^\circ$, -5° oválné částice, kontrastovaný vzorek UA, citrát olova, 30 000krát (při použití stereoskopických brýlí je vidět prostorové uspořádání částic)



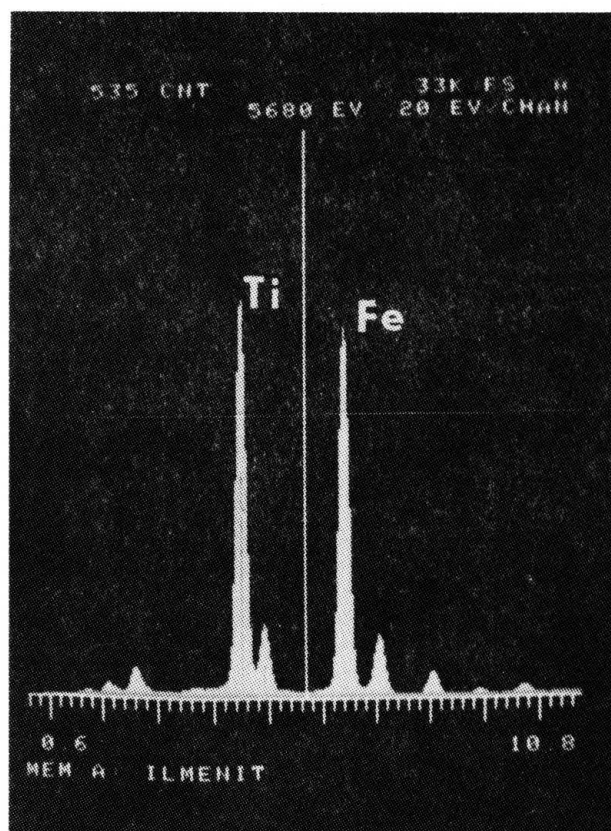
Obr. 9. Spektrum vzorku FS – potvrzuje přítomnost titanu

Diskuse

V domácím písemnictví jsme nezaznamenali žádnou práci zabývající se pneumokoniózou a jejím vyhodnocením pomocí EM a rtg mikroanalýzy. Není také zmínka o pneumokonióze vyvolané přítomností TiO_2 . Průkaz profesionálních pneumokonióz byl

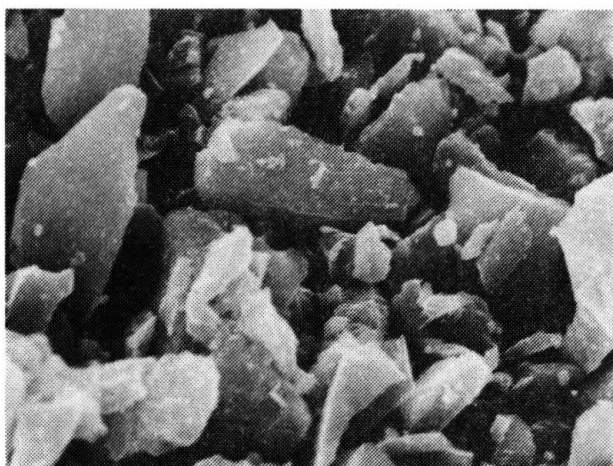


Obr. 10. Velmi malé částice vzorku FS obsahující titan SEM, 500krát

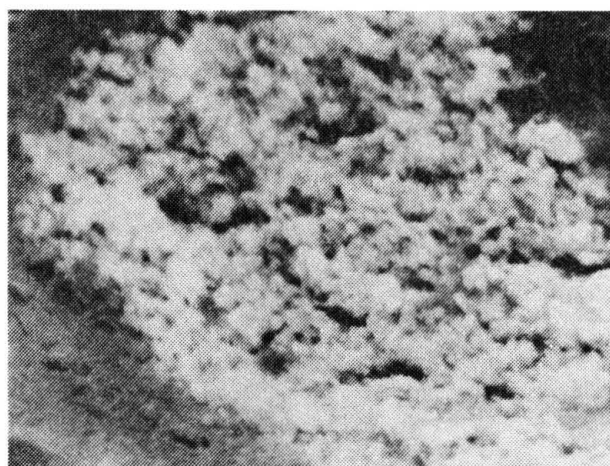


Obr. 11. Spektrum ilmenitu vykazuje dva mohutné energetické vrcholy (piky) $\text{TiK}_{\alpha'}$, $\text{TiK}_{\beta'}$ a $\text{FeK}_{\beta'}$

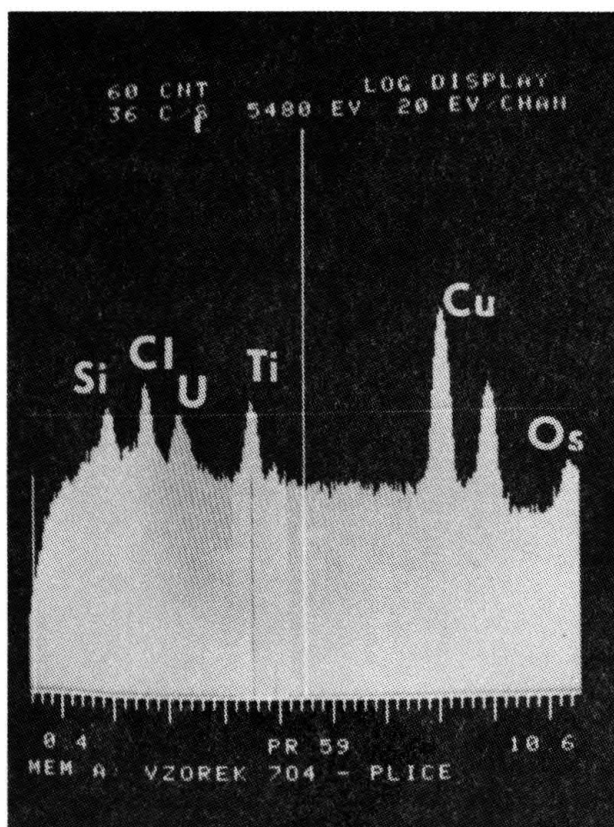
u nás zatím opřen o histomorfologické nálezy a histochemické reakce, přičemž histochemická reakce na průkaz TiO_2 není uváděna. Z morfologických prací, které provádějí rozbor prachových depozit u pacientů s profesionálními chronickými změnami, u svářečů elektrickým obloukem, uvádíme práci Miřejovského aj. (1), která je však limitována nedostupností rtg mikroanalýzy. Avšak ani v tomto sdělení není zaznamenán nálezi TiO_2 a jeho průkaz ve tkáni, i když je známo, že elektrody, zejména s obalem bazickým, obsahují značné procento (až 50 %) TiO_2 .



Obr. 12. Povrch výchozí suroviny – ilmenitu, 500krát, SEM.



Obr. 14. Ložisko TiO_2 zobrazené ve STEM modu použité pro distribuci Ti

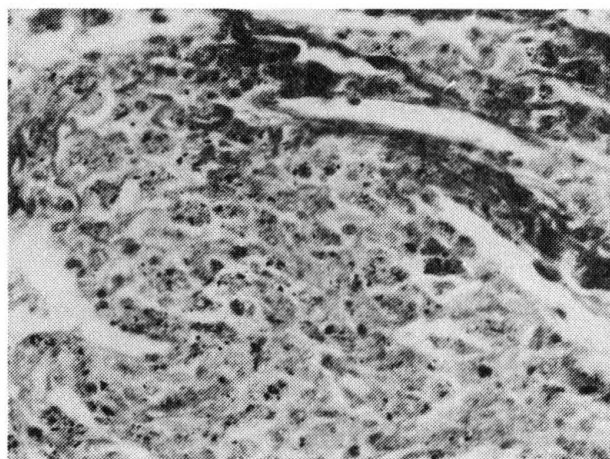


Obr. 13. Logaritmické spektrum s vyznačenou energetickou proputí („okénko“) použité pro distribuci Ti v ložisku

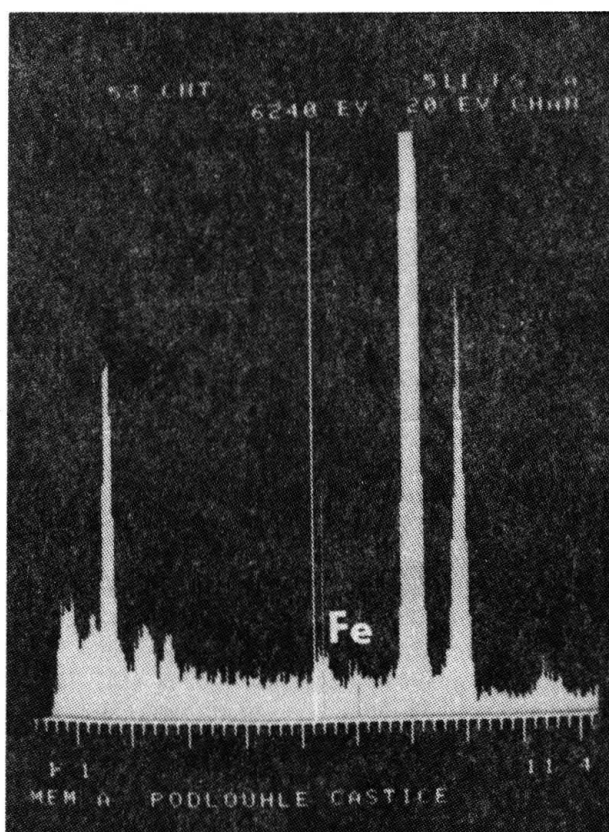
U pacienta s profesionální svářečskou pneumokoniózou vytvářely podlouhlé částice četná ložiska, která vykazovala pozitivní Perlsovu reakci. Jedná se tedy o částice, které obsahují oxid železitý. Pokud jde o nález ložisek TiO_2 , domníváme se, že ložiska pigmentových depozit, uváděných v jiných starších domácích sděleních, obsahovala rovněž TiO_2 , ale nebyl analyticky detekován. Rovněž u těchto prací není zmínka o úloze TiO_2 při plicní reakci, i když je ve všech složeních elektrod, se kterými nemocní pracovali, TiO_2 uváděn.



Obr. 15. Distribuce Ti v ložisku (potvrzuje rozptřeni Ti)



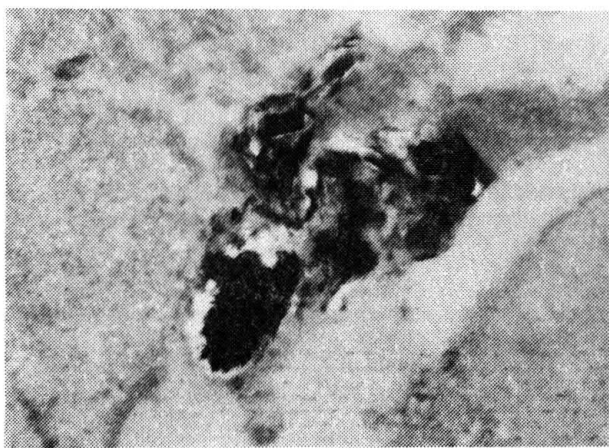
Obr. 16. Část granulomu ve „svářečské plicí“ s makrofágy obsahujícími drobné polymorfni částice, alciánová modř, 500krát



Obr. 17. Spektrum nakupených částic s obsahem Fe



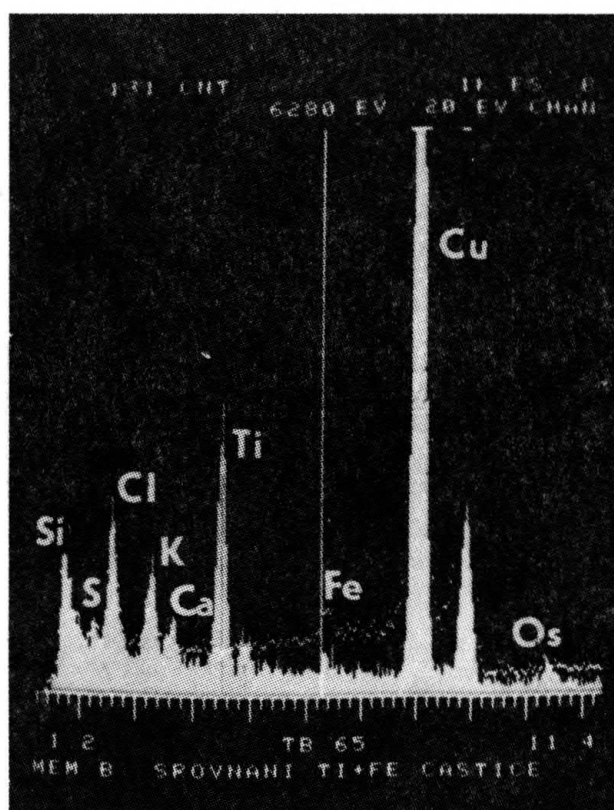
Obr. 19. Detail částic s obsahem Fe, 30 000krát

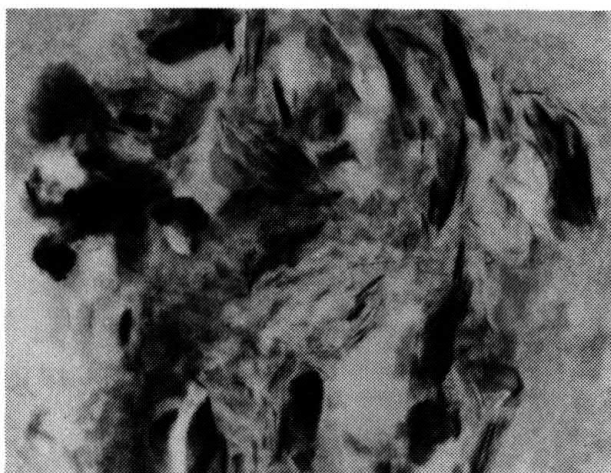


Obr. 18. Ložisko nakupených částic s obsahem Fe, 10 000krát, nekонтastováno

Zahraniční písemnictví zaznamenává několik prací věnovaných problematice pneumokoniózy zapříčiněné nahromaděním titanového prachu v plicní tkáni, kde k jeho identifikaci byla využita EM a rtg mikroanalýza (2, 3, 4). Rode aj. (3) nezaznamenali žádné zánětlivé a fibrózní změny v plicích a považují TiO_2 za biochemicky inertní. K podobným závěrům se přiklání i práce Ophuse aj. (4), kteří přes průkaz rozsáhlých plicních depozit TiO_2 neprokázali žádnou plicní reakci a považují TiO_2 (rutil) za biologicky inertní.

Existuje několik zpráv o morfolozických a plicních změnách u osob, které byly vystaveny prachu TiO_2 .

Obr. 20. Spektrum TiO_2 částic a částic obsahujících Fe; bodové spektrum přísluší částicím s obsahem Fe



Obr. 21. Smíšené ložisko částic obsahujících Fe a Ti, 30 000krát

Není však žádný důkaz, že by plicní změny byly vyvolávány přítomností TiO_2 s výjimkou případu, který popisuje Angelbaut aj. (5), který popsal granulomatózní plicní reakci, kterou dává do souvislosti s přítomností TiO_2 .

Na základě našeho nálezu mírné až střední perivaskulární fibrózy se přikláníme k pozorování Schmitz-Moormana aj. (6), který nepřítomnost plicní odpovědi k prachovým depozitům, zaznamenanou různými autory (2, 3) (např. Rode aj. – jen 3letá expozice TiO_2), vysvětluje tím, že může být způsobena krátkou dobou od původní expozice k onemocnění nebo úmrtí. Záleží nejspíše na délce expozice a délce působení TiO_2 ve tkáni. U našeho případu byla délka expozice 20 let. Dlouhodobá expozice, trvající řadu let, zřejmě vyvolává odezvu v plicní tkáni. K podpoře tohoto názoru nás vede i práce Kasemo a Lausmaa (7), která na molekulární úrovni vysvětluje tkáňové reakce u kovových implantátů, kde povrch tvoří oxidy různých kovů, mezi nimi je uváděn i TiO_2 , na jehož povrch se až po určité době váže protein, který má vliv na tvorbu fibrózní kapsule. Předpokládáme, že k povrchu kovové částice, která je většinou oxidována, se mohou z plazmy a tkáňového moku sorbovat molekuly (fibronektinu, vitronektinu aj.) (8,9). Pro definitivní vyjádření by bylo nutné studium mechanismů adsorpcí těchto látek na partikule kovů v plicní tkáni a studium celkové tkáňové reakce plicí po různé dlouhou expozici.

K hodnocení pneumokonióz vyvolaných TiO_2 z hlediska profesionality přistupujeme v samostatném sdělení (10).

Souhrn

Elektronmikroskopická identifikace prachových depozitů spolu s kvalitativní rtg mikroanalýzou zpřesňuje morfologické vyhodnocení bioptických materiálů u pacientů s pneumokoniózou. Protože lze použít k průkazu i běžný bioptický materiál, je tato metoda rychlá a přesná. Použili jsme ji k identifikaci mikroskopických a submikroskopických částic TiO_2 , který nelze jinými histochemickými metodami zjistit. Na základě získaných výsledků se ukazuje, že dlouhodobá expozice TiO_2 může vyvolat plicní reakci.

Poděkování

Autoři děkují MUDr. R. Holušovi z laboratoře HPNP-IHE Praha za posouzení histologického nálezu u pacienta se svářečskou pneumokoniózou a J. Hálečkové z VÚHEM Praha za technickou spolupráci při přípravě preparátů pro EM.

Literatura

1. MÍŘEJOVSKÝ, P.: Plicní změny u elektrosvářečů. Čs. Patol., 6, 1970, s. 57–67.
2. FERIN, J. et al.: Electron microprobe analysis of particle deposited in lunge. Arch. environ. Health, 31, 1976, s. 113–115.
3. RODE, L. E. – OPHUS, E. M. – GYLSETH, B.: Massive pulmonary deposition of rutile after titanium dioxide exposure. Acta microbiol. scan. Sect. A, 89, 1981, s. 455–461.
4. OPHUS, E. M. et al.: Analysis of titanium pigments in human lung tissue. Scand. J. Work Environ. Health, 5, 1979, s. 290–296.
5. ANGELBAUT, M. et al.: Toxicity pulmonaire du bioxyde de titane, risque lié au ponsage des mastics. Prof. Med. Trav. Secur. Soc., 40, 1979, s. 501–508.
6. SCHMITZ-MOORMAN, P. – HÖRLEIN, H. – HANAFELD, F.: Lungenveränderung bei titandioxydstaubexposition. Beitr. Silikoseforsch., 80, 1964, s. 1–17.
7. KASENO, B. – LAUSMAA, J.: Surface science aspects on inorganic biomaterials. Crit. Rev. Biocompat., 2, 1986, s. 335–380.
8. SABA, T. M. – JAFFE, E.: Plasma fibronectin (opsonic glycoprotein): its synthesis by vascular an endothelial cell and role in cardiopulmonary integrity after trauma are related for reticuloendothelial function. Am. J. Med., 68, 1980, s. 577–594.
9. YAMADA, K. – OLDEN, K.: Fibronectin – adhesive glycoproteins of cell surface and blood. Nature, 275, 1978, d. 57–67.
10. FIALOVÁ, J. et al.: Pneumokonióza u pracovníka ve výrobě titanové běloby. Prac. Lék. (v tisku)

Klíčová slova: Pneumokoniózy; Elektronová mikroskopie; Rtg mikroanalýza; Průkaz TiO_2 v tkáni.