

## Uticaj azotnog oksidula na nastanak megaloblastne anemije

---

*Posmatran je uticaj N<sub>2</sub>O kao anestetika, na nastanak megaloblastne anemije kod miševa. U tu svrhu ispitivani su razmazi kostne srži sternuma i krvi iz srca. Utvrđene su promene karakteristične za megaloblastnu anemiju: hiperplazija kostne srži sa megaloblastima i prisustvo megalocita u krvi.*

---

### Uvod

Jedna od najpoznatijih i najzastupljenijih hematoloških bolesti današnjice jeste anemija – poremećaj eritrocitne loze. Malokrvnost ili anemija, prema značenju same reči, trebalo bi da označava manjak krvi, ali je prihvaćeno da se to odnosi na crvena krvna zrnca ili hemoglobin i da se to ime daje oboljenjima krvi sa smanjenim brojem eritrocita ili količinom hemoglobina ispod normalnih vrednosti [1].

Ipak, anemija se najbolje definiše kao smanjenje hemoglobina u jedinici zapremine krvi (jednom litru), jer kliničko ispoljavanje anemije bez obzira na njenu vrstu, u najvećoj meri zavisi od veličine brzine smanjenja snabdevanja tkiva kiseonikom zavisnog od koncentracije hemoglobina u krvi [2]. Kao glavni uzrok nastanka anemije smatra se poremećaj ravnoteže između stvaranja eritrocita u eritropoeznom tkivu i izumiranja ostarelih i istrošenih eritrocita. Taj poremećaj je uslovljen oštećenjem kostne srži ili nedostatkom nutritivnih činilaca neophodnih za normalan razvoj i sazrevanje ćelija eritrocitne loze (Fe, Cu, Co, folna kiselina, vitamini B<sub>12</sub>, C, B<sub>6</sub>, belančevine i hormoni).

Postoje dve vrste podela anemija: patofiziološka (kinetička) i morfološka. Prema prvoj, anemije se dele u dve velike grupe: anemije izazvane pretežno smanjenim stvaranjem eritrocita i anemije pretežno izazvane povećanom razgradnjom eritrocita. Morfološka podela klasifikuje anemije na osnovu veličine eritrocita u odnosu na normalnu, te postoje makrocitna,

---

*Gordana Popović  
(1977), Kikinda, Hajduk  
Veljkova 36, učenica 3.  
razreda Gimnazije  
„Dušan Vasiljev” u  
Kikindi*

mikrocitna i normocitna anemija [2]. U grupu anemija izazvanih smanjenim stvaranjem eritrocita zbog poremećaja razmnožavanja i diferentovanja morfološki poznatih eritrocitopoeznih ćelija, a usled poremećaja sinteze DNK, spada megaloblastna anemija.

Megaloblastna anemija nastaje kao posledica poremećaja sinteze DNK usled nedostatka vitamina B<sub>12</sub> ili folne kiseline. Naziv potiče od megaloblasta, morfološki izmenjenih eritroblasta, koji se javljaju u kostnoj srži. Većina megaloblastnih anemija (95%) izazvana je deficitom vitamina B<sub>12</sub> ili folne kiseline u organizmu, dok je ostatak posledica delovanja lekova koji sprečavaju sintezu DNK, naslednih poremećaja metabolizma ili im je uzrok nepoznat [2]. Vitamin B<sub>12</sub> indirektno utiče na sintezu DNK time što, primajući od neaktivnog N<sub>5</sub>-metil-tetrahydrofolata metilsku grupu, pretvara to jedinjenje u tetrahydrofolat iz kojeg se lako stvara N<sub>5</sub>,N<sub>10</sub>-metilen-tetrahydrofolat jedinjenje koje daje metilsku grupu i 2H<sup>+</sup> jona uridilatu u toku njegovog pretvaranja u timidilat prilikom sinteze DNK [2]. Reakcija sinteze timidilata, odnosno poremećaj sinteze timidilata, izgleda da je ključni mehanizam koji dovodi do poremećene sinteze DNK i megaloblastne anemije [3].

Cilj rada bio je da se utvrdi da li dejstvom azotnog oksidula nastaje megaloblastna anemija. Naime, trebalo je pokazati da davanje ovoga gasa kao sredstava za anesteziju vrlo brzo može da izazove pojavu megaloblastne anemije, na taj način što N<sub>2</sub>O inhibiše sintezu metil-transferaze enzima koji je neophodan za pretvaranje N<sub>5</sub>-metil-tetrahydrofolata u aktivni enzim folne kiseline – metil-tetrahydrofolat. Ovo dejstvo N<sub>2</sub>O počiva na oksidisanju vitamina B<sub>12</sub>, kofaktora sintetaze metionina, u njegov neaktivni oblik [2].

## Metod

Za utvrđivanje dijagnoze nastanka megaloblastne anemije najrelevantniji podaci se dobijaju pregledom razmaza kostne srži i periferne krvi u čoveka. U kostnoj srži uočavaju se poremećaji ćelija eritrocitne, granulocitne i trombocitne loze. U perifernoj krvi uočavaju se dve glavne morfološke promene: prisustvo velikih ovalnih eritrocita i hipersegmentacija jedra zrelih granulocita.

Miševi su raspoređeni u tri eksperimentalne i jednu kontrolnu grupu. U I grupi bili su miševi koji su izlagani gasu dva dana, u II grupi – četiri dana i u III – šest dana. Miševi u kontrolnoj grupu nisu izlagani gasu. Nakon izlaganja dejstvu N<sub>2</sub>O, od miševa su zaq analizu uzimani uzorci krvi i kostne srži.

Azotni oksidul se nalazio u boci (s tim da je pritisak bio smanjen do vrednosti od 1 atmosfere) i puštan je, putem gumenog creva, u stakleno zvonu (akvarijum) pod kojim su bili miševi. Kako udisanje čistog N<sub>2</sub>O

može da izazove hipoksiju usled nedostatka O<sub>2</sub>, gas nije puštan u kontinuitetu, već sa pauzama od po 25 sekundi, sve dok miševi ne bi pali u anesteziju (pod zvonom se nalazila smeša N<sub>2</sub>O i vazduha). Znaci anestezije bili su: arefleksija, atonija i anelgezija.

Sve tri grupe izlagane su gasu 6 puta dnevno po 2 minuta, sa neophodnim pauzama. (Inače, tokom prvog puštanja gasa jedan miš je uginuo usled trovanja!). Svi miševi koji su izlagani gasu držani su u posebnoj kavezi odvojeno od ostalih koji su predviđeni za kontrolnu grupu. Svi miševi su žrtvovani sedmog dana. Krv je uzeta direktno iz srca, a uzorak kostne srži iz grudne kosti. Svi preparati bojani su metodom May-Grünwald-Giemsa.

## Rezultati i diskusija

U odnosu na miševе iz kontrolne grupe, miševi iz eksperimentalnih grupa imali su manju fizičku aktivnost i na njihovim očima zapažen je nastanak skrame koja bi nestajala nakon oporavka od anestezije. U poređenju mikroskopskih preparata razmaza krvi i kostne srži sa fotografijama iz hematološkog atlasa izvedeni su zaključci o nastalim promenama. Uočena je hiperplazija kostne srži u kojoj su zapažena gnezda megaloblasta i nekoliko megakariocita sa izraženom hiperploidiom jedra. Primećeni su i hipersegmentisani granulociti. Krvni razmazi ukazali su na preobražaj eritrocita u megalocite. Sve uočene promene bile su rezultat posmatranja preparata druge i treće grupe miševa. Kod prve grupe nisu zapažene nikakve promene, kao i kod kontrolne, verovatno zbog kratkog vremena izlaganja gasu.

Dakle, ovo istraživanje, iako vršeno na miševima i pod uslovima koji nisu identični uslovima davanja anestezije, može poslužiti kao potvrda pretpostavki da N<sub>2</sub>O remeti sintezu DNK. To bi moglo da znači da se pacijenti kojima se duže daje N<sub>2</sub>O kao anestetik, izlažu riziku nastanka megaloblastne anemije. Naravno, ako prethodno nisu preduzete nikakve mere koje bi sprečile tu osobinu azotnog oksidula.

---

## Literatura

- [ 1 ] Stefanović S, Beraić R. 1968. *Klinička hematologija*. Beograd, Zagreb: Medicinska knjiga.
- [ 2 ] Stefanović S. 1989. *Hematologija*. Beograd, Zagreb: Medicinska knjiga, 289-313.
- [ 3 ] Jakšić B. et al. 1989. *Hematologija i transfuziologija*. Zagreb: Jumena.
- [ 4 ] Majkić-Singh N. 1994. *Medicinska biohemija*. Beograd: Društvo medicinskih biohemičara Jugoslavije.
- [ 5 ] Stefanović S., Ristić M., Jančić M. 1983. *Hematološki atlas*. Beograd, Zagreb: Medicinska knjiga.

---

*Gordana Popović*

## Influence of N<sub>2</sub>O on development of megaloblastic anemia in mice

Object of this examination was influence of N<sub>2</sub>O as anesthetic agent on development of megaloblastic anemia in mice. For that purpose sternum marrow and blood smears were examined. Mice were divided into three different groups according to period of gas inhalation (several times a day until anesthetic effect): two, four and six days. By comparing microscope preparations of blood and bone marrow, it was noticed the presence of bone marrow hyperplasia with megaloblastness and several megacariocytes with hyperploidy of nucleus. Hypersegmented granulocytes were also noticed. Blood smear showed transformation of erythrocytes to megalocytes. All the changes were noticed in preparations of the second and the third group. There were no changes at the first group, probably because of short period of gas inhalation.

