

---

Jasna Grmuša

## Uticaj toluola na broj krvnih ćelija pacova

---

*Organski rastvarači, među kojima je i toluol, imaju široku primenu u industriji zbog čega su ljudi stalno izloženi njihovom toksičnom dejstvu. Cilj ove studije bio je da se ispita da li izlaganje toluolu, kao jednom od najčešće korišćenih rastvarača, dovodi do promene krvne slike pacova. Životinje su bile podeljene u pet grupa i to kontrolnu i četiri koje su bile izložene parama toluola rastućih koncentracija. Standardnim metodama određivan je broj krvnih ćelija pacova pre i posle 5 dana izlaganja. Dobijene vrednosti pokazuju da se sa povećanjem koncentracije toluola u vazduhu broj trombocita u krvi pacova smanjuje. Pokazana je tendencija povećanja broja neutrofila i monocita, a limfociti su opali u grupi koja je bila izložena najkoncentrovanijem (10%-tnom) rastvoru toluola. Ne postoje veće varijacije broja eritrocita i leukocita. Smanjenje broja trombocita u pomenutim grupama je verovatno posledica smanjenja produktivnosti kostne srži i usled toksičnog dejstva toluola na zrele trombocite. Životni vek eritrocita i leukocita je duži pa verovatno iz ovog razloga nije došlo do promene njihovog broja.*

---

### Uvod

Organski rastvarači imaju široku primenu u industriji i česti su uzroci trovanja ljudi i životinja. Benzen je aromatični ugljovodonik izgrađen od jednog benzenovog prstena ( $C_6H_6$ ) a toluol (toluen) prvi član u homologom nizu arena ( $C_6H_6CH_3$ ). U dosadašnjim istraživanjima utvrđeno je toksično dejstvo toluola na centralni nervni sistem (CNS). Dokazano je da izlaganje toluolu i u malim koncentracijama izaziva malaksalost, slabost i konfuziju. Benzen i njegovi analozi u velikim količinama dovode do depresije CNS-a, ali njihov glavni efekat se ogleda u poremećaju hematopoeze. Ostvaruju dva mehanizma delovanja na ćelije kostne srži – toksično i neoplastično. Hronično izlaganje benzenu i njegovim derivatima dovodi do aplazije kostne srži što se manifestuje aplastičnom anemijom, leukopenijom ili trombocitopenijom. Osim toga može doći i do pancitopenije, a

---

*Jasna Grmuša  
(1981), Beograd, D.  
Petrovića - Šaneta 7,  
učenica 2. razreda  
XIV beogradske  
gimnazije*

*MENTOR:  
Doc. Dr Zoran  
Redžić, Institut za  
biohemiju, Medicinski  
fakultet u Beogradu*

usled aplazije kostne srži i do smrti. Dugotrajna aplastična anemija prelazi u preleukemično stanje (mijelodisplazija) i može da progredira u akutnu mijeloidnu leukemiju. U studijama kako na ljudima, tako i na životinjama dokazano je da stepen oštećenja kostne srži zavisi od doze benzena. *In vivo* izlaganje životinja benzenu dovodi do inhibicije rasta i razvoja pluripotentnih stem ćelija kostne srži kao i inhibicije rasta zrelijih prekursora (mijeloidnih i eritrocitnih). Osim toga metaboliti benzena imaju toksično dejstvo na većinu prekursorskih ćelija i u *in vitro* uslovima. Dokazano je da benzen i njegovi derivati smanjuju broj stromalnih ćelija kostne srži kod miševa kako *in vitro*, tako i u *in vivo* uslovima, a poznato je da je za razvoj stem ćelija u kostnoj srži potrebno prisustvo funkcionalne hematopoetske mikrosredine. Stanja slična mijeloplastičnom sindromu kod preživelih od benzen indukovane aplastične anemije primećena su kod ljudi koji su zbog neoplazije tretirani raznim alkilirajućim agensima.

Sve izneto jasno govori o potencijalnim toksičnim efektima benzena i njegovih derivata. Obzirom da je toluen alkilbenzen veoma rasprostranjen u industriji želeli smo da ispitamo da li će imati uticaj na broj krvnih ćelija pacova.

Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita da li izlaganje toluolu dovodi do promene krvne slike pacova.

## Materijal i metode

Istraživanje je izvedeno na 15 odraslih Gunn pacova ženskog pola koji su bili podeljeni u pet grupa. Jedna grupa je bila kontrolna, a četiri eksperimentalne koje su bile izložene parama toluola rastućih koncentracija. Kontrolna grupa je bila izložena parama jestivog suncokretovog ulja koje je korišćeno kao rastvarač za toluol. Površina kaveza, osim hranilice, bila je pokrivena papirnom vatom natopljenom toluolom. Aluminijska folija je stavljana preko papirne vate i tako je sprečeno isparavanje toluola van kaveza i omogućeno da pacovi udišu maksimalnu količinu toluola. Svakog dana u toku pet dana, koliko je trajala ekspozicija, tretirani su pacovi isparenjem 30 ml rastvora sledećih koncentracija: I grupa – 0.1%, II grupa – 1%, III grupa – 5%, IV grupa – 10%.

Pacovima je krv vađena iz repne vene, a broj krvnih ćelija je određivan standardnim metodama:

- broj eritrocita i leukocita u Birker-Tirkovoj komori
- broj trombocita Fonievom metodom u obojenom krvnom razmazu
- relativna leukocitna formula u obojenom krvnom razmazu metodom bojenja May-Gruenwald-Giemsma

## Rezultati

U tabeli 1 prikazani su vrednosti broja trombocita pre i nakon pet dana ekspozicije, kao i broja eritrocita i leukocita nakon pet dana izlaganja isparenjima toluola. Rezultati dobijeni obradom ovih podataka prikazani su graficima A, B i C na slici 1, koji prikazuju posledice dejstva toluola na broj krvnih ćelija kod tretiranih pacova.

Tabela 1. Broj trombocita, eritrocita i leukocita za svaku životinju

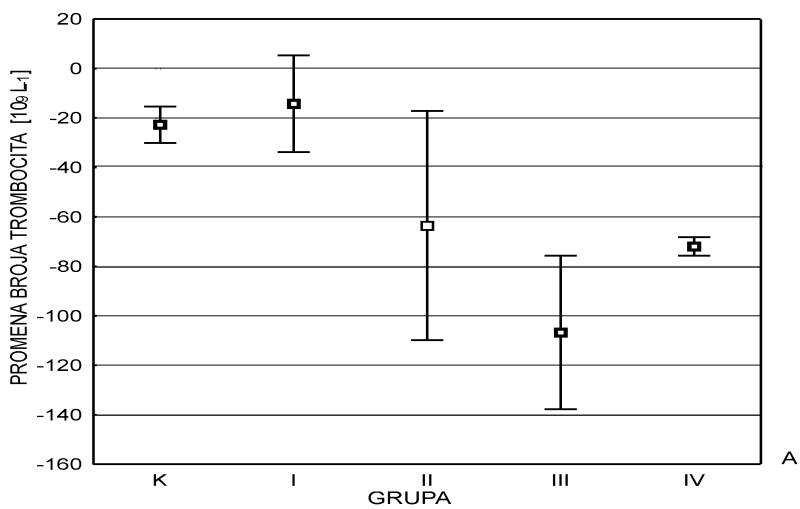
Grupa	Broj trombocita [ $10^9 \text{ L}^{-1}$ ]		Eritrociti* [ $10^{12} \text{ L}^{-1}$ ]	Leukociti* [ $10^9 \text{ L}^{-1}$ ]
	nulti dan	peti dan		
K	120.9	106.6	7.1	5.4
	134.2	107.4	6.7	5.0
	128.8	101.7	6.8	7.0
I	136.5	110.5	6.5	5.9
	241.3	249.6	8.3	6.4
	209.0	183.9	8.4	5.5
II	189.2	79.7	5.0	3.4
	106.0	89.0	4.2	4.4
	132.8	68.9	4.9	4.5
III	238.8	104.4	7.5	7.9
	256.2	183.0	7.3	4.9
	253.3	140.8	5.6	5.2
IV	91.0	19.5	6.5	4.7
	79.8	11.4	5.7	6.7
	94.8	19.0	6.3	6.6

\* Broj eritrocita i leukocite meren je samo nakon petog dana

Promena broja trombocita prikazana je na grafiku 1A, gde svaka tačka na grafiku predstavlja srednju vrednost koja je dobijena iz tri eksperimenta i razlika je rezultata broja trombocita posle i pre ekspozicije. Uočava se tendencija smanjenja broja trombocita sa povećanjem koncentracije toluola.

Broj eritrocita nakon petog dana prikazan je na grafiku 1B. Broj eritrocita nije se menjao u odnosu na kontrolnu grupu osim u drugoj grupi gde je broj eritrocita znatno manji u odnosu na ostale grupe. Svaka srednja vrednost predstavljena je tačkom i dobijena je iz tri eksperimenta, a predstavlja broj eritrocita posle ekspozicije.

Broj leukocita nakon petog dana prikazan je grafikom na grafiku 1C. Kao i kod eritrocita u drugoj grupi postoji veće odstupanje broja leukocita



Slika 1.  
Efekti izlaganja  
pacova dejstvu para  
toluola:

A. Promena broja  
trombocita od  
nultog do petog  
dana eksperimenta

B. Broj eritrocita  
nakon petog dana

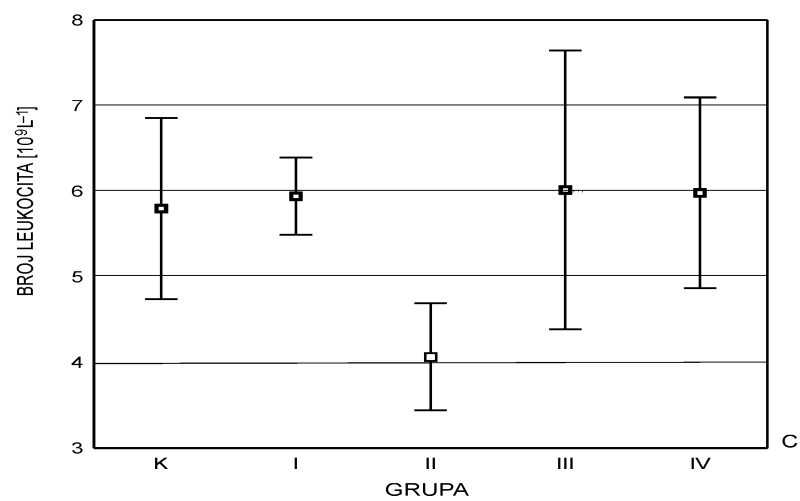
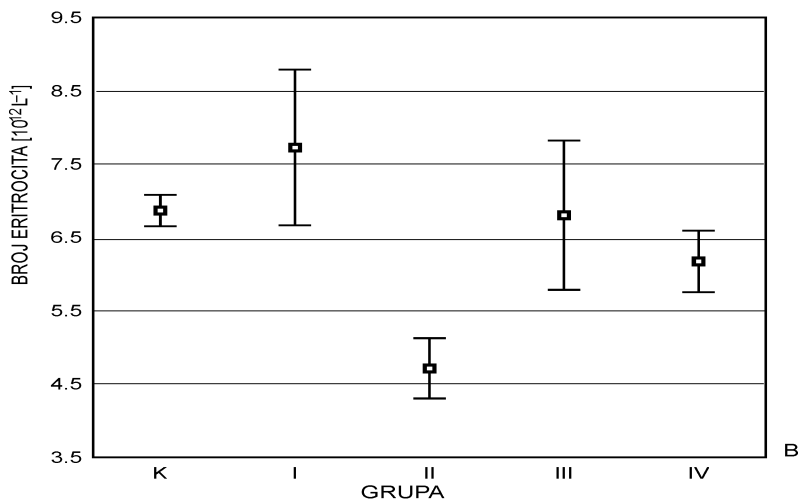
C. Broj leukocita  
nakon petog dana

Figure 1.  
Effects of rat's  
exposition to  
evaporations of  
toluene:

A. Difference in  
number of  
thrombocytes  
between  
circumstances day  
before and after  
the fifth day of  
experiment.

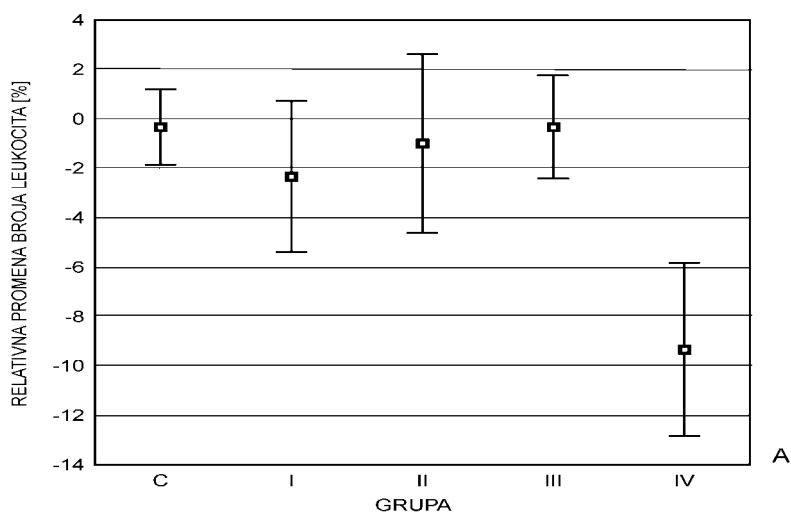
B. Number of  
erythrocytes after  
the fifth day.

C. Number of  
leukocytes after  
the fifth day.

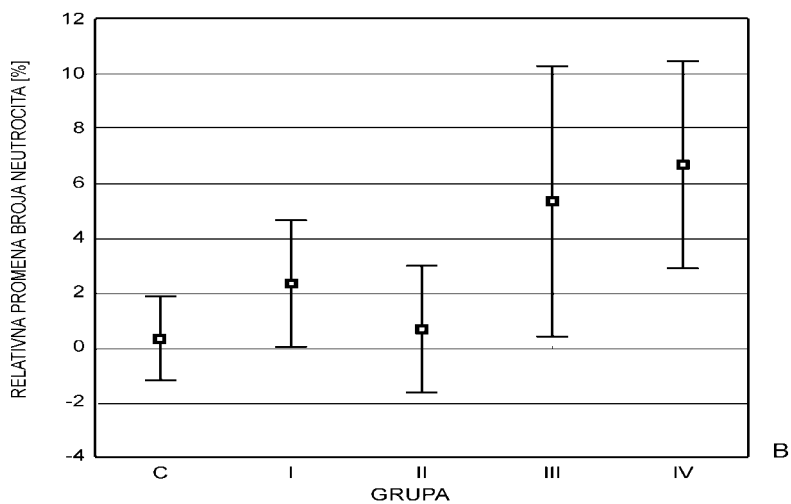


LEGENDA:

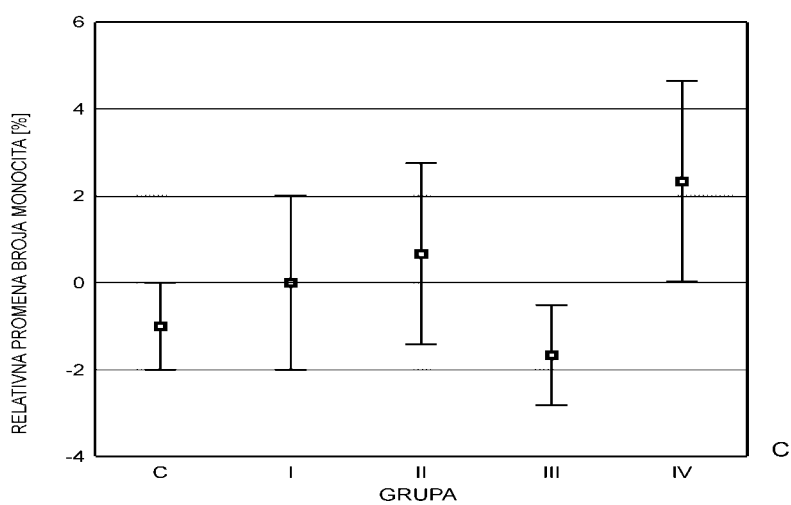
— Srednja vrednost+SD  
— Srednja vrednost-SD  
■ Srednja vrednost



A



B



C

Slika 2.

Promena relativne leukocitne formule:

- A. Promena relativnog broja limfocita nakon petog dana eksperimenta.
- B. Promena relativnog broja neutrofila nakon petog dana eksperimenta.
- C. Promena relativnog broja monocita nakon petog dana eksperimenta.

Figure 2.

Difference in relative leukocyte formula after the fifth day of the experiment.

- A. Difference of relative number of lymphocytes.
- B. Difference of relative number of neutrophils.
- C. Difference of relative number of monocytes.

LEGENDA:

- Srednja vrednost+SD
- Srednja vrednost-SD
- Srednja vrednost

u odnosu na ostale grupe. Tačkom je predstavljena svaka srednja vrednost koja je dobijena iz tri eksperimenta i predstavlja broj leukocita nakon pet dana ekspozicije.

Grafici na slici 2 prikazuju promene na relativnoj leukocitnoj formuli, tj. promene relativnog odnosa različitih vrsta leukocita – limfocita, neutrofila i monocita (eozinofili i bazofili nisu uzeti u obzir budući da ih u krvi pacova ima u malom broju). Svaka tačka na grafiku predstavlja srednju vrednost koja je dobijena iz tri eksperimenta i razlika je rezultata relativnog broja limfocita, neutrofila i monocita pet dana nakon i pre ekspozicije.

Na grafiku 2A se vidi promena relativnog broja limfocita. Uočljivo je da u grupi koja je tretirana rastvorom toluola najveće koncentracije (10%) postoji znatno smanjenje limfocita u odnosu na ostale grupe. Na graficima 2B i 2C, gde su prikazane promene relativnog broja neutrofila i monocita vidi se da sa povećanjem koncentracije toluola neutrofil i monociti imaju tendenciju povećanja.

## Diskusija

Toluol utiče na kostnu srž tako što remeti genezu ćelija i time menja broj ćelija. Vrednosti dobijenih rezultata pokazale su da se broj trombocita u perifernoj krvi smanjuje sa povećanjem koncentracije toluola u vazduhu. Zanimljivo je da je u grupi koja je bila izložena 5%-tnom rastvoru toluola smanjenje broja trombocita bilo veće nego u grupi koja je tretirana 10%-tnim rastvorom toluola, što je verovatno posledica malog uzorka.

Kako megakariocitopenija kod pacova traje 4-5 dana, može se zaključiti da je do trombocitopenije, tj. smanjenja trombocita, došlo iz dva razloga – zbog toksičnog dejstva toluola na zrele trombocite i zbog smanjenja produktivnosti kostne srži. S obzirom da nisu uzeti uzorci kostne srži u kojima bi se mogao odrediti tačan broj megakariocita nije moguće pouzdano reći da li je osnovni toksični efekat toluola ispoljen na megakariocite ili zrele trombocite u krvi.

Brojanjem eritrocita i leukocita u komori posle ekspozicije utvrđeno je da ne postoje velike varijacije po eksperimentalnim grupama pacova. Izuzetak čini druga grupa, kod koje su, iz nama nepoznatih razloga, vrednosti eritrocita i leukocita znatno niže u odnosu na sve ostale grupe. S obzirom da toluol dovodi do aplazije kostne srži, proizilazi da do promene broja eritrocita i leukocita nije došlo zbog kratkog perioda ekspozicije. Naime, životni vek eritrocita iznosi oko 120 dana, tako da se za 5 dana njihov broj u perifernoj krvi ne smanjuje značajno, čak i kada je kostna srž veoma oštećena.

Promene relativne leukocitne formule pokazuju da neutrofil i monociti imaju tendenciju povećanja, a da je u četvrtoj grupi (koja je bila

izložena 10%-tnom rastvoru toluola) znatno opao broj limfocita što navodi na zaključak da su limfociti osjetljiviji na toluol od ostalih leukocita.

## Zaključak

Ovim eksperimentom utvrđeno je da toluol dovodi do smanjenja broja trombocita i u kratkom periodu ekspozicije. U istim uslovima nije zapažena promena broja leukocita i eritrocita, najverovatnije zbog toga što je njihov životni vek duži nego kod trombocita. Verovatno bi se njegov uticaj nakon dužeg tretmana odrazio i na ove ćelije. Istovremeno, došlo je do smanjenja broja limfocita u grupi izloženoj najkoncentrovanijem rastvoru toluola, što ukazuje da su ove ćelije osjetljivije na toluol od ostalih ćelija bele krvne loze.

---

## Literatura

Goodman and Gilman. 1996. *The pharmacological Basis of Therapeutics*, IX ed. McGraw Hill, pp. 1673-97.

Klaassen, C.D. 1996. *Toxicology, the basic science of poisons*, V ed. McGraw Hill, pp. 737-73.

Rusov, Č. 1984. *Osnovi hematologije životinja*. Beograd

---

*Jasna Grmuša*

## Effect of Toluene on Number of Cells in Rat's Blood

Organic solvents, including toluene, are often used in industry. Therefore people are constantly exposed to their toxic effect. The aim of this study was to examine whether exposition to vapour of toluene, as one of the most frequently used solvents, incite alteration of rat's blood picture. Animals were divided in 5 groups. The first one was a control group and other 4 were exposed to the increasing concentrations of toluene. Standard methods were used to determine the number of cells in rat's blood before and after 5 days of exposition.

It appears that thrombocytes show tendency of decreasing when concentration of toluene is increasing (figure 1A). In same conditions monocytes and neutrophiles are increased and number of lymphocytes is decreased in group which had been exposed to the highest concentration of toluene (figure 2). Number of erythrocytes and leukocytes were deter-

mined after 5 day of exposition and there was no difference when compared to the control group (figures 1B and 1C).

Exposed rats have probably displayed thrombocytopenia because of bone marrow damage and toxic effect of toluene on mature thrombocytes in blood. Exposed rats haven't displayed noticeable anemia and leukopenia most likely because of longer life of erythrocytes and leukocytes. It is possible that the effect of toluene on these cells would be considerable after a longer period of exposition.

