

RANO OTKRIVANJE TOKSIČNOG DJELOVANJA BENZENA NA KRVOTVORNI SUSTAV – IMPERATIV SUVREMENE MEDICINE RADA

A. Bogadi-Šare

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Primljeno 22. X. 1991.

Za prikladan zdravstveni nadzor radnika izloženih benzenu potreban je složen pristup. Sastoji se od određivanja koncentracija benzenu u zraku radne okoline, koja prema važećem standardu može maksimalno iznositi 15 ppm, dok su razvijene zemlje svijeta već prihvatile razinu od 1 ppm. Nužno je i praćenje metabolita benzenu u organizmu izloženih radnika. Kod nas je općeprihvaćeno određivanje fenola u mokraći prije i poslije smjene sredinom radnog tjedna. Obavezni laboratorijski testovi uključuju određivanje kompletne krvne slike s eritrocitnim indeksima, a ostali navedeni hematološki testovi su potencijalno vrijedni, ali još nedovoljno ispitani. Promjena ni u jednom od navedenih pokazatelja nije patognomonična, pa se svi nalazi moraju interpretirati istodobno i s puno opreza. Otkrivanje početnih oštećenja krvotvornog sustava osoba izloženih benzenu ostvaruje se kontinuiranim praćenjem zdravstvenog stanja i putem prethodnog i periodskih pregleda. Tako se jedino mogu zadovoljiti kriteriji suvremene medicine rada u otkrivanju početnih promjena i prevenciji nastanka ireverzibilnih toksičnih oštećenja krvotvornog sustava kao posljedice djelovanja benzenu.

Ključne riječi: hematotoksičnost, izloženost benzenu, laboratorijski testovi, profesionalna izloženost.

Benzen se danas ubraja u najčešće korištene kemikalije. Svjetska godišnja proizvodnja iznosi 15 milijuna tona, a najveći proizvođači su razvijene zemlje svijeta (1-3). Ukupna godišnja količina upotrijebljenog benzenu iznosi 32 milijuna tona (3), a čak nekoliko stotina tisuća tona na godinu emitira se u atmosferu (4). Izvrsno je otapalo organskih spojeva i polazni i intermedijarni spoj u organskoj sintezi pa je to osnova za široku primjenu benzenu u proizvodnji otapala, boja, lakova, ljepila, plastičnih masa, gume, umjetne kože, detergenata, pesticida, naftnih derivata (1, 2, 5, 6). Iako je razina izloženosti benzenu u tim industrijama, zbog njegove izrazite toksičnosti dramatično smanjena, ipak su izloženost niskim koncentracijama benzenu i njegovo posljedično toksično djelovanje i dalje prisutni. Osim u okviru ove profesionalne izloženosti, ukupno pučanstvo izloženo je benzenu zbog onečišćenja okoliša iz ispušnih plinova automobila, peći na loživa ulja, tvornica kemikalija te proizvodnje i korištenja nafte i njezinih derivata, osobito benzenu (1, 2, 4, 7-9). Tako je broj ljudi izložen višim ili nižim koncentracijama benzenu vrlo velik, a obuh-

vaća sljedeće populacijske skupine: radnici zaposleni u proizvodnji benzena (2, 5), radnici zaposleni u laboratorijima i kemijskoj industriji gdje se benzen upotrebljava kao među-produkt u sintezi organskih spojeva: stirena, fenola, anilina, cikloheksana, dodecilbenzena, alkil i klorobenzena, anhidrida maleinske kiseline (2, 5), radnici koji rukuju proizvodima čiji je sastavni dio benzen: benzin, otapala za gumu, razna ljepila i boje, onečišćenje u toluenu (2, 5), ljudi koji žive u blizini tvornica u čijem se tehnološkom procesu koriste benzen ili smjese koje ga sadržavaju (2), pušači (4, 7, 8, 10), cijelo pučanstvo, posebno u industrijskim gradovima zbog onečišćenja zraka iz benzina ili pitke vode (2, 4, 7).

PRAĆENJE KONCENTRACIJE BENZENA U RADNOJ OKOLINI

Određivanje granica neškodljive izloženosti nekom otrovu jedan je od važnih instrumenata nadziranja i sprečavanja profesionalnih bolesti. Zbog toga se mjeri koncentracija benzena u jedinici volumena u zraku radne okoline, a maksimalno dopuštena koncentracija (MDK) predstavlja koncentraciju koja pri svakodnevnom osmosatnom radnom vremenu tijekom punog radnog tjedna ne smije izazivati trajna patološka odstupanja zdravlja (5, 11).

Spoznaje o hematotoksičnosti i karcinogenosti benzena uzrokovale su kontinuirano snižavanje te granične koncentracije. Tako je u SAD-u preporučena granična vrijednost za profesionalnu izloženost benzenu postepeno smanjivana od 100 volumnih dijelova benzena na milijun volumnih dijelova zraka (ppm) 1941. godine do 10 ppm 1974. godine (2). Iako koncentracija benzena od 10 ppm s vršnim kratkotrajnim vrijednostima od 25 ppm tijekom radnog vijeka najčešće ne uzrokuje značajne toksične učinke, rizik leukemije prema procjeni *Američke uprave za zaštitu na radu i medicinu rada* (U.S. Occupational Safety and Health Administration, OSHA) (12) iznosi 95, a prema drugim autorima (3, 13, 14) 8 do 160 smrtnih ishoda zbog leukemije na 1000 radnika izloženih benzenu. Budući da se, naprimjer, rizik od smrtnih nesreća u industriji kreće od 3 do 30 na 1000 zaposlenih (14), lako je zaključiti da je navedena razina izloženosti benzenu zbog relativno visokog rizika

Tablica 1.

Učinci benzena u odnosu na koncentraciju benzena u zraku (17)

Koncentracija (ppm)	Učinci
10000	Smrt nakon nekoliko sati
4000	Narkoza
200 – 400	Rizik nastanka teške pancitopenije Odstupanje krvnih elemenata u 50–80% slučajeva
125 – 200	Značajan rizik nastanka leukemije Teška pancitopenija
65 – 125	Umjereno teške pancitopenije i citopenije pojedinih krvnih loza Kod akutne izloženosti umor i glavobolja nakon nekoliko sati
40 – 65	Citopenije pojedinih krvnih loza
25 – 40	Promjene krvnih stanica Snižen hemoglobin
10 – 25	Vjerojatna kritična granica za rizik nastanka leukemije
1 – 10	Oštećenje kromosoma
1	Prag osjetila mirisa

nastanka leukemije ipak značajno previsoka. Zbog toga je u većini zapadnoevropskih zemalja i SAD-u granična vrijednost za koncentraciju benzena u radnoj sredini snižena na 1 ppm, uz vršnu vrijednost 5 ppm (4, 14, 15), pri čemu se rizik nastanka leukemije procjenjuje na 0,5 do 1 na 1000 izloženih osoba (3). Američko vladino udruženje za higijenu rada (American Conference of Governmental Hygienists, ACGIH) čak je preporučilo smanjenje dopuštene granice na 0,1 ppm (3) te svrstavanje benzena u A₁-skupin humanih kancerogena prema kategorizaciji *Međunarodne agencije za istraživanje raka* (International Agency for Research on Cancer – IARC) (16). U prijedlogu hrvatskog standarda predložena je maksimalno dopuštena koncentracija za benzen 1 ppm, ali još vrijedi granica od 15 ppm ili 50 mg/m³ (11).

Iako postoje spoznaje o učincima benzena na organizam kod određenih koncentracija benzena u zraku (tablica 1) ipak specifično prepoznatljiv biološki odgovor nije poznat (1). Zbog toga i zbog relativno visoke dopuštene koncentracije benzena u radnoj okolini kod nas je zdravstveni nadzor radnika izloženih benzenu od izrazite važnosti.

PRAĆENJE BIOLOŠKIH POKAZATELJA IZLOŽENOSTI BENZENU

Najvažniji put ulaska benzena u organizam u uvjetima profesionalne izloženosti jest inhalacija para, a putem kože se apsorbira samo u direktnom kontaktu s tekućinom (18). O značajkama metabolizma i eliminacije benzena ovisi praćenje samog spoja i njegovih metabolita u organizmu izloženih radnika. Četrdeset do pedeset posto udahnutog benzena odstranjuje se iz organizma u nepromijenjenu obliku izdahnutim zrakom, 5–10% stolicom ili se zadržava u tkivima bogatim mastima, a oko 35% eliminira se mokraćom kao metaboliti: fenol 23%, hidrokinon 4,8%, katehol 2,3% te u malim količinama hidroksihidrokinon, 1-fenilmerkaptura te trans-transmukonska kiselina (2, 19–21). Bez obzira na mjesto ulaska, cjelokupna količina benzena unesenog u organizam izluči se unutar 40 sati (22).

Jedini specifični biološki pokazatelji izloženosti benzenu su koncentracija benzena u izdahnutom zraku i u krvi (23), pa pri identifikaciji benzena kao onečišćenja radne okoline treba odrediti jedan od navedenih pokazatelja. Između koncentracije benzena u zraku radne okoline, u alveolarnom zraku i u krvi postoji dobra korelacija (5, 24), iako na koncentraciju benzena u izdahnutom zraku i u krvi mogu bitno utjecati drugi izvori benzena kao što je naprimjer pušenje (24). Koncentracija benzena u izdahnutom zraku i u krvi odraz je samo neposredne izloženosti, zbog njegova brzog izlučivanja i činjenice da se čak polovica udahnutog benzena odmah izdahne (25). Zbog toga, kao i zbog jednostavnijeg prikupljanja biološkog materijala, u rutinskim industrijskim ispitivanjima se kao pokazatelj izloženosti benzenu koristi određivanje koncentracije fenola u mokraći prije i poslije radne smjene (26). Fenol je proizvod normalnog metabolizma (26), a na njegovu razinu u mokraći utječu mnogi čimbenici, kao što su navika pušenja (10, 27), vrsta prehrane (7, 26), uzimanje pojedinih lijekova (28), bolesti probavnog trakta s poremećenom crijevnom mikroflorom (29) te bolesti bubrega (30). Zbog toga, općeprihvaćeno određivanje fenola u mokraći (5) postaje nepouzdana kod koncentracije benzena u zraku niže od 10 ppm (31). Povišene vrijednosti fenola prisutne su u mokraći i kod izloženosti fenolu u radnoj okolini (32–34). Istodobna izloženost toluenu, zbog uzajamnog kočenja metabolizma, smanjuje količinu metabolita benzena, osobito fenola u mokraći, pa se tako može kod izloženosti smjesama organskih otapala potcijeniti stvarna izloženost benzenu (35–37). Količina fenola u mokraći, određena metodom plinske kromatografije (38) kod neizloženih osoba iznosi manje od 20 mg/g kreatinina, a biološka granična vrijednost kod radnika izloženih benzenu je 45 mg/g kreatinina (39). Bez obzira na nedostatke, ipak se koncentracija fenola

u mokraći prije i poslije radne smjene smatra prihvatljivim pokazateljem profesionalne izloženosti benzenu (40) ako razina benzena u radnoj okolini nije niža od 10 ppm (26, 31).

Poznato je da ni sam benzen, a niti fenol nisu toksični, već neki drugi metaboliti benzena (3, 6, 19, 21, 41). Ispitivanja *in vitro* pokazuju da je genotoksičnost benzena posljedica istodobnog djelovanja više metabolita, ponajprije fenola i hidrokinona (42). Zato bi bilo razložno i jedino opravdano odrediti taj ili te metabolite u organizmu kao pravi pokazatelj izloženosti benzenu. U novije vrijeme neki autori smatraju trans-transmukonsku kiselinu dobrim pokazateljem benzenske izloženosti jer se taj spoj normalno ne nalazi u organizmu, a može se detektirati u mokraći i kod ambijentalne izloženosti koncentracijama benzena ispod 5 ppm (3, 43).

Međutim, dok se sa sigurnošću ne identificira spoj odgovoran za toksičnost i kancerogenost benzena, određivanje fenola u mokraći prije i poslije radne smjene sredinom radnog tjedna predstavlja u industrijskim ispitivanjima najpogodniji pokazatelj biološkog praćenja osoba izloženih benzenu.

ZDRAVSTVENO NADZIRANJE

Poteškoće pri određivanju dopuštene odnosno neškodljive izloženosti benzenu ne završavaju se na određivanju maksimalno dopuštene koncentracije benzena u radnoj okolini i odabiru najpogodnijeg pokazatelja biološkog praćenja, već se povećavaju pri izboru pogodnih metoda za određivanje ranih oštećenja zdravlja kao posljedice djelovanja benzena. Benzen ne izaziva specifično odstupanje hematoloških ili drugih testova, a istodobno laboratorijski testovi koji se primjenjuju u kliničkoj praksi imaju vrlo široke granice normalnih vrijednosti. Zato je vrlo teško, a istodobno od neprocjenjive važnosti odrediti kako često i koje metode treba primijeniti u zdravstvenom nadzoru radnika izloženih benzenu. Ujedno je bitno odrediti otklon u rezultatima tih testova na grupnoj ili individualnoj razini koji upućuju na mogući razvoj, ali još ne i klinički izraženu bolest.

Tablica 2.

Bolesti krvotvornog sustava i izloženost benzenu (25)

Dokazana povezanost:

1. Pancitopenija (aplastična anemija)
2. Akutna mijeloična, akutna mijelomonocitna, akutna promijelocitna leukemija, eritroleukemija

Vjerojatna povezanost:

1. Kronična mijeloična leukemija
2. Kronična limfocitna leukemija
3. Hodgkinova bolest
4. Paroksizmalna noćna hemoglobinurija

Pretpostavljena povezanost:

1. Akutna limfoblastična leukemija
 2. Mijelofibroza i mijeloidna metaplazija
 3. Limfom; limfocitni, histiocitni
 4. Trombocitemija
-

Benzen je snažan otrov krvotvornog sustava, uzrokuje depresiju koštane srži koja se manifestira kao citopenija jedne ili više krvnih loza sve do aplastične anemije (1, 2, 41, 44–46). Ujedno je odgovoran za pojavu malignoma svih krvnih loza (2, 6, 20, 25, 41, 46–55) (tablica 2). Zbog toga je zdravstveni nadzor usredotočen na rane znakove oštećenja koštane srži i posljedične promjene u perifernoj krvi.

Uobičajena metoda praćenja bolesti krvotvornog sustava je određivanje kompletne krvne slike koja uključuje broj eritrocita, leukocita, trombocita, retikulocita, hemoglobin, diferencijalnu krvnu sliku i eritrocitne indekse. Smanjen broj eritrocita, leukocita i trombocita kao posljedicu kočenja proliferativne faze hematopoeze u koštanoj srži (21, 22) svakako treba smatrati mogućom posljedicom štetnog djelovanja benzena (2, 6, 20, 25, 41, 44–46, 56). Međutim, široke granice normalnih vrijednosti (tablica 3) mogu prikriti manja odstupanja broja krvnih stanica uzrokovana benzenom. Relativno velika rezerva koštane srži također može maskirati štetan učinak benzena (25). Limfocitopenija, apsolutna i relativna, prema nekim se autorima smatra ranim pokazateljem benzenskog djelovanja (2, 41, 44, 46, 56, 57). Njezina prisutnost uz istodobni izostanak leukopenije upućuje na limfocit kao osjetljivu ciljnu stanicu iako nije poznat stupanj razvoja limfocita koji je zahvaćen toksičnim djelovanjem benzena. Pri korištenju broja limfocita kao ranog pokazatelja djelovanja benzena nužan je oprez zbog širokih granica normalnih vrijednosti koje se kreću od 20 do 40% ukupnih leukocita što u apsolutnom broju iznosi 1,0 do $4,8 \times 10^9/L$ (58, 59) te velike varijacije rezultata pri brojenju limfocita na samo 100 bijelih krvnih stanica u diferencijalnoj krvnoj slici. Osim toga limfopenija je prisutna kod drugih čestih bolesti kao što je »obična« virusna infekcija.

Osim kvantitativnih promjena u krvnoj slici odnosno promjena broja pojedinih krvnih stanica, smatra se da benzen uzrokuje i kvalitativne promjene tih stanica. U te promjene ubraja se makrocitoza eritrocita, očitovana kao povećan prosječni korpuskularni volumen eritrocita (MCV veći od 95 fl), a smatra se odrazom toksičnog djelovanja benzena na fazu sazrijevanja stanica crvene krvne loze u koštanoj srži (2, 6, 41, 44–46, 60). Osnovni nedostatak ovog parametra kao ranog pokazatelja jest prisutnost makroeritrocitoze i kod drugih bolesti npr. megaloblastične anemije, hipotireoze, težih jetrenih bolesti te osobito alkoholizma (61). Utjecaj benzena na staničnu membranu eritrocita očituje se kao povećana osmotska fragilnost registrirana kod osoba s aplastičnom anemijom uzrokovanom benzenom (45, 62) te kao produženo vrijeme hemolize glicerolom u životinjskom pokusu (63).

Smatra se da je uzrok ovih promjena identičan uzroku makroeritrocitoze (25, 63). Produženo vrijeme hemolize glicerolom utvrđeno je i kod talasemije, anemije srpastih stanica, teže kronične bubrežne bolesti i sideropenične anemije, ali se kod ovih patoloških stanja nađu normoeritrocitoza i mikroeritrocitoza (64) za razliku od makroeritrocitoze karakteristične za djelovanje benzena. Prema tome, test hemolize glicerolom (GLT₅₀) i prosječni korpuskularni volumen eritrocita (MCV) mogu razgraničiti ostale krvne bolesti prema hematotoksičnom oštećenju benzenom. Međutim, test hemolize glicerolom nije proveden na humanoj populaciji pa se navedena mogućnost još mora provjeriti. Snižen nivo hemoglobina (44–46), promjene razine porfirina i aminolevulinske kiseline (65, 66) kod osoba izloženih benzenom te smanjeno ugrađivanje željeza u eritrocit nađeno u životinjskom pokusu (67, 68) govore također o djelovanju benzena na eritropoezu u koštanoj srži. Nivo hemoglobina, serumskog željeza i njegovih depoa mogu se smatrati dijelovima mozaika potrebnog u dijagnostici benzenske hematotoksičnosti, ali ne i sigurnim ranim pokazateljima tog djelovanja jer se odstupanja tih parametara javljaju i kod drugih patoloških stanja, pa je njihovo određivanje važno ponajprije za diferencijalnu dijagnostiku.

Dosad opisane kvalitativne promjene leukocita kod radnika izloženih benzenom jesu smanjena fagocitna sposobnost granulocita (69), prisutnost Pelger-Heutove anomalije (44)

i promijenjena aktivnost leukocitne alkalne fosfataze (70–73). Pri određivanju alkalne fosfataze u leukocitima polukvantitativnom metodom i kod humane populacije (70) izložene benzenu i u životinjskom pokusu (71) nađene su snižene vrijednosti, ali pri primjeni kvantitativne metode u životinjskom pokusu dobivene su povišene vrijednosti (72, 73). Zato je potrebno vrijednost ove metode još evaluirati. Porast broja granulocita u perifernoj krvi nakon primjene kortikosteroida (test granulocitne rezerve) odražava funkcionalnu sposobnost koštane srži (74). Kod trovanja benzenom u životinjskom pokusu odgovor koštane srži je izostao (75). Metodu treba provjeriti kod humane populacije izložene benzenu. Utjecaj benzena na limfoidno tkivo odražava se ne samo smanjenim brojem limfocita u perifernoj krvi, već i mogućom povezanosti limfatičkih malignoma i benzenske izloženosti te promijenjenim imunim humoralnim i celularnim odgovorom organizma. Registrirana je prisutnost leukocitnih aglutinina (76), snižen nivo serumskih komplemenata (77) i imunoglobulina (78) kod radnika profesionalno izloženih benzenu. U životinjskom pokusu nađeni su sniženi nivoi T i B-limfocita (79, 80) uz smanjenu sposobnost blastogeneze i proliferacije (2, 79–81), što upućuje na supresivni utjecaj benzena odnosno njegovih metabolita i na T i na B-limfocite. Budući da se smatra da promijenjeni imuni odgovor organizma može imati značajnu ulogu u karcinogenezi, daljnje promatranje imunološkog statusa kod osoba izloženih benzenu važan je element za bolje razumijevanje mehanizma djelovanja benzena u organizmu, ali se zasada ne može smatrati dokazanim ranim pokazateljem benzenskog toksičnog oštećenja.

Citotoksični učinak benzena potvrđen je promjenom oblika jezgre stanice i inhibicijom sinteze RNK-a i DNK-a (2, 42, 82–84). Citogenetski učinak benzena, izražen kao abnormalnost kromosoma utvrđen je i kod životinja (83) i kod osoba profesionalno izloženih benzenu (2, 85–94). Najčešće su zastupani kromosomski lomovi i prekidi bez obzira na to da li je prisutna klinička slika hemopatije ili nije (85–87, 91, 95), a isto tako i sestrinske kromatidne izmjene (SCE) (2, 89, 94). Dok su neki autori našli povećan broj kromosomskih oštećenja i kod radnika izloženih koncentracijama benzena ispod 10 ppm (88, 91), drugi su pak na osnovi svojih ispitivanja zaključili da benzen i njegovi metaboliti imaju slab mutageni učinak (92, 93). Zbog toga treba vrijednost određivanja kromosomskih aberacija i sestrinskih kromatidnih izmjena kao ranih pokazatelja djelovanja benzena još evaluirati. To više što analogni rezultati kod leukemogeneze izazvane ionizacijskim zračenjem i višegodišnje perzistiranje kromosomskih oštećenja kod osoba izloženih benzenu (85, 86) upućuju na kromosomske mutacije kao moguću podlogu nastanka malignoma krvotvornog sustava kod osoba izloženih benzenu (47–51, 54, 55, 96–101) i malignoma krvotvornog i drugih tkiva u životinjskom pokusu (102–105).

Na temelju podataka recentne literature i kritičke evaluacije vrijednosti pojedinih metoda na tablici 3. prikazano je mjesto i značenje pojedinih pokazatelja za rano otkrivanje hematotoksičnosti benzena u ljudi. Budući da promjena ni jednog pokazatelja nije patognomonična, u praktičnoj primjeni svaki od navedenih pokazatelja ne može se ocjenjivati pojedinačno, već samo nakon uvida u sve elemente zdravstvenog stanja izloženih radnika, nakon čega se može donijeti odluka o eventualnom oštećenju zdravlja djelovanjem benzena.

Zdravstveni nadzor radnika izloženih benzenu zahtijeva kontinuirano praćenje zdravstvenog stanja s posebnim osvrtnom na krvotvorni sustav, a sastoji se od prethodnog pregleda prije stupanja u radnu atmosferu onečišćenu benzenom i periodskih pregleda u vremenskim razmacima od godine dana. Pri ocjeni rezultata pregleda i laboratorijskih pretraga, o čijim je mogućnostima i ograničenjima u praktičnoj primjeni bila riječ u ovom preglednom članku, valja obratiti pozornost ne samo na eventualna odstupanja od normalnih vrijednosti već i na odstupanja od početnih vlastitih vrijednosti pojedinih parametara. U

Tablica 3.

Laboratorijski testovi u ranoj dijagnostici hematotoksičnosti benzena

Testovi	Normalne vrijednosti	Literatura (broj)
Obavezni		
Leukociti (L)	4,0–10,0 x 10 ⁹ /L	58, 59
Limfociti (Ly)	1,0–4,8 x 10 ⁹ /L	58
Eritrociti (E)	m. 4,5–5,5 x 10 ¹² /L ž. 4,0–5,0 x 10 ¹² /L	58, 59
Srednji korpuskularni volumen eritrocita (MCV)	85–95 f L	58, 59
Hemoglobin (Hb)	m. 140–180 g/L ž. 120–160 g/L	58, 59
Retikulociti (Rtc)	5–15/10 ³ E	58
Trombociti (Tr)	140–400 x 10 ⁹ /L	59
Željezo u serumu (Fe)	m. 16–27 μmol/L ž. 14–25 μmol/L	59
Ukupna sposobnost vezanja željeza (TIBC)	45–72 μmol/L	59
Potencijalno vrijedni, nedovoljno provjereni		
Kariogram i izmjene sestara kromatida (SCE)	Procjena prema porredbenoj grupi ili praćenjem vlastitih rezultata	106
Alkalna fosfataza u leukocitima (APLc)	43,3 (0–100)	107
Test granulocitne rezerve (TGR)*	>2,9 x 10 ⁹ /L	74
Test hemolize glicerolom (GLT ₅₀)*	42 (26–72)sek.	108
Imunoglobulini (Ig)		
IgA	50–270 i.j./mL	
IgM	60–250 i.j./mL	
IgG	80–220 i.j./mL	
IgE	– 120 i.j./mL	109
T limfociti (T Ly)	62–82% Ly	110
B limfociti (B Ly)	11–27% Ly	110
Antileukocitna antitijela	negativna	111
Anticritocitna antitijela (Coombsov test)	negativna	112
Antitrombocitna antitijela	negativna	113
Bez značenja u praksi		
Porfirini u krvi i urinu		
Δaminolevulinska kiselina u eritrocitima		
Osmotska fragilnost eritrocita		
Osmotska fragilnost granulocita		
Fagocitna sposobnost granulocita		

tom slučaju mogu se registrirati promjene koje su još u granicama normalnih vrijednosti opće populacije, ali za pojedinca predstavljaju značajno odstupanje. Zbog toga je otkrivanje početnih oštećenja krvotvornog sustava ostvareno kontinuiranim praćenjem zdravstvenog stanja osoba izloženih benzenu imperativ suvremene medicine rada.

LITERATURA

1. Goldstein BD. Introduction. U: Laskin S, Goldstein BD, ur. Benzene toxicity: A critical evaluation. J Toxicol Environ Health 1977;2(suppl):1–4.
2. Mehlman MA, ur. Carcinogenicity and toxicity of benzene. Princeton: Princeton Scientific Publishers Inc, 1983.
3. Yardley-Jones A, Anderson D, Parke DV. The toxicity of benzene and its metabolism and molecular pathology in human risk assessment. Br J Ind Med 1991;48:437–44.
4. Wallace L. The exposure of the general population to benzene. Cell Biol Toxicol 1989;5:297–314.
5. WHO Expert Committee on Environmental and Health Monitoring in Occupational Health. Early detection of occupational diseases. WHO Technical Report Services, No 535, 1973.
6. Cohen HS, Freedman ML, Goldstein BD. The problem of benzene in our environment: clinical and molecular considerations. Am J Med Sci 1978;275:124–386.
7. Brief RS, Lynch J, Bernath T et al. Benzene in the workplace. Am Ind Hyg Assoc J 1980;41:616–23.
8. Hajimiragha H, Ewers U, Brockhaus A et al. Levels of benzene and other volatile aromatic compounds in the blood of non-smokers and smokers. Int Arch Occup Environ Health 1989;61:513–8.
9. Infante PF, Rinsky RA, Wagoner JK et al. Leukaemia in benzene workers. Lancet 1977;2:76–8.
10. Wallace L, Pellizzari E, Perritt R et al. Exposure to benzene and other volatile compounds from active and passive smoking. Arch Environ Health 1987;42:272–9.
11. Jugoslavenski standard: Maksimalno dopuštene koncentracije škodljivih gasova, para i aerosola u atmosferi radnih prostorija i radilišta, Jugoslavenski zavod za standardizaciju. Sl. list br. 35/1971.
12. Occupational Safety and Health Administration. Transcript of Proceedings. Informal public hearing on proposed standard for exposure to benzene. 1977.
13. Austin H, Delzell E, Cole Ph. Benzene and leukemia. Am J Epid 1988;419–39.
14. United Nations Environment Programme: Benzene. IRPTC Bulletin. 1989;9:14–7.
15. U.S. Department of Labor. Occupational exposure to benzene; final rule. Fed Reg 1987;52:34460–578.
16. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Overall evaluations of carcinogenicity: An updating of IARC Monographs, suppl 7 vols 1–42. Benzene 120–2. Lyon: IARC, 1987.
17. Holmberg B, Lundberg P. Benzene: Standards, occurrence and exposure. Am J Ind Med 1985;7:375–83.
18. Blank IH, McAuliffe DJ. Penetration of benzene through human skin. J Invest Derm 1985;85:522–6.
19. Rusch GM, Leong BJK, Laskin S. Benzene metabolism. In: Laskin S, Goldstein BD, ur. Benzene toxicity: A critical evaluation. J Toxicol Environ Health 1977; 2(suppl):23–36.
20. Snyder R, Lee EW, Kocsis JJ et al. Bone marrow depressant and leukemogenic actions of benzene. Life Sci 1977;21:1709–22.
21. Kalf G. Recent advances in the metabolism and toxicity of benzene. CRC Crit Rev Toxicol 1987;18:141–59.
22. Henderson RF, Sabonrin PJ, Bechtold WE et al. The effect of dose, dose rate, route of administration and species on tissue and blood levels of benzene metabolites. Environ Health Persp 1989;82:9–17.
23. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Adopted biological exposure indices. U: Threshold limit values and biological exposure indices for 1989–1990. Cincinnati 1989.
24. Brugnone F, Ferbellini L, Faccini GB et al. Benzene in the blood and breath of normal people and occupationally exposed workers. Am J Ind Med 1989;16:385–99.
25. Goldstein BD. Biological and ambient monitoring of benzene in the workplace. J Occup Med 1986;28:1051–4.
26. Lauwerys RR. Human biological monitoring of industrial chemicals. Benzene. Health and Safety Directorate. Luxembourg. Commission of the European Communities, 1979.

27. Dirmikis SM, Darbre A. Gas-liquid chromatography of simple phenols for urinalysis. *J Chromatogr* 1974;94:169–87.
28. Rogers WF, Burdick MP, Burnett GR. The effect of antibiotics on the excretion of phenolic compounds. *J Lab Clin Med* 1955;45:87–96.
29. Duran M, Ketting D, De Bree K et al. Gas chromatographic analysis of urinary volatile phenols in patients with gastro-intestinal disorders and normals. *Clin Chim Acta* 1973;45:341–7.
30. Wengle B, Hellstrom K. Volatile phenols in serum of uraemic patients. *Clin Sci* 1972;43:493–8.
31. Berlin M, Tunek A. Benzene. U: Aitio A, Riihimai V, Vainio H, ur. Biological monitoring and surveillance of workers exposed to chemicals. Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 1984:67–81.
32. Piotrowski JK. Evaluation of exposure to phenol: Absorption of phenol vapour in the lungs and through the skin and excretion of phenol in urine. *Br J Ind Med* 1971;28:172–8.
33. Bieniek G, Wilczok T. Separation and determination of phenol, alfa-naphtol, m- and p-, o-cresols and 2,5-xylenol, and catechol in the urine after mixed exposure to phenol, naphtalene, cresols and xylenols. *Br J Ind Med* 1986;43:570–1.
34. Ogata M, Yamasaki Y, Kawai T. Significance of urinary phenyl sulfate and phenyl glucuronide as indices of exposure to phenol. *Int Arch Occup Environ Health* 1986;58:197–202.
35. Andrews LS, Lee EW, Witmer CM et al. Effects of toluene on the metabolism, disposition and hemopoietic toxicity of [³H] benzene. *Biochem Pharmacol* 1977;26:293–300.
36. Inoue O, Seiji K, Watanabe T et al. Mutual metabolic suppression between benzene and toluene in man. *Int Arch Occup Environ Health* 1988;60:15–20.
37. Purcell KJ, Cason GH, Gargas ML et al. *In vivo* metabolic interactions of benzene and toluene. *Toxicology Letters* 1990;52:141–52.
38. Sherwood RJ, Carter FW. The measurement of occupational exposure to benzene vapour. *Ann Occup Hyg* 1970;13:125–46.
39. Lauwerys RR. Biological monitoring of exposure to organic substances. Benzene. U: Industrial chemical exposure: Guidelines for biological monitoring. California: Biochemical Publications Davis, 1983:54–7.
40. Karačić V, Skender Lj, Prpić-Majić D. Occupational exposure to benzene in the shoe industry. *Am J Ind Med* 1987;12:531–6.
41. Goldstein BD. Current use of ambient and biological monitoring: Reference workplace hazards. Organic toxic agents - Benzene I. In: Berlin A, Yodaiken RE, Henman BA, ed. Assessment of toxic agents at the workplace. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, 1984:161–73.
42. Smith MF, Robertson ML, Jager JW et al. Role of metabolism in benzene-induced myelotoxicity and leukemogenesis. *Prog Clin Biol Res* 1990;340B:125–36.
43. Ducos P, Gandin R, Robert A et al. Improvement in HPLC analysis of urinary trans, trans-muconic acid, a promising substitute for phenol in the assessment of benzene exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 1990;62:529–34.
44. Aksoy M, Dincol K, Akgun T et al. Haematological effects of chronic benzene poisoning in 217 workers. *Br J Ind Med* 1971;28:296–302.
45. Aksoy M, Dincol K, Erdem S et al. Details of blood changes in 32 patients with pancytopenia associated with long-term exposure to benzene. *Br J Ind Med* 1972;29:56–64.
46. Goldstein BD. Hematototoxicity in humans. U: Laskin S, Goldstein BD, ur. Benzene toxicity: A critical evaluation. *J Toxicol Environ Health* 1977;2(suppl):69–105.
47. Aksoy M, Erdem S, Dincol G. Leukemia in shoeworkers exposed chronically to benzene. *Blood* 1974;44:837–41.
48. Aksoy M, Erdem S, Dincol G. Types of leukemia in chronic benzene poisoning. A study in thirty-four patients. *Acta Haemat* 1976:65–72.
49. Vigliani EC, Furni A. Benzene and leukemia. *Environ Res* 1976;11:122–7.
50. Vigliani EC. Leukemia associated with benzene exposure. *Ann N Y Acad Sci* 1976;271:143–51.
51. Infante PF, Rinsky RA, Wagoner JK et al. Leukaemia in benzene workers. *Lancet* 1977;2:76–8.
52. Rinsky RA, Young RJ, Smith AB. Leukemia in benzene workers. *Am J Ind Med* 1981;2:217–45.
53. Infante PF, White MC. Benzene. Epidemiologic observations of leukemia by cell type and adverse health effects associated with low-level exposure. *Environ Health Perspec* 1983;52:75–82.
54. Aksoy M. Malignancies due to occupational exposure to benzene. *Am J Ind Med* 1985;7:395–402.

55. Rinsky RA, Smith AB, Hornung R et al. Benzene and leukemia. *N Eng J Med* 1987;23:1044–50.
56. Snyder CA, Goldstein BD, Sellakumar A et al. Hematotoxicity of inhaled benzene to Sprague-Dawley rats and AKR mice at 300 ppm. *J Toxicol Environ Health* 1978;4:605–18.
57. Kipen HM, Cody RP, Crump KS et al. Hematologic effects of benzene: A thirty-five year longitudinal study of rubber workers. *Toxicol Ind Health* 1988;4:411–30.
58. Stajljenić A. Laboratorijske hematološke pretrage krvi. U: Jakšić B, Labar B, Grgičević D, ur. Hematologija i transfuziologija. Zagreb: Jumea, 1989;142–51.
59. Plavšić F, Čvorišćec D, Plavšić V. Normalne vrijednosti laboratorijskih pretraga i upute za uzimanje uzoraka biološkog materijala. U: Hadžić N, Radonić M, Vrhovac B, Vucelić B, ur. Priručnik interne medicine. Zagreb: Jumea, 1985;729–38.
60. Beving H, Tornling G, Olsson P. Increased erythrocyte volume in car repair painters and car mechanics. *Br J Ind Med* 1991;48:499–501.
61. Unger KW, Johnson D, Jr. Red blood cell mean corpuscular volume: A potential indicator of alcohol usage in a working population. *Am J Med Sci* 1964;267:281–9.
62. Aksoy M, Erdem S, Akgun T et al. Osmotic fragility studies in three patients with aplastic anemia due to chronic benzene poisoning. *Blut* 1966;13:85–90.
63. Goldstein BD, Rozen MG, Snyder CA. Prolonged red blood cell glycerol hemolysis in mice inhaling benzene. *Toxicol Ind Health* 1988;4:499–504.
64. Posteraro A, Gottfried EL. The diagnostic significance of a prolonged erythrocytic glycerol lysis time (GLI₅₀). *Am J Clin Pathol* 1978;70:637–41.
65. Kahn KA, Muzyka VI. The effect of benzene on the delta aminolevulinic acid and porphyrin content in the cerebral cortex and in the blood. *Ind Hyg Prof Assoc Disorders* 1970;3:59–60.
66. Kahn KA, Muzyka VI. The chronic effect of benzene on porphyrin metabolism. *Work Environ Health* 1973;10:140–3.
67. Lee EW, Kocsis JJ, Snyder R. Acute effect of benzene on ⁵⁹Fe incorporation into circulating erythrocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 1974;27:431–6.
68. Snyder R, Dimitriadis E, Guy R et al. Studies on the mechanism of benzene toxicity. *Environ Health Persp* 1989;82:31–5.
69. Koslova TA, Volkova AP. Blood picture and phagocytic activity of leukocytes in workers having contact with benzene. *Gig Sanit* 1960;25:29–34.
70. Girard R, Mallein ML, Bertholon PC et al. Fosfatasi alcalina leucocitaria ed esposizione benzolica. *Med Lav* 1970;61:502–8.
71. Moszczynski P, Starek A, Czarnobilski Z et al. Activity of acid and alkaline phosphatase in neutrophils of rats exposed to benzene and treated with selenium. *Folia Haematol, Leipzig* 1978;105:489–96.
72. Songnian Y, Quilan L, Yuxiang L. Significance of leukocyte alkaline phosphatase in the diagnosis of chronic benzene poisoning. *Reg Toxicol Pharmacol* 1982;2:209–12.
73. Li GL, Yin SN. Benzene-specific increase in leukocyte alkaline phosphatase activity in rats exposed to vapors of various organic solvents. *J Toxicol Environ Health* 1986;19:581–9.
74. Bohinjec J. Test granulocitne rezerve kostnega mozga deksametazonom pri razlikovanju prave nevtropenije od lažne (pseudonevtropenija). *Zdrav Vestn* 1977;46:299–30.
75. Turk R, Fuchs R, Momčilović B. Granulocyte reserve in chronic experimental benzene poisoning in rats. *Arh hig rada toksikol* 1991;42:37–42.
76. Lange A, Smolik R, Zatonski W et al. Leukocyte agglutinins in workers exposed to benzene, toluene and xylene. *Int Arch Arbeitsmed* 1973;31:45–50.
77. Smolik R, Grzybek-Hryniewicz K, Lange A et al. Serum complement level in workers exposed to benzene, toluene and xylene. *Int Arch Arbeitsmed* 1973;31:243–7.
78. Lange A, Smolik R, Zatonski W et al. Serum immunoglobulin levels in workers exposed to benzene, toluene and xylene. *Int Arch Arbeitsmed* 1973;31:37–44.
79. Wierda D, Irons RD, Greenlee WF. Immunotoxicity in C₅₇BL/6 mice exposed to benzene and aroclor 1254. *Toxicol Appl Pharmacol* 1981;6:410–7.
80. Aoyama K. Effects of benzene inhalation on lymphocyte subpopulations and immune response in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;85:92–101.
81. Rozen MG, Snyder CA, Albert RE. Depressions in B and L-lymphocyte mitogen-induced blastogenesis in mice exposed to low concentrations of benzene. *Toxicol Lett* 1984;20:343–9.

82. Kalf GF, Snyder R, Rushmore TH. Inhibition of RNA synthesis by benzene metabolites and their covalent binding to DNA in rabbit bone marrow mitochondria *in vitro*. *Am J Ind Med* 1985;7:485–92.
83. Gad-El-Karim MM, Ramanujam VMS *et al.* Benzene myeloclastogenicity: A function of its metabolism. *Am J Ind Med* 1985;7:475–84.
84. Gad-El-Karim MM, Ramanujam VMS, Legator MS. Correlation between the induction of micronuclei in bone marrow by benzene exposure and the excretion of metabolites in urine of CD-1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;85:464–77.
85. Forni AM, Capellini A, Pacifico E *et al.* Chromosome changes and their evolution in subjects with past exposure to benzene. *Arch Environ Health* 1971;25:385–91.
86. Forni AM, Pacifico E, Limonta A. Chromosome studies in workers exposed to benzene or toluene or both. *Arch Environ Health* 1971;22:373–8.
87. Kahn H, Kahn MH. Cytogenetic studies following chronic exposure to benzene. *Arch Toxicol* 1973;31:39–49.
88. Picciano D. Cytogenetic study of workers exposed to benzene. *Environ Res* 1979;19:33–8.
89. Morimoto K, Wolff S. Increase of sister chromatid exchanges and perturbations of cell division kinetics in human lymphocytes by benzene metabolites. *Cancer Res* 1980;40:1189–93.
90. White MC, Infante PF, Walker B. Occupational exposure to benzene: A review of carcinogenic and related health effects following the U.S. Supreme Court decision. *Am J Ind Med* 1980;1:233–43.
91. Dean BJ. Recent findings on the genetic toxicology of benzene, toluene, xylene and phenols. *Mutat Res* 1985;154:153–81.
92. Yardley-Jones A, Anderson D, Jenkinson PC *et al.* Genotoxic effects in peripheral blood and urine of workers exposed to low level benzene. *Br J Ind Med* 1988;45:694–700.
93. Yardley-Jones A, Anderson D, Lovell DP *et al.* Analysis of chromosomal aberrations in workers exposed to low level benzene. *Br J Ind Med* 1990;47:48–51.
94. Karačić V, Horvat D, Skender Lj, Prpić-Majić D. Chromosome studies in workers occupationally exposed to benzene. *Biological Monitoring* 1991;1:45–52.
95. Snyder R, Kocsis JJ. Current concept of chronic benzene toxicity. *CRC Crit Rev Toxicol* 1975;3:265–88.
96. Ott MG, Townsend JC, Fishbeck WA *et al.* Mortality among individuals occupationally exposed to benzene. *Arch Environ Health* 1978;33:3–10.
97. Linos A, Kyle RA, O'Fallon WM *et al.* A case-control study of occupational exposure and leukaemia. *Int J Epidemiol* 1980;9:131–5.
98. Rushton L, Alderson MR. A case-control study to investigate the association between exposure to benzene and deaths from leukaemia in oil refinery workers. *Br J Cancer* 1981;43:77–84.
99. Checkoway H, Wilcosky T, Wolf P *et al.* An evaluation of the associations of leukemia and rubber industry solvent exposures. *Am J Ind Med* 1984;5:239–49.
100. Bond GC, McLaren EA, Baldwin CL *et al.* An uptake of mortality among chemical workers exposed to benzene. *Br J Ind Med* 1986;43:685–91.
101. Loomis DP, Savitz DA. Occupation and leukemia mortality among men in 16 States: 1985–1987. *Am J Ind Med* 1991;509–21.
102. Cronkite EP, Bullis JE, Inoue T *et al.* Benzene inhalation produces leukemia in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984;75:358–61.
103. Cronkite EP, Drew RT, Inoue T *et al.* Benzene hematotoxicity and leukemogenesis. *Am J Ind Med* 1985;7:447–56.
104. Maltoni C, Conti B, Cotti G *et al.* Experimental studies on benzene carcinogenicity at the Bologna Institute of Oncology: Current results and ongoing research. *Am J Ind Med* 1985;7:415–46.
105. Maltoni C, Ciliberti A, Cotti G *et al.* Benzene, an experimental multipotential carcinogen: Results of the long-term bioassays performed at the Bologna Institute of Oncology. *Environ Health Persp* 1989;82:109–24.
106. IAEA Technical Reports Seria No. 260: Biological dosimetry: Chromosomal aberration analysis for dose assessment. Beč, 1986.
107. Kaplow LS. A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow. *Blood* 1955;10:1023–9.
108. Gottfried EL, Robertson NA. Glycerol lysis time as a screening test for erythrocyte disorders. *J Lab Clin Med* 1974;83:322–33.

109. *Iipovac R.* Priručnik za biokemijsko otkrivanje i potvrđivanje nasljednih grešaka metabolizma. Radikalna imunodifuzija. U: Zergollern-Čupak I, ur. Humana genetika. Zagreb. Jugoslavenska medicinska naklada. 1983;389–90.
110. *Holm G, Petterson D, Mellstedt H et al.* Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of healthy persons. Characterisation by surface markers and lack of selection during purification. Clin Exp Immunol 1975;20:443–57.
111. *Deausset J, Nema A, Brecy H.* Leucoagglutinins in chronic idiopathic or symptomatic pancytopenia. Blood 1954;9:969–72.
112. *Coombs RRA, Gell PGH.* Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. U: Gell PGH, Coombs RRA, Lachmann PJ, ur. Clinical Aspects of Immunology. Oxford-London-Edinburgh-Melbourne: Blackwell Scientific Publ, 1975;761–80.
113. *Karpatkin S, Suskind G.* In vitro detection of platelet antibody in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura and systemic lupus erythematosus. Blood 1969;33:795–9.

Summary

EARLY DETECTION OF THE HAEMATOTOXIC EFFECT OF BENZENE – THE IMPERATIVE OF OCCUPATIONAL MEDICINE TODAY

Surveillance of workers exposed to benzene calls for a complex approach. This includes the determination of benzene concentration in the working atmosphere, which, according to standards applied in Croatia, should not exceed 15 ppm. In the developed countries the allowable workplace level has been reduced to 1 ppm. The monitoring of benzene metabolites in the organism of exposed workers is also necessary. As an indicator of benzene exposure, the urinary phenol concentration determined before and after work in the middle of the week has been generally accepted in Croatia. An essential laboratory test is a complete blood count including red cell indices. Other haematological tests that might be valuable early indicators of benzene haematotoxicity need to be more fully evaluated. Alterations in any of these indicators are not pathognomonic and all findings should therefore be interpreted at the same time and with caution. Early detection of benzene haematotoxicity can be accomplished by continuous health monitoring of exposed workers through preplacement and periodic health examinations. This is in accordance with the principles of modern occupational medicine which requires identification of early changes and prevention of irreversible benzene induced toxic changes in the haematopoietic system.

Institute for Medical Research and Occupational Health University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Key words: haematotoxicity, exposure to benzene, laboratory tests, occupational exposure.