

# Ispitivanje statusa željeza u dobrovoljnih davatelja krvi u Republici Hrvatskoj

---

**Vuk, Tomislav**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:582624>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-19**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Tomislav Vuk**

**Ispitivanje statusa željeza u  
dobrovoljnih davatelja krvi u  
Republici Hrvatskoj**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2017.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Tomislav Vuk**

**Ispitivanje statusa željeza u  
dobrovoljnih davatelja krvi u  
Republici Hrvatskoj**

**DISERTACIJA**

Zagreb, 2017.

*Rad je izrađen u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu, a dio ispitivanja napravljen je u suradnoj ustanovi (Klinika za tumore KBC „Sestre milosrdnice“)*

*Voditelj rada: dr. sc. Jasna Bingulac-Popović, viši znanstveni suradnik*

*Zahvaljujem mentoru, dr. sc. Jasni Bingulac Popović, na prihvaćanju mentorstva i vođenju kroz proces pripreme teme i provedbe rada.*

*Zahvaljujem doc. dr. sc. Ireni Jukić, Ravnateljici Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu, što je omogućila i podržala provedbu ove studije.*

*Zahvaljujem Tihomiru Očiću na kreiranju programa za upravljanje nalazima i obradu podataka, grafičkim rješenjima i nesebičnoj stalnoj podršci tijekom izrade disertacije.*

*Zahvaljujem Vladimiru Cipeku na pomoći prilikom unosa i kontrole unesenih rezultata laboratorijskih ispitivanja.*

*Zahvaljujem doc. dr. sc. Milanu Miloševiću na ogromnoj pomoći u provedbi statističke analize podataka.*

*Zahvaljujem dr. sc. Ljiljani Mayer na kvalitetnoj provedbi dijela analiza koje su rađene izvan HZTM, u Klinici za tumore KBC „Sestre milosrdnice“.*

*Ovu disertaciju povećujem svojim roditeljima, majci Biserki i ocu Ivici, uz zahvalu za svu ljubav i pažnju.*

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Željezo kao element .....	1
1.2. Uloga željeza u ljudskom organizmu .....	2
1.2.1. Toksičnost željeza.....	3
1.3. Metabolizam željeza.....	3
1.3.1. Apsorpcija željeza.....	3
1.3.2. Prijenos željeza u plazmi .....	5
1.3.3. Pohrana željeza u jetri.....	6
1.3.4. Utjecaj indeksa tjelesne mase (ITM) na status željeza .....	6
1.3.5. Utjecaj pušenja na status željeza .....	7
1.3.6. Utjecaj konzumiranja alkohola na status željeza .....	8
1.3.7. Utjecaj fizičke aktivnosti na status željeza .....	8
1.4. Željezo u hematopoezi .....	9
1.5. Željezo u kliničkoj praksi.....	10
1.5.1. Klinički značaj smanjenih zaliha željeza.....	10
1.5.2. Klinička slika nedostatka željeza.....	10
1.5.3. Laboratorijski pokazatelji nedostatka željeza.....	11
1.5.4. Kardiovaskularne bolesti i zalihe željeza .....	11
1.5.5. Karcinomi i zalihe željeza .....	12
1.5.6. Ostali učinci zaliha željeza na zdravlje.....	12
1.6. Dobrovoljni davatelji krvi .....	12
1.7. Kriteriji za odabir davatelja.....	13
1.7.1. Odbijanje davatelja krvi u postupku odabira .....	14
1.8. Određivanje koncentracije hemoglobina u davatelja krvi.....	15
1.8.1. Invazivne metode određivanja koncentracije hemoglobina u kapilarnoj krvi..	16
1.8.2. Neinvazivne metode određivanja koncentracije hemoglobina.....	17
1.9. Određivanje zaliha željeza u davatelja krvi .....	18
1.9.1. Određivanje feritina kao indikatora pohranjenog željeza.....	18
1.9.2. Eritrocitni parametri krvne slike kao indikatori pohranjenog željeza .....	19
1.10. Davatelji krvi i nedostatak željeza .....	20
1.10.1. Testiranje davatelja krvi kod sumnje na nedostatak željeza.....	21
1.10.2. Metode prevencije deplecije željeza kod davatelja krvi.....	22
1.10.3. Nadomjesna terapija nedostatka željeza kod davatelja krvi .....	23

<b>2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>25</b>
<b>3. MATERIJALI I METODE .....</b>	<b>26</b>
3.1. Ispitanici.....	26
3.2. Uzorci.....	27
3.2.1. Uzorak za hematološku analizu.....	28
3.2.2. Uzorak za biokemijska ispitivanja.....	28
3.2.2.1. Centrifugiranje i transport uzoraka do mjesta testiranja .....	28
3.3. Uređaji i reagencije. ....	29
3.3.1. Laboratorijski uređaji .....	29
3.3.1.1. Određivanje hematoloških parametara primjenom hematološkog analizatora Cell-Dyn Ruby .....	29
3.3.1.2. Određivanje koncentracije feritina, UIBC, TIBC i serumskog željeza primjenom analizatora Cobas c311 .....	30
3.3.2. Reagencije za ispitivanja .....	31
3.3.2.1. Reagencije za određivanje koncentracije serumskog željeza .....	31
3.3.2.2. Reagencije za određivanje nezasićenog kapaciteta vezanja željeza – UIBC .....	31
3.3.2.3. Izračunavanje ukupnog kapaciteta vezanja željeza – TIBC i saturacije transferina.....	32
3.3.2.4. Reagencije za određivanje koncentracije feritina .....	32
3.4. Etički aspekti provođenja ispitivanja .....	32
3.5. Statističke metode .....	32
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>34</b>
4.1. Rezultati ispitivanja koncentracije feritina kod muških davatelja u odnosu na učestalost davanja krvi.....	34
4.2. Rezultati ispitivanja koncentracije feritina kod ženskih davatelja u odnosu na učestalost davanja krvi.....	37
4.3. Rezultati ispitivanih kategorijskih varijabli prema spolu ispitanika.....	41
4.4. Feritin, serumsko željezo, dob i ITM u odnosu na navike kod muških davatelja.....	43
4.5. Feritin, serumsko željezo, dob i ITM u odnosu na navike kod ženskih davatelja .....	44
4.6. Kontrolirane korelacije feritina u odnosu na dob, ITM i navike u kontrolnoj skupini muškaraca i žena.....	45

4.7. Rezultati ispitivanih kontinuiranih varijabli u odnosu na učestalost davanja krvi kod muškaraca .....	46
4.8. Rezultati ispitivanih kontinuiranih varijabli u odnosu na učestalost davanja krvi kod žena.....	52
4.9. Kretanje rezultata laboratorijskih ispitivanja u ovisnosti o frekvenciji davanja krvi u populaciji muških i ženskih davatelja .....	56
4.10. Usporedba koncentracije feritina kod žena u menopauzi s muškarcima dobi starije od 50 godina .....	61
4.11. Rezultati korelacije/parcijalne korelacije koncentracije feritina u odnosu na ostale ispitne varijable kod muškaraca i žena .....	62
4.12. Rezultati procjene dijagnostičke učinkovitosti testova u detekciji deplecije željeza analizom ROC uz izračun AUC i indeksa Youden .....	69
4.13. Rezultati predikcije koncentracije feritina, hemoglobina, saturacije transferina i indeksa CCI u odnosu na pojedine kliničke prediktorske varijable za muške davatelje .....	75
4.14. Rezultati predikcije koncentracije feritina, hemoglobina, saturacije transferina i indeksa CCI u odnosu na pojedine kliničke prediktorske varijable za ženske davatelje .....	77
4.15. Usporedba koncentracije feritina nakon ponovljenog mjerenja ovisno o broju davanja krvi .....	79
4.16. Rezultati ispitivanja normalizacije feritina u u odnosu na broj dana od zadnjeg davanja krvi prema spolu analizom ROC.....	82
4.17. Odnos depletiranih zaliha željeza i pojedinih kategorijskih varijabli za muškarce i žene .....	87
4.18. Rezultati analize ROC predikcije smanjenja koncentracije feritina za muškarce i žene ovisno o broju davanja krvi u godini dana .....	89
4.19. Odnos smanjenih zaliha željeza procijenjeno smanjenom saturacijom transferina i pojedinih kategorijskih varijabli za muškarce i žene.....	90
4.20. Rezultati korelacije konzumacije prehrambenih namirnica i vitamina s koncentracijom serumskog željeza za muškarce i žene.....	92
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>93</b>
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>122</b>
<b>7. SAŽETAK.....</b>	<b>125</b>
<b>8. SUMMARY.....</b>	<b>126</b>

<b>9. LITERATURA .....</b>	<b>127</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>151</b>



## POPIS OZNAKA I KRATICA

ANOVA = Analysis of Variance (analiza varijance)

ASH = American Society of Hematology (Američko društvo za hematologiju)

AUC = Area Under the Curve (površina ispod krivulje)

BD = Becton Dickinson (tvrtka za proizvodnju dijagnostičkih sredstava i opreme)

BMI = Body Mass Index (indeks tjelesne mase)

°C = stupanj Celzija

CCI = Combined Cell Index (kombinirani stanični indeks)

CE = Conformité Européenne (europska sukladnost)

CHr = cellular hemoglobin in reticulocytes (sadržaj hemoglobina u retikulocitima)

CI = Confidence Interval (interval pouzdanosti)

CuSO<sub>4</sub> = bakreni sulfat

Dcytb = duodenal cytochrome B (enzim reduktaza)

DDK = dobrovoljni davatelji krvi

df = degrees of freedom (stupnjevi slobode)

DGKL = Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin  
(Njemačko društvo za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu)

dL = decilitar

DMT = Divalent Metal (ion) Transporter (dvovalentni prijenosnik metala)

DNA = Deoxyribonucleic acid (deoksiribonukleinska kiselina)

EPO = eritropoetin

EU = Europska Unija

Fe = željezo (latinski *ferrum*)

FERR 4 Tina-Quant = naziv testa za određivanje feritina tvrtke Roche

g = gram

Gen. = generacija

god. = godina

*HFE* = (gen za nasljednu hemokromatozu)

HCT = hematokrit

Hgb = hemoglobin

HBA2 = Hemoglobin A2 – normalna varijanta hemoglobina, povišena kod beta-talasemije

HKMB = Hrvatska komora medicinskih biokemičara

HRI = Heme-Regulated Inhibitor (hemom regulirani inhibitor)

HYPOM = hypochromic red blood cells (hipokromni eritrociti)

HZJZ = Hrvatski zavod za javno zdravstvo

HZTM = Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

IREs = iron responsive elements (elementi koji ovise o željezu na koje se veže IRP)

IRP = iron responsive element-binding protein (protein koji se veže na IREs u regulaciji metabolizma željeza)

IQR = interkvartalni raspon

ITM = indeks tjelesne mase

kg = kilogram

K2 EDTA = di-potassium ethylenediaminetetraacetic acid (2-kalij etilendiaminotetraoctena kiselina)

L = litra

Max. = maximum

MCH = Mean Corpuscular Haemoglobin (prosječna količina hemoglobina u eritocitu)

MCHC = Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (prosječna koncentracija hemoglobina u eritocitu)

MCV = Mean Corpuscular Volume (prosječni volumen eritrocita)

mg = miligram

Min. = minimum

mL = mililitar

MTP = metal transporter protein (protein za transport metala)

N = broj

ng = nanogram

NHANES = National Health and Nutrition Examination Survey (program nacionalnog istraživanja o stanju zdravlja i prehrane populacije SAD)

NN = Narodne novine

nm = nanometar

NOC = Nuclear Optical Count (brojanje jezgara leukocita na hematološkim analizatorima koji koriste optičku metodu analize)

P = vrijednost statističkog značaja

pH = negativni logaritam koncentracije vodikovih iona

PLT = Platelet (trombocit)

r = koeficijent korelacije

R<sup>2</sup> = koeficijent determinacije

RBC = Red Blood Cell (eritrociti – crvene krvne stanice)

RDW = Red blood cell Distribution Width (raspodjela eritrocita prema veličini)

Ref = reference number (referentni broj)

RES = retikuloendotelni sustav

RH = Republika Hrvatska

RISE = REDS-II (Retrovirus Epidemiology Donor Study-II) Donor Iron Status Evaluation study (Studija II grupe za epidemiologiju retrovirusa u davatelja o procjeni statusa željeza kod davatelja)

ROC = Receiver Operating Characteristics (krivulja koja prikazuje odnos stope stvarno pozitivnih prema stvarno negativnima za određene granične vrijednosti dijagnostičkog testa).

SD = standardna devijacija

sl. = slično

Sr. vr. = srednja vrijednost

STR = solubilni (topljivi) transferinski receptor

t = t-test

TfR = transferinski receptor

TIBC = Total Iron Binding Capacity (ukupni kapacitet vezanja željeza)

TRALI = Transfusion Related Acute Lung Injury (transfuzijom uzrokovano akutno oštećenje pluća)

UIBC = Unsaturated Iron Binding Capacity (nezasićeni kapacitet vezanja željeza)

USA = United States of America (Sjedinjene Američke Države - SAD)

WBC = White Blood Cell (leukociti – bijele krvne stanice)

WHO = World Health Organization (Svjetska zdravstvena organizacija)

ZPP = Zinc Protoporphyrin

µg = mikrogram

µmol = mikromol

X<sup>2</sup> = hi-kvadrat test (statistički test)

# 1. UVOD

## 1.1. Željezo kao element

Željezo, simbol Fe (lat. *ferrum*), kemijski je element (atomski broj 26, relativna atomska masa 55,845) sa četiri stabilna izotopa (maseni brojevi 54, 56, 57 i 58), od kojih je najobilniji  $^{56}\text{Fe}$  (91,75%), te s više nestabilnih, radioaktivnih izotopa (1). Postoje 3 alotropske modifikacije željeza: alfa, gama i delta.

Željezo je među najraširenijim elementima u svemiru. U Zemljinoj kori, željezo je prema svojoj masi četvrti najrašireniji element, a vjeruje se kako se glavnina nalazi u zemljinoj jezgri (1). Mnogi meteoriti sadrže velike količine željeza. Željezo se također nalazi u stotinama minerala kombinirano s drugim elementima: od najvećeg su značaja među željeznim rudama: hematit (željezni oksid,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), magnetit (tri-željezo tetraoksid,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), limonit (hidrirani željezni oksid hidroksida,  $\text{FeO}(\text{OH}) \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) i siderit (željezni karbonat,  $\text{FeCO}_3$ ).

Željezo posjeduje magnetska svojstva i prvi je otkriveni magnetski metal a feromagnetizam je naj snažniji oblik magnetizma. Čisto željezo je kemijski reaktivno i brzo korodira, osobito u uvjetima vlažnog zraka ili povišene temperature (2).

Željezo je čovjeku bilo poznato već u predpovijesno doba, u kojem je obilježilo jedno cijelo tehnološko i kulturno razdoblje (Željezno doba). Željezo je najjeftiniji i jedan od najvažnijih metala, u smislu da je predominantno korišteni metal (95% svjetske proizvodnje metala) (2). Željezo se koristi u proizvodnji čelika i drugih legura važnih u konstrukcijama i proizvodnji. Na Zemlji je vrlo rašireno, ali je u elementarnom stanju rijetko, jer se lako spaja s kisikom i drugim nemetalima. Zbog toga nije bilo od veće vrijednosti ljudima, dok nisu naučili kako ga osloboditi iz smjesa (3).

Željezo gradi mnoge kompleksne spojeve, od kojih su među najstabilnijima cijano-kompleksi. To je metal koji postoji u širokom spektru oksidativnih stanja, iako su dvovalentno i trovalentno željezo najčešći oblici (4).

Željezo je neophodni element u tragovima koji se nalazi u svim živim organizmima, od mikroorganizama do ljudi. Enzimi i proteini koji sadrže željezo sudjeluju u brojnim oksidativnim procesima i u transportu kisika. Primjeri proteina koji se nalaze u višim organizmima uključuju hemoglobin, citokrom i katalazu. Željezo je vrlo važno za život biljaka i životinja, pa ga mora sadržavati hrana toplokrvnih životinja i zemlja u kojoj rastu biljke (4).

## 1.2. Uloga željeza u ljudskom organizmu

Iako je željezo element u tragovima, jedan je od najvažnijih minerala u ljudskom organizmu i sastavni dio svih stanica u tijelu. Taj esencijalni element sastavni je dio hemoglobina, respiratornih i drugih enzima. Sudjeluje u transportu kisika, rastu i diobi stanica te u mnogim drugim biokemijskim procesima, funkcioniranju imunološkog sustava te stvaranju energije. Ono je sastavni dio i mioglobina, bjelančevine koja tijekom velikih napora opskrbljuje mišiće dodatnom energijom. Njegove dostatne količine potrebne su za fizički i psihički razvoj. Željezo sudjeluje u sintezi DNA, a uključeno je i u pretvaranju šećera u krvi u energiju. Proizvodnja enzima (koji igraju važnu ulogu u proizvodnji novih stanica, aminokiselina, hormona i neuroprijenosnika) također ovisi o željezu, a ovaj je aspekt od kritičnog značaja tijekom oporavka od bolesti ili nakon fizičkih napora (5). Obzirom da željezo postoji u dvovalentnom (fero) i trovalentnom (feri) obliku, ono ima sposobnost da prima i otpušta elektrone, što mu omogućava da sudjeluje u oksido-reduktivnim procesima u stanici.

Iako je značaj željeza u zdravlju i bolesti poznat još od drevnog doba, tek su 1932. uspostavljeni uvjerljivi dokazi o potrebi anorganskog željeza u sintezi hemoglobina (6).

Ukupna količina željeza u tijelu zdravog muškaraca je približno 50 mg/kg ili 3500 mg, dok je kod žena zbog nižeg sadržaja hemoglobina i manjeg volumena krvi prisutno približno 35 mg/kg ili 2100 mg (7).

Cook i suradnici procjenjuju da su prosječne zalihe željeza u tkivima kreću oko  $776 \pm 313$  mg u muškaraca i  $309 \pm 346$  mg u žena (8).

Iako se radi o elementu koji je široko rasprostranjen, u kontaktu s kisikom stvara netopljive komplekse koji nisu biorasploživivi. U ljudskom tijelu željezo je vezano u kompleksima s bjelančevinama (hemoglobin, mioglobin). Gotovo dvije trećine željeza u tijelu nalazi se u hemoglobinu, oko 25% čini rezervno željezo koje se nalazi u jetri, koštanoj srži i slezeni u obliku feritina i hemosiderina, a preostalih 15% vezano je za mioglobin i različite enzime uključene u oksidativni metabolizam i druge stanične funkcije (9). Serumsko ili transportno željezo čini svega 0,1%.

U prepubertetskoj dobi, u ljudi ne postoje velike razlike u broju eritrocita, koncentraciji hemoglobina i serumskog feritina između muškog i ženskog spola (10). Tek nakon nastupa menstruacije nastaju vidljive razlike u vrijednostima ovih parametara. Također, tek približno 10 godina nakon prestanka menstruacije, koncentracija hemoglobina u žena postaje komparabilna muškarcima iste dobi (10,11).

Dnevne potrebe željeza kod muškaraca su oko 10 mg, a kod žena oko 15 mg. Povećanu potrebu za željezom imaju žene u reproduktivnom razdoblju, trudnice, djeca i vegetarijanci. Djeca i

adolescenati imaju povećanu potrebu za željezom, što je posljedica brzog rasta, dok je kod žena reproduktivne dobi glavni razlog gubitak krvi uzrokovan menstrualnim krvarenjem. Tijekom trudnoće potreba za željezom raste uslijed rasta placente i djeteta.

Organizam ne može sintetizirati željezo, već ga moramo unositi hranom ili suplementima.

### **1.2.1. Toksičnost željeza**

Željezo je esencijalni mineral za zdravlje ljudi, ali je iznimno toksičan kada je prisutan u prevelikim količinama. Željezo nema jedinstven sistem izlučivanja, pa je moguća akumulacija u organizmu i pojava toksičnosti. Za recikliranje željeza iz eritrocita odgovoran je retikuloendotelni sustav (RES). Ekskrecija željeza odvija se kroz gastrointestinalni trakt.

Slobodno željezo u krvi reagira s peroksidima i formira slobodne radikale koji oštećuju DNA, proteine, lipide i ostale stanične elemente. Ovo može rezultirati bolestima, a u konačnici i smrću. Oko 20 miligrama željeza na kilogram tjelesne težine uzrokuje simptome gastrointestinalne toksičnosti, a 60 mg/kg i više smatra se ozbiljnom toksičnošću koja može imati smrtni ishod (12).

Naročito su ugrožene osobe koje boluju od hemokromatoze, regulatornog poremećaja apsorpcije željeza u crijevima. Željezo se tijekom razvoja bolesti skuplja u jetri i tamo dovodi do sideroze i drugih oštećenja organa. Osim toga, sumnja se da je željezo usko povezano s infektivnim bolestima kao što je tuberkuloza, jer je uzročnicima tih bolesti neophodno željezo za razmnožavanje (13). Također, kod neurodegenerativnih bolesti, poput Parkinsonove ili Alzheimerove, može doći do taloženja i povećanja koncentracije željeza u određenim dijelovima mozga (14). Do danas nije poznato da li je to uzrok ili posljedica ovih bolesti.

## **1.3. Metabolizam željeza**

### **1.3.1. Apsorpcija željeza**

Kako ne postoji učinkoviti način izlučivanja željeza iz organizma, regulacija apsorpcije željeza iz duodenuma igra najvažniju ulogu u homeostazi željeza u organizmu. Dnevno se apsorbira 1-2 mg željeza iz hrane kako bi se nadoknadio gubitak željeza urinom, znojem i ljuštenjem stanica enterocita. Na apsorpciju željeza, uz sastav hrane i čimbenike vezane uz gastrointestinalni trakt, utječe i intenzitet eritrocitopoeze i popunjenost rezervi željeza u organizmu (15).

Željezo se apsorbira u crijevima, a deponira u jetri, slezeni i koštanoj srži kao rezervno željezo, odnosno feritin. Željezo se tkivima doprema putem transferina u plazmi, a nakon što je otpušteno iz enterocita ili makrofaga RES-a (15).

Uravnoteženom prehranom unosi se dnevno od 10-30 mg željeza. Bogati izvor željeza su meso (crveno i bijelo) i mesni proizvodi, jetra (pileća, goveđa i teleća), jaja, cjelovite žitarice, špinat, blitva, kupus i grahorice. Ljudski organizam najbolje apsorbira željezo iz mesa i jaja. Apsorpciju željeza u organizmu pospješuje vitamin C. Hrana bogata kalcijem ne bi se trebala uzimati sa hranom bogatom željezom, jer kalcij umanjuje apsorpciju željeza. Kofein također umanjuje apsorpciju, pa se kava ili čaj ne bi trebali konzumirati odmah nakon jela.

Željezo u hrani životinjskog podrijetla dolazi vezano na proteine, a u hrani biljnog podrijetla dolazi kao sol organskih kiselina. Željezo životinjskog porijekla (hem željezo) ima veću biodostupnost (oko 30% apsorpcije) nego ne-hem željezo iz biljaka (oko 10% apsorpcije) (16). Ne-hem željezo u hrani primarno egzistira u oksidiranom obliku ( $Fe^{3+}$ ) koji nije biodostupan i mora biti reduciran u  $Fe^{2+}$  oblik prije transporta preko crijevnog epitela. Odgovorni enzim za to je ferireduktaza, membranski hemoprotein naziva Dcytb koji se nalazi na četkastoj površini duodenuma (17).  $Fe^{2+}$  se tada transportira u stanicu putem DMT1 (dvovalentni prijenosnik metala) koji također prenosi ostale metalne ione kao što su cink, bakar i kobalt (18).

Muškarci apsorbiraju oko 1 mg željeza dnevno, što približno odgovara gubitku iz gastrointestinalnog trakta. U žena prije menopauze apsorpcija je značajno veća i kreće se u rasponu 1,3-1,5 mg dnevno, a zbog gubitka željeza menstrualnim krvarenjem. Kapacitet apsorpcije raste proporcionalno manjku željeza, do granica od 4-5 mg/dan u vrlo aktivnih davatelja krvi (19).

Dva modela predložena su kao objašnjenje za regulaciju apsorpcije željeza: model programiranih kriпти i model hepcidina (20).

Model programiranih kriпти predlaže da stanice kriпти detektiraju nivo željeza u organizmu, što regulira apsorpciju željeza iz hrane.

Hepcidin, peptid s 25 aminokiselina koji se stvara u jetri, glavni je regulatorni hormon za željezo i poveznica između urođene imunosti i metabolizma željeza (21, 22). Stvaranje hepcidina stimulira punjenje zaliha željeza i infekcija/upala, sa ciljem ograničavanja apsorpcije željeza i njegove dostupnosti štetnim mikroorganizmima. Hepcidin veže ferroportin, transmembranski protein koji je uključen u izlučivanje željeza iz makrofaga, eritrocita i enterocita. To dovodi do degradacije ferroportina i posljedične smanjene apsorpcije željeza iz hrane, sekvestracije željeza u makrofage i smanjenje cirkulirajućeg željeza. Produkcija hepcidina stimulirana je i u anemiji kronične bolesti. Nasuprot tome, kod pojačane potrebe za željezom (manjak željeza, hipoksija, krvarenje, hemoliza i sl.) smanjuje se produkcija hepcidina i posljedično se otpušta uskladišteno željezo i povećava apsorpcija iz hrane.

Poremećaji u regulatornim putevima hepcidina temelj su nastanka različitih poremećaja metabolizma željeza, od deficita željeza do njegovog prekomjernog nakupljanja (23).

Homeostaza staničnog željeza održava se putem dvaju proteina: IRP1 i IRP2 (iron responsive element-binding proteins). Radi se o citosolnim proteinima koji se vežu na IREs (Iron Responsive Elements). Kada su stanice deficitentne željezom, IRP koči sintezu feritina i feroportina te blokira razgradnju transferinskih receptora, a kod suviška željeza IRP se ne vežu za IREs i na taj način povećava se sinteza feritina i feroportina uz poticanje razgradnje transferinskih receptora (24).

Gubitak željeza ovisi o nekoliko čimbenika: tjelesna težina, dob, broj porođaja i genetika. Do gubitka željeza dolazi putem stolice, urina, znojenjem i ljuštenjem kože. Kod žena gubitak je pospješšen menstrualnim krvarenjem.

### **1.3.2. Prijenos željeza u plazmi**

U plazmi je bjelancevina transferin glavni prijenosnik željeza u organizmu. Transferin dio željeza predaje koštanoj srži pa u eritroblastima nastaje hemoglobin, a dio tkivu gdje se željezo pohranjuje kao feritin.

Hem-željezo apsorbira se u enterocite drugačijim mehanizmom, putem (još uvijek neidentificiranog) receptora za hem. Nakon ulaska u enterocit, željezo se otpušta iz hema pomoću hem-oksigenaze i tada se ili skladišti ili transportira iz enterocita kroz bazolateralnu membranu mehanizmom sličnim transportu za ionsko željezo (15).

Feroportin 1 (MTP1) je jedini pretpostavljeni eksporter željeza identificiran do danas (25). Željezni ion koji se izluči kroz bazalnu membranu putem MTP1 se oksidira proteinom naziva hefestin prije vezanja za plazmatski transferin (26).

Transferin veže željezo i održava ga u  $Fe^{3+}$  formi te doprema tkivima: mitohondrijima za sintezu hema i spoja željezo-sumpor, a višak se skladišti. Ukupni sadržaj željeza u transferinu od oko 3 mg čini svega 0,1% ukupnog sadržaja željeza i nadopunjuje se uglavnom iz uništenih eritrocita, a manje iz apsorbiranog željeza iz hrane (27).

Eritrocitni prekursori preuzimaju željezo koristeći transferinski receptor, uglavnom TfR1, dok jetra i ostale ne-eritroidne stanice mogu koristiti željezo koje nije vezano uz transferin. Željezo s transferinom veže se za transferinski receptor i kao kompleks ulaze u stanicu putem endosomskih vezikula. Nakon acidifikacije endosoma dolazi do oslobađanja željeza i recikliranja transferin-transferinskog receptora na površinu stanice. Na površini stanice, uz neutralni pH, transferin se disocira od transferinskog receptora i ponovno može biti korišten (28).



Plazmatski transferin dostavlja željezo svim tkivima, osim onima koji su od krvi odvojeni slojem endotelnih stanica koje formiraju fizičku barijeru (npr. mozak, testisi, oko). Način na koji željezo prelazi ove barijere nije u potpunosti razjašnjen.

### **1.3.3. Pohrana željeza u jetri**

Jetra je glavni skladišni organ za željezo. U preopterećenju željezom, formiranje slobodnih radikala i razvoj lipidne peroksidacije mogu rezultirati progresivnim oštećenjem tkiva i eventualnog razvoja ciroze i hepatocelularnog karcinoma (15). Željezo se sekvstrira u hepatocitima predominantno u obliku feritina ili hemosiderina. Prihvatanje željeza vezanog za transferin iz plazme u jetru posredovano je preko dva transferinska receptora (TfR1 i TfR2) (29).

Kada u stanjima preopterećenja željezom transferin postane zasićen, višak željeza može se naći kao nevezan za transferin. Tada je iznimno toksičan i brzo se izlučuje putem jetre (30).

U fiziološkim uvjetima, plazmatski transferin je hiposaturiran (oko 30%) i ima visok kapacitet vezanja željeza kako bi spriječio akumulaciju željeza koje nije vezano uz transferin. Ipak, u nasljednoj hemokromatozi i drugim poremećajima preopterećenja željezom, nivo plazmatskog željeza prelazi kapacitet zasićenja transferina i počinje nakupljanje nevezanog željeza u jetri (31).

### **1.3.4. Utjecaj indeksa tjelesne mase (ITM) na status željeza**

Većina studija kojima se promatrala povezanost između ITM i statusa željeza rađene su na populaciji djece i adolescenata. Većina ovih studija dokazala je rizik manjka željeza u pretilih djece i adolescenata. Tako su primjerice Eftkehari i suradnici utvrdili negativnu korelaciju ITM i statusa željeza. Adolescenti s prekomjernom težinom imali su veću prevalenciju deficita željeza (32). Slične podatke dobili su i autori studije provedene u SAD (33).

Mali broj studija uspoređivao je status željeza i ITM kod odraslih osoba. Yanoff i suradnici su 2007. godine pokazali na 406 odraslih dobrovoljaca kako su zalihe željeza bile niže u pretilih osoba u odnosu na one normalne tjelesne težine (34).

U studiji Menzie i suradnika iz 2008. niže vrijednosti serumskog željeza i saturacije transferina nađene su u pretilih osoba u usporedbi s kontrolnom skupinom normalne tjelesne težine, a količina masti bila je značajan negativan prediktor koncentracije serumskog željeza (35).

Prema mišljenju autora zadnje dvije navedene studije, patomehanizam smanjenih zaliha željeza u pretilih osoba nije u potpunosti jasan. On može biti posljedica smanjenog unosa željeza zbog nebalansirane prehrane, smanjene apsorpcije željeza u tankome crijevu ili većih potreba za

željezom uslijed većeg volumena krvi. Osim toga, debljina je povezana sa stanjem kronične upale niske razine, što može dovesti do sekvestracije željeza upalnim mehanizmima.

Ima međutim i studija kojima je nađena pozitivna korelacija između ITM i koncentracije feritina (36, 37). U kineskoj studiji objavljenoj 2013. godine prikazano je kako su žene s prekomjernom tjelesnom masom, debljinom ili centralnom debljinom bile pod manjim rizikom od anemije u usporedbi sa ženama normalne tjelesne težine (38).

Cheng i suradnici su 2012. godine objavili preglednu analizu studija objavljenih na temu statusa željeza u pretilih osoba. Rezultati ovog pregleda govore u prilog trendu viših vrijednosti hemoglobina i feritina te smanjene saturacije transferina u osoba s prekomjernom tjelesnom težinom. Ovakve promjene autori smatraju posljedicom upale uzrokovane debljinom ili pridruženog komorbiditeta (39).

Ipak ima i studija koje nisu dokazale navedenu povezanost tj. nisu pronađene razlike u koncentraciji hemoglobina, MCV, serumskom željezu, TIBC, indeksu saturacije transferina i feritina u osoba normalne težine, osoba veće tjelesne težine i pretilih osoba (40).

Prikladno planirana i uravnotežena prehrana u vegetarijanaca preduvjet je održavanja normalnih zaliha željeza. Iako vegetarijanci imaju povećani rizik nedostatka željeza, ne postoje značajne razlike u učestalosti anemije između vegetarijanaca i ostale populacije. Rizik od anemije je veći u osoba koje koriste makrobiotsku prehranu (41).

### **1.3.5. Utjecaj pušenja na status željeza**

Studije koje su uspoređivale hematološke parametre između populacije pušača i nepušača pokazale su značajne razlike u cijelom nizu parametara u ove dvije grupe ispitanika.

Veliki broj studija pokazao je jasnu povezanost pušenja s povišenim brojem leukocita (42 – 44).

U osoba koje puše dokazane su veće koncentracije hemoglobina nego u nepušača (44), a koncentracije su bile u izravnoj korelaciji s brojem popušanih cigareta (45). Milman i suradnici u svojoj su studiji zaključili kako pušenje ima učinak na povećanje koncentracije hemoglobina i to proporcionalno količini pušenja i čini se s većim učinkom kod žena (46).

Studija provedena u Danskoj na 16 254 sudionika u dobi od 20 do 70 godina pokazala je veće koncentracije hemoglobina u pušača oba spola (47). Veće koncentracije hemoglobina i MCHC nađene su i u muškaraca pušača u korejskoj populaciji, 20 – 49 godina starosti (48).

Povišenje koncentracije hemoglobina u pušača se može objasniti povećanom koncentracijom karboksihemoglobina, što smanjuje kapacitet eritrocita za prijenos kisika i posljedično rezultira tkivnom hipoksijom.

Bain BJ i suradnici pokazali su kako se nakon prestanka pušenja povišene koncentracije hemoglobina, eritrocita i leukocita brzo (unutar 2 tjedna) vraćaju na normalne vrijednosti (49). U usporedbi s nepušačima, pušači su u studiji Ghio AJ imali značajno više vrijednosti serumskog željeza i feritina te saturaciju transferina (50). Više vrijednosti feritina u pušača prikazali su i drugi autori (51). Pokazano je kako u pušača dolazi do sekrecije feritina iz alveolarnih makrofaga (52).

Ipak, ima i studija kojima su dobiveni oprečni rezultati od gore navedenih. Tako su Milman i suradnici (Danska) pronašli negativnu korelaciju između pušenja i feritina u muškaraca (37). U studiji Mazokopakis EE i suradnika (Grčka) nije bilo značajne razlike u vrijednostima feritina između pušača i nepušača, ali je među pušačima razina serumskog feritina korelirala značajno s godinama pušenja i količinom cigareta (53).

### **1.3.6. Utjecaj konzumiranja alkohola na status željeza**

Brojnim studijama dokazan je porast zaliha željeza u alkoholičara i osoba koje pojačano konzumiraju alkohol (54 – 58).

Porast pokazatelja zaliha željeza kao što je serumski feritin također su opisani i kod osoba koje konzumiraju male količine alkohola u usporedbi s apstinentima (59, 60).

Brojni autori smatraju kako je akumulacija željeza jedan od mehanizama uključenih u nastanak alkoholnog oštećenja jetre (61 – 65).

Heinz i suradnici pronašli su značajno povišenje serumskog željeza kod alkoholizma (66). Friedman i suradnici opazili su kako adolescenti koji konzumiraju alkohol imaju povišeno serumsko željezo i zaključili kako to može dovesti do jetrenog preopterećenja željezom i kroničnog oštećenja jetre (67).

Povećana konzumacija alkohola ima utjecaj na porast hemoglobina u oba spola, a značajniji učinak nađen je u žena. Ipak, u mnogih pacijenata teško je zaključiti o kojoj se količini konzumiranog alkohola radi (46).

### **1.3.7. Utjecaj fizičke aktivnosti na status željeza**

Niz studija pokazao je kako fizička aktivnost igra važnu ulogu u smanjenju koncentracije serumskog feritina (37, 68 – 70).

#### 1.4. Željezo u hematopoezi

Željezo je nužno u proizvodnji eritrocita, odnosno procesu koji se naziva hematopoeza, ali je i dio hemoglobina na koji se veže kisik i transportira iz pluća prema svim stanicama u tijelu. Hemoglobin je molekula koju čine 4 jedinice hema vezane uz 4 globina (2 alfa i 2 beta lanca). Željezo se dodaje u posljednjem koraku sinteze posredstvom enzima ferohelataze (hem sintetaze) (71). Poremećaji normalne proizvodnje hema ili globina vode do anemije.

Eritropoeza je regulirana eritropoetinom, čija koncentracija raste u uvjetima hipoksije. Bubrež je pri tome osjetilni organ i vodeće mjesto sinteze eritropoetina, zbog čega je i kronično zatajenje bubrega povezano s anemijom. Zajedno s ostalim humoralnim posrednicima, eritropoetin djeluje na koštanu srž kako bi se povećao broj matičnih stanica za proizvodnju eritrocita, skratilo njihovo vrijeme sazrijevanja i dovelo do ranijeg otpuštanja retikulocita (72). Eritropoeza je dinamičan proces u kojem se oko 1% eritrocita koji propadaju zamijeni novima u jednom danu (73).

Radi se o procesu koji se odvija u više faza tijekom kojih eritroidne progenitorske stanice proliferiraju i diferenciraju se u eritrocite.

Životni vijek eritrocita u cirkulaciji je oko 120 dana. Postoje dva mehanizma za odstranjenje starih eritrocita, a oba čuvaju osnovne sastojke za ponovnu sintezu. Uklanjanje starih eritrocita odvija se putem makrofaga u slezeni. Nakon fagocitoze i raspada membrane eritrocita, hemoglobin se pretvara u hem i globin. Željezo se oslobađa iz kompleksa sa hemom putem enzima hem-oksigenaze i bude ili pohranjeno u makrofagima kao feritin ili hemosiderin ili otpušteno u cirkulaciju za ponovni transport u koštanu srž.

Dnevni promet transferinskog željeza je oko 30 mg i normalno se oko 80% ovog željeza transportira u koštanu srž za sintezu hemoglobina u razvoju eritroidnih stanica (73).

Kada je gubitak željeza veći od apsorpcije, dolazi do progresivnog manjka željeza. Prvo dolazi do gubitka uskladištenog željeza, nakon čega slijedi deficitarna eritropoeza koja na kraju kulminira sideropeničnom anemijom (74).

Kod manjka željeza deficit hema inhibira sintezu proteina kroz aktivaciju inhibitora HRI (heme-regulated inhibitor). Ova smanjena proteinska sinteza rezultira usporenom produkcijom retikulocita i manjim nedostatno hemoglobiniziranim retikulocitima, što dovodi do mikrocitne anemije. Ova anemija pak potiče proizvodnju eritropoetina koji smanjuje apoptozu u stanicama ovisnim o EPO (73).

## **1.5. Željezo u kliničkoj praksi**

### **1.5.1. Klinički značaj smanjenih zaliha željeza**

Manjak željeza definira se kao smanjen ukupni sadržaj željeza u organizmu i najrašireniji je nutritivski poremećaj na svijetu, a anemija uzrokovana manjkom željeza čini 50% svih anemija (75). Mala djeca i žene generativne dobi najugroženije su skupine. Manjak željeza može imati različite neželjene učinke na zdravlje, uključujući smanjenje radnog kapaciteta, povećanu smrtnost majki i novorođenčadi, smanjeni psihofizički razvoj djece i smanjene kognitivne funkcije odraslih kao i smanjenje radnog kapaciteta (76). Anemija uzrokovana manjkom željeza najozbiljnija je posljedica i manifestacija deplecije željeza (77). Ona nastaje kada je željezo smanjeno do te mjere da je narušena eritropoeza. Do nedostatka željeza dolazi ili zbog povećanih potreba za željezom ili kod njegova gubitka. Najčešći uzroci su smanjeni unos zbog nepravilne prehrane, smanjena apsorpcija, povećane potrebe ili povećani gubitak (krvarenje). Sideropenična anemija pojavljuje se u 2% do 5% odraslih muškaraca i žena u postmenopauzi u razvijenom svijetu (78). Manjak željeza, sa ili bez anemije, još je češća pojava. To je uobičajeni uzrok pregleda kod gastroenterologa (4% - 13% svih upućenih pacijenata) (79).

U Europi, deficit željeza smatra se jednim od glavnih nutritivskih deficita, koji zahvaća velike proporcije stanovništva, osobito skupine kao što su djeca, žene generativne dobi i trudnice. Neki čimbenici, kao što su kontracepcijska sredstva, davanje krvi i manji patološki gubici krvi (hemoroidi, ginekološka krvarenja) otežavaju nadoknadu željeza. Štoviše, žene, adolescenti koji konzumiraju nisko-energetsku prehranu, vegetarijanci i vegani pod većim su rizikom za manjak željeza (80).

Manjak željeza treba biti pažljivo ispitan jer može biti uzrokovan ozbiljnim zdravstvenim problemima. Uzroci sideropenije svakako se razlikuju u razvijenim zemljama i zemljama u razvoju. U zemljama u razvoju uzroci su naravno povezani češće sa smanjenim unosom željeza, dok u razvijenim zemljama upućuju na ozbiljna patološka stanja. U razvijenim zemljama, manjak željeza u žena generativne dobi najčešće je uzrokovan menstrualnim krvarenjem, dok je u muškaraca i žena u postmenopauzi najčešća gastrointestinalna etiologija (79, 81).

### **1.5.2. Klinička slika nedostatka željeza**

Klinička slika varira, a simptomatologija je posljedica same anemije ali i manjka željeza za metabolizam stanične energije. Simptomatologija ovisi o brzini razvoja anemije, njezinoj jačini i karakteristikama pacijenata. To znači da nalaz deficita željeza može biti laboratorijski i bez izraženih simptoma, dok su mogući i simptomi uz normalnu koncentraciju hemoglobina.

Mogući simptomi nedostatka željeza su: česti umor, slabost, razdražljivost, nemogućnost koncentracije, glavobolja, intolerancija napora, gubitak daha, gubitak kose, atrofija papila jezika, suha usta, krhki nokti i kosa, *pica* (nagon za jedenjem neobičnih supstanci kao zemlje, gipsa, leda i sl.). Brojni literaturni navodi govore i o tzv. „sindromu nemirnih nogu“ kod smanjenih zaliha željeza (82 – 85). Fizikalni pregled ne mora odavati posebnosti ili se može naći varijabilni stupanj bljedila, sistolički šum, i sl. Pregled gastroenterologa te ginekološki pregled kod žena među standardima su dijagnostičkih pretraga.

### **1.5.3. Laboratorijski pokazatelji nedostatka željeza**

Deficit željeza odigrava se postepeno i započinje negativnim balansom. Prije svega dolazi do smanjenja uskladištenog željeza što se u laboratorijskoj dijagnostici manifestira smanjenom koncentracijom feritina. Pad serumskog željeza tipičan je nalaz kod sideropenične anemije, ali zbog dnevnih varijacija, mogućih interferencija i sl. nalaz ne mora biti pouzdan. U ranoj fazi može doći do snižavanja vrijednosti MCV i MCH te porasta biljega raspodjele eritrocita po veličini (RDW). Treba ipak imati na umu da dio bolesnika sa sideropeničnom anemijom ima normalan MCV, ali i da mikrocitoza može biti i posljedica drugih tipova anemije. U kasnijoj, manifestnoj fazi dolazi do snižavanja koncentracije hemoglobina. Tipičan je i nalaz povišenog TIBC, smanjena saturacija transferina i povećanje topljivih transferinskih receptora. U dijagnostici mogu pomoći i određivanje hepcidina, postotka hipokromnih eritrocita te pretraga sadržaja hemoglobina u retikulocitima.

### **1.5.4. Kardiovaskularne bolesti i zalihe željeza**

Ispitivanja učinka zaliha željeza na rizik koronarne bolesti pokazali su kontradiktorne rezultate. Postoje studije koje naglašavaju protektivnu ulogu smanjenih zaliha željeza u razvoju ateroskleroze. Ovaj se utjecaj smatra posljedicom činjenice da željezo promovira stvaranje slobodnih radikala koji oštećuju stijenku krvne žile (86).

Holay i suradnici u svojoj studiji pronašli su dokaze kako je visoka razina feritina povezana s rizikom akutnog infarkta miokarda (87). Redukcija feritina venepunkcijama imala je povoljan učinak kod pušača u prevenciji periferne arterijske bolesti (88). Australaska studija koja je 17 godina prospektivno pratila povezanost feritina i kardiovaskularnih bolesti nije našla uvjerljive dokaze da je nivo feritina rizičan faktor za nastanak kardiovaskularnih bolesti (89). Protektivna uloga smanjenih zaliha željeza na rizik koronarne bolesti nije dokazana niti u nekim drugim studijama (90).

Baer i suradnici pokazali su kako zalihe željeza nisu povezane s akutnim infarktom miokarda (91), a rezultati studije Brauna i suradnika upućuju na zaključak kako serumske koncentracije feritina i TfR nisu prediktor arterijske koronarne bolesti (92).

#### **1.5.5. Karcinomi i zalihe željeza**

Ispitivanje provedeno na miševima pokazalo je kako tumorske stanice bolje rastu u okolišu bogatom željezom (93). Autori ove studije naglasili su kako njihovi rezultati trebaju biti uzeti u obzir prilikom odluke o terapiji tumora i mogućnosti štetnog djelovanja željeza na rast tumora. Neke studije pokazuju kako je u osoba s niskom razinom feritina povećani rizik nastanka karcinoma želuca (94), te rizik karcinoma bubrega (95).

Edgren i suradnici pokazali su kako ne postoji povezanost davanja krvi s povećanom ili smanjenom ukupnom incidencijom karcinoma (96).

Hercberg smatra kako su dokazi koji povezuju status željeza sa rizikom kardiovaskularnih bolesti i karcinoma neutemeljeni (80).

#### **1.5.6. Ostali učinci zaliha željeza na zdravlje**

Studije su dokazale smanjeni kapacitet prilagodbe na aerobni trening u žena sa smanjenim zalihami željeza bez anemije (97).

Suplementacija željeza u neanemičnih adolescentnih djevojaka s deficitom željeza unaprijedila je kognitivne funkcije (98).

Neki autori dokazali su i povezanost postpartalne depresije i manjka željeza (99).

Epidemiolozi su opazili kako je davanje krvi povezano sa smanjenim rizikom dijabetesa tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti. Uskladišteno željezo, čini se, negativno utječe na djelovanje inzulina čak i u zdravih ljudi i to ne samo kod klasičnih patoloških stanja povezanih s preopterećenjem željezom, kao što je hemokromatoza i hemosideroza (100).

Neki autori naglašavaju kako se smanjenjem zaliha željeza flebotomijom smanjuje rizik metaboličkog sindroma (101).

### **1.6. Dobrovoljni davatelji krvi**

Davanje krvi humani je čin, kojim se velikom broju bolesnika omogućava liječenje jedinstvenim lijekovima potrebnim za nadoknadu hematološkog deficita. Transfuzijsko liječenje omogućava liječenje brojnih akutnih i kroničnih stanja te provedbu složenih medicinskih zahvata. Ovaj oblik liječenja ima poseban položaj u sustavu zdravstvene zaštite. Prije svega je to posljedica biološkog porijekla krvnih pripravaka i ograničenih rezervi. Mnoge

zemlje još se uvijek suočavaju s velikim manjkom krvnih pripravaka, ponekad i do razine na kojoj je ugrožena sigurnost pacijenata koji trebaju transfuzijsko liječenje. Zbog toga je iznimno važno da se ovim vrijednim resursom raspolaže na ekonomičan i profesionalan način. Odgovornost je to kako prema pacijentima tako i prema davateljima krvi. Opće je prihvaćeno načelo da se krv prikuplja od dobrovoljnih neplaćenih davatelja. Ovi davatelji daruju krv na principima solidarnosti, besplatnosti, dobrovoljnosti i anonimnosti. Dobrovoljnim davanjem krvi značajno je smanjen rizik krvlju prenosivih bolesti koji prati plaćeno davateljstvo.

### **1.7. Kriteriji za odabir davatelja**

Sigurnost transfuzijskog liječenja kontinuirano je unapređivana tijekom povijesti, uz smanjenje ili eliminaciju pojedinih rizika transfuzijskog liječenja, zbog čega se s pravom može reći da je krv danas sigurnija no ikada. Sigurnost krvi i krvnih pripravaka postiže se prije svega pažljivim postupcima odabira davatelja te implementacijom visoko osjetljivih testova u otkrivanju krvlju prenosivih bolesti. Kriteriji za odabir davatelja sve su stroži, što može predstavljati rizik adekvatnoj opskrbi. Zbog toga je važno da se i ovaj čimbenik uzme u obzir prilikom promidžbenih aktivnosti.

U razvijenim zemljama krv daruje oko 3-5% stanovnika. Zbog starenja populacije osobito je važno promotivne aktivnosti usmjeravati prema mlađoj populaciji prospektivnih davatelja. Prema WHO, minimalne potrebe za zadovoljenje osnovnih zahtjeva za krvnim pripravcima u nekoj zemlji su približno 1% populacije (10 na 1000 stanovnika), ovi zahtjevi su direktno proporcionalni razvijenosti zdravstvenih sustava (102).

S oko 35 davatelja na 1000 stanovnika, Hrvatska zadovoljava zahtjeve za krvnim pripravcima, ali ne i za pojedinim derivatima plazme. Oko 180.000 doza pune krvi prikupi se godišnje i proizvede približno 470.000 primarnih krvnih pripravaka (103).

Davatelji krvi u RH su dobrovoljni, neplaćeni. Ministarstvo zdravlja ima zakonsku obvezu organizacije transfuzijske službe i opskrbu sigurnim krvnim pripravcima. U Hrvatskoj je promocija i organizacija dobrovoljnog davanja krvi u nadležnosti transfuzijske službe i Crvenog križa, dok su ostale aktivnosti u transfuzijskoj medicini područje djelovanja transfuzijske službe.

Odabir davatelja značajan je čimbenik u zaštiti zdravlja davatelja i osiguranju kvalitetnog i sigurnog krvnog pripravka za transfuzijsko liječenje. U postupku odabira, davatelj mora biti informiran o svim aspektima vezanim uz davanje krvi, uključujući i moguće rizike. Kriteriji za odabir davatelja definirani su zakonima i stručnim standardima. Davatelji mogu biti isključivo



zdrave osobe, a donacije krvi/krvnih sastojaka ne bi smjeli ugrožavati zdravstveni status prema Hipokratovom principu „Primum nil nocere“ (104).

Uzimanjem detaljne anamneze i fizikalnim pregledom sprečava se uzimanje krvi od davatelja koji ne udovoljavaju propisanim zahtjevima odabira.

Na žalost, postoji značajna varijabilnost u primjeni selekcijskih kriterija. Posljedica je to arbitrarno uspostavljenih kriterija, nesigurnosti oko njihove opravdanosti, principa predostrožnosti i sl., zbog čega su neki od kriterija tijekom godina postali dogma. U 2010. godini objavljena je studija o razlikama u odabiru davatelja (105). Razlike su nađene u dopuštenoj učestalosti davanja krvi (od 56 do 120 dana), gornja granica dobi kretala se od 60 do 81 godine, a minimalna koncentracija hemoglobina u rasponu 115-125 g/L za žene i 125-135 g/L za muškarce. Volumen uzete krvi kretao se u rasponu od 300 mL do 500 mL, a različiti su bili i periodi odbijanja davatelja za različite rizike povezane sa sigurnošću bilo davatelja bilo pacijenata. Autori studije zaključili su kako su razlike u kriterijima više kulturološke nego znanstvene prirode.

Razlike koje postoje između različitih zemalja, odnosno transfuzijskih ustanova, upućuju na zaključak kako kriteriji odabira često nisu znanstveno utemeljeni. Zadaća je sustava hemovigilancije i stručnjaka u transfuzijskoj medicini stalno preispitivanje ovih kriterija (106, 107).

### **1.7.1. Odbijanje davatelja krvi u postupku odabira**

Učestalost odbijenih davatelja krvi na velikom uzorku populacije SAD u razdoblju 2001. – 2006. bila je 12,8% (108). Ovo je u skladu s podacima u RH (13,1% odbijanja u 2014. godini, prema podacima koje je Vuk T. prikupio u sklopu ispitivanja indikatora kvalitete u RH). Različiti pristup odabiru davatelja pokazuje i druga studija američkih autora iz 2003. godine, prema kojoj je udio odbijenih davatelja u regionalnim centrima varirao od 5% do 24% (109).

Privremeno odbijanje davatelja znatno je češće od trajnog. Odbijanje davatelja ima niz negativnih učinaka na percepciju davatelja o davanju krvi i na ponovni dolazak davatelja na davanje krvi. Ovo se prije svega odnosi na osjećaj odbijanja, suočavanje sa „starim“ bolestima i problemima, suočavanje s rizicima kojih nisu bili svjesni te osjećaj diskriminacije (110).

Odbijanje zbog smanjene koncentracije hemoglobina najčešći je razlog odbijanja davatelja (111 – 113).

Približno 10% davatelja odbija se zbog smanjene koncentracije hemoglobina ili sniženog hematokrita (111, 114). Odbijanje zbog smanjene koncentracije hemoglobina također ima snažni utjecaj na ponovni dolazak davatelja na davanje krvi (115).

U studiji provedenoj u Indiji učestalost odbijenih davatelja bila je 9%, a većina njih (91,0%) bila je privremeno odbijena. Anemija je bila najčešći uzrok odbijanja (32,8%). Trajno odbijanje bilježeno je s učestalosti od 9,1%, a hipertenzija je bila najčešći razlog (29,4%) (116).

Prema podacima Custer B i suradnika, u studiji rađenoj 2000. godine u SAD, u bankama krvi na Pacifiku, 13,6% od 116.165 osoba koje su pristupile davanju krvi bilo je odbijeno. Kratkotrajno odbijanje odnosilo se na 68,5% davatelja (hematokrit je bio najčešći razlog s 60%), a dugotrajnije odbijanje 21% (od toga 59% zbog putovanja u malarična područja, 29% zbog tetoviranja i drugog kontakta s iglom (isključeno intravenozno uzimanje droge), dok je dugogodišnje ili trajno odbijanje činilo 10,5% (112).

Rezultati američke studije koji obuhvaćaju period od 1993.-1997. pokazali su kako su najčešći uzroci privremenog odbijanja davatelja sniženi hemoglobin (46%), prehlada i/ili upala grla (19%) te povišena tjelesna temperatura (10%) (117).

Prema podacima za razdoblje 2004.-2010., u Bangkoku je zbog smanjene koncentracije hemoglobina odbijeno 209.849 DDK, što čini 40,42% svih odbijenih davatelja (118).

U Norveškoj je 25% novih ženskih davatelja bilo odbijeno zbog smanjene koncentracije hemoglobina u 2005./2006. godini (119).

Odbijanje davatelja zbog smanjene koncentracije hemoglobina u studiji Mast AE i suradnika bilo je povezano s ženskim spolom, starijom dobi davatelja, pripadnosti afroameričkoj etničkoj skupini i manjoj tjelesnoj masi u muških davatelja (111).

Obzirom na predominantno odbijanje davatelja zbog smanjene koncentracije hemoglobina i značaja kojeg smanjene zalihe željeza mogu imati na zdravlje davatelja, veliki broj transfuzijskih centara putem informativnih letaka ili web stranica pruža savjetovanje davateljima o prehrani bogatoj željezom, frekvenciji davanja krvi i sl. ali i o značaju željeza. Ipak, praksa s obzirom na odbijanje davatelja je vrlo varijabilna što pokazuje i studija Delaney M iz 2011. godine (120). Prema ovoj studiji 70% američkih banaka krvi uključenih u studiju odbija davatelje na jedan dan, a samo 6% njih na više od dva tjedna. Većina centara pruža pismenu ili usmenu informaciju o sniženom hematokritu. Samo 35% centara ima definiranu graničnu vrijednost („cut-off“) pri kojoj se zahtijeva daljnja obrada davatelja zbog patoloških vrijednosti hemoglobina.

## **1.8. Određivanje koncentracije hemoglobina u davatelja krvi**

Kontrola koncentracije hemoglobina jedno je od kritičnih točaka u postupku odabira davatelja. Pouzdana i točna izvedba ovog testa preduvjet je zaštite zdravlja davatelja i garancija

prikladnog sadržaja hemoglobina u dozi koncentrata eritrocita. Koncentracija hemoglobina u RH mora biti najmanje 125 g/L za žene i najmanje 135 g/L za muškarce.

Određivanje hemoglobina među prvim je testovima implementiranim u postupak odabira davatelja krvi. Danas je dostupan cijeli niz metoda, od kojih svaka ima svoje prednosti i nedostatke. Primarno se u odabiru davatelja koriste metode temeljene na analizi kapilarne krvi. Kapilarna krv za određivanje hemoglobina dobiva se uglavnom punkcijom jagodice prsta, a rijetko je u primjeni vađenje krvi iz uške.

Primjena brojača stanica na uzorcima venske krvi pouzdana je metoda određivanja hemoglobina. Među nedostacima treba spomenuti invazivnost metode zbog potrebe dodatne venepunkcije i s njom udruženih rizika (bol, komplikacije venepunkcije i sl.), nužnost korištenja brojača stanica i kvalificiranog osoblja za rukovanje istim, vrijeme potrebno do dobivanja rezultata, cijenu pretrage i održavanje analizatora. Cijanmethemoglobin metoda preporučena je metoda od strane međunarodnog vijeća za standardizaciju u hematologiji (International Council for Standardization in Hematology) (121).

### **1.8.1. Invazivne metode određivanja koncentracije hemoglobina u kapilarnoj krvi**

Mjerenja hemoglobina u kapilarnoj krvi podložna su varijacijama koje proizlaze iz niza čimbenika, kao što su debljina kože ispitanika, temperatura kože, dubina uboda lancete i sl. Na određivanje hemoglobina utječu i neki drugi čimbenici kao što su doba godine, položaj tijela ispitanika, koncentracija hemoglobina i sl. (122, 123).

Primjena bakrenog sulfata ( $\text{CuSO}_4$ ) za semikvantitativno određivanje hemoglobina tradicionalno se primjenjivala u transfuzijskim ustanovama koje prikupljaju krv (124), a još se i danas primjenjuje u velikom broju centara. Prije svega je to posljedica niske cijene i nesavršenosti drugih metoda. Osobito je ova metoda u primjeni u USA. U zemljama EU, ovu metodu koriste Velika Britanija, Španjolska i Hrvatska (125). Metodu odlikuje niska cijena i jednostavnost izvođenja, ali je manjkava u smislu izostanka kvantitativne vrijednosti, te moguće varijabilnosti i nepouzdanosti rezultata (126, 127). Radi se o metodi temeljenoj na specifičnoj težini gdje se procjenjuje kretanje kapljice krvi u otopini modre galice određene specifične težine. Za koncentracije hemoglobina od 125 g/L i 135 g/L koriste se otopine modre galice specifične težine 1,053 i 1,055. Primjenom modre galice potrebno je imati na umu potrebu redovite zamjene galice (svakih 25 analiza), zbog mogućnosti promjene specifične težine (128).

HemoCue (HemoCue, Ängelholm, Švedska) je vrlo raširena metoda za određivanje koncentracije hemoglobina, koja se temelji na fotometrijskom određivanju azid-

methemoglobina. Testni sustav HemoCue je prenosiv, te može raditi primjenom baterija, mali volumen krvi (oko 10 mikrolitara) je potreban za analizu primjenom jednokratnih mikrokveta, a rezultat je dostupan za manje od jedne minute (129).

Novijom studijom provedenom u Irskoj na više od 36.000 parova venskih i kapilarnih uzoraka kod davatelja koji nisu udovoljili minimalnim kriterijima od 125 g/L za žene i 135 g/L za muškarce, otkriveno je kako su vrijednosti hemoglobina u venskoj krvi bile kontinuirano više od kapilarnih vrijednosti u ovom nižem rasponu normalnih vrijednosti (130). Studija francuskih autora potvrdila je ovo opažanje na preko 70.000 davatelja (131).

### **1.8.2. Neinvazivne metode određivanja koncentracije hemoglobina**

Iako su danas dostupne neinvazivne metode određivanja hemoglobina, one još uvijek nisu našle širu primjenu u transfuzijskoj praksi u Europi. Prema Internacionalnom forumu provedenom među 26 zemalja članica EU (125), samo njih 4 prijavilo je iskustva u korištenju ovih metoda, a dvije zemlje najavile su evaluaciju ovih metoda. Većina zemalja u Europi još uvijek koristi invazivne metode koje se temelje na određivanju hemoglobina iz kapilarne krvi primjenom fotometrijskih metoda, od kojih je najčešće korištena metoda HemoCue (125).

NBM-200MP (OrSense, Izrael) je neinvazivna metoda određivanja hemoglobina/hematokrita, koja dodatno pruža i podatke o oksigenaciji. Ovaj sustav ima CE oznaku i validiran je kako u kliničkim uvjetima tako i u populaciji davatelja krvi. Ova metoda okluzivne spektroskopije temelji se na mjerenju apsorpcije i raspšenja svjetla koje prosijava kroz prst.

Haemospect (MBR Optical Systems, Njemačka) je druga neinvazivna metoda koja radi na principu emisije bijelog svjetla kroz prst. Dio projekiranog svjetla apsorbira se od strane različitih tkivnih komponenti, dok se dio svjetla reflektira. Spektrometar u uređaju analizira reflektirano svjetlo prema valnim duljinama a jedinica za elektroničku evaluaciju analizira podatke i pretvara ih u brojčanu vrijednost. Postoje i neke novije neinvazivne metode određivanja hemoglobina, ali je njihova primjena još uvijek znatno rjeđa od navedenih.

Prednosti neinvazivnih metoda u odnosu na invazivne uključuju: jednostavnost korištenja, nema potrebe za kalibracijom uređaja, višestruko korištenje bez potrošnog materijala, izostanak traume za davatelja, nema kontakta s krvi niti rizika od infekcije i manja je mogućnost grešaka u radu (132).

Unatoč navedenim prednostima primjene neinvazivnih metoda, neki autori naglašavaju veliki stupanj njihovih varijabilnosti i nepouzdanosti rezultata (133, 134). Tako je u Irskoj primjena

metode Haemospect dovela do potrebe obavještanja tisuća davatelja o mogućnosti pogrešnog određivanja hemoglobina i potrebe kontaktiranja liječnika.

Određivanje mikrohematokrita je metoda koja se rijetko koristi (uglavnom na prostoru SAD). Neke ustanove koriste ovu metodu za inicijalni probir ili kao sekundarnu metodu u slučaju smanjene koncentracije hemoglobina dobivenog metodom bakrenog sulfata. Ipak, ova pretraga zahtijeva značajno vrijeme i nije pouzdana kao druge metode (135, 136). Treba naglasiti da svaka metoda ima svoje varijacije i ograničenja, ali je važno da te varijacije ne budu toliko značajne da bi ugrozile zdravlje davatelja.

## **1.9. Određivanje zaliha željeza u davatelja krvi**

U prethodnom poglavlju opisane su metode određivanja hemoglobina u davatelja krvi. Određivanje hemoglobina primjenom ovih metoda slabi je prediktor stvarnih zaliha željeza u organizmu i otkriva davatelje samo s manifestnom anemijom (137). Predonacijsko određivanje hemoglobina nema veliki značaj u prevenciji deplecije željeza koja je česta i važna nuspojava kod višestrukih davatelja krvi, osobito žena. Zbog toga dio transfuzijskih ustanova uzima venske uzorke krvi davatelja prilikom donacije kako bi analizom eritrocitnih i/ili drugih parametara (najčešće feritina) procijenili optimalni interval do slijedeće donacije ili potrebu primjene suplementacije željeza.

### **1.9.1. Određivanje feritina kao indikatora pohranjenog željeza**

Utvrđivanje manjka željeza prije manifestne anemije preduvjet je učinkovitosti mjera prevencije u zaštiti zdravlja davatelja. Feritin i topljivi transferinski receptori (TfR) smatraju se osjetljivim indikatorima skladišnog željeza u davatelja, ali njihovo određivanje nije rutinsko, dijelom zbog ekonomskih razloga, a dijelom zbog toga što nisu praktični zbog potrebne aparature i vremena od uzimanja uzorka krvi do rezultata pretrage (137, 138).

Iako je određivanje feritina najčešće primjenjivana metoda u procjeni zaliha željeza kod davatelja, postoje i brojni izazovi u primjeni ovog testa: cijena, uzimanje dodatnih uzoraka krvi, određivanje frekvencije testiranja, organizacija savjetovanja davatelja i sl. Problem je i što rezultati određivanja nisu dostupni prije uzimanja krvi (139).

Feritin je globularni protein molekularne težine veće od 440.000 daltona (ovisno o sadržaju željeza) koji je važan za unutarstanično pohranjivanje željeza, tako što vezivanjem željeza održava željezo u topljivom i netoksičnom stanju. Feritin koji ne sadrži vezano željezo naziva se apoferitin. Molekule feritina se sastoje od 24 podjedinice i prisutne su u svim vrstama stanica. Svaki kompleks feritina može pohraniti oko 4.500 iona željeza (140).

Pohranjeno željezo u kompleksu s feritinom lako je dostupno za iskorištavanje u fiziološkim procesima, za razliku od željeza iz kompleksa s hemosiderinom koji je samo djelomično dostupno. Određivanje feritina primjenjuje se u dijagnostici poremećaja metabolizma željeza, praćenju terapije željezom, diferencijalnoj dijagnozi anemija i procjeni zaliha željeza u različitim rizičnim skupinama pacijenata. Feritin je protein akutne faze upale i nalazi se u svim tkivima, ali ga najviše ima u koštanoj srži, jetri i slezeni. Koncentracija feritina u serumu, u stanju bez ostalih bolesti, pokazatelj je zaliha željeza u tijelu, te se koristi u laboratorijskoj obradi anemija (141). Primjenom ovog testa može se ustanoviti rani deficit željeza. Dokazalo se da je određivanje feritina osjetljiva, specifična i pouzdana pretraga za dokazivanje statusa željeza u ranom stadiju anemije. Također ga je korisno odrediti i kod bolesnika liječenih oralnim pripravcima željeza kako bi se procijenila popunjenost zaliha željeza i donijela možebitna odluka o prekidu liječenja.

Na određivanje feritina mogu negativno utjecati upalna stanja, osobito kada ona zahvaćaju tkiva bogata feritinom, kao što je jetra (141).

Povišene vrijednosti feritina mogu se naći kod hipokromnih anemija (bez nedostatka željeza) ili kod oštećenja parenhima jetre (ciroza, tumori), zatim kod nekih malignih oboljenja (leukoze, limfomi, solidni tumori), hipertireoze, hemokromatoze, porfirije i dijabetesa tipa II. Neke studije naglašavaju i mogućnost povišenih vrijednosti feritina kod pretilosti i svakodnevne konzumacije alkohola (142).

Nije u potpunosti razjašnjen mehanizam povišene koncentracije feritina kod upale, odnosno da li odražava ili uzrokuje upalu ili je li uključen u upalni ciklus. Kell i suradnici smatraju da se on oslobađa iz oštećenih satnica (143).

Snižene vrijednosti feritina nalaze se kod nedostatka željeza uslijed akutnog ili kroničnog krvarenja, trudnoća te kod smanjenje apsorpcije željeza i smanjenog unosa hranom.

Za razliku od hemoglobina, koncentracija feritina ne mijenja se promjenom nadmorske visine. Normalne koncentracije feritina razlikuju se međutim u odnosu na dob i spol ispitanika. Kod žena su relativno niže vrijednosti sve do menopauze, kada počnu rasti. Porast feritina kod muškaraca traje do otprilike 30 – 39 godina kada doživljava svoj vrhunac, a nakon toga ostaje konstantan do 70 godina (144).

### **1.9.2. Eritrocitni parametri krvne slike kao indikatori pohranjenog željeza**

Eritrocitni parametri kompletne krvne slike (KKS) mogu dati informaciju o stanju zaliha željeza, ali je osjetljivost ovih parametara puno manja u detekciji latentne anemije. Kombinacijom pojedinih parametara moguće je međutim povećati osjetljivost detekcije, o

čemu svjedoče brojne studije. U području transfuzijske medicine značajan je iskorak napravio Frank Boulton (145), predlažući tzv. CCI (Combined Cell Index) kao alternativnu ili dopunsku metodu u procjeni zaliha željeza u dobrovoljnih davatelja krvi. Ovaj indeks kombinira eritrocitne parametre MCV, MCH i RDW što se temelji na činjenici da u nastanku deficita željeza u organizmu dolazi do pada MCH (hipokromija), pada MCV (mikrocitoza) i porasta RDW (anizocitoza).

Neki od hematoloških brojača koji se danas rutinski koriste, osim standardnih eritrocitnih parametara imaju mogućnost određivanja i sofisticiranijih parametara, kao što su postotak hipokromnih zrelih eritrocita (HYPOm) i sadržaj hemoglobina u retikulocitima (CHr) (137, 138).

Mjerenje hepcidina još je jedan u nizu testova s potencijalom korištenja u procjeni statusa željeza kod davatelja. Hepcidin, kao ključni regulator metabolizma željeza, smanjen je kod deficita željeza (146). Određivanje hepcidina u urinu ili u serumu omogućava procjenu zahtjeva za željezom i važan je pokazatelj deficita željeza (147, 148). Moguće ograničenje primjene ove metode leži u izraženoj dnevnoj varijaciji koncentracije hepcidina (147).

Mjerenje Cink-protoporfirina (ZPP) još je jedna u nizu ispitivanih metoda. Cink-protoporfirin se proizvodi kada se cink umjesto željeza ugrađuje u protoporfirin u zadnjem stadiju sinteze hema. Povećane vrijednosti nalaze se dakle u slučajevima deficita željeza ili intoksikacije olovom. I dok ga neki autori smatraju podjednako vrijednom alternativom mjerenja serumskog feritina (149), drugi ukazuju na lošu korelaciju između feritina i eritrocitnog ZPP u anemičnih davatelja. Neki pak smatraju da bi određivanje ZPP zbog niske cijene bila dobra metoda probira za procjenu statusa željeza uz izvođenje feritina kod povišenih vrijednosti ZPP-a.

Baart i suradnici svojom su studijom pokazali kako mjerenje ZPP kod prethodne donacije krvi može imati dodatnu vrijednost u predikciji rizika odbijanja davatelja pune krvi (150).

Ispitivanje statusa željeza uključuje i određivanje serumskog željeza, transferina ili TIBC te izračun saturacije transferina. Za manjak željeza, uz sniženi feritin tipični su nalazi nisko serumsko željezo, povišeni TIBC/transferin, povišeni UIBC, snižen postotak saturacije transferina.

### **1.10. Davatelji krvi i nedostatak željeza**

Doniranjem krvi davatelji gube dio hemoglobina i željeza koje organizam treba nadoknaditi. Tijekom jedne donacije pune krvi izgubi se približno 200 – 250 mg željeza. Ova količina predstavlja oko 25% ukupnih zaliha željeza kod muškaraca i oko 75% zaliha željeza kod žena (7). Studije su pokazale kako je smanjenje željeza u organizmu proporcionalno učestalosti

davanja krvi. Osobito su pod rizikom žene generativne dobi, zbog dodatnog gubitka krvi menstrualnim krvarenjem. Velika studija provedena u SAD pokazuje kako je 3 puta veća vjerojatnost manjka željeza kod žena nego kod muškaraca, a ukupna frekvencija davatelja u SAD koji imaju manjak željeza je čak 35% (151). Da bi se ovaj gubitak kompenzirao, dolazi do „povlačenja“ željeza iz deponija i pojačane apsorpcije iz hrane. Oporavak davatelja, odnosno nadomjestak izgubljenog željeza je dosta individualan i ovisi o dostupnosti željeza u hrani, drugim fiziološkim gubicima željeza, individualnim varijacijama u apsorpciji željeza i sl. Studije su dokazale da je frekvencija davanja krvi, više nego ukupni broj donacija, kritični čimbenik za nastanak manjka željeza kod davatelja.

Prevenција deplecije željeza uzrokovanog donacijama krvi jedno je od vodećih interesa stručnjaka u transfuzijskoj medicini. Brojne studije vezane uz procjenu zaliha željeza kod dobrovoljnih davatelja krvi odraz su nastojanja transfuzijskih službi da osiguraju adekvatne zalihe krvnih pripravaka ne šteteći pritom zdravlju davatelja krvi.

Iako je manjak željeza u davatelja posljednjih godina u fokusu interesa transfuzijskih službi, ovaj problem nije novi i predmet je rasprava već nekoliko desetljeća, ali stalno nove spoznaje predstavljaju pokretačku snagu za rasprave stručnjaka, radionice i skupove, ali i objavljivanje studija na ovu temu.

Problemu deficita željeza u davatelja pristupa se na nekoliko razina: savjetovanjem davatelja o načinu prehrane, promjenama učestalosti i intervala donacija, evaluacijom različitih testova za procjenu zaliha željeza, nadoknadi željeza i sl. Unatoč velikog broja istraživanja i literaturnih podataka, ne postoji univerzalna formula za rješenje ovog problema.

### **1.10.1. Testiranje davatelja krvi kod sumnje na nedostatak željeza**

Kako bi se spriječilo uzimanje krvi od anemičnih davatelja, uobičajena je praksa predonacijsko određivanje koncentracije hemoglobina i poštivanje utvrđenih minimalnih razmaka između pojedinih donacija. Određivanje hemoglobina je međutim slab pokazatelj stvarnog stanja željeza u organizmu (152) i otkriva davatelje samo s manifestnom anemijom (137). Predonacijsko određivanje koncentracije hemoglobina nema dakle veliki značaj u prevenciji deplecije željeza. Zbog toga dio transfuzijskih ustanova uzima venske uzorke krvi davatelja prilikom donacije kako bi analizom eritrocitnih i/ili drugih parametara (najčešće feritina) procijenili optimalni interval do slijedeće donacije ili potrebu primjene suplementacije željeza. Na žalost, još uvijek ne postoji idealan testni sustav kojim bi davateljima pouzdano, brzo i jednostavno bila određena koncentracija feritina neposredno prije donacije krvi. Ali MA i



suradnici još su 1978. objavili studiju prema kojoj su svi pacijenti s normalnim ili povećanim zalihamo željeza imali feritin veći od 12 ng/dL (153).

Serumska vrijednost od 12 ng/dL ima odličnu specifičnost, ali manju osjetljivost za utvrđivanje deficita željeza. Povećanjem vrijednosti na 26 ng/dL neki autori navode kako se neznatno gubi na specifičnosti, ali se unapređuje osjetljivost testa. U 2004. godini uvedeno je rutinsko određivanje feritina u Crvenom križu u Švicarskoj (Swiss Red Cross, Basel) (139). Autori su zaključili kako je ovaj pristup rezultirao znatnim unapređenjem sigurnosti davatelja u smislu prevencije deficita željeza.

Zbog svega navedenog, neka istraživanja fokusirana su na procjenu zaliha željeza metodama koje su bankama krvi dostupne, rutinski primjenjive i jednostavne, kao što je to analiza KKS primjenom hematoloških analizatora (137).

Alexander HD i suradnici pronašli su povezanost eritrocitnih indeksa i deplecije željeza kod davatelja (154).

Kod odluke o provedbi testiranja davatelja pod rizikom od deficita željeza, pitanja koja se nameću prije svega se odnose na opseg provedenih testiranja i skupine davatelja koje trebaju biti obuhvaćene programom testiranja: da li svi davatelji, da li samo višestruki davatelji ili žene generativne dobi i sl. Postoje brojne rasprave i predlažu se različita rješenja, neki autori raspravljaju o mogućnosti testiranja feritina prilikom prve donacije, a onda redovito jedanput godišnje (155). Drugi opet zagovaraju određivanje koncentracije feritina novim davateljima te redovitim davateljima s koncentracijom hemoglobina blizu granične vrijednosti za davanje krvi (156).

### **1.10.2. Metode prevencije deplecije željeza kod davatelja krvi**

Povećanje interdonacijskog intervala jednostavna je metoda prevencije deplecije željeza kod davatelja, ali je sporno koji bi interval trebalo primjeniti: 4 mjeseca, 6 mjeseci i dr. kao i treba li on biti duži za žene generativne dobi. Osnovni problem ove metode je njezin negativni utjecaj na zalihe krvi i krvnih pripravaka, te kako nadoknaditi manjak zaliha. Interdonacijski intervali također se razlikuju između zemalja. Podaci međunarodnog foruma o procjeni statusa željeza kod davatelja krvi pokazali su kako je u 17/26 zemalja propisani minimalni interval između donacija jednak za muškarce i za žene, dok se u preostalih 9 zemalja ovaj interval razlikovao između muškaraca i žena za 20 – 30 dana. Za ženske davatelje interval između donacije bio je 2 mjeseca u jedanaest zemalja, između 2-3 mjeseca u dvije zemlje, 3 mjeseca u šest zemalja i 4 mjeseca u sedam zemalja. Za muške davatelje minimalni interval od 2 mjeseca koristi se u dvanaest zemalja, 2 – 3 mjeseca u tri zemlje i 3 mjeseca u jedanaest zemalja (125).

Rasprave o promjeni standarda minimalne koncentracije hemoglobina uglavnom potječu iz SAD i Kanade gdje se ista vrijednost od 125 g/L primjenjuje kako kod muškaraca tako i kod žena. Ovaj pristup rezultira uzimanjem krvi muškim davateljima koji su anemični prema kliničkim kriterijima. Iako ovakav standard datira još iz 60-tih godina, prijedlozi za promjenu nisu provedeni u djelo zbog mogućih negativnih učinaka, kao što su gubitak velikog broja afroameričkih davatelja (gubitak etničke raznolikosti) i posljedično specifičnih krvnih pripravaka za liječenje pacijenata s anemijom srpastih stanica, gubitka plazme muških davatelja (manji rizik TRALI-ja) i sl. U Europi postoji pristup definiranja minimalne granice hemoglobina prema spolu. Europske Direktive i Preporuke propisuju granicu od 125 g/L za žene i 135 g/L za muškarce.

### **1.10.3. Nadomjesna terapija nedostatka željeza kod davatelja krvi**

Iako neki transfuzijski centri provode nadomjesnu terapiju željezom za davatelje krvi, postoji cijeli niz pitanja vezanih uz organizaciju primjene željeza i sigurnost liječenja. Prije svega se ova pitanja odnose na način preskripcije, eventualno potrebne testove prije primjene željeza, vrstu lijekova i optimalnu dozu, trajanje terapije i način njezinog praćenja, cijenu i podmirenje troškova liječenja. Od sigurnosnih pitanja, rasprave se vode o mogućnosti maskiranja gastrointestinalnog krvarenja ili odgode dijagnoze opasne bolesti kod davatelja, mogućim nuspojavama terapije željezom, mogućoj hemokromatozi u davatelja i sl.

Suplementacija željeza kod davatelja provodi se u dijelu europskih centara. Podaci međunarodnog foruma govore o suplementaciji željeza u 14 od 26 zemalja, ali u različitom opsegu. Suplementacija se provodi tabletama željeza, a troškove uglavnom snosi transfuzijska služba (125).

Informiranje davatelja jedna je od važnih mjera prevencije. Transfuzijske ustanove dužne su davateljima pružati adekvatne informacije o uzrocima manjka željeza, mjerama za njegovo sprječavanje te savjete o prehrani bogatoj željezom i sl.

Booth AO i suradnici smatraju kako je za održavanje adekvatnih zaliha željeza u davatelja neophodna suplementacija željezom ili njegovo pojačano uzimanje putem hranjivih namirnica (157). Studija Heath AL i suradnika je pokazala kako intenzivni programi prehrane mogu unaprijediti status željeza kod žena s manjkom željeza (158).

Zaključno valja naglasiti kako je učestalost manjka željeza u davatelja krvi relativno česta pojava, osobito u davatelja koji učestalije daruju krv i u žena generativne dobi. Postoji niz metoda kojima se nastoji riješiti ovaj problem, ali ne i univerzalni pristup koji bi u svakoj situaciji i u različitim ustanovama bio podjednako primjenjiv. Čini se da je kombinacija više

metoda optimalni pristup, dok je primjena pojedinih metoda zasebno manje pouzdana. Potrebno je stimulirati daljnja istraživanja kako bi se prikupljanjem brojnih iskustva došlo do što boljeg rješenja prevencije manjka željeza u davatelja krvi.

## 2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

### **Hipoteza**

Implementacija određivanja feritina u dobrovoljnih davatelja krvi u Republici Hrvatskoj unaprijedila bi kvalitetu odabira davatelja, a time i njihovu sigurnost.

### **Ciljevi istraživanja**

#### Opći cilj:

Procjena statusa željeza u dobrovoljnih davatelja krvi u Republici Hrvatskoj.

#### Specifični ciljevi:

1. Utvrditi stupanj povezanosti zaliha željeza i frekvencije davanja krvi te ukupnog broja davanja krvi
2. Utvrditi stupanj povezanosti zaliha željeza sa slijedećim parametrima: koncentracija hemoglobina, MCV, MCH, RDW
3. Procijeniti sigurnosti davatelja u odnosu na trenutno važeće minimalne zahtjeve koncentracije hemoglobina i frekvenciju davanja krvi u Republici Hrvatskoj
4. Utvrditi vrijeme potrebno za obnavljanje zaliha željeza nakon davanja krvi
5. Procijeniti potrebu uvođenja određivanja koncentracije feritina kao obaveznog testa u postupak odabira davatelja u RH
6. Dobivene rezultate ispitivanja statusa željeza u RH usporediti s podacima iz drugih zemalja

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Ispitanici

Planom istraživanja predviđeno je bilo ispitivanje provesti na uzorku od oko 2000 dobrovoljnih davatelja krvi. Kriteriji za uključivanje davatelja u studiju bili su slijedeći: davatelji koji dolaze na davanje krvi u HZTM i na terenske akcije, muškarci i žene bez obzira na dob, isključivo davatelji pune krvi koji udovoljavaju općim kriterijima za davanje krvi, davatelji koji na davanje krvi dolaze do 11 sati (izbjegavanje dnevnih varijacija željeza u serumu i interferencije lipemije) te davatelji koji su potpisali informirani pristanak za sudjelovanje u studiji.

Ukupno je u studiju pristupilo 2.012 dobrovoljnih davatelja krvi (DDK) (1.163 muškarca i 849 žena), ali je zbog nesukladnih uzoraka (lipemija, hemoliza) te rezultata koji značajno odstupaju od ukupne populacije ispitanika isključeno njih 136 (79 muškaraca i 57 žena). Za obradu podataka korišteni su dakle rezultati ispitivanja na 1.876 davatelja, od čega 1.084 muškaraca i 792 žene.

Kontrolnu skupinu činili su dobrovoljni davatelji koji prvi puta pristupaju davanju krvi ili krv nisu darovali dulje od dvije godine (213 muškaraca i 209 žena). Na ovaj način dobivena je kontrolna skupina davatelja kod kojih ispitivani parametri nisu pod utjecajem davanja krvi, a osigurana je raznolikost davatelja krvi u odnosu na dob. Podjednako su u kontrolnoj skupini bili zastupljeni davatelji koji nikada nisu davali krv (108 muškaraca i 110 žena) te tzv. reaktivirani davatelji koji krv nisu darovali dulje od dvije godine (105 muškaraca i 99 žena).

Ostali davatelji ispitanici bili su raspoređeni u ispitivane skupine ovisno o broju davanja krvi u posljednje dvije godine: 8 skupina za muškarce (od jednog do 8 davanja krvi u dvije godine), odnosno 6 skupina za žene (od jednog do 6 davanja krvi u dvije godine), a sukladno maksimalno dozvoljenom broju davanja krvi u Republici Hrvatskoj: muškarci 4x, žene 3x godišnje). Od davatelja je uzeta detaljna anamneza s podacima relevantnim za ovu studiju: tjelesna težina, visina, prijašnja anemija, menstruacija, pušenje, tjelesna aktivnost, konzumiranje alkohola, prehrambene navike (konzumacija mesa), uzimanje preparata željeza te prisutnost simptoma koji bi mogli upućivati na manjak željeza u organizmu. U tu svrhu kreiran je kratki upitnik za davatelje.

Dobrovoljni davatelji krvi su razvrstani u skupine pušača i nepušača, u skupine onih koji se ne bave sportom, bave sportom redovito ili bave sportom samo povremeno, u skupine onih koji konzumiraju i ne konzumiraju alkoholna pića, u skupine onih koji imaju ili nemaju simptome koji bi upućivali na manjak željeza u organizmu. Obzirom na menstrualno krvarenje, davateljice su razvrstane u slijedeće četiri skupine: bez menstrualnog krvarenja, sa slabim, sa prosječnim i

sa obilnim menstrualnim krvarenjem. Prema prehrambenim navikama, davatelji su razvrstani u one koji konzumiraju bijelo meso, crveno meso i skupinu onih koji podjednako konzumiraju bijelo i crveno meso. Prema učestalosti konzumiranja mesa, razvrstani su u skupinu onih koji uopće ne konzumiraju meso, koji ga konzumiraju dva do tri puta tjedno i koji ga konzumiraju svakodnevno.

Analizirani su podaci o dobi, spolu, broju i frekvenciji davanja i tijeku prethodnih donacija (ili odbijanja) uvidom u medicinsku dokumentaciju dobrovoljnih davatelja krvi, pohranjenu u kompjuterskom sustavu HZTM-a (e-Delphyn®). Identitet ispitanika zaštićen je na način da su uzorci, upitnik i radne liste obilježavani isključivo identifikacijskim brojem donacije (numerički i linijskim kodom). Davatelji su potpisali pristanak na sudjelovanje u istraživanju, koji je označen imenom i prezimenom davatelja i identifikacijskim brojem donacije. Sve podatke prikupljao je voditelj istraživanja, kojemu su podaci o davatelju dostupni unosom broja donacije u kompjuterski program HZTM.

### **3.2. Uzorci**

Uz uzorke koji se rutinski uzimaju od davatelja, dodatno su iz predonacijske vrećice za uzimanje uzoraka bila izvađena još dva uzorka, obilježena linijskim kodom i numeričkom oznakom donacije: jedan uzorak od 3 mL u epruvetu s antikoagulansom K<sub>2</sub>EDTA (Becton Dickinson, SAD) i jedan uzorak u biokemijsku epruvetu s gelom od 5 mL (Greiner Bio-One, Austrija), za dobivanje seruma. Sukladno tome, ukupna količina krvi koja je uzimana ispitanicima iznosila je 8 mL, uz napomenu da se uzorci uzimaju iz vrećice za predonacijsko uzorkovanje koja služi za „odbacivanje“ prvih količina krvi tijekom donacije, a u svrhu prevencije bakterijske kontaminacije. To znači da davatelji koji su sudjelovali u istraživanju nisu bili izloženi dodatnom gubitku krvi. Epruvete s uzorcima bile su dostavljane u Odjel za kontrolu kvalitete. Iz epruvete s antikoagulansom bila je određena kompletna krvna slika, a sukladno pisanim uputama za rukovanje uzorcima i multiparametrijskim hematološkim analizatorom. Osobita je pažnja posvećena prijeanalitičkim uvjetima, kako bi se osigurala kvaliteta rezultata testiranja. Bilo je propisano da se uzorci nakon vađenja moraju unutar 30 minuta od uzimanja dostaviti u Odjel za kontrolu kvalitete. Uzorci su dostavljani u stalcima u uspravnom položaju primjenom transportnih torbi, kako bi se izbjegle varijacije u temperaturi i izloženosti ostalim vanjskim utjecajima (sunčeva svjetlost i sl.). Uz uzorke su dostavljane i radne liste, upitnici i potpisane suglasnosti davatelja za sudjelovanje u studiji.

### **3.2.1. Uzorak za hematološku analizu**

Uzorak za hematološku analizu KKS uziman je u BD Vacutainer Plus plastic tube (Becton Dickinson, SAD) s 5,4 mg K<sub>2</sub> EDTA, koji je preporučeni antikoagulans u hematologiji. Sukladno preporuci proizvođača, odmah po uzimanju krvi epruvete su lagano okretane 8 – 10 puta inverzijom do 180 stupnjeva i stavljene u uspravni položaj na stalak za uzorke.

Odmah po dostavljanju uzoraka u laboratorij uzorci su stavljani na automatsku mješalicu za uzorke (Contraves, Švicarska) u trajanju od 10 minuta, kako bi se sadržaj u epruveti homogenizirao. Svi uzorci iz studije analizirani su u kratkom vremenu nakon uzimanja (najdulje do dva sata).

### **3.2.2. Uzorak za biokemijska ispitivanja**

Uzorci za biokemijska ispitivanja uzimani su u serumske epruvete s gelom Vacuette Z serum separator clot activator tube (Greiner Bio-One, Austrija) koje su obložene mikroniziranim česticama silicijum-dioksida, koje aktiviraju zgrušavanje prilikom lagane inverzije epruveta s uzorkom. Na dnu epruvete nalazi se gel, koji se zbog specifične težine tijekom centrifugiranja pomiče prema gore, gdje tvori stabilnu barijeru između odvojenog seruma te fibrina i stanica. Epruvete su korištene sukladno preporuci proizvođača. Prednost ovog sustava je mogućnost aspiracije seruma izravno iz kolekcijske epruvete, što uklanja potrebu odvajanja seruma. Deklarirana stabilnost analita u ovim epruvetama je 48 sati u preporučenim uvjetima skladištenja.

#### **3.2.2.1. Centrifugiranje i transport uzoraka do mjesta testiranja**

Odmah nakon uzimanja krvi, uzorci su lagano miješani 5-10 puta inverzijom i stavljani u stalak u uspravnom položaju. Epruvete su centrifugirane nakon najmanje 30 minuta od uzimanja uzoraka, kako bi proces zgrušavanja bio završen i spriječila pojava naknadnog stvaranja fibrina u serumu. Svi su uzorci centrifugirani unutar dva sata od uzimanja, tijekom 10 minuta na 1800 g u centrifugi za uzorke (Thermo Fisher Scientific, SAD), kako bi se spriječile moguće greške uzrokovane produljenim kontaktom seruma i stanica.

Epruvete su bile propisno uložene u držače, kako ne bi došlo do odvajanja čepa, a sukladno preporuci korištena je centrifuga sa horizontalnim swing-out rotorima jer je gel-barijera stabilnija primjenom ovog tipa centrifuga u usporedbi s onima koje imaju rotore s fiksnim kutom.

Kako bi svi uzorci bili centrifugirani unutar dva sata od uzimanja, uzorci su svakih 20-tak minuta dostavljani u laboratorij. Vrijeme uzimanja krvi nadzirano je putem kompjuterskog

sustava e-Delphyn<sup>®</sup>, a vrijeme završetka procesuiranja uzorka bilježeno je u radnu listu. Niti jedan uzorak nije recentrifugiran, niti je za to bilo potrebe. Kako bi se izbjegla i najmanja mogućnost varijacije u mjerenjima uslijed loše kvalitete uzorka, svaka dnevna serija odmah je dostavljena u Kliniku za tumore, gdje je istog dana i testirana. Uzorci su transportirani u uvjetima sobne temperature u transportnim torbama, u koje su stavljani u stalcima, u uspravnom položaju, zaštićeni od vibracije i svjetla.

Svaka serija uzoraka bila je praćena obrascem na kojem su bili identifikacijski brojevi uzoraka (numerički i s linijskim kodom), a ispitnom laboratoriju u Klinici za tumore nije bio poznat identitet davatelja. Nalazi ispitivanja dostavljani su voditelju studije zajedno s testiranim uzorcima. Voditelj studije kontrolirao je dodatno sukladnost svih podataka na epruvetama i nalazima. Svi analizirani uzorci kontrolirano su uništavani sukladno propisima o uništavanju biološkog materijala. Sve uzorke osobno je uništio voditelj projekta. Prilikom uništavanja biološkog materijala poštivani su važeći zakonski propisi u RH.

### **3.3. Uređaji i reagensije**

#### **3.3.1. Laboratorijski uređaji**

##### **3.3.1.1. Određivanje hematoloških parametara primjenom hematološkog analizatora Cell-Dyn Ruby**

Određivanje hematoloških parametara (KKS – kompletna krvna slika) rađeno je u Odjelu za kontrolu kvalitete, koji se nalazi u sklopu transfuzijske djelatnosti HZTM, primjenom hematološkog analizatora Cell-Dyn Ruby (Abbott Diagnostics, Abbott Laboratories, SAD).

Cell-Dyn Ruby je multiparametrijski hematološki analizator s CE oznakom dizajniran za «*in vitro*» dijagnostičku uporabu u kliničkim laboratorijima. Sustav omogućava mjerenje 16 parametara. Sastavljen je iz 3 velika modula: analizatora, jedinice za analizu, pohranu i prijavu rezultata i monitora za prikaz rezultata.

Ispitni uzorak aspirira se otvorenim ili zatvorenim sustavom primjenom vakuuma. Volumen aspiracije uzorka u otvorenom sustavu je  $\leq 150 \mu\text{L}$ , a u zatvorenom  $\leq 230 \mu\text{L}$ . Cell-Dyn Ruby koristi tehniku protočne citometrije za testiranje parametara RBC/PLT, WBC i NOC. Uzorak protječe u tankom sloju i bude obasjan laserskim svjetlom. Senzor (ili senzori) mjeri, gubitkom refleksije svjetla, fizikalne ili kemijske karakteristike stanica ili partikala. Mjerenje eritrocita izvodi se na  $0^\circ$ ,  $10^\circ$  i  $90^\circ$ , trombocita na  $0^\circ$  i  $10^\circ$ . Koncentracija hemoglobina se mjeri fotometrijski na valnoj duljini od 555 nm. Broj leukocita se određuje emisijom svjetla pod djelovanjem lasera. Emisija svjetla mjeri se pomoću 4 detektora smještene na prednjim ( $0^\circ$  i



10°) i bočnim (90° i 90°D) kutovima. Uzorci za mjerenje na analizatoru priređuju se prema odgovarajućim radnim uputama, ovisno o uzorku koji se ispituje.

Prije početka analize, homogenizacija sadržaja u epruveti postiže se miješanjem svih uzoraka na mješalici za uzorke, u trajanju od 10 minuta.

Procesna kontrola rada hematološkog analizatora provodi se obavezno jedanput dnevno, prije početka analize ispitivanih uzoraka. U Odjelu za kontrolu kvalitete u tu svrhu koriste se komercijalni uzorci krvi niskih, srednjih i visokih vrijednosti hematoloških parametara, proizvođača Abbott. Rezultate kontrole kvalitete pregledava i odobrava voditelj odjela.

Rezultati mjerenja svih kontrolnih uzoraka određene serije moraju biti unutar granica dvije standardne devijacije ( $\pm 2$  SD) od uspostavljene laboratorijske srednje vrijednosti. U slučaju dva uzastopna ispada pojedine razine kontrole kvalitete izvan  $\pm 2$  SD ili ispada izvan 2 SD u više od jednog uzorka u istome danu, odluku o daljnjem postupanju s analizatorom donosi voditelj Odjela za kontrolu kvalitete, detaljnijom analizom svih raspoloživih podataka. Uz rutinsku dnevnu procesnu kontrolu koja se radi primjenom uzoraka kontrolnih krvi, nadzor nad radom analizatora provodi se i praćenjem X-B analize. Kvaliteta rada analizatora Abbott Cell-Dyn Ruby procjenjuje se i redovitim sudjelovanjem u vanjskoj kontroli kvalitete koju organizira DGKL (Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin). Kontrola se provodi četiri puta godišnje i obuhvaća analizu po dva uzorka. Za vrijeme trajanja studije svi rezultati vanjske kontrole bili su zadovoljavajući i certificirani kao takvi od strane DGKL.

Kombinirani stanični indeks CCI izračunat je po formuli:  $RDW \times 10^4 \times MCV^{-1} \times MCH^{-1}$ .

### **3.3.1.2. Određivanje koncentracije feritina, UIBC, TIBC i serumskog željeza primjenom analizatora Cobas c311**

Koncentracija feritina, UIBC, TIBC te serumskog željeza određivana je na analizatoru Cobas c311 (Roche Diagnostics, SAD), u Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice. Cobas c311 automatski je kemijski analizator namijenjen za *in vitro* kvantitativno i kvalitativno određivanje analita u tjelesnim tekućinama. Obrađuje do 300 uzoraka na sat (serum, plazma, urin i/ili likvor). Radi na principu spektrofotometrijske metode, a uzorke obrađuje u „zatvorenom“ sustavu. Koristi reagense koji su spremni za primjenu, automatski riješava oznake upozorenja (ponavljanja, dilucije...) i automatski detektira ugruške i nivo tekućine. Posjeduje programsku podršku za kontrolu kvalitete i kalibraciju. Analizator je redovito nadziran, uz provedbu dnevne procesne kontrole rada, kalibracije i sl. sukladno pisanim postupcima u laboratoriju.

### 3.3.2. Reagensije za ispitivanje

#### 3.3.2.1. Reagensije za određivanje koncentracije serumskog željeza

Za određivanje koncentracije serumskog željeza korišten je reagens IRON 2 (Iron Gen. 2) Cobas (Ref 03183696122, Roche Diagnostics, SAD). To je *in vitro* test za kvantitativno određivanje koncentracije željeza u ljudskom serumu i plazmi na sustavima Roche/Hitachi Cobas c. Brojne fotometrijske metode koje se koriste za određivanje koncentracije željeza imaju slijedeći zajednički princip: oslobađanje iona  $Fe^{3+}$  iz kompleksa s transferinom primjenom kiseline ili deterdženta, redukciju iona  $Fe^{3+}$  u ione  $Fe^{2+}$  i reakciju iona  $Fe^{2+}$  sa supstratom uz stvaranje obojanog produkta. Ova metoda temelji se na FerroZine metodi bez deproteinizacije: u kiselim uvjetima ( $pH < 2,0$ ), željezo se oslobađa iz transferina, askorbat reducira oslobođene ione  $Fe^{3+}$  u ione  $Fe^{2+}$  koji tada reagiraju sa ferozinom, kako bi stvorili obojani kompleks. Intenzitet boje direktno je proporcionalan koncentraciji željeza i mjeri se fotometrijski. Na analizatoru Cobas c311 koristi se esej s dvije završne točke s valnim duljinama 700/570 nm (sub/main). Koncentracija željeza u serumu/plazmi ovisna je o unosu željeza i podložna cirkadijalnim varijacijama. Mjerni raspon testa je 0,90 – 179  $\mu\text{mol/L}$ , a referentne vrijednosti za odrasle osobe 11 – 32  $\mu\text{mol/L}$  za muškarce i 8-30  $\mu\text{mol/L}$  za žene.

#### 3.3.2.2. Reagensije za određivanje nezasićenog kapaciteta vezanja željeza - UIBC

Za određivanje UIBC korišten je reagens UIBC (Unsaturated Iron-Binding Capacity), Cobas Ref: 04536355190 (Roche Diagnostics, SAD). To je *in vitro* test za kvantitativno određivanje UIBC u ljudskom serumu i plazmi primjenom sustava Roche/Hitachi Cobas c. Test se temelji na izravnom određivanju s ferozinom:

$Fe(II) + \text{transferin (uz alkalni pufer)} = \text{transferin-Fe(III)} + Fe(II) \text{ (višak)}$

$Fe(II) \text{ (višak)} + 3 \text{ ferozin} = Fe(II)\text{-ferozin}_3$

Intenzitet boje direktno je proporcionalan koncentraciji nevezanog viška željeza i indirektno proporcionalan UIBC. Određuje se fotometrijski mjerenjem porasta absorbancije. Na analizatoru Cobas c311 koristi se esej s dvije završne točke s valnim duljinama 700/546 nm (sub/main). Mjerni raspon testa je 3 – 125  $\mu\text{mol/L}$ , a referentni raspon 25 – 54  $\mu\text{mol/L}$  za muškarce i 26 – 59  $\mu\text{mol/L}$  za žene. Kao što je navedeno i za reagens kojim je određivano željezo, parametar UIBC u serumu/plazmi ovisan je o ingestiji željeza i podložan cirkadijalnim varijacijama.

### **3.3.2.3. Izračunavanje ukupnog kapaciteta vezanja željeza – TIBC i saturacije transferina**

TIBC se izračunava matematički (automatski prikaz aparata) kao zbroj UIBC i serumskog željeza. Saturacija transferina (%) izračunata je po formuli: Serumsko željezo / TIBC x 100.

### **3.3.2.4. Reagencije za određivanje koncentracije feritina**

Za određivanje koncentracije feritina u serumu korišten je test Roche FERR 4 Tina-Quant (4. generacije) za kvantitativno određivanje koncentracije feritina na sustavima Roche/Hitachi Cobas c. (Ref: 04885317190, Roche Diagnostics, SAD). Radi se o imunoturbidimetrijskoj metodi pojačanoj česticama lateksa. Pri tome se humani feritin aglutinira lateks-partiklima obloženim anti-feritin protutijelima. Precipitat feritina određuje se turbidimetrijski na 570/800 nm. Mjerni raspon za ovaj test deklariran je 5 – 1000 µg/L. Očekivane vrijednosti u klinički zdrave populacije ovise o dobi i spolu ispitanika. Na uzorku od 224 zdrave osobe (104 žene i 120 muškaraca) proizvođač testa je referentne vrijednosti definirao za muškarce 30 – 400 µg/L, a za žene 15 – 150 µg/L.

## **3.4. Etički aspekti provođenja ispitivanja**

Studiju je odobrilo Etičko povjerenstvo Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Svi davatelji uključeni u ispitivanje informirani su usmenim i pisanim putem o ciljevima i načinu provedbe studije i potpisali pristanak za sudjelovanje u studiji.

## **3.5. Statističke metode**

Podaci dobiveni ispitivanjem su prikazani tablično i grafički. Načinjena je analiza normalnosti raspodjele podataka (Smirnov-Kolmogorovljev test) te su se shodno dobivenim rezultatima kvantitativnih vrijednosti primijenili odgovarajući neparametrijski statistički testovi za analize koncentracije feritina te parametrijski testovi za ostale mjerene parametre, uz odgovarajuće načine prikaza podataka. Kvantitativni podaci su prikazani kroz raspone, medijane i interkvartilne raspone (u slučaju neparametrijske raspodjele) odnosno aritmetičke sredine i standardne devijacije u slučaju parametrijske raspodjele. Kategorijski podaci su prikazani kroz apsolutne frekvencije i pripadajuće udjele. Razlika u kvantitativnim vrijednostima između pojedinih skupina je procijenjena Mann-Whitney U testom, odnosno analizom varijance (ANOVA) ili Kruskal-Wallisovim testom za više od tri ispitivane skupine. Razlike u kategorijskim varijablama između ispitivanih skupina su analizirane hi-kvadrat testom. Izračunati su Spearmanovi te Kendalovi tau<sub>b</sub> koeficijenti korelacije između pojedinih

kliničkih odrednica. Kao primjer jake korelacije uzeta je apsolutna vrijednost koeficijenta korelacije iznad 0,600, dok je srednje jaka korelacija bila u rasponu od 0,300 do 0,600. Razlike u koncentraciji feritina na prvom i drugom mjerenju analizirane su Wilcoxonovim testom.

Analizom ROC se odredila osjetljivost i specifičnost broja davanja krvi u odnosu na referentnu koncentraciju feritina kao i oporavak feritina u muškaraca i u žena. Osjetljivost opisuje vjerojatnost da će neka osoba s ciljanim poremećajem na ispitivanju biti pozitivna. Specifičnost je sposobnost dijagnostičke pretrage da razvrsta osobe bez oboljenja kao negativne. Specifičnost opisuje vjerojatnost da će pojedinac bez ciljanog poremećaja pri ispitivanju biti negativan.

Za procjenu dijagnostičke učinkovitosti testova u otkrivanju deplecije željeza također je korištena analiza ROC uz izračun AUC (Area Under the Curve). Index Youden korišten je za otkrivanje optimalne granične vrijednosti za pojedine parametre. Ovaj indeks koristi se u sumiranju izvedbe dijagnostičkog testa i definiranju njegove maksimalne potencijalne učinkovitosti. Optimalna granična vrijednost definira se dajući jednaki značaj osjetljivosti i specifičnosti. Osjetljivost i specifičnost prikazana je za ove, izračunate granične vrijednosti i one koje su prihvaćene u kliničko-laboratorijskoj dijagnostici, uključujući i 95 %-tni interval pouzdanosti (CI = confidence interval).

Linearnom regresijom je analizirana predikcija koncentracije feritina, hemoglobina, saturacije i kombiniranog staničnog indeksa CCI u odnosu na pojedine kliničke prediktorske varijable.

Sve P vrijednosti manje od 0,05 su smatrane značajnima. U analizi se koristila programska podrška MedCalc za Windows, verzija 15.8 ([www.medcalc.org](http://www.medcalc.org)) te Excel 2016.

#### 4. REZULTATI

U istraživanje je ukupno uključeno 1.084 muškaraca te 792 žene čiji je medijan dobi bio 38,5 (interkvartilni raspon, IQR: 28,8 - 48,5) godina za muškarce, te 39,8 (28,8 - 51,4) godina za žene.

##### 4.1. Rezultati ispitivanja koncentracije feritina kod muških davatelja u odnosu na učestalost davanja krvi

Tablica 1a. prikazuje opisnu statistiku koncentracije feritina kod muških davatelja u odnosu na broj donacija pune krvi u periodu od dvije godine koje su prethodile donaciji uključenoj u studiju. Iz prikazanih vrijednosti vidljivo je značajno smanjenje koncentracije feritina ovisno o frekvenciji davanja krvi ( $P < 0,001$ ) što je dodatno potvrđeno i *post-hoc* analizom koncentracije feritina između pojedinih ispitnih skupina (Tablica 1b.).

Tablica 1a. Opisna statistika koncentracije feritina u odnosu na broj davanja krvi u dvije godine u skupini muškaraca (Kruskal-Wallisov test).

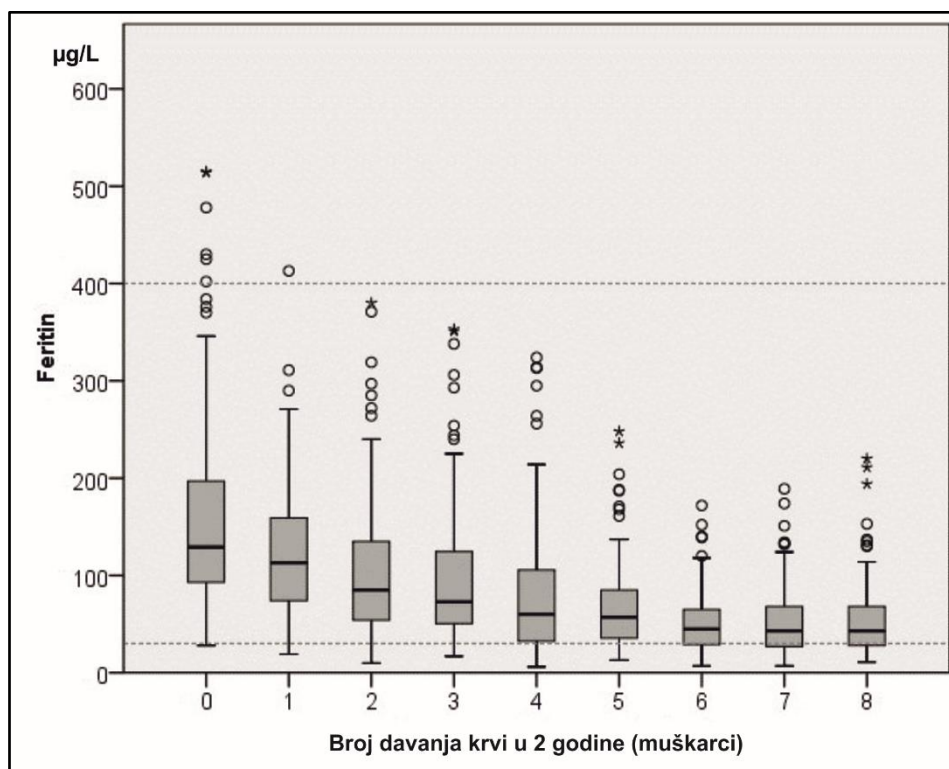
Broj davanja krvi u 2 god.	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile		
						25.	Medijan	75.
0	213	157,22	93,77	28,00	515,00	92,50	129,00	197,50
1	106	127,38	71,54	19,00	413,00	74,00	113,00	161,00
2	105	106,70	75,70	10,00	380,00	54,00	85,00	137,00
3	107	96,66	73,30	17,00	353,00	50,00	73,00	129,00
feritin 4	111	81,52	69,24	6,00	324,00	32,00	60,00	108,00
5	100	68,08	47,65	13,00	248,00	35,25	57,00	85,00
6	113	52,20	32,90	7,00	172,00	29,00	45,00	65,00
7	128	50,80	34,21	7,00	189,00	27,00	43,00	68,00
8	101	56,50	41,75	11,00	220,00	28,00	43,00	68,50

Parametar	Kruskal-Wallis	df	P
Feritin	342,332	8	<0,001

Tablica 1b. Usporedba koncentracije feritina između svih grupa muških davatelja primjenom *post-hoc* Mann-Whitney testiranja

Faktor (broj)	N	Prosječan rank	Razlika (P<0,05) od faktora (broj)
<b>(1) 0 davanja u 2 god.</b>	213	802,39	(2)(3)(4)(5)(6)(7)(8)(9)
<b>(2) 1 davanje</b>	106	725,09	(1)(3)(4)(5)(6)(7)(8)(9)
<b>(3) 2 davanja</b>	105	617,34	(1)(2)(5)(6)(7)(8)(9)
<b>(4) 3 davanja</b>	107	567,25	(1)(2)(5)(6)(7)(8)(9)
<b>(5) 4 davanja</b>	111	478,3	(1)(2)(3)(4)(7)(8)(9)
<b>(6) 5 davanja</b>	100	438,14	(1)(2)(3)(4)(7)(8)(9)
<b>(7) 6 davanja</b>	113	345,57	(1)(2)(3)(4)(5)(6)
<b>(8) 7 davanja</b>	128	331,67	(1)(2)(3)(4)(5)(6)
<b>(9) 8 davanja</b>	101	360,16	(1)(2)(3)(4)(5)(6)

Značajno smanjenje koncentracije feritina u odnosu na frekvenciju davanja krvi u muškaraca prikazuje Slika 1., uz naznačene referentne vrijednosti feritina. Iako je smanjenje feritina značajno, medijani koncentracije feritina su i dalje unutar referentnog raspona. 27,2 % muškaraca koji su dali krv od 6 do 8 puta u dvije godine imaju koncentraciju feritina ispod normale od 30 µg/L.



Slika 1. Prikaz koncentracije feritina obzirom na referentne vrijednosti i broj davanja krvi u dvije godine u skupini muškaraca: Box i Whiskerov plot

U Tablici 2. prikazan je broj i učestalost muških davatelja sa sniženim zaliham željeza procijenjeno koncentracijama feritina ispod kliničke granice (<30 µg/L) i koncentracijama koje upućuju na depleciju (feritin <12 µg/L) te kombinacijom ovih koncentracija s niskom saturacijom transferina (<16%). U Tablici 2a. prikazani su rezultati obzirom na broj donacija u dvije godine, a u Tablici 2b. obzirom na broj donacija u godini dana. Prema Tablici 2a. niti jedan od davatelja iz kontrolne skupine nije imao depletirane zalihe željeza, a koncentraciju ispod donje granice referentnog raspona od 30 µg/L imao je samo jedan davatelj (0,47%). U populaciji davatelja s jednom do osam donacija u dvije godine, njih 1,95% imalo je depletirane zalihe željeza, a 17,7% koncentracije ispod donje granice referentnog raspona.

Tablica 2a. Broj i učestalost muških davatelja sa sniženim zaliham željeza procijenjeno koncentracijom feritina i saturacijom transferina (donacije u dvije godine)

<b>Muškarci – davanja krvi u dvije godine</b>												
<b>Broj davanja</b>		<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>Ukup- -no</b>	<b>Ukup- -no 1-8</b>
Broj DDK		213	106	105	107	111	100	113	128	101	<b>1084</b>	<b>871</b>
Feritin <30 µg/L	N	1	2	5	13	22	19	29	38	26	<b>155</b>	<b>154</b>
	%	0,47	1,89	4,76	12,1	19,8	19,0	25,7	29,7	25,7	<b>14,3</b>	<b>17,7</b>
Feritin <12 µg/L	N	0	0	1	0	2	0	4	9	1	<b>17</b>	<b>17</b>
	%	0,00	0,00	0,95	0,00	1,80	0,00	3,54	7,03	0,99	<b>1,57</b>	<b>1,95</b>
Saturacija transf. <16%	N	2	2	6	7	7	3	10	11	8	<b>56</b>	<b>54</b>
	%	0,94	1,89	5,71	6,54	6,31	3,00	8,85	8,59	7,92	<b>5,17</b>	<b>6,20</b>
Feritin<12 + satur.tr.<16%	N	0	0	1	0	1	0	2	5	1	<b>10</b>	<b>10</b>
	%	0,00	0,00	0,95	0,00	0,90	0,00	1,77	3,91	0,99	<b>0,92</b>	<b>1,15</b>
Feritin <30 + satur.tr.<16%	N	0	0	3	4	5	1	7	10	7	<b>37</b>	<b>37</b>
	%	0,00	0,00	2,86	3,74	4,50	1,00	6,19	7,81	6,93	<b>3,41</b>	<b>4,25</b>

DDK = dobrovoljni davatelji krvi; saturacija transf. = saturacija transferina; satur. tr. = saturacija transferina

Tablica 2b. Broj i učestalost muških davatelja sa sniženim zalihama željeza procijenjeno koncentracijom feritina i saturacijom transferina (donacije u jednoj godini)

Muškarci – davanja krvi u jednoj godini								
Broj davanja		0	1	2	3	4	Ukupno	Ukupno 1-4
Broj DDK		272	185	210	288	129	<b>1084</b>	<b>812</b>
Feritin <30 µg/L	N	2	15	25	74	39	<b>155</b>	<b>153</b>
	%	0,74	8,11	11,9	25,7	30,2	<b>14,3</b>	<b>18,8</b>
Feritin <12 µg/L	N	1	0	1	12	3	<b>17</b>	<b>16</b>
	%	0,37	0,00	0,48	4,17	2,33	<b>1,57</b>	<b>1,97</b>
Saturacija transf. <16%	N	3	7	14	20	12	<b>56</b>	<b>53</b>
	%	1,10	3,78	6,67	6,94	9,30	<b>5,17</b>	<b>6,53</b>
Feritin <12 + satur.tr.<16%	N	1	0	1	6	2	<b>10</b>	<b>9</b>
	%	0,37	0,00	0,48	2,08	1,55	<b>0,92</b>	<b>1,11</b>
Feritin <30 + satur.tr.<16%	N	1	4	6	15	11	<b>37</b>	<b>36</b>
	%	0,37	2,16	2,86	5,21	8,53	<b>3,41</b>	<b>4,43</b>

DDK =dobrovoljni davatelji krvi; saturacija transf. = saturacija transferina; satur. tr. = saturacija transferina

#### 4.2. Rezultati ispitivanja koncentracije feritina kod ženskih davatelja u odnosu na učestalost davanja krvi

U Tablici 3a., slično kao i u Tablici 1a., prikazana je opisna statistika koncentracije feritina kod ženskih davatelja u odnosu na broj donacija pune krvi u periodu od dvije godine koje su prethodile donaciji uključenoj u studiju. Iz ove je tablice vidljivo da je u odnosu na muškarce, već i početna koncentracija feritina bila višestruko niža, dok smanjenje koncentracije feritina (iako statistički značajno) nije bilo potpuno linearno. Iz podataka u Tablici 3b. vidljivo je kako je najznačajnije sniženje feritina bilo zabilježeno već nakon jednog davanja krvi, te su sve ostale koncentracije obzirom na broj davanja bile značajno niže samo u odnosu na koncentracije kod ispitanica koje nisu davale krv u prethodne dvije godine.

Tablica 3a. Opisna statistika koncentracije feritina u odnosu na broj davanja krvi u dvije godine u skupini žena (Kruskal-Wallisov test)

Broj davanja krvi u 2 god.	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile		
						25.	Medijan	75.
0	209	42,62	30,10	4,00	165,00	18,50	33,00	59,00
1	118	34,18	24,30	2,00	120,00	15,75	29,00	45,50
2	106	34,22	27,41	6,00	130,00	15,00	24,50	48,25
3	103	30,23	23,22	5,00	113,00	13,00	25,00	41,00
4	104	34,01	24,91	2,00	120,00	14,00	29,00	49,00
5	97	28,80	21,84	6,00	105,00	14,00	22,00	34,00
6	55	30,55	19,60	8,00	105,00	15,00	26,00	41,00

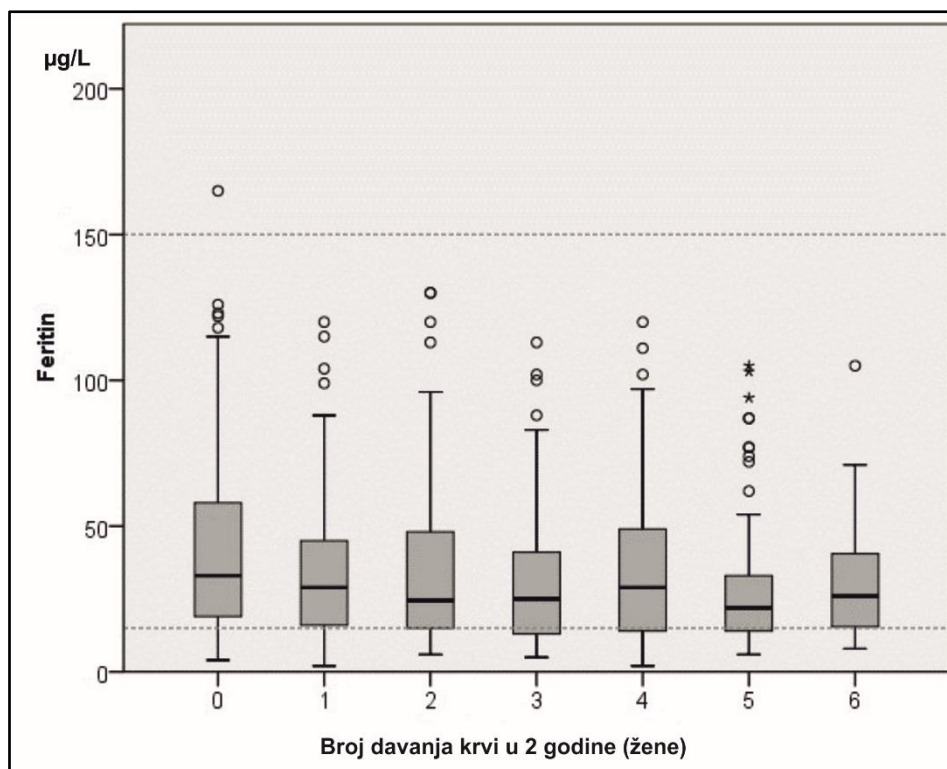


Parametar	Kruskal-Wallis	df	P
Feritin	25,372	6	<0,001

Tablica 3b. Usporedba vrijednosti feritina između svih grupa ispitanica primjenom *post-hoc* Mann-Whitney testiranja

Faktor (broj)	N	Prosječan rank	Razlika (P<0,05) od faktora (broj)
(1) 0 davanja	209	458,45	(2)(3)(4)(5)(6)(7)
(2) 1 davanje	118	397,79	(1)
(3) 2 davanja	106	381,09	(1)
(4) 3 davanja	103	351,81	(1)
(5) 4 davanja	104	390,32	(1)
(6) 5 davanja	97	344,02	(1)
(7) 6 davanja	55	375,96	(1)

Ove promjene su grafički prikazane na Slici 2. gdje je vidljivo da 23,7% ispitanica već nakon jednog davanja krvi ima koncentraciju feritina ispod donje granice referentnog raspona od 15  $\mu\text{g/L}$ .



Slika 2. Prikaz koncentracije feritina obzirom na referentne vrijednosti i broj davanja krvi u dvije godine u skupini žena: Box i Whiskerov plot

U Tablici 4. prikazan je broj i učestalost ženskih davatelja sa sniženim zalihama željeza procijenjeno koncentracijama feritina ispod donje referentne granice (<15 µg/L) i koncentracijama koje upućuju na depleciju zaliha željeza (feritin <12 µg/L) te kombinacijom ovih koncentracija s niskom saturacijom transferina (<16%).

U Tablici 4a. prikazani su rezultati obzirom na broj donacija u dvije godine, a u Tablici 4b. obzirom na broj donacija u godini dana. Prema Tablici 4a. čak 6,7% žena iz kontrolne skupine imalo je depletirane zalihe željeza, a njih 14,4% koncentracije ispod donje granice referentnog raspona. U populaciji davateljica s jednom do šest donacija krvi u dvije godine njih 17,2% imalo je depletirane zalihe željeza, a 25,4% koncentracije ispod donje granice referentnog raspona.

Tablica 4a. Broj i učestalost ženskih davatelja sa sniženim zalihamu željeza procijenjeno koncentracijom feritina i saturacijom transferina (donacije u dvije godine)

<b>Žene – davanja krvi u dvije godine</b>										
Broj davanja u 2 godine		0	1	2	3	4	5	6	Ukup-no	Ukup-no 1-6
Broj DDK		209	118	106	103	104	97	55	<b>792</b>	<b>583</b>
Feritin <15 µg/L	N	30	28	25	30	29	25	11	<b>178</b>	<b>148</b>
	%	14,4	23,7	23,6	29,1	27,9	25,8	20,0	<b>22,5</b>	<b>25,4</b>
Feritin <12 µg/L	N	14	18	19	23	17	16	7	<b>114</b>	<b>100</b>
	%	6,7	15,3	17,9	22,3	16,4	16,5	12,7	<b>14,4</b>	<b>17,2</b>
Saturacija transf. <16%	N	28	19	16	24	16	18	9	<b>130</b>	<b>102</b>
	%	13,4	16,1	15,1	23,3	15,4	18,6	16,4	<b>16,4</b>	<b>17,5</b>
Feritin <12 + satur.tr.<16%	N	7	13	9	13	10	10	5	<b>67</b>	<b>60</b>
	%	3,35	11,0	8,49	12,6	9,62	10,31	9,09	<b>8,46</b>	<b>10,3</b>
Feritin <15 + satur.tr.<16%	N	12	13	11	16	13	14	6	<b>85</b>	<b>73</b>
	%	5,74	11,02	10,38	15,53	12,5	14,43	10,91	<b>10,7</b>	<b>12,5</b>

DDK = dobrovoljni davatelji krvi; saturacija transf. = saturacija transferina; satur. tr. = saturacija transferina

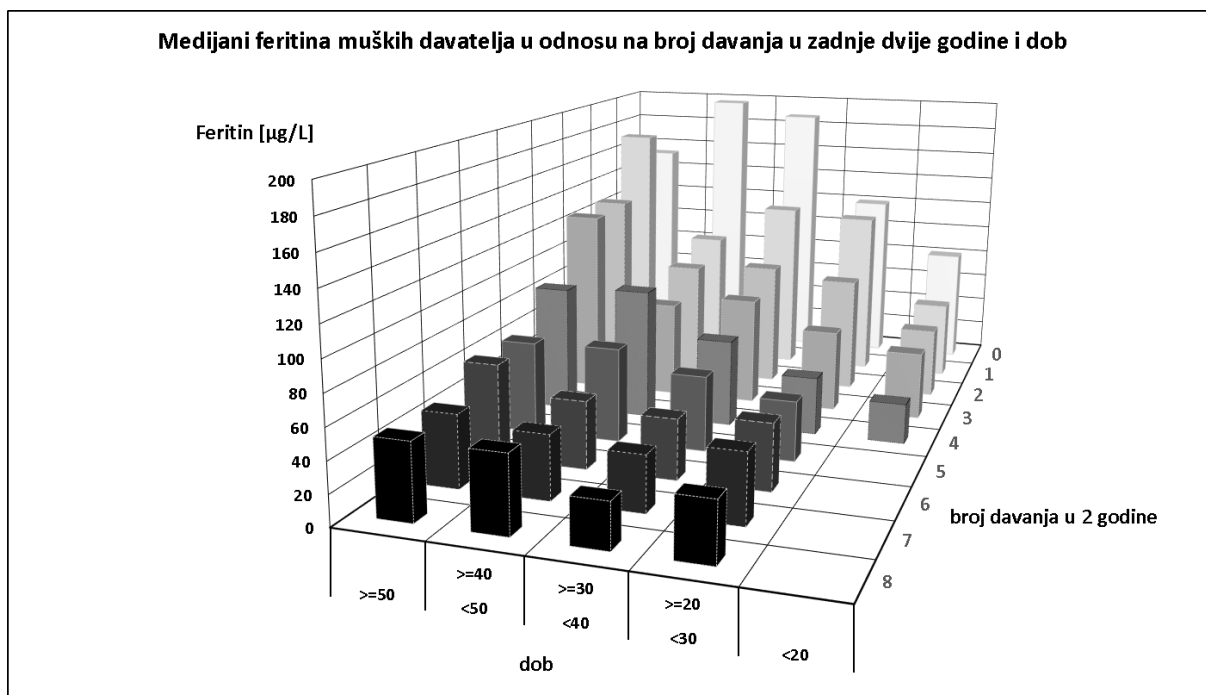
Tablica 4b. Broj i učestalost ženskih davatelja sa sniženim zalihama željeza procijenjeno feritinom i saturacijom transferina (donacije u jednoj godini)

<b>Žene – davanja krvi u jednoj godini</b>							
<b>Broj davanja</b>		<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>Ukupno</b>	<b>Ukupno 1-3</b>
Broj DDK		262	227	198	105	<b>792</b>	<b>530</b>
Feritin <15 µg/L	N	42	51	57	28	<b>178</b>	<b>136</b>
	%	16,0	22,5	28,8	26,7	<b>22,5</b>	<b>25,7</b>
Feritin <12 µg/L	N	22	36	41	15	<b>114</b>	<b>92</b>
	%	8,40	15,9	20,7	14,3	<b>14,4</b>	<b>17,4</b>
Saturacija transf. <16%	N	35	35	38	22	<b>130</b>	<b>95</b>
	%	13,4	15,4	19,2	21,0	<b>16,4</b>	<b>17,9</b>
Feritin <12 + satur.tr.<16%	N	12	22	22	11	<b>67</b>	<b>55</b>
	%	4,58	9,69	11,1	10,5	<b>8,46</b>	<b>10,4</b>
Feritin <15 + satur.tr.<16%	N	17	24	28	16	<b>85</b>	<b>68</b>
	%	6,49	10,6	14,1	15,2	<b>10,7</b>	<b>12,8</b>

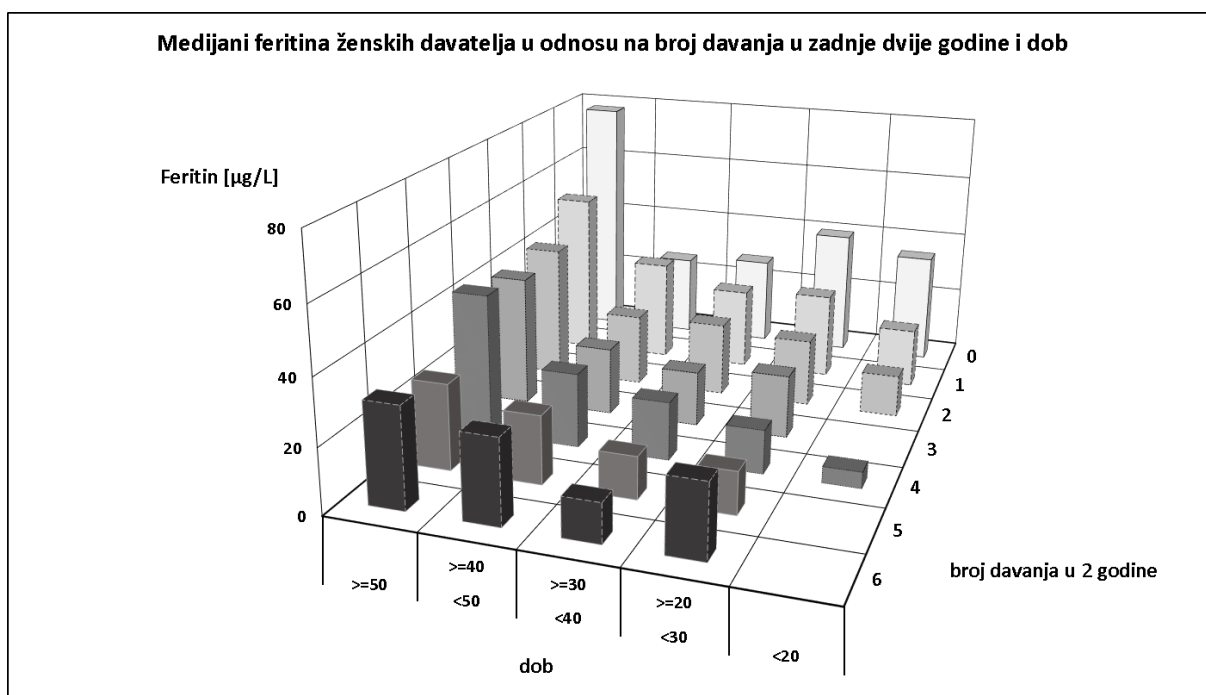
DDK = dobrovoljni davatelji krvi; saturacija transf. = saturacija transferina;

satur. tr. = saturacija transferina

Na Slikama 3.i 4. prikazana je koncentracija feritina u odnosu na dob ispitanika u svakoj skupini s obzirom na frekvenciju davanja krvi u muškaraca i žena. I ovdje je vidljivo smanjenje feritina ovisno o frekvenciji davanja krvi (izraženije kod muškaraca) te porast koncentracije feritina u odnosu na dob kod muškaraca. Kod žena dominira ravnomjerno smanjena koncentracija feritina do životne dobi koja sugerira ulazak u menopauzu.



Slika 3. Koncentracija feritina u odnosu na dob muških ispitanika za svaku skupinu prema frekvenciji davanja krvi



Slika 4. Koncentracija feritina u odnosu na dob ženskih ispitanika za svaku skupinu prema frekvenciji davanja krvi

#### 4.3. Rezultati ispitivanih kategorijskih varijabli prema spolu ispitanika

Tablica 5. prikazuje promatrane kategorijske varijable muškaraca i žena. Osim očekivane razlike u učestalosti davanja krvi između muškaraca i žena, muškarci su se češće bavili sportom

i češće konzumirali meso i alkoholna pića. U žena su bili značajno češći simptomi manjka željeza te učestalost koncentracije feritina ispod referentnog raspona ( $P < 0,001$ ).

Tablica 5. Opisna statistika ispitivanih kategorijskih varijabli u odnosu na spolnu razdiobu:  $X^2$  test

Ispitivane kategorijske varijable		Spol			
		Muški		Ženski	
		N	%	N	%
PUŠENJE	Ne	781	72,0%	542	68,4%
	Da	303	28,0%	250	31,6%
SPORT**	Ne	193	17,8%	267	33,7%
	Povremeno	461	42,5%	306	38,6%
	Da	430	39,7%	219	27,7%
ALKOHOL**	Ne	297	27,4%	406	51,3%
	Da	787	72,6%	386	48,7%
MESO učestalost**	Nikada	12	1,1%	16	2,0%
	Dva do tri puta tjedno	530	49,0%	466	59,0%
	Svakodnevno	539	49,9%	308	39,0%
MESO vrsta**	Bijelo	173	16,1%	228	29,4%
	Podjednako	736	68,7%	486	62,6%
	Crveno	163	15,2%	62	8,0%
Simptomi manjka željeza**	Ne	931	85,9%	454	57,3%
	Da	153	14,1%	338	42,7%
Broj davanja krvi u 2 god**	0	213	19,6%	209	26,4%
	1	106	9,8%	118	14,9%
	2	105	9,7%	106	13,4%
	3	107	9,9%	103	13,0%
	4	111	10,2%	104	13,1%
	5	100	9,2%	97	12,2%
	6	113	10,4%	55	6,9%
	7	128	11,8%		
	8	101	9,3%		
Menstruacija	NE			212	27,1%
	DA			571	72,9%
Količina menstrualnog krvarenja	Bez			215	27,1%
	Slabo			77	9,7%
	Prosječno			447	56,4%
	Obilno			53	6,7%
Feritin u referentnom rasponu**	Ne	162	14,9%	179	22,6%
	Da	922	85,1%	613	77,4%

\*\* $X^2$  test;  $P < 0,001$

#### 4.4. Feritin, serumsko željezo, dob i ITM u odnosu na navike kod muških davatelja

Tablica 6. prikazuje opisnu statistiku koncentracije feritina, serumskog željeza, prosječne dobi i ITM kod muških davatelja u ovisnosti o navikama (podaci dobiveni upitnikom). Iz tablice je vidljiva predominacija nepušača i osoba koje konzumiraju alkohol, manji udio onih koji konzumiraju vitaminske sokove, sokove bogate željezom i vitaminske preparate, mali udio onih koji navode simptomatologiju koja može upućivati na manjak željeza te veći broj davatelja koji konzumiraju obrok prije davanja krvi (uglavnom lagani). Podjednako su zastupljeni oni davatelji koji svakodnevno ili dva do tri puta tjedno konzumiraju meso. Većina davatelja navodi podjednaku konzumaciju crvenog i bijelog mesa. Velika većina davatelja navodi bavljenje sportom (podjednako povremeno i redovito). U tablici su, za svaki parametar, navedene srednje vrijednosti feritina, serumskog željeza, prosječne dobi i ITM (za feritin i medijani). Stupanj povezanost pojedinih varijabli od osobitog interesa za ovo istraživanje analiziran je u nastavku poglavlja „Rezultati“.

Tablica 6. Vrijednosti feritina, serumskog željeza, prosječne dobi i ITM kod muških davatelja u ovisnosti o navikama (podaci dobiveni upitnikom)

Parametar	Odgovor	Broj davatelja	Prosječna dob	ITM	Feritin (µg/L)		Željezo µmol/L
					Medijan	Sr.vr.	
Pušenje	Ne	781	39,4	28,2	71	90,6	19,8
	Da	303	37,6	27,6	78	104,7	19,4
Alkohol	Ne	297	41,5	28,2	66	86,5	19,0
	Da	787	37,9	27,9	75	97,6	19,9
Vitaminski sokovi	Ne	798	39,7	28,1	71	93,5	19,5
	Da	217	34,6	27,7	77	98,7	19,9
Sokovi bogati željezom	Ne	901	38,3	28,0	72	94,2	19,6
	Da	121	40,8	28,3	74	94,7	19,6
Vitaminski preparati sa željezom	Ne	980	38,8	28,0	72,5	94,7	19,6
	Da	27	34,4	27,1	60	85,9	19,5
Simptomi manjka željeza	Ne	931	39,1	28,0	72	94,8	19,7
	Da	153	37,7	28,1	71	93,2	19,4
Obrok prije davanja	Ne	351	42,8	29,1	81	106,2	19,2
	Lagani	489	37,2	27,6	67	88,2	20,3
	Umjeren	168	34,6	27,1	76,5	86,9	18,4
	Obilan	11	31,9	25,0	72	84,0	18,3

Parametar	Odgovor	Broj davatelja	Prosječna dob	ITM	Feritin (µg/L)		Željezo µmol/L
					Medijan	Sr.vr.	
Konzumacija mesa	Nikada	12	43,7	29,1	51,5	86,4	17,8
	2-3 x tjedno	530	41,0	28,2	70	91,9	19,3
	svakodnevno	539	36,8	27,7	74	97,1	20,0
	Bijelo	173	34,5	27,2	71	92,5	19,5
	Podjednako	736	39,9	28,1	71	92,6	19,7
	Crveno	163	38,8	28,4	85	106,3	19,8
Konzumacija mesa 2-3 x tjedno	Bijelo	102	38,2	28,0	75,5	97,0	18,8
	Podjednako	363	41,9	28,3	68	89,9	19,3
	Crveno	65	40,1	28,2	81	95,3	20,1
Svakodnevna konzumacija mesa	Bijelo	71	29,2	26,2	60	86	20,4
	Podjednako	370	37,9	27,9	73,5	94,9	20,1
	Crveno	98	37,9	28,5	90	113,6	19,7
Bavljenje sportom	Ne	193	45,8	29,5	64	87,4	19,5
	Povremeno	461	40,4	28,8	71	95,8	19,8
	Redovito	430	34,2	26,6	79	96,4	19,6

#### 4.5. Feritin, serumsko željezo, dob i ITM u odnosu na navike kod ženskih davatelja

Tablica 7. prikazuje opisnu statistiku vrijednosti feritina, serumskog željeza, prosječne dobi i ITM kod ženskih davatelja u ovisnosti o navikama (podaci dobiveni upitnikom). Iz tablice je vidljiva predominacija nepušača, a tek je neznatno više onih davateljica koje navode konzumiranje alkohola. Mali je udio žena koje konzumiraju vitaminske sokove, sokove bogate željezom i vitaminske preparate. Visoki je udio žena koje navode simptomatologiju koja može upućivati na manjak željeza te veći broj davateljica koje konzumiraju obrok prije davanja krvi (uglavnom lagani). Većina ženskih davatelja je u skupini onih koji dva do tri puta tjedno konzumiraju meso (uglavnom podjednako crveno i bijelo meso). Većina davateljica navodi bavljenje sportom (uglavnom povremeno). U tablici su, za svaki parametar, navedene srednje vrijednosti feritina, serumskog željeza, prosječne dobi i ITM (za feritin i medijani). Stupanj povezanost pojedinih varijabli od osobitog interesa za ovo istraživanje analiziran je u nastavku poglavlja „Rezultati“.

Tablica 7. Koncentracije feritina, serumskog željeza, prosječne dobi i ITM kod ženskih davatelja u ovisnosti o navikama (podaci dobiveni upitnikom)

Parametar	Odgovor	Broj davatelja	Prosječna dob	ITM	Feritin (µg/L)		Željezo µmol/L
					Medijan	Sr.vr.	
Pušenje	Ne	542	39,5	25,8	26	34,0	17,2
	Da	250	40,0	25,6	28	37,0	17,6
Alkohol	Ne	406	42,1	26,7	29	36,2	16,9
	Da	386	37,1	24,8	26	33,7	17,8
Vitaminski sokovi	Ne	594	40,4	25,9	28	35,8	17,3
	Da	182	37,2	25,1	23,5	32,8	17,3

Parametar	Odgovor	Broj davatelja	Prosječna dob	ITM	Feritin (µg/L)		Željezo µmol/L
					Medijan	Sr.vr.	
Sokovi bogati željezom	Ne	645	39,7	25,8	28	35,9	17,4
	Da	136	39,0	25,4	23	31,1	16,8
Vitaminski preparati sa željezom	Ne	758	39,6	25,7	27	34,9	17,3
	Da	14	38,2	23,9	38	45,1	18,7
Simptomi manjka željeza	Ne	454	39,7	25,7	27,5	35,0	17,4
	Da	338	39,7	25,7	26,5	34,9	17,3
Obrok prije davanja	Ne	86	45,0	28,2	44,5	50,3	16,7
	Lagani	515	40,9	25,7	27	33,7	17,2
	Umjeren	166	33,6	24,4	23	32,0	17,8
	Obilan	10	28,5	25,0	21,5	26,7	17,9
Konzumacija mesa	Nikada	16	41,7	25,4	31	32,6	18,0
	2-3 x tjedno	466	40,8	26,1	26	34,2	17,6
	svakodnevno	308	37,7	25,2	29	36,1	17,1
	Bijelo	228	36,4	24,8	26	33,2	16,9
	Podjednako	486	41,2	26,1	28	35,5	17,5
	Crveno	62	39,5	26,4	29	37,7	17,4
Konzumacija mesa 2-3 x tjedno	Bijelo	152	38,4	25,2	26	32,2	16,7
	Podjednako	279	41,8	26,4	26	34,9	17,3
	Crveno	35	43,0	27,6	23	37,7	17,4
Svakodnevna konzumacija mesa	Bijelo	76	32,4	23,8	25,5	35,1	17,4
	Podjednako	205	40,0	25,7	30	36,2	17,8
	Crveno	27	34,9	25,0	32	37,7	17,3
Bavljenje sportom	Ne	267	44,2	27,2	29	37,7	16,6
	Povremeno	306	38,6	25,8	28	34,5	17,8
	Redovito	219	35,5	23,8	25	32,3	17,5

#### 4.6. Kontrolirane korelacije koncentracije feritina u odnosu na dob, ITM i navike u kontrolnoj skupini muškaraca i žena

Tablica 8. prikazuje, zasebno za žene i muškarce koji nisu darovali krv u prethodne dvije godine, kontrolirane korelacije feritina s dobi davatelja, ITM te navikama obzirom na sve uključene varijable (kod žena kontrolirano i na menstrualno krvarenje). Vidljiva je značajna pozitivna korelacija feritina i dobi kod muškaraca, dok je značajna pozitivna korelacija feritina s ITM nađena u oba spola. Kod muškaraca je nađena i pozitivna korelacija feritina s pušenjem, te konzumacijom crvenog mesa.



Tablica 8. Kontrolirane korelacije obzirom na sve uključene varijable + menstruacija za žene u skupini ispitanika koji nisu darovali krvi u 2 godine

Promatrane varijable		Feritin	Feritin
		MUŠKARCI	ŽENE
DOB	Korelacija	0,300	-0,058
	P	<0,001	0,419
	N	201	193
ITM	Korelacija	0,206	0,188
	P	0,003	0,008
	N	201	193
PUŠENJE	Korelacija	0,142	-0,019
	P	0,043	0,792
	N	201	193
SPORT	Korelacija	0,061	0,016
	P	0,390	0,821
	N	201	193
ALKOHOL	Korelacija	0,01	0,03
	P	0,887	0,676
	N	201	193
MESO učestalost	Korelacija	0,032	0,109
	P	0,651	0,128
	N	201	193
MESO crveno	Korelacija	0,185	0,079
	P	0,008	0,273
	N	201	193

ITM = indeks tjelesne mase

#### 4.7. Rezultati ispitivanih kontinuiranih varijabli u odnosu na učestalost davanja krvi kod muškaraca

Tablica 9. prikazuje opisnu statistiku ispitivanih kontinuiranih varijabli (eritrocita, hemoglobina, hematokrita, MCV, MCH, MCHC, RDW, CCI, serumskog željeza, TIBC, UIBC, saturacije transferina, ITM i dobi) u odnosu na broj davanja krvi u muškaraca.

Tablica 9. Opisna statistika ispitivanih kontinuiranih varijabli u odnosu na broj davanja krvi u muškaraca: ANOVA

MUŠKARCI Parametar/ broj davanja krvi u 2 godine	N	Aritmetička sredina	SD	95% interval pouzdanosti		
				Donji	Gornji	
RBC	0	213	5,31	0,34	5,26	5,35
	1	106	5,35	0,33	5,29	5,42
	2	105	5,34	0,33	5,27	5,40
	3	107	5,32	0,36	5,25	5,39
	4	111	5,28	0,36	5,21	5,35
	5	100	5,36	0,36	5,29	5,43
	6	113	5,37	0,34	5,30	5,43
	7	128	5,31	0,34	5,25	5,37
	8	101	5,36	0,37	5,29	5,44
	Ukupno	1084	5,33	0,35	5,31	5,35
Hgb	0	213	157,50	8,17	156,40	158,61
	1	106	157,19	8,60	155,53	158,85
	2	105	157,90	8,10	156,34	159,47
	3	107	157,04	8,65	155,38	158,70
	4	111	154,88	8,83	153,22	156,54
	5	100	157,35	8,35	155,69	159,01
	6	113	156,30	8,35	154,75	157,86
	7	128	154,22	8,31	152,77	155,67
	8	101	156,07	9,90	154,12	158,02
	Ukupno	1084	156,54	8,60	156,02	157,05
HCT	0	213	0,47	0,02	0,47	0,47
	1	106	0,47	0,03	0,47	0,48
	2	105	0,47	0,02	0,47	0,48
	3	107	0,47	0,03	0,47	0,48
	4	111	0,47	0,03	0,46	0,47
	5	100	0,48	0,02	0,47	0,48
	6	113	0,47	0,02	0,47	0,48
	7	128	0,47	0,02	0,46	0,47
	8	101	0,47	0,03	0,47	0,48
	Ukupno	1084	0,47	0,03	0,47	0,47
MCV	0	213	88,53	3,78	88,02	89,04
	1	106	87,92	3,89	87,17	88,67
	2	105	88,68	2,97	88,10	89,25
	3	107	88,99	3,99	88,23	89,76
	4	111	88,60	3,81	87,88	89,31
	5	100	88,85	3,85	88,08	89,61
	6	113	88,18	3,71	87,49	88,87
	7	128	88,09	4,59	87,29	88,89
	8	101	88,26	3,99	87,47	89,05
	Ukupno	1084	88,45	3,87	88,22	88,68

MUŠKARCI Parametar/ broj davanja krvi u 2 godine	N	Aritmetička sredina	SD	95% interval pouzdanosti		
				Donji	Gornji	
MCH	0	213	29,73	1,42	29,54	29,92
	1	106	29,39	1,34	29,14	29,65
	2	105	29,63	1,28	29,38	29,88
	3	107	29,60	1,49	29,31	29,88
	4	111	29,39	1,55	29,10	29,68
	5	100	29,43	1,59	29,11	29,74
	6	113	29,17	1,57	28,88	29,46
	7	128	29,14	2,04	28,78	29,50
	8	101	29,17	1,69	28,83	29,50
	Ukupno	1084	29,43	1,57	29,34	29,53
MCHC	0	213	335,90	8,41	334,76	337,03
	1	106	334,43	6,99	333,09	335,78
	2	105	334,11	9,83	332,21	336,02
	3	107	332,62	7,23	331,23	334,00
	4	111	331,73	8,67	330,10	333,36
	5	100	331,24	9,14	329,43	333,05
	6	113	330,77	8,43	329,20	332,34
	7	128	330,59	9,83	328,87	332,31
	8	101	330,32	8,21	328,70	331,94
	Ukupno	1084	332,72	8,80	332,20	333,24
RDW	0	213	11,37	0,54	11,30	11,45
	1	106	11,49	0,52	11,39	11,59
	2	105	11,60	0,68	11,47	11,73
	3	107	11,59	0,65	11,46	11,71
	4	111	11,79	0,78	11,65	11,94
	5	100	11,85	0,91	11,66	12,03
	6	113	11,97	0,93	11,80	12,14
	7	128	12,03	0,91	11,87	12,19
	8	101	12,26	1,06	12,05	12,47
	Ukupno	1084	11,74	0,82	11,69	11,79
CCI	0	213	43,47	4,41	42,87	44,07
	1	106	44,74	4,66	43,84	45,64
	2	105	44,39	4,99	43,42	45,35
	3	107	44,30	5,10	43,32	45,28
	4	111	45,70	6,31	44,51	46,89
	5	100	45,82	7,80	44,27	47,37
	6	113	47,05	7,79	45,60	48,51
	7	128	47,66	9,10	46,07	49,25
	8	101	48,20	8,06	46,61	49,79
	Ukupno	1084	45,52	6,71	45,12	45,92

MUŠKARCI Parametar/ broj davanja krvi u 2 godine	N	Aritmetička sredina	SD	95% interval pouzdanosti		
				Donji	Gornji	
Serumsko željezo	0	213	20,49	5,99	19,68	21,30
	1	106	20,52	6,16	19,33	21,71
	2	105	18,71	5,90	17,57	19,86
	3	107	19,71	8,04	18,17	21,25
	4	111	19,59	7,10	18,25	20,92
	5	100	20,20	7,93	18,63	21,77
	6	113	19,42	7,31	18,05	20,78
	7	128	18,39	6,44	17,26	19,52
	8	101	19,31	6,77	17,97	20,64
	Ukupno	1084	19,65	6,81	19,25	20,06
TIBC	0	213	56,48	6,51	55,60	57,36
	1	106	57,97	7,01	56,62	59,32
	2	105	60,17	7,53	58,71	61,63
	3	107	60,28	6,61	59,01	61,55
	4	111	62,88	7,48	61,48	64,29
	5	100	65,01	7,24	63,57	66,45
	6	113	64,97	7,41	63,59	66,35
	7	128	66,63	8,80	65,09	68,16
	8	101	66,80	7,97	65,23	68,37
	Ukupno	1084	61,85	8,28	61,35	62,34
UIBC	0	213	36,00	8,38	34,86	37,13
	1	106	37,45	9,40	35,64	39,26
	2	105	41,46	9,93	39,54	43,38
	3	107	40,57	9,93	38,67	42,47
	4	111	43,30	10,00	41,42	45,18
	5	100	44,81	10,20	42,79	46,83
	6	113	45,56	9,16	43,85	47,26
	7	128	48,23	11,35	46,25	50,22
	8	101	47,50	10,20	45,48	49,51
	Ukupno	1084	42,19	10,65	41,56	42,83
Saturacija transferina	0	213	0,37	0,11	0,35	0,38
	1	106	0,36	0,12	0,34	0,38
	2	105	0,32	0,11	0,30	0,34
	3	107	0,33	0,14	0,30	0,36
	4	111	0,31	0,11	0,29	0,34
	5	100	0,31	0,12	0,29	0,34
	6	113	0,30	0,11	0,28	0,32
	7	128	0,28	0,11	0,26	0,30
	8	101	0,29	0,11	0,27	0,31
	Ukupno	1084	0,32	0,12	0,32	0,33

MUŠKARCI Parametar/ broj davanja krvi u 2 godine	N	Aritmetička sredina	SD	95% interval pouzdanosti		
				Donji	Gornji	
ITM	0	212	26,27	3,85	25,75	26,80
	1	104	27,34	3,61	26,64	28,04
	2	105	27,45	3,18	26,84	28,07
	3	105	27,73	3,74	27,01	28,45
	4	111	28,88	4,03	28,12	29,63
	5	100	28,99	4,71	28,06	29,93
	6	113	28,45	3,56	27,78	29,11
	7	128	28,66	3,70	28,01	29,31
	8	100	29,96	4,09	29,14	30,77
	Ukupno	1078	28,01	3,99	27,77	28,24
DOB	0	213	30,15	10,21	28,77	31,53
	1	106	35,36	12,07	33,04	37,69
	2	105	36,42	13,07	33,89	38,95
	3	107	37,96	12,66	35,53	40,39
	4	111	40,73	11,87	38,50	42,97
	5	100	45,20	11,90	42,84	47,56
	6	113	42,25	9,78	40,43	44,08
	7	128	44,76	10,09	42,99	46,52
	8	101	45,40	9,61	43,51	47,30
	Ukupno	1084	38,92	12,43	38,18	39,66

RBC = broj eritrocita, Hgb = hemoglobin, HCT = hematokrit, MCV = prosječni volumen eritrocita, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, CCI = kombinirani stanični indeks, TIBC = ukupni kapacitet vezanja željeza, UIBC = nezasićeni kapacitet vezanja željeza, ITM = indeks tjelesne mase

Obzirom na učestalost davanja krvi, zabilježene su značajne razlike između skupina muškaraca u koncentraciji hemoglobina ( $P=0,007$ ), MCH ( $P=0,010$ ), MCHC ( $P<0,001$ ), RDW ( $P<0,001$ ), CCI ( $P<0,001$ ), TIBC ( $P<0,001$ ), UIBC ( $P<0,001$ ), saturaciji transferina ( $P<0,001$ ), ITM ( $P<0,001$ ) i dobi ( $P<0,001$ ) (Tablica 10).

Tablica 10. Vrijednosti ANOVE i značajnosti testiranja iz Tablice 9.

ANOVA	Zbroj kvadrata	df	Prosječna vrijednost kvadrata	F	P	
RBC	Između skupina	0,874	8,00	0,11	0,89	0,522
	Unutar skupina	131,639	1075,00	0,12		
	Ukupno	132,513	1083,00			
Hgb	Između skupina	1552,836	8,00	194,10	2,66	0,007
	Unutar skupina	78530,761	1075,00	73,05		
	Ukupno	80083,597	1083,00			

<b>ANOVA</b>		<b>Zbroj kvadrata</b>	<b>df</b>	<b>Prosječna vrijednost kvadrata</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
HCT	Između skupina	0,008	8,00	0,00	1,46	0,169
	Unutar skupina	0,694	1075,00	0,00		
	Ukupno	0,701	1083,00			
MCV	Između skupina	114,392	8,00	14,30	0,95	0,471
	Unutar skupina	16113,251	1075,00	14,99		
	Ukupno	16227,643	1083,00			
MCH	Između skupina	52,483	8,00	6,56	2,69	0,01
	Unutar skupina	2626,078	1075,00	2,44		
	Ukupno	2678,561	1083,00			
MCHC	Između skupina	4585,736	8,00	573,22	7,78	<0,001
	Unutar skupina	79218,570	1075,00	73,69		
	Ukupno	83804,305	1083,00			
RDW	Između skupina	84,637	8,00	10,58	17,49	<0,001
	Unutar skupina	650,425	1075,00	0,61		
	Ukupno	735,062	1083,00			
CCI	Između skupina	2845,468	8,00	355,68	8,32	<0,001
	Unutar skupina	45970,456	1075,00	42,76		
	Ukupno	48815,924	1083,00			
Serumsko željezo	Između skupina	573,800	8,00	71,72	1,55	0,130
	Unutar skupina	49651,472	1075,00	46,19		
	Ukupno	50225,272	1083,00			
TIBC	Između skupina	15902,541	8,00	1987,82	36,62	<0,001
	Unutar skupina	58352,038	1075,00	54,28		
	Ukupno	74254,579	1083,00			
UIBC	Između skupina	20512,491	8,00	2564,06	26,93	<0,001
	Unutar skupina	102356,212	1075,00	95,22		
	Ukupno	122868,704	1083,00			
Saturacija transferina	Između skupina	,936	8,00	0,12	8,88	<0,001
	Unutar skupina	14,168	1075,00	0,01		
	Ukupno	15,104	1083,00			
ITM	Između skupina	1360,194	8,00	170,02	11,53	<0,001
	Unutar skupina	15766,270	1069,00	14,75		
	Ukupno	17126,464	1077,00			
DOB	Između skupina	32654,617	8,00	4081,83	32,61	<0,001
	Unutar skupina	134564,195	1075,00	125,18		
	Ukupno	167218,813	1083,00			

RBC = broj eritrocita, Hgb = hemoglobin, HCT = hematokrit, MCV = prosječni volumen eritrocita, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, CCI = kombinirani stanični indeks, TIBC = ukupni kapacitet vezanja željeza, UIBC = nezasićeni kapacitet vezanja željeza, ITM = indeks tjelesne mase

#### 4.8. Rezultati ispitivanih kontinuiranih varijabli u odnosu na učestalost davanja krvi kod žena

Vrijednosti kvantitativnih varijabli u žena, obzirom na broj davanja krvi, prikazane su u Tablici 11. Vrijednosti ANOVE i značajnosti testiranja iz Tablice 11. prikazani su u Tablici 12.

Tablica 11. Opisna statistika ispitivanih kontinuiranih varijabli u odnosu na broj davanja krvi u žena: ANOVA

ŽENE Parametar/broj davanja krvi	N	Aritmetička sredina	SD	95% interval pouzdanosti		
				Donji	Gornji	
RBC	0	209	4,74	0,34	4,70	4,79
	1	118	4,80	0,33	4,74	4,86
	2	106	4,75	0,27	4,70	4,80
	3	103	4,80	0,34	4,73	4,87
	4	104	4,87	0,32	4,81	4,93
	5	97	4,91	0,30	4,85	4,97
	6	55	4,89	0,33	4,80	4,98
	Ukupno	792	4,81	0,33	4,78	4,83
Hgb	0	209	138,50	8,33	137,36	139,63
	1	118	138,42	9,54	136,68	140,15
	2	106	136,70	8,05	135,15	138,25
	3	103	136,13	9,06	134,36	137,90
	4	104	139,21	9,84	137,30	141,12
	5	97	141,14	9,32	139,27	143,02
	6	55	140,33	8,59	138,01	142,65
	Ukupno	792	138,48	9,02	137,85	139,11
HCT	0	209	0,42	0,03	0,42	0,42
	1	118	0,42	0,03	0,42	0,43
	2	106	0,42	0,02	0,41	0,42
	3	103	0,42	0,03	0,41	0,42
	4	104	0,43	0,03	0,42	0,43
	5	97	0,43	0,03	0,43	0,44
	6	55	0,43	0,03	0,42	0,43
	Ukupno	792	0,42	0,03	0,42	0,42
MCV	0	209	88,43	3,42	87,97	88,90
	1	118	88,07	4,16	87,31	88,83
	2	106	87,60	4,16	86,80	88,41
	3	103	87,02	4,43	86,16	87,89
	4	104	87,84	4,46	86,97	88,71
	5	97	87,89	4,10	87,06	88,72
	6	55	87,56	4,85	86,25	88,87
	Ukupno	792	87,88	4,11	87,59	88,17

ŽENE Parametar/broj davanja krvi		N	Aritmetička sredina	SD	95% interval pouzdanosti	
					Donji	Gornji
MCH	0	209	29,25	1,40	29,06	29,44
	1	118	28,94	1,78	28,62	29,27
	2	106	28,83	1,77	28,49	29,17
	3	103	28,44	1,85	28,08	28,80
	4	104	28,63	1,77	28,29	28,98
	5	97	28,79	1,74	28,44	29,14
	6	55	28,78	1,87	28,28	29,29
	Ukupno	792	28,87	1,71	28,75	28,99
MCHC	0	209	330,78	8,06	329,69	331,88
	1	118	328,45	8,41	326,92	329,98
	2	106	328,99	8,84	327,29	330,69
	3	103	326,66	8,79	324,94	328,38
	4	104	325,92	8,69	324,23	327,61
	5	97	327,46	9,56	325,54	329,39
	6	55	328,64	8,47	326,35	330,93
	Ukupno	792	328,47	8,75	327,86	329,08
RDW	0	209	11,70	0,76	11,60	11,81
	1	118	12,07	0,97	11,89	12,24
	2	106	12,43	1,24	12,19	12,67
	3	103	12,75	1,15	12,52	12,97
	4	104	12,63	1,18	12,40	12,86
	5	97	12,70	1,32	12,44	12,97
	6	55	12,60	1,18	12,29	12,92
	Ukupno	792	12,30	1,15	12,22	12,38
CCI	0	209	45,58	5,89	44,77	46,38
	1	118	48,07	8,85	46,46	49,68
	2	106	49,87	9,06	48,13	51,62
	3	103	52,36	10,01	50,41	54,32
	4	104	51,01	9,60	49,14	52,88
	5	97	51,02	10,44	48,91	53,12
	6	55	50,91	10,36	48,11	53,71
	Ukupno	792	49,16	9,12	48,52	49,79
Serumsko željezo	0	209	18,33	7,10	17,37	19,30
	1	118	17,01	6,79	15,77	18,25
	2	106	18,30	7,78	16,80	19,80
	3	103	15,83	6,94	14,47	17,18
	4	104	17,07	6,04	15,89	18,24
	5	97	16,55	6,40	15,26	17,84
	6	55	16,89	6,82	15,05	18,74
	Ukupno	792	17,32	6,93	16,84	17,80



ŽENE Parametar/broj davanja krvi		N	Aritmetička sredina	SD	95% interval pouzdanosti	
					Donji	Gornji
TIBC	0	209	60,84	9,16	59,59	62,09
	1	118	60,29	7,49	58,92	61,65
	2	106	62,92	7,65	61,44	64,39
	3	103	63,35	8,23	61,74	64,96
	4	104	63,44	8,24	61,84	65,04
	5	97	64,88	8,15	63,23	66,52
	6	55	64,89	8,57	62,57	67,21
	Ukupno	792	62,48	8,46	61,89	63,07
UIBC	0	209	42,50	12,09	40,85	44,15
	1	118	43,28	10,58	41,35	45,21
	2	106	44,61	11,78	42,35	46,88
	3	103	47,52	11,88	45,20	49,85
	4	104	46,38	10,33	44,37	48,38
	5	97	48,33	10,93	46,13	50,53
	6	55	48,00	11,84	44,80	51,20
	Ukupno	792	45,16	11,61	44,35	45,97
Saturacija Transferina	0	209	0,31	0,13	0,29	0,33
	1	118	0,29	0,12	0,27	0,31
	2	106	0,30	0,14	0,27	0,32
	3	103	0,26	0,12	0,23	0,28
	4	104	0,27	0,10	0,25	0,29
	5	97	0,26	0,11	0,24	0,28
	6	55	0,27	0,12	0,23	0,30
	Ukupno	792	0,28	0,12	0,28	0,29
ITM	0	207	24,39	3,82	23,87	24,91
	1	117	25,22	4,80	24,34	26,10
	2	106	25,60	4,44	24,74	26,45
	3	101	25,92	4,05	25,12	26,72
	4	104	27,22	4,61	26,32	28,11
	5	97	26,68	3,63	25,95	27,42
	6	54	27,28	4,07	26,17	28,39
	Ukupno	786	25,73	4,31	25,43	26,03

ŽENE Parametar/broj davanja krvi	N	Aritmetička sredina	SD	95% interval pouzdanosti	
				Donji	Gornji
0	209	31,17	11,75	29,57	32,77
1	118	34,55	11,23	32,51	36,60
2	106	39,71	12,81	37,24	42,18
3	103	43,05	11,40	40,83	45,28
4	104	45,93	11,04	43,78	48,07
5	97	48,19	11,39	45,90	50,49
6	55	49,55	10,61	46,68	52,42
Ukupno	792	39,66	13,35	38,73	40,59

RBC = broj eritrocita, Hgb = hemoglobin, HCT = hematokrit, MCV = prosječni volumen eritrocita, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, CCI = kombinirani stanični indeks, TIBC = ukupni kapacitet vezanja željeza, UIBC = nezasićeni kapacitet vezanja željeza, ITM = indeks tjelesne mase

Tablica 12. Vrijednosti ANOVE i značajnosti testiranja iz Tablice 11.

ANOVA	Zbroj kvadrata	df	Prosječna vrijednost kvadrata	F	P	
RBC	Između skupina	3,005	6	0,501	4,852	<0,001
	Unutar skupina	81,027	785	0,103		
	Ukupno	84,032	791			
Hgb	Između skupina	1839,681	6	306,614	3,849	0,001
	Unutar skupina	62534,035	785	79,661		
	Ukupno	64373,716	791			
HCT	Između skupina	,021	6	,004	5,137	<0,001
	Unutar skupina	,541	785	,001		
	Ukupno	,562	791			
MCV	Između skupina	157,378	6	26,230	1,558	0,156
	Unutar skupina	13212,245	785	16,831		
	Ukupno	13369,623	791			
MCH	Između skupina	57,355	6	9,559	3,323	0,003
	Unutar skupina	2258,479	785	2,877		
	Ukupno	2315,835	791			
MCHC	Između skupina	2260,241	6	376,707	5,073	<0,001
	Unutar skupina	58288,839	785	74,253		
	Ukupno	60549,080	791			
RDW	Između skupina	136,036	6	22,673	19,484	<0,001
	Unutar skupina	913,476	785	1,164		
	Ukupno	1049,511	791			

ANOVA		Zbroj kvadrata	df	Prosječna vrijednost kvadrata	F	P
CCI	Između skupina	4792,528	6	798,755	10,285	<0,001
	Unutar skupina	60966,085	785	77,664		
	Ukupno	65758,612	791			
Serumsko željezo	Između skupina	633,884	6	105,647	2,221	0,039
	Unutar skupina	37346,656	785	47,575		
	Ukupno	37980,540	791			
TIBC	Između skupina	2201,795	6	366,966	5,295	<0,001
	Unutar skupina	54403,840	785	69,304		
	Ukupno	56605,635	791			
UIBC	Između skupina	4072,602	6	678,767	5,200	<0,001
	Unutar skupina	102458,669	785	130,521		
	Ukupno	106531,271	791			
Saturacija transferina	Između skupina	0,319	6	0,053	3,580	0,002
	Unutar skupina	11,642	785	0,015		
	Ukupno	11,961	791			
ITM	Između skupina	856,321	6	142,720	8,108	<0,001
	Unutar skupina	13712,343	779	17,602		
	Ukupno	14568,664	785			
DOB	Između skupina	35853,644	6	5975,607	44,655	<0,001
	Unutar skupina	105046,636	785	133,817		
	Ukupno	140900,280	791			

RBC = broj eritrocita, Hgb = hemoglobin, HCT = hematokrit, MCV = Prosječni volumen eritrocita, MCH = Prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW = Raspodjela eritrocita prema veličini, CCI = kombinirani stanični indeks, TIBC = ukupni kapacitet vezanja željeza, UIBC = nezasićeni kapacitet vezanja željeza, ITM = indeks tjelesne mase

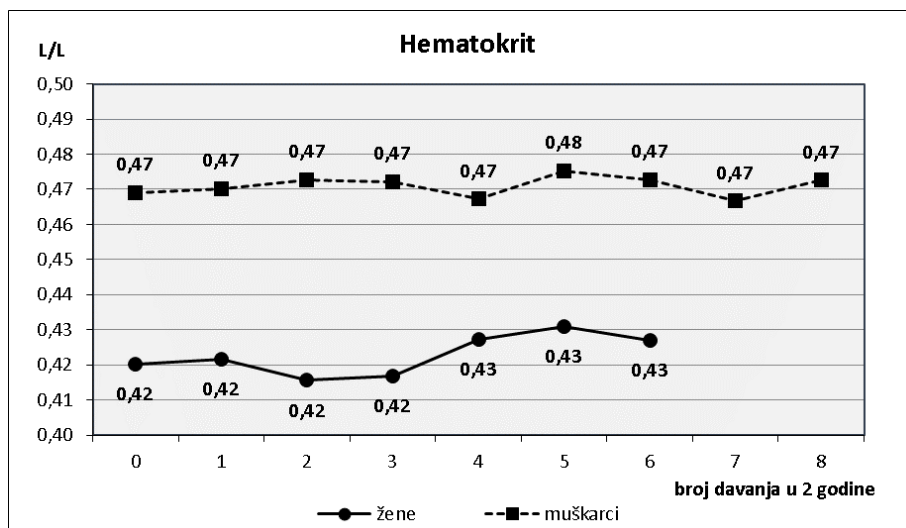
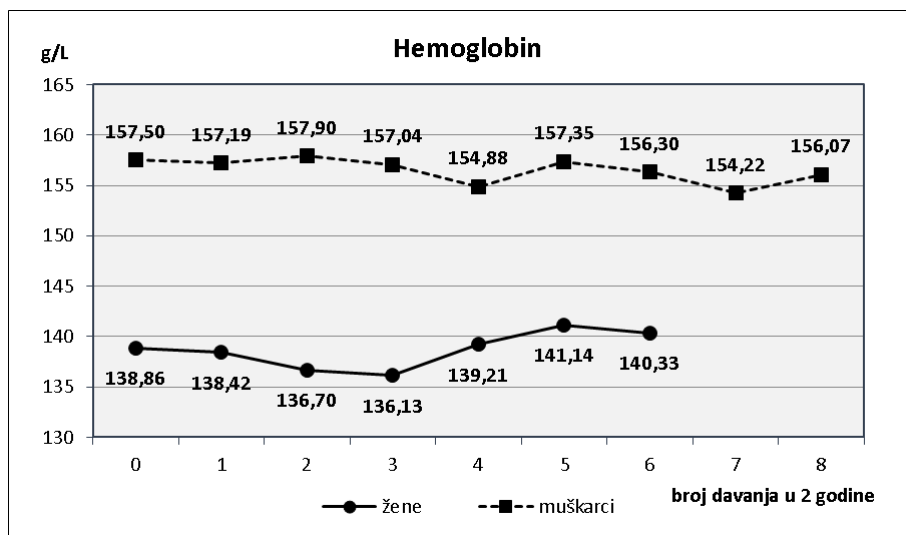
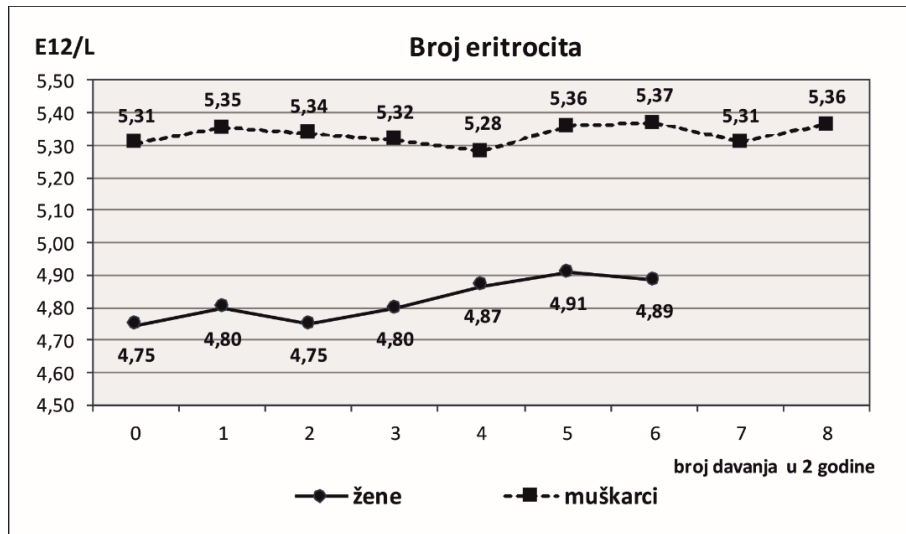
Iz rezultata prikazanih u Tablici 12. vidljivo je da su, ovisno o učestalosti davanja krvi, statistički značajne razlike zabilježene u svim promatranim varijablama, osim MCV.

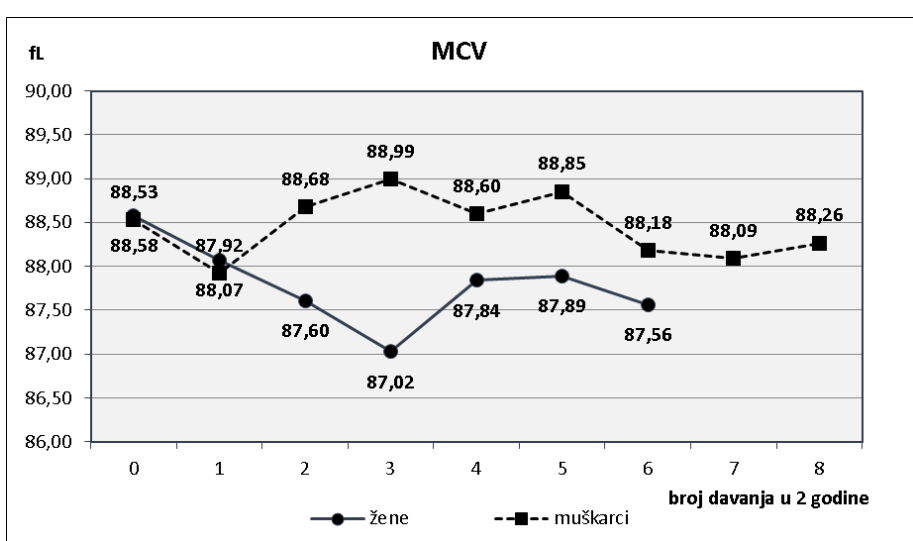
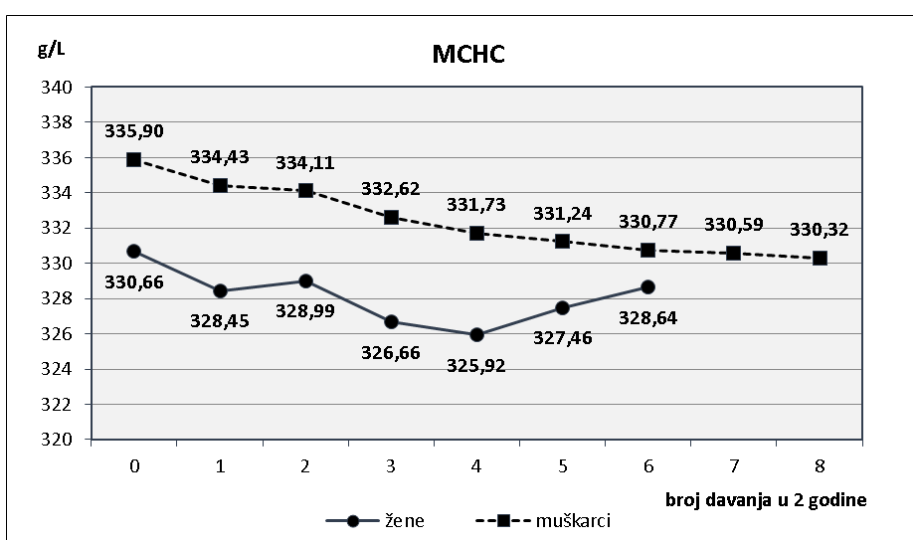
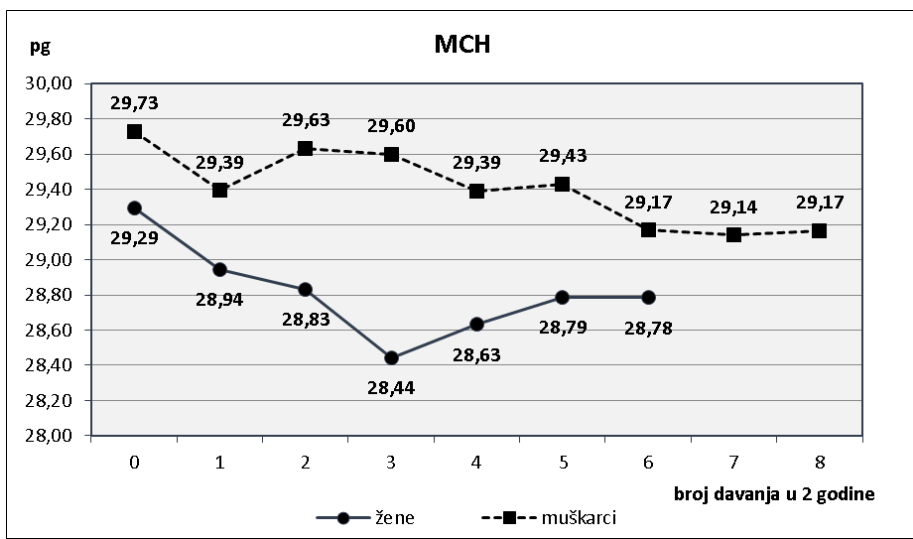
#### 4.9. Kretanje rezultata laboratorijskih ispitivanja u ovisnosti o frekvenciji davanja krvi u populaciji muških i ženskih davatelja

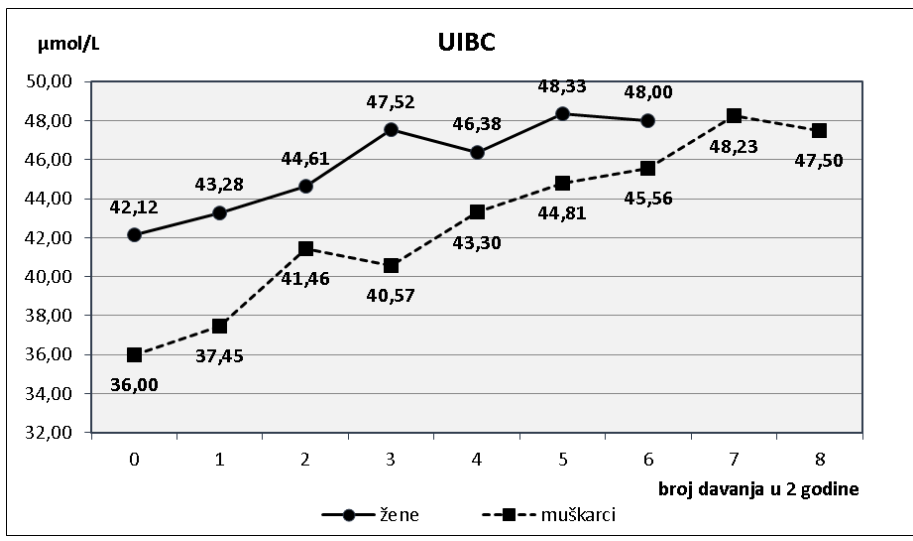
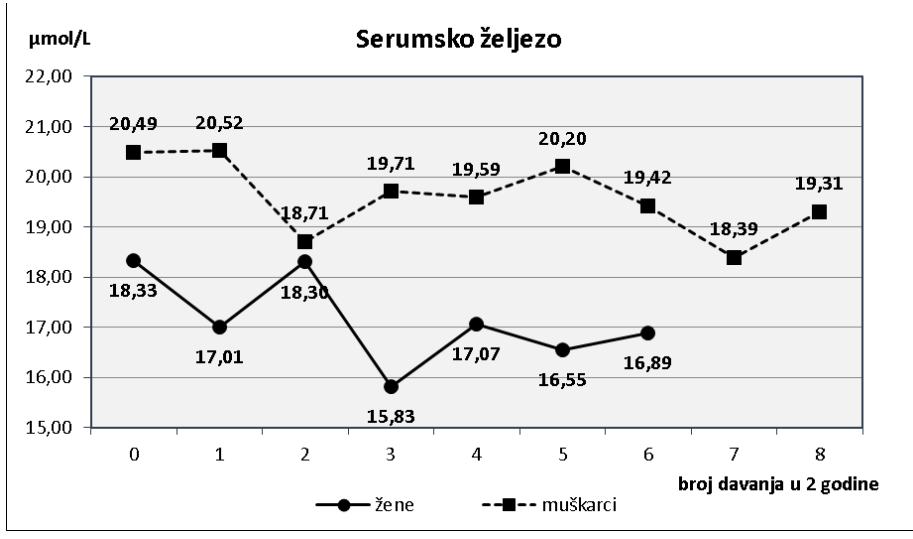
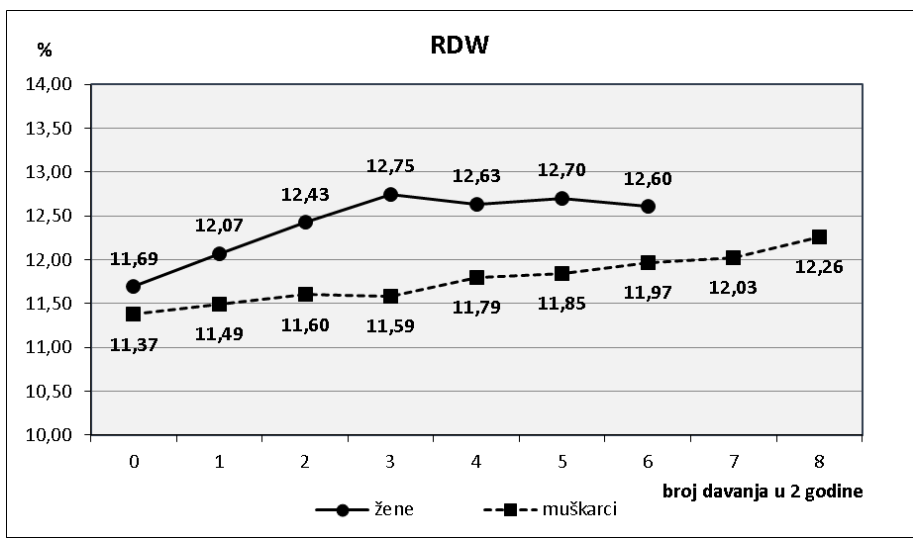
Slika 5. grafički prikazuje promjene mjernih parametara u ovisnosti o frekvenciji davanja krvi u populaciji muškaraca i žena uključenih u studiju. U populaciji muškaraca zamjetne su stabilne vrijednosti eritrocita, Hgb i HCT, trend postepenog pada vrijednosti MCH, MCHC, saturacije transferina i feritina te porast RDW, UIBC, TIBC i CCI.

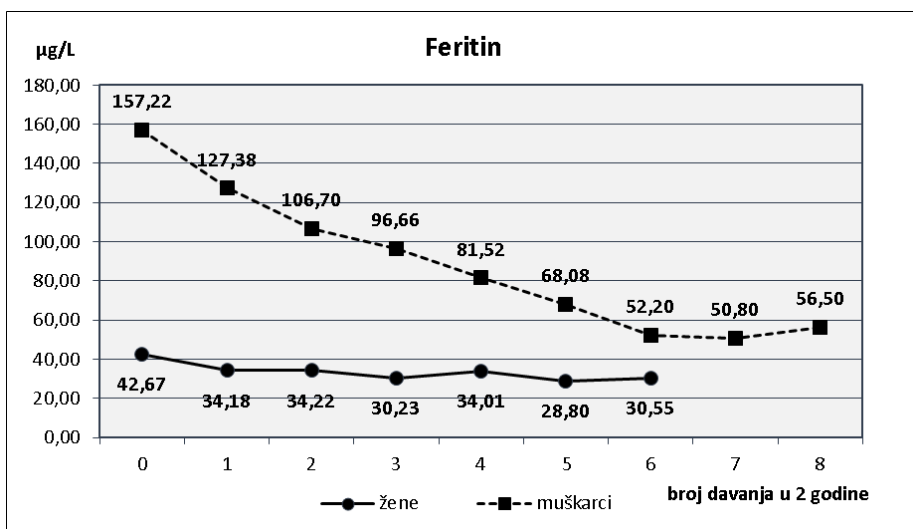
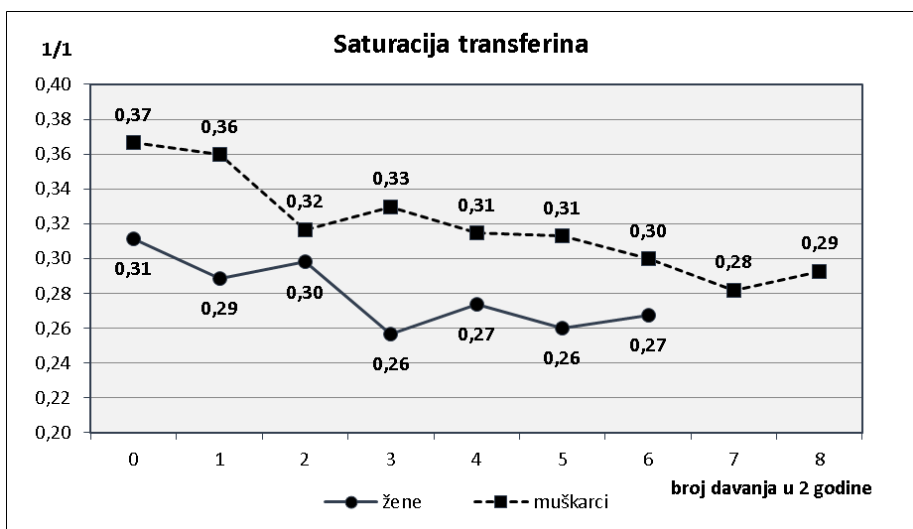
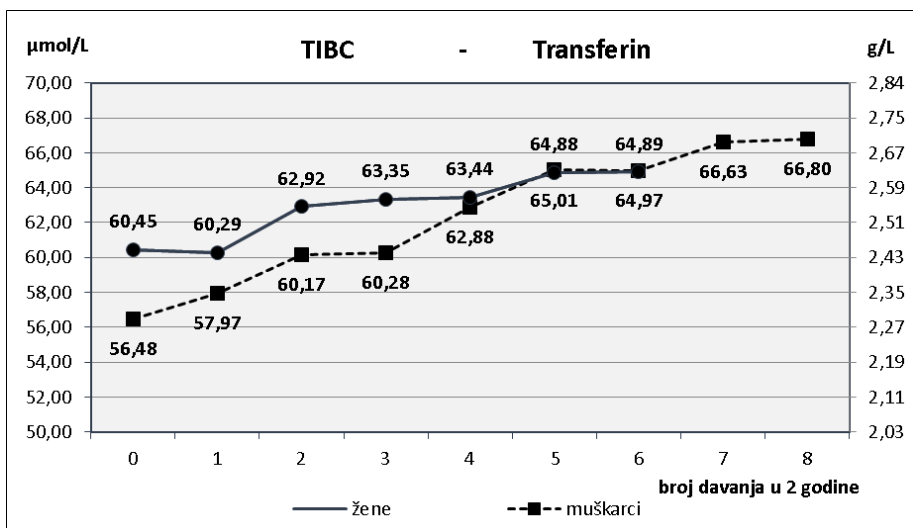
Kod žena, porast broja eritrocita, Hgb, HCT, MCV, MCH, MCHC u žena s više od tri donacije u dvije godine sugerira ulazak dijela ispitanica u menopauzu. S tim u svezi je i stabilizacija

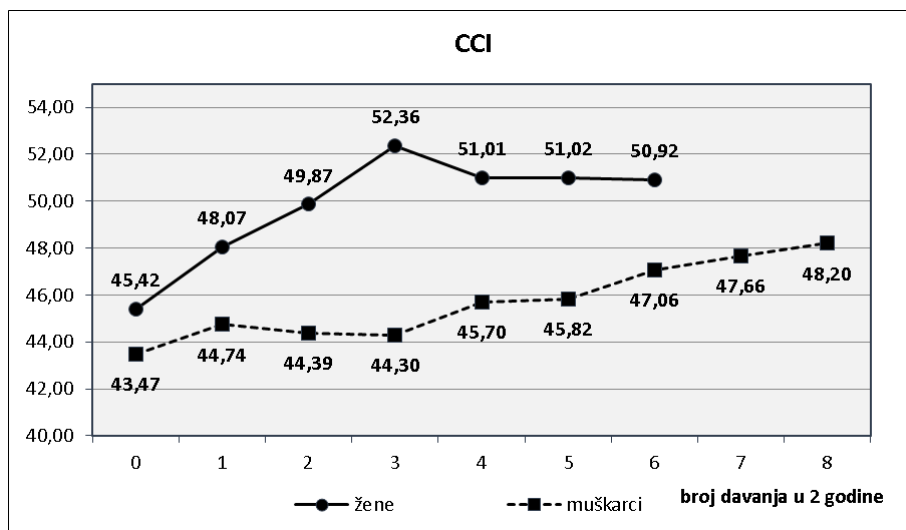
RDW, CCI, UIBC i TIBC (nakon početnog trenda rasta), te saturacije transferina nakon početnog pada. Feritin je kontinuirano nizak u populaciji žena.











Slika 5. Grafički prikaz promjene mjernih parametara: broj eritrocita, hemoglobin, hematokrit, MCH, MCHC, MCV, RDW, serumsko željezo, UIBC, TIBC, saturacija transferina, feritin, CCI, u ovisnosti o frekvenciji davanja krvi u populaciji muških i ženskih davatelja

#### 4.10. Usporedba koncentracije feritina kod žena u menopauzi s muškarcima dobi starije od 50 godina

Obzirom na utjecaj dobi, ali i menstruacije na koncentraciju feritina, u Tablici 13. načinjena je analiza podudarnih parova („matched-pair“ analiza) u kojoj su obuhvaćene samo žene u menopauzi te muškarci dobi iznad 50 godina. Razlike u koncentracijama feritina bile su značajno višestruko veće u muškaraca unutar svake skupine prema broju davanja krvi u zadnje dvije godine ( $P < 0,001$ ).

Tablica 13. Usporedba koncentracije feritina u muškaraca iznad 50 godina i žena u menopauzi: Mann-Whitney U test

	Feritin: muškarci > 50 god.				Feritin: žene u menopauzi				P	
	N	Medijan	25. centila	75. centila	N	Medijan	25. centila	75. centila		
Broj davanja krvi u 2 godine	0	10	153,0	122,0	192,0	18	76,0	40,0	90,0	<0,001
	1	17	173,0	106,0	236,0	16	62,5	39,0	93,5	<0,001
	2	21	127,0	59,0	186,0	27	42,0	23,0	80,0	<0,001
	3	19	120,0	89,0	187,0	31	42,0	29,0	68,0	<0,001
	4	29	86,0	44,0	124,0	45	44,0	31,0	58,0	<0,001
	5	34	61,0	42,0	89,0	48	27,0	19,5	38,0	<0,001
	6	24	60,0	34,5	83,0	36	33,0	16,0	48,0	<0,001



#### 4.11. Rezultati korelacije/parcijalne korelacije koncentracije feritina u odnosu na ostale ispitne varijable kod muškaraca i žena

Tablica 14. prikazuje korelacijske koeficijente koncentracije feritina u muškaraca i žena u odnosu na ostale ispitne varijable te njihovu međusobnu usporedbu. Spearmanova korelacija korištena je za kontinuirane, a Kendall tau b za kategorijske varijable. Kao primjer jake korelacije smatrana je apsolutna vrijednost koeficijenta korelacije iznad 0,600, dok je srednje jakom korelacijom smatrana ona u rasponu od 0,300 do 0,600. Vidljivo je da broj davanja krvi značajno negativno korelira s razinom feritina u muškaraca ( $\rho = -0,549$ ;  $P < 0,001$ ) i žena ( $\rho = -0,152$ ;  $P < 0,001$ ), te da je ta korelacija značajno veća kod muškaraca. Ukupan broj davanja krvi značajno negativno korelira s razinom feritina u muškaraca, ali ne i u žena. Dob nije značajno korelirala s razinom feritina u muškaraca, dok je slabo pozitivno korelirala kod žena. To upućuje na zaključak da žene u dobi koja odgovara menopauzi imaju veću razinu feritina. Ova tvrdnja je dodatno potkrijepljena podatkom značajnih negativnih korelacija razine feritina i količine menstruacije. Značajna korelacija nađena je kod oba spola između feritina i drugih mjernih parametara, osim granično značajne povezanosti feritina i broja eritrocita kod žena. Značajna korelacija kod oba spola nađena je i između feritina i indeksa tjelesne mase te feritina i bavljenja sportom. Značajna povezanost feritina s navikom pušenja te konzumacijom alkohola nađena je kod muškaraca, ali ne i kod žena.

Tablica 14. Korelacija koncentracije feritina u muškaraca i žena s ostalim ispitnim varijablama i usporedba rezultata između muškaraca i žena

Ispitne varijable		Feritin muškarci	Feritin žene	z	P
Broj davanja krvi u 2 god	Korel. koeficijent	-0,549	-0,152	-9,9	<0,001
	P	<0,001	<0,001		
	N	1084	792		
Ukupno davanja	Korel. koeficijent	-0,346	0,005	-7,8	<0,001
	P	<0,001	0,898		
	N	1084	792		
RBC	Korel. koeficijent	-0,090	-0,069	-3,4	<0,001
	P	0,003	0,051		
	N	1084	792		
Hgb	Korel. koeficijent	0,228	0,387	-3,76	<0,001
	P	<0,001	<0,001		
	N	1084	792		
HCT	Korel. koeficijent	0,073	0,259	-4,09	<0,001
	P	0,016	<0,001		
	N	1084	792		

Ispitne varijable		Feritin muškarci	Feritin žene	z	P
MCV	Korel. koeficijent	0,223	0,410	-4,45	<0,001
	P	<0,001	<0,001		
	N	1084	792		
MCH	Korel. koeficijent	0,338	0,489	-3,9	<0,001
	P	<0,001	<0,001		
	N	1084	792		
MCHC	Korel. koeficijent	0,332	0,371	-0,95	0,341
	P	<0,001	<0,001		
	N	1084	792		
RDW	Korel. koeficijent	-0,331	-0,571	6,51	<0,001
	P	<0,001	<0,001		
	N	1084	792		
CCI	Korel. koeficijent	-0,373	-0,590	60,1	<0,001
	P	<0,001	<0,001		
	N	1084	792		
TIBC	Korel. koeficijent	-0,418	-0,465	6,86	<0,001
	P	<0,001	<0,001		
	N	1084	792		
UIBC	Korel. koeficijent	-0,444	-0,524	2,23	0,025
	P	<0,001	<0,001		
	N	1084	792		
Saturacija transferina	Korel. koeficijent	0,328	0,455	-3,21	0,001
	P	<0,001	<0,001		
	N	1083	792		
ITM	Korel. koeficijent	0,096	0,184	-1,9	0,060
	P	0,002	<0,001		
	N	1081	787		
DOB	Korel. koeficijent	-0,050	0,153	-4,36	<0,001
	P	0,102	<0,001		
	N	1084	792		
PUŠENJE*	Korel. koeficijent	0,093	0,062	0,66	0,505
	P	,002	,079		
	N	1084	792		
SPORT*	Korel. koeficijent	0,082	-0,074	3,34	<0,001
	P	,007	,038		
	N	1084	792		
ALKOHOL*	Korel. koeficijent	0,084	-0,047	2,80	0,005
	P	0,006	0,187		
	N	1084	792		
MESO učestalost*	Korel. koeficijent	0,033	0,034	-0,02	0,982
	P	0,279	0,343		
	N	1081	790		

Ispitne varijable		Feritin muškarci	Feritin žene	z	P
Simptomi manjka željeza*	Korel. koeficijent	0,015	0,043	-0,60	0,549
	P	0,611	0,228		
	N	1084	776		
Količina menstruacije*	Korel. koeficijent		-0,277		
	P		<0,001		
	N		792		

\*Kendallov tau\_b koeficijent

RBC = broj eritrocita, Hgb = hemoglobin, HCT = hematokrit, MCV = prosječni volumen eritrocita, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, CCI = kombinirani stanični indeks, TIBC = ukupni kapacitet vezanja željeza, UIBC = nezasićeni kapacitet vezanja željeza, ITM = indeks tjelesne mase

Tablica 15. prikazuje parcijalne korelacije između mjernih parametara te broja i frekvencije davanja krvi, kontrolirane na ITM, dob, pušenje, bavljenje sportom, konzumaciju alkohola i mesa u muškaraca. Ovdje su vrijednosti inicijalnih koeficijenata korelacije prilagođene kao da su svi ispitanici istog ITM-a i dobi imaju iste navike pušenja, bavljenja sportom, konzumacije alkohola i mesa. Time smo isključili utjecaj ovih varijabli na koeficijente korelacije te možemo objektivnije promatrati međusobne odnose laboratorijskih vrijednosti i frekvencije davanja krvi. U Tablici 16. prikazane su parcijalne korelacije za žene, gdje se kao dodatna kontrolirana vrijednost uvela količina menstruacije. Iz Tablica 15. i 16. zamjetan je visok stupanj povezanosti feritina s frekvencijom davanja krvi, ali ne i ukupnim brojem donacija.

Tablica 15. Parcijalne korelacije mjernih parametara i broja i frekvencije davanja krvi, kontrolirane na ITM, dob, pušenje, bavljenje sportom, konzumaciju alkohola i mesa u muškaraca

Mjereni parametri	Ukupan broj donacija	Broj davanja krvi u godinu dana	Broj davanja krvi u 2 godine
Ukupno davanja	1	0,370**	0,447**
Davanja krvi u 1 god.	0,370**	1	0,902**
Davanja krvi u 2 god.	0,447**	0,902**	1
Feritin	-0,326**	-0,548**	-0,555**
CCI	0,180**	0,211**	0,227**

Mjereni parametri	Ukupan broj donacija	Broj davanja krvi u godinu dana	Broj davanja krvi u 2 godine
Saturacija transferina	-0,090**	-0,190**	-0,187**
Hgb	-0,024	-0,070*	-0,087**
RBC	0,097**	0,091**	0,078*
HCT	0,036	0,027	0,006
MCV	-0,102**	-0,106**	-0,113**
MCH	-0,141**	-0,185**	-0,185**
MCHC	-0,121**	-0,199**	-0,190**
RDW	0,180**	0,216**	0,237**
Serumsko željezo	-0,008	-0,042	-0,033
TIBC	0,239**	0,402**	0,424**
UIBC	0,192**	0,342**	0,353**

\*\*P< 0,001 \*P<0,05

CCI = kombinirani stanični indeks, Hgb = hemoglobin, RBC = broj eritrocita, HCT = hematokrit, MCV = prosječni volumen eritrocita, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, TIBC = ukupni kapacitet vezanja željeza, UIBC = nezasićeni kapacitet vezanja željeza, ITM = indeks tjelesne mase

Tablica 16. Parcijalne korelacije između mjernih parametara i broja i frekvencije davanja krvi, kontrolirane na ITM, dob, pušenje, bavljenje sportom, konzumaciju alkohola i mesa te menstruaciju u žena

Mjereni parametri	Ukupan broj donacija	Broj davanja krvi u godinu dana	Broj davanja krvi u 2 godine
Ukupno davanja	1	0,294**	0,413**
Davanja krvi u 1 god	0,294**	1	0,854**
Davanja krvi u 2 god	0,413**	0,854**	1
Feritin	-0,107**	-0,348**	-0,330**
CCI	0,082*	0,307**	0,284**
Saturacija transferina	-0,05	-0,149**	-0,140**
Hgb	0,100**	-0,069	-0,025
RBC	0,135**	0,128**	0,148**
HCT	0,132**	0,019	0,037

Mjereni parametri	Ukupan broj donacija	Broj davanja krvi u godinu dana	Broj davanja krvi u 2 godine
MCV	-0,021	-0,163**	-0,171**
MCH	-0,051	-0,223**	-0,201**
MCHC	-0,072*	-0,213**	-0,147**
RDW	0,099**	0,353**	0,314**
Serumsko željezo	-0,022	-0,084*	-0,07
TIBC	0,070	0,224**	0,233**
UIBC	0,065	0,214**	0,212**

\*\*P< 0,001 \*P<0,05

CCI = kombinirani stanični indeks, Hgb = hemoglobin, RBC = broj eritrocita, HCT = hematokrit, MCV = prosječni volumen eritrocita, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, TIBC = ukupni kapacitet vezanja željeza, UIBC = nezasićeni kapacitet vezanja željeza, ITM = indeks tjelesne mase

Tablice 17. i 18. prikazuju parcijalne korelacije za muškarce i žene u kojima se, pored prethodno uključenih varijabli, dodatno uvela kontrola na broj davanja krvi u dvije godine, a uspoređivani su međusobno svi mjerni parametri. Nađena je značajna povezanost između većine mjernih parametara, što ne iznenađuje obzirom na njihovu međosobnu ovisnost. Kod muškaraca je izostao statistički značaj povezanosti hematokrita s feritinom, CCI, MCH, RDW i UIBC, hemoglobina i TIBC, eritrocita i serumskog željeza. Kod žena je izostao statistički značaj povezanosti broja eritrocita s feritinom, saturacijom transferina i serumskim željezom, te hematokrita i TIBC.

Tablica 17. Parcijalne korelacije kontrolirane na ITM, dob, pušenje, bavljenje sportom, konzumaciju alkohola i mesa te broj davanja krvi u dvije godine u muškaraca

Parametar	Feritin	CCI	Saturaci- ja transf.	Hgb	RBC	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	Serumsko željezo	TIBC	UIBC
Feritin	1	-0,243**	0,211**	0,128**	-0,100**	0,027	0,198**	0,271**	0,213**	-0,179**	0,159**	-0,176**	-0,245**
CCI	-0,243**	1	-0,326**	-0,284**	0,475**	-0,030	-0,766**	-0,891**	-0,541**	0,799**	-0,285**	0,265**	0,401**
Saturacija	0,211**	-0,326**	1	0,170**	-0,094**	0,083**	0,256**	0,305**	0,190**	-0,264**	0,933**	-0,264**	-0,854**
Hgb	0,128**	-0,284**	0,170**	1	0,642**	0,885**	0,152**	0,252**	0,255**	-0,257**	0,189**	-0,011	-0,141**
RBC	-0,100**	0,475**	-0,094**	0,642**	1	0,772**	-0,547**	-0,576**	-0,261**	0,195**	-0,050	0,162**	0,158**
HCT	0,027	-0,030	0,083**	0,885**	0,772**	1	0,106**	-0,029	-0,221**	0,003	0,119**	0,086**	-0,019
MCV	0,198**	-0,766**	0,256**	0,152**	-0,547**	0,106**	1	0,860**	0,104**	-0,283**	0,238**	-0,133**	-0,268**
MCH	0,271**	-0,891**	0,305**	0,252**	-0,576**	-0,029	0,860**	1	0,595**	-0,506**	0,272**	-0,211**	-0,350**
MCHC	0,213**	-0,541**	0,190**	0,255**	-0,261**	-0,221**	0,104**	0,595**	1	-0,550**	0,152**	-0,205**	-0,262**
RDW	-0,179**	0,799**	-0,264**	-0,257**	0,195**	0,003	-0,283**	-0,506**	-0,550**	1	-0,221**	0,256**	0,349**
Ser.željezo	0,159**	-0,285**	0,933**	0,189**	-0,050	0,119**	0,238**	0,272**	0,152**	-0,221**	1	0,063*	-0,654**
TIBC	-0,176**	0,265**	-0,264**	-0,011	0,162**	0,086**	-0,133**	-0,211**	-0,205**	0,256**	0,063*	1	0,714**
UIBC	-0,245**	0,401**	-0,854**	-0,141**	0,158**	-0,019	-0,268**	-0,350**	-0,262**	0,349**	-0,654**	0,714**	1

\*\* Korelacija je značajna na razini  $P < 0,001$

\* Korelacija je značajna na razini  $P < 0,05$

CCI = kombinirani stanični indeks, Hgb = hemoglobin, RBC = broj eritrocita, Saturacija transf. = saturacija transferina, HCT = hematokrit, MCV = prosječni volumen eritrocita, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, TIBC = ukupni kapacitet vezanja željeza, UIBC = nezasićeni kapacitet vezanja željeza, ITM = indeks tjelesne mase

Tablica 18. Parcijalne korelacije kontrolirane na ITM, dob, pušenje, bavljenje sportom, konzumaciju alkohola i mesa, menstruaciju te broj davanja krvi u dvije godine u žena

Parametar	Feritin	CCI	Saturacija transfer.	Hgb	RBC	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	Serumsko željezo	TIBC	UIBC
Feritin	1	-0,419**	0,318**	0,278**	-0,058	0,155**	0,295**	0,372**	0,310**	-0,430**	0,246**	-0,315**	-0,379**
CCI	-0,419**	1	-0,393**	-0,404**	0,398**	-0,162**	-0,816**	-0,905**	-0,589**	0,864**	-0,338**	0,368**	0,473**
Saturacija	0,318**	-0,393**	1	0,290**	-0,045	0,193**	0,324**	0,365**	0,247**	-0,336**	0,944**	-0,400**	-0,865**
Hgb	0,278**	-0,404**	0,290**	1	0,605**	0,909**	0,324**	0,376**	0,270**	-0,335**	0,276**	-0,161**	-0,285**
RBC	-0,058	0,398**	-0,045	0,605**	1	0,757**	-0,456**	-0,501**	-0,313**	0,211**	-0,016	0,120**	0,097**
HCT	0,155**	-0,162**	0,193**	0,909**	0,757**	1	0,226**	0,101**	-0,154**	-0,108**	0,199**	-0,064	-0,168**
MCV	0,295**	-0,816**	0,324**	0,324**	-0,456**	0,226**	1	0,891**	0,249**	-0,462**	0,289**	-0,262**	-0,367**
MCH	0,372**	-0,905**	0,365**	0,376**	-0,501**	0,101**	0,891**	1	0,661**	-0,615**	0,317**	-0,313**	-0,420**
MCHC	0,310**	-0,589**	0,247**	0,270**	-0,313**	-0,154**	0,249**	0,661**	1	-0,554**	0,203**	-0,232**	-0,292**
RDW	-0,430**	0,864**	-0,336**	-0,335**	0,211**	-0,108**	-0,462**	-0,615**	-0,554**	1	-0,276**	0,355**	0,427**
Ser.željezo	0,246**	-0,338**	0,944**	0,276**	-0,016	0,199**	0,289**	0,317**	0,203**	-0,276**	1	-0,114**	-0,691**
TIBC	-0,315**	0,368**	-0,400**	-0,161**	0,120**	-0,064	-0,262**	-0,313**	-0,232**	0,355**	-0,114**	1	0,797**
UIBC	-0,379**	0,473**	-0,865**	-0,285**	0,097**	-0,168**	-0,367**	-0,420**	-0,292**	0,427**	-0,691**	0,797**	1

\*\* Korelacija je značajna na razini  $P < 0,001$

CCI = kombinirani stanični indeks, Saturacija transf. = saturacija transferina, Hgb = hemoglobin, RBC = broj eritrocita, HCT = hematokrit, MCV = prosječni volumen eritrocita, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, TIBC = ukupni kapacitet vezanja željeza, UIBC = nezasićeni kapacitet vezanja željeza, ITM = indeks tjelesne mase

#### **4.12. Rezultati procjene dijagnostičke učinkovitosti testova u detekciji deplecije željeza analizom ROC uz izračun AUC i indeksa Youden**

Tablica 19. prikazuje vrijednosti AUC za testove korištene u predikciji deplecije željeza (feritin <12 µg/L). Iz tablice je vidljiva predominantna vrijednost indeksa CCI u procjeni deplecije zaliha željeza.

Tablica 20. prikazuje vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti pri „idealnim“ i pri kliničkim graničnim vrijednostima za parametre eritrocitne krvne slike koji su korišteni u procjeni deplecije zaliha željeza. Indeks Youden korišten je za procjenu izvedbe dijagnostičkog testa i definiranju njegove maksimalne potencijalne učinkovitosti, pomoću osjetljivosti i specifičnosti prikazane za granične vrijednosti te one koje su prihvaćene u kliničko-laboratorijskoj dijagnostici, uključujući i 95% CI



Tablica 19. AUC s 95% CI za testove korištene u predikciji deplecije željeza (feritin <12 µg/L)

Parametar	SVI DDK	MUŠKI DAVATELJI				ŽENSKI DAVATELJI			
		0 donac. /2 god.	1-4 donac. /2 god.	5-8 donac. /2 god.	SVI MUŠKI	0 donac. /2 god.	1-3 donac. /2 god.	4-6 donac. /2 god.	SVE ŽENE
CCI	0,903	Nije bilo DDK s feritinom <12µg/L	0,989	0,931	0,961	0,855	0,840	0,874	0,864
	0,893-0,914		0,961-1,000	0,915-0,948	0,943-0,978	0,819-0,891	0,811-0,868	0,854-0,893	0,845-0,883
RDW	0,900		0,977	0,884	0,936	0,817	0,829	0,884	0,856
	0,816-0,983		0,850-1,000	0,787-0,981	0,835-1,000	0,715-0,920	0,746-0,913	0,794-0,975	0,773-0,939
Hgb	0,876		0,575	0,901	0,847	0,695	0,796	0,806	0,784
	0,801-0,949		0,534-0,616	0,819-0,982	0,774-0,920	0,612-0,779	0,716-0,876	0,720-0,892	0,702-0,865
MCH	0,855		0,986	0,920	0,941	0,797	0,802	0,833	0,821
	0,796-0,914		0,936-1,000	0,868-0,971	0,887-0,996	0,737-0,857	0,739-0,866	0,770-0,896	0,757-0,884
MCHC	0,818	0,964	0,873	0,909	0,704	0,749	0,779	0,758	
	0,738-0,898	0,879-1,000	0,800-0,947	0,830-0,987	0,635-0,773	0,667-0,831	0,706-0,851	0,686-0,830	
MCV	0,786	0,953	0,902	0,914	0,740	0,752	0,780	0,766	
	0,750-0,821	0,923-0,982	0,869-0,935	0,881-0,947	0,702-0,778	0,713-0,792	0,742-0,818	0,729-0,803	

CCI = kombinirani stanični indeks, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, Hgb = hemoglobin, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu,

MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, MCV = prosječni volumen eritrocita

Tablica 20. Osjetljivost i specifičnost pri „idealnim“ i kliničkim graničnim vrijednostima

Tablica 20a. Osjetljivost i specifičnost pri „idealnim“ i kliničkim graničnim vrijednostima: svi davatelji

Parametar	Kriterij	SVI DAVATELJI					
		Granična vrijednost	Youden indeks	Osjetljivost	95%CI	Specifičnost	95%CI
CCI	Youden indeks	>50,6	0,687	0,863	0,833-0,899	0,825	0,806-0,845
	Ref. vrijednost	>63,1	0,353	0,382	0,290-0,481	0,971	0,964-0,979
RDW	Youden indeks	>12,4	0,688	0,870	0,842-0,906	0,818	0,798-0,838
	(HKMB)	>15,0	0,075	0,084	0,000-0,194	0,991	0,987-0,996
Hgb	Youden indeks	<142	0,595	0,847	0,821-0,881	0,748	0,725-0,772
	Ref. vrijednost	Nema jedinstvene referentne vrijednosti za muške i ženske davatelje					
MCH	Youden indeks	<28,0	0,587	0,748	0,708-0,796	0,839	0,821-0,858
	(HKMB)	<27,4	0,490	0,580	0,521-0,647	0,910	0,897-0,924
MCHC	Youden indeks	<326	0,505	0,733	0,698-0,776	0,772	0,750-0,794
	(HKMB)	<320	0,401	0,466	0,395-0,544	0,936	0,924-0,948
MCV	Youden indeks	<85,6	0,451	0,649	0,608-0,698	0,802	0,782-0,823
	(HKMB)	<83,0	0,343	0,405	0,333-0,484	0,938	0,927-0,950

HKMB = Hrvatska komora medicinskih biokemičara, CCI = kombinirani stanični indeks, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, Hgb = hemoglobin, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, MCV = prosječni volumen eritrocita, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

Tablica 20b. Osjetljivost i specifičnost pri „idealnim“ i kliničkim graničnim vrijednostima: muški davatelji

Parametar	Kriterij	MUŠKI DAVATELJI					
		Granična vrijednost	Youden indeks	Osjetljivost	95%CI	Specifičnost	95%CI
CCI	Youden indeks	>52,6	0,851	0,941	0,927-1,000	0,910	0,893-0,929
	Ref, vrijednost	>52,3	0,844	0,941	0,929-1,000	0,903	0,884-0,922
RDW	Youden indeks	>12,4	0,757	0,882	0,860-0,964	0,874	0,854-0,896
	(HKMB)	>15,0	0,111	0,118	0,000-0,358	0,993	0,989-0,999
Hgb	Youden indeks	<151	0,597	0,824	0,806-0,900	0,773	0,745-0,802
	Ref, vrijednost	<135	0,173	0,177	0,000-0,488	0,996	0,993-1,000
MCH	Youden indeks	<27,4	0,817	0,882	0,843-0,980	0,934	0,920-0,950
	(HKMB)	<27,4	0,817	0,882	0,843-0,980	0,934	0,920-0,950
MCHC	Youden indeks	<325	0,679	0,824	0,796-0,911	0,856	0,833-0,879
	(HKMB)	<320	0,600	0,647	0,557-0,796	0,953	0,941-0,967
MCV	Youden indeks	<85,0	0,729	0,882	0,865-0,959	0,846	0,823-0,870
	(HKMB)	<83,0	0,535	0,588	0,500-0,735	0,947	0,933-0,961

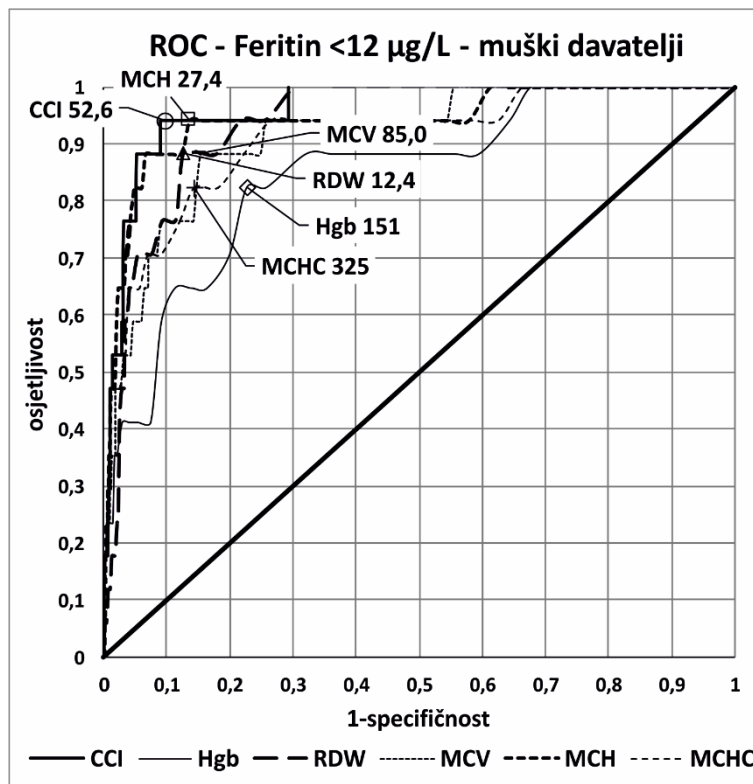
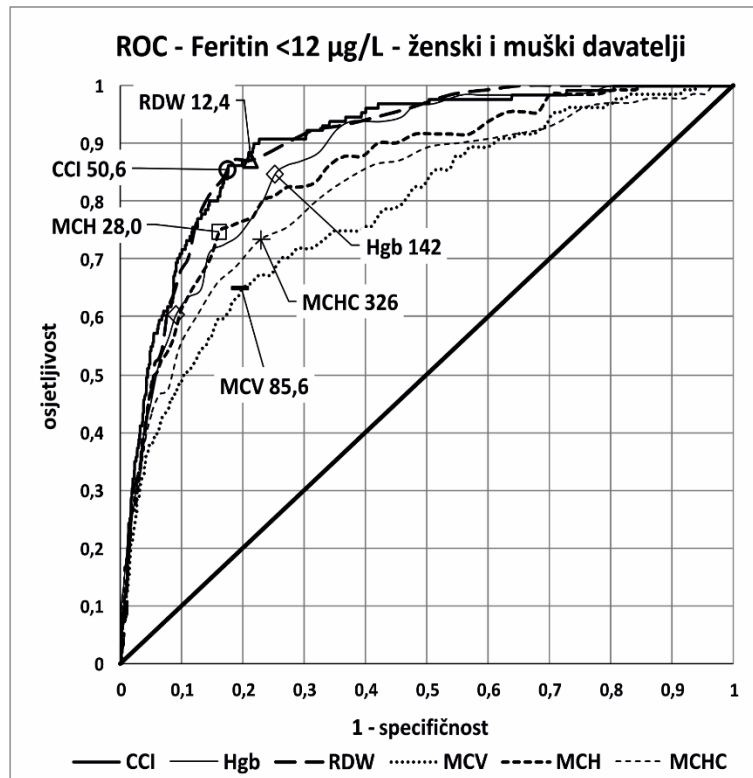
HKMB = Hrvatska komora medicinskih biokemičara, CCI = kombinirani stanični indeks, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, Hgb = hemoglobin, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, MCV = prosječni volumen eritrocita, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

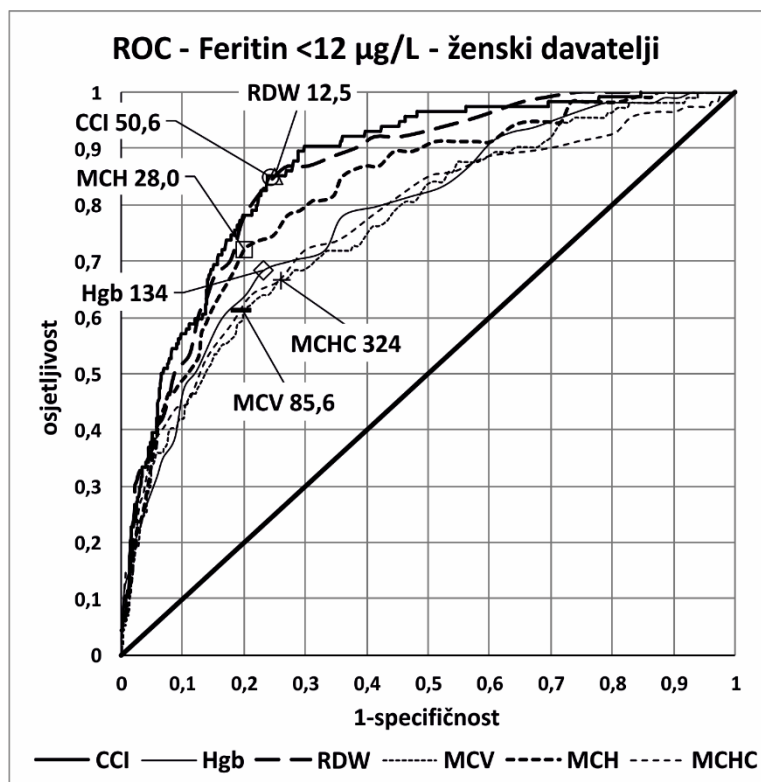
Tablica 20 c. Osjetljivost i specifičnost pri „idealnim“ i kliničkim graničnim vrijednostima: ženski davatelji

Parametar	Kriterij	ŽENSKI DAVATELJI					
		Granična vrijednost	Youden indeks	Osjetljivost	95%CI	Specifičnost	95%CI
CCI	Youden indeks	>50,6	0,612	0,851	0,812-0,899	0,761	0,726-0,798
	Ref, vrijednost	>57,3	0,471	0,570	0,490-0,659	0,901	0,879-0,925
RDW	Youden indeks	>12,5	0,600	0,851	0,813-0,898	0,749	0,713-0,787
	(HKMB)	>15,0	0,067	0,079	0,000-0,212	0,988	0,981-0,997
Hgb	Youden indeks	<134	0,453	0,684	0,629-0,748	0,768	0,734-0,804
	Ref, vrijednost	<125	0,197	0,228	0,113-0,352	0,969	0,957-0,982
MCH	Youden indeks	<28,0	0,519	0,719	0,664-0,783	0,799	0,768-0,833
	(HKMB)	<27,4	0,407	0,535	0,459-0,620	0,872	0,847-0,898
MCHC	Youden indeks	<324	0,426	0,640	0,581-0,708	0,786	0,754-0,821
	(HKMB)	<320	0,347	0,439	0,351-0,535	0,909	0,888-0,931
MCV	Youden indeks	<85,6	0,415	0,614	0,552-0,685	0,801	0,769-0,834
	(HKMB)	<83,0	0,302	0,377	0,284-0,480	0,925	0,906-0,945

HKMB = Hrvatska komora medicinskih biokemičara, CCI = kombinirani stanični indeks, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, Hgb = hemoglobin, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, MCV = prosječni volumen eritrocita, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

Slika 6 (a-c). prikazuje analizu ROC za gore navedene eritrocitne parametre, uz naznaku optimalne granične vrijednosti dobivene primjenom indeksa Youden.





Slika 6. ROC krivulje za testove predikcije niskog feritina

CCI = kombinirani stanični indeks, RDW = raspodjela eritrocita prema veličini, Hgb = hemoglobin, MCH = prosječna količina hemoglobina u eritrocitu, MCHC = prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, MCV = prosječni volumen eritrocita, ROC = Receiver Operating Characteristics

Rezultati ovog dijela studije potvrdili su zadovoljavajuću dijagnostičku vrijednost CCI u detekciji depletiranih zaliha željeza u dobrovoljnih davatelja krvi. Najviša vrijednost AUC zabilježena je za CCI, kako na ukupnoj populaciji davatelja (0,903), tako i zasebno za muškarce (0,961) i žene (0,864). Pri graničnoj vrijednosti od 52.6 za muškarce i 50.6 za žene, indeks Youden bio je najviši u oba spola u odnosu na druge promatrane parametre (0,851 za muškarce i 0,612 za žene). Nađena je visoka osjetljivost i specifičnost CCI u populaciji muških davatelja (0.941 odnosno 0.910) te nešto niža u populaciji ženskih davatelja (0.851 odnosno 0.761).

#### 4.13. Rezultati predikcije koncentracije feritina, hemoglobina, saturacije transferina i indeksa CCI u odnosu na pojedine kliničke prediktorske varijable za muške davatelje

Tablica 21. prikazuje linearni regresijski model predikcije koncentracije feritina u muškaraca. Kao najjači značajan negativan prediktor izdvaja se broj davanja krvi u zadnje dvije godine

(beta = -0,610, P<0,001), dok su od ostalih varijabli značajnu pozitivnu predikciju imali dob, ITM, pušenje i konzumacija crvenog mesa. Regresijski model je visoko značajan (P<0,001) te objašnjava 57,4% varijance zavisne varijable.

Tablica 21. Predikcija koncentracije feritina u muškaraca: linearni regresijski model

Prediktorske varijable	Standardizirani koeficijent	t	P	95% CI	
	Beta			Donji	Gornji
Broj davanja krvi u 2 godine	-0,610	-21,627	<0,001	-18,763	-15,642
DOB	0,179	5,810	<0,001	0,740	1,495
ITM	0,194	6,892	<0,001	2,716	4,878
PUŠENJE	0,057	2,240	0,025	1,219	18,450
SPORT	0,023	0,837	0,403	-3,320	8,259
ALKOHOL	0,031	1,228	0,220	-3,250	140,115
MESO učestalost	0,015	0,564	0,573	-5,589	10,096
MESO vrsta	0,055	20,119	0,034	0,557	14,506
Simptomi manjka željeza	-0,006	-0,227	0,820	-12,356	9,789

$R^2=0,574$ ;  $P<0,001$

ITM = indeks tjelesne mase, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

Tablice 22., 23. i 24. prikazuju linearne regresijske modele predikcije koncentracije hemoglobina, saturacije transferina i CCI u muškaraca. Ukupna objašnjivost zavisnih varijabli je u rasponu od 5,3% do 11,1% varijance što upućuje da oko 90% varijance zavisne varijable ne možemo objasniti ovim regresijskim modelima odnosno da još neka varijabla utječe na ove zavisne varijable.

Tablica 22. Predikcija razine hemoglobina u muškaraca: linearni regresijski model

Prediktorske varijable	Standardizirani koeficijent	t	P	95% CI	
	Beta			Donji	Gornji
Broj davanja krvi u 2 godine	-0,095	-2,826	0,005	-0,505	-0,091
DOB	-0,081	-20,197	0,028	-00,106	-0,006
ITM	0,176	5,248	<0,001	0,240	0,527
PUŠENJE	0,134	4,386	<0,001	1,412	3,699
SPORT	0,013	0,385	0,701	-0,618	0,919
ALKOHOL	0,017	0,558	0,577	-0,824	1,480
MESO učestalost	0,024	0,780	0,436	-0,627	1,454
MESO vrsta	-0,016	-0,513	0,608	-10,167	0,684
Simptomi manjka željeza	0,008	0,281	0,779	-1,259	1,680

$R^2=0,053$ ;  $P<0,001$

ITM = indeks tjelesne mase, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

Tablica 23. Predikcija saturacije transferina u muškaraca: linearni regresijski model

Prediktorske varijable	Standardizirani koeficijent	t	P	95% CI	
	Beta			Donji	Gornji
Broj davanja krvi u 2 godine	-0,205	-6,224	<0,001	-0,012	-0,006
DOB	0,061	1,695	0,090	0<0,001	0,001
ITM	-0,089	-2,699	0,007	-0,005	-0,001
PUŠENJE	0,050	1,671	0,095	-0,002	0,029
SPORT	0,079	2,447	0,015	0,003	0,023
ALKOHOL	0,074	2,456	0,014	0,004	0,035
MESO učestalost	0,058	1,903	0,057	0<0,001	0,028
MESO vrsta	-0,005	-00,178	0,858	-0,014	0,011
Simptomi manjka željeza	0,053	1,767	0,077	-0,002	0,038

$R^2=0,084$ ;  $P<0,001$

ITM = indeks tjelesne mase, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

Tablica 24. Predikcija CCI u muškaraca: linearni regresijski model

Prediktorske varijable	Standardizirani koeficijent	t	P	95% CI	
	Beta			Donji	Gornji
Broj davanja krvi u 2 godine	0,247	7,593	<0,001	0,447	0,759
DOB	-0,156	-4,382	<0,001	-00,122	-0,046
ITM	0,063	1,945	0,052	-0,001	0,215
PUŠENJE	-0,143	-4,841	<0,001	-2,982	-1,262
SPORT	-0,109	-3,400	0,001	-1,579	-0,423
ALKOHOL	-0,085	-2,871	0,004	-20,135	-0,401
MESO učestalost	0,009	0,287	0,774	-0,668	0,898
MESO vrsta	0,064	20,147	0,032	0,065	1,458
Simptomi manjka željeza	-0,020	-0,699	0,485	-1,499	0,712

$R^2=0,111$ ;  $P<0,001$

ITM = indeks tjelesne mase, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

#### 4.14. Rezultati predikcije koncentracije feritina, hemoglobina, saturacije transferina i indeksa CCI u odnosu na pojedine kliničke prediktorske varijable za ženske davatelje

Tablica 25. prikazuje predikciju razine feritina u žena. Gotovo podjednako jaki negativni prediktor kao u muškaraca bio je broj davanja krvi u zadnje dvije godine (beta = -0,361;  $P<0,001$ ), a slijedi ga količina menstruacije (beta = -0,349;  $P<0,001$ ). Ostali značajni prediktori uključuju veći ITM i konzumaciju crvenog mesa. Regresijski model je statistički značajan ( $P<0,001$ ) te objašnjava 20,6% varijance zavisne varijable.



Tablica 25. Predikcija koncentracije feritina u žena: linearni regresijski model

Prediktorske varijable	Standardizirani koeficijenti	t	P	95% CI	
	Beta			Donji	Gornji
Broj davanja krvi u 2 godine	-0,361	-9,616	<0,001	-5,736	-3,791
DOB	0,051	1,027	0,305	-0,091	0,289
ITM	0,186	5,069	<0,001	0,692	1,566
PUŠENJE	0,047	1,453	0,147	-0,932	6,245
SPORT	-0,011	-0,313	0,755	-2,668	1,935
ALKOHOL	0,002	0,074	0,941	-3,324	3,583
MESO učestalost	0,076	2,290	0,022	0,576	7,489
MESO vrsta	-0,012	-0,361	0,718	-3,535	2,437
Simptomi manjka željeza	0,006	00,192	0,848	-3,037	3,697
Količina menstruacije	-0,349	-7,922	<0,001	-11,774	-7,097

$R^2=0,206$ ;  $P<0,001$

ITM = indeks tjelesne mase, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

Tablice 26., 27. i 28. prikazuju linearne regresijske modele predikcije hemoglobina, saturacije transferina i CCI u žena.

Tablica 26. Predikcija koncentracije hemoglobina u žena: linearni regresijski model

Prediktorske varijable	Standardizirani koeficijenti	t	P	95% CI	
	Beta			Donji	Gornji
Broj davanja krvi u 2 godine	-0,028	-0,698	0,485	-0,480	0,228
DOB	0,131	2,525	0,012	0,020	0,158
ITM	0,121	30,146	0,002	0,096	0,414
PUŠENJE	0,247	70,187	<0,001	3,474	6,085
SPORT	-0,033	-0,889	0,374	-1,217	0,458
ALKOHOL	0,060	1,686	0,092	-0,178	2,335
MESO učestalost	0,049	1,418	00,157	-0,349	20,166
MESO vrsta	-0,027	-0,762	0,447	-1,508	0,665
Simptomi manjka željeza	0,018	0,532	0,595	-0,893	1,557
Količina menstruacije	-0,062	-1,342	0,180	-1,432	0,269

$R^2=0,121$ ;  $P<0,001$

ITM = indeks tjelesne mase, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

Tablica 27. Predikcija saturacije transferina u žena: linearni regresijski model

Prediktorske varijable	Standardizirani koeficijenti	t	P	95% CI	
	Beta			Donji	Gornji
Broj davanja krvi u 2 godine	-0,161	-3,892	<0,001	-0,015	-0,005
DOB	0,050	0,917	0,360	-0,001	0,001
ITM	-0,100	-2,484	0,013	-0,005	-0,001
PUŠENJE	0,033	0,912	0,362	-0,010	0,027
SPORT	0,015	0,400	0,689	-0,010	0,014
ALKOHOL	0,037	0,987	0,324	-0,009	0,027
MESO učestalost	0,024	0,671	0,502	-0,012	0,024
MESO vrsta	0,042	10,143	0,253	-0,006	0,025
Simptomi manjka željeza	-0,015	-0,415	0,678	-0,021	0,014
Količina menstruacije	-0,084	-1,728	0,084	-0,023	0,001

$R^2=0,039$ ;  $P=0,001$

ITM = indeks tjelesne mase, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

Tablica 28. Predikcija CCI u žena: linearni regresijski model

Prediktorske varijable	Standardizirani koeficijenti	t	P	95% CI	
	Beta			Donji	Gornji
Broj davanja krvi u 2 godine	0,318	80,137	<0,001	0,101	1,801
DOB	-0,119	-2,328	0,020	-0,149	-0,013
ITM	0,094	2,461	0,014	0,040	0,354
PUŠENJE	-0,180	-5,314	<0,001	-4,787	-2,204
SPORT	-0,028	-0,779	0,436	-0,157	0,500
ALKOHOL	-0,015	-0,430	0,667	-1,515	0,971
MESO učestalost	-0,073	-20,114	0,035	-2,584	-0,096
MESO vrsta	-0,010	-0,300	0,764	-1,239	0,911
Simptomi manjka željeza	0,042	1,254	0,210	-0,438	1,986
Količina menstruacije	0,180	3,941	<0,001	0,848	2,531

$R^2=0,143$ ;  $P<0,001$

ITM = indeks tjelesne mase, CI = confidence interval (stupanj pouzdanosti)

#### 4.15. Usporedba koncentracije feritina nakon ponovljenog mjerenja ovisno o broju davanja krvi

Tablica 29. prikazuje razlike koncentracije feritina nakon ponovljenog mjerenja ovisno o broju davanja krvi u muškaraca. Nije bilo značajnih razlika u koncentraciji feritina između početnog i drugog mjerenja, izuzev granične (ne)značajnosti smanjenja koncentracije feritina u

muškaraca koji su prvi put davali krv ( $P=0,068$ ). Ove razlike feritina vjerojatno bi bile značajne kada bi se uključio veći broj ispitanika u praćenje.

Tablica 29. Razlike koncentracije feritina nakon ponovljenog mjerenja ovisno o broju davanja krvi u muškaraca: Wilcoxonov test

Broj davanja krvi u 2 g MUŠKARCI	N	Min	Max	Centile			P
				25.	Medijan	75.	
0 Feritin početak	4	45	234	58,50	113,50	207,50	0,068
Feritin 2. mjerenje	4	30	137	37,50	60,50	118,00	
2 Feritin početak	2	54	66	40,50	60,00	53,25	0,655
Feritin 2. mjerenje	2	52	55	39,00	53,50	45,00	
3 Feritin početak	2	48	83	36,00	65,50	62,50	0,180
Feritin 2. mjerenje	2	41	78	30,75	59,50	58,75	
4 Feritin početak	2	20	129	15,00	74,50	98,00	0,180
Feritin 2. mjerenje	2	23	133	17,25	78,00	101,00	
5 Feritin početak	5	35	248	45,00	104,00	177,00	0,715
Feritin 2. mjerenje	5	35	313	52,50	83,00	207,50	
6 Feritin početak	1	33	33				
Feritin 2. mjerenje	1	33	33				
7 Feritin početak	6	26	106	33,50	53,50	79,75	0,588
Feritin 2. mjerenje	6	33	89	35,25	48,50	67,25	
8 Feritin početak	4	16	232	16,75	26,50	182,50	0,715
Feritin 2. mjerenje	4	19	155	21,50	41,00	129,50	

Tablica 30. prikazuje razlike u koncentraciji feritina nakon ponovljenog mjerenja ovisno o broju davanja krvi u žena. Iako je najveće smanjenje koncentracije feritina prisutno kod žena koje nikad prije nisu davale krv, značajan pad koncentracije feritina jedino je zabilježen kod žena koje su davale krv 4 puta.

Tablica 30. Razlike koncentracije feritina nakon ponovljenog mjerenja ovisno o broju davanja krvi te ukupnoj populaciji žena s ponovljenim donacijama: Wilcoxonov test

Broj davanja krvi u 2 g ŽENE	N	Min	Max	Centile			P	
				25.	Medijan	75.		
0	Feritin početak	3	31	52	31,00	48,00	52,00	0,109
	Feritin 2. mjerenje	3	7	32	7,00	18,00	32,00	
1	Feritin početak	6	9	59	11,25	23,50	56,75	0,674
	Feritin 2. mjerenje	6	10	48	10,75	30,00	45,00	
2	Feritin početak	7	10	73	11,00	18,00	55,00	0,176
	Feritin 2. mjerenje	7	10	44	11,00	15,00	42,00	
3	Feritin početak	8	10	66	13,25	33,50	43,00	0,123
	Feritin 2. mjerenje	8	8	67	9,75	25,00	39,50	
4	Feritin početak	10	11	53	20,00	30,00	39,25	0,016
	Feritin 2. mjerenje	10	9	49	12,50	22,00	29,75	
5	Feritin početak	20	10	105	20	27,5	48,5	0,601
	Feritin 2. mjerenje	20	11	121	15,25	26,5	49	
6	Feritin početak	11	8	40	16,00	20,00	31,00	0,350
	Feritin 2. mjerenje	11	11	48	14,00	18,00	21,00	

Tablica 31. prikazuje zbirne rezultate određivanja koncentracije feritina u dvije konsektivne donacije kod istih davatelja, muškaraca i žena. I dok kod muških davatelja nije bilo statistički značajne razlike između dva mjerenja, kod žena je ova razlika bila značajna uz  $P=0,002$ .

Tablica 31. Razlike koncentracije feritina nakon ponovljenog mjerenja na dvije konsektivne donacije u istih davatelja

	UKUPNO	N	Min	Max	Centile			P
					25.	Medijan	75.	
Muškarci	Feritin 1. mjerenje	26	16	248	34,75	56,00	106,00	0,097
	Feritin 2. mjerenje	26	19	313	34,50	54,00	84,50	
Žene	Feritin 1. mjerenje	65	8	105	17,50	27,00	41,50	0,002
	Feritin 2. mjerenje	65	7	121	13,00	21,00	36,50	

#### 4.16. Rezultati ispitivanja normalizacije feritina u odnosu na broj dana od zadnjeg davanja krvi prema spolu analizom ROC

Tablica 32. prikazuje stupanj normalizacije feritina u odnosu na broj dana od zadnjeg davanja krvi, prema spolu. Ako se kao potpuna normalizacija feritina definira omjer feritina kod drugog mjerenju / feritin kod prvog mjerenja  $\geq 1$  vidljivo je da najmanje 50% muškaraca taj omjer dostiže u rasponu od 120-240 dana između dva mjerenja. Nasuprot tome, kod žena niti u jednom vremenu između dva mjerenja kod 50% ispitanica ne dolazi do normalizacije feritina.

Tablica 32. Očekivana normalizacija koncentracije feritina u odnosu na broj dana od zadnjeg davanja krvi prema spolu

Broj dana od zadnjeg davanja krvi				Omjer feritina (poslije/prije)				
				Min	Max	Medijan	25. centila	75. centila
Spol	Muški	Vrijeme	$\leq 120$ dana	0,47	1,15	0,85	0,67	0,96
		između	120-240 dana	0,46	1,92	<b>1,00</b>	0,80	1,19
		dva mjerjenja	$> 240$ dana	1,00	2,79	<b>1,16</b>	1,03	2,03
	Ženski	Vrijeme	$\leq 120$ dana	0,44	1,63	0,82	0,69	1,15
		između	120-240 dana	0,15	4,03	0,95	0,62	1,11
		dva mjerjenja	$> 240$ dana	0,20	2,00	0,83	0,71	1,00

Podaci iz Tablice 32. su dodatno razrađeni u Tablici 33., gdje je prikazana korelacija normalizacije koncentracije feritina u odnosu na broj dana od zadnjeg davanja krvi, dob, ukupan broj davanja krvi i davanja krvi u zadnje dvije godine za muškarce i za žene. Jedina značajna pozitivna korelacija zabilježena je kod muškaraca između vremena proteklog između dva mjerenja i boljeg oporavka feritina:  $\rho=0,436$ ;  $P=0,026$ .

Tablica 33. Korelacija normalizacije koncentracije feritina u odnosu na broj dana od zadnjeg davanja krvi, dob, ukupan broj davanja krvi i davanja krvi u zadnje dvije godine za muškarce i za žene: Spearmanov koeficijent korelacije

Kliničke varijable	Spearmanovi koeficijenti korelacije	Omjer feritina (poslije/prije) MUŠKARCI	Omjer feritina (poslije/prije) ŽENE
Dani između 2 mjerenja	Korelacijski koeficijent	0,436	-0,028
	P	0,026	0,822
	N	26	65
Dob	Korelacijski koeficijent	0,033	0,147
	P	0,872	0,243
	N	26	65
Ukupan broj davanja krvi	Korelacijski koeficijent	0,070	0,083
	P	0,733	0,509
	N	26	65
Broj davanja krvi u 2 g	Korelacijski koeficijent	0,384	0,175
	P	0,053	0,162
	N	26	65

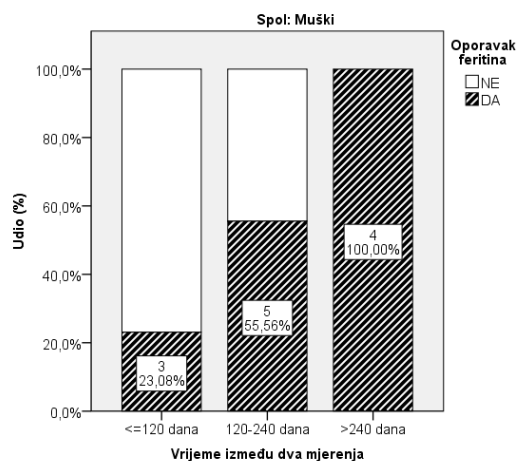
Ako promatramo očekivanu normalizaciju koncentracije feritina kao kategorijsku varijablu (ima ili nema oporavka), značajnu razliku u oporavku između muškaraca i žena vidimo tek nakon 240 dana između dva mjerenja. U svih muškaraca feritin se normalizirao, a samo u 30,8% žena (Tablica 34., Slike 7. i 8.).

Tablica 34. Očekivana normalizacija feritina kao kategorijska varijabla u odnosu na broj dana od zadnjeg davanja krvi prema spolu:  $X^2$  test

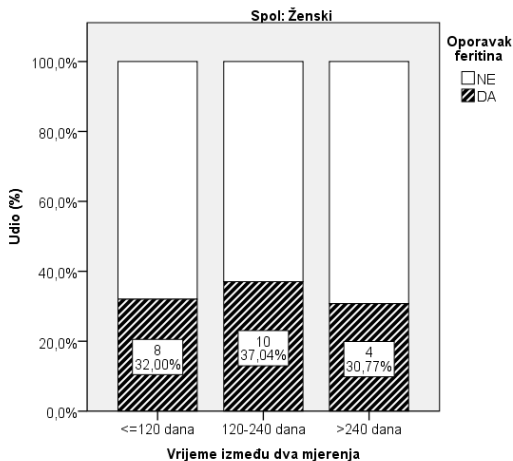
Broj dana od zadnjeg davanja krvi vs oporavak feritina				Spol			
				Muški		Ženski	
				N	%	N	%
Vrijeme između dva mjerenja	<=120 dana	Oporavak feritina	NE	10	76,9%	17	68,0%
			DA	3	23,1%	8	32,0%
	120-240 dana	Oporavak feritina	NE	4	44,4%	17	63,0%
			DA	5	55,6%	10	37,0%
	>240 dana	Oporavak feritina	NE	0	0,0%	9	69,2%
			DA	4	100,0%	4	30,8%

$X^2$ test				Spol
Vrijeme između dva mjerenja	<=120 dana	Oporavak feritina	$X^2$ test	0,331
			df	1
			P	0,565
	120-240 dana	Oporavak feritina	$X^2$ test	0,952
			df	1
			P	0,329
>240 dana	Oporavak feritina	$X^2$ test	5,885	
		df	1	
		P	<b>0,015</b>	

Slika 7. Očekivana normalizacija feritina u odnosu na broj dana od zadnjeg davanja krvi u muškaraca



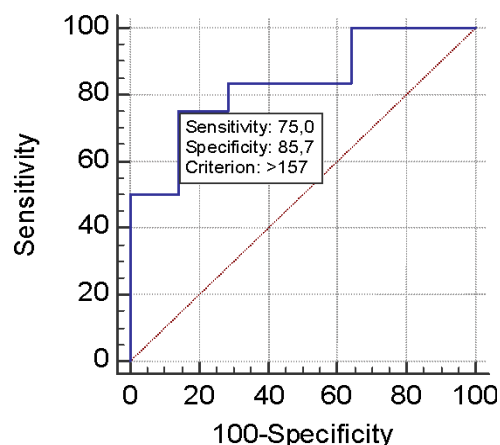
Slika 8. Očekivana normalizacija feritina u odnosu na broj dana od zadnjeg davanja krvi u žena



U Tablici 35. prikazana je analiza ROC potrebnog vremena između dvaju mjerenja koje bi odgovaralo normalizaciji feritina u muškaraca. Vrijednost veća ili jednaka 157 dana, dobivena analizom ROC koja je bila značajna (AUC=0,833; P<0,001), upućuje da normalizaciju koncentracije feritina možemo uspješno predvidjeti s osjetljivošću od 75,0% te specifičnošću od 85,7%. Prema ovim nalazima preporučeni broj davanja krvi za muškarce bio bi najviše dva puta godišnje.

Tablica 35. Predikcija normalizacije koncentracije feritina – muškarci

Area under the ROC curve (AUC)	0,833
Standardna greška	0,0829
z statistika	4,019
P	<b>&lt;0,001</b>
Youden index J	0,6071
Pridruženi kriterij	>157
Osjetljivost	75
Specifičnost	85,71



Kriterij (broj dana)	Osjetljivost	95% CI	Specifičnost	95% CI
≥87	100	73,5 - 100,0	0	0,0 - 23,2
>98	100	73,5 - 100,0	35,71	12,8 - 64,9
>112	83,33	51,6 - 97,9	35,71	12,8 - 64,9
>113	83,33	51,6 - 97,9	71,43	41,9 - 91,6
>114	75	42,8 - 94,5	71,43	41,9 - 91,6

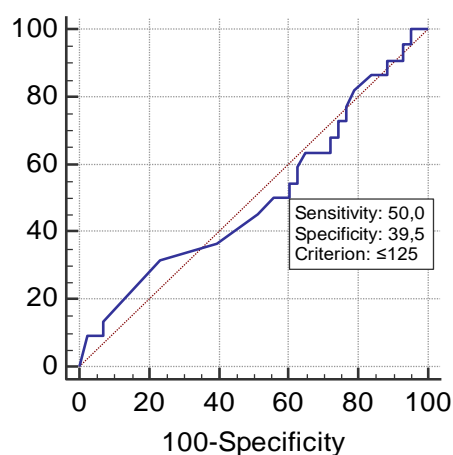


Kriterij (broj dana)	Osjetljivost	95% CI	Specifičnost	95% CI
>157	75	42,8 - 94,5	85,71	57,2 - 98,2
>170	50	21,1 - 78,9	85,71	57,2 - 98,2
>214	50	21,1 - 78,9	100	76,8 - 100,0
>280	0	0,0 - 26,5	100	76,8 - 100,0

U Tablici 36. prikazana je analiza ROC vremena između dvaju mjerenja potrebnog za normalizaciju koncentracije feritina u žena. Obzirom da se analiza ROC nije pokazala značajnom (AUC=0,504; P=0,963) kod žena na osnovi ovih podataka ne možemo predvidjeti vremenski raspon u kojem bi se između davanja krvi normalizirao serumski feritin.

Tablica 36. Predikcija oporavka feritina – žene

Area under the ROC curve (AUC)	0,504
Standardna greška	0,079
z statistika	0,047
P	0,963
<hr/>	
Youden index J	0,1047
Pridruženi kriterij	≤125
Osjetljivost	50
Specifičnost	39,53



Kriterij (broj dana)	Osjetljivost	95% CI	Specifičnost	95% CI
<113	0	0,0 - 15,4	100	91,8 - 100,0
≤113	9,09	10,1 - 29,2	97,67	87,7 - 99,9
≤115	9,09	10,1 - 29,2	93,02	80,9 - 98,5
≤118	13,64	2,9 - 34,9	93,02	80,9 - 98,5
≤119	31,82	13,9 - 54,9	76,74	61,4 - 88,2
≤120	36,36	17,2 - 59,3	60,47	44,4 - 75,0
≤122	45,45	24,4 - 67,8	48,84	33,3 - 64,5
≤123	50	28,2 - 71,8	44,19	29,1 - 60,1
≤125	50	28,2 - 71,8	39,53	25,0 - 55,6
≤127	54,55	32,2 - 75,6	37,21	23,0 - 53,3
≤131	59,09	36,4 - 79,3	37,21	23,0 - 53,3
≤134	63,64	40,7 - 82,8	34,88	21,0 - 50,9
≤137	63,64	40,7 - 82,8	27,91	15,3 - 43,7
≤140	68,18	450,1 - 860,1	27,91	15,3 - 43,7
≤146	68,18	450,1 - 860,1	25,58	13,5 - 41,2
≤147	72,73	49,8 - 89,3	25,58	13,5 - 41,2
≤157	72,73	49,8 - 89,3	23,26	11,8 - 38,6
≤209	77,27	54,6 - 92,2	23,26	11,8 - 38,6
≤242	86,36	650,1 - 970,1	16,28	6,8 - 30,7
≤245	86,36	650,1 - 970,1	11,63	3,9 - 250,1

Kriterij (broj dana)	Osjetljivost	95% CI	Specifičnost	95% CI
≤248	90,91	70,8 - 98,9	11,63	3,9 - 250,1
≤252	90,91	70,8 - 98,9	6,98	1,5 - 190,1
≤259	95,45	77,2 - 99,9	4,65	0,6 - 15,8
≤274	100	84,6 - 100,0	4,65	0,6 - 15,8
≤369	100	84,6 - 100,0	0	0,0 - 8,2

#### 4.17. Odnos depletiranih zaliha željeza i pojedinih kategorijskih varijabli za muškarce i žene

Međuodnos depletiranih zaliha željeza (prema feritinu) i pojedinih kategorijskih varijabli za muškarce i žene prikazan je u Tablicama 37. i 38. Učestalost davanja krvi pokazala se statistički značajnom prediktorskom varijablom za depleciju zaliha željeza u oba spola, a dodatno je kod žena značajnost dosegnuta i za naviku pušenja te količinu menstrualnog krvarenja.

Tablica 37. Depletirane zalihe željeza (feritin < 12 µg/L) kod muškaraca u odnosu na promatrane kliničke parametre: X<sup>2</sup> test

Prediktorske varijable	Muški davatelji				
	Depletirane zalihe željeza				
	Ne		Da (feritin < 12 µg/L)		
	N	%	N	%	
Broj davanja krvi u 2 godine**	0	213	20,0%	0	0,0%
	1	106	9,9%	0	0,0%
	2	104	9,7%	1	5,9%
	3	107	10,0%	0	0,0%
	4	109	10,2%	2	11,8%
	5	100	9,4%	0	0,0%
	6	109	10,2%	4	23,5%
	7	119	11,2%	9	52,9%
	8	100	9,4%	1	5,9%
PUŠENJE	Ne	767	71,9%	14	82,4%
	Da	300	28,1%	3	17,6%
SPORT	Ne	188	17,6%	5	29,4%
	Povremeno	452	42,4%	9	52,9%
	Da	427	40,0%	3	17,6%
ALKOHOL	Ne	293	27,5%	4	23,5%
	Da	774	72,5%	13	76,5%
MESO učestalost	Nikada	11	1,0%	1	5,9%
	Dva do tri puta tjedno	520	48,9%	10	58,8%
	Svakodnevno	533	50,1%	6	35,3%

Prediktorske varijable		Muški davatelji			
		Depletirane zalihe željeza			
		Ne		Da (feritin <12 µg/L)	
		N	%	N	%
MESO vrsta	Bijelo	169	16,0%	4	25,0%
	Podjednako	727	68,8%	9	56,3%
	Crveno	160	15,2%	3	18,8%
Simptomi manjka željeza	Ne	917	85,9%	14	82,4%
	Da	150	14,1%	3	17,6%

\*\*P<0,001

Tablica 38. Depletirane zalihe željeza (feritin <12 µg/L) kod žena u odnosu na promatrane kliničke parametre: X<sup>2</sup> test

Prediktorske varijable		Ženski davatelji			
		Depletirane zalihe željeza			
		Ne		Da (feritin <12 µg7L)	
		N	%	N	%
Davanje krvi u 2 godine**	0	195	28,8%	14	12,3%
	1	100	14,7%	18	15,8%
	2	87	12,8%	19	16,7%
	3	80	11,8%	23	20,2%
	4	87	12,8%	17	14,9%
	5	81	11,9%	16	14,0%
	6	48	7,1%	7	6,1%
PUŠENJE*	Ne	454	67,0%	88	77,2%
	Da	224	33,0%	26	22,8%
SPORT	Ne	230	33,9%	37	32,5%
	Povremeno	265	39,1%	41	36,0%
	Da	183	27,0%	36	31,6%
ALKOHOL	Ne	350	51,6%	56	49,1%
	Da	328	48,4%	58	50,9%
MESO učestalost	Nikada	15	2,2%	1	,9%
	Dva do tri puta tjedno	394	58,3%	72	63,2%
	Svakodnevno	267	39,5%	41	36,0%
MESO vrsta	Bijelo	191	28,8%	37	32,7%
	Podjednako	420	63,3%	66	58,4%
	Crveno	52	7,8%	10	8,8%
Simptomi manjka željeza	Ne	398	58,7%	56	49,1%
	Da	280	41,3%	58	50,9%
Količina menstrualnog krvarenja**	Nema	208	30,7%	13	11,4%
	Slabo	68	10,0%	9	7,9%
	Prosječno	363	53,5%	79	69,3%
	Jako	39	5,8%	13	11,4%

\*P<0,05; \*\*P<0,001

#### 4.18. Rezultati analize ROC predikcije smanjenja koncentracije feritina za muškarce i žene ovisno o broju davanja krvi u godini dana

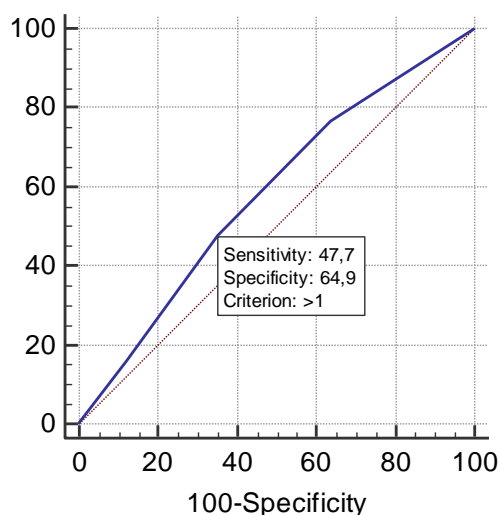
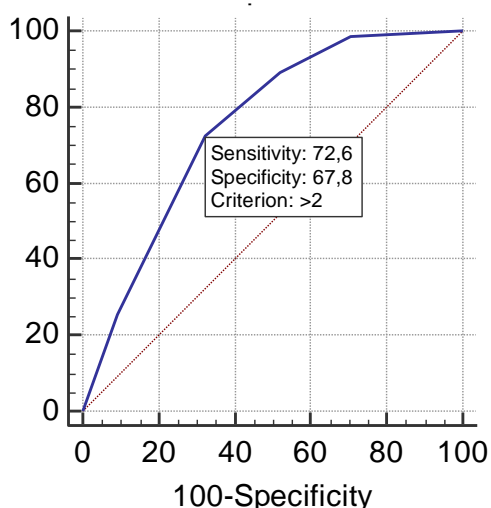
Tablice 39. i 40. prikazuju analizu ROC predikcije smanjenja koncentracije feritina ispod 30  $\mu\text{g/L}$  u muškaraca i ispod 15  $\mu\text{g/L}$  u žena, ovisno o broju davanja krvi u godini dana. Objе analize ROC su statistički značajne i upućuju da se u više od dva davanja krvi predviđa manjak feritina s osjetljivošću od 72,6% i specifičnošću od 67,8% u muškaraca, dok je kod žena osjetljivost predikcije 47,7%, a specifičnost 64,9% za više od jedne donacije godišnje.

Tablica 39. Analiza ROC broja davanja krvi u godini dana u predikciji koncentracije feritina <30  $\mu\text{g/L}$  za muškarce

Area under the ROC curve (AUC)	0,751
Standardna greška z statistika	0,0168
P	<0,0001
Youden index J	0,4041
Pridruženi kriterij	>2
Osjetljivost	72,62
Specifičnost	67,79

Tablica 40. Analiza ROC broja davanja krvi u godini dana u predikciji koncentracije feritina <15  $\mu\text{g/L}$  za žene

Area under the ROC curve (AUC)	0,581
Standardna greška z statistika	0,0222
P	<b>0,0002</b>
Youden index J	0,1295
Pridruženi kriterij	>1
Osjetljivost	47,72
Specifičnost	64,87



#### 4.19. Odnos smanjenih zaliha željeza procijenjeno smanjenom saturacijom transferina i pojedinih kategorijskih varijabli za muškarce i žene

Međuodnos smanjene saturacije transferina (<16%) i pojedinih kategorijskih varijabli za muškarce i žene prikazan je u Tablicama 41. i 42. Učestalost davanja krvi pokazala se statistički značajnom prediktorskom varijablom za nisku saturaciju transferina u oba spola, a dodatno je kod žena značajnost doseguta i za naviku pušenja te količinu menstrualnog krvarenja.

Tablica 41. Smanjene zalihe željeza (saturacija transferina <16%) kod muškaraca u odnosu na promatrane kliničke vrijednosti: X<sup>2</sup> test

Prediktorske varijable	Muški davatelji				
	Smanjene zalihe željeza: saturacija				
	Ne		Da (saturacija <16)		
	N	%	N	%	
Broj davanja krvi u 2 godine**	0	211	20,4%	2	4,1%
	1	104	10,0%	2	4,1%
	2	100	9,7%	5	10,2%
	3	101	9,8%	6	12,2%
	4	106	10,2%	5	10,2%
	5	97	9,4%	3	6,1%
	6	105	10,1%	8	16,3%
	7	117	11,3%	11	22,4%
	8	94	9,1%	7	14,3%
PUŠENJE	Ne	744	71,9%	37	75,5%
	Da	291	28,1%	12	24,5%
SPORT	Ne	182	17,6%	11	22,4%
	Povremeno	430	41,5%	31	63,3%
	Da	423	40,9%	7	14,3%
ALKOHOL	Ne	279	27,0%	18	36,7%
	Da	756	73,0%	31	63,3%
MESO učestalost	Nikada	11	1,1%	1	2,0%
	Dva do tri puta tjedno	505	48,9%	25	51,0%
	Svakodnevno	516	50,0%	23	46,9%
MESO vrsta	Bijelo	168	16,4%	5	10,4%
	Podjednako	701	68,5%	35	72,9%
	Crveno	155	15,1%	8	16,7%
Simptomi anemije	Ne	885	85,5%	46	93,9%
	Da	150	14,5%	3	6,1%

\*\*P<0,001

Tablica 42. Smanjene zalihe željeza (saturacija transferina <16%) kod žena u odnosu na promatrane kliničke vrijednosti: X<sup>2</sup> test

Prediktorske varijable		Ženski davatelji			
		Smanjene zalihe željeza: saturacija			
		Ne		Da (saturacija <16)	
		N	%	N	%
Broj davanja krvi u 2 godine*	0	188	27,6%	21	18,9%
	1	99	14,5%	19	17,1%
	2	91	13,4%	15	13,5%
	3	84	12,3%	19	17,1%
	4	91	13,4%	13	11,7%
	5	80	11,7%	17	15,3%
	6	48	7,0%	7	6,3%
PUŠENJE*	Ne	460	67,5%	82	73,9%
	Da	221	32,5%	29	26,1%
SPORT	Ne	226	33,2%	41	36,9%
	Povremeno	263	38,6%	43	38,7%
	Da	192	28,2%	27	24,3%
ALKOHOL	Ne	350	51,4%	56	50,5%
	Da	331	48,6%	55	49,5%
MESO učestalost	Nikada	14	2,1%	2	1,8%
	Dva do tri puta tjedno	393	57,9%	73	65,8%
	Svakodnevno	272	40,1%	36	32,4%
MESO vrsta	Bijelo	189	28,3%	39	35,8%
	Podjednako	426	63,9%	60	55,0%
	Crveno	52	7,8%	10	9,2%
Simptomi anemije	Ne	393	57,7%	61	55,0%
	Da	288	42,3%	50	45,0%
Količina menstruacije**	Nema	204	30,0%	17	15,3%
	Slabo	71	10,4%	6	5,4%
	Prosječno	363	53,3%	79	71,2%
	Jako	43	6,3%	9	8,1%

\*P<0,05; \*\*P<0,001

#### 4.20. Rezultati korelacije konzumacije prehrambenih namirnica i vitamina s koncentracijom serumskog željeza za muškarce i žene

Tablica 43. prikazuje korelacije između konzumacije prehrambenih namirnica i vitamina s koncentracijom serumskog željeza kod muškaraca i žena. Ni u jednom izdvojenom primjeru nije bilo značajnih povezanosti između koncentracije serumskog željeza i konzumacije pojedinih vitaminskih sokova i preparata.

Tablica 43. Korelacije prehrambenih namirnica i vitamina s razinom serumskog željeza kod muškaraca i žena

Kendall's tau_b		Serumsko željezo MUŠKARCI	Serumsko željezo ŽENE
Današnji obrok	Korelacijski koeficijent	-0,023	-0,007
	P	0,460	0,850
	N	1019	777
Vitaminski Sokovi	Korelacijski koeficijent	-0,026	-0,031
	P	0,407	0,396
	N	1015	776
Sokovi bogati željezom	Korelacijski koeficijent	-0,011	-0,010
	P	0,675	0,748
	N	1022	781
Vitaminski preparati sa željezom	Korelacijski koeficijent	-0,055	0,010
	P	0,084	0,773
	N	1007	772

## 5. RASPRAVA

Transfuzijsko liječenje ima poseban položaj u sustavu zdravstva. Krv je lijek čiji je izvor davatelj krvi. Zbog biološkog porijekla i ograničenih rezervi, krv predstavlja nacionalni resurs. Zbog toga je racionalno, odgovorno i stručno upravljanje ovim resursom imperativ za sve uključene u proces transfuzijskog liječenja. Pri tome postoji odgovornost kako prema davateljima krvi tako i prema bolesnicima koji trebaju transfuzijsko liječenje.

Uspješnost ostvarenja ovih zahtjeva ovisi prije svega o poznavanju i razumijevanju složenih odnosa ponude i potražnje za krvnim pripravcima, mogućnostima transfuzijske službe da osigura dovoljan broj davatelja krvi, transfuzijskoj praksi u bolnicama te sposobnostima i vještini u upravljanju zalihama temeljem kontinuiranog prikupljanja i obrade relevantnih podataka.

Još od 1980-tih godina ustanove koje prikupljaju krv bile su usmjerene na dva područja djelatnosti: unaprijeđenje sigurnosti krvnih pripravaka i osiguranje dovoljnih zaliha krvi za transfuzijsko liječenje (159). Kako je ogroman napredak posljednjih destljeća učinjen na području sigurnosti krvnih pripravaka, sve više dolazi u fokus interesa dobrobit i sigurnost davatelja. Upravo iz ovih razloga, negativan učinak davanja krvi na zalihe željeza u organizmu davatelja, iako prepoznat još prije puno godina, postaje jedna od vodećih tema u transfuzijskoj medicini. Upravo je ova činjenica bila povod odabiru ove teme za doktorsku disertaciju.

U našoj studiji sudjelovalo je ukupno 1.084 muškarca i 792 žene. U općoj populaciji davatelja, međutim, udio žena je značajno manji. U 2014. godini 15,9% donacija prikupljeno je od ženskih davatelja (103). Studija iz 2010. godine (160), kojom je ispitivana razdioba davatelja prema spolu, pokazala je kako su u mnogim zemljama Europe podjednako među davateljima krvi zastupljeni muškarci i žene, s izuzetkom Italije koja ima svega 30% ženskih davatelja. Slična je situacija i u Grčkoj sa oko 33% ženskih davatelja. Nasuprot tome, autori navode kako je učestalost ženskih davatelja u Španjolskoj 46%, u Portugalu 43%, Belgiji 45%, Nizozemskoj 50%, Danskoj 50%, Francuskoj 50%, Velikoj Britaniji 53% i Finskoj 55%. Podaci o spolnoj razdiobi davatelja od iznimne su važnosti za pravilnu interpretaciju rezultata studija koje su usmjerene na procjenu zaliha željeza kod davatelja, zbog utjecaja bioloških razlika između muškaraca i žena koje utječu na status željeza, učestalost nuspojava i odbijanja davatelja krvi itd. Posredno je ova informacija važna i zbog donošenja strategija o prevenciji deficita željeza (opseg i frekvencija dodatnih testova, preusmjeravanje u program afereza, nadoknada željeza i sl.).



Određivanje koncentracije hemoglobina od kritičnog je značaja u postupku odabira davatelja. Točnost i pouzdanost dobivenih rezultata preduvjet je zaštite zdravlja davatelja i garancija dostatnog sadržaja hemoglobina u dozi krvi. Sukladno zakonskim propisima u EU, koncentracija hemoglobina mora biti najmanje 125 g/L za žene i najmanje 135 g/L za muškarce. Nakon donacije od 450 mL krvi, muški davatelji gube  $242 \pm 17$  mg a žene  $217 \pm 11$  mg željeza (161).

Svim ispitanicima uključenim u ovu studiju hemoglobin je u postupku odabira određivan semikvantitativnom metodom pomoću modre galice koja se tradicionalno koristi u HZTM. Tijekom godina ispitivana je u nekoliko navrata prikladnost njezine uporabe u odnosu na druge dostupne metode. Još je 1998. godine uspoređivana u odnosu na metodu HemoCue (HemoCue AB, Ängelholm, Švedska) i zlatni standard određivanja hemoglobina iz uzoraka venske krvi (162). Zaključak studije bio je kako metoda modre galice pruža zadovoljavajuće rezultate, uz niske troškove. Posljednjih godina sve se više pojavljuju na tržištu različite metode tzv. neinvazivnog određivanja hemoglobina. U HZTM su do sada ispitane metode Hemospect (MBR Optical Systems, Wuppertal, Njemačka) i OrSense (OrSense ltd, NesZiona, Izrael), ali konačna odluka o njihovoj primjeni nije donesena. Razlog tome su ponekad značajne varijacije u vrijednostima hemoglobina dobivenim navedenim metodama i standardnog određivanja hemoglobina iz uzorka venske krvi. U Irskoj je tako donesena odluka o prekidu korištenja metode Hemospect nakon što je dokazano kako su njenom primjenom krv dali i davatelji s anemijom. Sve ovo govori o potrebi brižne validacije metoda za određivanje statusa željeza radi sigurnosti davatelja. U 2014. godini većina centara u RH koristila je metodu modre galice (83% davatelja), a značajno manje su bile u primjeni metode Hemospect (14% davatelja) i HemoCue (3%). Metoda Hemospect korištena je samo u jednom centru, ali je nakon utvrđenih problema s osjetljivošću i specifičnošću ukinuta. Slično je zabilježeno i u Austriji, čiji su se centri nakon uočenih problema s korištenjem metode Hemospect odlučili vratiti na korištenje invazivnih metoda (125).

Tijekom 2014. godine u HZTM je zbog smanjene koncentracije hemoglobina odbijeno 6,34% davatelja. Značajno je više odbijeno žena (18,4%) u usporedbi s muškarcima (3,5%). Ovi rezultati usporedivi su s onima iz studije RISE provedene u SAD, prema kojoj je ukupno odbijeno 9,9% davatelja, od čega 17,7% žena i 1,6% muškaraca (111). U usporedbi s drugim zemljama članicama EU, Hrvatska ima visoki udio odbijenih davatelja zbog smanjene koncentracije hemoglobina. Podaci Internacionalnog foruma o ispitivanju statusa željeza u davatelja krvi pokazali su kako između 13 zemalja koje su prijavile udio odbijenih davatelja u

oba spola, Hrvatska ima najveći udio odbijenih, kako muških tako i ženskih davatelja (odbijanja na broj pristupanja davanju krvi) (125).

Razlike u rezultatima određivanja hemoglobina kod davatelja postoje između pojedinih zemalja ili centara i ovise o primjenjenoj metodologiji, tipu uzorka i dr. Brojnim su studijama dokazane razlike u koncentraciji hemoglobina izmjerenoj u venskoj krvi i kapilarnoj krvi. Tako su npr. Cable RG i suradnici pokazali (163) kako su koncentracije u kapilarnoj krvi veće nego u venskoj krvi i to u većem dijelu kliničkog raspona, ali niže u nižem dijelu raspona. Ovaj odnos varirao je prema spolu i statusu željeza. Kod žena je koncentracija hemoglobina u venskoj krvi bila za 5 – 8 g/L manja u usporedbi s muškarcima iste koncentracije kapilarnog hemoglobina i statusa željeza. Slično, davatelji s depletiranim zalihama željeza imali su prosječno za 3 – 11 g/L manji hemoglobin nego davatelji s repletiranim zalihama željeza istog spola i istog hemoglobina iz kapilarne krvi. Muški davatelji s repletiranim zalihama željeza s hemoglobinom oko donje granične referentne vrijednosti imali su prihvatljivi očekivani sadržaj hemoglobina u venskoj krvi, dok je kod ženskih davatelja s praznim zalihama željeza i hemoglobinom na donjoj granici referentne vrijednosti u kapilarnoj krvi, očekivana koncentracija hemoglobina bila ispod granice od 125 g/L.

U ovoj studiji zabilježena su znatno manja odstupanja između kapilarne i venske krvi, iako je korištena metoda modre galice. Naime, svega 7 od 1.084 muških davatelja (0,65%) imalo je u venskoj krvi hemoglobin manji od 135 g/L, a u populaciji ženskih davatelja 47 od 792 (5,93%) imalo je hemoglobin manji od 125 g/L. Ovi rezultati potvrđuju opažanje kako su odstupanja između venske krvi i kapilarne krvi veća pri nižim vrijednostima hemoglobina. Ipak, većina odstupanja bila je niske razine (unutar 3% odnosno 4 g/L kod svih 7 muškaraca i kod 35/47 ili 74% žena). Unatoč tome, ovi rezultati upućuju na potrebu uvođenja kvantitativne metode određivanja koncentracije hemoglobina, kako bi se mjerodavnije procijenio stupanj deficita, potreba dodatnog testiranja te omogućilo adekvatno savjetovanje davatelja sa sniženim koncentracijama hemoglobina.

Od 1.084 muškarca iz ove studije, njih 17 (1,57%) imalo je depletirane zalihe željeza (ferritin <12 µg/L). Od 792 žene, njih 114 (14,4%) imalo je depletirane zalihe željeza. U studiji RISE od svih žena s depletiranim zalihama željeza, njih 40,2% doniralo je krv s hemoglobinom ispod 125 g/L. Od muškaraca s depletiranim zalihama željeza, 24,6% imalo je hemoglobin manji od 125 g/L (u SAD standard za muškarce i žene je isti, 125 g/L). U našoj studiji 22,8% žena s depletiranim zalihama željeza imalo je venski hemoglobin manji od 125 g/L (26/114) a 17,6% muškaraca s depletiranim zalihama željeza hemoglobin manji od 135 g/L (3/17).

Već i ovi podaci sugeriraju kako je određivanje samo hemoglobina male osjetljivosti i specifičnosti u procjeni zaliha željeza i otkriva samo simptomatski manjak željeza, odnosno anemiju. Davatelji koji imaju zadovoljavajuću koncentraciju hemoglobina temeljem koje im je dozvoljeno davanje krvi često međutim imaju subklinički deficit željeza. Baart i suradnici ovo su dokazali u populaciji nizozemskih davatelja mjerenjem različitih parametara. Uz ZPP graničnu vrijednost od najmanje 100  $\mu\text{mol/mol}$  hema, deficit željeza nađen je u 6,9% muških davatelja i 9,8% ženskih davatelja. Prevalencija manjka željeza kretala se od 4,8% (temeljem saturacije transferina) do 27,4% mjerenjem hepcidina u muškaraca i od 5,6% (temeljeno na koncentraciji serumskih transferinskih receptora) do 24,7% (temeljeno na koncentraciji hepcidina) u žena (164). Kada govorimo o referentnim vrijednostima hemoglobina primjerenim za davanje krvi, tijekom provedbe naše studije nametnulo se još jedno važno pitanje, a to je nepodudarnost referentnih raspona hemoglobina u kliničkoj praksi s minimalnim koncentracijama hemoglobina primjerenih za davanje krvi. Naime, u RH je donja granica referentnog raspona koncentracije hemoglobina za muškarce 137 g/L, što je u suglasju s preporukom baziranom na bazi podataka Scripps-Kaiser i podacima NHANES za muškarce u dobi od 20-60 godina (165). Za žene je ovom studijom preporučena donja granica od 122 g/L (u RH 119 g/L). Nekoliko grama hemoglobina „zalihe“ u kriterijima za davanje krvi u žena u suprotnosti je s „manjkom“ hemoglobina kod muških davatelja (135 g/L) u odnosu na kliničku granicu anemije (137 g/L). To znači da bi dio muškaraca prihvaćenih za davanje krvi imalo u kliničkom ispitivanju dijagnozu anemije.

Serumski feritin otkriven je 30-tih godina prošlog stoljeća i razvijen kao klinički test u 70-tim. Mnoge bolesti povezane su sa preopterećenjem ili deficitom željeza. Serumski feritin široko se primjenjuje u dijagnostici i praćenju ovih bolesti (140). Vrijednost određivanja feritina naglašava se i u studijama koje za cilj imaju procjenu zaliha željeza kod davatelja krvi. Na ovome se temelji i naša odluka o odabiru serumskog feritina u procjeni zaliha željeza u populaciji davatelja krvi RH.

Svi davatelji uključeni u ovu studiju podijeljeni su u skupine različite frekvencije davanja krvi, računajući razdoblje unatrag dvije godine od datuma uključenja u studiju. Obzirom na maksimalno dopuštenu frekvenciju davanja krvi od 4 puta godišnje za muškarce i 3 puta godišnje za žene, ukupno je formirano 9 ispitivanih skupina za muškarce (od 0-8 davanja u dvije godine te 7 ispitivanih skupina za žene (od 0-6 donacija u prethodne dvije godine).

Rezultati studije pokazali su značajni pad zaliha željeza u ovisnosti o frekvenciji davanja krvi. Ovaj pad bio je linearan u populaciji muških davatelja. U odnosu na kontrolnu skupinu u kojoj je medijan feritina bio 129  $\mu\text{g/L}$ , kod frekventnih davatelja sa 7 – 8 donacija u dvije godine

medijan feritina bio je 43  $\mu\text{g/L}$  ili 3 puta manji u odnosu na skupinu koja nije niti jednom dala krv u dvije godine. U ženskih davatelja krvi u našoj studiji početne su koncentracije feritina bile značajno manje u usporedbi s muškarcima. Naime, medijan koncentracije feritina u skupini novih i reaktiviranih davateljica iznosio je svega 33  $\mu\text{g/L}$ , što je za gotovo 4 puta (3,91) manje od kontrolne skupine muškaraca. Ovo ne iznenađuje obzirom na utjecaj menstrualnog krvarenja na smanjene zalihe željeza kod žena. Zbog toga je i efekt davanja krvi kod žena na koncentraciju feritina bio manje izražen nego kod muških davatelja. To je u skladu i sa rezultatima drugih studija. Tako primjerice u studiji iz Malezije nije bilo statistički značajne razlike u prevalenciji deficita željeza između novih i redovitih davatelja ženskog spola, a obje ove grupe imale su sličnu prevalenciju s muškarcima koji su redoviti davatelji (166).

Promatramo li koncentracije feritina kod novih ili reaktiviranih davatelja u drugim studijama, rezultati dobiveni našom studijom su komparabilni s većinom njih. U našoj studiji srednja koncentracija feritina u muškaraca kontrolne skupine iznosila je 157  $\mu\text{g/L}$ , a medijan 129  $\mu\text{g/L}$ , dok je kod žena kontrolne skupine srednja vrijednost bila 43  $\mu\text{g/L}$ , a medijan 33  $\mu\text{g/L}$ . U studiji Abdullah srednja koncentracija feritina u populaciji muškaraca kontrolne skupine bila je 131,4  $\mu\text{g/L}$  (prosječna dob 26 godina i hemoglobin najmanje 125 g/L) (167). Srednja koncentracija feritina u muškaraca u studiji provedenoj u Iranu bila je 118,9  $\mu\text{g/L}$  (minimalni Hgb 125 g/L) (168). Još 1977. godine Finch je objavio kako je srednja koncentracija feritina u muškaraca koji nisu darovali krv bila 127  $\mu\text{g/L}$  i 46  $\mu\text{g/L}$  kod žena (169). U kanadskoj studiji srednja koncentracija feritina u muškaraca koji su prihvaćeni za davanje krvi (novi davatelji) bila je 131  $\mu\text{g/L}$  (170). U populaciji muškaraca u Danskoj, Milman i Kirschhoff utvrdili su medijan koncentracije feritina od 126  $\mu\text{g/L}$  (171). Varijacije u koncentracijama feritina između različitih studija mogu se objasniti cijelim nizom mogućih razlika vezanih uz ispitivanu populaciju (dob, prehrana, socijalni status, životne navike i sl.), a među važnijima je svakako i minimalna koncentracija hemoglobina prihvatljiva za davanje krvi. Među studijama kojima je bilježena relativno visoka srednja koncentracija feritina dominira ona provedena na populaciji davatelja na Tajlandu, s 161,12  $\mu\text{g/L}$  u muškaraca i 53,92  $\mu\text{g/L}$  u žena (172). Nasuprot tome, značajno manje koncentracije bilježene su u populaciji nigerijskih muškaraca (173) s koncentracijama feritina kontrolne grupe muškaraca od 88,3  $\mu\text{g/L}$ . U populaciji Indije zabilježena je vrlo niska koncentracija feritina u kontrolne skupine muškaraca od 58,8  $\mu\text{g/L}$  (hemoglobin min. 125 g/L) (174).

Studije naglašavaju kako do smanjenja zaliha željeza mjereno feritinom dolazi već nakon prve donacije kod muškaraca, a kod žena je ovo smanjenje naglašenije zbog početno manjih koncentracija (175). Porastom frekvencije davanja krvi ovo smanjenje postaje izrazitije.

U Tajlandu srednja vrijednost serumskog feritina u višestrukih muških davatelja bila je 52,72  $\mu\text{g/L}$ , a u žena 25,72  $\mu\text{g/L}$ . Depletirane zalihe željeza procjenjene su kad je feritin bio  $\leq 15 \mu\text{g/L}$  i nađene su u 8,7% novih ženskih davatelja te 21,21% i 32,65% višestrukih muških, odnosno ženskih davatelja (172).

U populaciji muških neanemičnih davatelja krvi u Pakistanu nije bilo osoba sa depletiranim zalihamu željeza (feritin  $<12 \mu\text{g/L}$ ) u grupama od 0 do 2 donacije u dvije godine, po 5% u grupama od 3 i 4 donacije u dvije godine, 15% u grupi od 5 donacija u dvije godine, 40% u grupi od 6 donacija u dvije godine i 50% u grupi od 7 donacija u dvije godine (176).

U studiji Mackintosh i suradnika na uzorku od 566 neanemičnih davatelja (hemoglobin min. 135 g/L), oni koji su krv darovali redovito 4 ili više puta godišnje imali su srednju koncentraciju feritina od 33  $\mu\text{g/L}$  (177). Linpisam i suradnici utvrdili su kako je koncentracija serumskog feritina značajno manja u onih koji su darovali krv 3 puta godišnje u odnosu na nove davatelje (178). U studiji Milman i suradnika zalihe željeza procjenjivane su u 1.348 muških davatelja krvi a davanje krvi bilo je povezano sa smanjenjem koncentracije feritina. U populaciji davatelja, 6,0% imalo je feritin manji od 15  $\mu\text{g/L}$ , a 33,9% između 15 i 30  $\mu\text{g/L}$ . Učestalost donacija na godinu bila je značajniji prediktor za smanjene zalihe željeza nego ukupni broj donacija. Smanjenje koncentracije feritina bilo je umjereno do četvrtu donacije, a nakon toga nije bilo značajno. Povećanje frekvencije davanja bilo je povezano sa značajnim padom feritina. Vrijednosti ispod 15  $\mu\text{g/L}$  nađene su kod 1,3% davatelja s dvije donacije na godinu te 7,9% s 4 donacije na godinu (179).

Isti autor u svojoj studiji iz 1991. provedenoj na 1.433 muških davatelja utvrdio je manju koncentraciju serumskog feritina (medijan 95  $\mu\text{g/L}$ ) nego kod osoba koje nisu davatelji (136  $\mu\text{g/L}$ ). Serumski feritin manji od 15  $\mu\text{g/L}$  nađen je u 3,3% davatelja vs. 0,4% ne-davatelja. (180).

U našoj studiji, feritin manji od 12  $\mu\text{g/L}$  imalo 1,95% muških davatelja (1 – 8 donacija u 2 godine) vs. 0,0% u onih bez donacije u 2 godine, a feritin manji od 30  $\mu\text{g/L}$  imalo je 17,7% muških davatelja (1 – 8 donacija/ 2 godine) vs. 0,47% u davatelja s 0 donacija u 2 godine, što je značajno povoljnija situacija. Ukupni broj donacija u našoj je studiji bio u značajno manjoj korelaciji s koncentracijom feritina (parcijalna korelacija -0,326) nego frekvencija davanja krvi u dvije godine (parcijalna korelacija -0,555). To je u skladu i s opažanjima drugih autora (172, 181, 182). Simon i suradnici smatraju kako muški davatelji mogu održavati adekvatne zalihe željeza sa i do 5 donacija krvi godišnje, dok su žene sklone deficitu željeza s više od jedne donacije godišnje (182).

U studiji Yousefinejada provedenoj u Iranu, koncentracija feritina  $<12 \mu\text{g/L}$  nađena je u 2,9 % uzoraka, a njih 70,6% bili su redoviti davatelji, te je utvrđeno da 4,66% redovitih davatelja ima depletirane zalihe željeza (183). U studiji Cançado i suradnika u Brazilu, koja je provedena na 300 davatelja (237 muškaraca i 63 žene) kojima je dopušteno davanje s kriterijem minimalne koncentracije hemoglobina od 120 g/L za žene i 130 g/L za muškarce, u populaciji muškaraca koji nisu davali krv (njih 67) nije bilo niti jedne osobe s deficitom željeza i feritinom  $<12 \mu\text{g/L}$ , dok je kod višestrukih davatelja (N=170) njih 7,6% imalo nedostatak željeza. Od 27 žena koje su prvi puta davale krv, čak 18,5% imalo je nedostatak željeza, a kod višestrukih davateljica ovaj je postotak rastao na 41,5% (184).

U novijoj studiji RISE provedenoj u SAD, niti jedan muškarac iz kontrolne skupine (novi i reaktivirani) nije imao feritin  $<12 \mu\text{g/L}$ , dok je u istoj skupini žena njih 6,4% imalo depletirane zalihe željeza (185). Ovi rezultati gotovo su identični rezultatima naše studije, u kojoj je 0% muškaraca i 6,7% žena bez donacija u zadnje dvije godine, imalo feritin manji od  $12 \mu\text{g/L}$ . U skupini učestalih davatelja u studiji RISE ( $\geq 3$  u godini dana za muškarce i  $\geq 2$  za žene) feritin manji od  $12 \mu\text{g/L}$  imalo je 16,4% muškaraca i 27,1% žena. Učestalost donacija najjače je bila povezana s ispražnjenim zalihama željeza i deficijentnom eritropoezom zbog nedostatka željeza. Dodatno su značajni čimbenici za ove poremećaje ravnoteže željeza bili ženski spol, mlađa dob, menstruacija i manja tjelesna masa. Granično značajni čimbenici bili su nepušenje, prethodne trudnoće i neuzimanje preparata željeza. Prehrambene navike nisu imale utjecaj. U našoj studiji, kod muškaraca s  $\geq 6$  donacija u 2 godine i  $\geq 4$  donacije u 2 godine kod žena, feritin manji od  $12 \mu\text{g/L}$  imalo je 4,09% muškaraca i 15,6% žena. Iako su ukupni rezultati naše studije znatno povoljniji obzirom na manje frekvencije deplecije zaliha željeza u oba spola, značajno veća razlika kod muškaraca nego u žena posljedica je niže granične koncentracije hemoglobina pri kojima se odobrava davanje krvi muškim davateljima u SAD u odnosu na RH.

Nedostatak željeza u davatelja krvi pokazao se značajnim problemom i u Novom Zelandu. U velikom istraživanju na populaciji od 5.006 davatelja utvrđena je manja koncentracija feritina u mlađih osoba, žena i u onih koji češće daju krv. Manje od  $12 \mu\text{g/L}$  feritina nađeno je u ukupno 14,1% ispitanika, 19,9% žena, 19,0% davatelja ispod 20 godina i 25,1% davatelja s 3 – 4 donacije u prethodnih godinu dana (186).

U studiji Salvina i suradnika prevalencija nedostatka željeza u novih ženskih davatelja bila je 12%, što je značajno više u usporedbi s novim muškim davateljima (1,3%). Prevalencija nedostatka željeza u ženskih davatelja pune krvi bila je 26,4% i u ovisnosti o frekvenciji davanja krvi i dobi, a u muškaraca davatelja pune krvi 6,3% (187).

Uzimanjem donacije pune krvi gubi se oko 200-250 mg željeza u hemoglobinu. Obzirom na fiziološke razlike u ravnoteži željeza kod žena generativne dobi i muškaraca, gubitak sličnih količina željeza donacijom krvi ima različiti utjecaj na redovite davatelje (188).

Studija provedena na Novom Zelandu među 375 žena u premenopauzi pokazala je kako su davanje krvi, pripadnost azijskoj etničkoj skupini i prethodni nedostatak željeza najjači prediktori suboptimalnog statusa željeza (189).

Prva studija o statusu željeza u davatelja u Kini pokazala je kako deficit željeza postoji u čak 29,5% žena s najmanje 2 donacije u prethodnih godinu dana (190).

Dosadašnja je paradigma bila primjena granične vrijednosti hemoglobina malo iznad donje minimalne granice kako bi se žene zaštitile od teže anemije uslijed doniranja krvi, ali neki autori smatraju adekvatnijim pristupom primjenu nadomjesne terapije željezom kao novog pristupa prevenciji deficita željeza (191).

Koliki značaj menstruacija ima na zalihe željeza pokazuje i činjenica da su koncentracije feritina u kontrolnoj skupini žena u našoj studiji bile za 23,3% manje od muškaraca koji redovito daju krv (grupa s 8 donacija u dvije godine). Zbog toga je i utjecaj učestalosti davanja krvi u populaciji žena bio manje izražen nego kod muškaraca i smanjenje koncentracije feritina nije bilo linearno. I dok je kod muškaraca feritin u najfrekventnijoj grupi bio 67% manji u odnosu na kontrolnu skupinu, kod žena je bio svega 21,2% manji u odnosu na kontrolnu skupinu. Uspoređujući koncentracije feritina u različitim ispitivanim skupinama kod žena, statistički značaj dosegnut je samo u usporedbi svih ispitivanih skupina s kontrolnom grupom, dok između ostalih skupina nije postojala statistički značajna razlika.

Prema podacima iz SAD, prevalencija deficita željeza u žena u dobi od 20 – 49 godina prije davanja krvi je 12% (192). Prevalencija deficita željeza s nastupom menopauze pala je na 9% u dobnoj skupini od 50 – 69 godina, a iza 69 godina na 6%. U našoj studiji feritin manji od 15  $\mu\text{g/L}$  zabilježen je u 14,4% kontrolne skupine kod žena te u 25,4% davateljica sa 1 – 6 donacija u dvije godine. Manje od 12  $\mu\text{g/L}$  imalo je 6,7% žena bez davanja krvi u 2 godine te 17,2% žena s 1 – 6 donacija u dvije godine. Halvorsen i suradnici u svojoj studiji navode podatak o koncentraciji serumskog feritina manjoj od 20  $\mu\text{g/L}$  kod 30% žena koje nikada nisu darovale krv, te manjem od 10  $\mu\text{g/L}$  kod 6% iste populacije (193).

Pretpostavka da nakon ulaska u menopauzu dolazi do postepenog porasta zaliha željeza u žena i približava se vrijednostima u muškaraca ispitana je i na populaciji davatelja iz naše studije. Međutim, treba uzeti u obzir da je praćenje ograničeno dobnom granicom za davanje krvi te činjenicom da se nije mogao sasvim pouzdano utvrditi period od prestanka menstrualnog krvarenja. Uspoređivane su koncentracije feritina u muškaraca starijih od 50 godina i žena u

menopauzi koji su imali jednaku učestalost davanja krvi. Iako je u svim skupinama različite učestalosti davanja krvi koncentracija feritina bila veća u žena u menopauzi u odnosu na ukupnu populaciju žena, statistički značajno su koncentracije feritina bile niže u žena nego u muškaraca. Medijan feritina u žena kontrolne skupine u menopauzi bio je dvostruko manji od muškaraca kontrolne skupine starijih od 50 godina (76  $\mu\text{g/L}$  vs. 153  $\mu\text{g/L}$ ). Dijelom je to posljedica porasta koncentracije feritina sa starenjem populacije muških davatelja ali i manje tjelesne mase žena. Slični rezultati prikazani su i u studiji Simon i suradnika u kojoj su žene u postmenopauzi imale više razine feritina od premenopauzalnih žena ali niže vrijednosti feritina od muških davatelja. Premenopauzalne žene koje su uzimale preparate željeza imale su veće zaliha željeza koje su se približavale zalihama u muškaraca (182).

U skladu s našim rezultatima su i podaci danske studije Rigasa i suradnika. Naime među visoko učestalim davateljima (više od 9 donacija u 3 godine) deficit željeza ( $<15$  ng/ml) nađen je u 9%, 39% i 22% muškaraca, žena u premenopauzi i žena u postmenopauzi (194).

U studiji Milman i suradnika davateljice u premenopauzi imale su medijan serumskog feritina od 31  $\mu\text{g/L}$  vs. 39  $\mu\text{g/L}$  u ne-davatelja, postmenopauzalne davateljice 47  $\mu\text{g/L}$  vs. 72  $\mu\text{g/L}$  u ne-davatelja. Vrijednosti serumskog feritina  $<15$   $\mu\text{g/L}$  nađene su u 31,7% premenopauzalnih davateljica vs. 15,2% nedavatelja, te u 7,0% postmenopauzalnih davateljica vs. 2,9% nedavatelja (195).

U našoj je studiji promatran i učinak jačine menstrualnog krvarenja na koncentraciju feritina u krvi, iako treba uzeti u obzir subjektivnost procjene jačine menstruacije (196). Kendallov tau b koeficijent između koncentracije feritina i jačine menstruacije bio je -0,277 što se pokazalo statistički značajnim ( $P<0,001$ ).

U studiji Rangan AM visoki menstrualni stupanj (menstrualno krvarenje duže od 65 dana na godinu) bilo je udruženo sa povećanom vjerojatnosti za niske zalihe željeza od preko 2,5 puta u usporedbi s ženama koje imaju menstrualno krvarenje manji broj dana godišnje (197).

Utjecaj donacije krvi na status željeza kod ženskih davatelja najbolje opisuju slijedeći podaci: prikupljanje 450 ml pune krvi uz dodatnih 30 – 50 ml krvi za laboratorijsko testiranje rezultira gubitkom 480 – 550 ml krvi. Ovaj gubitak rezultira smanjenjem od 60 do 88 g hemoglobina kod žena s rasponom hemoglobina 125 – 160 g/L i gubitkom 204 – 299 mg željeza, temeljeno na 3,4 mg željeza na gram hemoglobina (104). Ovaj manjak željeza predstavlja 9 – 13% ukupnog željeza u prosječne žene (2.300 mg) (152) i 66-97% ukupnog skladišta željeza u žene s menstruacijom (309 mg) (198).

Kada se diskutira o utjecaju spola na koncentraciju feritina i koji su referentni rasponi, treba naglasiti kako se oni značajno razlikuju od laboratorija do laboratorija, ovisno o populaciji,



korištenom testu i dr. Za test koji je korišten u našoj studiji deklariran je referentni raspon od 30 – 400 µg/L za muškarce i od 15 – 150 µg/L za žene. Logično je za očekivati da bi raspon trebao biti bolje definiran u odnosu na dob ispitanika. Osobito je to važno za žene koje su u menopauzi. Rezultati ove studije mogli bi biti doprinos uspostavi referentnih intervala zdrave populacije ispitanika u RH.

Obzirom da smanjene zalihe željeza ili snižena koncentracija hemoglobina imaju značajan učinak na kvalitetu života, nameće se pitanje koliko je željeza u organizmu dostatno. Neki autori dovode u pitanje različite intervale za eritrocite, hemoglobin i feritin u muškaraca i žena, jer je prihvaćen stav da ono što je normalno za žene, kod muškaraca predstavlja anemiju. Rushton DH i suradnici naglašavaju kako su „normalne“ vrijednosti dobivene na uzorku populacije koja sadrži veliku proporciju žena s deficitom željeza. Autori predlažu da se kod žena za gore navedene parametre primjenjuju referentni intervali za muškarce, u cilju poboljšanja kvalitete života (199).

U našoj studiji značajno smanjenje koncentracije feritina bilježeno je s porastom frekvencije davanja krvi, ali je u populaciji muškaraca s 8 donacija u dvije godine, bilo značajno manje onih s depletiranim zalihama željeza. Nije utvrđeno koji bi mogao biti razlog ovom opažanju. Ipak, u literaturi postoje podaci o tzv. „superdavateljima“ koji daju krv s velikom učestalošću, ali izostaje deficit željeza i odbijanje zbog snižene koncentracije hemoglobina / hematokrita (200). U studiji Mast AE i suradnika ispitivane su karakteristike ovih davatelja s 13 donacija u dvije godine. U njih je nađena iznimno niska koncentracija hepcidina. Neki autori pokazali su kako balans željeza ostaje stabilan regulacijom hepcidina i u kasnijoj dobi kod frekventnih davatelja (201).

Mast i suradnici u svojoj drugoj studiji pokazali su da žene sa 6 donacija u prethodnih 12 mjeseci imaju samo u pola manje šanse za odbijanje od žena s jednom donacijom u istom periodu. Ovaj nalaz doveo je do zaključka da davatelji vrlo visokog intenziteta davanja pripadaju samo-selektiranoj populaciji osoba sa genetičkim karakteristikama koje omogućavaju učinkovitu apsorpciju željeza iz hrane i sinezu hemoglobina (111).

Studije utjecaja *HFE* mutacija na ravnotežu željeza i hemoglobina u davatelja krvi pokazale su da iako mutacije uzrokuju početno povećane koncentracije hemoglobina i zaliha željeza, ne postoji utjecaj na jačinu njihovog pada kada su osobe izložene gubitku željeza i hemoglobina ponovljenim donacijama krvi. Zbog toga status mutacija *HFE* u davatelja krvi ne bi smio biti korišten kao kriterij za individualizirani pristup donacijskim intervalima s ciljem sprječavanja deficita željeza (202).

Utjecaj frekvencije davanja krvi na smanjenje zaliha željeza dokazan je i brojnim drugim studijama (203 – 207).

Studije kojima je promatran učinak indeksa tjelesne mase (ITM) na status željeza polučile su kontradiktorne rezultate - od nalaza sniženih zaliha željeza u pretilih osoba, preko povišenih zaliha u pretilih osoba do izostanka bilo kakve značajnosti. U našoj studiji najniže vrijednosti ITM nađene su u kontrolnim skupinama, kako kod muškaraca tako i kod žena, što je najvjerojatnije povezano s mlađom dobi u kontrolnim skupinama. I kod muškaraca i kod žena nađena je statistički značajna razlika ITM između ispitivanih skupina. U oba spola porast ITM bio je linearan što odgovara linearnom porastu dobi u ispitnim skupinama. Nađena je pozitivna korelacija između ITM i feritina. Iako je ova korelacija kod oba spola bila statistički značajna, jači stupanj povezanosti nađen je kod žena (0,184 vs. 0,096), što odgovara prestanku menzesa u kasnijoj dobi. Statistički značaj razlika u korelaciji feritina i ITM između muškaraca i žena je izostao. Linearna regresija pokazala je kako je ITM značajan pozitivan prediktor koncentracije feritina i hemoglobina u muškaraca (standardizirani koeficijent Beta 0,194 za feritin i 0,176 za hemoglobin) i u žena (standardizirani koeficijent Beta 0,186 za feritin i 0,121 za hemoglobin). S druge pak strane, indeks tjelesne mase pokazao se kao negativan prediktor saturacije transferina kako u muškaraca (standardizirani koeficijent Beta -0,089) tako i žena (standardizirani koeficijent Beta -0,100). Ovakav nalaz u suglasju je s drugim autorima, koji ovakav trend objašnjavaju povećanim potrebama za željezom u pretilih osoba, dilucijskim učinkom povećanog volumena plazme te sekvestracijom željeza uzrokovanog upalnom reakcijom. Upalnim mehanizmom objašnjava se i veća koncentracija feritina u osoba s povećanom tjelesnom masom (208, 209).

U grčkoj studiji nađena je statistički značajna pozitivna korelacija (0,166) između ITM i feritina (53). U studiji Pynaert i suradnika, provedenoj na populaciji mladih odraslih žena također je nađena pozitivna povezanost ITM s feritinom (210).

Naki autori smatraju da pretili ljudi imaju manji unos željeza ili bioraspoloživost ili da upala uzrokovana debljinom povećava koncentraciju hepcidina i smanjuju bioraspoloživost željeza (211). Lecube i suradnici dokazali su značajno više vrijednosti feritina u žena u postmenopauzi s metaboličkim sindromom u odnosu na one bez metaboličkog sindroma (81  $\mu\text{g/L}$  vs. 48,5  $\mu\text{g/L}$ ) (212). Isti autor u svojoj drugoj studiji nije pronašao značajnije razlike u koncentraciji feritina između postmenopauzalnih debljih žena i onih normalne tjelesne težine (213).

Prema Pinhas-Hamiel i suradnicima, deficit željeza uobičajen je kod djece prekomjerne tjelesne težine ili pretilih. Nedovoljni unos željeza (apsolutan ili relativan u odnosu na ITM) ili povećane

potrebe za željezom mogući su razlozi ovakvih opažanja. Zbog toga se kod ove populacije djece sugerira rutinsko probirno testiranje i tretman, ukoliko je potrebno (214).

Rezultati studije Tussing-Humphreys i suradnika upućuju na zaključak da ženski adolescenti veće tjelesne težine imaju veći rizik deficita željeza, što objašnjavaju pojačanom upalom (215). Studija Cruz i suradnika pokazala je kako 44,1% od 726 ispitivanih davatelja imaju prekomjernu tjelesnu težinu mjereno ITM, 63,2% imalo je hipertrigliceridemiju (216). Žene uključene u našu studiju imale su prosječni BMI 25,73 a muškarci 28,01. ITM veći od gornje granice referentnog raspona od 24,9 prema WHO (217) imalo je 45,8% žena i 76,8% muškaraca.

Brojnim studijama prikazan je učinak dobi ispitanika na koncentraciju feritina. Zalihe željeza mjerene serumskim feritinom rastu u kasnoj tinejdžerskoj dobi kod muškaraca i nakon menopauze u žena (218). Finch i suradnici naglašavaju kako su koncentracije feritina u žena stabilne u dobi od 18 – 45 godine, dok kod muškaraca postoji nagli porast u dobi od 18 – 30 godine, sukladno uspostavi zaliha željeza tijekom tog vremena (169).

U SAD je na populaciji od 964.325 osoba svih rasa u 10 centara ispitivana normalna koncentracija feritina. U muškaraca je medijan koncentracije feritina rastao od 23  $\mu\text{g/L}$  u dobi od 12 do 16 godina, da bi dosegnuo plato od 120  $\mu\text{g/L}$  nakon 32 godine, a u žena oko 30  $\mu\text{g/L}$  do menopauze, nakon čega raste na oko 80  $\mu\text{g/L}$  (219). Ovi rezultati u potpunosti su u skladu s rezultatima naše studije koji se odnose na koncentraciju feritina u kontrolnoj skupini ispitanika. U našoj studiji medijan dobi ispitanika bio je 38,5 (interkvartilni raspon, IQR: 28,8 – 48,5) godina za muškarce, te 39,8 (28,8 – 51,4) godina za žene. Očekivano je najniža dob zabilježena u kontrolnoj skupini. Kod muškaraca je u ovoj skupini prosječna dob bila 30,2 godine, a najviša u davatelja s 8 donacija u protekle dvije godine (45,4 godine). Slična je situacija i u populaciji ženskih davatelja s prosječno 31,2 godine u kontrolnoj skupini te postepenim porastom dobi do 49,5 godina u skupini sa 6 donacija u dvije godine. ANOVA testom dokazana je statistička značajnost razlika dobi između pojedinih ispitivanih skupina, kako kod muškaraca tako i kod žena.

Stupanj povezanosti utjecaja dobi na koncentraciju feritina mjereno Spearmanovim koeficijentom korelacije nije se pokazao statistički značajnim kod muškaraca, ali je bio značajan u populaciji ženskih davatelja. Regresijskom analizom dokazana je međutim značajna pozitivna predikcija dobi na feritin u muškaraca među promatranim varijablama. Nasuprot tome, regresijskom analizom nije dokazan značajan učinak dobi na feritin u žena, što govori u prilog tome da je utjecaj dobi samo posljedica prestanka menstruacije u starijoj dobi.

Regresijskom analizom dob davatelja pokazala se u odnosu na hemoglobin negativnim prediktorom za muške davatelje, a pozitivnim za ženske davatelje. Ovo je uskladu s opažanjima drugih autora o smanjenju koncentracije hemoglobina u muškaraca te porastom u žena. Kod žena je ovo posljedica oporavka crvene loze ulaskom u menopauzu.

Rezultati naše studije pokazali su izostanak statistički značajnih razlika s obzirom na naviku pušenja između muškaraca i žena, unatoč nešto većoj učestalosti pušača među ženama (31,6%) nego među muškarcima (28,0%). Prema *Istraživanju o uporabi duhana u odrasloj populaciji Republike Hrvatske* koju je 2015. godine objavio Hrvatski zavod za javno zdravstvo (220), u Hrvatskoj puši 31,1% stanovništva. Ovi rezultati usporedivi su s podacima naše studije gdje se 29,5% (553/1.876) ispitanika izjasnilo kao pušači. Razlika je međutim zabilježena u spolnoj razdiobi: prema podacima HZJZ kod muškaraca je 35,3% pušača, a kod žena 27,1%, što je obrnuto proporcionalno rezultatima naše studije. Ovakav nalaz može se objasniti utjecajem pušenja na koncentraciju hemoglobina.

Veliki broj studija pokazao je kako su u pušača više koncentracije hemoglobina i feritina (46). Ispitivanjem korelacije pušenja i feritina na ukupnoj populaciji naših ispitanika nađen je nizak pozitivan stupanj korelacije u muškaraca i žena, ali je u muškaraca ta povezanost bila statistički značajna. Regresijskom analizom pokazano je kako je pušenje značajan pozitivan prediktivni čimbenik za koncentraciju feritina u muškaraca ( $P=0,025$ ), a još značajniji za koncentraciju hemoglobina ( $P<0,001$ ). Ovo je potvrđeno i negativnom predikcijom pušenja na indeks CCI koja je kod muškaraca bila statistički značajna ( $P<0,001$ ). Kod žena je utjecaj pušenja bio manje značajan i regresijskom analizom pušenje se pokazalo pozitivnim prediktivnim čimbenikom za koncentraciju hemoglobina, ali ne i za koncentraciju feritina. Međutim i kod žena je potvrđena negativna predikcija utjecaja pušenja na indeks CCI ( $P<0,001$ ). Upravo ovi rezultati objašnjavaju veći udio pušača u populaciji ženskih davatelja u odnosu na opću populaciju RH. Naime, u našu studiju uključeni su bili samo davatelji koji su udovoljili minimalnim zahtjevima hemoglobina uz mjerenje postupkom modre galice. Kako pušenje uzrokuje hipoksiju koja stimulira produkciju eritrocita i hemoglobina, pretpostavka je kako se veći broj žena pušača uspeva kvalificirati kao davatelji krvi. Ovo zanimljivo opažanje potkrjepljuje i činjenica visoke prediktivne vrijednosti pušenja na hemoglobin ali ne i na feritin kod žena. Pušenje tako uzrokuje vezanje ugljičnog monoksida na hemoglobin umjesto kisika, a obzirom da eritrociti ne prenose kisik, dolazi do njihovog pojačanog stvaranja. Anemija egzistira u ovom slučaju unatoč normalnim hematološkim nalazima (45).

U studiji Mast-a, davatelji krvi koji su pušili 10 ili manje cigareta na dan imali su hemoglobin za 0,26 g/dL veći, a oni koji su pušili više od 10 cigareta povećanje od 0,59 g/dL što sugerira manje odbijanje zbog hemoglobina (221).

Lee i suradnici u svojoj su studiji provedenoj na korejskoj populaciji pokazali kako je u onih koji oduvijek puše srednja vrijednost feritina bila 119,8 µg/L a kod nepušača 56,8 µg/L. Kod trenutnih pušača feritin je bio 123,6 µg/L a kod bivših pušača 109,4 µg/L (222).

U grčkoj studiji nije nađena statistički značajna razlika feritina u pušača (60,3 µg/L) i nepušača (63,4 µg/L), ali je između pušača bilo razlika između dužine pušenja i količine popušenih cigareta (53).

Iako je sve više podataka o smanjenju razlika u navici konzumacije alkohola između muškaraca i žena, u našoj je studiji nađena statistički značajna razlika u konzumaciji alkohola, uspoređujući muškarce i žene. Konzumaciju alkohola negiralo je značajno više žena (51,3%) u usporedbi s muškarcima (27,4%).

Kod muškaraca je nađena niska (ali statistički značajna) pozitivna korelacija između konzumacije alkohola i feritina (0,084). Ovaj bi nalaz govorio u prilog literaturnim podacima o većoj koncentraciji feritina kod osoba koje pojačano konzumiraju alkohol. U grčkoj studiji osobe koje piju imale su značajno veće koncentracije feritina u usporedbi s onima koji ne piju alkohol (63,0 µg/L vs. 49,8 µg/L) (53).

Kod žena je međutim pronađena niska negativna korelacija (-0,047), koja nije bila statistički značajna. Linearnom regresijom nije utvrđen značajan utjecaj alkohola na koncentraciju feritina ili hemoglobina niti kod muškaraca niti kod žena. Ovo se može objasniti inače manjom konzumacijom alkohola u populaciji davatelja krvi, odnosno isključenjem ovisnika o alkoholu. Kod muškaraca je nađen učinak alkohola na saturaciju transferina i na indeks CCI (značajna pozitivna korelacija sa saturacijom transferina i negativna s CCI).

Australska studija rađena na dvije skupine ispitanika pokazala je kako osim davanja krvi, povećani unos alkohola kod muškarca i tip prehrane kod žena imaju najvažniji učinak na koncentraciju feritina. Intenzivni unos alkohola bio je povezan s povišenim vrijednostima, čak i kod muškaraca bez dokazane jetrene bolesti. Autori naglašavaju i potrebu uspostave lokalnih referentnih vrijednosti za feritin u serumu (57). Pitanje validnosti rezultata ovakvog načina procjene svakako je legitimno. Studija Grønbaek M i suradnika pokazala je kako nije bilo značajnih razlika u podacima o korištenju alkoholnih pića, bez obzira da li su oni bili prikupljeni upitnikom frekvencije ili metodom intervjuiranja o prehrambenim navikama (223).

U studiji Pynaert i suradnika provedenoj na populaciji mladih odraslih žena nađena je pozitivna korelacija između konzumacije alkohola i feritina (210). Isto tako, veće količine feritina nađene su u osoba koje pojačano konzumiraju alkohol i u drugim studijama (224).

Brojne studije diskutiraju o povećanom riziku manjka željeza kod vegetarijanaca te potrebi da se režim prehrane prilagodi takvim nalazima. Naime, problem je u slabijoj apsorpciji ne-hemskog željeza iz hrane. Zbog toga smo u sklopu studije htjeli ispitati kakav utjecaj ima konzumacija mesa s obzirom na učestalost i vrstu na zalihe željeza u dobrovoljnih davatelja krvi.

Među ispitanicima iz naše studije 2,0% žena i 1,1% muškaraca izjavilo je da nikada ne konzumira meso, što je u skladu s istraživanjem spolne razdiobe među vegetarijancima, odnosno predominaciji žena (225). Slične su bile i razlike o učestalosti konzumacije mesa: svakodnevnu konzumaciju navelo je 49,9% muškaraca i 39,0% žena. Stupanj korelacije konzumacije mesa s koncentracijom feritina mjeren Kendall tau b koeficijentom bio je podjednako vrlo nizak i kod muškaraca (0,033) i žena (0,034) i bez statističkog značaja ovih korelacija. Regresijskom analizom u populaciji muških davatelja učestalost konzumacije mesa nije se pokazala značajnim prediktorom za feritin, hemoglobin, saturaciju transferina i CCI. Kod žena je međutim dosegnut statistički značaj predikcije učestalosti konzumacije mesa na feritin i na CCI, ali je faktor korelacije u oba slučaja bio nizak (0,076 i 0,073).

Interesantna je razlika nađena i u vrsti konzumiranog mesa, jer je kod žena dominantna bila konzumacija bijelog mesa, a kod muškaraca podjednako bijelog i crvenog mesa. Promatrajući samo populaciju kontrolne skupine, učestalost konzumacije mesa nije bila statistički značajno povezana sa koncentracijom feritina niti kod muškaraca niti kod žena, ali je kod muškaraca nađena značajna pozitivna korelacija između feritina i konzumacije crvenog mesa.

U jednoj studiji nađeno je 19% željezo-deficijentnih osoba u populaciji vegetarijanaca (226). U studiji iz 2012. godine rađenoj na populaciji ženskih studenata, nije nađena statistički značajna razlika u koncentraciji feritina, serumskog željeza, saturacije transferina i TIBC između djevojaka na vegetarijanskoj i nevegetarijanskoj prehrani (227).

Brojnim studijama nije se uspjelo prikazati povezanost statusa željeza i unosa željeza hranom. Dugotrajno gledano čini se logičnim da zalihe željeza ovise o unosu bioraspoloživog željeza u organizam. Ova diskrepanca može biti posljedica brojnih čimbenika vezanih uz: individualne varijacije u intestinalnoj apsorpciji željeza, interakcije s inhibitorima apsorpcije, fiziološke i nefiziološke gubitke željeza i dr. Jedan od važnih razloga je svakako i greška u procjeni uzimanja željeza hranom u odnosu na stvarni unos (228). Povezanost unosa željeza hranom i serumskog feritina nije nađena niti u studiji Rangan i suradnika. Autor sugerira da je kvaliteta

unesenog željeza važnija determinanta statusa željeza nego količina konzumiranog željeza (197).

U studiji iz 1999. godine nađeno je kako su u vegetarijanaca hemoglobin, hematokrit, MCV, MCHC, WBC, serumski feritin i vitamin B12 značajno niži ( $P < 0,05$ ) nego u kontrolnoj grupi, a RDW je bio značajno viši. U 34/179 vegetarijanaca (19%) nađen je deficit željeza (226).

Korelacijskom studijom nađena je značajna pozitivna korelacija tjelesne aktivnosti i feritina kod muškaraca a negativna kod žena. To se može objasniti znatnijom tjelesnom aktivnošću mlađih muškaraca s malom učestalosti davanja krvi, a kod žena je negativna korelacija posljedica menstrualnog krvarenja (mlađa dob ženskih osoba koje se bave sportom). Zbog toga ne iznenađuje kako bavljenje sportom nije u regresijskoj analizi utvrđen kao značajan predikcijski čimbenik za koncentraciju feritina niti hemoglobina, kako u muškaraca tako niti u žena. U muškaraca je nađena značajna pozitivna prediktivna vrijednost na saturaciju transferina i negativna na indeks CCI.

Kako bi u potpunosti isključili utjecaj davanja krvi, utjecaj fizičke aktivnosti promatran je zasebno i u kontrolnoj grupi. Ipak niti ovdje nije nađen statistički značaj korelacije fizičke aktivnosti i koncentracije feritina, niti u muškaraca niti u žena. Rezultati ove studije nešto su drugačiji od objavljenih rezultata starijih studija drugih autora. Furqan i suradnici pokazali su kako povećanje fizičke aktivnosti smanjuje koncentraciju feritina (68), jednako kao što su Lakka i suradnici pokazali da smanjenje koncentracije feritina ovisi o trajanju i frekvenciji fizičke aktivnosti (69). Naimark i suradnici su još 1996. godine ukazali na slični obrazac kretanja feritina. Prosječna vrijednost feritina smanjena je značajno nakon 24 tjedna u osoba koje su rekreativno hodale 5 dana u tjednu, ali ne u onih koji su rekreativno hodali 3 dana u tjednu (229). Furqan i suradnici uočili su da umjerena fizička aktivnost ima veći učinak na smanjenje feritina nego intenzivna aktivnost (68). Lakka i suradnici pokazali su da je srednja koncentracija feritina bila za 16,8% niža u osoba s najvišim kvartilom fizičke aktivnosti ( $>2,6$  sata tjedno) u usporedbi s onima s najkraćim trajanjem aktivnosti ( $<0,4$  sata tjedno) i 19,9% niža u osoba sa najvišom frekvencijom aktivnosti ( $>3$  serije vježbi tjedno), naspram onih sa najnižom frekvencijom aktivnosti ( $<1$  serije u tjednu) (69). Kaiser i suradnici našli su značajnu obrnutu povezanost između trčanja i serumskog feritina (230). U grčkoj studiji nije bilo značajne razlike u koncentraciji feritina između osoba koje se bave aerobnim vježbama u slobodno vrijeme i onih koji se ne bave ( $60,3 \mu\text{g/L}$  vs.  $62,7 \mu\text{g/L}$ ) (53).

Rezultati studije Friedmann B i suradnika pokazali su kako u mladih atletičara s niskim feritinom i normalnom koncentracijom hemoglobina, suplementacija željezom dovodi do porasta maksimalnog aerobnog kapaciteta bez porasta volumena eritrocita (231).

Novije istraživanje Reinke i suradnika pokazalo je da značajni udio profesionalnih atletičara ima deficit željeza, neovisno o načinu treninga. Autori zaključuju kako je potrebno praćenje statusa željeza tijekom razdoblja treninga i natjecanja, kako bi se održao balans zaliha (232).

Jedan od glavnih ciljeva naše studije bio je procijeniti prikladnost uporabe kombiniranog staničnog indeksa CCI u procjeni zaliha željeza u dobrovoljnih davatelja krvi, ali i drugih eritrocitnih parametara krvne slike. Naime, iako se određivanje koncentracije feritina smatra najboljim pokazateljem zaliha željeza, cijena pretrage i nepraktičnost primjene u smislu aparature i vremena, poticaj su studijama koje ispituju primjenu drugih testova (pojedinačno ili u kombinacijama) u procjeni zaliha željeza u davatelja krvi. Parametri kompletne krvne slike mogu dati informaciju o stanju zaliha željeza, ali je osjetljivost ovih parametara puno manja u otkrivanju latentne anemije. Kombinacijom pojedinih parametara moguće je međutim povećati osjetljivost detekcije, o čemu svjedoče brojne studije. U području transfuzijske medicine još je 2007. godine Frank Boulton predložio CCI kao alternativnu ili dopunsku metodu u procjeni zaliha željeza u dobrovoljnih davatelja krvi. Ovaj indeks kombinira eritrocitne parametre MCV, MCH i RDW. Unatoč ohrabrujućim početnim rezultatima, zamjetan je manjak studija koje bi procijenile prikladnost šire primjene CCI (145).

U sklopu naše studije analizirana je korelacija između parametara eritrocitne krvne slike i koncentracije feritina u davatelja, kako bi se utvrdili parametri s najvećim stupnjem povezanosti u odnosu na feritin. Za njih je primjenom ROC krivulja procijenjena dijagnostička učinkovitost u detekciji depletiranih zaliha željeza (feritin  $<12 \mu\text{g/L}$ ) te osjetljivost i specifičnost pri optimalnim „cut-off“ vrijednostima (dobivenim Youden-ovim indeksom) te klinički definiranim graničnim vrijednostima prema Hrvatskoj komori medicinskih biokemičara (233). Referentni raspon za CCI izračunat je za potrebe ove studije iz vrijednosti određenih u skupini muškaraca i žena koji nikada nisu darovali krv ili je od donacije proteklo više od dvije godine. Primjenom Spearmanovih korelacijskih koeficijenata te parcijalne korelacije kontrolirane na ITM, dob, pušenje, bavljenje sportom, konzumaciju alkohola i mesa utvrđeni su oni mjerni parametri koji u populaciji muških i ženskih davatelja te ukupno imaju najveći stupanj povezanosti s feritinom kao „zlatnim standardom“ u procjeni zaliha željeza. Najveći stupanj povezanosti utvrđen je s CCI, a zatim i s parametrima koji sudjeluju u izračunu ovog indeksa (MCV, MCH, RDW). Iz daljnje statističke analize isključeni su broj eritrocita (RBC) i hematokrit (HCT). To je u skladu sa studijama koje su pokazale da određivanje hematokrita



nije dobar pokazatelj volumena eritrocita (234). Kriterij za odluku bio je nizak faktor korelacije, koji niti u jednom slučaju nije dosegnuo 0,300 kao kriterij za srednji stupanj povezanosti. U daljnje razmatranje uzeto je 6 parametara (CCI, MCH, RDW, MCHC, MCV, Hgb). Za njih je primjenom ROC krivulja izračunata vrijednost AUC s 95%-tnim intervalom pouzdanosti. Ovo ispitivanje napravljeno je i u ovisnosti o frekvenciji davanja krvi u dvije godine. Za svaki spol kreirane su 3 ispitivane skupine prema broju davanja u prethodne dvije godine: skupina bez davanja, skupina davatelja niske do umjerene frekvencije donacija (1 – 4 davanja za muškarce i 1 – 3 za žene) te skupina visoke frekvencije donacija (5 – 8 davanja za muškarce i 4 – 6 za žene). Najviša vrijednost AUC zabilježena je za CCI, kako na ukupnoj populaciji davatelja, tako i zasebno za muškarce i žene. Izračun optimalne granične vrijednosti za pojedine parametre napravljen je primjenom indeksa Youden, uz izračun osjetljivosti i specifičnosti pri dobivenim graničnim vrijednostima te onima definiranim u kliničkoj praksi. I ovom je metodom dokazana dominantna prednost CCI i RDW nad ostalim parametrima. Iako su oba parametra imala podjednake vrijednosti indeksa Youden na ukupnoj populaciji ispitanika, CCI se pokazao boljim prediktorom deplecije željeza zasebno za populaciju muškaraca i žena. Primarni interes naše studije bio je ispitati prikladnost uporabe CCI u procjeni zaliha željeza kod davatelja krvi, uspoređujući ga sa serumskim feritinom kao „zlatnim“ standardom. Odabir indeksa CCI temelji se na činjenici da kod nedostatka željeza u organizmu dolazi do pada MCH (hipokromija), pada MCV (mikrocitoza) i porasta RDW (anizocitoza). Unatoč primarne usmjerenosti na CCI, ispitano je i koliko 7 standardnih eritrocitnih parametara (RBC, Hgb, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW) ima (i u kojoj mjeri) potencijal detekcije davatelja s depletiranim zalihama željeza. Deplecijom skladišta željeza u organizmu smatra se feritin manji od 12 µg/L. Iako neki smatraju da ova vrijednost nije idealna (138) odlučili smo je koristiti u našoj studiji, kako bi adekvatno mogli usporediti naše rezultate sa rezultatima drugih autora. Prednost naše studije je da je istraživanje rađeno na respektabilnom broju uzoraka davatelja krvi različitih frekvencija donacija što je omogućilo izračun AUC ne samo na ukupnoj populaciji nego i u grupama DDK prema ovisnosti o frekvenciji davanja krvi.

U studiji Radtke i suradnika osjetljivost određivanja hemoglobina kao pokazatelja deplecije željeza na 1.142 davatelja (odbijenih i prihvaćenih zadavanje krvi) bila je samo 18% za oba spola uz graničnu koncentraciju hemoglobina od 125 g/L u venskoj krvi. Kada je za muškarce korištena granična koncentracija od 135 g/L, osjetljivost je bila tek nešto veća (27%) (138). Slični podaci dobiveni su i u našoj studiji. Uz graničnu koncentraciju od 135 g/L za muškarce i 125 g/L za žene, osjetljivost određivanja hemoglobina u detekciji deplecije željeza bila je svega 18%, odnosno 23%. Izračun AUC pokazao je kako u muških davatelja koncentracija

hemoglobina ima najnižu dijagnostičku vrijednost u procjeni depletiranih zaliha željeza. Iako je u populaciji ženskih davatelja situacija u našoj studiji bila nešto povoljnija i kod žena je AUC hemoglobina bio niži nego za CCI, RDW i MCH, a tek neznatno viši od MCV i MCHC.

Slabu povezanost hemoglobina i feritina dokazali su i drugi autori, kako na ukupnoj populaciji davatelja (180), tako i za davatelje koji su prošli inicijalno određivanje hemoglobina (170). Nadarajan i suradnici (137) utvrdili su da je uz graničnu koncentraciju od 125 g/L, osjetljivost koncentracije hemoglobina u detekciji deficijencije željeza tek 50%, zbog čega su i preporučili da se u davatelja pod rizikom (kao što su višestruki davatelji i žene) rutinski ispituje prisutnost manjka željeza pomoću mjerenja eritrocitnih parametara ili feritina. Prednost praćenja eritrocitnih parametara naglašena je u detekciji talasemije u malezijskoj populaciji. Sličan pristup imali su i Tiwari i suradnici (235) u studiji provedenoj na davateljima u Indiji, zaključujući kako bi bilo poželjno rutinski raditi KKS svim davateljima, a kasnije analizirati mikrocitne uzorke na feritin i HgbA2 kako bi dijagnosticirali anemiju zbog deficita željeza i beta-talasemiju minor te na taj način pružili davateljima adekvatno savjetovanje i terapiju. Lošu osjetljivost hemoglobina naglašavaju i Manascero-Gómez i suradnici (236). U njihovoj studiji hemoglobin nije bio indikator deficita željeza u odnosu na broj donacija krvi unatoč značajnom padu vrijednosti feritina.

U našoj studiji korelacija hemoglobina i feritina u muških davatelja bila je svega 0,128. Ovo je identično podacima studije Milman (180), u kojoj je korelacija ova dva parametra bila 0,13 u davatelja i 0,16 u ne-davatelja. Niska korelacija ( $r^2 = 0,015$ ) koja nije bila statistički značajna nađena je i u studiji u kojoj je 11% redovitih davatelja imalo depletirane zalihe željeza (237). Bryant i suradnici prikazali su kako snižene vrijednosti MCV u populaciji neanemičnih davatelja (definirano kao Hgb >125 g/L) mogu upućivati na deficit željeza ili hemoglobinopatiju. Deficit željeza imalo je 64% davatelja s nižim MCV i prihvatljivim hemoglobinom (238). U studiji Tiwari i suradnika prevalencija mikrocitoze, definirane kao MCV <80 fL, nađena je u 5,4% ispitanika (odbijeni i prihvaćeni davatelji) (235). U našoj studiji 6,2% muških davatelja i 11,9% ženskih davatelja prihvaćenih za davanje krvi imalo je MCV niži od 83 fL. Primjenom AUC u našoj studiji nije dokazana velika korist određivanja MCV u predikciji deplecije željeza. Od 6 ispitivanih parametara, MCV je u ukupnoj populaciji davatelja imao najniži AUC, ali je u muških davatelja bio na 4. mjestu (iza CCI, RDW i MCH), a kod žena je samo MCHC imao niži AUC. Važno je naglasiti da je određivanje MCV potrebno provesti što ranije nakon uzimanja uzorka, kako produžena inkubacija u EDTA antikoagulansu ne bi uzrokovala pogrešne rezultate (239).

MCH je parametar koji govori o prosječnom sadržaju hemoglobina u eritrocitima i kod nižih vrijednosti upućuje na gubitak krvi, manjak željeza i mikrocitnu anemiju. Alexander i suradnici su na uzorku od 886 davatelja pokazali kako su vrijednosti MCH bile najniže u najučestalijih davatelja krvi (154). Mahida i suradnici pratili su promjene MCH u odnosu na ukupni broj davanja krvi (174). Iako se MCH postupno smanjivao s porastom broja donacija, statistički značaj dosegnut je u skupinama muških davatelja sa više od 20 donacija. Jednako tako, neki su autori koristili MCH (uz koncentraciju hemoglobina i MCHC) u praćenju oporavka davatelja kao odgovor na nadoknadu željeza (240). Oprečno tome, neki autori nisu pronašli statistički značaj u vrijednostima MCH u odnosu na frekvenciju davanja krvi (167). U našoj studiji AUC za MCH bio je relativno visok (0,941 za muške davatelje i 0,821 za ženske davatelje) što ga je po osjetljivosti detekcije smanjenih zaliha željeza pozicioniralo odmah iza CCI kod muškaraca i iza CCI i RDW kod ženskih davatelja.

Djalali i suradnici (241) dokazali su statistički značajnu negativnu korelaciju MCHC sa frekvencijom davanja krvi uz  $r = -0.56$ ,  $P < 0,001$ . Moghadam i suradnici također su na populaciji muških davatelja utvrdili značajno niži MCHC u odnosu na osobe koje nisu davatelji krvi (168). Ipak, nekim studijama nije dokazan pad vrijednosti MCHC u odnosu na učestalost davanja krvi (173, 242). Neki autori naglašavaju kako su zbog male osjetljivosti parametri eritrocitne loze slabi prediktori budućeg odbijanja davatelja zbog niskog hemoglobina. Npr. Stern i suradnici (243) pokazali su kako je MCHC  $< 330$  g/L sa  $R^2 = 0,12$  slabiji prediktor od hemoglobina ( $R^2 = 0,63$ ) u predikciji budućeg odbijanja zbog niskog hemoglobina. U našoj je studiji MCHC bio također nisko rangiran parametar po svojoj osjetljivosti za detekciju depletiranog željeza. U populaciji muških davatelja, parametar MCHC imao je AUC viši samo od hemoglobina, a u žena je njegov AUC bio najniži.

RDW kao pokazatelj anizocitoze zadnjih je desetljeća sastavni dio kompletne krvne slike na analizatorima (244). Nadarajan i suradnici (137) promatrali su u populaciji neanemičnih davatelja (prihvatanje davatelja za darivanje krvi testom modre galice) osjetljivost i specifičnost analize različitih parametara u identifikaciji manjka željeza primjenom ROC krivulja. Usporedba je rađena s log (TfR/Feritin) i utvrđena je najveća osjetljivost feritina, a zatim parametra RDW, za kojeg je AUC bio čak 0,956 i pokazao osjetljivost od 89% i specifičnost od 87,5% pri graničnoj vrijednosti od 14,25%. Iako je vrijednost RDW parametra naglašena i u drugim studijama (245 – 247), neki autori navode njegovu ograničenu korist (248) ili teškoće prilikom standardizacije određivanja (137). Belza i suradnici pokazali su i stabilnost ovog parametra u evaluaciji iz dana u dan (249). Jedna od vrijednosti RDW parametra je i mogućnost razlikovanja anemije zbog manjka željeza i talasemija (250, 251). U našoj studiji

dokazana je zadovoljavajuća dijagnostička vrijednost ovog parametra, uz AUC od 0,900 na ukupnoj populaciji ispitanika, što je gotovo identično onoj kod CCI (0,903). Promatrajući zasebno populaciju muškaraca i žena, RDW je s AUC bio odmah iza CCI kod žena, dok su kod muškaraca CCI i MCH imali nešto viši AUC.

Brojne studije do danas spekulirale su s primjenom određenih eritrocitnih indeksa i formula u detekciji deficijencije željeza i hemoglobinopatija. Frank Boulton predložio je tzv. CCI koji kombinira RDW, MCV i MCH u jedinstvenoj formuli (145, 252). Boulton (253) naglašava kako ova kombinacija parametara može dati uvid u narušenu „hemoglobinizaciju“ novostvorenih eritrocita u ljudi suočenih s iznenadnim deficitom željeza. U istom radu navodi da je u normalnoj populaciji srednja vrijednost CCI oko 45 – 50. Kada je CCI bio primijenjen na odabranoj populaciji davatelja iz Velike Britanije s donacijama uzrokovanim deficitom željeza (254), Spearmanov koeficijent korelacije sa STR/log feritina kao odrazom zaliha željeza bio je 0,73 (145). Koeficijent korelacije STR/log feritin bio je manji od 0,5 za sve zasebne parametre (MCV, MCH, RDW). U našoj studiji indeks CCI pokazao je najveći stupanj korelacije s feritinom te najvišu vrijednost AUC u procjeni dijagnostičkog značaja određenih parametara eritrocitne krvne slike u detekciji depletiranih zaliha željeza (0,961 za muškarce i 0,864 za žene). Pri „cut-off“ vrijednosti od 52,6 za muškarce i 50,6 za žene nađena je visoka osjetljivost i specifičnost CCI u populaciji muških davatelja (0,941 odnosno 0,910) te nešto niža u populaciji ženskih davatelja (0,851 odnosno 0,761).

Rezultati naše studije potvrdili su zadovoljavajuću dijagnostičku vrijednost CCI u detekciji depletiranih zaliha željeza u dobrovoljnih davatelja krvi, što sugerira mogućnost njegove primjene u rutinskom radu. Iako rezultati mjerenja nisu odmah dostupni, omogućavaju bankama krvi relevantnu procjenu prijeteće anemije i provedbu odgovarajućih mjera za njezinu prevenciju. Osobito bi ovaj parametar mogao biti od koristi ustanovama koje analiziraju kompletnu krvnu sliku svim davateljima a određivanje feritina primjenjuju u ovisnosti o rezultatima prethodnih ispitivanja. Prilagodбом kompjuterskih software-a u krvnim bankama moguće je ostvariti adekvatan transfer podataka iz hematoloških analizatora, izračun CCI i kreiranje algoritma odlučivanja o daljnjem postupanju, obzirom na dobivene vrijednosti, spol davatelja te eventualne druge kriterije. Ukupni rezultati ispitivanja CCI i ostalih parametara crvene krvne slike u procjeni zaliha željeza kod davatelja objavljeni su nedavno i u časopisu *Transfusion Medicine* (255).

Rezultati RISE studije pokazali su kako eritrocitni indeksi koje su koristili: hipokromni eritrociti i sadržaj hemoglobina u retikulocitima (HYPOm and CHr) koreliraju s depletiranim zalihama željeza i željezo-deficijentnom eritropoezom te su više informativni od mjerenja

hemoglobina, ali im nedostaje dostatna osjetljivost i specifičnost kako bi bili korišteni kao dijagnostičko sredstvo za davatelje pod rizikom deficita željeza (256).

Rezultati naše studije podržavaju stavove Kiss JE (7) o primjeni eritrocitnih indeksa u kojem se transfuzijskim ustanovama koje razmatraju primjenu eritrocitnih indeksa u detekciji deficita željeza savjetuje pažljiva validacija dobivenih rezultata, osobito u odnosu na granične vrijednosti dobivene ROC krivuljama u odnosu na vrijednosti feritina.

Važno je međutim i skrenuti pozornost da prilikom izvođenja testova treba obratiti pažnju na sve interferirajuće čimbenike. Tako je za određivanje feritina moguća interferencija upalnih stanja, ali u populaciji davatelja taj je rizik iznimno mali. Vrijeme analize hematoloških parametara nakon uzimanja uzoraka slijedeći je čimbenik koji treba uzeti u obzir. Pri tome osobito pažnju treba posvetiti pravodobnosti analize uzoraka kako bi se izbjegle promjene vrijednosti MCV i s njime povezanih parametara zbog produženog skladištenja uzoraka.

Iako se čini praktičnim odabirom da se kombinacijom izabranih eritrocitnih parametara dobije jedna vrijednost temeljem koje bi se utvrdio eventualni deficit željeza, sugeriramo daljnja istraživanja koja će preispitivati dosadašnje rezultate i procjenjivati vrijednost njihove primjene u transfuzijskoj djelatnosti. Važno je nastaviti i istraživanja koja se odnose na primjenu sofisticiranijih parametara dostupnih na modernim hematološkim analizatorima, kao što je sadržaj hemoglobina u retikulocitima (257).

Jedna od mogućnosti korištenja parametara eritrocitne krvne slike je i njihovo praćenje u vremenu, kako bi se analizom trendova pokušalo predvidjeti moguće odbijanje davatelja za darivanje krvi (258).

Za razliku od zamjetnog smanjenja koncentracije feritina u odnosu na frekvenciju davanja krvi, ostali parametri eritrocitne krvne slike nisu pokazivali klinički značajne promjene. Iako je testom ANOVA kod muškaraca dokazana statistički značajna razlika između grupa za hemoglobin ( $P=0,007$ ), MCH ( $P=0,010$ ), MCHC ( $P<0,001$ ), RDW ( $P<0,001$ ), a kod žena za sve parametre osim MCV, ove su promjene u apsolutnim brojevima bile iznimno male. Najbolje to prikazuju grafikoni promjene hematoloških parametara u odnosu na frekvenciju davanja krvi. Dok je broj eritrocita kod muškaraca u svim ispitanim skupinama bio ujednačen kroz sve ispitane skupine, u žena je vidljiv blagi trend rasta prema populaciji s većim brojem davanja krvi, što se može objasniti prosječno starijom dobi i prestankom menstrualnog krvarenja. Slični trend vidljiv je i kod hemoglobina. RDW pokazuje trend rasta u oba spola s povećanjem frekvencije davanja krvi. Međutim, kod žena u grupama od 3 i više donacija u dvije godine ne zamjećuje se daljnji porast RDW, što je posljedica porasta dobi i smanjenja učinka menstruacije. Vidljiv je i blagi trend pada MCH i MCHC kod muškaraca usporedno s

frekvencijom davanja krvi, dok je u žena isti bio izraženiji do 3 odnosno 4 donacije u dvije godine, a zatim počinje oporavak vrijednosti.

Kod davatelja koncentracija hemoglobina započinje padati tijekom davanja krvi, a odmah po donaciji može biti za 5 g/L niža (259). Najniža vrijednost od približno 20 g/L niže dosegne se nakon 2 – 3 dana. Predonacijske vrijednosti dosežu se u novih davatelja nakon otprilike 30 – 50 dana (260, 261).

Saturacija transferina laboratorijska je vrijednost koja prikazuje odnos serumskog željeza i TIBC i koristan je podatak u dijagnostici statusa željeza. Izražava se kao postotni udio transferinskih mjesta koja su zasićena željezom (262).

Vrijednosti ispod 16% ukazuju na željezo-deficijentnu eritropoezu. U našoj studiji nađena je značajna pozitivna korelacija saturacije transferina i feritina. Kod žena je ova korelacija više izražena (0,455) nego kod muškaraca (0,328). Isti odnos zadržan je i u izračunu parcijalne korelacije kontrolirane u odnosu na ITM, dob, pušenje, bavljenje sportom, konzumaciju alkohola i mesa (0,211 kod muškaraca i 0,318 kod žena). Negativna korelacija nađena je s frekvencijom davanja krvi u oba spola (-0,187 kod muškaraca i -0,140 kod žena). Kod žena je stupanj korelacije s davanjem krvi bio manji zbog dodatnog učinka menstrualnog krvarenja na saturaciju transferina.

U studiji Okpokam DC i suradnika (173), saturaciju transferina manju od 16% imalo je čak 10,5% davatelja s 3 donacije, 41,9% s 4 donacije i 60% davatelja s 5 donacija. Statistički značajna razlika u postotku saturacije transferina između davatelja krvi (prosječno 34,11) i onih koji to nisu (40,76) nađena je u brazilskoj studiji Moghadam i suradnika (168). U našoj studiji 49 (4,5%) muškaraca imalo je saturaciju transferina manju od 16%, njih 0,9% u kontrolnoj skupini te 7,6% u skupini davatelja sa 6-8 donacija. Kod žena je udio onih sa saturacijom transferina manjom od 16% bio trostruko veći (14,02%), ali razlika između kontrolne grupe i davateljica sa 5-6 donacija u 2 godine nije bila tako naglašena kao kod muškaraca (10,1% vs. 15,8%). I ovi rezultati govore u prilog značajnog utjecaja menstruacije na status željeza kod žena.

Rezultati UIBC i TIBC očekivano su bili viši u frekventnijih davatelja krvi, prateći pad koncentracije feritina. Ne iznenađuju zato visoki negativni korelacijski čimbenici između feritina i ovih parametara kod muškaraca (TIBC: -0,418, UIBC: -0,444) i kod žena (TIBC: -0,465, UIBC: -0,524), s naglaskom da je stupanj povezanosti bio značajno veći u populaciji ženskih davatelja. Ovaj nalaz potvrđuje i test ANOVA kojim je nađen statistički značaj između pojedinih skupina ispitanika obzirom na frekvenciju davanja krvi.

Promatrajući parcijalne korelacije kontrolirane na ITM, dob, pušenje, bavljenje sportom, konzumaciju alkohola i mesa između ovih dvaju parametara prema učestalosti davanja krvi nađen je visok stupanj povezanosti u muškaraca (TIBC: 0,424, UIBC: 0,353) te nešto niži u žena (TIBC: 0,233, UIBC: 0,212). Manja korelacija kod žena posljedica je činjenice da na zalihe željeza osim frekvencije davanja krvi značajno utječe i menstrualno krvarenje. Za razliku od frekvencije davanja krvi, ukupni broj davanja krvi pokazao je manji stupanj povezanosti s vrijednostima TIBC i UIBC (kod muškaraca 0,239 za TIBC te 0,192 za UIBC a kod žena 0,07 za oba parametra). Za razliku od muškaraca, stupanj korelacije UIBC i TIBC s ukupnim brojem donacija nije bio statistički značajan kod ženskih davatelja. U studiji Åsberg i suradnika (263) UIBC je naglašen kao vrijedan pokazatelj depletiranih zaliha željeza i bolji je od izračuna saturacije transferina. Analizom ROC za ovaj je parametar u njihovoj studiji nađen visok AUC (0,80 – 0,87) za vrijednosti feritina od 10 i 15 µg/L.

Određivanje serumskog željeza jedan je od osnovnih testova u procjeni statusa željeza, ali nema veliki značaj u procjeni uskladištenog željeza, jer je svega 0,1% ukupne količine željeza u tijelu vezano za transferin u plazmi. Ovaj test koristi se u dijagnostici odstupanja u rezultatima rutinskog ispitivanja krvne slike te kod sumnje na stanje deficita željeza ili preopterećenja željezom. Ispravna interpretacija nalaza ovisi o promatranju rezultata ovog testa u kontekstu ostalih ispitivanja statusa željeza. Rezultat određivanja željeza podložan je velikim varijacijama tijekom dana, ali i iz dana u dan (264). Prevladava mišljenje da su vrijednosti željeza veće ujutro nego navečer (265). Sukladno ovim nalazima, naša je studija koncipirana na način da se uzorci uzimaju isključivo u jutarnjim satima, a kako bi izbjegli mogući utjecaj diurnalnih varijacija u statusu željeza.

Osim toga, studije naglašavaju kako nedavna konzumacija hrane bogate željezom ili tableta željeza mogu utjecati na rezultate ispitivanja (266).

Rezultati naše studije pokazali su kako u populaciji muškaraca nije bilo statistički značajne razlike među ispitanim skupinama, odnosno serumsko željezo nije se značajno mijenjalo ovisno o frekvenciji davanja krvi ( $P=0,130$  u ANOVA testu). Istim testom kod žena je dosegnut statistički značaj uz  $P=0,039$ . Relativno stabilne vrijednosti serumskog željeza u svim ispitanim skupinama dokazane su metodom parcijalne korelacije kontrolirane na ITM, dob, pušenje, bavljenje sportom, konzumaciju alkohola i mesa. Kod muškaraca je čimbenik korelacije s frekvencijom davanja krvi u dvije godine bio svega  $-0,033$  (bez statističkog značaja), a još niži ( $-0,008$ ) kada je umjesto frekvencije davanja krvi ispitivan ukupni broj davanja krvi (bez statističkog značaja). Slični rezultati dobiveni su i kod žena gdje je korelacija s frekvencijom davanja krvi u dvije godine bila  $-0,07$  (bez statističkog značaja), a s ukupnim brojem davanja

još i niža (-0,022) što je nakođer bilo bez statističkog značaja. Prikupljanje podataka o konzumaciji hrane na dan ispitivanja te nedavnoj konzumaciji vitaminskih sokova, sokova obogaćenih željezom i vitaminskih preparata koji sadrže željezo omogućilo je dodatnu analizu o utjecaju istih na koncentraciju serumskog željeza. Suprotno očekivanjima nije nađen statistički značajan učinak hrane, sokova ili vitaminskih suplemenata na serumsko željezo. Iznenađujuće je malo studija koje govore o utjecaju hrane, sokova i vitamina na određivanja statusa željeza. To je u suprotnosti s preporukama laboratorija o potrebi uzimanja uzoraka za određivanje željeza na tašte. Lippi i suradnici naglašavaju potrebu gladovanja prije testiranja kako za hematološke parametre (267), tako i biokemijske (268). Iako se većina preporuka odnosi na 12-satno gladovanje, Iron Disorders Institute preporuča 5 sati gladovanja prije određivanja željeza (269). Rezultati naše studije mogli bi biti doprinos preispitivanju ili promjeni stavova o potrebi „gladovanja“ prije određivanja statusa željeza. Moguće je da je izostanak utjecaja obroka prije davanja krvi na serumsko željezo posljedica ipak nešto „laganije“ kombinacije namirnica koje se konzumiraju u jutarnjim satima.

Iako je anemija uzrokovana manjkom željeza najdominantnija manifestacija manjka željeza, smanjene zalihe željeza u tkivima uzrok su brojnih problema kao što su: poremećaji psihomotornog razvoja i smanjenje kognitivnih funkcija u dojenčadi i djece predškolske dobi, te smanjenje radne aktivnosti u odraslih osoba (270). Cook i suradnici naglašavaju kako je nadoknada željeza prikladna za određene slučajeve i ograničene vremenske periode, ali da je od većeg značaja unos hranom biorasploživog željeza. Neki autori naglašavaju da je nadoknada željeza važna za normalizaciju kognitivnih funkcija kod žena s deficitom željeza (271). Povoljni učinci nadoknade željeza nađeni su i u ženskih davatelja krvi s manjkom željeza ali bez anemije (272).

U studiji Spencer i suradnika sindrom „nemirnih nogu“ nađen je s potencijalno velikom prevalencijom u frekventnih davatelja krvi, ali nije nađena povezanost sa statusom željeza niti intenzitetom donacija. Niske zalihe željeza bile su povezane sa simptomom „pica“ ali samo kod ženskih davatelja (273). Tucker i suradnici pokazali su kako koncentracija feritina ima učinak na moždanu aktivnost u smislu veće rječitosti kod viših vrijednosti (274). Nesigurnost povezanosti deklariranih simptoma deficita željeza sa stvarnim koncentracijama feritina pokazana je i rezultatima naše studije. Naime, korelacija feritina i simptoma deficita željeza u oba je spola bila mala (Kendallov tau<sub>b</sub> koeficijent 0,015 kod muškaraca i 0,043 kod žena) i statistički neznačajna (P=0,611 kod muškaraca i P=0,228 kod žena). Statističkom analizom (Z-test) nije nađena statistički značajna razlika ovih vrijednosti između muškaraca i žena. Od 1.084 muškarca njih 153 (14,1%) izjavilo je da ima neki od simptoma manjka željeza, a medijan



feritina bio je 72  $\mu\text{g/L}$  u grupi bez simptoma vs. 71  $\mu\text{g/L}$  u grupi sa simptomima. Kod žena je 338 od njih 792 (42,7%) izjavilo da ima neke od simptome anemije. I kod žena su, međutim, vrijednosti feritina bile usporedive u dvije skupine (27,5  $\mu\text{g/L}$  sa simptomima i 26,5  $\mu\text{g/L}$  bez simptoma). Kod žena je dakle nađena statistički značajno veća frekvencija simptoma deficita željeza ( $P < 0,001$ ) u odnosu na muškarce, što je posljedica bazično nižih vrijednosti feritina.

Rezultati naše studije, kao i ranije opisana istraživanja, upućuju na zaključak kako primjenom trenutno važećih kriterija za frekvenciju i broj donacija u godini dana nije moguće postići adekvatan oporavak željeza u davatelja pune krvi. Zbog toga se nameće pitanje koji je period potreban za oporavak zaliha željeza.

U studiji koju je provela skupina stručnjaka iz Nizozemske, Njemačke i Švicarske naglašeno je kako interval između dvije donacije od 56 dana treba biti produžen na 180 dana, a temeljem praćenja različitih parametara u davatelja krvi kroz razdoblje od 180 dana nakon donacije 500 mL pune krvi (275).

Autori smatraju da je feritin odličan parametar za personalizirani pristup procjeni intervala donacija krvi. Manascero-Gómez i suradnici (236) također naglašavaju da razdoblje duže od 6 mjeseci između dvije donacije krvi smanjuje rizik deficita zaliha željeza. Stav da je za mnoge davatelje krvi razdoblje od 6 mjeseci ili duže potrebno za potpuni oporavak zaliha željeza i izgubljenog hemoglobina imaju također Mast i suradnici (202).

De Vries u svojem radu iz 1958. već je predlagao kako bi redukcija davanja krvi za žene na jedanput godišnje bila preporučena praksa (276). Valja međutim uzeti u obzir i činjenicu da produženje intervala između donacija ima učinak na zalihe krvi. O ovom učinku raspravljaju autori studije objavljene u *Transfusionu* 2013. godine (277).

U procjeni oporavka zaliha željeza u našoj je studiji promatrana promjena koncentracije feritina u davatelja koji su za vrijeme trajanja studije krv darovali više puta, pod uvjetom da se radilo o konzekutivnim donacijama. Između dviju donacija (bez obzira na interval između donacija), kod muškaraca nije bilo statistički značajne razlike u koncentraciji feritina ( $P = 0,097$ ), a kod žena je dosegnut statistički značaj ( $P = 0,002$ ). Medijan koncentracije feritina bio je prosječno za 3,6% (54  $\mu\text{g/L}$  vs. 56  $\mu\text{g/L}$ ) manji kod druge donacije kod muškaraca, a za 12,0% (21  $\mu\text{g/L}$  vs. 27  $\mu\text{g/L}$ ) manji kod žena. Kod najmanje 50% muškaraca potpuni oporavak feritina dosegnut je u vremenskom rasponu od 120 – 240 dana između dva mjerenja, dok je kod žena situacija kompliciranija jer ni u jednom vremenu između dva mjerenja kod barem 50% ispitanica nije došlo do oporavka feritina. Analizom ROC kod muškaraca je dobivena vrijednost od 157 dana (uz najbolji omjer osjetljivosti i specifičnosti) kao prediktor oporavka zaliha željeza između dvije donacije. Dodatno je analizom ROC potvrđeno opažanje iz ranije navedenih studija da

više od dvije donacije godišnje predstavljaju rizik smanjenih zaliha željeza kod muškaraca (kao kriterij je u našoj studiji korištena vrijednost od  $<30 \mu\text{g/L}$ ). Kod žena je prediktor smanjenja koncentracije feritina ispod  $15 \mu\text{g/L}$  bila više od jedne donacije godišnje. Naše ispitivanje je naravno ograničeno brojem ispitanika. Vjerujemo da će randomizirana studija INTERVAL na 50.000 ispitanika (278) dati još točniji odgovor na pitanje koji je optimalni interval za davanje krvi, barem u Velikoj Britaniji.

Tijekom 2002. godine u SAD održan je Workshop o održavanju ravnoteže željeza u ženskih davatelja krvi (113). Tada je još prevladavala praksa regrutiranja novih davatelja u odnosu na mjere prevencije deficita željeza u postojećih davatelja. Studija RISE novijeg datuma sigurno je dala veliki doprinos preispitivanju stavova o prikladnosti trenutnih mjera za prevenciju deficita željeza, uključujući i minimalne koncentracije hemoglobina kao kriterija za davanje krvi (279).

Jedan od mehanizama prevencije manjka željeza bila bi i nadomjesna terapija željezom koju preporučaju brojni autori (280), a u nekim se centrima ovakva nadoknada redovito i provodi (281). Brittenham GM i suradnici također smatraju da je nadoknada željeza u žena generativne dobi prikladna mjera prevencije deficita željeza te da posljedično smanjenje odbijanja davatelja predstavlja doprinos njihovom zadržavanju i predanosti redovitom davanju krvi (282).

Američka studija novijeg datuma pokazala je kako nadoknada željeza pomaže u regeneraciji hemoglobina i zaliha željeza mjereno feritinom. Sa stajališta naše studije, zanimljivi su podaci koje autori iznose o vremenu potrebnom za regeneraciju feritina. Naime, medijan vremena za povratak na bazične vrijednosti u grupi davatelja s nižim feritinom ( $\leq 26 \mu\text{g/L}$ ) koji su uzimali željezo bio je 21 dan, a u grupi koja nije uzimala željezo oporavak je trajao duže od 168 dana. U grupi s višim feritinom ( $\geq 26 \mu\text{g/L}$ ), medijan oporavka bio je 107 dana kod onih koji su uzimali željezo i više od 168 dana kod onih koji nisu uzimali željezo. Ukupno 67% sudionika u obje grupe bez suplementacije željeza nije oporavilo feritin do 168 dana (283). Ovi rezultati usporedivi su s rezultatima naše studije (157 dana za oporavak zaliha željeza u najmanje 50% muškaraca procijenjeno analizom ROC). Vuk i suradnici su Internacionalnim forumom o istraživanju statusa željeza u davatelja krvi ispitivali i praksu zemalja EU u nadomjesnoj terapiji željeza kod davatelja (125). Studija je pokazala kako ovu praksu u različitom opsegu koristi 14 od 26 zemalja (54%) koje su sudjelovale u ispitivanju.

Prilikom korištenja nadoknade željeza važno je odabrati odgovarajuću dozu, kako bi terapijski odgovor bio adekvatan i održiv (284). Australaska studija objavljena 2014. godine pokazala je kako 8-tjedna postdonacijska primjena 45 mg karbonil-željeza značajno smanjuje deficit željeza i dobro je tolerirana u ženskih davatelja (285). Radtke i suradnici u svojoj studiji na 526

redovitih davatelja (289 muškaraca i 237 žena) pokazali su kako uzimanje elementarnog željeza u dozi od 20 mg dnevno adekvatno kompenzira gubitak željeza u muškaraca i žena koji doniraju krv do maksimalno 4 puta godišnje (žene) odnosno do 6 puta godišnje (muškarci) (286).

Reakcije davatelja krvi, uključujući slabost, jedan su od važnih negativnih motivacijskih čimbenika za davanje krvi i smanjenje ovih nuspojava moglo bi doprinijeti većem povratku davatelja na davanje krvi (287). Barem dio ovih reakcija mogao bi biti preveniran nadoknadom željeza.

Iako je gubitak željeza donacijama pune krvi u fokusu istraživanja autora širom svijeta, potrebno je intenzivirati i ispitivanja gubitka željeza u postupcima afereze, osobito u postupcima dvostruke eritrocitofereze (288). Iako su studije pokazale oporavak mase eritrocita za 2 mjeseca od donacije, nivo feritina bio je snižen i 4 mjeseca nakon donacije (289, 290). Li i suradnici naglašavaju i rizik učestalih afereza (plazma i trombofereze) na smanjenje zaliha željeza (291). Bier-Ulrich i suradnici upozoravaju na opasnost serijskih (učestalih) plazmafereza na nastanak deficita željeza u žena generativne dobi te potrebu suplementacije željeza kao mjeru prevencije (292). Ovi rezultati osobito su važni ako se uzmu u obzir preporuke nekih autora o preusmjeravanju davatelja pune krvi u program afereza ukoliko postoji rizik ili dokazani manjak željeza, a zbog oporavka željeza i zadržavanja davatelja u aktivnom statusu (293).

Osim intervencija u smislu određivanja feritina i promjena učestalosti donacija, iznimno je važna edukacija davatelja o anemiji, njezinim uzrocima i sl. (294). To je u skladu i s preporukama iz SAD koje naglašavaju ulogu liječnika obiteljske medicine u savjetovanju pojedinaca i obitelji o prehrani, nadoknadi željeza te probirnom testiranju osoba pod rizikom od deficita željeza te liječenju i praćenju osoba s manjkom željeza (295). Jedan od značajnih čimbenika, koji bi trebao biti promoviran i u informiranju naših davatelja, je edukacija davatelja o potrebi upoznavanja svojih liječnika obiteljske medicine s činjenicom da doniraju krv, kako bi liječnici unaprijedili skrb o davateljima i adekvatno interpretirali rezultate njihovog laboratorijskog testiranja (296). Edukacija davatelja iznimno je važna ako se uzmu u obzir rezultati studije koja govori o niskoj razini poznavanja činjenica vezanih uz metabolizam željeza i anemiju kod davatelja krvi (297).

Goldman i suradnici pokazali su kako i jednostavno obavješćavanje davatelja o sniženim vrijednostima feritina ima negativan učinak na ponovni dolazak davatelja na davanje krvi te da je potreban drugačiji pristup (298).

Uobičajena je praksa da transfuzijski centri davateljima koji budu odbijeni zbog hemoglobina savjetuju prehranu bogatu željezom. Međutim, čak i uz optimalno pridržavanje takvih

preporuka, treba 6 mjeseci da one pozitivno utječu na nivo feritina (299). Prehranom nije moguće u kratkom roku nadoknaditi izgubljeno željezo (300). Davanjem krvi gubi se 200 do 250 mg željeza što zahtijeva da davatelj apsorbira 4 do 5 mg željeza na dan kako bi nadoknadili gubitak tek za 56 dana. Navodi se da je ova apsorpcija oko 4 puta veća od bazične i ne može biti kontinuirano održavana samo prehranom (19, 185). Ipak i samo savjetovanje o prehrani bogatoj željezom dobar je način skrbi za davatelje krvi. Ubrzo po završetku provedbe naše studije, započelo je sustavno informiranje davatelja o konzumiranju hrane bogate željezom u nadoknađivanju željeza izgubljenog donacijama. Ove obavijesti davatelji dobivaju putem informativnih letaka i postera te putem ekrana postavljenih u HZTM na mjestu davanja krvi. Iako je u 2015. godini udio davatelja odbijenih zbog sniženog hemoglobina manji nego 2014. godine (5,89% vs. 6,34%), potrebno je dulje vrijeme praćenja kako bi se procijenilo da li je upravo opisana intervencija uzrok ovakvog pozitivnog trenda.

Alternativno, moguće je u prevenciji deficita željeza primjeniti jedan od predikcijskih modela odbijanja davatelja uzimajući u obzir prethodne vrijednosti koncentracije hemoglobina i trend njegovih promjena. Ovakav model testiran je i pokazao se učinkovitim u Nizozemskoj (301), no kada je isti bio primjenjen na drugoj populaciji (Irska) pokazao se manje efikasnim (302). Jedan od zaključaka studije proizašao iz rezultata ove disertacije je i mogućnost korištenja indeksa CCI kao predikcijskog modela na način da se prati trend kretanja ovog indeksa i pri definiranoj „cut-off“ vrijednosti donese odluka o produžavanju interdonacijskog intervala.

Aдекватna skrb o davateljima krvi i prevencija deficita željeza važni su i zbog činjenice da odbijanje davatelja za donaciju krvi ima negativan psihološki učinak na motivaciju za njihov ponovni dolazak na davanje krvi (303). Uz adekvatnu skrb za davatelje i njihovu edukaciju te brigu o dobrom psihofizičkom zdravlju davatelja, banke krvi u svijetu, kao i u RH ostvaruju svoju važnu, ali često nedovoljno naglašavanu ulogu u sustavu javnog zdravstva (304).

Davatelji kod kojih se nađe smanjena koncentracija hemoglobina u postupku odabira predstavljaju poseban izazov transfuzijskim centrima. Osobitu pažnju potrebno je posvetiti davateljima koji imaju smanjenu koncentraciju hemoglobina uz nisku učestalost davanja te novim muškim davateljima sa sniženom koncentracijom hemoglobina, zbog mogućnosti latentnog patološkog stanja (305). Sukladno tome, jedan od zaključaka naše studije je i potreba što ranije uvođenje kvantitativne metode određivanja koncentracije hemoglobina, radi pružanja boljeg savjetovanja davateljima krvi.

## 6. ZAKLJUČCI

Iz provedene studije proizlazi nekoliko glavnih zaključaka:

1. Provedenim istraživanjem napravljena je sveobuhvatna i detaljna procjena statusa željeza u dobrovoljnih davatelja krvi u Republici Hrvatskoj.
2. Donacije pune krvi imaju značajan učinak na smanjenje zaliha željeza u dobrovoljnih davatelja krvi.
3. Na smanjenje zaliha željeza znatno više utječe učestalost davanja krvi, a manje ukupni broj donacija.
4. Kod muškaraca je smanjenje koncentracije feritina gotovo linearno povezan s frekvencijom davanja krvi, dok je kod ženskih davatelja manjak zaliha željeza značajan već nakon jedne donacije i prisutan u svim ispitivanim skupinama.
5. Kod žena u menopauzi dolazi do porasta zaliha željeza, ali one ne dostižu vrijednosti kao kod muškaraca s komparabilnom učestalošću donacija.
6. Mjerenje koncentracije hemoglobina prije davanja krvi prevencija je davanja krvi osoba koje imaju manifestnu anemiju, ali je slabi prediktor zaliha željeza u organizmu davatelja.
7. Semikvantitativna metoda određivanja hemoglobina pomoću modre galice ima manju osjetljivost pri manjim koncentracijama hemoglobina i rezultira prihvaćanjem dijela davatelja čija je koncentracija hemoglobina u venskoj krvi ispod donje propisane granice.
8. Parametri crvene krvne slike mogu ukazati na manjak zaliha željeza, ali je od pojedinačnih parametara znatno bolje korištenje indeksa koji kombiniraju više parametara. Kombinirani stanični indeks CCI u ovoj je studiji pokazao zavidnu vrijednost u predikciji depletiranih zaliha željeza i potencijal za rutinsku primjenu.
9. Razdoblje od 3 mjeseca između dvije donacije nije dostatno za oporavak zaliha željeza i kod muškaraca je i više od 6 mjeseci potrebno za oporavak. Kod žena generativne dobi nije utvrđen period koji bi bio dostatan za oporavak, zbog znatnog učinka menstruacije.
10. Individualizirani pristup davateljima u prevenciji deficita/deplecije željeza čini se optimalan iz više razloga: različita frekvencija davanja krvi, različiti intervali, različito vrijeme potrebno za oporavak itd.
11. Mjerenje koncentracije feritina unaprijedilo bi sigurnost davatelja krvi i omogućilo individualizirani pristup u prevenciji deficita željeza. Prema rezultatima studije i literaturnim podacima optimalno bi bilo postupno uvođenje određivanja koncentracije

ferritina, uz praćenje učinka intervencije. Predlaže se u prvoj fazi implementirati testiranje kod najugroženijih skupina kod oba spola, a to su žene koje krv daju više od jedanput godišnje (radi malog udjela ženskih davatelja te praktičnosti provedbe ispitivanja predlaže se uključiti sve žene, bez obzira na menstrualni status), te muškarci koji krv daruju više od 2 puta godišnje. Prema podacima iz 2015. godine, 35.653 donacija od njih 191.442 (18,6%) darovano je od strane muškaraca kojima je to bilo 3. davanje (17.057) ili 4. davanje (10.319) u godini dana, te žena kojima je to bilo 2. davanje (6.342) ili 3. davanje (1.935) u godini dana. Uzmemo li kao kriterij klinički „cut-off“ koncentracije ferritina (30 µg/L za muškarce i 15 µg/L za žene), približno bi prema rezultatima naše studije 17,1% testiranih muškaraca i 24,0% testiranih žena zahtijevalo savjetovanje i individualizirani pristup u odnosu na buduće donacije. Radi se dakle o približno 4.682 muškaraca i 1.984 žene u cijeloj zemlji godišnje ili o 3,5% donacija. Ovisno o financijskim i organizacijskim mogućnostima, moguća je modifikacija opisanog pristupa testiranju ferritina. Ovakav algoritam temelji se na analizi podataka zasebno za muškarce i žene, uzimajući u obzir najugroženije skupine unutar svakog spola zasebno. Kada se uspoređuju postotni udjeli muškaraca i žena sa zalihama željeza ispod granice referentnog raspona, vidljivo je kako je kod žena generativne dobi s jednom donacijom godišnje, postotak onih sa smanjenim vrijednostima ferritina (<15 µg/L) komparabilan s udjelom muškaraca s 3 – 4 donacije godišnje i ferritinom manjim od 30 µg/L (28,1% vs. 27,1%). Sukladno tome predlaže se u slijedećoj fazi proširiti opseg testiranja ferritina i na sve žene generativne dobi koje daruju krv.

12. Alternativa mjerenju koncentracije ferritina moglo bi biti određivanje kompletne krvne slike svim davateljima uz određivanje koncentracije ferritina izabranim grupama davatelja.
13. Produljenje roka davanja krvi, odnosno ograničenje frekvencije davanja krvi rezultiralo bi manjom dostupnosti krvnih pripravaka. Sličan učinak imalo bi i povećanje granične koncentracije hemoglobina. Ova mjera ne preporuča se iz više razloga. Jedan od najvažnijih je činjenica da Hrvatska pripada zemljama s najvišim graničnim vrijednostima hemoglobina i najdužim interdonacijskim periodima.
14. Odbijanje davatelja zbog sniženih vrijednosti hemoglobina treba produžiti na dulji period (6 mjeseci) nakon utvrđenog manjka hemoglobina, u odnosu na dosadašnju praksu (15 dana). Iako davatelji odbijeni zbog snižene koncentracije hemoglobina nisu bili predmet ove studije, potrebno je donijeti strategiju određivanja ferritina i kod ove skupine davatelja.

15. Kao alternativu smanjenju učestalosti ili broja davanja krvi treba razmotriti uvođenje nadoknade željeza kod utvrđenog deficita.
16. Treba unaprijediti savjetovanje i edukaciju davatelja o deficitu željeza uzrokovanom donacijama krvi i prehrani bogatoj željezom.

## 7. SAŽETAK

**Uvod:** Svakom donacijom pune krvi zdravi davatelj izgubi 200 – 250 mg željeza. Ovaj gubitak organizam nadoknađuje mobilizacijom željeza iz zaliha. Brojnim studijama dokazan je rizik manjka/deplecije zaliha željeza i nastanka anemije u davatelja, osobito žena generativne dobi i frekventnih davatelja. Zbog toga se razmatra potreba implementacije mjera kojima bi se prevenirao deficit željeza i unaprijedila sigurnost davatelja krvi.

**Cilj:** Cilj rada bio je ispitati status željeza u dobrovoljnih davatelja krvi u RH, prije svega mjerenjem feritina u davatelja različitih učestalosti donacija, procijeniti dijagnostičku vrijednost parametara CKS - crvene krvne slike, kao i kombiniranog indeksa CCI (Combined Cell Index) u detekciji smanjenih zaliha željeza, procijeniti sigurnost davatelja u odnosu na zalihe željeza primjenom trenutno važećih kriterija odabira te razmotriti implementaciju mjera prevencije deficita željeza, osobito uvođenja feritina u testiranje davatelja.

**Metode:** U studiju je uključeno 1.084 muškaraca i 792 žene, koji su udovoljili svim zahtjevima za davanje pune krvi. Uz informirani pristanak i kratki upitnik o općim podacima i životnim navikama, uzeta su dva dodatna uzorka: jedan za ispitivanje KKS i jedan za određivanje feritina, serumskog željeza, UIBC/TIBC. Statistička analiza podataka rađena je primjenom MedCalc software-a i Excell 2016.

**Rezultati:** Kod muškaraca je dokazano linearno smanjenje koncentracije feritina u ovisnosti o frekvenciji davanja krvi, od medijana 129  $\mu\text{g/L}$  kod kontrolne skupine na 43  $\mu\text{g/L}$  u onih sa 7 – 8 donacija u dvije godine. Kod žena kontrolne skupine početna koncentracija feritina bila je 33  $\mu\text{g/L}$  (medijan), a u ispitanim grupama medijan feritina kretao se u uskom rasponu od 22  $\mu\text{g/L}$  do 29  $\mu\text{g/L}$  i u značajnoj je korelaciji sa statusom menstruacije. Deplecija zaliha željeza (feritin  $<12 \mu\text{g/L}$ ) nije nađena kod muškaraca iz kontrolne skupine, a u onih s 1 – 8 donacija u 2 godine nađena je s frekvencijom od 1,95%. Kod žena je 6,7% imalo depleciju željeza u kontrolnoj skupini i 17,2% u žena s 1 – 6 donacija u 2 godine. Indeks CCI pokazao je zadovoljavajuću dijagnostičku vrijednost u procjeni depletiranih zaliha željeza kod oba spola.

**Zaključak:** Uz intenzivnije mjere edukacije davatelja o značaju željeza i njegovog gubitka tijekom donacija krvi, predlaže se implementacija kvantitativne metode određivanja hemoglobina, uz postepeno uvođenje određivanja feritina.

**Ključne riječi:** davatelji krvi, zalihe željeza, feritin, CCI indeks



## 8. ABSTRACT

### **Investigation of iron status in Croatian blood donors**

**Introduction:** With each donation of whole blood, healthy blood donor loses 200 – 250 mg of iron. This loss is compensated by the mobilization of stored iron. Several studies showed that blood donors may be at risk of iron deficiency/depletion and the development of anemia. This risk is particularly pronounced in female donors of childbearing age and frequent blood donors. Therefore, implementation of numerous measures are considered in order to prevent iron deficiency and improve the safety of blood donors.

**Aim:** The aim of this study was to evaluate the iron status of voluntary blood donors in Croatia, primarily by measuring ferritin level in donors with different donation frequency, to assess the diagnostic value of RBC parameters, as well as combined cell index (CCI) in detecting reduced iron stores, to evaluate the blood donor safety in relation to the iron stores using current selection criteria and to consider the implementation of measures to prevent iron deficiency, particularly the introduction of ferritin testing in blood donors.

**Methods:** The study involved 1,084 male and 792 female whole blood donors, accepted for blood donation. In addition to the short questionnaire about general data and lifestyle, two additional samples were collected: one for the determination of complete blood count (CBC) and one for the determination of ferritin, serum iron, UIBC/TIBC. Statistical analysis was performed using the MedCalc software and Excel 2016.

**Results:** In male donors, linear drop of serum ferritin was demonstrated with increasing frequency of blood donations: from the median of 129 µg/L in the control group to 43 µg/L in those with 7 – 8 donations in two years. In control group of female donors, the median value of ferritin was 33 µg/L, while in test groups the median ferritin was within a narrow range between 22 µg/L and 29 µg/L, and in correlation with the menstrual status. Depleted iron stores (ferritin <12 µg/L) were found in males with the frequency of 0% in the control group and 1.95% in those with 1 – 8 donations in two years. Depleted iron stores were found in 6.7% females of the control group and in 17.2% of female donors with 1 – 6 donations in two years. Combined Cell Index (CCI) showed satisfactory diagnostic value in the assessment of depleted iron stores in both sexes.

**Conclusion:** In addition to more intense education of blood donors on the importance of iron and its loss during the blood donation, we propose the implementation of quantitative method for haemoglobin determination, along with the gradual introduction of ferritin test.

**Key words:** blood donors, iron stores, ferritin, combined cell index

## 9. LITERATURA

1. Royal Society of Chemistry [Internet]. Periodic table: Iron [pristupljeno 23.10.2016.]. Dostupno na: <http://www.rsc.org/periodic-table/element/26/iron>.
2. Chemicool [Internet]. Iron element facts. [pristupljeno 23.10.2016.] Dostupno na: <http://www.chemicool.com/elements/iron.html>.
3. Wood RJ, Ronnenberg A. Iron. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editors. *Modern Nutrition in Health And Disease*. 10th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. pp. 248–70.
4. Abbaspour N, Hurrell R, Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. *J Res Med Sci* 2014;19(2):164-74.
5. Gupta CP. Role of iron (Fe) in body. *IOSR Journal of Applied Chemistry* 2014;7(11):38-46.
6. Yip R, Dallman PR. Iron. In: Ziegler EE, Filer LJ, editors. *Present knowledge in nutrition*. 7th ed. Washington DC: ILSI Press; 1996. pp. 278–92.
7. Kiss JE. Laboratory and genetic assessment of iron deficiency in blood donors. *Clin Lab Med* 2015;35(1):73-91.
8. Cook JD, Flowers CH, Skikne BS. The quantitative assessment of body iron. *Blood* 2003;101(9):3359–64.
9. Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients [Internet]. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2001 [pristupljeno: 16.10.2016.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK222310/> doi: 10.17226/10026
10. Valberg LS, Sorbie J, Ludwig J, Pelletier O. Serum Ferritin and the Iron Status of Canadians. *Can Med Assoc J* 1976;114(5):417-21.
11. Myers AM, Saunders CRG, Chalmers DG. The haemoglobin level of fit elderly people. *Lancet* 1968;2(7562):261-3.
12. McGuigan MA. Acute iron poisoning. *Pediatr Ann* 1996;25(1):33-8.
13. Ratledge C. Iron, mycobacteria and tuberculosis. *Tuberculosis* 2004;84(1-2):110-30.
14. Altamura S, Muckenthaler MU. Iron toxicity in diseases of aging: Alzheimer's disease, Parkinson's disease and atherosclerosis. *J Alzheimers Dis* 2009;16(4):879-95.
15. Siah CW, Ombiga J, Adams LA, Trinder D, Olynyk JK. Normal iron metabolism and the pathophysiology of iron overload disorders. *Clin Biochem Rev* 2006;27(1):5-16.

16. Hallberg L, Hulthen L, Gramatkovski E. Iron absorption from the whole diet in men: how effective is the regulation of iron absorption? *Am J Clin Nutr* 1997;66(2):347–56.
17. McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, Rolfs A, Sager G, Mudaly E, et al. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* 2001;291(5509):1755–9.
18. Gunshin H, MacKenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997;388(6641):482–8.
19. Garry PJ, Koehler KM, Simon TL. Iron stores and iron absorption: effects of repeated blood donations. *Am J Clin Nutr* 1995;62(3):611–20.
20. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis – a new look at an old disease. *New Engl J Med* 2004;350(23):2383-97.
21. Ganz T. Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102(3):783-8.
22. Ganz T. Heparin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011;117(17):4425-33.
23. Anderson GJ, Frazer DM, McLaren GD. Iron absorption and metabolism. *Curr Opin Gastroenterol* 2009;25(2):129-35.
24. Anderson CP, Shen M, Eisenstein RS, Leibold EA. Mammalian iron metabolism and its control by iron regulatory proteins. *Biochim Biophys Acta* 2012;1823(9):1468–83.
25. Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell* 2004;117(3):285–97.
26. Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, Cowley L, Askwith C, Libina N, et al. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nature Genet* 1999;21(2):195–9.
27. Wang J, Pantopoulos K. Regulation of cellular iron metabolism. *Biochem J* 2011;434(3):365–381.
28. Waldvogel-Abramovski S, Waeber G, Gassner C, Buser A, Frey BM, Favrat B, et al. Physiology of iron metabolism. *Transfus Med Hemother* 2014;41(3):213–21.
29. Trinder D, Batey RG, Morgan EH, Baker E. Effect of cellular iron concentration on iron uptake by hepatocytes. *Am J Physiol* 1990;259(4 Pt 1):611–7.
30. Wright TL, Brissot P, Ma WL, Weisiger RA. Characterization of non-transferrin bound iron clearance by rat liver. *J Biol Chem* 1986;261(23):10909–14.
31. Breuer W, Hershko C, Cabantchik ZI. The importance of non-transferrin bound iron in disorders of iron metabolism. *Transfus Sci* 2000;23(3):185–92.

32. Eftkehari M, Mozaffari-Khosravi H, Shidfar F. The relationship between BMI and iron status in iron-deficient adolescent Iranian girls. *Public Health Nutr* 2009; 12(12):2377-81.
33. Nead KG, Halterman JS, Kaczorowski JM, Auinger P, Weitzman M. Overweight children and adolescents: a risk group for iron deficiency. *Pediatrics* 2004;114(1):104-8.
34. Yanoff LB, Menzie CM, Denkinger B, Sebring NG, McHugh T, Remaley AT, et al. Inflammation and iron deficiency in the hypoferrremia of obesity. *Int J Obes (Lond)* 2007;31(9):1412-9.
35. Menzie CM, Yanoff LB, Denkinger BI, McHugh T, Sebring NG, Calis KA, et al. Obesity-related hypoferrremia is not explained by differences in reported intake of heme and nonheme iron or intake of dietary factors that can affect iron absorption. *J Am Diet Assoc* 2008;108(1):145-8.
36. Galan P, Noisette N, Estaquio C, Czernichow S, Mennen L, Renversez JC, et al. Serum ferritin, cardiovascular risk factors and ischaemic heart diseases: a prospective analysis in the SU.VI.MAX (SUPPLEMENTATION EN VITAMINES ET MINÉRAUX ANTIOXYDANTS) cohort. *Public Health Nutr* 2006;9(1):70-4.
37. Milman N, Kirchhoff M. Relationship between serum ferritin and risk factors for ischaemic heart disease in 2235 Danes, aged 30-60 years. *Journal Int Med* 1999; 245(5):423-33.
38. Qin Y, Melse-Boonstra A, Pan X, Yuan B, Dai Y, Zhao J, et al. Anemia in relation to body mass index and waist circumference among Chinese women. *Nutr J* 2013;12:10.
39. Cheng HL, Bryant C, Cook R, O'Connor H, Rooney K, Steinbeck K. The relationship between obesity and hypoferrremia in adults: a systematic review. *Obes Rev* 2012;13(2):150-61.
40. Ghadiri-Anari A, Nazemian N, Vahedian-Ardakani H-A. Association of body mass index with hemoglobin concentration and iron parameters in Iranian population. *ISRN Hematol* 2014: 2014:525312.
41. Craig WJ. Iron status of vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1994;59(5 Suppl):1233-7.
42. Corre F, Lellouch J, Schwartz D. Smoking and leucocyte-counts. Results of an epidemiological survey. *Lancet* 1971;2(7725):632-4.
43. Helman N, Rubenstein LS. The effects of age, sex, and smoking on erythrocytes and leukocytes. *Am J Clin Pathol* 1975;63(1):35-44.

44. Whitehead TP, Robinson D, Allaway SL, Hale AC. The effects of cigarette smoking and alcohol consumption on blood haemoglobin, erythrocytes and leucocytes: a dose related study on male subjects. *Clin Lab Haematol* 1995;17(2):131-8.
45. Nordenberg D, Yip R, Binkin NJ. The effect of cigarette smoking on hemoglobin levels and anemia screening. *JAMA* 1990;264(12):1556-9.
46. Milman N, Pedersen AN. Blood haemoglobin concentrations are higher in smokers and heavy alcohol consumers than in non-smokers and abstainers—should we adjust the reference range? *Ann Hematol* 2009;88(7):687-94.
47. Van Tiel E, Peeters PH, Smit HA, Nagelkerke NJ, Van Loon AJ, Grobbee DE, et al. Quitting smoking may restore hematological characteristics within five years. *Ann Epidemiol* 2002;12(6):378-388.
48. Lee JW, Hyun WJ, Kwak SH. Iron status and its relations with nutrient intake, coffee drinking, and smoking in Korean urban adults. *J Community Nutrition* 2003;5(1):44-50.
49. Bain BJ, Rothwell M, Feher MD, Robinson R, Brown J, Sever PS. Acute changes in haematological parameters on cessation of smoking. *J R Soc Med* 1992;85(2):80-2.
50. Ghio AJ, Hilborn ED, Stonehuerner JG, Dailey LA, Carter JD, Richards JH, et al. Particulate matter in cigarette smoke alters iron homeostasis to produce a biological effect. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178(11):1130-8.
51. Rodger RSC, Fletcher K, Fail BJ, Rahman H, Sviland L, Hamilton PJ. Factors influencing haematological measurements in healthy adults. *J Chronic Dis* 1985;40(10):943-7.
52. Lapenna D, De Gioia S, Mezzeti A, Ciofani G, Consoli A, Marzio L, et al. Cigarette smoke, ferritin, and lipid peroxidation. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151(2 Pt 1):431-5.
53. Mazokopakis EE, Papadakis JA, Papadomanolaki MG, Lionis CD, Ganotakis ES. The relationship of serum ferritin level with cardiovascular risk factors in healthy men. *Arch Hellen Med* 2007;24(6):573-7.
54. Chick J, Pikkarainen J, Plant M. Serum ferritin as a marker of alcohol consumption in working men. *Alcohol Alcohol* 1987;22(1):75-7.
55. Irving MG, Halliday JW, Powell LW. Association between alcoholism and increased hepatic iron stores. *Alcohol Clin Exp Res* 1988;12(1):7-13.
56. Kristenson H, Fex G, Trelle E. Serum ferritin, gammaglutamyl-transferase and alcohol consumption in healthy middle-aged men. *Drug Alcohol Depend* 1981;8(1):43-50.

57. Leggett BA, Brown NN, Bryant SJ, Duplock L, Powell LW, Halliday JW. Factors affecting the concentrations of ferritin in serum in a healthy Australian population. *Clin Chem* 1990;36(7):1350-5.
58. Moirand R, Lescoat G, Delamaire D, Lauvin L, Campion JP, Deugnier Y, et al. Increase in glycosylated and nonglycosylated serum ferritin in chronic alcoholism and their evolution during alcohol with-drawal. *Alcohol Clin Exp Res* 1991;15(6):963-9.
59. Milman N, Kirchhoff M. Relationship between serum ferritin, alcohol intake, and social status in 2235 Danish men and women. *Ann Hematol* 1996;72(3):145-51.
60. Robinson S, Godfrey K, Denne J, Cox V. The determinants of iron status in early pregnancy. *Br J Nutr* 1998;79(3):249-55.
61. Ishii H, Kurose I, Kato S. Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stress. *J Gastroenterol Hepatol* 1997;12(9-10):272-82.
62. Nordmann R. Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol Alcohol* 1994;29(5):513-22.
63. Nordmann R, Ribière C, Rouach H. Involvement of iron and iron-catalyzed free radical production in ethanol metabolism and toxicity. *Enzyme* 1987;37(1-2):57-69.
64. Shaw S, Jayatilleke E. The role of cellular oxidases and catalytic iron in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury. *Life Sci* 1992;50(26):2045-52.
65. Tsukamoto H, Horne W, Kamimura S, Niemela O, Parkkila S, Yla-Herttuala S, et al. Experimental liver cirrhosis induced by alcohol and iron. *J Clin Invest* 1995;96(1):620-30.
66. Heinz R, Lorant P, Stacher A. Alcohol and changes in the hematopoietic system; an epidemiological contribution to the problem of alcoholic anemia, *Wien Klin Wochenschr* 1985;95(17):624-8.
67. Friedman IM, Kraemer HC, Mendoza FS, Hammer LD. Elevated serum iron concentration in adolescent alcohol users. *Am J Dis Child* 1988;142(2):156-9.
68. Furqan M, Nafees M, Jilani T, Mazhar Hijazi M. Relationship between physical activity and serum Ferritin levels. *Ann Abbasi Shaheed Hosp Karachi Med Dent Coll* 2002;7:306-9.
69. Lakka TA, Nyssonen K, Salonen JT. Higher levels of conditioning leisure time physical activity are associated with reduced levels of stored iron in Finnish man. *Am J Epidemiol* 1994;140(2):148-60.
70. Liu JM, Hankinson SE, Stampfer MJ, Rifai N, Willett WC, Ma J. Body iron stores and their determinants in healthy postmenopausal US women. *Am J Clin Nutr* 2003;78(6):1160-7.

71. Ferreira GC, Franco R, Lloyd SG, Moura I, Moura JJ, Huynh BH. Structure and function of ferrochelatase. *J Bioenerg Biomembr* 1995;27(2):221-9.
72. Koury MJ, Bondurant MC. 1992. The molecular mechanism of erythropoietin action. *Eur J Biochem* 1992;210(3):649-63.
73. Koury MJ, Ponka P. New insights into erythropoiesis: the roles of folate, vitamin B12 and iron. *Annu Rev Nutr* 2004;24:105-31.
74. Suominen P, Punnonen K, Rajamaki A, Irjala K. Serum transferrin receptor and transferrin receptor-ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron deficits. *Blood* 1998;92(8):2934-9.
75. WHO. [Internet]. Worldwide prevalence of anemia 1993-2005: WHO global database on anemia. Edited by Bruno de Benoist, Erin McLean, Ines Egli and Mary Cogswell, Geneva, 2008 [pristupljeno 09.10.2016.]. Dostupno na: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43894/1/9789241596657\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43894/1/9789241596657_eng.pdf).
76. Cogswell ME, Looker AC, Pfeiffer CM, Cook JD, Lacher DA, Beard JL, et al. Assessment of iron deficiency in US preschool children and nonpregnant females of childbearing age: National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2006. *Am J Clin Nutr* 2009;89(5):1334-42.
77. Clark SF. Iron deficiency anemia. *Nutr Clin Pract* 2008;23(2):128-41.
78. Goddard AF, James MW, McIntyre AS, Scott BB; British Society of Gastroenterology. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. *Gut* 2011;60(10):1309-16.
79. McIntyre AS, Long RG. Prospective survey of investigations in outpatients referred with iron deficiency anaemia. *Gut* 1993;34(8):1102-7.
80. Hercberg S, Preziosi P, Galan P. Iron deficiency in Europe. *Public Health Nutr* 2001;4(2B):537-45.
81. Kepczyk T, Kadakia SC. Prospective evaluation of gastrointestinal tract in patients with iron-deficiency anemia. *Dig Dis Sci* 1995;40(6):1283-9.
82. Birgegard G, Schneider K, Ulfberg J. High incidence of iron depletion and restless leg syndrome (RLS) in regular blood donors: intravenous iron sucrose substitution more effective than oral iron. *Vox Sang* 2010;99(4):354-61.
83. Bryant BJ, Yau YY, Arceo SM, Hopkins JA, Leitman SF. Ascertainment of iron deficiency and depletion in blood donors through screening questions for pica and restless legs syndrome. *Transfusion* 2013;53(8):1637-44.
84. Schulte EC, Kaffe M, Schormair B, Winkelmann J. Iron in restless legs syndrome. *Movement Disorders Clinical Practice* 2014;1(3):161-72.

85. Silber MH, Richardson JW. Multiple blood donations associated with iron deficiency in patients with restless legs syndrome. *Mayo Clin Proc* 2003;78(1):52-4.
86. Engberink MF, Geleijnse JM, Durga J, Swinkels DW, de Kort WL, Schouten EG, et al. Blood donation, body iron status and carotid intima-media thickness. *Atherosclerosis* 2008;196(2):856-62.
87. Holay MP, Choudhary AA, Suryawanshi SD. Serum ferritin – a novel risk factor in acute myocardial infarction. *Indian Heart J* 2012;64(2):173–7.
88. DePalma RG, Zacharski LR, Chow BK, Shamayeva G, Hayes VW. Reduction of iron stores and clinical outcomes in peripheral arterial disease: Outcome comparisons in smokers and non-smokers. *Vascular* 2013;21(4):233-41.
89. Knuiman MW, Divitini ML, Olynyk JK, Cullen DJ, Bartholomew HC. Serum ferritin and cardiovascular disease: A 17-year follow-up study in Busselton, Western Australia. *Am J Epidemiol* 2003;158(2):144–9.
90. Ascherio A, Rimm EB, Giovannucci E, Willett WC, Stampfer MJ. Blood donations and risk of coronary heart disease in men. *Circulation* 2001;103(1):52–7.
91. Baer DM, Tekawa IS, Hurley LB. Iron stores are not associated with acute myocardial infarction. *Circulation* 1994;89(6):2915–8.
92. Braun S, Ndrepepa G, von Beckerath N, Vogt W, Schömig A, Kastrati A. Value of serum ferritin and soluble transferrin receptor for prediction of coronary artery disease and its clinical presentations. *Atherosclerosis* 2004;174(1):105–10.
93. Hann HW, Stahlhut MW, Blumberg BS. Iron nutrition and tumor growth: decreased tumor growth in iron-deficient mice. *Cancer Res* 1988;48(15):4168-70.
94. Akiba S, Neriishi K, Blot WJ, Kabuto M, Stevens RG, Kato H, et al. Serum ferritin and stomach cancer risk among a Japanese population. *Cancer* 1991;67(6):1707–12.
95. Ali MA, Akhmedkhanov A, Zeleniuch-Jaquotte A, Toniolo P, Frenkel K, Huang Xi. Reliability of serum iron, ferritin, nitrite, and association with risk of renal cancer in women. *Cancer Detect Prev* 2003;27(2):116–21.
96. Edgren G, Reilly M, Hjalgrim H, Tran TN, Rostgaard K, Adami J, et al. Donation frequency, iron loss, and risk of cancer among blood donors. *J Natl Cancer Inst* 2008;100(8):572–9.
97. Brownlie T 4th, Utermohlen V, Hinton PS, Haas JD. Tissue iron deficiency without anemia impairs adaptation in endurance capacity after aerobic training in previously untrained women. *Am J Clin Nutr* 2004;79(3):437–43.



98. Bruner AB, Joffe A, Duggan AK, Casella JF, Brandt J. Randomised study of cognitive effects of iron supplementation in non-anaemic iron-deficient adolescent girls. *Lancet* 1996;348(9033):992-6.
99. Corwin EJ, Murray-Kolb LE, Beard JL. Low hemoglobin level is a risk factor for postpartum depression. *J Nutr* 2003;133(12):4139–42.
100. Fernandez-Real JM, Lopez-Bermejo A, Ricart W. Iron stores, blood donation, and insulin sensitivity and secretion. *Clin Chem* 2005;51(7):1201–5.
101. Houshyar KS, Lüdtke R, Dobos GJ, Kalus U, Broecker-Preuss M, Rampp T, et al. Effects of phlebotomy-induced reduction of body iron stores on metabolic syndrome: Results from a randomized clinical trial. *BMC Med* 2012;10:54.
102. WHO (2009) Media centre, fact sheets, Blood safety and availability, Facts and figures from the 2007 Blood Safety Survey [Internet]. Fact sheet N°279 [pristupljeno 09.10.2016.]. Dostupno na: [http://www.wiredhealthresources.net/resources/NA/WHO-FS\\_GlobalBloodSafetyAndAvailability.pdf](http://www.wiredhealthresources.net/resources/NA/WHO-FS_GlobalBloodSafetyAndAvailability.pdf)
103. Balija M, Očić T, Hećimović A. Izvješće o rezultatima rada Transfuzijske službe u Hrvatskoj u 2014. g. *Transfuziološki Vjesnik*; 2015:55.
104. Conrad ME, Crosby WH, Jacobs A, Kaltwasser JP, Nusbacher J. The Hippocratic principle of “primum nil nocere” demands that the metabolic state of a donor should be normalized prior to a subsequent donation of blood or plasma. How much blood, relative to his body weight, can a donor give over a certain period, without a continuous deviation of iron metabolism in the direction of iron deficiency? *Vox Sang* 1981;41(5-6):336-43.
105. Karp JK, King KE. International variation in volunteer whole blood donor eligibility criteria. *Transfusion* 2010;50(2):507-13.
106. Eder AF, Goldman M, Rossmann S, Waxman D, Bianco C. Selection criteria to protect the blood donor in North America and Europe: past (dogma), present (evidence), and future (hemovigilance). *Transfus Med Rev* 2009;23(3):205-20.
107. De Kort W, Mayr W, Jungbauer C, Vuk T, Kullaste R, Seifried E, et al. Blood donor selection in European Union directives: room for improvement. *Blood Transfus* 2016;14(2):101-8.
108. Zou S, Musavi F, Notari EP, Rios JA, Trouern-Trend J, Fang CT. Donor deferral and resulting donor loss at the American Red Cross Blood Services, 2001 through 2006. *Transfusion* 2008;48(12):2531-9.

109. Tomasulo PA, Anderson AJ, Paluso MB, Gutschenritter MA, Aster RH. A study of criteria for blood donor deferral. *Transfusion* 2003;20(5):511-8.
110. van den Burg PJM, Magnussen K. Ethical aspects of blood donors and the recipients of their blood. *J Blood Transfus* 2012;2012:606753. doi: 10.1155/2012/606753.
111. Mast AE, Schlumpf KS, Wright DJ, Custer B, Spencer B, Murphy EL, et al. Demographic correlates of low hemoglobin deferral among prospective whole blood donors. *Transfusion* 2010;50(8):1794-802.
112. Custer B, Johnson ES, Sullivan SD, Hazlet TK, Ramsey SD, Hirschler NV, et al. Quantifying losses to the donated blood supply due to donor deferral and miscollection. *Transfusion* 2004;44(10):1417–26.
113. Bianco C, Brittenham G, Gilcher RO, Gordeuk VR, Kushner JP, Sayers M, et al. Maintaining iron balance in women blood donors of childbearing age: summary of a workshop. *Transfusion* 2002;42(6):798–805.
114. Newman, B. Improving the US blood supply and blood donation safety for both women and men. *Transfusion* 2008;48(5):1032-5.
115. Hillgrove T, Moore V, Doherty K, Ryan P. The impact of temporary deferral due to low hemoglobin: future return, time to return, and frequency of subsequent donation. *Transfusion* 2011;51(3):539–47.
116. Bahadur S, Jain S, Goel RK, Pahuja S, Jain M. Analysis of blood donor deferral characteristics in Delhi, India. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2009; 40(5):1087-91.
117. Halperin D, Baetens J, Newman B. The effect of short-term, temporary deferral on future blood donation. *Transfusion* 1998;38(2):181-3.
118. Son Il K, Panza A, Chiewsilp P. Donor care service for deferred donors due to anemia or low hemoglobin in national blood center, Thai Red Cross Society. *J Health Res* 2011;25(3):123-7.
119. Røsvik AS, Hervig T, Wentzel-Larsen T, Ulvik RJ. Iron status in Norwegian blood donors: comparison of iron status in new blood donors registered in 1993–1997 and in 2005-2006. *Vox Sang* 2009;96(1):49-55.
120. Delaney M, Schellhase KG, Young S, Geiger S, Fink A, Mast AE. Blood center practice and education for blood donors with anemia. *Transfusion* 2010;51(5):929-36.
121. Zwart A, van Assendelft OW, Bull BS, England JM, Lewis SM, Zijlstra WG. ICSH Recommendations for reference method for hemoglobinometry in human blood (ICSH

- standards 1995) and specifications for international hemoglobincyanamide standard. *J Clin Pathol* 1996;49(4):271–4.
122. Kristal-Boneh E, Froom P, Harari G, Shapiro Y, Green MS. Seasonal changes in red blood cell parameters. *Br J Haematol* 1993;85(3):603–7.
  123. Lau P, Hansen M, Sererat M. Influence of climate on donor deferrals. *Transfusion* 1988;28(6):559–62.
  124. Philipps RA, VanSlyke DD, Hamilton PB, Dole VP. Measurement of specific gravities of whole blood and plasma by standard copper sulphate solutions. *J Biol Chem* 1950;183:305–30.
  125. Vuk T, Magnussen K, De Kort W, Follea G, Liembruno GM, Schennach H, et al. International forum: an investigation of iron status in blood donors. *Blood Transfus* 2016; doi: 10.2450/2016.0101-16.
  126. Ross DG, Gilfillan AC, Houston DE, Heaton WA. Evaluation of hemoglobin screening methods in prospective blood donors. *Vox Sang* 1986;50(2):78–80.
  127. Radtke H, Polat G, Kalus U, Salama A, Kiesewetter H. Hemoglobin screening in prospective blood donors: Comparison of different blood samples and different quantitative methods. *Transfus Apher Sci* 2005;33(1):31–5.
  128. Brecher MG, Leger RM, Linden JV, Roseff SD. Blood collection, storage and component preparation. 15th ed. Maryland: American Association of Blood Banks (AABB); 2005. Technical manual; pp. 799–800.
  129. Dacie JV, Lewis SM, editors. *Practical Hematology* 9th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2001.; p. 23.
  130. Tong E, Murphy WG, Kinsella A, Darragh E, Woods J, Murhpy C, et al. Capillary and venous haemoglobin levels in blood donors: a 42-month study of 36 258 paired samples. *Vox Sang* 2010;98(4):547–53.
  131. Badevant B, Porra V, Adjou C, Chuteau C, Chartois-Leaute AG, Bonaguidi M, et al. Retrospective analysis of pre-donation hemoglobin screening implementation in a French regional blood establishment (EFS Pays De La Loire). *Vox Sang* 2011;101(Suppl 1):P-144, 136.
  132. Pinto M, Barjas-Castro ML, Nascimento S, Falconi MA, Zulli R, Castro V. The new noninvasive occlusion spectroscopy hemoglobin measurement method: a reliable and easy anemia screening test for blood donors. *Transfusion* 2013;53(4):766–9.

133. Singh A, Dubey A, Sonker A, Chaudhary R. Evaluation of various methods of point-of-care testing of haemoglobin concentration in blood donors. *Blood Transfusion* 2015;13(2):233-9.
134. Belardinelli A, Benni M, Tazzari PL, Pagliaro P. Noninvasive methods for haemoglobin screening in prospective blood donors. *Vox Sang* 2013;105(2):116-20.
135. Avoy DR, Canuel ML, Otton BM, Mileski EB. Hemoglobin screening in prospective blood donors: a comparison of methods. *Transfusion* 1977;17:261-4.
136. Cable RG. Hemoglobin Determination in Blood Donors. *Transfusion Medicine Reviews* 1995;9(2):131-44.
137. Nadarajan V, Sthaneshwar P, Eow GI. Use of red blood cell indices for the identification of iron deficiency among blood donors. *Transfus Med* 2008;18(3):184-9.
138. Radtke H, Meyer T, Kalus U, Röcker L, Salama A, Kiesewetter H, et al. Rapid identification of iron deficiency in blood donors with red cell indexes provided by Advia 120. *Transfusion* 2005;45(1):5-10.
139. O'Meara A, Infanti L, Stebler C, Ruesch M, Sigle JP, Stern M, et al. The value of routine ferritin measurement in blood donors. *Transfusion* 2011;51(10):2183-8.
140. Wang W, Knovich MA, Coffman LG, Torti FM, Torti SV. Serum ferritin: past, present and future. *Biochim Biophys Acta* 2010;1800(8):760-9.
141. Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA. A clinical evaluation of serum ferritin as an index of iron stores. *N Engl J Med* 1974;290(22):1213-6.
142. Adams P. Management of elevated serum ferritin level. *Gastroenterol Hepatol (NY)* 2008;4(5):333-4.
143. Kell DB, Pretorius E. Serum ferritin is an important inflammatory disease marker, as it is mainly a leakage product from damaged cells. *Metallomics* 2014;6(4): 748-73.
144. Gibson R. *Principles of nutritional assessment*, 2nd ed. Oxford, UK, Oxford University Press, 2005.
145. Boulton F, Inskip H, Nightingale C. The "Combined Cell Index" (CCI) – a new insight into the iron status of blood donors. *Transfusion Medicine* 2007;17(Suppl. 1):12.
146. Pasricha SR, McQuilten Z, Westerman M, Keller A, Nemeth E, Ganz T, et al. Serum hepcidin as a diagnostic test of iron deficiency in premenopausal female blood donors. *Haematologica* 2011;96(8):1099-105.
147. Kroot JJ, Kemna EH, Bansal SS, Busbridge M, Campostrini N, Girelli D, et al. Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. *Haematologica* 2009;94(12):1748-52.

148. Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood* 2008;112(10):4292–7.
149. Schifman RB. Red cell protoporphyrin: an alternative to serum ferritin for assessing iron depletion. *Clin Chem* 1982;28(7):1626.
150. Baart AM, de Kort WL, Moons KG, Atsma F, Vergouwe Y. Zinc protoporphyrin levels have added value in the prediction of low hemoglobin deferral in whole blood donors. *Transfusion* 2013;53(8):1661–9.
151. Cable RG, Glynn SA, Kiss JE, Mast AE, Steele WR, Murphy EL, et al. Iron deficiency in blood donors: the REDS-II Donor Iron Status Evaluation (RISE) study. *Transfusion* 2012;52(4):702–11.
152. Skikne B, Lynch S, Borek D, Cook J. Iron and blood donation. *Clin Haematol* 1984;13(1):271–87.
153. Ali MA, Luxton AW, Walker WH. Serum ferritin concentration and bone marrow iron stores: a prospective study. *Can Med Assoc J* 1978;118(8):945–6.
154. Alexander HD, Sherlock JP, Bharucha C. Red cell indices as predictors of iron depletion in blood donors. *Clin Lab Haematol* 2000;22(5):253-8.
155. Ghosh K. Iron deficiency in healthy blood donors exposes vulnerability of the nation to iron deficiency. *Indian J Med Res* 2006;124(6):611-2.
156. Alvarez-Ossorio L, Kirchner H, Klüter H, Schlenke P. Low ferritin levels indicate the need for iron supplementation: strategy to minimize iron depletion in regular blood donors. *Transfus Med* 2000;10(2):107-12.
157. Booth AO, Lim K, Capper H, Irving D, Fisher J, McNaughton SA, et al. Iron status and dietary iron intake of female blood donors. *Transfusion* 2013;54(3 Pt 2):770-4.
158. Heath AL, Skeaff CM, O'Brien SM, Williams SM, Gibson RS: Can dietary treatment of non-anemic iron deficiency improve iron status? *J Am Coll Nutr* 2001, 20(5):477-84.
159. Cançado RD, Langhi-Júnior D. Blood donation, blood supply, iron deficiency and anemia - It is time to shift attention back to donor health. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2012;34(5):330-1.
160. Bani M, Giussani B. Gender differences in giving blood: a review of the literature. *Blood Transfus* 2010;8(4):278-87.
161. Simon TL. Iron, iron everywhere but not enough to donate. *Transfusion* 2002;42(6):664.
162. Vuk T, Šarlija D, Balija M, Grgičević D. Hemoglobin determination in blood donors. *Vox Sang* 1998;75(1):73.

163. Cable RG, Steele WR, Melmed RS, Johnson B, Mast AE, Carey PM, et al. The difference between fingerstick and venous hemoglobin and hematocrit varies by sex and iron stores. *Transfusion* 2012;52(5):1031–40.
164. Baart AM, van Noord PA, Vergouwe Y, Moons KG, Swinkels DW, Wiegerinck ET, et al. High prevalence of subclinical iron deficiency in whole blood donors not deferred for low hemoglobin. *Transfusion* 2013;53(8):1670-7.
165. Beutler E, Waalen J. The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? *Blood* 2006;107(5):1747-50.
166. Nadarajan V, Sthaneshwar P, Eow GI. Anemia and iron status among blood donors in a blood transfusion unit in Malaysia. *Malays J Pathol* 2002;24(2):99-102.
167. Abdullah SM. The effect of repeated blood donations on the iron status of male Saudi blood donors. *Blood Transfus* 2011;9(2):167-71.
168. Moghadam AM, Natanzi MM, Djalali M, Saedisomeolia A, Javanbakht MH, Saboor-Yaraghi AA, et al. Relationship between blood donors' iron status and their age, body mass index and donation frequency. *Sao Paulo Med J* 2013;131(6):377-83.
169. Finch CA, Cook JD, Ladde RF, Culala M. Effect of blood donation on iron stores as evaluated by serum ferritin. *Blood* 1977;50(3):441-7.
170. Goldman M, Uzicanin S, Scalia V, O'Brien SF. Iron deficiency in Canadian blood donors. *Transfusion* 2014;54(3 Pt 2):775–9.
171. Milman N, Kirschoff M. Iron stores in 1433, 30- to 60-year-old Danish males. Evaluation by serum ferritin and haemoglobin. *Scand J Clin Lab Invest* 1991;51(7):635-41.
172. Tardtong P, Sthabunswadigarn S, Atamasirikul K, Chaunsumrit A, Suwannuruk R. Iron stores in Thai blood donors. *J Med Assoc Thai* 2000;83(Suppl. 1):146–51.
173. Okpokam DC, Emeribe AO, Akpotuzor, JO. Frequency of blood donation and iron stores of blood donors in Calabar, Cross River, Nigeria. *International Journal of Biomedical Laboratory Science (IJBLS)* 2012;1(2):40-3.
174. Mahida VI, Bahatti A, Gupte SC. Iron status of regular voluntary blood donors. *Asian J Transfus Sci* 2008;2(1):9-12.
175. Hernández Lamas MC, López Pérez-Lanzac JC, Prat Arrojo I, Sánchez Gordo F, Arleth Christensen E, Sánchez Font E. Determination of serum ferritin: ideas for avoiding induced ferropenia in blood donors. *Sangre (Barc)* 1994;39(1):9-14.
176. Badar A, Ahmed A, Ayb M, Ansari AK. Effect of frequent blood donation on iron stores of non anaemic male blood donors. *J. Ayub Med Coll Abbottabad* 2002;14(2):24-7.

177. Mackintosh M, Jacobs P. Response in serum ferritin and haemoglobin to iron therapy in blood donors. *Am J Hematol* 1988;27(1):17-9.
178. Linpisarn S, Thanangkul O, Suwanraj C, Kaewvichit R, Krieka LJ, Whitehead P. Iron deficiency in Northern Thai Population: the effect of iron supplement studied by means of plasma ferritin estimations. *Ann Clin Biochem* 1984;21(4):268 -74.
179. Milman N, Sondergaard M. Iron stores in male blood donors evaluated by serum ferritin. *Transfusion* 1984;24(6):464-8.
180. Milman N, Kirchhoff M. Influence of blood donation on iron stores assessed by serum ferritin and haemoglobin in a population survey of 1433 Danish males. *Eur J Haematol* 1991;47(2):134-9.
181. Szymczyk-Nuzka M, Wolowiec D. Iron stores in regular blood donors. *Pol Arch Med Wewn* 2003;110(6):1415-21.
182. Simon TL, Garry PJ, Hooper EM. Iron stores in blood donors. *JAMA* 1981;245(20):2038-43.
183. Yousefinejad V, Darvishi N, Arabzadeh M, Soori M, Magsudlu M, Shafiayan M. The evaluation of iron deficiency and anemia in male blood donors with other related factors. *Asian J Transfus Sc* 2010;4(2):123-7.
184. Cançado RD, Chiatone CS, Alonso FF, et al. Iron deficiency in blood donors. *Sao Paulo Med J* 2001;119(4):132-4.
185. Cable RG, Glynn SA, Kiss JE, Mast AE, Steele WR, Murphy EL, et al. Iron deficiency in blood donors: analysis of enrollment data from the REDS-II Donor Iron Status Evaluation (RISE) study. *Transfusion* 2011;51(3):511–22.
186. Badami KG, Taylor K. Iron status and risk-profiling for deficiency in New Zealand blood donors. *N Z Med J* 2008;121(1274):50-60.
187. Salvin HE, Pasricha SR, Marks DC, Speedy J. Iron deficiency in blood donors: a national cross-sectional study. *Transfusion* 2014;54(10):2434–44.
188. Brittenham GM. Iron balance in the red blood cell donor. *Dev Biol (Basel)* 2005;120:77–82.
189. Beck KL, Conlon CA, Kruger R, Heath ALM, Matthys C, Coad J, et al. Blood donation, being Asian, and a history of iron deficiency are stronger predictors of iron deficiency than dietary patterns in premenopausal women. *Biomed Res Int* 2014;2014:652860.
190. Lee CK, Wong HK, Hong J, Leung JNS, Tsoi WC, Lin CK. A study of the pre-donation hemoglobin and iron status among Hong Kong Chinese blood donors. *Transfusion* 2013;53(2):322-7.

191. Newman B. Iron depletion by whole-blood donation harms menstruating females: The current whole-blood-collection paradigm needs to be changed. *Transfusion* 2006;46(10):1667-81.
192. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. Iron deficiency—United States, 1999-2000. 2002;51(40):897-9.
193. Halvorsen R, Flesland O, Solheim BG, Borch-Johnsen B, Leivestad T. Iron status in blood donors evaluated by serum ferritin. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1990;110(2):189-91.
194. Rigas AS, Sørensen CJ, Pedersen OB, Petersen MS, Thørner LW, Kotzé S, et al. Predictors of iron levels in 14,737 Danish blood donors: results from the Danish Blood Donor Study. *Transfusion* 2014;54(3 Pt 2):789-96.
195. Milman N, Kirchoff M. The Influence of blood donation on iron stores assessed by serum ferritin and hemoglobin in a population survey of 1359 Danish woman. *Ann Hematol* 1991;63(1):27-32.
196. Janssen CA, Scholten PC, Heintz AP. A simple visual assessment technique to discriminate between menorrhagia and normal menstrual blood loss. *Obstet Gynecol* 1995;85(6):977-82.
197. Rangan AM. Factors affecting iron status in 15-30 year old female students. *Asia Pac J Clin Nutr* 1997;6(4):291-5.
198. Cook JD, Skikne BS, Lynch SR, Reusser ME. Estimates of iron sufficiency in the US population. *Blood* 1986;68(3):726-31.
199. Rushton DH, Dover R, Sainsbury AW, Norris MJ, Gilkes JJ, Ramsay ID. Why should women have lower reference limits for haemoglobin and ferritin concentrations than men? *BMJ* 2001;322(7298):1355-7.
200. Mast AE, Foster TM, Pinder HL, Beczkiewicz CA, Bellissimo DB, Murphy AT, et al. Behavioral, biochemical, and genetic analysis of iron metabolism in high-intensity blood donors. *Transfusion* 2008;48(10):2197-204.
201. Frey BM, Rüfer A, Hardegger K, Bachmann G, Kuhn C, Schmid I, et al. Iron balance remains stable in life-long blood donors. *Forum Med Suisse* 2007;7:78.
202. Mast AE, Lee TH, Schlumpf KS, Wright DJ, Johnson B, Carrick DM, et al. The impact of HFE mutations on haemoglobin and iron status in individuals experiencing repeated iron loss through blood donation. *Br J Haematol* 2012;156(3):388-401.
203. Peffer K, den Heijer M, Holewijn S, de Graaf J, Swinkels DW, Verbeek AM, et al. The effect of frequent whole blood donation on ferritin, hepcidin, and subclinical atherosclerosis. *Transfusion* 2013;53(7):1468-74.



204. Røsvik AS, Ulvik RJ, Wentzel-Larsen T, Hervig T. The effect of blood donation frequency on iron status. *Transfus Apher Sci* 2009;41(3):165-9.
205. Javadzadeh Shahshahani H, Attar M, Taher Yavari M. A study of the prevalence of iron deficiency and its related factors in blood donors of Yazd, Iran, 2003. *Transfusion Medicine* 2005;15(4):287-93.
206. Jaime JC, Cazarez R, Mares MA, Marfil LJ, Harrison CR. Iron stores in remunerated blood donors as evaluated by plasma ferritin levels. *Transfusion* 1988;28:62–5.
207. Erhabor O, Imrana S, Buhari HA, Abdulrahaman Y, Wase AA, Ikhuenbor D, et al. Iron deficiency among blood donors in Sokoto, North Western, Nigeria. *Open Journal of Blood Diseases* 2014;4:33-42.
208. Alam F, Memon AS, Fatima SS. Increased Body Mass Index may lead to hyperferritinemia irrespective of body iron stores. *Pak J Med Sci* 2015;31(6):1521-6.
209. Ausk KJ, Ioannou GN. Is obesity associated with anemia of chronic disease? A population-based study. *Obesity* 2008;16(10):2356–61.
210. Pynaert I, De Bacquer D, Matthys C, Delanghe J, Temmerman M, De Backer G, et al. Determinants of ferritin and soluble transferrin receptors as iron status parameters in young adult women. *Public Health Nutrition* 2009;12(10):1775–82.
211. Aeberli I, Hurrell RF, Zimmermann MB. Overweight children have higher circulating hepcidin concentrations and lower iron status but have dietary iron intakes and bioavailability comparable with normal weight children. *Int J Obes* 2009;33(10):1111–7.
212. Lecube A, Hernández C, Pelegrí D, Simó R. Factors accounting for high ferritin levels in obesity. *Int J Obes* 2008;32(11):1665–9.
213. Lecube A, Carrera A, Losada E, Hernández C, Simó R, Mesa J. Iron deficiency in obese postmenopausal women. *Obesity* 2006;14(10):1724–30.
214. Pinhas-Hamiel O, Newfield RS, Koren I, Agmon A, Lilos P, Phillip M. Greater prevalence of iron deficiency in overweight and obese children and adolescents. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27(3):416–8.
215. Tussing-Humphreys LM, Liang H, Nemeth E, Freels S, Braunschweig CA. Excess adiposity, inflammation, and iron-deficiency in female adolescents. *J Am Diet Assoc* 2009;109(2):297–302.
216. Cruz del Castillo AH, García Fierro R, Hess Moreno MI, Vigil Pérez CA, Córdova Fernández JA, Chuck Santiago MP, et al. Metabolic syndrome prevalence and clinical features in blood donors. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba* 2012;69(3):144-9.

217. WHO [Internet]. Global database on Body Mass Index: BMI classification [pristupljeno 09.10.2016.]. Dostupno na:  
[http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html)
218. Zacharski LR, Ornstein DL, Woloshin S, Schwartz LM. Association of age, sex, and race with body iron stores in adults: analysis of NHANES III data. *Am Heart J* 2000;140(1):98–104.
219. Custer EM, Finch CA, Sobel RE, Zettner A. Population norms for serum ferritin. *J Lab Clin Med* 1995;126(1):88–94.
220. Dečković Vukres V, Ivičević Uhernik A, Mihel S. Istraživanje o uporabi duhana u odrasloj populaciji Republike Hrvatske. [Internet]. Hrvatski zavod za javno zdravstvo 2015. [pristupljeno 02.10.2016.]. Dostupno na:  
[http://apps.who.int/fctc/implementation/database/sites/implementation/files/documents/reports/croatia\\_2016\\_annex1\\_tobacco\\_questions\\_for\\_surveys\\_2015.pdf](http://apps.who.int/fctc/implementation/database/sites/implementation/files/documents/reports/croatia_2016_annex1_tobacco_questions_for_surveys_2015.pdf)
221. Mast AE, Steele WR, Johnson B, Wright DJ, Cable RG, Carey P, et al. Population-based screening for anemia using first-time blood donors. *Am J Hematol* 2012;87(5):496–502.
222. Lee SH, Kim EY, Lee SK, Hong JY, Kim YS. The relationship between serum ferritin levels, smoking, and lung function in Korean: analysis of the fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES IV). *Chest* 2011;140:568A.
223. Grønbaek M, Heitmann BL. Validity of self-reported intakes of wine, beer and spirits in population studies. *Eur J Clin Nutr* 1996;50(7):487-90.
224. Whitfield JB, Zhu G, Heath AC, Powell LW, Martin NG. Effects of alcohol consumption on indices of iron stores and of iron stores on alcohol intake markers. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25(7):1037–1045.
225. Bedford JL, Barr SI. Diets and selected lifestyle practices of self-defined adult vegetarians from a population-based sample suggest they are more 'health conscious'. *Int J Behav Nutr Phys Act* 2005;2:4.
226. Pongstaporn W, Bunyaratavej A. Hematological parameters, ferritin and vitamin B12 in vegetarians. *J Med Assoc Thai* 1999;82(3):304–11.
227. Hawk SN, Englehardt KG, Small C. Risks of iron deficiency among vegetarian college women. *Health* 2012;4(3):113-9.
228. Heitmann BL, Milman N, Hansen GL. Relationship between dietary iron intake, corrected for diet reporting error, and serum ferritin in Danish women aged 35-65 years. *Br J Nutr* 1996;75:905-13.

229. Naimark BJ, Ready AE, Sawatzky JA, Sawatzky JA, Boreskie S, Ducas J, et al. Serum ferritin and heart disease: the effect of moderate exercise on stored iron levels in postmenopausal women. *Can J Cardiol* 1996;12(12):1253-7.
230. Kaiser V, Janssen GM, van Wersch JW. Effect of training on red blood cell parameters and plasma ferritin: a transverse and a longitudinal approach. *Int J Sports Med* 1989;10(Suppl. 3):169-75.
231. Friedmann B, Weller E, Mairbaurl H, Bartsch P. Effects of iron repletion on blood volume and performance capacity in young athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33(5):741-6.
232. Reinke S, Taylor WR, Duda GN, von Haehling S, Reinke P, Volk HD, et al. Absolute and functional iron deficiency in professional athletes during training and recovery. *Int J Cardiol* 2010;156(2):186-91.
233. Hrvatska komora medicinskih biokemičara [Internet]. Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije. 2004 [pristupljeno 02.10.2016.].  
Dostupno na:  
[https://www.google.hr/?gws\\_rd=ssl#q=Hrvatska+komora+medicinskih+biokemi%C4%8Dara+referentne+vrijednosti](https://www.google.hr/?gws_rd=ssl#q=Hrvatska+komora+medicinskih+biokemi%C4%8Dara+referentne+vrijednosti)
234. Jacob M, Annaheim S, Boutellier U, Hinske C, Rehm M, Breyman C, et al. Haematocrit is invalid for estimating red cell volume: a prospective study in male volunteers. *Blood Transfus* 2012;10(4):471-9.
235. Tiwari AK, Chandola I, Ahuja A. Approach to blood donors with microcytosis. *Transfus Med* 2010;20(2):88-94.
236. Manascero-Gómez AR, Bravo-Espinosa M, Solano-Muriel K, Poutou-Piñales RA. Influence of blood donation time intervals on ferritin and hemoglobin concentration. *Transfus Apher Sci* 2015;53(2):213-9.
237. Norashikin J, Roshan TM, Rosline H, Zaidah AW, Suhair AA, Rapiaah M. A study of serum ferritin levels among male blood donors in Hospital Universiti sains Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006;37(2):370-3.
238. Bryant BJ, Hopkins JA, Arceo SM, Leitman SF. Evaluation of low red blood cell mean corpuscular volume in an apheresis donor population. *Transfusion* 2009;49(9): 1971-6.
239. Obeidi N, Safavi E, Emami H. Evaluation of the effect of temperature and time of incubation on complete blood count (CBC) tests. *African Journal of Biotechnology* 2012;11(7):1761-3.

240. Chiamchanya N. Rapid recovery time of hemoglobin level in female regular blood donors with ferrous fumarate and high dose of ascorbic acid supplement. *J Med Assoc Thai* 2013;96(2):165-71.
241. Djalali M, Neyestani TR, Bateni J, Siassi F. The effect of repeated blood donations on the iron status of Iranian blood donors attending the Iranian blood transfusion organization. *Int J Vitam Nutr Res* 2006;76(3):132-7.
242. Kwa SB. The effect of repeated blood donation on the haemoglobin, haematocrit and serum iron values of regular blood donors. *Singapore Med J* 1969;10(3):139-47.
243. Stern M, O'Meara A, Infanti L, Sigle JP, Buser A. Prognostic value of red blood cell parameters and ferritin in predicting deferral due to low hemoglobin in whole blood donors. *Ann Hematol* 2012;91(5):775–80.
244. Lippi G, Plebani M. Red blood cell distribution width (RDW) and human pathology. One size fits all. *Clin Chem Lab Med* 2014;52(9): 1247-9.
245. Choudhary M, Sharma D, Shekhawat DS, Dabi D. Significance of Red Cell Distribution Width in the diagnosis of iron deficiency anemia: an observational study from India. *J Pediatr Neonatal Care* 2015;2(6):00102.
246. Piedras J, Alvarez E, Herrera FM, Cordova MS. Clinical usefulness of mean corpuscular volume and red cell distribution width in iron deficient blood donors. *Rev Invest Clin* 1993;45(5):469-72.
247. Salvagno GL, Sanchis-Gomar F, Picanza A, Lippi G. Red blood cell distribution width: a simple parameter with multiple clinical applications. *Crit RevLab Sci* 2015;52(2):86-105.
248. Buch AC, Karve PP, Panicker NK, Singru SA, Gupta SC. Role of red cell distribution width in classifying microcytic hypochromic anaemia. *J Indian Med Assoc* 2011;109(5):297-9.
249. Belza A, Ersbøll AK, Henriksen M, Thilsted SH, Tetens I. Day-to-day variation in iron-status measures in young iron-depleted women. *Br J Nut* 2005; 94(4):551-6.
250. Aslan D, Gümrük F, Gürgey A, Altay C. Importance of RDW value in differential diagnosis of hypochrome anemias. *Am J Hematol* 2002;69(1):31-3.
251. Matos JF, Borges KBG, Fernandes APSM, Faria JR, Carvalho MdG. RDW as differential parameter between microcytic anemias in "pure" and concomitant forms. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* 2015;51(1):22-27.

252. Boulton F. Evidence-based criteria for the care and selection of blood donors, with some comments on the relationship to blood supply, and emphasis on the management of donation-induced iron depletion. *Transfus Med* 2008;18(1):13-27.
253. Boulton F. Approach to blood donors with microcytosis. *Transfus Med* 2010; 20(5):356-7.
254. Boulton F, Collis D, Inskip H, Paes H, Garlick M. A study of the iron and HFE status of blood donors, including a group who failed the initial screening for anaemia. *Br J Haematol* 2000;108(2):434-9.
255. Vuk T, Bingulac-Popović J, Očić T, Mayer Lj, Milošević M, Jukić I. Combined cell index in assessing blood donor iron stores. *Transfus Med* 2016;doi: 10.1111/tme.12370.
256. Kiss JE, Steele WR, Wright DJ, Mast AE, Carey PM, Murphy EL, et al. Laboratory variables for assessing iron deficiency in REDS-II Iron Status Evaluation (RISE) blood donors. *Transfusion* 2013;53(11):2766-75.
257. Semmelrock MJ, Raggam RB, Amrein K, Avian A, Schallmoser K, Lanzer G, et al. Reticulocyte hemoglobin content allows early and reliable detection of functional iron deficiency in blood donors. *Clin Chim Acta* 2012;413(7-8):678-82.
258. Pasricha SR, McQuilten ZK, Keller AJ, Wood EM. Hemoglobin and Iron Indices in nonanemic premenopausal blood donors predict future deferral from whole blood donation. *Transfusion* 2011;51(12):2709-13.
259. Wood EM, Kim DM, Miller JP: Accuracy of predonation Hct sampling affects donor safety, eligibility, and deferral rates. *Transfusion* 2001;41(3):353–9.
260. Fowler WM, Barer AP. Rate of hemoglobin regeneration in blood donors. *J Am Med Assoc* 1942;118:421.
261. Wadsworth GR: Recovery from acute haemorrhage in normal men and women. *J Physiol* 1955;129(3):583.
262. Adams PC, Gregor JC, Kertesz AE, Valberg LS. Screening blood donors for hereditary hemochromatosis: decision analysis model based on a 30-year database. *Gastroenterology* 1995;109(1):177-88.
263. Åsberg A, Thorstensen K, Borch-Johnsen B. Unbound iron binding capacity (UIBC) as a test for empty iron stores – results from the HUNT Study. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 2012;72(6):506-9.
264. Borel MJ, Smith SM, Derr J, Beard JL. Day-to-day variation in iron status indices in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1991;54(4):729–35.

265. Hoyer K. Physiologic variations in the iron content of human blood serum. *Acta Med Scand* 1944;119:562-76.
266. Crosby WH, O'Neil-Cutting MA. A small-dose iron tolerance test as an indicator of mild iron deficiency. *JAMA* 1984;251(15):1986-7.
267. Lippi G, Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Montagnana M, Gelati M, Picheth G, et al. Influence of a light meal on routine haematological tests. *Blood Transfus* 2010;8(2):94–9.
268. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, Gelati M, Montagnana M, Danese E, et al. Influence of a regular, standardized meal on clinical chemistry analytes. *Ann Lab Med* 2012;32(4):250–6.
269. Iron Disorders Institute [Internet]. Tests to determine iron levels [pristupljeno 02.10.2016.]. Dostupno na: <http://www.irondisorders.org/tests-to-determine-iron-levels/>
270. Cook JD, Skikne BS, Baynes RD. Iron deficiencies: the global perspective. *Adv Exp Med Biol* 1994;336:219-28.
271. Murray-Kolb LE, Beard JL. Iron treatment normalizes cognitive functioning in young women. *Am J Clin Nutr* 2007;85(3):778–87.
272. Pittori C, Buser A, Gasser UE, Sigle J, Job S, Rüesch M, et al. A pilot iron substitution programme in female blood donors with iron deficiency without anaemia. *Vox Sang* 2011;100(3):303–11.
273. Spencer BR, Kleinman S, Wright DJ, Glynn SA, Rye DB, Kiss JE, et al. Restless legs syndrome, pica, and iron status in blood donors. *Transfusion* 2013;53(8):1645–52.
274. Tucker DM, Sandstead HH, Penland JG, Dawson SL, Milne DB. Iron status and brain function: serum ferritin levels associated with asymmetries of cortical electrophysiology and cognitive performance. *Am J Clin Nutr* 1984;39(1):105–13.
275. Schotten N, Pasker-de Jong PC, Moretti D, Zimmermann M, Geurts-Moespot A, Swinkels DW, et al. The donation interval of 56 days requires extension to 180 days for whole blood donors to recover from changes in iron metabolism. *Blood* 2016;128(17):2185-8..
276. de Vries SI, de Potter E. Studies on iron metabolism in blood donors. *Studies on iron metabolism in blood donors. Vox Sanguinis* 1958;3(6):392–402.
277. Sayers M, Centilli, J. Contemplating the effect on blood availability if the interdonation interval of 56 days is prolonged. *Transfusion* 2013;53(5):1132-5.

278. Moore C, Sambrook J, Walker M, Tolkien Z, Kaptoge S, Allen D, et al. The INTERVAL trial to determine whether intervals between blood donations can be safely and acceptably decreased to optimise blood supply: study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* 2014;15:363.
279. Brittenham GM. Iron deficiency in whole blood donors. *Transfusion* 2011;51(3):458-61.
280. Bryant BJ, Yau YY, Arceo SM, Daniel-Johnson J, Hopkins JA, Leitman SF. Iron replacement therapy in the routine management of blood donors. *Transfusion* 2012;52(7):1566–75.
281. Magnussen K, Bork N, Asmussen L. The effect of a standardized protocol for iron supplementation to blood donors low in hemoglobin concentration. *Transfusion* 2008;48(4):749–54.
282. Brittenham GM, Klein HG, Kushner JP, Ajioka RS. Preserving the national blood supply. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2001;1:422–32.
283. Kiss JE, Brambilla D, Glynn SA, Mast AE, Spencer BR, Stone M, et al. Oral iron supplementation after blood donation: a randomized clinical trial. *JAMA* 2015;313(6):575-83.
284. Dara RC, Marwaha N, Khetan D, Patidar GK. A randomized control study to evaluate effects of short-term oral iron supplementation in regular voluntary blood donors. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2016;32(3):299-306.
285. Marks DC, Speedy J, Robinson KL, Brama T, Capper HR, Mondy P, et al. An 8-week course of 45 mg of carbonyl iron daily reduces iron deficiency in female whole blood donors aged 18 to 45 years: results of a prospective randomized controlled trial. *Transfusion* 2014;54(3 Pt 2):780–8.
286. Radtke H, Tegtmeier J, Röcker L, Salama A, Kiesewetter H. Daily doses of 20 mg of elemental iron compensate for iron loss in regular blood donors: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Transfusion* 2004;44(10):1427-32.
287. Newman BH, Newman DT, Ahmad R, Roth AJ: The effect of whole-blood donor adverse events on blood donor return rates. *Transfusion* 2006;46(8):1374-9.
288. Zingsem J. Preparative haemapheresis and donor safety. *Transfus Med Hemother* 2004;31:5–6.
289. Valeri CR, Ragno G, Srey R. Restoration of red blood cell volume following 2-unit red blood cell apheresis. *Vox Sang* 2003;85(2):85–7.

290. Högler W, Mayer W, Messmer C, Eibl G, Innerhofer P, Schönitzer D, et al. Prolonged iron depletion after allogeneic 2-unit RBC apheresis. *Transfusion* 2001;41(5):602-5.
291. Li H, Condon F, Kessler D, Nandi V, Rebosa M, Westerman M, et al. Evidence of relative iron deficiency in platelet- and plasma-pheresis donors correlates with donation frequency. *J Clin Apher* 2016. doi: 10.1002/jca.21448.
292. Bier-Ulrich A, Haubelt H, Anders C, Nagel D, Schneider S, Siegler KE, et al. The impact of intensive serial plasmapheresis and iron supplementation on iron metabolism and Hb concentration in menstruating women: a prospective randomized placebo-controlled double-blind study. *Transfusion* 2003;43(3):405-10.
293. O'Meara A, Infanti L, Sigle J, Stern M, Buser A. Switching iron-deficient whole blood donors to plateletpheresis. *Transfusion* 2012;52(10):2183–8.
294. Young S, Fink A, Geiger S, Marbella A, Mast AE, Shellhase KG. Community blood donors' knowledge of anemia and design of a literacy-appropriate educational intervention. *Transfusion* 2010;50(1):75-9.
295. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. *MMWR Recomm Rep* 1998;47:1–29.
296. Klug E, Gebka M, Hellig F, Alison M, Townsend B, Naidoo V. Importance of shielding blood donors from harm. *S Afr Med J* 2014;104(6):389.
297. Shah AR, Shethwala ND, Parmar BH. Knowledge and awareness about Iron deficiency and megaloblastic anaemia among blood donors: a study at rural based tertiary care hospital. *Int J Res Med Sci* 2015;3(3):708-10.
298. Goldman M, Uzicanin S, Scalia J, Scalia V, O'Brien SF. Impact of informing donors of low ferritin results. *Transfusion* 2016;56(9):2193-8.
299. Popovsky MA. Anemia, iron depletion and the blood donor: it's time to work on the donor's behalf. *Transfusion* 2012;52(4):688-92.
300. Jacob RA, Sandstead HH, Klevay LM, Johnson LK. Utility of serum ferritin as a measure of iron deficiency in normal males undergoing repetitive phlebotomy. *Blood* 1980;56(5):786-91.
301. Baart AM, de Kort WL, Atsma F, Moons KG, Vergouwe Y. Development and validation of a prediction model for low hemoglobin deferral in a large cohort of whole blood donors. *Transfusion* 2012;52(12):2559–69.
302. Baart AM, Atsma F, McSweeney EN, Moons KG, Vergouwe Y, de Kort WL. External validation and updating of a Dutch prediction model for low hemoglobin deferral in Irish whole blood donors. *Transfusion* 2014;54(3 Pt 2):762-9.



303. Mahmoodian Shooshtari M, Maghsudlu M, Bahrami A. The study of effect of short-term, temporary deferred on blood donor return rates. *Scientific Journal of Iran Blood Transfus Organ* 2006;2(6):247-52.
304. Shaz B, Kessler D, Hillyer CD. Evaluating the role of blood collection centers in public health: A status report. *Transfus Med Rev* 2012; 26(1):58-67.
305. Mast AE. Low Hemoglobin Deferral in Blood Donors. *Transfus Med Rev* 2014;28(1):18-22.

## 10. ŽIVOTOPIS

Tomislav Vuk rođen je 17.05.1966. godine u Zagrebu, Republika Hrvatska. Osnovnu i srednju školu završio je u Zagrebu, a na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirao je u predviđenom roku. Pripravnički staž u trajanju od godinu dana (1992/1993) završio je u DZ „Trnje“. U Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu stupa u radni odnos sa 01.06.1994. godine u svojstvu liječnika Odjela za promidžbu i uzimanje krvi. 1995. godine započinje sa specijalizacijom iz transfuzijske medicine, koju uspješno završava u travnju 1998. godine. Po završetku specijalizacije, dr. Vuk započinje raditi u Odjelu za kontrolu kvalitete HZTM, a u studenom 1999. godine postaje voditeljem Odjela za osiguranje i kontrolu kvalitete. 1999. godine dr. Vuk je odlikovan diplomom HLZ u znak priznanja za osobiti doprinos u njegovanju časne tradicije HLZ, medicinske znanosti i zdravstva u Republici Hrvatskoj. 2000. godine u suradnji s docentom Damirom Grgičevićem objavljuje knjigu "Imunohematologija i transfuzijska medicina", koja iste godine postaje udžbenik za medicinske škole. U 2002. godini, zajedno sa suradnicima objavljuje i uređuje knjigu "Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj djelatnosti". Od 2004. godine do danas dr. Vuk je predstavnik Republike Hrvatske u Vijeću Europe kao stručnjak s područja transfuzijske medicine. U 2009. godini stječe naziv Primarijus. Od 2010. godine supredsjedatelj je radne grupe ISBT (International Society of Blood Transfusion) za upravljanje kvalitetom, a od 2016. godine hrvatski je predstavnik u EBA (European Blood Alliance). Nakon što su ispunjeni potrebni uvjeti doktorskog studija "Biomedicina i zdravstvo", u veljači 2013. je prihvaćena tema doktorske disertacije. Od 2013. godine radi na projektu "Donor Health Care", sufinanciranom od strane EU, a čiji je cilj izrada poslijediplomskog edukacijskog programa za područje donorske medicine. Dr. Vuk je od početka svoje karijere sudjelovao kao pozvani predavač na brojnim domaćim i međunarodnim skupovima, autor je ili koautor više od stotinu kongresnih radova/sažetaka te autor velikog broja radova publiciranih u uglednim domaćim i međunarodnim časopisima. Najvažnije publikacije prikazane su u nastavku.

### **Knjige (autor):**

1. Damir Grgičević i Tomislav Vuk. Imunohematologija i transfuzijska medicina. Udžbenik za medicinske škole. Medicinska naklada 2000.
2. Tomislav Vuk i suradnici. Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj djelatnosti. Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu 2002.

### **Knjige (koautor s jednim ili više poglavlja): 9 poglavlja u 7 knjiga**

#### Najvažnije:

1. Vuk T. (2012) Preparation of Blood Components, in Hemovigilance: An Effective Tool for Improving Transfusion Safety (eds R. R. P. De Vries and J.-C. Faber), Wiley-Blackwell, Oxford, UK. doi: 10.1002/9781118338179.ch5.

### **Originalni radovi u domaćim i internacionalnim časopisima**

1. Vuk T, Minigo H, Planinc-Peraica A, Grgičević D, Jakšić B. Supportive transfusion therapy of acute leukemia patients and patients submitted to autologous bone marrow transplantation (ABMT). *Libri Oncol* 1996;25:97-101.
2. Vuk T, Planinc-Peraica A, Mlinarić S, Jakšić O, Grgičević D, Jakšić B. Transfusion therapy of patients with malignant lymphomas. *Libri Oncol* 1996;25:117-20.
3. Vuk T, Planinc-Peraica A, Mlinarić S, Jakšić B. Autoimmune thrombocytopenia in adults: clinical experience. *Acta Med Croatica* 1997;51(3):175-9.
4. Vuk T, Putarek K, Jukić I, Rojnić N, Balija M, Grgičević D. Što možemo naučiti o odbijanju transfuzijskog liječenja iz iskustva s Jehovininim svjedocima? *Liječ Vjesn* 1997;119(8-9):243-5.
5. Putarek K, Vuk T, Soldo D, Šarlija D, Grgičević D, Jakšić B. Pseudotrombocitopenija uzrokovana etilendiamintetraoctenom kiselinom (EDTA) (prikaz bolesnice). *Liječ Vjesn* 1997;119(1):19-21.
6. Rojnić N, Putarek K, Vuk T, Gjenero-Margan I, Grgičević D, Malčić I. AIDS in Croatia compared with global HIV status. *Acta Paediatr* 1997;86(9):1025.
7. Vuk T, Putarek K, Rojnić N, Gjenero-Margan I, Balija M, Grgičević D. Croatian blood transfusion service in prevention of HIV spread during the war. *Acta Med Croatica* 1998;52(4-5):221-2.

8. Vuk T, Šarlija D, Balija M, Grgičević D. Hemoglobin determination in blood donors. *Vox Sang* 1998;75(1):73.
9. Vuk T, Grgičević D. Trebamo li pismeni pristanak na transfuzijsko liječenje? *Liječ Vjesn* 1998;120(9):297-8.
10. Vuk T, Balija M, Grgičević D. Croatian blood transfusion service during the war. *Transfusion Today* 1998;34:20-1.
11. Grgičević D, Vuk T. A perception of transfusion safety and risks. *Acta Med Croatica* 1998;52(3):165-70.
12. Vuk T, Maglov Č, Godec D, Tomičić M, Balija M, Grgičević D. Platelet function and markers of hemostatic activation in plasma donors. *Infusionsther Transfusionsmed* 1999;26:344-7.
13. Tomičić M, Deković M, Jakšić J, Stoini E, Dražić V, Grahovac B, et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura caused by anti-HPA-1a alloantibodies. Case report. *Liječ Vjesn* 2001;123(3-4):70-3.
14. Vuk T, Balija M, Jukić I. Quality system in reducing the rate of blood collection nonconformities – CITM Experience 1998-2001. *Blood Banking and Transfusion Medicine* 2004;2:27-31.
15. Golubić-Ćepulić B, Budimir A, Plečko V, Plenković F, Mrić M, Šarlija D, et al. *Morganella morganii* causing fatal sepsis in a platelet recipient and also isolated from a donor's stool. *Transfus Med* 2004;14(3):237-40.
16. Hranilović D, Bujas-Petković Z, Vragović R, Vuk T, Hock K, Jernej B. Hyperserotonemia in adults with autistic disorder. *J Autism Dev Disord* 2007;37(10):1934-1940
17. Jukić I, Bingulac Popović J, Đogić V, Babić I, Culej J, Tomičić M, et al. ABO Blood Groups and Genetic Risk Factors for Thrombosis in Croatian Population. *Croat Med J* 2009;50(6):550-8.
18. Vuk T. Quality management in blood establishments. *ISBT Science Series* 2009;4:45-51.
19. Devine DV, Sher GD, Reesink HW, Panzer S, Hetzel PA, Wong JK, et al. Inventory Management. *Vox Sang* 2010;98(3 Pt 1):295-363.
20. Vuk T. Skills and tasks of quality manager at a blood establishment. *ISBT Science Series* 2010;5:179-83.
21. Majić Z, Jukić I, Vuk T, Pavlin S. Research of the influence of air transportation on blood sample quality. *Promet – Trafic&Transportation* 2011;23:431-42.
22. Vuk T. The management of nonconformities in blood establishments. *ISBT Science Series* 2011;6:30-4.

- 23.Vuk T, Barišić M, Očić T, Đogić V, Bingulac-Popović J, Šarlija D, et al. Management of complaints in blood establishments – thirteen year experience of Croatian Institute of Transfusion Medicine. *Blood Transfus* 2012;10(3):302-10.
- 24.Vuk T, Barišić M, Očić M, Mihaljević I, Šarlija D, Jukić I. Error management in blood establishments: results of eight-year (2003-2010) experience at Croatian Institute of Transfusion Medicine. *Blood Transfus* 2012;10(3):311-20.
- 25.Vuk T, Barišić M, Očić T, Hećimović A, Šarlija D, Jukić I. Could the frequency of lipemic donations be reduced by educational activities? *Blood Transfus* 2012;10(4):555-6.
- 26.Vuk T. Quality indicators: a tool for quality monitoring and improvement. *ISBT Science Series* 2012;7:24-8.
- 27.Vuk T, Barišić M, Ljubičić J, Hećimović A, Juraković-Lončar N, Sarlija D, et al. Product recall – a Croatian experience (2000-2010). *Blood Transfus* 2013;11(3):433-40.
- 28.Vuk T, Barišić M, Hećimović A, Rukavina L, Batarilo I, Šarlija D, et al. Bacterial contamination of blood products at the Croatian Institute of Transfusion Medicine: results of eleven-year monitoring. *Transfus Med* 2012;22(6):432-9.
- 29.Vuk T, Ljubičić J, Balija M, Jukić I. Nonconformities of donor blood samples: results of 10-year monitoring. *Transfusion* 2013;53(4):921-3.
- 30.Vuk T, Strauss Patko M, Gulan-Harcet J, Očić T, Sarlija D, Jukić I. Quality control of leucocyte-depleted platelet concentrates obtained by buffy coat method. *Transfus Med* 2013;23(5):338-43.
- 31.Vuk T. Management of complaints and product recall. *ISBT Science Series* 2013;8:33-6.
- 32.Vuk T. Quality indicators in blood establishments: ISBT Working Party on quality management project. *Transfusion Today* 2013;96:10-1.
- 33.Pietersz RN, Reesink HW, Panzer S, Oknaian S, Kuperman S, Gabriel C, et al. Bacterial contamination in platelet concentrates. *Vox Sang* 2014;106(3):256-83.
- 34.Vuk T, Cipek V, Hećimović A, Jukić I. Wrong blood in tube error: first study on donor blood samples. *Transfusion* 2014;54(4):1200-2.
- 35.Tomičić M, Vuk T, Hundrić-Hašpl Ž. Indications and contraindications for platelet transfusions in patients with thrombocytopenia. *Liječ Vjesn* 2014;136(3-4):90-3.

36. Vuk T, Očić T, Strauss-Patko M, Jukić I. Quality control of buffy coat removed red cell concentrates--a Croatian experience. *Transfus Med* 2014;24(6):385-91.
37. Vuk T, Cipek V, Jukić I. Blood collection staff education in the prevention of venepuncture failures and donor adverse reactions: from inexperienced to skilful staff. *Blood Transfus* 2015;13(2):338-9.
38. Tomičić M, Vuk T, Gulan-Harcet J. Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia in blood donors. *Transfus Med* 2015;25(1):47-8.
39. Vuk T. Implementation of ISBT quality indicators in the quality management and haemovigilance systems. *ISBT Science Series* 2015;10:371–5.
40. De Kort W, Mayr W, Jungbauer C, Vuk T, Kullaste R, Seifried E, et al. Blood donor selection in European Union directives: room for improvement. *Blood Transfus* 2016;14(2):101-8.
41. Vuk T, Magnussen K, De Kort W, Folléa G, Liumbruno GM, Schennach H, et al. International forum: an investigation of iron status in blood donors. *Blood Transfus* 2016; doi: 10.2450/2016.0101-16.
42. Vuk T, Bingulac-Popović J, Očić T, Mayer Lj, Milošević M, Jukić I. Combined cell index in assessing blood donor iron stores. *Transfus Med* 2016;doi: 10.1111/tme.12370.

#### **Radovi u suplementima indeksiranih časopisa**

1. Vuk T, Mihaljević I, Šarlija D. Trace-back procedures in ensuring quality of transfusion treatment. *Neurol Croat* 2002;51(Suppl.3):81-5.
2. Šarlija D, Vuk T, Mihaljević I, Đidara E, Balijsa M, Čiković-Vodopić D, et al. Directing transfusion practice according to user's demands. *Neurol Croat* 2002;51(Suppl.3):87-93.
3. Morić S, Vuk T. Kontrola kvalitete koncentrata eritrocita u 1998. godini. *Liječ Vjesn* 1999;121(Supl.3):143-5.
4. Vuk T, Grgičević D. Dobra proizvođačka praksa u transfuzijskoj djelatnosti. *Liječ Vjesn* 1999;121(Supl.3):134-6.
5. Vuk T. Bakterijska kontaminacija krvnih pripravaka – stari problemi i novi izazovi. *Liječ Vjesn* 2007;129 (Supl.3):15-21.
6. Barišić M, Vuk T, Morić S, Štimac R, Antolović R, Lekić L. Rizici i sigurnost transfuzijskog liječenja. *Acta Med Croat* 2005;59(Suppl.1):26-31.
7. Vuk T. Quality indicators in blood establishments: CITM experience. *Blood Transfusion* 2010;8(Suppl 1):20-4.

8. Vuk T. Kako biti uspješan menadžer kvalitete u transfuzijskoj djelatnosti? *Liječ Vjesn* 2012;134(Suppl.2):21-4.
9. Vuk T. Role and importance of quality indicators in quality management and haemovigilance: from monitoring to improvement and saving. *Blood Transfusion* 2013;11(Suppl 1):LE-09.