



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Nikolino Žura

**UČINAK 5G ELEKTROMAGNETSKOG
ZRAČENJA NA HEMATOLOŠKE
POKAZATELJE, MORFOMETRIJU
ERITROCITA I AKTIVACIJU
TROMBOCITA U *IN VITRO* OZRAČENOJ
LJUDSKOJ I ŽIVOTINJSKOJ KRVI**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2024.



University of Zagreb

VETERINARY FACULTY

Nikolino Žura

**EFFECT OF 5G ELECTROMAGNETIC
RADIATION ON HEMATOLOGICAL
INDICATORS, ERYTHROCYTE
MORPHOMETRY AND
PLATELET ACTIVATION IN *IN VITRO*
IRRADIATED HUMAN AND ANIMAL
BLOOD**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2024



Sveučilište u Zagrebu
VETERINARSKI FAKULTET

NIKOLINO ŽURA

**UČINAK 5G ELEKTROMAGNETSKOG
ZRAČENJA NA HEMATOLOŠKE
POKAZATELJE, MORFOMETRIJU
ERITROCITA I AKTIVACIJU
TROMBOCITA U *IN VITRO* OZRAČENOJ
LJUDSKOJ I ŽIVOTINJSKOJ KRVI**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

prof. dr. sc. Marinko Vilić
izv. prof. dr. sc. Porin Perić

Zagreb, 2024.



University of Zagreb

VETERINARY FACULTY

Nikolino Žura

**EFFECT OF 5G ELECTROMAGNETIC
RADIATION ON HEMATOLOGICAL
INDICATORS, ERYTHROCYTE
MORPHOMETRY AND
PLATELET ACTIVATION IN *IN VITRO*
IRRADIATED HUMAN AND ANIMAL
BLOOD**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Full Prof. Marinko Vilić, PhD

Assoc. Prof. Porin Perić, PhD

Zagreb, 2024



Sveučilište u Zagrebu
VETERINARSKI FAKULTET

I Z J A V A

Ja, Nikolino Žura, potvrđujem da je moj doktorski rad izvorni rezultat mogega rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima osim navedenih u radu.

(potpis studenta)

Zagreb, 2024.

Zahvaljujem mentorima izv. prof. dr. sc. Porinu Periću i prof. dr. sc. Marinku Viliću na prijedlozima, kritičkim primjedbama i poticajima, te svekolikoj pomoći u organizaciji i izvođenju pokusa.

Zahvaljujem dr. sc. Velimiru Berti, dr. med. vet., Saši Androciju, dr. med. vet. Krešimiru Tomašiću dr. med. vet. Veterinarska ambulanta Ludbreg-Nova oko pomoći pri dobivanju uzoraka krvi te organizaciji procesa dobivanja uzoraka te obiteljima Herman i Levatić na velikodušnosti i dopuštenju da se ostatni uzorci krvi dobivenih od svinja iskoriste za ovo istraživanje.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Krešimiru Malariću na ustupljenoj komori.

Posebno zahvaljujem prof. dr. sc. Silviju Vinceu što je sa mnom podijelio svoje veliko umijeće pri statističkoj obradi svih dobivenih podataka ovog rada.

Zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na pomoći oko hematoloških analiza, diferencijalnoj krvnoj slici svinjskih uzoraka i morfometriji eritrocita ljudi i svinja.

Zahvaljujem dr. sc. Vladimiri Rimac i izv. prof. dr. sc. Branki Golubić Čepulić iz Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC Zagreb na svesrdnoj pomoći i analizi ljudskih uzoraka.

Zahvaljujem svim kolegicama i kolegama iz Klinike za reumatske bolesti i rehabilitaciju KBC Zagreb na pomoći i podršci i bez kojih ovog istraživanja ne bi bilo.

Hvala Gogi, Vesni, Miri, Lucy, Marini, Mihaeli, Juri, Daliboru, Rađi

Hvala Predragu

Na kraju, posebno zahvaljujem supruzi i svojim sinovima na bezuvjetnoj i iskrenoj podršci, na strpljenju i pomoći, kako u ostalim segmentima života, tako i pri izradi ovog doktorskog rada.

SAŽETAK

Učinak 5G elektromagnetskog zračenja na hematološke pokazatelje, morfometriju eritrocita i aktivaciju trombocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj i životinjskoj krvi

Raširena uporaba radiofrekvencijskog elektromagnetskog zračenja (RF-EMZ), posebice uvođenjem 5G mreže, uzrokuje zabrinutost javnosti o mogućim štetnim učincima na zdravlje. Učinci i mehanizmi djelovanja RF-EMZ frekvencija iz spektra 5G mreže na ljudsko i životinjsko zdravlje vrlo su oskudno istraženi. Dapače, danas su nepoznati učinci RF-EMZ na morfometrijske pokazatelje eritrocita nakon izlaganja ljudi i/ili *in vitro* ljudske krvi takvom zračenju, a oskudni su podaci o učinku na aktivaciju trombocita. Do sada nisu istraživani učinci izlaganja svinja i svinjske krvi RF-EMZ-u. Kako se svinje smatraju najboljim životinjskim modelom za istraživanja, njihovi rezultati bi se mogli primjeniti i na ljude. RF-EMZ koje emitiraju mobilni telefoni i drugi elektronički uređaji 4G i starije tehnologije uzrokuju štetne učinke na krvne stanice te poremećaj vrijednosti hematoloških pokazatelja, a što ovisi o vrsti živih bića, izvorima RF-EMZ, frekvenciji, intenzitetu, jakosti polja te učestalosti i trajanju izlaganja. Većina suvremenih laboratorija opremljena je uređajima koji koriste Wi-Fi usmjerivače (router), stoga su krvni uzorci dodatno izloženi RF-EMZ-u što bi moglo utjecati na vrijednosti hematoloških pokazatelja, te na krvne pripravke tijekom njihovog postupka pripreme, čuvanja, transporta i aplikacije bolesnicima. Cilj je ovog istraživanja utvrditi učinak 5G elektromagnetskog zračenja različitih frekvencija na kompletnu krvnu sliku (KKS), morfometriju eritrocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj i životinjskoj krvi te na aktivaciju trombocita u ljudskoj krvi. U istraživanju su korišteni krvni uzorci 30 klinički zdravih dragovoljaca (15 žena i 15 muškaraca), u dobi od 25 do 40 godina te uzorci krvi 16 krmača pasmine njemački landras dobi od 1 do 2 godine. Pokusni uzorci krvi bili su izloženi RF-EMZ-u frekvencija od 700 MHz, 2 500 MHz i 3 500 MHz, jakosti električnog polja od 10 V/m u trajanju od 2 sata pomoću gigahertzne transverzalne elektromagnetske komore. Kontrolna skupina uzoraka bila je u istim uvjetima osim izlaganja RF-EMZ-u. U pokusnim i kontrolnim uzorcima krvi određivani su pokazatelji KKS-a i morfometrijska analiza eritrocita, a u ljudskim uzorcima i aktivacija trombocita. Pokazatelji KKS-a određeni su na hematološkom brojaču, aktivacija trombocita na protočnom citometru, a diferencijalna krvna slika ručno je analizirana u svinjskim uzorcima. Na

ljudskim i svinjskim obojanim krvnim razmazima načinjena je računalna analiza slike pomoću „SFORM“ programa te su određeni morfometrijski pokazatelji eritrocita. Vrijednosti KKS-a i aktivacije trombocita u pokusnim uzorcima ljudske krvi nisu se značajno mijenjale u odnosu na kontrolne uzorke. U pokusnim uzorcima svinja izloženih frekvenciji od 3 500 MHz broj je eritrocita i neutrofila bio značajno manji, a vrijednost MCV je bila značajno veća. Vrijednosti površine, opsega, minimalnog i maksimalnog polumjera, ispupčenosti, duljine, širine indeksa pravilnosti površine bile su značajno veće u pokusnoj skupini uzoraka u muškaraca i žena izloženih frekvenciji od 700 MHz, a značajno manje za vrijednosti indeksa ispunjenosti i faktora zaokruženosti oblika. U pokusnim uzorcima žena izloženih frekvenciji od 2 500 MHz bila je značajno veća vrijednost opsega eritrocita i indeksa pravilnosti površine, a značajno manja vrijednost indeksa ispunjenosti, zaobljenosti eritrocita i faktora zaokruženosti oblika. U pokusnim uzorcima žena izloženih frekvenciji od 3 500 MHz bila je značajno veća vrijednost opsega eritrocita i indeksa pravilnosti površine, a značajno manja indeksa ispunjenosti i faktor zaokruženosti oblika. Vrijednosti maksimalnog polumjera i izduljenosti svinjskih eritrocita bile su značajno veće u pokusnoj skupini uzoraka izloženoj frekvenciji od 700 MHz, a vrijednosti indeksa ispunjenosti, faktora zaokruženosti oblika i zaobljenosti eritrocita bile su značajno manje. Analizom grupiranja dobivene su dvije subpopulacije ljudskih i svinjskih eritrocita: ES 1- manji i okrugliji eritrociti, ispunjenijeg oblika i ravnijih rubova, ES 2 - veći eritrociti s naboranom površinom. Pokusne skupine ljudskih uzoraka izložene elektromagnetskim poljima na istraživanim frekvencijama imale su značajno veći udio ES 2, a manji udio ES 1 subpopulacije, dok se udio subpopulacija u pokusnoj i kontrolnoj skupini svinjskih uzoraka nije značajno razlikovao. 5G elektromagnetsko zračenje različitih frekvencija ne utječe na vrijednosti KKS-a i aktivaciju trombocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj krvi. Izlaganje svinjske krvi elektromagnetskom polju frekvencije od 3 500 MHz utječe jedino na promjenu vrijednosti pojedinih pokazatelja KKS-a. Negativan učinak zračenja na morfometriju ljudskih i svinjskih eritrocita u *in vitro* izloženoj krvi ovisio je o frekvenciji zračenja, a u ljudi i o spolu. Najštetniji učinak na morfometriju ljudskih i svinjskih eritrocita utvrđen je nakon njihovog izlaganja elektromagnetskom polju na frekvenciji od 700 MHz. Eritrociti svinja značajno su se naborali i izduljili nakon njihovog izlaganja elektromagnetskom polju na frekvenciji od 700 MHz. Ljudski eritrociti muških i ženskih ispitanika značajno su se povećali, ispupčili i naborali nakon izlaganja elektromagnetskom polju na svim istraživanim

frekvencijama. Eritociti žena su podložniji *in vitro* negativnom učinku zračenja. 5G elektromagnetsko zračenje značajno povećava udio većih, ispupčenijih i naboranijih ljudskih eritrocita, a ne utječe na udio dobivenih subpopulacija svinjskih eritrocita. Značajnije promjene utvrđene su u morfometriji ljudskih eritrocita u odnosu na svinjske eritrocite.

Ključne riječi: 5G elektromagnetsko zračenje, hematološki pokazatelji, morfometrija eritrocita, ljudi, svinje

EFFECT OF 5G ELECTROMAGNETIC RADIATION ON HEMATOLOGICAL INDICATORS, ERYTHROCYTE MORPHOMETRY AND PLATELET ACTIVATION IN *IN VITRO* IRRADIATED HUMAN AND ANIMAL BLOOD

BACKGROUND AND AIMS: The technological applications of radiofrequency electromagnetic radiation (RF-EMR) have steadily increased since the 1950s. RF-EMR is used in medicine, industry, animal husbandry, the home, security and navigation, and especially in telecommunications. Every electrical device generates an electric and magnetic field that increases the exposure of the environment to RF-EMR, i.e. strong electromagnetic pollution/smog is created. RF-EMR of different frequencies of anthropogenic origin add up and are present in the entire environment of humans and animals, including healthcare facilities. Cell phones, wireless networks, smart and portable devices constantly emit RF-EMR into the environment, regardless of whether they are connected to networks or not. The widespread use of RF EMR, especially with the introduction of 5G networks, is causing public concern about possible adverse health effects. The effects and mechanisms of action of RF-EMR on human and animal health due to the frequencies of the 5G network are not yet known and/or have been insufficiently investigated. In addition, the effects of RF-EMR on morphometric indicators of erythrocytes after exposure to human and/or *in vitro* human blood are not known, and there are few data on the effects on platelet activation. In addition, the effects of exposure of pigs and/or pig blood to RF-EMR have not been studied to date and they are considered the best model for research whose results are transferable to humans, and the possible use of pig erythrocytes in the treatment of humans is indicated. Exposure of humans and laboratory animals to RF EMR emitted from cell phones and many other 4G and older technology electronic devices has been shown to have deleterious effects on blood cells. It is known that exposure to RF EMR *in vivo* and *in vitro* can cause apoptosis, necrosis or autophagy of cells, alteration of the functionality of membrane receptors, increased permeability of cell membranes and increased generation of free radicals with a weakening of the cell's antioxidant system, creating conditions for oxidative stress that subsequently lead to damage to the cells' biological molecules. In addition, a disturbance in the values of hematological indicators has been observed, which depends on the type of exposed living beings, the sources of RF-EMR and frequency of exposure, the intensity

and duration of exposure. Most modern laboratories are equipped with devices that use Wi-Fi, so blood samples are additionally exposed to RF-EMR, which could potentially affect the levels of hematological indicators and blood products during their preparation, storage, transportation and administration to patients. The aim of this research is to determine the effect of 5G electromagnetic radiation of different frequencies on the complete blood count (CBC), red blood cell morphometry in *in vitro* exposed human and animal blood and on platelet activation in human blood.

MATERIALS AND METHODS: Blood samples were collected from 30 clinically healthy volunteers (15 women and 15 men) aged 25 to 40 years. Two samples/tubes from each volunteer (1 tube of EDTA anticoagulant and 1 tube of sodium citrate (3.8%)) were exposed to RF-EMR (experimental group), and the other two were under the same conditions in a metal box of the same material and in the same room, except for exposure to 5G RF-EMR (control group). The experimental blood samples were exposed to different frequencies of 5G electromagnetic radiation of 700 MHz, 2500 MHz and 3500 MHz, electric field strength of 10 V/m for a duration of 2 hours using a gigahertz transverse electromagnetic (GTEM) cell. The volunteers' blood was collected three times (14 days apart) due to the simplicity of the experiment and the specificity and sensitivity of the analysis for the assessment of platelet activation, where samples must be analyzed within a minimum period of time after exposure and no longer than 30 minutes, i.e. a maximum of 2 hours and 30 minutes after blood collection. CBC indicators, platelet activation and morphometric analysis of erythrocytes were determined in samples of exposed (experiment) and unexposed (control) human whole blood. CBC indicators were determined using an Advia 2120i hematology counter (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany), and appropriate reagents from the same manufacturer were used for analysis. Platelet activation was determined using a BD FACS Canto II flow cytometer (BD Biosciences, San Jose, USA). Whole blood samples were collected from the cranial vena cava of 16 German Landrace sows aged 1 to 2 years with a body weight of approximately 170 kg. They were neither pregnant nor lactating. Experimental blood samples (3 test tubes) from each sow were exposed to continuous 5G RF-EMR exposure at different frequencies using GTEM (the procedure described above has already been applied to human blood samples). The remaining three samples/tubes were subjected to

the same conditions, except for exposure to 5G RF-EMR (control group). The whole blood samples from sows (1 test tube per sow) were first exposed to GTEM at a frequency of 700 MHz, then the second test samples (1 test tube per sow) at a frequency of 2500 MHz and the third (1 test tube per sow) at a frequency of 3500 MHz at an electric field strength of 10 V/m at 20 to 22 °C for 2 hours. The CBC indicators were determined in the samples of experimental and control whole blood of the sows and a morphometric analysis of the erythrocytes was performed. CBC was performed using a fully automated counting device for *in vitro* use, the Abacus Junior Vet hematology analyzer (Diatron, Hungary). In addition to the hematological indicators analyzed with a fully automated blood cell counter, a differential blood count was also analyzed manually. Blood smears were prepared from blood samples of humans and sows (exposed and non-exposed) and stained according to Pappenheim. The stained blood smears were then subjected to computer analysis on a personal computer using the "SFORM" program (VAMSTEC, Zagreb, Croatia) (basic morphometric features/characteristics of erythrocytes, > 100 erythrocytes per smear). The following morphometric indicators of erythrocyte size and shape were determined: area, outline, convex area, minimum and maximum radius, length and width, roundness, form factor, ellipticity and elongation, solidity, contour index. Statistical data analysis was performed using the SAS 9.4 software package (Statistical Analysis Software 2002-2012 from SAS Institute Inc., Cary, USA).

RESULTS: The values of the investigated hematological indicators and platelet activation in the experimental human blood samples did not change significantly compared to the control samples. Overall, all control and experimental samples (regardless of exposure frequency and gender) differed significantly in the mean values of all morphometric size and shape indicators of human erythrocytes, with the exception of roundness, ellipticity and elongation. The values of surface area, outline, minimum and maximum radius, convex area, length, width and contour index were significantly higher in the experimental group than in the control samples. In contrast, the solidity and form factor values were significantly lower in the experimental group of samples. The mean values of almost all morphometric size and shape indicators of human erythrocytes differed significantly between the control and experimental samples exposed at a frequency of 700 MHz, regardless of gender. The values of area, outline, minimum and

maximum radius, convex area, length, width and contour index were significantly higher in the experimental sample group. In contrast, the solidity and form factor values were significantly lower in the experimental group. For all previously mentioned indicators, significant differences between control and experimental samples exposed at a frequency of 700 MHz had the same pattern of occurrence in men and women. These differences in most indicators (area, outline, minimum and maximum radius, convex area, length and width) between experimental and control samples in women were statistically significant compared to men. While the differences in contour index, solidity and form factor between the control and experimental samples exposed at a frequency of 700 MHz were less statistically significant in woman compared to men. The mean values of certain morphometric size and shape indicators of human erythrocytes differed significantly between control and experimental samples exposed at a frequency of 2500 MHz, regardless of gender. A significantly higher value was recorded in the experimental samples for the outline of human erythrocytes and the contour index. A significantly lower value was recorded in the experimental samples for the solidity, roundness and the form factor. For the solidity, contour index and the form factor, there are significant differences between the experimental and control samples exposed at a frequency of 2500 MHz, regardless of gender, and they had the same pattern of occurrence and level of statistical significance in women. The mean values of certain morphometric size and shape indicators of human erythrocytes differed significantly between control and experimental samples exposed at a frequency of 3500 MHz, regardless of gender. A significantly higher value was recorded in the experimental samples for human erythrocyte outline and contour index. In contrast, a significantly lower value was recorded in the experimental samples for the solidity and the form factor. For all previously mentioned indicators, significant differences between control and experimental samples exposed at a frequency of 3500 MHz, regardless of gender, had the same pattern of occurrence and the same level of statistical significance in women. In addition, significantly lower values for erythrocyte ellipticity and erythrocyte elongation were found in women in experimental samples exposed at a frequency of 3500 MHz. The values of hematologic indicators in the experimental sow blood samples did not change significantly compared to the control samples, regardless of the radiation frequency. However, the values of three hematologic indicators changed significantly in the exposed

sow blood at a frequency of 3500 MHz compared to the control samples, such that the number of erythrocytes and neutrophils was significantly lower and the MCV value was significantly higher in the experimental samples. The mean values of the individual morphometric size and shape indicators of the sow erythrocytes differed significantly between the experimental and control samples exposed at a frequency of 700 MHz. The values for the maximum radius and elongation of the erythrocytes were significantly higher in the experimental sample group. While the values of the solidity, form factor and roundness were significantly lower in the experimental group of samples exposed at electromagnetic field on frequency of 700 MHz. The mean values of area, outline, maximum radius, convex area, length and contour index were higher in the experimental group of samples exposed at a frequency of 700 MHz than in the control samples, but these differences were not statistically significant. The mean values of the individual morphometric indicators of the sow erythrocytes differed significantly between the control and experimental samples exposed at electromagnetic field on frequency of 3500 MHz. A significantly higher value was recorded in the experimental samples for the solidity and the form factor. While a significantly lower value for the outline and contour index of the erythrocytes was found in erythrocyte test samples. The mean values of morphometric size and shape indicators of sow erythrocytes did not differ significantly between the control and experimental samples exposed at electromagnetic field on frequency of 2500 MHz. Cluster analysis revealed two subpopulations of human and sow erythrocytes based on erythrocyte morphometric size and shape indicators of the erythrocytes. The first subpopulation of erythrocytes (ES 1) consisted of smaller and mostly circular, solid and compactly shaped erythrocytes, the second subpopulation (ES 2) consisted of larger erythrocytes with irregular boundaries. The experimental groups of human samples exposed to all frequencies tested showed a significantly higher proportion of erythrocytes of subpopulation ES 2 subpopulation and a lower proportion of subpopulation ES 1 compared to the control group, while the proportion of subpopulations in the experimental and control groups of sow samples did not differ significantly.

CONCLUSIONS: 5G electromagnetic field exposure of different frequencies has no effect on the values of the investigated hematologic indicators and platelet activation in

in vitro exposed human blood. While 5G electromagnetic field exposure at a frequency of 3500 MHz only affects the change in the values of certain hematological indicators of exposed pig blood. However, *in vitro* exposure of human and sow blood to 5G electromagnetic field at all investigated frequencies has a significant effect on the morphometry of human and sow erythrocytes. *In vitro* exposed human male and female erythrocytes significantly increased in size, bulged and increased membrane roughness. The negative effect of 5G electromagnetic radiation at all investigated frequencies on the morphometry of human and sow erythrocytes in *in vitro* exposed blood depended on the radiation frequency and, in humans, on gender. The most detrimental effect on the morphometry of human and sow erythrocytes was observed after exposure to a frequency of 700 MHz. The erythrocytes of women are more susceptible to the negative *in vitro* effect of 5G electromagnetic radiation. Men's erythrocytes significantly increased membrane roughness, while women's erythrocytes significantly increased in size and bulged, especially after exposure to a frequency of 700 MHz. 5G electromagnetic radiation significantly increased the proportion of larger erythrocytes with irregular borders. The sow erythrocytes were significantly elongated and irregularly bordered after exposure to a frequency of 700 MHz. 5G electromagnetic radiation at all frequencies studied had no effect on the proportion of sow erythrocyte subpopulations obtained in sow blood exposed *in vitro*. Changes that are more significant were found in human erythrocyte morphometry compared to sow erythrocyte morphometry.

KEYWORDS: 5G electromagnetic radiation, humans, pigs, hematologic indicators, erythrocyte morphometry, platelet activation

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA.....	4
2.1. KRV	4
2.1.1. Svojstva krvi.....	4
2.1.2. Krv ima tri glavne funkcije: transport, regulacija, zaštita	5
2.1.3. Plazma	5
2.1.4. Stanični elementi krvi.....	6
2.2. HEMATOPOEZA (STVARANJE KRVNIH STANICA).....	13
2.3. HEMOSTAZA (ZAUSTAVLJANJE KRVARENJA)	14
2.4. HEMATOLOŠKE ANALIZE I POKAZATELJI	16
2.4.1. Koncentracija hemoglobina.....	18
2.4.2. Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu	19
2.4.3. Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima	19
2.4.4. Broj eritrocita	21
2.4.5. Prosječni volumen eritrocita, histogram eritrocita i širina raspodjele eritrocita.....	22
2.4.6. Hematokrit.....	23
2.4.7. Broj trombocita	23
2.4.8. Broj leukocita i diferencijalna krvna slika	23
2.4.9. Brojenje retikulocita	24
2.5. PROTOČNA CITOMETRIJA TROMBOCITA.....	24
2.6. MORFOMETRIJA ERITROCITA	26
2.7. SUBPOPULACIJE ERITROCITA.....	27
2.8. ELEKTROMAGNETSKO ZRAČENJE.....	28
2.8.1. Razvoj mobilne tehnologije	30
2.8.2. Biološki učinci radiofrekvencijskog elektromagnetskog zračenja	33
2.8.3. Utjecaj elektromagnetskog radiofrekvencijskog zračenja na hematološke pokazatelje	35
2.8.4. Utjecaj elektromagnetskog radiofrekvencijskog zračenja na morfometriju eritrocita	36
2.8.5. Utjecaj elektromagnetskog radiofrekvencijskog zračenja na aktivaciju trombocita	37
3. OBRAZLOŽENJE TEME	38
4. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA	40
4.1. Uzorkovanje i izlaganje ljudske krvi radiofrekvencijskom elektromagnetskom zračenju u laboratorijskim uvjetima	40

4.2. Analiza hematoloških pokazatelja u ljudskoj krvi	42
4.3. Analiza aktivacije trombocita u ljudskoj krvi	43
4.4. Životinje, smještaj i hranidba	44
4.5. Uzorkovanje krvi krmačama	45
4.6. Izlaganje uzoraka krvi krmača radiofrekvencijskom elektromagnetskom zračenju u laboratorijskim uvjetima	47
4.7. Analiza hematoloških pokazatelja u krvi krmača.....	48
4.8. Morfometrijska analiza eritrocita ljudi i krmača	49
4.9. Statistička obrada rezultata.....	51
5. REZULTATI	54
5.1. PRIKAZ DESKRIPTIVNIH PODATAKA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U LJUDI.....	54
5.2. PRIKAZ DESKRIPTIVNIH PODATAKA POJEDINAČNIH MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA LJUDSKIH ERITROCITA	54
5.3. PRIKAZ DESKRIPTIVNIH PODATAKA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U SVINJA	58
5.4. PRIKAZ DESKRIPTIVNIH PODATAKA POJEDINAČNIH MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA SVINJSKIH ERITROCITA	58
5.5. PRIKAZ PODATAKA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U LJUDI PREMA SPOLU I FREKVENCiji ZRAČENJA	61
5.6. PRIKAZ PODATAKA MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA LJUDSKIH ERITROCITA PREMA SPOLU I FREKVENCiji ZRAČENJA.....	67
5.7. PRIKAZ PODATAKA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U SVINJA PREMA FREKVENCiji ZRAČENJA	72
5.8. PRIKAZ PODATAKA MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA ERITROCITA SVINJA PREMA FREKVENCiji ZRAČENJA.....	75
5.9. SUBPOPULACIJE ERITROCITA NA OSNOVU MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA ERITROCITA LJUDI	78
5.10. SUBPOPULACIJE ERITROCITA NA OSNOVU MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA ERITROCITA SVINJA.....	83
5.11. ODNOSI IZMEĐU MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA LJUDSKIH ERITROCITA	87
5.12. ODNOSI IZMEĐU MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA SVINJSKIH ERITROCITA.....	91
6. RASPRAVA.....	95
7. ZAKLJUČCI	109
8. POPIS LITERATURE.....	111

9. ŽIVOTOPIS S POPISOM OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA ... 129

1. UVOD

Primjena radiofrekvencijskog elektromagnetskog zračenja (RF-EMZ) u stalnom je porastu od 1950-ih. RF-EMZ koristi se u medicini (magnetska rezonanca, radiofrekvencijska ablacija), industriji (grijanje i zavarivanje), kućanskim uređajima (monitori za bebe, bežični usmjerivač-Wi-Fi, mikrovalna pećnica), sigurnosti i navigaciji (radar), a posebno u bežičnoj telekomunikaciji (radio i televizija, mobilna telefonija), stočarstvu (bežična tehnologija u stočarstvu i poljoprivredi tzv. bežični “fitness trackeri” Wi-Fi farming) (HENSCHENMACHER i sur., 2022.). Mobiteli, bežične mreže i bežični uređaji neprestano odašilju u okolinu RF-EMZ neovisno o tome jesu li spojeni na mreže ili ne. Nadalje, treba naglasiti kako osim navedenih izvora RF-EMZ i svaki električni uređaj stvara elektromagnetsko polje pri čemu se dodatno povećava razina RF-EMZ-a u okolini. Tako proizvedeno (antropogeno) RF-EMZ odaslano u okolinu naziva se *elektromagnetsko onečišćenje* ili *elektromagnetski smog* (WONGKASEM, 2021.). RF-EMZ-a različitih frekvencija antropogenog podrijetla se zbrajaju, a prisutna su u cjelokupnom okružju ljudi i životinja pa tako i zdravstvenim ustanovama (SAEFL, 2005.).

Raširena upotreba RF-EMZ-a, posebice uvođenjem 5G mreže, uzrokuje zabrinutost javnosti o mogućim štetnim učincima na ljudsko i životinjsko zdravlje (SALIEV i sur., 2019., HARDELL i CARLBERG, 2020., KARIPIDIS i sur., 2021a.). Dosadašnja istraživanja uključuju biološki učinak RF-EMZ-a na genotoksičnost, staničnu proliferaciju, ekspresiju gena, staničnu signalizaciju, funkciju staničnih membrana (NGUYEN i sur., 2017.) te na funkciju imunskog, hematopoetskog (JBIREAL i sur., 2018.) i reproduktivnog sustava (SIMKÓ i MATTSSON, 2019.). Međutim, u dostupnoj literaturi do danas ima vrlo malo podataka o učincima RF-EMZ-a 5G mreže na stanice, tkiva, organe i organizme. S jedne strane riječ je o novoj generaciji bežične tehnologije koja koristi različite frekvencije od dosad primjenjivanih. S druge strane, svakako je prerano prognozirati stvarnu izloženost ljudi i živih bića elektromagnetskim poljima 5G mreže budući se tek uvodi i ima tendenciju ekspanzije. Kako do danas nema načinjenih dugoročnih studija o utjecaju 5G tehnologije na zdravlje ljudi i drugih živih bića, a na temelju dosadašnjih rezultata prethodnih generacija bežičnih tehnologija i mogućih štetnih učinaka, potrebno je pristupiti istraživanjima utjecaja 5G tehnologije na različite organske sustave i u što većem broju različitih okolnosti izlaganja (BANIK i sur., 2003., SIMKÓ i MATTSSON, 2019., HARDELL i CARLBERG, 2020., ELZANATY i sur., 2021., KARIPIDIS i sur., 2021a.).

U zdravstvenim se ustanovama za poboljšanje komunikacije unutar bolnica koriste bežične mreže za spajanje prijenosnih i fiksnih uređaja (primjerice daljinsko praćenje pacijenata, personalizirana skrb, sustavi hitnih poziva, aplikacije lijekova, sustavi upravljanja laboratorijskim informacijama, nadzor pohrane uzoraka, materijala i lijekova u hladnjaku, itd.). Zdravstveni djelatnici pa i sami pacijenti koriste mobilne telefone te se time i uzorci krvi prikupljeni od pacijenata izlažu dodatnom RF-EMZ-u. Osnovna hematološka laboratorijska analiza za procjenu općeg zdravstvenog stanja, praćenja tijeka bolesti i otkrivanja različitih poremećaja je kompletna krvna slika (KKS) (ALGHAMDI i EL-GHAZALY, 2012.). Ova analiza uključuje utvrđivanje broja eritrocita, leukocita i trombocita u litri krvi te dio njihovih morfoloških karakteristika (ABDOLMALEK i sur., 2012.). Dokazano je da izloženost ljudi i pokusnih životinja RF-EMZ-a koje su emitirali mobilni telefoni i mnogi drugi elektronički uređaji 4G i starije tehnologije uzrokuju štetne učinke na krvne stanice i promijenu KKS-a. Navedeno je ovisilo o vrsti izloženih živih bića, izvorima RF-EMZ-a, frekvenciji, učestalosti i trajanju izloženosti (JBIREAL i sur., 2018.). Također je dokazano da RF-EMZ mobilnog telefona uzrokuje štetne učinke na ljudske krvne stanice i promjenu pojedinih vrijednosti KKS-a nakon produljenog (1 h) *in vitro* izlaganja krvi RF-EMZ-u (KUMARI i sur., 2016., JBIREAL i sur., 2018., CHRISTOPHER i sur., 2020.). Međutim, do danas u dostupnoj literaturi nisu pronađena istraživanja o učinku RF-EMZ-a na hematološke pokazatelje domaćih životinja, odnosno svinja kao životinjskog modela čiji se rezultati mogu interpretirati i na ljude. Morfometrija je najjednostavniji oblik slikovne citometrije i odnosi se na procjenu stanica ili tkiva mjerenjem različitih staničnih značajki u dvodimenzionalnom prikazu (POLJIČAK-MILAS i sur., 2009.). Novija istraživanja rabe sofisticirana i naprednija mjerenja eritrocita uz uporabu računalnih programa (ADILI i sur., 2017., ŽURA ŽAJA i sur., 2019., AHMED i sur., 2021.). Podatci o morfometrijskim pokazateljima eritrocita nakon *in vitro* izlaganja ljudske i svinjske krvi RF-EMZ-u nisu poznati. Protočna citometrija značajno je unaprijeđena posljednjih godina, a ranije se koristila za mjerenje aktivacije trombocita u kliničke i istraživačke svrhe (RAMSTRÖM i sur., 2016., ALZUA i sur., 2020.). Saznanja o učinku RF-EMZ-a nakon *in vitro* izlaganja ljudske krvi na aktivaciju trombocita su oskudna. LIPPI i sur. (2017.) su u istraživanju učinka RF-EMZ-a mobilnog telefona na frekvenciji od 900 MHz (3G mreža) tijekom 30 minuta na *in vitro* izložene ljudske trombocite utvrdili smanjenje aktivacije trombocita i povećanje njihove veličine. Stjecanje saznanja o učinku RF-EMZ-a nakon *in vitro*

izlaganja krvi od posebnog su značaja zbog pohrane te primjene krvi i krvnih pripravaka u transfuzijskoj medicini (STOLL i WOLKERS, 2011., NGUYEN i sur., 2017.).

Hipoteza ovog istraživanja je da 5G elektromagnetsko zračenje dovodi do promjena u vrijednostima kompletne krvne slike, morfometriji eritrocita u *in vitro* izloženoj krvi dragovoljaca i svinja te aktivaciji trombocita u ljudskoj krvi.

Cilj je ovog istraživanja utvrditi učinak 5G elektromagnetskog zračenja na frekvencije od 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz na kompletnu krvnu sliku, morfometriju eritrocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj i životinjskoj krvi te na aktivaciju trombocita u ljudskoj krvi.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

2.1. KRV

Krv je tekuće vezivno tkivo, koje dostavlja potrebne tvari tjelesnim stanicama, poput hranjivih tvari i kisika, a odnosi otpadne proizvode od istih tih stanica. Neprekidno cirkulira tijelom u zatvorenom sustavu krvnih žila, omogućujući stalnu komunikaciju između tkiva koja su međusobno udaljena. Krv čini oko 7 % do 8 % tjelesne mase (oko 5,6 litara u čovjeka od 72 kg). Taj je udio manji u žena, dok je u djece veći (postupno se smanjuje dok se ne dosegne udio za odrasle). Volumen krvi u životinja kreće se između 5,5 do 11 % tjelesne mase, što ovisi o vrsti, pasmini, dobi i spolu životinja. Sastoji se od stanica (eritrocita, leukocita i trombocita) suspendiranih u plazmi koja sadrži vodu (oko 92 %), otopljene bjelančevine, masti, glukozu, minerale, ione, hormone, organske kiseline, ureju i druge otpadne tvari. Krv kralježnjaka svijetlo je crvena kada je hemoglobin oksigeniran, odnosno kada je na njega vezan kisik, a tamno crvena kada je za hemoglobin vezan ugljični dioksid. Od ukupnog volumena krvi crvene krvne stanice čine oko 45 %, plazma oko 54,3 %, a bijele krvne stanice oko 0,7 % (RASTOGI, 2007., VOIGT i SWIST, 2011., SJAASTAD i sur., 2017.).

2.1.1. Svojstva krvi

1. Krvna plazma je tekućina slamnato žute boje.
2. Krv je viskozna tekućina (od 4,5 do 5,5 naspram 1 za vodu) čiji je protok prilagođen prolasku kroz kapilare uz što manji otpor.
3. Krv je teža i gušća od vode, stoga teče sporije od vode.
4. Normalni pH krvi je blago alkalni od 7,35 do 7,45.
5. Održava koncentraciju soli od 0,9 %.
6. Krv ima prosječnu gustoću od približno 1060 kg/m³.
7. Krv održava temperaturu nešto višu od tjelesne (~ 38 °C).
8. Različite krvne stanice stvaraju se u koštanoj srži u procesu koji se naziva hematopoeza.
9. Leukociti se dijele na limfocite i monocite, koji nemaju granule u citoplazmi i na granulocite (neutrofili, eozinofili i bazofili) čija je citoplazma ispunjena granulama.
10. Bjelančevine u krvi (uključujući bjelančevine zgrušavanja) uglavnom proizvodi jetra, dok hormone proizvode endokrine žlijezde.

11. Udio vode u krvi regulira hipotalamus, a održavaju je bubrezi (RASTOGI, 2007., VOIGT i SWIST, 2011., SJAASTAD i sur., 2017.).

2.1.2. Krv ima tri glavne funkcije: transport, regulacija, zaštita

Transport: krv je odgovorna za prijenos kisika iz pluća u tkiva i ugljičnog dioksida iz tkiva u pluća. Nadalje, krv prenosi hranjive tvari (glukozu, aminokiseline i masne kiseline iz probavnog sustava u stanice i odnosi stanične otpadne proizvode (ugljični dioksid, ureju i mliječnu kiselinu). Krvlju se prenose i hormoni do stanica. Druga funkcija krvi, koja se često zanemaruje je prijenos topline.

Regulacija: krv sudjeluje u održavanju fiziološkog pH tjelesnih tkiva kroz puferski kapacitet (regulirajući optimalnu koncentraciju vodikovih iona) te u regulaciji tjelesne temperature grijanjem ili hlađenjem organizma. Također regulira udio vode u stanicama uglavnom regulirajući koncentraciju otopljenih natrijevih iona i bjelančevina.

Zaštita: krv sudjeluje u zaštiti od mikroorganizama aktivnošću leukocita i krvnih bjelančevina poput protutijela, interferona i komplementa. Trombociti, krvne bjelančevine i ostali čimbenici koji sudjeluju u procesu zgrušavanja krvi sprječavaju krvarenje koje nastaje kao posljedica ozljeda/oštećenja krvnih žila (RASTOGI, 2007., VOIGT i SWIST, 2011., SJAASTAD i sur., 2017.).

2.1.3. Plazma

Plazma se sastoji od 91,5 % vode i 8,5 % otopljenih tvari (organskih tvari: albumini, globulini, fibrinogen, ugljikohidrati, masti, hormoni, vitamini, enzimi itd. i anorganskih tvari: anioni i kationi).

Bjelančevine plazme

Mnoge bjelančevine koje se nalaze u plazmi nalaze se i drugdje u tijelu, ali kada se nađu u plazmi nazivaju se bjelančevine plazme.

1) Albumini: čine 55 % od ukupnih bjelančevina plazme, nastaju u jetri, koncentracija im je u plazmi 4 puta veća nego li u međustaničnoj tekućini. Albumini su odgovorni za održavanje osmotske ravnoteže tijela.

2) Globulini: čine 38 % od ukupnih bjelančevina plazme, nastaju u jetri i plazma stanicama. Najvećim dijelom pripadaju skupini bjelančevina koji se nazivaju imunoglobulini (protutijela).

- 3) Fibrinogen: čini 7 % od ukupnih bjelančevina plazme, nastaje u jetri, a ima ključnu funkciju u zgrušavanju krvi (RASTOGI, 2007., REECE, 2015., BROOKS i sur., 2022.).

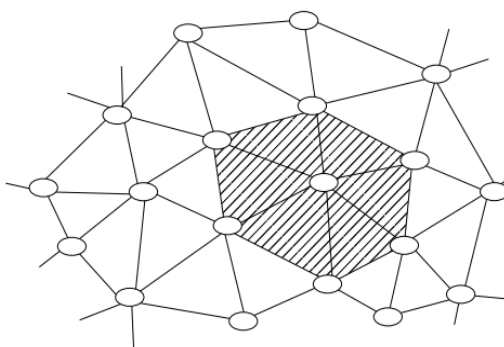
Druge otopljene tvari u plazmi

- 1) Nепroteinski dušikovi spojevi: sadrže dušik, ali nisu bjelančevine. Uglavnom su to otpadni spojevi nastali metabolizmom kao što su ureja, mokraćna kiselina, kreatin, kreatinin, amonijeve soli i bilirubin.
- 2) Hranjive tvari: produkti probave koji se trebaju dostaviti tkivima, aminokiseline podrijetlom iz bjelančevina, glukoza iz ugljikohidrata i masne kiseline te glicerol iz triacilglicerida.
- 3) Regulatorne tvari: enzimi koji pomažu katalizirati kemijske reakcije i hormoni koji reguliraju rast i razvoj.
- 4) Respiratorni plinovi: u malom postotku kisik i ugljikov dioksid otopljeni su u plazmi, a većina se kisika veže sa željezom u hemoglobinu eritrocita (oksihemoglobin), a većina ugljičnog dioksida se veže za globinski dio (karbaminohemoglobin).
- 5) Elektroliti su ioni: Na^+ , K^+ , Ca^+ , Mg^+ (kationi) i Cl^- , HPO_4^{3-} , SO_4^{2-} , HCO_3^- (anioni), a sudjeluju u održavanju osmotskog tlaka, regulaciji pH vrijednosti u različitim tkivima i stanicama organizma, neophodnim životnim procesima svake stanice, održavanju pravilnog rada mišića te u prijenosu živčanih impulsa (RASTOGI, 2007., REECE, 2015., SJAASTAD i sur., 2017.).

2.1.4. Stanični elementi krvi

Eritrociti: čine 99 % ukupnih staničnih elemenata krvi, imaju oblik bikonkavnih diskova promjera oko 8 μm u ljudi te u svinja 6,0 μm (od 4 do 8 μm), u sisavaca nemaju jezgru i organele, a time ni sposobnost diobe i sinteze bjelančevina (SJAASTAD i sur., 2017., BROOKS i sur., 2022.). Ukupna količina funkcionalnih bjelančevina sintetizirana je do trenutka sazrijevanja retikulocita (BROOKS i sur., 2022.). Stanična membrana eritrocita je fleksibilna što dopušta stanici da mijenja svoj oblik kada prolazi kroz kapilare, ali je istodobno relativno neelastična i otporna te ima malu sposobnost istezanja. Citoskeletne bjelančevine se nalaze na citoplazmatskoj strani stanične membrane i sudjeluju u održavanju oblika stanice, deformabilnosti i stabilnosti membrane i bočne pokretljivosti nekih integralnih membranskih

bjelančevina. One se smatraju "perifernim bjelančevinama" jer nisu ugrađene unutar membrane, već su usidrene na citoplazmatskoj strani fosolipidnog dvosloja. Spekrin i aktin su fleksibilne bjelančevine, koje omogućuju eritrocitima da promijene oblik pri prolasku kroz usku krvnu žilu, a zatim da se ponovno vrate u prvobitni oblik kada uđu u širu krvnu žilu. Deformabilnost i otpornost eritrocita na fragmentaciju ovise o bikonkavnom obliku, viskoelastična svojstva ovise o spektrinu u citoskeletu (Slika 1.), a viskoznost eritrocita ovisi o sadržaju hemoglobina (BROOKS i sur., 2022.).



Slika 2.1. Rešetkasta struktura koju čini spektrin u citoskeletu eritrocita preuzeto od BROOKS i sur. (2022.)

Bikonkavni oblik uvelike povećava površinu stanice i omogućuje fleksibilnost pa eritociti mogu proći kroz kapilare promjera svega 3 μm . Zbog jedinstvenog diskoidnog oblika eritrociti u kralješnjaka mogu tvoriti „rouleaux“ formacije u kojem se eritrociti lijepe jedan na drugi (izgledajući kao nakupina kovanica). Ovakva se formacija najčešće nalazi u krvnom razmazu krvi konja, a rjeđe u pasa, mačaka i svinja. U ljudi se zastupljenost „rouleaux“ formacije može povećati zbog različitih bolesti, a osobito u onih koje povećavaju količinu bjelannčevina u plazmi. Naboranost membrane (ehinociti) i anizocitoza može biti prisutna u odraslih svinja, no izraženija je u mlađih jedinki (BROOKS i sur., 2022.). Zdrav muškarac ima približno 4,5 do 5,5 $\times 10^{12}/\text{L}$ krvi, a zdrava žena ima približno 4 do 5 $\times 10^{12}/\text{L}$ krvi (MCKENZIE i WILLIAMS, 2010.). Veći broj eritrocita u muškaraca posljedica je veće razine testosterona u krvi koji stimulira stvaranje eritrocita stimulirajući sintezu eritropoetina. Ukupan broj eritocita u perifernoj krvi svinja je 6,5 $\times 10^{12}/\text{L}$.

Stanična membrana eritrocita ima antigene koji su odgovorni za različite krvne grupe u ljudi i životinja. Ljudski eritrociti sastoje se (po masi) od 61 % vode, 32 % bjelančevina (uglavnom hemoglobina), 7 % ugljikohidrata i 0,4 % masti. Izolirane membrane eritrocita

sastoje se od približno 20 % vode, 40 % bjelančevina, 35 % masti i 6 % ugljikohidrata (BROOKS i sur., 2022.). Eritociti sadrže hemoglobin koji čini oko 33 % mase eritocita, a svaki eritocit ima oko 280 milijuna molekula hemoglobina. Budući da eritrociti nemaju jezgru, sav njihov unutarnji prostor prilagođen je transportu kisika. Također, budući da ne sadrže mitohondrije i stvaraju ATP anaerobno, ne koriste kisik koji prenose. Normalne vrijednosti hemoglobina su od 135 do 200 g/L krvi u novorođenčadi, od 120 do 160 g/L u odraslih žena i od 140 do 174 g/L u odraslih muškaraca (MCKENZIE i WILLIAMS, 2010.), a u svinja 127 g/L (SJAASTAD i sur., 2017.). Hemoglobin se spaja s kisikom u oksihemoglobin i s ugljikovim dioksidom u karbaminohemoglobin. Svaka molekula hemoglobina sastoji se od 4 skupine hema i 1 globina (bjelančevine). Svaka skupina hema se može reverzibilno vezati s kisikom, a globin se reverzibilno veže s ugljikovim dioksidom. Eritociti imaju životni vijek u ljudi od 110 do 120 dana (LABAR i sur., 2007.), a u svinja 75 do 95 (REECE, 2015.) nakon čega ih iz cirkulacije uklanjaju makrofagi u slezeni i jetri. Za održavanje normalnog broja eritocita u krvi tijelo ih mora proizvoditi brzinom od približno 2 milijuna u sekundi (SJAASTAD i sur., 2017., BROOKS i sur., 2022.).

Fiziologija eritrocita

Eritrociti su stanice koje nastaju u koštanoj srži, a zrelost postižu za 6 do 8 dana. Uz povećane potrebe organizma eritrociti se mogu otpustiti u perifernu cirkulaciju prije potpunog sazrijevanja, odnosno kao retikulociti za 3 do 5 dana. Za proizvodnju eritocita moraju biti dostupne esencijalne hranjive tvari, uključujući odgovarajuće količine bjelančevina, minerala (osobito željeza, bakra i kobalta) i vitamina, posebno vitamina B 12 i folna kiselina. Eritrociti se pretežito razgrađuju u stanicama histiomonocitnog sustava u slezeni, koštanoj srži i jetri (REECE, 2015.). Željezo i strukturne komponente hemoglobina zadržavaju se u organizmu i ponovno koriste u koštanoj srži. Glavna funkcija eritocita je prijenos kisika do tkiva, ali imaju i značajnu funkciju u regulaciji pH krvi. Sva energija koja se nalazi u eritrocitima koristi se za održavanje oblika stanice, strukture membrane, enzimske funkcije, reduciranom obliku željeza u hemoglobinu i drugim funkcijama, a sve u svrhu optimalne dostave kisika u tkiva. Nedavno je također dokazano da eritrociti sisavaca sudjeluju u urođenom imunološkom odgovoru vežući upalne molekule i proizvodeći reaktivne kisikove spojeve (ROS) koji djeluju antimikrobno. Eritrociti također imaju brojne funkcije u hemostazi na prokoagulantni i antikoagulantni način (LANGARI i sur., 2022.). Na primjer, eritrociti otpuštaju ADP i tromboksan A2, koji

povećavaju adheziju i agregaciju trombocita pa imaju prokoagulantna svojstva, a također mogu djelovati kao antikoagulans čineći fibrinsku mrežu poroznijom (RASTOGI, 2007., BROOKS i sur., 2022., LANGARI i sur., 2022.).

Leukociti: Leukociti su najveće krvne stanice te čine samo oko 1 % volumena krvi. Svi leukociti imaju jezgru, mitohondrije i druge organele, mogu se aktivno kretati. d Leukociti se dijele s obzirom na prisustvo granula u citoplazmi na granulirane i negranulirane, ili s obzirom na izgled jezgre na mononuklearne i polinuklearne leukocite (Slika 2.).

Granulirani leukociti

Neutrofili: veličine su od 10 do 12 μm . Čine 60 do 70 % leukocita u perifernoj cirkulaciji. Jezgre imaju od 2 do 6 režnjeva povezanih tankim nitima. Kako neutrofil stari, njegova jezgra postaje više režnjevita, odakle proizlazi naziv polimorfonuklearni leukociti. Citoplazma sadrži mnoštvo malih zrnaca blijedoljubičaste boje, podjeljene u 2 glavne vrste granula (specifične granule i azurofilne granule). Specifične granule su male granule i sadrže alkalnu fosfatazu, kolagenazu, laktoferin, lizozim i nekoliko neenzimskih antibakterijskih bjelančevina. Azurofilne granule su lizosomi i sadrže kiselu fosfatazu, α -monosidazu, mijeloperoksidazu, lizozim, kationske antibakterijske bjelančevine, kolagenazu, elastazu, nukleotidazu i druge. Neutrofili imaju kratak poluživotni vijek od 6 do 7 sati u krvi i od 1 do 4 dana u tkivima. Neutrofili imaju fagocitnu aktivnost protiv bakterija i drugih malih čestica. Tijekom fagocitoze nastaju superoksidni ion (O_2^-) i vodikov peroksid (H_2O_2) koji ubijaju mikroorganizme. Mijeloperoksidaza s O_2^- tvori snažan sustav uništavanja bakterija. Ukupan je broj nezrelih neutrofila u perifernoj krvi ljudi od 0 do $0,7 \times 10^9/\text{L}$, a zrelih neutrofila od $1,8$ do $7 \times 10^9/\text{L}$. Udio je nezrelih neutrofila u ljudi od 0 do 4 %, zrelih neutrofila od 35 do 45 % (MCKENZIE i WILLIAMS, 2010.). Dok je u svinja broj nezrelih neutrofila u perifernoj krvi $0,16 \times 10^9/\text{L}$ ($0-0,64 \times 10^9/\text{L}$), a zrelih neutrofila $6 \times 10^9/\text{L}$ ($4,5-7,5 \times 10^9/\text{L}$). Udio je nezrelih neutrofila u svinja 1 % (0-4 %), zrelih neutrofila 37 % (28-47 %) (VOIGT i SWIST, 2011.).

Eozinofili: veličine su od 10 do 12 μm te čine od 2 do 4 % leukocita u perifernoj krvi. Njihov poluživotni vijek u perifernoj cirkulaciji je oko 10 sati i 10 dana u tkivima. Jezgre imaju dva režnja povezana debelom niti. Citoplazma sadrži mnogo velikih crveno-narančasto obojenih granula koje ne zaklanjaju jezgru. Granule sadrže mnoge vrste enzima, npr.

peroksidaze, RNA-aze, fosfolipaze i druge te bjelančevinu koja se naziva glavni bazični protein, a ima sposobnost uništavanja parazitskih nematoda. Povećanje broja eozinofila u krvi povezano je s alergijskom reakcijom i invazijom parazitima. Ukupan je broj eozinofila u perifernoj krvi ljudi od 0 do $0,4 \times 10^9/L$, a udio je eozinofila u ljudi od 0 do 5 % (MCKENZIE i WILLIAMS, 2010.). Dok je u svinja broj eozinofila u perifernoj krvi $0,56 \times 10^9/L$ ($0-1,7 \times 10^9/L$), a udio je eozinofila u svinja 3,5 % (0-11 %) (VOIGT i SWIST, 2011.).

Bazofili: veličine su od 8 do 10 μm . Bazofili čine manje od 1 % ukupnih leukocita u perifernoj krvi. Jezgra je dvodjelnja (nepravilna) i često u obliku slova S. Granule su u citoplazmi obojene plavo-crno, neujednačene su veličine i obično zaklanjaju jezgru. Granule sadrže uglavnom histamin i heparin. Bazofili imaju važnu funkciju u alergijama. Ukupan je broj bazofila u perifernoj krvi ljudi od 0 do $0,2 \times 10^9/L$, a udio je bazofila u ljudi od 0 do 1 % (MCKENZIE i WILLIAMS, 2010.). Dok je u svinja broj bazofila u perifernoj krvi $0,08 \times 10^9/L$ ($0-0,32 \times 10^9/L$), a udio je bazofila u svinja 0,5 % (0-2 %) (VOIGT i SWIST, 2011.).

Agranulirani leukociti

Pod svjetlosnim se mikroskopom ne mogu vidjeti citoplazmatske granule. Imaju vrlo malo citoplazme u usporedbi s jezgrom (Slika 2.).

Limfociti: veličine su od 6 do 8 μm mali, a do 18 μm veliki limfociti. Limfociti su kuglaste stanice. Jezgre su tamno obojene, obično okrugle s blagim udubljenjem. Citoplazma se na krvnom razmazu pojavljuje kao tanak nebesko plavi rub oko jezgre. Apsolutni je broj limfocita u perifernoj krvi ljudi od $1,0$ do $4,8 \times 10^9/L$, a udio je limfocita od 25 do 35 % (MCKENZIE i WILLIAMS, 2010.). U svinja apsolutni broj limfocita u perifernoj krvi nalazi se u rasponu od $4,5$ do $13 \times 10^9/L$, a udio je limfocita 43 % (39-52 %) (VOIGT i SWIST, 2011., BROOKS i sur., 2022.). Limfociti se prema funkciji dijele na B i T limfocite, a razlikuju se po životnom vijeku jer neki žive samo nekoliko dana, a drugi žive godinama. Sve vrste limfocita povezane su s imunološkim reakcijama u obrani od invazije mikroorganizama, stranih makromolekula i stanica raka.

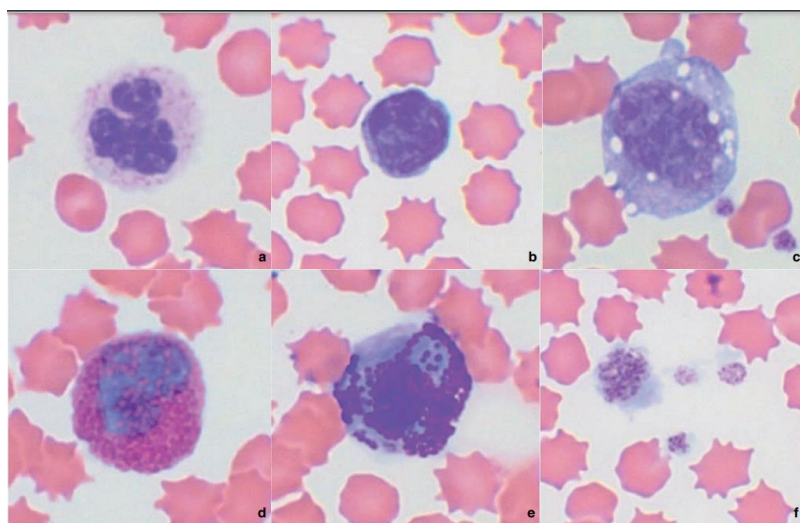
T-limfociti: nastaju u timusu iz matičnih stanica koštane srži.

B-limfociti: nastaju u primarnim limfatičnim organima iz matičnih stanica koštane srži (u ptica je to Fabricieva burza, a u sisavaca koštana srž). Udio B limfocita je od 13 do 38 % od ukupnog broja limfocita u perifernoj krvi svinja (BROOKS i sur., 2022.).

Monociti: veličine su od 14 do 19 μm . To su najveći leukociti. Jezgre su obično bubrežastog oblika. Citoplazma se u krvnom razmazu pojavljuje kao pjenasto plavo područje. Migriraju iz krvi u tkiva i postaju makrofagi. Makrofagi „gutaju“ velike čestice i patogene. Životni im je vijek u cirkulaciji nekoliko dana, ali u tkivima žive od 60 do 120 dana. Glavna je funkcija monocita fagocitoza, ali također imaju i sposobnost lučenja određenih tvari poput interleukina, npr. interleukina 1 (IL-1). Makrofagi imaju važne funkcije kod upale i imuniteta. Udio je monocita od 4 do 11 % od ukupnih leukocita u krvi. Apsolutni je broj monocita u perifernoj krvi ljudi od $0,1$ do $0,8 \times 10^9/\text{L}$, a udio je monocita od 2 do 10 % (MCKENZIE i WILLIAMS, 2010.). U svinja je apsolutni broj monocita u perifernoj krvi $0,8 \times 10^9/\text{L}$ ($0,32$ do $1,6 \times 10^9/\text{L}$), a udio je monocita u svinja 5 % (2-10 %) (VOIGT i SWIST, 2011.).

Neutrofila ima od 60 do 70 % od ukupnih leukocita u perifernoj krvi svinja, limfocita od 20 do 30 %, eozinofila oko 3%, bazofila 1%, a monocita oko 5%.

Ukupan je broj leukocita u perifernoj krvi ljudi od $4,5$ do $11 \times 10^9/\text{L}$, a svinja je $16 \times 10^9/\text{L}$ ($11-22 \times 10^9/\text{L}$) (MCKENZIE i WILLIAMS, 2010., VOIGT i SWIST, 2011.).



Slika 2.2. Mikroskopske fotografije klinički zdrave vijetnamske trbušaste svinje (*Sus scrofa*) preuzeto od BROOKS i sur. (2022.)

(a) Neutrofil; (b) Limfocit; (c) Monocit; (d) Eozinofil; (e) Bazofil; (f) Varijacija u veličini trombocita i eritrocita u klinički zdravih svinja. $1000 \times$. Modificirana Wright–Giemsa boja

Fiziologija leukocita

Primarna je funkcija leukocita borba protiv infekcije uzrokovane patogenima, a što se obično postiže fagocitozom ili imunim odgovorom. Neutrofili i makrofagi su stanice

odgovorne za fagocitozu te se nazivaju fagocitima. Fagociti su privučeni u područje zahvaćeno infekcijom u procesu poznatom kao kemotaksija. Kemotaksija je proces u kojem tvari iz upalom zahvaćenog tkiva signaliziraju fagocitima da krenu u to područje. Da bi leukociti mogli obavljati svoje funkcije većina ih mora napustiti krvotok, a što se naziva diapedeza. Diapedeza uključuje prolazak leukocita kroz stijenku kapilare uz pomoć citoplazmatskih pseudopodija (ameboidno kretanje).

Neutrofili reagiraju na bakterijsku infekciju brže od ostalih vrsta leukocita. Nakon fagocitoze neutrofili će otpustiti nekoliko tvari kao što je lizozim (antibakterijski učinak) i ROS kao što su superoksidni anion (O_2^-), vodikov peroksid (H_2O_2) i hipokloridni anion (OCl^-). Neutrofili također sadrže antimikrobne peptide defenzine koji poput koplja buše rupe u membranama mikroorganizama.

Monocitima je potrebno više vremena da dođu do mjesta infekcije, ali stižu u većem broju i mogu uništiti više mikroorganizama. Monociti se nakon što dođu do mjesta infekcije diferenciraju te postaju makrofagi i čiste stanične ostatke i mikroorganizme.

Eozinofili izlaze iz kapilara u tkivnu tekućinu i pri tome oslobađaju histaminazu koja smanjuje učinke histamina. Eozinofili fagocitiraju komplekse antigen-protutijelo.

Bazofili napuštaju kapilare i diferenciraju se u mastocyte koji oslobađaju heparin, histamin i serotonin, a oni pojačavaju upalnu reakciju.

T i B limfociti su najznačajnije stanice imunosnog sustava. Svaka tvar koja stimulira imunosnu reakciju naziva se antigen. B limfocit će se razviti u plazma stanice kao odgovor na antigen, koje će proizvoditi protutijela. Protutijela se vežu s antigenima u kompleks antigen-protutijelo i to tako da njihova vezna mjesta više nisu dostupna za druge kemijske reakcije, čineći ih inertnima. Antigeni također stimuliraju T limfocite, citotoksični T limfociti “ubojice” mogu izravno uništiti mikroorganizme, a T pomoćnički limfociti pomažu B i citotoksičnim T limfocitima.

Iako su B i T limfociti glavna obrana od mikroorganizama, sudjeluju i u transfuzijskoj reakciji, alergijama i odbacivanju transplantiranog organa. Zbog njihove funkcije većina leukocita ima različit životni vijek. Neki mogu živjeti godinama u zdravim jedinkama, ali uobičajeni životni vijek je samo nekoliko dana. U slučaju infekcije životni im se vijek može skratiti na samo nekoliko sati (SJAASTAD i sur., 2017., BROOKS i sur., 2022.).

Trombociti (krvne pločice): veličine su od 2 do 4 μm . Trombociti nisu prave stanice u sisavaca, a potječu od fragmenata citoplazme megakariocita koji se nalaze u crvenoj koštanoj srži. Trombociti su male krvne pločice bez jezgre, koji imaju ključnu funkciju u hemostazi, a sadrže tvari koje pospješuju zgrušavanje krvi. Normalni životni vijek trombocita je oko 10 dana. Trombocit ima perifernu svijetloplavu prozirnu zonu *hijalomera* i središnju zonu koja sadrži granule koja se naziva *granulomera*. Granule trombocita sadrže ione kalcija, ADP, ATP, serotonin, pirofosfat, hidrolitičke enzime, P-selektin, fibrinogen, trombocitni čimbenik rasta, koagulacijski faktor V i XIII i druge tvari. Citoplazma trombocita sadrži aktin i miozin, koji omogućavaju kontrakciju trombocita. Trombociti su vrlo ljepljivi pa se pod svjetlosnim mikroskopom pojavljuju kao nakupine stanica. Trombociti potiču zgrušavanje krvi i sudjeluju u popunjavanju praznine u oštećenim stijenkama krvnih žila. Nadalje, doprinose stvaranju početnog hemostatskog čepa, koji pomaže u sprječavanju akutnog krvarenja nakon ozljede krvne žile, a osiguravaju i fiziološku površinu za aktivaciju koagulacijskih čimbenika, čime se olakšava konačna stabilizacija primarnog trombocitnog čepa (HUA i CHEN, 2015.). Normalan se broj trombocita u ljudi kreće od 150 do 450 x 10⁹/L krvi (MCKENZIE i WILLIAMS, 2010.). Trombociti u svinja variraju u obliku i veličini, veličine su od 1 do 3 μm u promjeru, prosječnog volumena od 8,4 do 9,75 fL, a često se nakupljaju. Zabilježeno je da je volumni udio trombocita u jedinici pune krvi (*engl. Plateletcrit, PCT*) u svinja od 0,009 do 0,395 % (BROOKS i sur., 2022.).

Veći je broj trombocita pohranjen u slezeni, a koji se po potrebi mogu mobilizirati u sistemsku cirkulaciju. Trombocite razaraju makrofagi u jetri i slezeni (RASTOGI, 2007., SJAASTAD i sur., 2017.). Na funkciju trombocita utječu brojni čimbenici, primjerice tjelesna temperatura, prehrana, onečišćenje zraka, izloženost alergenima, ponašanje i poremećaj spavanja (LIPPI i sur., 2017., POLYAKOVA i sur., 2018.).

2.2. HEMATOPOEZA

Tijekom fetalnog se razvoja hematopoeza odvija u žumanjčanoj vrećici, jetri, slezeni, timusu, limfnim čvorovima i koštanoj srži, a nakon rođenja u crvenoj koštanoj srži. Crvena se koštana srž u kojoj se odvija hematopoeza nalazi u proksimalnim epifizama humerusa i bedrene kosti, prsnoj kosti, rebarima i lubanji, te u kralješcima i zdjelici. Sve krvne stanice potječu od pluripotentnih hematopoetskih matičnih stanica. U hematopoezi sudjeluje nekoliko

hematopoetskih čimbenika rasta koji stimuliraju diferencijaciju i proliferaciju određenih progenitorskih stanica.

Eritropoetin: proizvodi se uglavnom u bubrezima i donekle u jetri, stimulira proliferaciju prekursora eritrocita.

Trombopoetin: proizvodi se u bubrezima, a potiče stvaranje trombocita.

Citokini: glikoproteini koje proizvode stanice crvene koštane srži, leukociti, makrofagi i fibroblasti. Najpoznatiji citokini su faktori stimulacije kolonija i interleukini (RASTOGI, 2007., SJAASTAD i sur., 2017.).

2.3. SUSTAV ZGRUŠAVANJA KRVI

Osnovna funkcija sustava zgrušavanja krvi je održavanje krvi u tekućem stanju, a kod ozljede zaustavljanje krvarenja. Tri su međusobno povezana mehanizma uključena u zaustavljanje krvarenja (hemostazu).

1.) *Stjenka krvne žile*. Nakon ozljede prva reakcija je vaskularni spazam uzrokovan kontrakcijom glatkih mišića u stijenci oštećene krvne žile što smanjuje dotok krvi kroz ozlijeđeno područje.

2.) *Stvaranje trombocitnog ugruška* koje se može podijeliti u tri razdoblja:

a) Priljubljivanje trombocita za vezivne strukture, prvenstveno kolagen, a koje se nalaze ispod endotelnih stanica oštećene krvne žile. Trombociti se lijepe na kolagen uz prethodno vezanje von Willebrandovog čimbenika koji se nalazi u plazmi.

b) Priljubljivanje trombocita uzrokuje oslobađanje tvari iz trombocitnih granula i sintezu tromboksana A₂. Granule trombocita sadrže tvari kao što su čimbenici zgrušavanja krvi, čimbenik rasta, ADP, ATP, Ca²⁺, serotonin i faktor stabilizacije fibrina. Tromboksan A₂ i ADP potiču aktivaciju trombocita što uključuje promjenu oblika trombocita, a što im povećava površinu, a nastali pseudopodiji omogućuju međusobni kontakt.

c) Agregacija trombocita je ireverzibilna faza sljepljivanja trombocita, a do koje dolazi zbog visoke koncentracije ADP-a koji aktivira ostale trombocite u tom području i oni se međusobno lijepe putem von Willebrandovog čimbenika. Na kraju za stabilizaciju trombocitnog ugruška potreban je fibrin koji se stvara aktivacijom plazmatskih čimbenika zgrušavanja ugruška.

3.) *Plazmatski sustav zgrušavanja* čine određeni glikoproteini koji se nazivaju čimbenicima zgrušavanja. Proces zgrušavanja krvi je vrlo složen proces u kojem se čimbenici

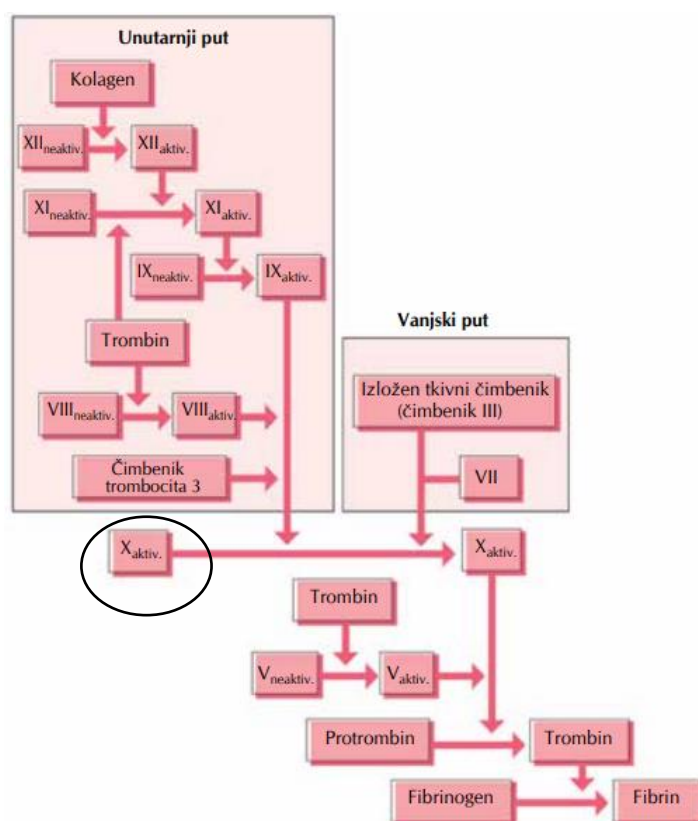
zgrušavanja međusobno aktiviraju u kaskadnoj reakciji što uključuje mnoge korake. Čimbenici su označeni rimskim brojevima (I – XIII). Glavna je funkcija zgrušavanja krvi stvaranje fibrina. Krvni ugrušak je mreža fibrinskih niti u kojima su zarobljeni stanični elementi.

Čimbenici zgrušavanja međusobno se aktiviraju određenim redoslijedom što rezultira stvaranjem aktivatora protrombina. Aktivator protrombina je prvi korak u zajedničkom putu zgrušavanja krvi. Zajednički put zgrušavanja krvi put mogu pokrenuti dva procesa (puta):

1. Vanjski (ekstrinzični) put nastaje zbog oštećenja tkiva.
2. Unutarni (intrinzični) put nastaje zbog oštećenja endotelnih stanica (Slika 3.).

U zajedničkom putu, aktivator protrombina pretvara protrombin u trombin. Trombin djeluje na fibrinogen i pretvara ga u netopiva vlakna fibrina. Vlakna fibrina tvore mrežu za koju se lijepe stanični elementi krvi i stvara se čvrsti ugrušak.

Iako sam vitamin K ne sudjeluje u stvaranju ugrušaka, potreban je za sintezu četiri čimbenika zgrušavanja koji se nazivaju čimbenici protrombinskog kompleksa.. Stoga nedostatak vitamina K može za posljedicu imati nekontrolirano krvarenje.



Slika 2.3. Kaskadna reakcija zgrušavanja krvi (unutarni i vanjski put) preuzeto od SJAASTAD i sur. (2017.)

Fibrinoliza je fiziološki proces razgradnje ugruška i odstranjenje neželjenih naslaga fibrina. Već nakon nekoliko sati što se ugrušak stvori, počinje enzimatski proces cijepanja fibrinskih niti i cijeljenje tkiva. Fibrinoliza je prvi korak u cijeljenju. U krvi i tkivnim tekućinama nalazi se plazminogen kao proenzim koji aktivatori pretvaraju u plazmin. Plazmin pokreće razgradnju fibrina do topljivih fragmenata. Kako se ugrušak uklanja, proces zacjeljivanja vraća cjelovitost stijenke krvne žile.

Kontrola zgrušavanja krvi

Tijelo kontrolira i ograničava kaskadnu reakciju zgrušavanja krvi, inače bi se jednom započeti proces zgrušavanja proširio cijelim krvožilnim sustavom.

Glavni kontrolni mehanizmi su:

1. Savršena glatkoća normalnih endotelnih stanica krvne žile što onemogućuje priljubljivanje trombocita.
2. Prisutnost prirodnih antikoagulansa, npr. heparin u krvi koji inaktivira faktore zgrušavanja (RASTOGI, 2007., SJAASTAD i sur., 2017.).

2.4. HEMATOLOŠKE ANALIZE I POKAZATELJI

Kompletna krvna slika (KKS) ili hemogram je osnovna laboratorijska analiza krvi za procjenu i identifikaciju stanica u svrhu procjene općeg zdravstvenog stanja i otkrivanja različitih poremećaja. Kompletna krvna slika uključuje skup testova koji se koriste za kvantificiranje broja crvenih krvnih stanica, bijelih krvnih stanica i trombocita u litri krvi, pojedinosti o njihovoj veličini i obliku, mjerenje sadržaja hemoglobina eritrocita, određivanje udjela i apsolutnog broja pet tipova leukocita i identificiranje nezrelih i abnormalnih krvnih stanica (ABDOLMALEKI i sur., 2012.). Osim toga, analiza krvnih pokazatelja najvažniji je način utvrđivanja zdravstvenog stanja pokusnih životinja te služe u dijagnostici određenih bolesti i stanja kao što su anemija, leukemija te otkrivaju prisutnost upale (ALGHAMDI i EL-GHAZALY, 2012.). Za analizu kompletne krvne slike životinja koriste se veterinarski hematološki analizatori, poput Abacus Junior Vet hematology analyzer (Diatron, Mađarska), koji sadrže relevantne analitičke podatke i referentne vrijednosti za svaku pojedinačnu vrstu životinja (BURMAŃCZUK i sur., 2016., JURICA i sur. 2018., ŽURA ŽAJA i sur., 2019.).

Brojači stanica određuju KKS u nezgrušanoj punoj krvi (puna krv u koju je dodan antikoagulans EDTA ili heparin za sprječavanje zgrušavanja), koristeći električne i optičke metode za istovremeno izvođenje navedenih testova (VOIGT i SWIST, 2011., BROOKS i sur., 2022., THRALL i sur., 2022.).

Automatizirani brojači stanica izračunavaju hematokrit množenjem broja eritrocita sa prosječnim volumenom eritrocita. Eritrocitne (Wintrobove) konstante (prosječni volumen eritrocita, prosječnu količinu hemoglobina u eritrocitu, prosječnu koncentraciju hemoglobina u eritrocitu) koriste se za određivanje prosječne količine i koncentracije hemoglobina u eritrocitima. Hematokrit i eritrocitne konstante važni su za određivanje vrste i uzroka anemija. Sofisticiraniji brojači stanica poput Advia 2120i (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Njemačka) određuju i broj leukocita te diferencijalnu krvnu sliku (BROOKS i sur., 2022.). Diferencijalnom krvnom slikom određuje se udio svakog od pet tipova zrelih leukocita. Ako su leukociti patološke morfologije, brojač stanica označit će tu staničnu populaciju te je tada potrebno načiniti diferencijalnu krvnu sliku manualnom metodom i usporediti dobivene vrijednosti s vrijednostima dobivenim pomoću automatskog brojača. Kod pojedinih brojača stanica ne određuju se udjeli svih tipova leukocita te je i tada potrebno načiniti diferencijalnu krvnu sliku manualnom metodom (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.).

Pokazatelji koji se određuju na hematološkom sofisticiranom uređaju spektrofotometrijski ili izračunom:

- Koncentracija hemoglobina u krvi (Hgb), g/L.
- Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (engl. *mean cell hemoglobin*, MCH), pg.
- Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima (engl. *mean cell hemoglobin concentration*, MCHC), g/L

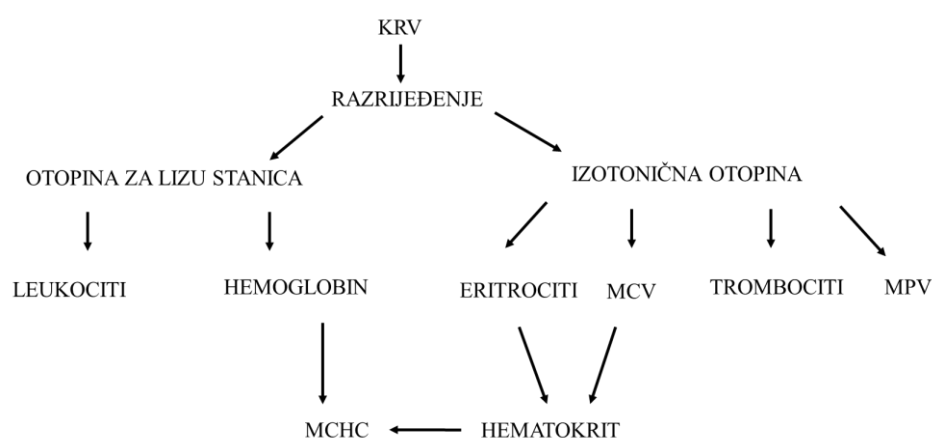
Pokazatelji koji su određeni brojanjem stanica (čestica) i njihovih veličina:

- Broj eritrocita u krvi (engl. *red blood cell*, RBC), $\times 10^{12}/L$.
- Prosječni volumen eritrocita (engl. *mean cell volume*, MCV), fL.
- Hematokrit (Htc), L/L
- Broj trombocita u krvi, $\times 10^9/L$.
- Prosječan volumen trombocita (engl. *mean platelet volume*, MPV), fL.

- Ukupan broj leukocita i diferencijalna krvna slika, $\times 10^9/L$.
- Broj retikulocita, $\times 10^9/L$.

Analize krvi automatiziranim ili poluautomatiziranim uređajima

Tijek razrjeđivanja, analiza i izračuna unutar automatiziranog hematološkog uređaja sažeto je prikazan na Slici 4., a sastoji se od dva glavna puta. U jednom se provodi izotonično razrjeđenje krvi za analizu eritrocita i trombocita. U drugom se provodi razrjeđenje u koje se dodaje litički agens, a nakon toga se mjere leukociti i hemoglobin (THRALL i sur., 2022.).



Slika 2.4. Sažetak koraka u analizi hematoloških pokazatelja krvi u automatiziranom hematološkom uređaju. preuzeto iz THRALL i sur. (2022.)

Napravljena su dva velika razrjeđenja. U lijevi put se dodaje litički agens, te se broje leukociti i mjeri koncentracija hemoglobina. U desnom putu, eritrociti i trombociti se broje i određuje njihova veličina. Iz izravnih mjerenja izračunava se hematokrit. Unakrsna provjera između dvaju putova osigurava se izračunom prosječne koncentracije hemoglobina u stanici (MCHC).

2.4.1. Koncentracija hemoglobina

Određivanje koncentracije hemoglobina (g/L) po jedinici volumena provodi se u automatiziranom hematološkom uređaju zajedno s ukupnim brojem leukocita. Uzorak krvi se razrjeđuje i dodaje se kemijsko sredstvo za brzu lizu stanica, čime se hemoglobin oslobađa u tekuću fazu, dok leukociti ostaju nepromijenjeni. Apsorpcija svjetlosti na određenoj valnoj duljini tada se može mjeriti spektrofotometrijom u maloj protočnoj komori nazvanoj hemoglobinometar. Apsorpcija svjetlosti proporcionalna je koncentraciji hemoglobina. Sustav je kalibriran s tekućinom poznate koncentracije hemoglobina.

Interpretacija vrijednosti koncentracije hemoglobina ista je kao i interpretacija vrijednosti hematokrita, koji predstavlja udio krvnih stanica po jedinici volumena krvi. Međutim, hemoglobin kao hematološki pokazatelj nije posebno koristan za kliničku interpretaciju budući da je otprilike ekvivalentan hematokritu. Vrijednost hemoglobina uvijek je proporcionalna hematokritu iako je njegovo mjerenje zasebno i neovisno. Stoga vrijednost hemoglobina može poslužiti kao dodatak kontroli kvalitete za laboratorijsko osoblje kada se koristi za izračunavanje MCHC (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.).

2.4.2. Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu

Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu izračunava se iz koncentracije hemoglobina i broja eritrocita. Smatra se suvišnim u odnosu na druga mjerenja i stoga nije toliko koristan test. Izračunava se formulom:

$$\text{MCH} = \text{Hgb (g/L)} / \text{RBC (10}^{12}/\text{L)},$$

ali se rijetko koristi (THRALL, 2022.) u interpretaciji krvnog nalaza i mijenja se proporcionalno s MCV (HARVEY, 2009.).

2.4.3. Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima

MCHC se izračunava iz koncentracije hemoglobina i hematokrita, odnosno pokazatelj je koncentracije hemoglobina u odnosu na hematokrit (izražen je kao g/dL):

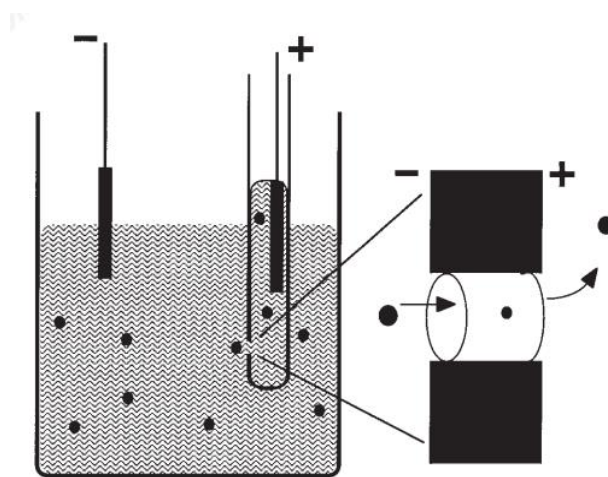
Izračunava se kao:

$$\text{MCHC} = (\text{Hgb/Hct}) \times 100.$$

Vrijednost hemoglobina odgovara približno jednoj trećini vrijednosti hematokrita u sisavaca. Dakle, iz opisanog omjera, MCHC za sve vrste sisavaca kreće se od približno 33 do 38 g/dL. MCHC nije posebno koristan za kliničku interpretaciju, ali je koristan za praćenje rada instrumenata. U uzorcima krvi MCHC nije nikada manji od <28 g/dL, izuzev u slučaju pogreške analitičkog instrumenta. Blago snižene vrijednosti MCHC izmjerene su u pacijenata sa regnerativna anemija i značajanim nedostatkom željeza u krvi (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.).

Tehnologije brojenje stanica i njihove veličine

Princip brojenje stanica zasniva se na jednoj od metoda, optičkoj metodi brojenja temeljem raspršenja svjetlosti ili na elektromehaničkoj metodi promjene impedancije. Najčešća tehnologija u brojenju stanica je elektroničko brojenje stanica, koje je također poznato kao tehnologija impedancije ili Coulterova tehnologija. Temelji se na principu da su stanice suspendirane u mediju elektrolita, kao što je fiziološka otopina, koji je dobar vodič električne energije. Suspendirane stanice su, međutim, relativno loši vodiči elektriciteta. Stoga te stanice sprječavaju sposobnost medija da provodi struju u zoni osjeta poznatoj kao otvor. Istovremenim propuštanjem struje i stanica kroz mali prostor ili otvor mogu se izmjeriti otkloni struje (Slika 5.). Osim toga, veličina stanica proporcionalna je rezultirajućem odklonu struje. Ovo volumetrijsko razlikovanje veličine može se koristiti za mjerenje raspodjele veličine eritrocita, za razlikovanje trombocita od eritrocita i za djelomično razlikovanje leukocita. Stanice unutar dane populacije se broje i dodjeljuju distribuciji veličine pomoću sklopa analizatora veličine čestica (Slika 6.). Analizator veličine čestica svakoj stanici dodjeljuje ljestvicu veličine koja je podijeljena u veliki broj diskretnih veličina "pregrada" jednake veličine. Ljestvica veličine je kalibrirana s česticama poznate veličine. Brzim nakupljanjem nekoliko tisuća stanica može se konstruirati frekvencijska distribucija veličina stanične populacije (Slika 7.) (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.).

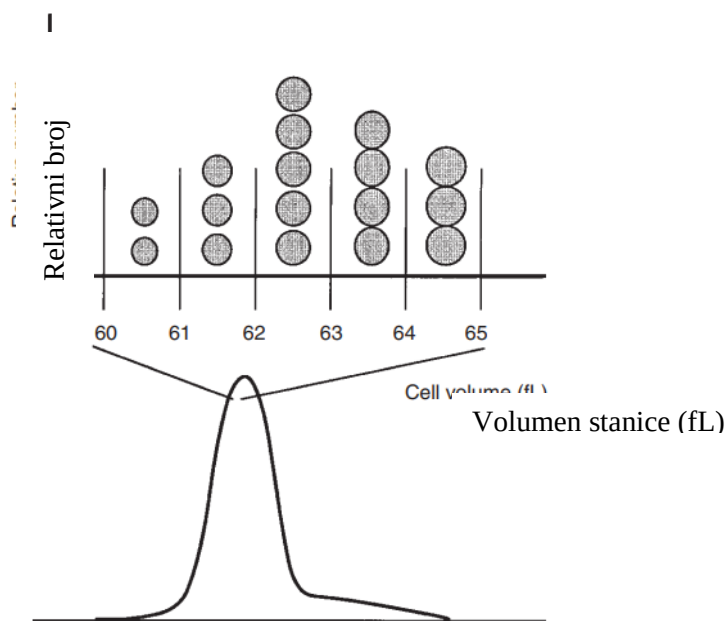


Slika 2.5. Princip elektronskog brojenja stanica – tehnologija impedancije preuzeto iz THRALL i sur. (2022.)

Lijevo. Pregled fluidne komore. Stanice (točke) su razrijeđene u izotoničnoj tekućini (valovite linije). Dvije elektrode (+ i -) odvojene su staklenom cijevi koja sadrži mali otvor ili blendu. Izotonična tekućina provodi električnu struju preko elektroda kroz otvor. Vakuum se primjenjuje za kretanje tekućine i stanica kroz otvor.

Desno. Uvećani dijagramski prikaz otvora blende. Stanice teku kroz otvor (strelice). Otvor je cilindričnog oblika s volumenom koji se naziva osjetilna zona. Dok zauzimaju prostor unutar otvora, stanice prolazom ometaju

protok struje. Prolasci stanica računaju se kao otkloni u trenutnom naponu. Osim toga, veličina otklona napona proporcionalna je volumenu stanica.



Slika 2.6. Volumeni eritrocita raspodijeljeni u spremnike prema veličinama preuzeto iz THRALL i sur. (2022.)

U eritrocitima, ljestvica volumena stanice od približno 30 do 250 fL podijeljena je u veliki broj odjeljaka uskog raspona veličine (npr. 60-61 fL, 61-62 fL). Dok se stanice (krugovi) broje, dodjeljuju im se spremnici veličine. Nakupljanje velikog broja stanica omogućuje izradu histograma distribucije veličine eritrocita na skali volumena stanice (krivulja na dnu). Crtež spremnika na vrhu predstavljao bi malo područje ukupne krivulje.

Krivulja raspodjele veličine eritrocita najkorisnija je za procjenu eritrocita u laboratoriju, ali se pomoću nje mogu dobiti i informacije o diferencijalnoj krvnoj slici i trombocitima.

Zbog značajnih razlika u veličinama eritrocita i trombocita između životinjskih vrsta, sustavi instrumenata zahtijevaju poseban dizajn i/ili prilagodbu kako bi se za svaku vrstu dobila točna mjerenja. Uređaji proizvedeni za analizu ljudske krvi ne daju točne vrijednosti hematoloških pokazatelja za većinu životinjskih vrsta bez prilagodbe u postavkama i metodi mjerenja uređaja (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.).

2.4.4. Broj eritrocita

Koncentracija eritrocita mjeri se izravno brojenjem eritrocita u izotoničnom razrjeđenju krvi. Ova vrijednost nije korisna u svrhu kliničke interpretacije. Broj eritrocita je uspoređan s vrijednosti hematokrita i koncentracijom hemoglobina, no hematokrit je značajna vrijednost za

interpretaciju volumena eritrocita. Uređaj koristi broj eritrocita za izračunavanje vrijednosti hematokrita (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.).

2.4.5. Prosječni volumen eritrocita, histogram eritrocita i širina raspodjele eritrocita

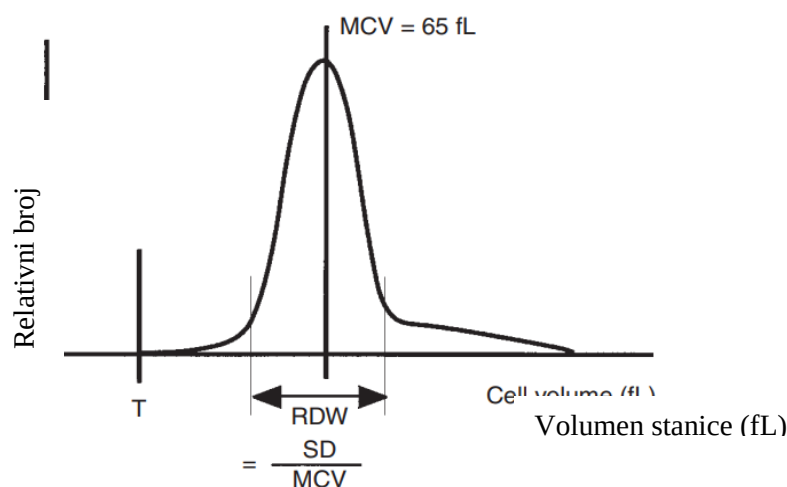
Prosječni volumen eritrocita, MCV (fL)

Tijekom brojenja eritrocita, u uređaju se istodobno određuje i širina raspodjele eritrocita (Slika 7.), a iz koje se izračunava MCV. To je mjera veličine eritrocita i predstavlja volumen jednog eritrocita (HARVEY, 2009.).

Može se izračunati iz formule za eritrocite i hematokrit:

$$MCV = Hct/RBC (10^{12}/L)$$

Širina raspodjele eritrocita (RDW) matematički je indeks koji opisuje relativnu širinu krivulje distribucije veličine eritrocita. To je standardna devijacija većine eritrocita podijeljena s MCV-om (Slika 7.). „Repovi“ distribucije eritrocita obično su isključeni iz ovog matematičkog izračuna. Udio RDW-a u ljudi iznosi, a u svinja 17,8 %.



Slika 2.7. Histogram raspodjele veličine eritrocita preuzeto iz THRALL i sur. (2022.)

X os predstavlja volumen eritrocita, a y os udio eritrocita svakog pojedinačnog volumena eritrocita. U analizu su uključene samo eritrociti iznad određenog volumena, što je označeno okomitom crtom (T). Prosječni volumen eritrocita (MCV) označen je velikom okomitom crtom. Vrijednost RDW (širine distribucije eritrocita), indeksa heterogenosti volumena, standardna je devijacija (SD) podijeljena s MCV, pri čemu je SD vrijednost volumena eritrocita unutar područja označenog tankim linijama označenim dvostrukom strelicom.

Vrijednosti prosječnog volumena eritrocita i širina distribucije eritrocita su korisne u procjeni anemije. Nedostatak željeza uzrokuje stvaranje mikrocitnih eritrocita u koštanoj srži,

a ubrzana regeneracija eritrocita uzrokuje stvaranje makrocitnih eritrocita sa izmijenjenom distribucijom veličine eritrocita i RDW vrijednošću (Slika 6.). RDW se koristi u interpretaciji promjena u veličini i volumenu eritrocita zajedno sa pregledom krvnog razmaza. Referentni interval za vrijednost MCV u krvi ljudi je od 80 do 100 fL, a srednja je vrijednost u svinja 68 fL (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022., ZHANG i sur., 2022.).

2.4.6. Hematokrit

Jedna od prednosti hematoloških uređaja je da se hematokrit može odrediti izračunom, stoga nema potrebe za mikrohematokritnim centrifugiranjem. Uređaj izračunava hematokrit koristeći broj eritrocita i MCV:

$$(\text{MCV} \times 10^{-15} \text{ L}) \times (\text{RBC} \times 10^{12} \text{ L}) = \text{Hct}$$

2.4.7. Broj trombocita

Trombociti se u uređaju broje istovremeno s eritrocitima. Međutim, budući da su trombociti znatno manji od eritrocita, oni se analiziraju u zasebnom području ljestvice analizatora veličine čestica. U većine vrsta životinja volumena trombocita i eritrocita se ne podudara ili se podudara u vrlo maloj mjeri što takvu analizu čini jednostavnom i točnom. Mikrougrušci su uzrok da se dio trombocita ne broji. Ukoliko je broj trombocita u referentnom intervalu, analiza se smatrata valjanom. Međutim, ako je broj trombocita smanjen potrebno je pregledati krvni razmaz načinjen iz istog uzorka krvi kako bi se potvrdio dobiveni nalaz (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.).

2.4.8. Broj leukocita i diferencijalna krvna slika

Za analizu leukocita hematološkim analizatorom u razrijeđenu krv najprije se dodaje litički agens. Ovo sredstvo brzo lizira ili otapa citoplazmatske membrane, čineći tako eritrocite i trombocite "nevidljivima" za metodu detekcije uređaja, ne prepoznaju ih. Ostaju samo leukociti, odnosno stanica s jezgrom, sa kondenziranom citoplazmom i staničnim organelama. Ukupan broj leukocita određuje se najčešće metodom impedancije. Korištenjem posebno formuliranih litičkih reagensa, stupanj kondenziranja stanica može se kontrolirati do različitih stupnjeva u različitim tipovima leukocita. Rezultat je diferencijalna krvna slika koja se može mjeriti analizatorom veličine čestica (impedancija) ili tehnologijom raspršenja svjetlosti. Automatizirano diferencijalno brojenje leukocita nije tako usavršeno kod domaćih

životinja kao kod ljudi. Postupak je prilično točan za krv zdravih životinja i stoga je vrlo koristan u situacijama kao što su procjena zdravstvenog statusa životinja, u kojima je većina ili su svi uzorci krvi unutar fizioloških vrijednosti za svaki pokazatelj. Međutim, kad se analizira krv bolesne životinje, učestalost analitičke pogreške u diferencijalnoj krvnoj slici znatno se povećava. Analitičke pogreške uređaja kontroliraju se pregledom krvnog razmaza za usporedbu sa vizualnom diferencijalnom krvnom slikom kad god je analitička pogreška uređaja prisutna ili se na nju sumnja. Neophodno je pratiti performanse uređaja vizualnim pregledom prikaza histograma ili citograma za svaki uzorak kako bi se prepoznao analitički kvar. Vrlo je teško, a gdjekad i nemoguće prepoznati analitički kvar jednostavnim praćenjem numeričkih podataka s uređaja. Stoga uporaba ove tehnologije zahtijeva značajnu obuku i stručnost operatera za praćenje rada uređaja i odgovarajuću intervenciju vizualnim pregledom krvnog razmaza (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.).

2.4.9. Brojenje retikulocita

Koncentracija retikulocita vrlo je korisna u evaluaciji anemija. Boje koje se mogu koristiti su metilensko plavo (tekućina) i briljantno krezilno plavo koje je dostupno u jednokratnim tubama koje olakšavaju postupak.

Neki sustavi instrumenata također su sposobni za brojenje retikulocita. Metoda uključuje bojenje eritrocita fluorescentnom bojom koja se veže na zaostalu RNK u retikulocitu koja nije prisutna u zreom eritrocitu. Sadržaj RNK, proporcionalan fluorokromu po stanici, mjeri se i usmjerava kako bi se retikulociti razlikovali od zrelih eritrocita i drugih tipova neeritroidnih stanica. Postotak i apsolutne vrijednosti prikazane su kako je gore opisano (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.).

2.5. PROTOČNA CITOMETRIJA TROMBOCITA

Protočna citometrija je laboratorijska metoda za mjerenje ekspresije staničnih površinskih biljega (receptora), a time i funkcije trombocita. Ona omogućava brzu analizu brojnih staničnih karakteristika, na osnovi ekspresije specifičnih molekula na površini stanice i njihove detekcije preko usmjerenog laserskog svjetla, filtera i računalnog programa za analizu ovih staničnih signala. Danas se najviše koristi za imunofenotipizaciju odnosno, obilježavanje i prepoznavanje specifičnih staničnih biljega (DŽAFIĆ i sur., 2018.).

Način rada protočnog citometra: stanice se inkubiraju s monoklonskim protutijelima specifičnim za istraživanu molekulu. Protutijela su obilježena fluorokromom, tj. fluorescentnom bojom. Stanice u obliku suspenzije protječu u laminarnom protoku u struji izotonične tekućine („jedna po jedna stanica”) kroz laserom osvijetljenu cjevčicu u uređaju. Emitirana fluorescencija se detektira (sakuplja, propušta kroz filtere i konvertira u digitalne signale koji se pohranjuju i analiziraju u računalu). Stanice bivaju obasjane laserskom svjetlošću, a stupanj raspršenja svjetlosti je pokazatelj morfoloških značajki stanica. Detekcijom fluorescencije na pojedinačnim stanicama u suspenziji mogu se izbrojati stanice koje eksprimiraju molekule za koje su se vezala obilježena protutijela. Količina vezanih protutijela za svaku pojedinačnu stanicu mjeri se prilikom njihovog prolaska kroz fluorimetar. Relativna zastupljenost specifičnih molekula na različitim staničnim populacijama može se usporediti ukoliko koristimo isto sredstvo za obilježavanje i odredimo ukupnu emitiranu fluorescenciju za svaku populaciju (DŽAFIĆ i sur., 2018.).

Tehnikom protočne citometrije mogu se utvrditi promjene u ekspresiji bjelančevina trombocita koje se opisuju kao redistribucije, relokacije, sekvestracije, internalizacije, translokacije itd. (VUČETIĆ i sur., 2011.). Na površini trombocita nalaze se glikoproteini (receptori) koji reguliraju aktivaciju trombocita te posreduju u hemostatskim procesima odnosno omogućuju hemostazu (GREMMEL i sur., 2016.). Približno 20 % membrane je prekriveno receptorima među kojima se ističu receptor za trombin, IgG (FcγRIIA) te glikoproteini GPαIIbβ3 i GPIb/IX/V (ITALIANO, 2013., ROMIĆ, 2021.). Glikoproteini na membrani trombocita reguliraju adhezivne i kohezivne funkcije trombocita. Receptori im omogućuju vezanje za oštećenu krvnu žilu pomoću von Willebrandovog faktora (vWF) i direktno na kolagen oštećene krvne žile te sprječavanje daljnjeg krvarenja. Tijekom tog procesa mijenjaju svoj oblik, ispuštaju granule iz citoplazme i aktiviraju fibrinogen te druge trombocite s kojima se zatim sljepljuju i ograničavaju krvarenje (VINHOLT, 2019., ROMIĆ, 2021.). Oslobođanje sadržaja trombocitnih granula inducirano aktivacijom ispituje se na temelju prisustva oslobođenih bjelančevina u izvanstaničnu tekućinu, kao i pojavom protutijela granula trombocita na izvanjskoj površini membrane koji su inače u “mirujućim” trombocitima sekvestrirani unutarstanično. Strukturalne i adhezivne bjelančevine prisutne u alfa-granulama oslobađaju se kroz kanale otvorenog kanalikularnog sustava i vezuju za izvanjske membrane aktiviranih trombocita (P-selektin, fibrinogen, vWF). Protočnom citometrijom se pomoću specifičnih monoklonskih protutijela analiziraju kvantitativne i kvalitativne promjene

ekspresije glavnih glikoproteina, da bi se ustvrdila povezanost ovih promjena sa kontrolom funkcije trombocita, kao i konformacijske promjene tijekom aktivacije i ekspresije protutijela sadržanih u alfa-granulama i lizozimnim membranama (ESCOLAR i WHITE, 2000., VUČETIĆ i sur., 2011.). Protočna citometrija značajno je unaprijeđena posljednjih godina, a ranije se koristila za mjerenje aktivacije trombocita u kliničke i istraživačke svrhe (RAMSTRÖM i sur., 2016., ALZUA i sur., 2020.). Površinsko profiliranje trombocita, odnosno detekcija specifičnih biljega, ključno je u dijagnostici i praćenju bolesnih stanja vezanih uz poremećaj trombocita i njihovo liječenje (LINDEN i sur., 2004.), ali i bolesti poput dijabetesa te upala (SPURGEON i NASEEM, 2020., SHYAMKRISHNAN i sur., 2022.).

2.6. MORFOMETRIJA ERITROCITA

Morfometrija je najjednostavniji oblik slikovne citometrije i odnosi se na procjenu stanica ili tkiva mjerenjem različitih staničnih značajki u dvodimenzionalnom prikazu (POLJIČAK-MILAS i sur., 2009.). Donedavno su se istraživanja morfometrije eritrocita temeljila na linearnim mjerama eritrocita takozvana manualna metoda. Mjerenje veličine eritrocita okularnim mikrometrom i mikrometrom s lećama (mikrometrijsko stakalce) bila je jedina valjana i priznata metoda. Ručne metode zahtijevaju intenzivan rad hematologa/patologa jer zahtijevaju dodatno vrijeme, veće troškove uz moguće učestalije pogreške, primjerice kod bojenja krvnih razmaza, a što može utjecati na točnost mjerenja. Automatske metode mjerenja krvnih stanica mogu se podijeliti u dvije skupine: protočna citometrija i analiza slike. Protočna citometrija se bazira na lasersku tehnologiju za mjerenje krvnih stanica i zahtijeva posebno educiranog stručnjaka pa je protočna citometrija vrlo skupa metoda. Dok se sustav za analizu slike sastoji se od mikroskopa, visokokvalitetne kamere, monitora te računala sa posebnim računalnim programom za analizu krvnih stanica. Novija istraživanja rabe sofisticirana i naprednija mjerenja eritrocita uz uporabu računalnih programa, a koja su preciznija i jeftinija od konvencionalnih mjerenja okularnim mikrometrom (ADILI i sur., 2017., ŽURA ŽAJA i sur., 2019., AHMED i sur., 2021.). Međutim, kvaliteta mikroskopa, vrsta kamere za snimanje slike te izvor svjetla ključni su čimbenici koji utječu na točnost rezultata mjerenja. Računalni programi omogućuju numeričku objektivizaciju i najmanjih razlika koje se ne mogu vizualno uočiti i kao takovi imaju primjenu u kliničkom radu i istraživanjima (PARMAR i sur., 2015., ADILI i sur., 2017.). Mjerenja morfometrijskih pokazatelja krvnih stanica kao što su minimalni i maksimalni radijus, opseg, površina i dr. važna su u toksikološkim istraživanjima, praćenju

okoliša i prognozi zdravstvenih stanja ljudi i životinja (RAHMAN i BAEK, 2019., AHMED i sur., 2021.). Ovom analizom moguće je utvrditi poremećaje krvnih stanica, a koje mogu biti značajne u postavljanju dijagnoze raznih bolesti u ljudi (STRIJKOVA-KENDEROVA i sur., 2021.).

Promjene u morfometrijskim pokazateljima eritrocita otkrivene su u određenim bolestima i stanjima u ljudi (MANJUNATHA i sur., 2000., ZAETS i sur., 2003.), žena koje su imale spontani pobačaj u prvom tromjesečju (LANGARI i sur., 2022.). Morfometrijska analiza eritrocita istraživana je na različitim dobnim skupinama pasa (ADILI i sur., 2017., MONTOYA-NAVARRETE i sur., 2022.), u konja, koza, ovaca, goveda različite dobi i spola (ADILI i sur., 2017., ŽURA ŽAJA i sur., 2019., PARVEEN i sur., 2023.), kunića različite dobi (POLJIČAK-MILAS i sur., 2009.), u ptica (HARDIAN i sur., 2023.), u riba (RAHMAN i BAEK, 2019.), no nije u svinja.

2.7. SUBPOPULACIJE ERITROCITA

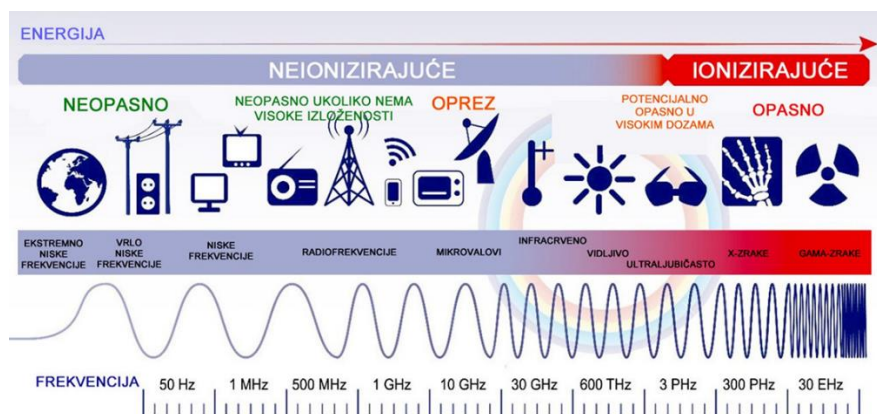
Cirkulirajuća populacija eritrocita u prifernoj krvi jedinke neprestano se mijenja, tako u krvotok svake sekunde ulazi približno 2 000 000 novih eritrocita iz koštane srži, a približno isti broj biva uništen u jetri, slezeni i koštanoj srži (HIGGINS, 2015.). Svojstava eritrocita procjenjuju se na temelju heterogenosti eritrocita i izdvajanja subpopulacija stanica sličnih svojstava kao što su gustoća, hidratacija, promjene na/u membrani, redoks stanje, razine Ca^{2+} i morfologiji. Uzroci heterogenosti eritrocita mogu biti različiti čimbenici, primjerice: starost stanice, okolišni stres kao i utjecaj mehanička sila na njihovu površinu, metabolički stres te brojni drugi čimbenici. Heterogenost svojstava eritrocita također potiču patološka stanja koja nisu ograničena na poremećaje eritrocita, već upalna stanja, metaboličke i maligne bolesti (BOGDANOVA i sur., 2020.).

Starenje eritrocita do sada se istraživalo kroz izolaciju populacija eritrocita različite starosti stanica. Većina istraživanja provedena je na eritrocitima izdvojenim na temelju razlika u gustoći stanica ili volumenu/veličini (BOSCH i sur., 1992., CONNOR i sur., 1994.). Od raznih korištenih tehnika, samo je dio uveden u temeljna znanstvena istraživanja: diferencijalno centrifugiranje, centrifugiranje pod kutom i uporabom nekoliko diskontinuiranih gradijenata, što rezultira većim ili manje učinkovitim odvajanjem stanica. Uporaba Percollovog gradijenta pokazalo se kao jednostavan i učinkovit način odvajanja eritrocita (BOSCH i sur., 1992., CONNOR i sur., 1994., D'ALESSANDRO i sur., 2013.). Međutim, svaki od pristupa odvajanju

stanica ima prednosti i nedostatke u odnosu na drugi, ali oba pristupa imaju zajednički nedostatak, a to je izdvajanje malog broja eritrocita po frakciji. U istraživanjima subpopulacija eritrocita prema starosti od mlađih prema starijim subpopulacijama utvrdilo se da starenje eritrocita korelira sa smanjenim volumenom stanica, veličinom i MCV-om (VAN OSS, 1982., BOSCH i sur., 1992.), povećanim MCHC-om (BOSCH i sur., 1992.) i smanjenom sposobnošću deformacije eritrocita (D'ALESSANDRO i sur., 2013.). Uporabom računalne analize slike temeljene na morfometriji eritrocita i multivarijantnih statističkih metoda, uključujući analizu glavnih komponenti i klaster analizu moguće je utvrditi prisustvo subpopulacija eritrocita ovaca, na temelju njihovih morfometrijskih pokazatelja (ŽURA ŽAJA i sur., 2019.). Podaci o morfometrijskim pokazateljima veličine i oblika eritrocita u svinja nisu istraženi. Osim toga, u dostupnoj literaturi nema podataka o analizama subpopulacija eritrocita ljudi i svinja dobivenih na temelju morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika, uporabom računalne analize i multivarijantnih statističkih metoda, uključujući analizu glavnih komponenti i klaster analizu.

2.8. ELEKTROMAGNETSKO ZRAČENJE

Od postanka Zemlje sva su živa bića izložena elektromagnetskom zračenju. Zračenje podrazumijeva prijenos energije koji se odvija putem čestica ili elektromagnetskih valova. Ukoliko se prijenos energije odvija putem elektromagnetskih valova tada takvo zračenje nazivamo elektromagnetskim zračenjem (EMZ). Spektar elektromagnetskog zračenja prikazan je na slici 8.



Slika 2.8. Spektar elektromagnetskog zračenja, preuzeto od ORLIĆ (2021.)

Elektromagnetsko zračenje ovisno o energiji dijeli se na ionizirajuće i neionizirajuće zračenje. Ionizirajuće zračenje ima dovoljnu energiju za ionizaciju atoma i molekula, tj. ima dovoljno energije za izbacivanje elektrona iz atoma što u živim bićima uzrokuje oštećenje

bioloških molekula. Tako primjerice, ozračivanje stanica ionizirajućim zračenjem može oštetiti molekulu deoksiribonukleinske kiseline (DNK) te povećati rizik za razvoj genetskih i malignih bolesti. Izvori ionizirajućeg zračenja mogu biti prirodni (kozmički, kozmogeni i terestrički) ili antropogeni (umjetni), primjerice uređaji koji se koriste u medicini (rendgen i CT uređaji), industriji (radiografija, konzerviranje hrane) te nuklearne eksplozije i time umjetno stvoreni radionuklidi (ŽURA ŽAJA i sur., 2021., PHO, 2023.).

Neionizirajuće elektromagnetsko zračenje tj. elektromagnetsko zračenje frekvencija nižih od 30 PHz nema dovoljnu energiju za ionizaciju atoma i molekula, a podijeljeno je na radiofrekvencijski (RF) i optički spektar. Radiofrekvencijski spektar zauzima područje frekvencije od 0 do 300 GHz, te je prema Međunarodnoj telekomunikacijskoj uniji (engl. International Telecommunication Union - ITU) podijeljen na deset područja od ekstremno dugog vala do ekstremno kratkog vala, dok je optički spektar podijeljen na infracrveno, vidljivo i ultraljubičasto zračenje (MALARIĆ i sur., 2016.). Izvori neionizirajućeg elektromagnetskog zračenja također mogu biti prirodni i umjetni. U prirodne izvore elektromagnetskog zračenja ubrajamo: elektromagnetsko polje Zemlje, elektrostatičko polje atmosfere, sunčevu svjetlost, pražnjenja gromova i munja. Ljudi su stalno izloženi i prirodnim elektromagnetskim valovima na koje je ljudsko tijelo naviknuto (VERMA i sur., 2023.). Međutim, unatrag stotinu godina čovjek je proizveo umjetne izvore radiofrekvencijskog elektromagnetskog zračenja. Tako danas, tehnologija bežične komunikacije predstavlja najveći i najbrže rastući izvor radiofrekvencijskog elektromagnetskog zračenja antropogenog podrijetla. Umjetni izvori RF-EMZ su primjerice, satelitska komunikacija, radiokomunikacijski sustavi, televizijski i radijski odašiljači, mobilni telefoni, bežični telefoni, mikrovalne pećnice i drugi izvori iz područja bežičnog komunikacijskog sustava (WLAN – engl. Wireless local area network, bluetooth, WiFi uređaji) (YOUSIF i ALSAHLANY, 2022.). Nadalje, važno je za naglasiti da svaki električni uređaj stvara električno i magnetsko polje čime također povećava intenzitet elektromagnetskog zračenja u svom okruženju. Stoga u umjetne izvore EMZ spadaju i visokonaponski vodovi, trafostanice i raznovrsna električna oprema pa i suvremena vozila na električni pogon (KIVRAK i sur., 2017.).

Ubrzani razvoj i raširena primjena bežične tehnologije temeljene na radiofrekvencijskom elektromagnetskom zračenju uzrokovala je zabrinutost stanovništva zbog bojazni od mogućih posljedica na zdravlje živih bića pri izlaganju takvoj vrsti zračenja. Intenzitet elektromagnetskog zračenja u frekvencijskom pojasu od 900 MHz povećao se 10^{18}

puta u odnosu na intenzitet prirodnog zračenja (BANDARA i CARPETER, 2018.). Stoga je RF-EMZ predmet mnogobrojnih istraživanja kako osoba koji izravno koriste bežične uređaje tako i osoba koji se neizravno izlažu zbog sve brojnijih izvora u njihovom okruženju što je izraženije u gusto naseljenim područjima (MAGIERA i SOLECKA, 2020.).

U posljednja tri desetljeća zabilježen je značajan razvoj bežične komunikacije napose mobilne telefonije pri čemu su se koristile različite tehnologije označene pojmom generacija (G), primjerice 1G, 2G, 3G, 4G i 5G – komercijalni početak rada u Hrvatskoj krajem 2020. Danas ljudi žive pod kišobranom visokofrekventnih elektromagnetskih polja. Svaka osoba ima mobilni telefon, a svaka obitelj ima u kući tri do četiri mobitela (VERMA i sur., 2023.).

2.8.1. Razvoj mobilne tehnologije

Prva generacija (1G): 1G mobilni telefon započeli su sa radom i širokom uporabom 1970-ih i 80-ih godina prošlog stoljeća. Njihov rad se temeljio na analognoj tehnologiji frekvencije 800 MHz, koja je imala mnoštvo nedostataka, primjerice kratko trajanje baterije, loša kvaliteta zvuka i prekidanje poziva. Najveća moguća brzina prijenosa podataka u 1G mreži bila je 2,4 Kbps (DANGI i sur., 2022.).

Druga generacija (2G): 2G mreža prva je digitalna mreža koja je započela sa radom 1991. godine koristeći frekvencijske pojaseve od 800 MHz, 900 MHz, 1800 MHz i 1900 MHz. Značajno je poboljšana kvaliteta zvuka u odnosu na 1G mrežu te u svom radu koristi koncepte višestrukog pristupa kodirane podjele (CDMA) i globalnog sustava za mobilne telefone (GSM). Nudi i mogućnost prijenosa kratkih tekstualnih poruka – SMS (engl. *Short Message Service*). Najveća moguća brzina prijenosa podataka u 2G mreži bila je 1 Mbps (DANGI i sur., 2022.).

Treća generacija (3G): 3G mreža univerzalnog mobilnog telekomunikacijskog sustava (UMTS) dovodi nove znatno veće brzine koje omogućuju znatno brža preuzimanja sadržaja i uspostavu kontinuiranih video poziva i koristi frekvencijske pojaseve od 800 MHz, 850 MHz, 900 MHz, 1800 MHz, 1900 MHz i 2100 MHz. 3G je prvi mobilni širokopojasni sustav koji je formiran za glasovnu komunikaciju uz mogućnost multimedije, koristi sustav *Multiple Input Multiple Output* (MIMO) za multipliciranje snage bežične mreže i za brzi prijenos podataka (DANGI i sur., 2022.).

Četvrta generacija (4G): je širokopojasna mreža koja je započela sa radom 2010. godine. Koristi frekvencijske pojaseve od 2,3 GHz, 2,5 GHz i 3,5 GHz te brzine od 60 Mbps

(AL-NAMARI i sur., 2017.) i radi na *Long-Term Evolution* (LTE) i *Worldwide Interoperability for Microwave Access* (WiMAX) tehnologijama te širi propusni opseg do 100 Mhz (DANGI i sur., 2022.).

Četvrta generacija LTE-A (4,5G): je napredna verzija standardnog 4G LTE, a koristi MIMO tehnologiju za kombiniranje više antena za odašiljač i prijemnik. Koristeći MIMO, više signala i više antena mogu raditi istovremeno, čineći LTE-A tri puta bržim od standardnog 4G. LTE-A je poboljšano sustav smanjujući odgodu u aplikacijskom poslužitelju, poboljšavajući pristup trostrukom prometu (Podaci, Glas i Video) bežično u bilo koje vrijeme bilo gdje u svijetu. LTE-A pruža brzine od 42 Mbps do 90 Mbps (DANGI i sur., 2022.).

Peta generacija (5G): 5G je stup digitalne transformacije i predstavlja najveći „skok“ u odnosu na sve prethodne generacije mobilnih mreža. Donosi tri različite usluge za krajnje korisnike poput *Extreme mobile broadband* (eMBB). Nudi internetsku vezu velike brzine, veću propusnost, umjerenu latenciju, UltraHD streaming videozapise, medije virtualne stvarnosti i proširene stvarnosti (AR/VR) i još mnogo toga. 5G tehnologija rabi više frekvencijskih pojaseva: 1,8 GHz, 2,6 GHz te od 30 do 300 GHz, dok je u Hrvatskoj HAKOM donio odluke o dodjeli radiofrekvencijskih pojaseva na 700 MHz, 3,6 GHz i 26 GHz na nacionalnoj razini te 3,6 GHz na regionalnoj (županijskoj) razini (HAKOM, 2021.). Masivna komunikacija strojnog tipa (eMTC), pruža dugotrajnu i širokopojasnu komunikaciju strojnog tipa po vrlo isplativoj cijeni uz manju potrošnju energije. eMTC donosi uslugu visoke brzine prijenosa podataka, niske potrošnje energije, proširenu pokrivenost putem manje složenosti uređaja putem mobilnih operatera za IoT aplikacije. Ultra-pouzdana komunikacija niske latencije (URLLC) nudi nisku latenciju i ultra-visoku pouzdanost, visoku kvalitetu usluge (engl. *Quality of Service*, QoS), što nije moguće s starijom infrastrukturom i mobilnim mrežama. *Ultra Reliable Low Latency Communication* (URLLC) je dizajniran za interakciju u stvarnom vremenu na zahtjev kao što je daljinska kirurgija, komunikacija između vozila (V2V), industrija 4.0, pametne mreže, inteligentni transportni sustav itd. 5G je znatno brži od 4G i nudi mogućnost daljinskog upravljanja preko pouzdane mreže bez kašnjenja. Omogućuje maksimalnu propusnost dolazne veze do 20 Gbps. Osim toga, 5G također podržava 4G WWW (4th Generation World Wide Wireless Web) (AGIWAL i sur., 2016.) i temelji se na protokolu internetskog protokola verzije 6 (IPv6). 5G pruža neograničenu internetsku vezu bilo kada i bilo gdje uz izuzetno veliku brzinu, visoku propusnost, nisku latenciju, veću pouzdanost i skalabilnost te energetske

učinkovitu tehnologiju mobilne komunikacije (BUZZI i sur., 2016.). 5G je uglavnom podijeljen u dva dijela 6 GHz 5G i milimetarski val (mmWave) 5G.

6 GHz je srednji frekvencijski pojas koji funkcionira kao srednja točka između kapaciteta i pokrivenosti kako bi se ponudilo savršeno okruženje za 5G povezivost. Spektar od 6 GHz osigurat će visoku propusnost s poboljšanim performansama mreže. Nudi kontinuirane kanale koji će smanjiti potrebu za zgušnjavanjem mreže kada srednjepojasni spektar nije dostupan i čini 5G povezivost pristupačnom u bilo koje vrijeme, bilo gdje za sve.

mmWave je bitna tehnologija 5G mreže koja gradi mrežu visokih performansi. 5G mmWave nudi različite usluge i zato bi svi mrežni pružatelji trebali dodati ovu tehnologiju u svoje planiranje postavljanja 5G. Mnogo je pružatelja usluga koji su implementirali 5G mmWave, a rezultati njihove simulacije pokazuju da je 5G mmWave daleko manje korišten spektar. Omogućuje vrlo brzu bežičnu komunikaciju i također nudi ultra široku propusnost za mobilnu mrežu sljedeće generacije (DANGI i sur., 2022.).

Velika rasprostranjenost umjetnih izvora elektromagnetskog zračenja (uključujući Wi-Fi uređaje) u prirodnom okruženju dovela je do uvođenja zakonskih propisa diljem svijeta za osiguranje zaštite okoliša. U Europskoj uniji temeljni pravni akt koji je donesen za zaštitu stanovništva od elektromagnetskog zračenja je Preporuka Vijeća (1999/519/EC) od 12. srpnja 1999. o ograničenju izlaganja opće populacije elektromagnetskim poljima (0 Hz do 300 GHz) (COUNCIL RECOMMENDATION, 1999.). U svrhu zaštite od izlaganja neionizirajućeg elektromagnetskog zračenja definirane su fizikalne veličine i pripadajuće mjerne jedinice, a izražene su kao temeljne i referentne. Temeljne fizikalne veličine su izravno povezane s zdravstvenim učincima elektromagnetskog polja. Temeljne veličine se također moraju ograničiti na način da je osigurana zaštita od štetnih elektromagnetskih učinaka. U ove veličine ubrajamo unutarnje (inducirano) električno polje s pripadajućom mjernom jedinicom [V/m], gustoća magnetskog toka izražena u tesli [T], gustoća struje [A/m²], gustoća snage [W/m²] i specifična gustoća apsorbirane snage (engl. specific absorption rate - SAR) [W/kg] koja se najčešće koristi u praksi, a predstavlja zapravo mjeru brzine apsorbiranja energije po jedinici mase biološkog tkiva.

Referentne su veličine mjerljive veličine čijim se nadzorom posredno osigurava zadovoljenje temeljnih ograničenja a to su: jakost električnog polja [V/m], gustoća magnetskog toka [T], dodirna struja [mA] i gustoća snage [W/m²].

Prema preporuci Europske unije osnovno ograničenje izlaganja elektromagnetskim poljima izraženo je specifičnom gustoćom apsorbirane snage (engl. *specific absorption rate* - SAR) koja je mjera radiofrekvencijskog elektromagnetskog polja koje apsorbira ljudsko tijelo (W/kg). Kao što je preporučeno u pravnim aktima Europske unije i Međunarodne komisije za zaštitu od neionizirajućeg zračenja (engl. *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection*, ICNIRP), granična vrijednost SAR-a za opću populaciju za frekvencijski opseg od 10 MHz do 10 GHz iznosi 0,08 W/kg za cijelo tijelo, 2 W/kg za glavu i trup te 4 W/kg za udove (COUNCIL RECOMMENDATION, 1999., ICNIRP, 1998.). SAR je veličina koja se koristi također pri određivanju izloženosti tijela elektromagnetskom polju podrijetlom od uređaja koji se nalazi na malim udaljenostima od tijela (FOSTER i MOULDER, 2013., HU i sur., 2021.). Izračun SAR-a u ljudi ovisi o mnogim čimbenicima uključujući dielektrična svojstva i vodljivost tkiva te termoregulacijskom potencijalu ljudskog tijela (tkiva imaju sposobnost odložiti toplinsku energiju koja se dovodi u tijelo). Temeljna ograničenja neće biti prekoračena na mjestu gdje je izloženost elektromagnetskom zračenju unutar referentnih vrijednosti, bez obzira na duljinu izloženosti (MAGIERA i SOLECKA, 2020.).

2.8.2. Biološki učinci radiofrekvencijskog elektromagnetskog zračenja

Više od 3 milijarde ljudi diljem svijeta izloženo je elektromagnetskom zračenju (EMZ) svaki dan (FRAGOPOULOU i sur., 2010.). Izloženost živih bića EMZ-u postaje predmetom brojnih znanstvenih istraživanja jer su rezultati dosadašnjih istraživanja potvrdili kako takvo zračenje uzrokuje promjene i štetne učinke u biološkim sustavima. Biološki učinci EMZ-a dijele se na toplinske i netoplinke.

Toplinski učinak povezan je sa zagrijavanjem stanica/tkiva pri izlaganju EMZ-u ponajprije visokim gustoćama snage od 100 mW/cm² (1000 W/m²) i više. Toplinski učinak nastaje zbog rotacije i vibracije molekula vode uzrokovane apsorpcijom energije RF-EMZ mobilnih telefona i Wi-Fi uređaja u ljudskom tkivu (MANNA i GHOSH, 2016.). Moguće je da svaka interakcija između RF polja i tkiva živih bića uzrokuje prijenos energije koji rezultira porastom temperature. Koža i druga površinska tkiva obično apsorbiraju RF-EMZ koja emitiraju mobilni telefoni, a to uzrokuje beznačajno povećanje temperature mozga ili drugih organa u tijelu (MEGHA i sur., 2012.).

Netoplinški učinci su oni koji nisu izravno povezani s temperaturnom promjenom, već s drugim promjenama u tkivima povezanim s količinom apsorbirane energije (LESZCZYNSKI

i sur., 2002., CHALLIS, 2005.). U dosadašnjim istraživanjima utvrđen je niz staničnih odgovora na RF-EMZ uključujući ekspresiju gena (PIACENTINI i sur., 2008., GOODMAN i sur., 2009.), diferencijaciju i proliferaciju stanica (SCHWARTZ i sur., 2008., FOLETTI i sur., 2009.), apoptozu, promjene u ionskoj homeostazi (IORIO i sur., 2011.), modulaciju membranskih receptora (DE-MATTEI i sur., 2009.) i povećanu koncentraciju slobodnih radikala (SIMK, 2007., DI-LORETO i sur., 2009.).

Uočeno je da izlaganje EMZ-u uzrokuje povećanu proizvodnju slobodnih radikala u staničnom okruženju, koji mogu oštetiti sve biološke molekule (bjelančevine, masti, DNK, itd.). Nadalje, netoplini je učinak također posredovan stvaranjem reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) (TKALEC i sur., 2007.). ROS su uključeni u razne fiziološke stanične funkcije, dok u prekomjernim količinama mogu biti iznimno štetni za staničnu homeostazu (CUI i sur., 2004.). Njihovi citotoksični učinci odražavaju se na peroksidaciju membranskih fosfolipida što stvara promjenu u provodljivosti membrane i gubitak integriteta membrane (HALLIWELL, 2001.). Živi organizmi posjeduju antioksidativne mehanizme, kao što su glutathion, glutathion peroksidaza, katalaza i superoksid dismutaza, kako bi ublažili štetan učinak uzrokovan ROS-om i proizvodima nastalim njihovim štetnim djelovanjem na biološke molekule (CALCABRINI i sur., 2017.). Antioksidativni mehanizmi djeluju u sprečavanju nastanka ili zaustavljanjem lančane reakcije koju pokreće ROS. Obrambeni mehanizmi antioksidansa su oslabljeni nakon izlaganja organizma EMZ-u koji uzrokuje stvaranje prekomjerne količine ROS-a, a što rezultira oksidativnim stresom (VENUGOPAL i sur., 2002., HALLIWELL, 2007.). Mnoga su istraživanja dokazala da EMZ može potaknuti stvaranje ROS-a u izloženim stanicama *in vitro* (ZMYSLONY i sur., 2004., WU i sur., 2008., YAO i sur., 2008.) i *in vivo* (LAI i SINGH, 2004., OKTEM i sur., 2005., TKALEC i sur., 2007.). KAZEMI i sur. (2015.) su istraživali učinak izloženosti RF-EMZ-u frekvencije 900 MHz na stvaranje oksidativnog stresa i razinu unutarstaničnog ROS-a u ljudskim mononuklearnim stanicama. Prekomjerno stvaranje ROS-a značajan je uzrok oksidativnog oštećenja lipida, bjelančevina i nukleinskih kiselina. Stoga uzrokuje promjene u aktivnosti enzima i ekspresiji gena, što na kraju dovodi do raznih bolesti, uključujući poremećaj spavanja, arteriosklerozu, gubitak apetita, dijabetes, vrtoglavicu, reumatoidni artritis, kardiovaskularne bolesti, mučninu i moždani udar (FRIDOVICH, 1999., FANG i sur., 2002., MATTSON, 2004.). Osim toga, poremećena ravnoteža između prooksidansa i antioksidansa zbog prekomjernog stvaranja ROS-a također može uzrokovati lipidnu peroksidaciju. Lipidna peroksidacija je proces u kojem se stanične

membrane brzo razaraju zbog oksidacije komponenti fosfolipida koji sadrže nezasićene masne kiseline. Nastavkom ove samopropagirajuće lančane reakcije, lipidni peroksidi se nakupljaju u membrani i preoblikuju višestruko nezasićene masne kiseline u biološki aktivne tvari (HALLIWELL, 1994.). Posljedično, lipidna peroksidacija dovodi do značajnih oštećenja u stanicama, kao što su poremećaji membranskog transporta, strukturne promjene, fluidnost stanične membrane, oštećenje bjelančevinastih receptora u staničnim membranama i promjene u aktivnosti enzima stanične membrane (ZMYSLONY i JAJTE, 1998.). Dosadašnja istraživanja su pokazala da slobodni radikali imaju glavnu funkciju u mehanizmu mnogih bolesti, poput dijabetesa i raka (BASAGA, 1990., STADTMAN i OLIVER, 1991., AMES i sur., 1993., KIVRAK i sur., 2017.).

2.8.3. Utjecaj elektromagnetskog radiofrekvencijskog zračenja na hematološke pokazatelje

Prekomjerna izloženost ljudi i životinja RF-EMZ-u stvorenog mobitelom uzrokuje promjene u središnjem živčanom sustavu, kardiovaskularnom sustavu i hematopoetskom sustavu (AZAB i EBRAHIM, 2017., JBIREAL i sur., 2018.).

Procjena KKS-a najznačajniji je pokazatelj u procjeni zdravstvenog stanja ljudi i životinja. Rezultati prethodnih istraživanja su kontroverzni o učincima RF-EMZ-a na vrijednosti hematoloških i biokemijskih pokazatelja u krvi životinja i ljudi (KISMALI i sur., 2012., ADEBAYO i sur., 2019., CHRISTOPHER i sur., 2020., HASAN i ISLAM, 2020.).

Dokazano je da izloženost ljudi i pokusnih životinja RF-EMZ-a koje su emitirali mobilni telefoni i mnogi drugi elektronički uređaji 4G i starije tehnologije uzrokuju štetne učinke na krvne stanice (JBIREAL i sur., 2018.). Nadalje, zamijećen je poremećaj vrijednosti krvnih pokazatelja (broj eritrocita, leukocita i trombocita te vrijednosti hemoglobina i hematokrita te eritrocitnih konstanti; MCV, MCH i MCHC), a što je ovisilo o vrsti izloženih živih bića, izvorima RF-EMZ-a, učestalosti izlaganja, intenzitetu i trajanju izloženosti (JBIREAL i sur., 2018.). Također je dokazano da RF-EMZ mobilnog telefona uzrokuje štetne učinke na ljudske krvne stanice, odnosno utvrđeno je povećanje broja eritrocita, smanjenje broja leukocita, limfocita te trombocita nakon produljenog izlaganja (1 h) *in vitro* RF-EMZ-u (KUMARI i sur., 2016., JBIREAL i sur., 2018.). Međutim, štakori izloženi RF-EMZ-u iz baznih stanica frekvencije ≈ 1800 MHz u trajanju od 5 tjedana imali su značajno povećanje broja leukocita (ADEBAYO i sur., 2019.). Rezultati drugih istraživanja su utvrdili da izlaganje pokusnih životinja RF-EMZ-u povećava broj trombocita (ABDOLMALEKI i sur., 2012.,

ALGHAMDI i EL-GHAZALY, 2012., AL-UBOODY, 2015., JBIREAL i sur., 2018.). Izlaganje miševa RF-EMZ-u mobilnog telefona u različitom trajanju 1/2h, 1h, 2h i 4h dnevno tijekom tri tjedna dovodi do značajnog smanjenja Hb, HCT, MCV i MCHC, broja leukocita, broja trombocita i ioniziranog kalcija (AWWAD i sur., 2017.). Međutim, dugotrajno izlaganje muških pasa mobilnim uređajima (1962 - 1966 MHz, specifična stopa apsorpcije 0,96 W/kg) 2 h/dan, 5 dana/tjedan, 10 tjedana nije imalo učinke na većinu vrijednosti krvnih pokazatelja. Naime, broj eritrocita, koncentracija hemoglobina i hematokrita, broj trombocita, limfocita i monocita nisu se promijenili, dok su vrijednost MCHC, broja leukocita, neutrofila, eozinofila i bazofila bile značajno niže. No, vrijednosti sniženih krvnih pokazatelja bile su još uvijek u referentnom rasponu za pse, odnosno nije dokazan negativan učinak izlaganja mobitelu na krvne pokazatelje u zdravih pasa, kada su bili izloženi 10 tjedana RF-EMZ-u (DONG i sur., 2022.).

Izloženost ljudi i štakora elektromagnetskom zračenju mobilnih telefona i baznih stanica oštećuje stanične membrane eritrocita i uzrokuje stvaranje značajno veće koncentracije slobodnih radikala NO i ONOO u eritrocitima ljudi (ALGHAMDI, 2012., HASAN i sur., 2014., HASAN i ISLAM, 2020.). Nadalje, dokazano je da RF-EMZ-e mobilnog telefona frekvencije 900 - 1800 MHz uzrokuje štetne učinke na eritrocite u krvnim razmazima miša nakon njihovog kratkotrajnog i dugotrajnog izlaganja. Naime, učinak se očituje promjenom boje središnjeg dijela eritrocita (hipokromni eritrociti), oblika (rouleaux formacija) i stvaranjem patoloških oblika eritrocita (ehinociti, anizocitoza, poikilocitoza, oblika suze), a stupanj oštećenja bio je veći što je izlaganje miševa dulje trajalo (ALGHAMDI i EL-GHAZALY, 2012.). Međutim, do danas u dostupnoj literaturi nisu pronađena istraživanja o učinku RF-EMZ-a na hematološke pokazatelje domaćih životinja, odnosno svinja kao životinjskog modela čiji se rezultati mogu interpretirati i na ljude.

2.8.4. Utjecaj elektromagnetskog radiofrekvencijskog zračenja na morfometriju eritrocita

Podatci o morfometrijskim pokazateljima veličine i oblika eritrocita nakon izlaganja ljudi i/ili *in vitro* ljudske krvi RF-EMZ-u dobiveni analizom slike uz pomoć računala nisu istraženi. Nadalje, u dostupnoj literaturi nema ni podataka o učinku RF-EMZ-a na morfometrijske pokazatelje eritrocita svinja. Uporabom računalne analize slike morfometrije eritrocita i multivarijantnih statističkih metoda, uključujući analizu glavnih komponenti i klaster

analizu moguće je utvrditi prisustvo subpopulacija eritrocita ovaca, na temelju njihovih morfometrijskih pokazatelja (ŽURA ŽAJA i sur., 2019.).

2.8.5. Utjecaj elektromagnetskog radiofrekvencijskog zračenja na aktivaciju trombocita

Saznanja o učinku RF-EMZ-a nakon izlaganja ljudi i/ili *in vitro* ljudske krvi na aktivaciju trombocita su oskudna. Istraživanje koje je provela KHAMIDOVA (2014.) utvrđeno je da pojedinci koji rade pod izravnom i stalnom izloženosti RF-EMZ-ima (frekvencije u rasponu od 650 do 800 MHz), imaju različite promjene u aktivaciji trombocita, a najčešće hiperagregaciju odnosno povećanu aktivaciju trombocita, a što je bilo ovisno o duljini rada u uvjetima izloženosti. Jedino istraživanje učinka RF-EMZ na ljudske trombocite *in vitro* načinio je LIPPI i sur. (2017.). Naime autori su pokazali značajno smanjenje agregacije/adhezije trombocita i povećanje njihove veličine nakon *in vitro* izlaganja ljudske krvi RF-EMZ-u mobilnog telefona na frekvenciji od 900 MHz tijekom 30 minuta.

3. OBRAZLOŽENJE TEME

Mobiteli, bežične mreže, pametni i prijenosni uređaji neprestano raspršuju u okolinu RF-EMZ neovisno o tome jesu li spojeni na mreže ili ne. Osim toga, svaki električni uređaj stvara električno i magnetsko polje, te time dodatno doprinose onečišćenju okoliša povećavajući razinu RF-EMZ-a u okolini, odnosno generiraju mnogo elektromagnetskog onečišćenja/smoga. Nadalje, 5G mreža je mreža budućnosti koja je već prisutna u našoj okolini, a njen se zamah tek očekuje. Raširena upotreba RF-EMZ, posebice uvođenjem 5G mreže, uzrokuje zabrinutost javnosti o mogućim štetnim učincima na zdravlje. Učinci i mehanizmi djelovanja RF-EMZ na ljudsko i životinjsko zdravlje frekvencija iz 5G mreže do sada su nepoznati i/ili vrlo oskudno istraženi. Štoviše nepoznati su učinci RF-EMZ-a na morfometrijske pokazatelje eritrocita nakon izlaganja ljudi i/ili *in vitro* ljudske krvi, a oskudni su podaci o učinku na aktivaciju trombocita. Dokazano je da izloženost ljudi i pokusnih životinja RF-EMZ-a koje su emitirali mobilni telefoni i mnogi drugi elektronički uređaji 4G i starije tehnologije uzrokuju štetne učinke na krvne stanice. RF-EMZ-a različitih frekvencija antropogenog podrijetla se zbrajaju, a prisutna su u cjelokupnom okruženju ljudi i životinja pa tako i zdravstvenim ustanovama. Većina suvremenih laboratorija opremljena je uređajima koji koriste Wi-Fi odnosno stvaraju RF-EMZ, stoga su krvni uzorci dodatno izloženi RF-EMZ-u. Stjecanje saznanja o učinku RF-EMZ-a nakon *in vitro* izlaganja krvi od posebnog su značaja zbog pohrane, primjene krvi i krvnih pripravaka u transfuzijskoj medicini te učinaka RF-EMZ-a na vrijednosti KKS-a. Nadalje, važno je utvrditi treba li biti oprezan s krvnim pripravcima koji sadrže trombocite i eritrocite, odnosno treba li ih držati podalje od mobilnih telefona i drugih uređaja koji emitiraju RF-EMZ-e tijekom postupka pripreme, čuvanja, transporta i aplikacije bolesnicima.

Hipoteza istraživanja

5G elektromagnetsko zračenje dovodi do promjena u vrijednostima kompletne krvne slike, morfometriji eritrocita u *in vitro* izloženoj krvi dragovoljaca i svinja te aktivaciji trombocita u ljudskoj krvi

Opći cilj

Cilj je ovog istraživanja utvrditi učinak 5G elektromagnetskog zračenja različitih frekvencija na kompletnu krvnu sliku, morfometriju eritrocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj i životinjskoj krvi te na aktivaciju trombocita u ljudskoj krvi.

Specifični ciljevi:

U ozračenim i neozračenim uzorcima krvi:

- odrediti pokazatelje kompletne krvne slike
- odrediti primarne morfometrijske pokazatelje
- izračunati pokazatelje oblika eritrocita
- odrediti aktivaciju trombocita u ljudskoj krvi
- istražiti učinak različitih frekvencija 5G mreže na navedene pokazatelje u *in vitro* ozračenju krvi ljudi i svinja
- utvrditi učinak različitih frekvencija 5G mreže na navedene pokazatelje u *in vitro* ozračenju krvi ljudi i svinja

4. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

Provođenje ovog istraživanja odobrilo je Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra (KBC) Zagreb na 212. redovitoj sjednici od 4. travnja 2022. (Klasa: 8.1-22/99-2; Broj: 02/013 AG) za humane uzorke pune krvi i Fakultetsko vijeće Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na prijedlog Povjerenstva za etiku u veterinarstvu (6. lipnja 2022.; klasa: 640-01/22-02/08; ur. br.: 251-61-01/139-22-51), a naknadno je za uzorke svinjske krvi odobreno nadopunom Odluke Fakultetskog vijeća Veterinarskog fakulteta o etičkoj prihvatljivosti i znanstvenoj opravdanosti (16. siječnja 2022.; klasa: 640-01/23-17/01; ur. br.: 251-61-55-23-03).

4.1. UZORKOVANJE I IZLAGANJE LJUDSKE KRV I RADIOFREKVENCIJSKOM ELEKTROMAGNETSKOM ZRAČENJU U LABORATORIJSKIM UVJETIMA

Uzorci krvi uzeti su od 30 klinički zdravih dragovoljaca (15 žena i 15 muškaraca), djelatnika KBC Zagreb, u dobi od 25 do 40 godina. Krv je dragovoljcima uzorkovala magistra sestrinstva s odobrenje za samostalni rad prema standardnom postupku u jutranjim satima (oko 9:00 h). Od svakog dragovoljca uzete su po četiri epruvete krvi i to: dvije epruvete krvi s etilendiamintetraoctenom kiselinom (EDTA) kao antikoagulansom i dvije epruvete s natrij-citratom (3,8 %) (ukupno 8 mL, 4 x 2 mL).

Dva uzorka/epruvete od svakog dragovoljca (1 epruveta krvi s EDTA antikoagulansom i 1 epruveta s natrij citratom (3,8 %) bili su izloženi RF-EMZ-u (pokusna skupina), a druga dva bila su u istim uvjetima, u metalnoj kutiji izrađenoj od istog materijala i u istoj prostoriji, osim izlaganja RF-EMZ-u (kontrolna skupina). Pokusni uzorci krvi bili su izloženi različitim frekvencijama RF-EMZ-a od 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz i jakosti električnog polja od 10 V/m u trajanju od 2 sata pomoću gigahertzne transversalne elektromagnetske (GTEM) komore izrađene u Zavodu za radiokomunikacije i visokofrekvencijsku elektroniku Fakulteta elektrotehnike i računarstva Sveučilišta u Zagrebu. Osim GTEM komore koristio se HP 8657A generator signala i RFGA0101-05 linearno pojačalo potrebno za dobivanje većih jakosti elektromagnetskih polja (Slika 4.1.).

Zbog lakšeg izvođenja pokusa te specifičnosti i osjetljivosti analize za procjenu aktivacije trombocita slijedom kojih se uzorci moraju analizirati u minimalnom vremenskom razdoblju od zračenja, a ne dulje od 30 minuta odnosno maksimalno 2 h i

30 minuta od vađenja krvi, dragovoljcima je krv uzorkovana trokratno (u razmacima od 14 dana).

Pokusni uzorci bili su ozračeni s tri različita vida izlaganja kontinuiranom RF-EMZ-u djela frekvencije iz 5G mreže. U prvom istraživačkom razdoblju, uzorci su ozračeni kontinuiranom RF-EMZ-u frekvencije od 700 MHz jakosti električnog polja od 10 V/m. U drugom pokusnom razdoblju, uzorci su ozračeni kontinuiranom RF-EMZ-u frekvencije od 2500 MHz jakosti električnog polja od 10 V/m, dok su u trećem razdoblju uzorci biti ozračeni kontinuiranom RF-EMZ-u frekvencije od 3500 MHz jakosti električnog polja od 10 V/m.

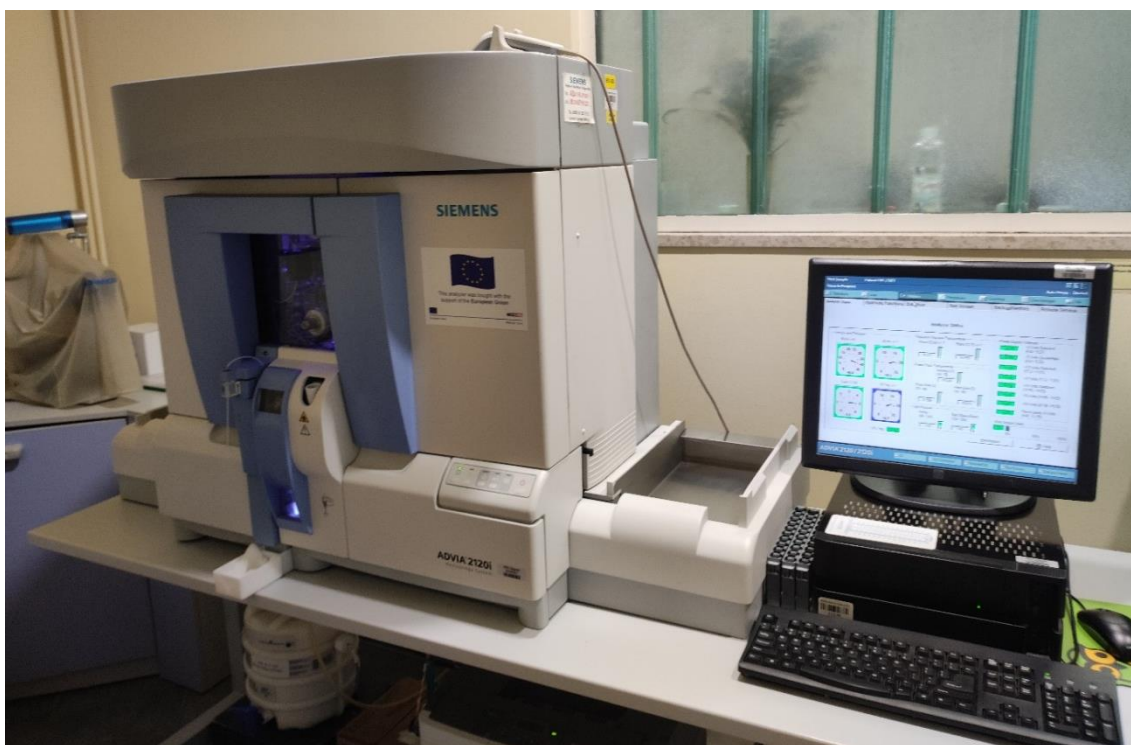


Sika 4.1. Gigaherzna transversalna elektromagnetska komora (GTEM), HP 8657A generator signala i RFGA0101-05 linearno pojačalo

U uzorcima ozračene (pokusne) i neozračene (kontrolne) pune krvi ljudi određivani su hematološki pokazatelji, aktivacija trombocita te je učinjena analiza morfometrijskih osobitosti/značajki eritrocita. Prije analize uzorci krvi su miješani u automatskim mikserima 30 minuta na sobnoj temperaturi ($\approx 20^{\circ}\text{C}$).

4.2. ANALIZA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U LJUDSKOJ KRVI

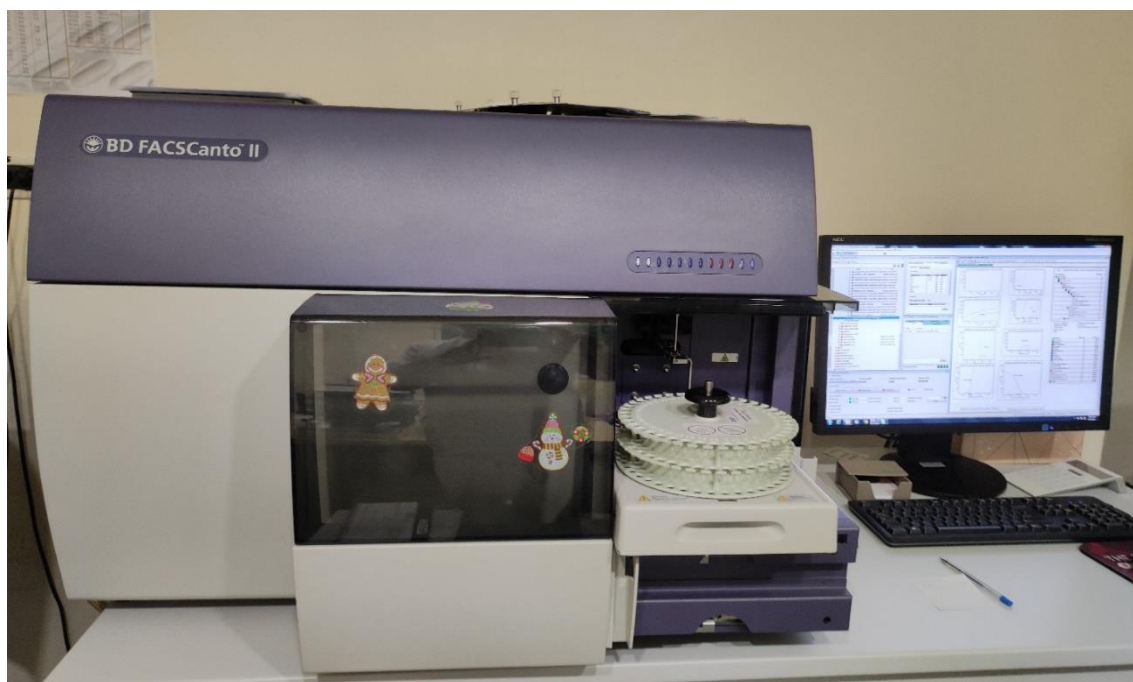
Pokazatelji kompletne krvne slike (KKS) određeni su u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC Zagreb, na hematološkom brojaču Advia 2120i (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Njemačka), a za analizu su rabljeni odgovarajući reagensi istog proizvođača (Slika 4.2.). Sve analize KKS-a (ukupno 180 uzoraka pune krvi, odnosno 2340 analiza) određeni su iz pune krvi uzete u epruvetu s K3-EDTA antikoagulansom (Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Austrija). Pokazatelji KKS obuhvatili su: ukupan broj leukocita i njihove subpopulacije: neutrofilne, eozinofilne i bazofilne granulocite, limfocite i monocite izražene u relativnim i apsolutnim vrijednostima, broj eritocita, koncentraciju hemoglobina, hematokrita, prosječni volumen eritrocita (engl. *mean cell volume*, MCV), prosječnu koncentraciju hemoglobina u eritrocitu (engl. *mean cell hemoglobin*, MCH), prosječnu koncentraciju hemoglobina u eritrocitima (engl. *mean cell hemoglobin concentration*, MCHC) te broj trombocita.



Slika 4.2. Hematološki brojač Advia 2120i (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Njemačka)

4.3. ANALIZA AKTIVACIJE TROMBOCITA U LJUDSKOJ KRVI

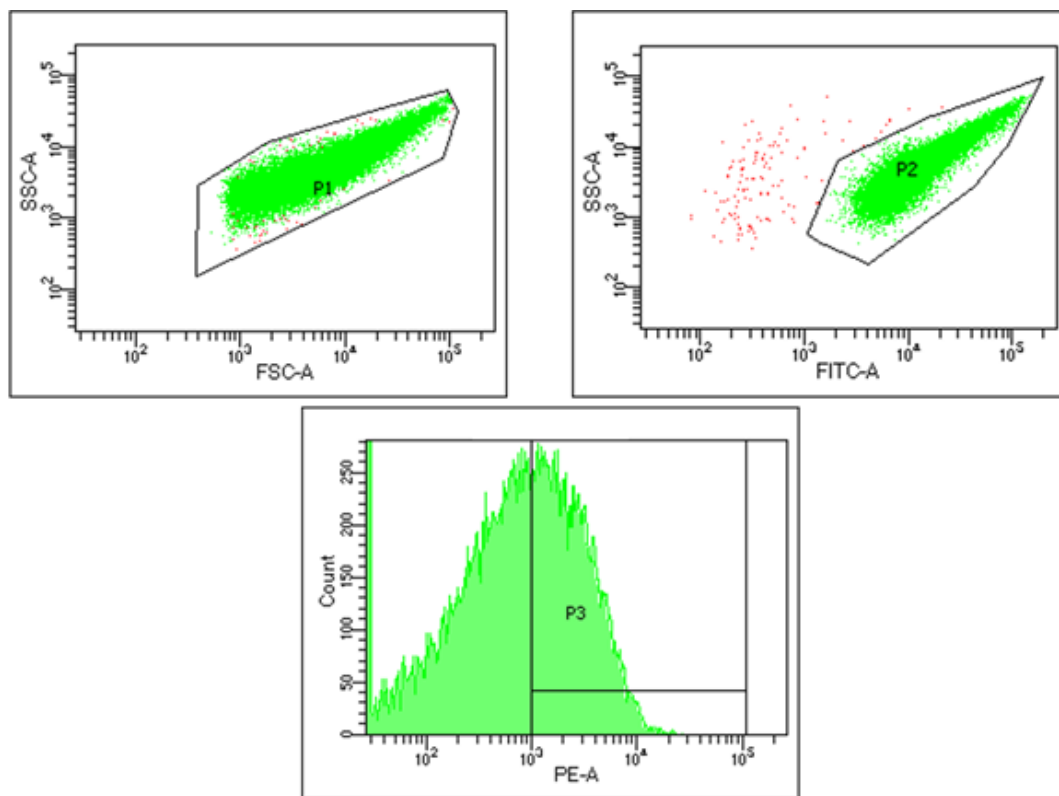
Analiza aktivacije trombocita metodom protočne citometrije provedena je u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb na protočnom citometru BD FACS Canto II (BD Biosciences, San Jose, SAD) određivana je aktivacija trombocita (Slika 4.3.).



Slika 4.3. Protočni citometar BD FACS Canto II (BD Biosciences, San Jose, SAD)

Prvi korak bila je izolacija trombocita iz pune krvi ispitanika koja je bila uzorkovana u epruvetu s 3,8 % natrij-citratom. Uzorci su centrifugirani na 120 g 5 minuta kako bi se dobila plazma bogata trombocitima (engl. platelet rich plasma, PRP). Nakon centrifugiranja, po 40 μ L PRP-a, te po 20 μ L protutijela dodano je u epruvetu. Monoklonska protutijela korištena u ovom istraživanju bila su anti CD41-FITC za obilježavanje svih trombocita u uzorku (BD Pharmingen, FITC Mouse Anti-HUMAN CD41a; BD Biosciences, San Jose, SAD) i anti CD62P-PE (BD Biosciences, San Jose, SAD) za određivanje aktiviranih trombocita. Nakon obilježavanja trombociti ispitanika s protutijelima su inkubirani 5 minuta u mraku na 37 °C. Svi uzorci ispitanika bili su obilježeni i analizirani u duplikatu. Za analizu je korišten računalni program BD FACS

Diva (BD Biosciences, San Jose, SAD) prema unaprijed definiranom protokolu (Slika 4.4.).



Slika 4.4. Prikaz protokola za analizu aktivacije trombocita.

4.4. ŽIVOTINJE, SMJEŠTAJ I HRANIDBA

Istraživanje je provedeno na 16 krmača na dvama obiteljskim gospodarstvima (u svakoj po 8) u Ludbregu, Varaždinska županija. Krmače su bile pasmine njemački landras, u dobi od 1 do 2 godine, tjelesne mase oko 170 kg. Nisu bile gravidne niti u laktaciji. Sve krmače držane su skupno, u zatvorenim nastambama, u istovjetnim uvjetima, sukladno Pravilniku o minimalnim uvjetima za zaštitu svinja (NN 119/2010). Hranjene su dva puta dnevno kompletnom krmnom smjesom koja je sadržavala kukuruz, ječam, posije (pšenične), suncokretovu sačmu i dopunskom krmnom smjesom (dodatak mineralne mješavine za suprasne krmače) (Tablica 4.1. i 4.2.). Pristup vodi bio je *ad libitum*.

Tablica 4.1. Sirovinski sastav kompletne krmne smjese (izražen u suhoj tvari) za krmače korištene u pokusu (OPG 1)

Stavka	količina
Kukuruz	60 %
Ječam	20 %
Posije (pšenične)	15 %
Suncokretova sačma	3,5 %
Premiks*	1,5 %

*Sastav vitaminsko-mineralnog dodatka (na kg smjese): Fosfor 3,0 %, Kalcij 18,0 %, Natrij 5,5%, Magnezij 1,5 %, Lizin 7,0 %, Metionin 2,3 %, Treonin 3,0 %, HCl – netopiv pepeo 4,7 %, Vitamin A 300 000 IJ/kg, Vitamin D 50000 IJ/kg, Vitamin E 4000 mg, Željezo (Željezo-(II)-Sulfat) 2205 mg, Željezo (Glicin-Željezo Kelat) 375 mg, Jod 50 mg, Bakar (Bakar-(II)-Sulfat) 130 mg, Bakar (Bakar bilizinat) 125 mg, Mangan (Mangan-(II)-Oksid) 1025 mg, Mangan (Glicin-Mangan-Kelat) 375mg, Cink (Cink-oksidi) 1675 mg, Cink (Cink-Bilizinat) 625 mg, Selen (Natrij selenit) 10,5 mg, Selen (Selenometionin) 2 mg (Natur pig ZL 70, Schaumann Agri Austria GmbH&Co. KG, Brunn am Gebirge, Austria)

Tablica 4.2. Sirovinski sastav kompletne krmne smjese (izražen u suhoj tvari) za krmače korištene u pokusu (OPG 2)

Stavka	količina
Kukuruz	70 %
Ječam	16 %
Posije (pšenične)	6 %
Suncokretova sačma	7 %
Premiks*	1 %

*Sastav vitaminsko-mineralnog dodatka (na kg smjese): Fosfor 3,5 %, Kalcij 20,5 %, Natrij 6,5%, Magnezij (magnezij oksid) 20 g, Lizin 3,0 %, Metionin 1,5 %, Treonin 0,5 %, Vitamin A 400 000 IJ/kg, Vitamin D 63000 IJ/kg, Vitamin E 2000 mg, Željezo (Željezo-(II)-Sulfat) 7950 mg, Jod (Kalcijev jodat) 82 mg, Bakar (Bakar-(II)-Sulfat) 750 mg, Mangan (Mangan-(II)-Oksid) 2440 mg, Cink (Cink-oksidi) 4269 mg, Selen (Natrij selenit) 15 mg, NaCl 170 g, Kalcijev karbonat (CaCO₃) 435 g, Fosfor (monokalijev fosfat) 180 g (Supramin Z3/T – 3 %, Likra Tierernährung GmbH, Linz, Austria)

4.5. UZORKOVANJE KRVI KRMAČAMA

Istraživanje je provedeno na uzorcima pune krvi. Krmačama je krv uzorkovana u skladu s Naredbom o mjerama zaštite zdravlja životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2022. godini (NN 145/2021), a u istraživanju se koristila ostatna krv.

Krv je krmačama uzimana jednokratno iz *vene cava cranialis* s iglom na nastavku za igle u epruvete s podtlakom sa dodatkom antikoagulansa EDTA (Slika 4.5.). Samo mjesto

venepunkcije je prije samog zahvata dezinficirano prema pravilima struke. Ostatni uzorci krvi su raspodijeljeni u šest testnih epruveta (BD Microtainer® Tube, K2EDTA) oko 1000 μ L krvi u svaku epruvetu (Slika 4.6.).



Slika 4.5. Vađenje krvi krmači iz *vene cava cranialis*



Slika 4.6. Ostadni uzorci krvi su raspodijeljeni u šest epruveta (BD Microtainer® Tube, K2EDTA)

4.6. IZLAGANJE UZORAKA KRVI KRMAČA RADIOFREKVENCIJSKOM ELETROMAGNETSKOM ZRAČENJU U LABORATORIJSKIM UVJETIMA

Od svake krmače pokusni uzorci krvi (3 epruvete) bili su izloženi kontinuiranom radiofrekvencijskom elektromagnetskom zračenju različite frekvencije pomoću GTEM-a (gore prethodno opisan postupak kao i s uzorcima ljudske krvi). Preostala tri uzorka/epruvete držana su u istim uvjetima osim izlaganja radiofrekvencijskom elektromagnetskom zračenju (kontrolna skupina). Pokusni uzorci pune krvi krmača (1 epruveta po krmači) su najprije izloženi frekvenciji od 700 MHz, potom drugi pokusni

uzorci (1 epruveta po krmači) frekvenciji od 2500 MHz, a treći (1 epruveta po krmači) frekvenciji od 3500 MHz pri jakosti električnog polja od 10 V/m u trajanju od 2 sata pomoću GTEM-a.

U uzorcima pokusne i kontrolne pune krvi krmača određeni su hematološki pokazatelji te je provedena analiza morfometrijskih osobitosti/značajki eritrocita).

4.7. ANALIZA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U KRVI KRMAČA

Hematološke analize (ukupno 96 uzoraka pune krvi, odnosno 1728 analiza) učinjene su u Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na automatiziranim hematološkom brojaču Abacus Junior Vet hematology analyzer (Diatron, Mađarska) (JURICA i sur. 2018., ŽURA ŽAJA i sur., 2019.) (Slika 4.7.). Sve analize su napravljene dva puta s maksimalnom pogreškom < 4 %. Postupak uzorkovanja napravljen je sa reagensima proizvođača (Diatro Lyse_DIFF, Diatro Cleanerand Diatro-Rinse, Mađarska) u četiri faze. Uz hematološke pokazatelje koji su analizirani na brojaču krvnih stanica ručno je analizirana i diferencijalna krvna slika za procjenu omjera različitih vrsta leukocita u krvi. Na hematološkom brojaču analizirani su: ukupan broj leukocita, broj limfocita, broj eritocita, hemoglobin, hematokrit, prosječni volumen eritrocita u litri krvi (MCV), prosječna količina hemoglobina u eritrocitu (MCH), prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCHC), širina raspodjele eritrocita, broj trombocita, trombokrit, prosječni volumen trombocita i širina raspodjele trombocita.

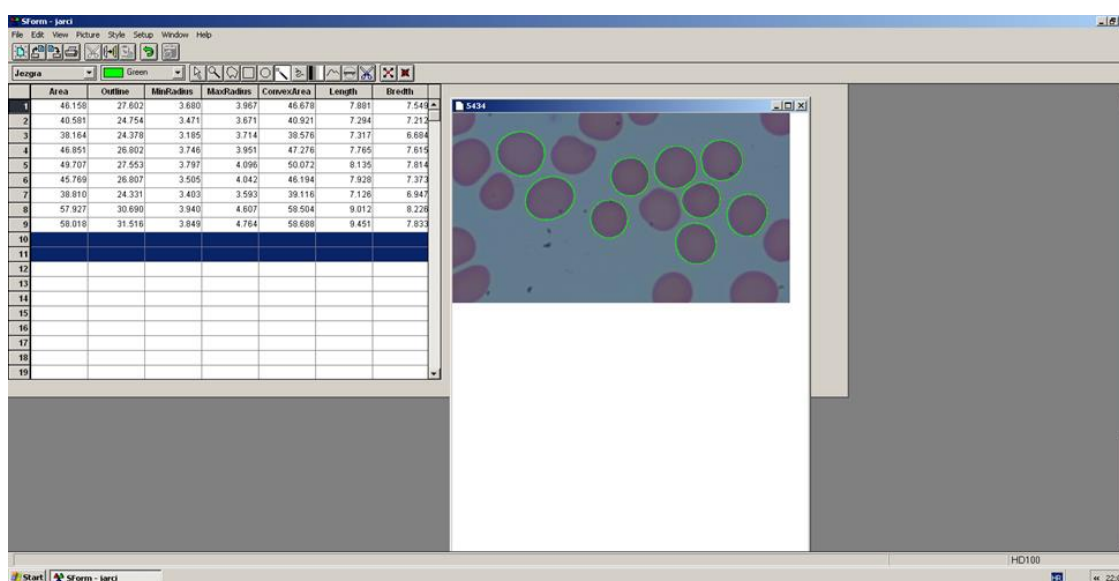


Slika 4.7. Hematološki brojač Abacus Junior Vet hematology analyzer (Diatron, Mađarska)

4.8. MORFOMETRIJSKA ANALIZA ERITOCITA LJUDI I KRMAČA

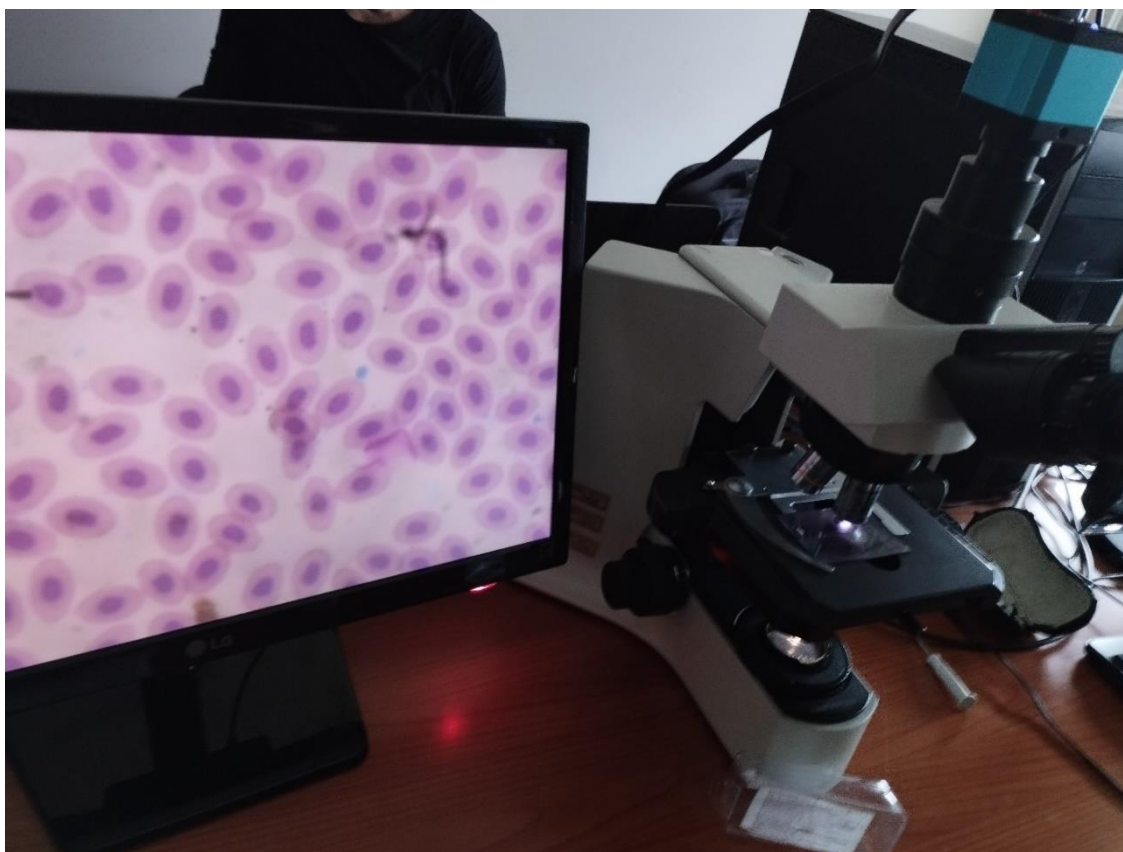
Od uzoraka krvi ljudi i krmača (ozračenih i neozračenih) načinjeni su krvni razmazi koji su obojani prema Pappenheim (May Grünwald i Giemsa otopine). Potom je na tako obojanim krvnim razmazima načinjena računalna analiza slike (osnovnih morfometrijskih osobitosti/značajki eritrocita) na osobnom računalu korištenjem programa „SFORM“ (VAMSTEC, Zagreb, Hrvatska) (Slika 4.8.). Sustav se sastoji od kamere u boji visoke rezolucije (Donpisha 3CCD) koja sliku pod objektivom povećanja 100 x iz svjetlosnog mikroskopa Olympus BX 41 digitalizira i prenosi u osobno računalo (Slika 4.9.). Zatim su određeni primarni morfometrijski pokazatelji i pokazatelji oblika eritrocita. Ukupno je analizirano 180 obojanih krvnih razmaza eritrocita ljudi te 96 obojanih krvnih razmaza eritrocita svinja. Na njima je izmjereno više od 100 eritrocita po svakom obojanom razmazu. Analizirani su samo eritrociti koje se nisu preklapali s drugim eritrocitima ili nečistoćama. Granice citoplazme eritrocita označavane su

interaktivno (najprije automatskom naredbom zaokruživanja eritrocita) uz ručnu korekciju računalnim mišem. Za citoplazmu eritrocita određivani su: površina (μm^2), opseg (μm), konveksna površina ili ispupčenost (μm^2), minimalni i maksimalni polumjer (μm), duljina i širina (μm). Pokazatelji oblika eritrocita izračunati su pomoću primarnih pokazatelja i to: zaobljenost = $(4 \times \text{površina})/[\pi \times (\text{maksimalni polumjer})^2]$, faktor zaokruženosti oblika (engl. rugosity; $4\pi \times \text{površina}/\text{opseg}^2$), eliptičnost (engl. ellipticity; duljina/širina) i izduljenost (engl. elongation; $(\text{duljina} - \text{širina})/(\text{duljina} + \text{širina})$), indeks ispunjenosti = površina/ispupčenost, indeks pravilnosti površine = $\text{opseg}/\sqrt{\text{površina}}$.



Slika 4.8. Morfometrijska analiza ljudskih eritrocita na osobnom računalu korištenjem programa „SFORM“ (VAMSTEC, Zagreb, Hrvatska)

Dobiveni podatci o uzorcima ozračene (pokusne) i neozračene (kontrolne) pune krvi nakon analiza kompletne krvne slike i morfometrije eritrocita ljudi odnosno životinja uspoređivani su samo unutar vrste/grupe.



Slika 4.9. Sustav za morfometrijsku analizu stanica

4.9. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA

U ovo istraživanje bili su uključeni/analizirani uzorci ljudske i životinjske (svinjske) krvi. Za procjenu odgovarajućeg broja ispitanika i svinja/krmača odnosno uzoraka načinjena je analiza snage pomoću računalnog programa G-power test 3.1.9.4. T-test je korišten za usporedbu srednjih vrijednosti dvaju zavisnih uzoraka uz postavljenu vrijednost α (error probability) 0,05. Veličina efekta izračunata je pod pretpostavkom da će pokusna skupina uzoraka imati za 10 % više ili niže vrijednosti određenih krvnih pokazatelja. Za ukupan broj uzorka od 30 ispitanika snaga testa ($1-\beta$ error probability) bila je veća od 80 %. Snaga testa za određivanje razlika u spolu gdje je od ukupno 30 ispitanika po skupini predviđeno 15 muških i 15 ženskih ispitanika iznosila je od 0,80 do 0,97 (snaga testa je samo za jedan od testiranih pokazatelja u ženskih ispitanika, broj limfocita u krvi, iznosila 0,77). Nadalje, za ukupan broj uzorka od 15 krmača snaga testa ($1-\beta$ error probability) bila je veća od 80 %, a kretala se od 0,83 do 0,99.

Statistička analiza podataka izvršena je pomoću programskog paketa SAS 9.4 (Statistical Analysis Software 2002-2012 by SAS Institute Inc., Cary, SAD), a snaga testa

te procjena odgovarajućeg/zadovoljavajućeg broja ispitanika testirana je pomoću programa G-power testa 3.1.9.4.

Deskriptivna statistika napravljena je pomoću modula PROC MEANS i PROC FREQ. Pomoću primarnih pokazatelja eritrocita (duljina, širina, površina i opseg) izračunata su četiri sekundarna pokazatelja oblika eritrocita: eliptičnost = duljina/širina; elongacija = $[(\text{duljina} - \text{širina})/(\text{duljina} + \text{širina})]$; naboranost = $[4\pi \times \text{površina}/\text{opseg}^2]$; pravilnost = $[\pi \times \text{duljina} \times \text{širina}/4 \times \text{površina}]$. Normalna raspodjela podataka testirana je uz pomoć modula PROC TRANSREG. Kada su pretpostavke normalne distribucije analiziranih zavisnih varijabli bile narušene te u slučaju heterogenosti varijanci, učinjena je transformacija varijabli pomoću BOX-COX transformacije i to uglavnom logaritamskom ili eksponencijalnom transformacijom.

Brzo testiranje zavisnih varijabli izvršeno je multivarijatnom analizom varijance (MANOVA) temeljene na kriteriju Wilksove lambde pomoću GLM procedure kako bi se dobio uvid o mogućoj statističkoj značajnosti razlika između skupina. Glavni model analize izvršen je pomoću GLIMMIX procedure te je uključivao fiksni efekt skupine, dobi i spola ispitanika i njihove međusobne interakcije. Rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti najmanjih kvadrata (LSM - least squares means) i 95 % interval pouzdanosti. Za usporedbu srednjih vrijednosti korištena je Tukey-Kramer-ova metoda višestrukih usporedbi na razini statističke značajnosti $p < 0,05$. Podaci su nakon analize, ukoliko je rađena transformacija, obrnutom transformacijom vraćeni na originalne vrijednosti i kao takve su prikazane u tablicama.

Osim pojedinačne analize vrijednosti svakog morfometrijskog pokazatelja načinjene su i multivarijatne analize grupiranja (CLUSTERI) podataka kroz nekoliko koraka, kako bi se dobile subpopulacije eritrocita na osnovi podataka glavnih morfometrijskih pokazatelja. Prva urađena analiza bila je analiza glavnih komponenata kako bi se dobile karakteristične vrijednosti (eigenvalues) morfometrijskih pokazatelja koristeći Kaiserov kriterij ($\lambda \geq 1$) pomoću kojih bi se odredio broj glavnih komponenata. Druga odrađena analiza bila je grupiranje podataka pomoću nehijerarhijske analize (metoda K-srednjih vrijednosti i Euklidove udaljenosti) najvažnijih pokazatelja za svaku komponentu iz prethodne analize koristeći PROC FASTCLUS modul. U određivanju broja subpopulacija korištena je izlazna statistika FASTCLUS procedure: pseudo F statistika, očekivani ukupni R^2 i kriterij kubičnog grupiranja. Kako bi se bolje interpretirali podaci

dobivenih subpopulacija eritocita, na kraju je učinjena postupna diskriminacijska analiza i testiranje netipičnih vrijednosti. Testiranje razlika u distribuciji subpopulacija eritocita između skupina izvršena je pomoću Hi-kvadrat testa. Grafikoni su napravljeni u rezoluciji od 300 dpi pomoću procedure SGPLOT i SGRENDER.

5. REZULTATI

5.1. PRIKAZ DESKRIPTIVNIH PODATAKA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U LJUDI

Hematološki pokazatelji određeni su na hematološkom brojaču Advia 2120i na sveukupno 180 krvnih uzoraka ljudi, od kojih je 90 kontrolnih (neizloženih 5G elektromagnetskom zračenju) te 90 pokusnih (izloženih 5G elektromagnetskom zračenju) krvnih uzoraka. Iz Tablice 1. vidljivi su veliki rasponi najmanje i najveće vrijednosti u većine hematoloških pokazatelja uzevši u obzir vrijednosti svih ispitanika (neposredno prije izlaganja pokusnih uzoraka krvi 5G elektromagnetskom zračenju), a osobito u vrijednostima eozinofila ($0 - 0,70 \cdot 10^9/L$), bazofila ($0 - 2,00 \cdot 10^9/L$) te aktivaciji trombocita ($0 - 2,30 \%$). Manji rasponi prisutni su u četiri hematološka pokazatelja u ljudi, a to su MCV kojemu je koeficijent varijacije ($5,09 \%$), MCH kojemu je koeficijent varijacije ($4,34 \%$), MCHC kojemu je koeficijent varijacije ($1,83 \%$) te RDW (%) kojemu je koeficijent varijacije ($4,29 \%$). Postoji značajna varijacija u rasponima vrijednosti među ljudima. Široki intervali su prisutni u svim hematološkim pokazateljima. Interval koeficijenta varijacije kreće se od trostrukog povećanja za MCHC pokazatelj ($0,58 - 1,65 \%$) te do stodvadesetpeterostrukog povećanja aktivacije trombocita ($0 - 125,17 \%$) (Tablica 1.).

5.2. PRIKAZ DESKRIPTIVNIH PODATAKA POJEDINAČNIH MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA LJUDSKIH ERITROCITA

U Tablici 2. prikazani su deskriptivni podatci morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita. Izmjereno je sveukupno 26068 eritrocita iz kontrolnih (neizloženih 5G elektromagnetskom zračenju) i pokusnih (izloženih 5G elektromagnetskom zračenju) krvnih uzoraka u 30 ljudi oba spola. Deskriptivna analiza provedena je na svim pojedinačnim morfometrijskim pokazateljima ljudskih eritrocita bez obzira na skupinu (Tablica 2). Prisutni su manji rasponi najmanje i najveće vrijednosti u morfometrijskim pokazateljima ljudskih eritrocita te osobito niski u vrijednostima indeksa pravilnosti površine ($3,80 - 7,70$) te indeksa ispunjenosti ($0,93 - 1,00$). Također, ne postoji velika varijacija u rasponima vrijednosti morfometrijskih pokazatelja eritrocita

među ljudima. Nisu prisutni široki intervali među morfometrijskim pokazateljima ljudi. Interval koeficijenta varijacije kreće se od najšćešće u rasponu od 50 do 70 % povećanja, a najveće do dvostrukog povećanja primjerice za indeks ispunjenosti eritrocita (0,27 % - 0,66 %) te faktor zaokruženosti oblika eritrocita (5,62 % - 12,67 %).

Tablica 1. Deskriptivni podatci hematoloških pokazatelja u ljudi

POKAZATELJI	BROJ UZORAKA	SREDNJA VRIJEDNOST	MEDIJAN	STANDARDNA DEVIJACIJA	KOEFIČIJENT VARIJACIJE (%)	NAJMANJA I NAJVEĆA VRIJEDNOST	95 % INTERVAL POUZDANOSTI	VARIJACIJE MEĐU LJUDIMA			
								INTERVAL SREDNJE VRIJEDNOSTI	INTERVAL MEDIJANE VRIJEDNOSTI	INTERVAL STANDARDNE VARIJACIJE	INTERVAL KOEFIČIJENTA VARIJACIJE (%)
Neutrofili (%)	180	58,03	57,20	7,79	13,43	41,70-81,50	56,89-59,18	49,45-71,75	45,75-69,55	1,51-10,51	2,51-15,80
Bazofili (%)	180	0,44	0,40	0,22	50,77	0-1,40	0,40-0,47	0,12-0,78	0,10-0,90	0-0,27	0-64,52
Eozinofili (%)	180	2,42	2,00	1,90	78,61	0-10,50	2,14-2,70	0,43-8,93	0,45-9,10	0,08-0,96	7,04-58,86
Limfociti (%)	180	33,09	33,35	7,58	22,91	2,20-51,50	31,98-34,21	25,48-43,82	24,70-45,10	1,43-17,47	4,45-48,18
Monociti (%)	180	5,82	5,70	1,66	28,55	3,10-14,40	5,57-6,06	3,65-11,80	3,50-11,15	0,29-1,77	5,15-27,76
Ukupni leukociti (10 ⁹ /L)	180	6,73	6,74	1,26	18,80	4,07-11,18	6,54-6,92	5,18-9,10	4,99-9,60	0,22-3,14	3,07-47,63
Neutrofili (10 ⁹ /L)	180	3,94	3,78	1,15	29,23	2,18-8,92	3,77-4,11	2,66-6,61	2,75-6,53	0,05-3,00	1,17-63,35
Bazofili (10 ⁹ /L)	180	0,04	0,03	0,15	372,11	0-2,00	0,02-0,06	0,01-0,07	0,01-0,07	0,004-0,8	11,93-61,04
Eozinofili (10 ⁹ /L)	180	0,16	0,13	0,13	79,55	0-0,70	0,14-0,18	0,04-0,60	0,03-0,60	0,001-0,09	7,04-73,02
Limfociti (10 ⁹ /L)	180	2,19	2,21	0,53	24,19	0,17-3,68	2,11-2,27	1,45-3,15	1,45-3,22	0,03-1,13	1,38-47,75
Monociti (10 ⁹ /L)	180	0,39	0,37	0,14	34,99	0,21-1,21	0,37-0,41	0,24-0,88	0,23-0,79	0,02-0,13	3,61-34,65
Ukupni eritrociti (10 ¹² /L)	180	4,79	4,75	0,43	8,96	3,93-5,61	4,72-4,85	4,09-5,42	4,07-5,43	0,04-0,36	0,95-6,91
Retikulociti (10 ⁹ /L)	180	53,35	51,00	19,41	36,38	20,00-108,00	50,39-56,32	26,83-104,00	26,5-103,5	2,58-15,37	3,10-26,75
Retikulociti (%)	180	11,04	10,70	3,67	33,22	4,7-21,50	10,48-11,60	5,85-19,32	6,65-18,40	0,38-3,72	1,95-25,04
Hemoglobin (g/L)	180	143,21	141,00	12,80	8,94	119,00-173,00	141,33-145,10	121,00-165,00	121,00-163,5	1,17-11,13	0,85-6,98
Hematokrit (L/L)	180	0,44	0,44	0,04	8,60	0,37-0,54	0,44-0,48	0,38-0,51	0,38-0,51	0,003-0,04	1,01-7,82
MCV (fL)	180	92,26	92,35	4,69	5,09	63,70-103,10	91,57-92,95	86,35-102,57	83,15-102,95	0,10-12,51	0,11-14,02
MCH (pg)	180	29,94	30,20	1,30	4,34	26,10-33,10	29,75-30,16	26,68-31,77	27,80-32,30	0,10-0,78	0,33-2,62
MCHC (g/L)	180	324,07	323,00	5,95	1,83	307,00-337,00	323,20-324,95	315,83-334,33	315,00-335,00	1,87-5,92	0,58-1,65
RDW (%)	180	13,12	13,00	0,56	4,29	11,80-14,80	13,03-13,20	11,93-14,58	11,95-14,55	0,05-0,50	0,41-3,17
Trombociti (10 ⁹ /L)	180	278,14	281,00	63,07	22,67	90,00-443,00	268,86-287,41	191,33-416,17	181,00-412,5	5,32-78,18	3,53-40,75
MPV (fL)	180	8,64	8,40	1,04	12,00	7,20-12,00	8,48-8,80	7,31-10,63	7,30-11,70	0-0,92	0-9,52
Aktivacija trombocita (%)	180	0,17	0,10	0,22	123,19	0-2,30	0,14-0,21	0,07-0,65	0,05-0,65	0-0,81	0-125,17

MCV (eng. *Mean Cell Volume*) - prosječni volumen eritrocita; MCH (eng. *Mean Cell Hemoglobin*) - prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu; MCHC (eng. *Mean Cell Hemoglobin Concentration*) – prosječna koncentracija hemoglobina u litri eritrocita; RDW (eng. *Red blood cell Distribution Width*) - raspodjela eritrocita po volumen; MPV (eng. *Mean Platelet Volume*) - prosječni volumen trombocita.

Tablica 2. Deskriptivni podatci morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita

POKAZATELJI		BROJ ERITROCITA	SREDNJA VRIJEDNOST	MEDIJAN	STANDARDNA DEVIJACIJA	KOEFIKIJENT VARIJACIJE (%)	NAJMANJAI NAJVEĆA VRIJEDNOST	95 % INTERVAL POUZDANOST	VARIJACIJE MEĐU LJUDIMA			
									INTERVAL SREDNJE VRIJEDNOST	INTERVAL MEDIJANE VRIJEDNOSTI	INTERVAL STANDARDNE VARIJACIJE	INTERVAL KOEFIKIJENTA VARIJACIJE (%)
POKAZATELJI VELIČINE ERITROCITA	Površina (μm ²)	26068	45,89	45,73	6,15	13,00	22,53-78,88	45,82-45,97	42,56-51,25	42,12-51,11	5,03-6,69	10,78-14,56
	Opseg (μm)	26068	27,25	26,97	2,74	10,01	18,70-60,25	27,22-27,29	26,11-29,03	25,85-28,68	1,98-3,89	7,41-13,94
	Ispupčenost	26068	46,40	46,20	6,27	13,00	22,78-79,84	46,32-46,48	43,04-51,84	42,58-51,61	5,14-6,85	10,87-14,73
	Minimalni polumjer (μm)	26068	3,49	3,49	0,27	8,00	2,30-4,60	3,49-3,49	3,33-3,64	3,33-3,64	0,23-0,31	6,61-8,43
	Maksimalni polumjer (μm)	26068	4,10	4,09	0,32	8,00	2,78-5,69	4,10-4,10	3,94-4,24	3,95-4,38	0,27-0,35	6,62-8,43
	Duljina (μm)	26068	8,05	8,04	0,61	7,00	5,44-10,97	8,05-8,06	7,80-8,64	7,76-8,60	0,51-0,66	6,43-8,22
	Širina (μm)	26068	7,29	7,30	0,56	8,00	4,70-9,70	7,29-7,30	7,12-7,54	6,98-7,62	0,48-0,62	6,42-8,58
POKAZATELJI OBLIKA ERITROCITA	Eliptičnost	26068	1,11	1,09	0,08	7,00	0,97-1,81	1,11-1,11	1,08-1,14	1,06-1,12	0,06-0,10	5,51-8,46
	Izduljenost	26068	0,05	0,04	0,03	7,00	0,01-0,29	0,05-0,05	0,04-0,06	0,03-0,06	0,03-0,04	60,32-74,17
	Indeks ispunjenosti	26068	0,99	0,99	0,004	0,40	0,93-1,00	0,99-0,99	0,99-0,99	0,99-0,99	0,003-0,006	0,27-0,66
	Zaobljenost	26068	0,87	0,88	0,06	7,00	0,54-0,98	0,87-0,87	0,84-0,89	0,86-0,91	0,05-0,07	5,43-7,91
	Faktor zaokružnosti oblika	26068	0,79	0,8	0,07	8,00	0,21-0,87	0,78-0,78	0,76-0,80	0,77-0,82	0,04-0,10	5,62-12,67
	Indeks pravilnosti površine	26068	4,03	3,96	0,22	5,00	3,80-7,70	4,02-4,03	3,97-4,11	3,92-4,03	0,14-0,37	3,51-9,06

Eliptičnost = duljina /širina; izduljenost = (duljina – širina)/(duljina + širina); indeks ispunjenosti = površina/ispupčenost; zaobljenost = $(4 \times \text{površina}) / [\pi \times (\text{maksimalni polumjer})^2]$; faktor zaokružnosti oblika = $4\pi \times \text{površina} / \text{opseg}^2$; indeks pravilnosti površine = $\text{opseg} / \sqrt{\text{površina}}$.

5.3. PRIKAZ DESKRIPTIVNIH PODATAKA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U SVINJA

Hematološki pokazatelji u krvi svinja određeni su na hematološkom brojaču Abacus Junior Vet hematology analyzer, a diferencijalna krvna slika manualnom metodom na sveukupno 96 krvnih uzoraka, od kojih je 48 kontrolnih (neizloženih) te 48 pokusnih (izloženih) krvnih uzoraka. Iz Tablice 3. vidljivi su veliki rasponi najmanje i najveće vrijednosti u većine pokazatelja, a osobito u vrijednostima bazofila ($0 - 9,00 \times 10^9/L$) i nezrelih neutrofila ($0 - 2,12 \times 10^9/L$). Manji rasponi prisutni su u dva hematološka pokazatelja u svinja, a to su MCHC kojemu je koeficijent varijacije (3,75 %) te PDW (%) kojemu je koeficijent varijacije (4,91 %). Postoji značajna varijacija u rasponima vrijednosti među svinjama. Široki intervali su prisutni u svim hematološkim pokazateljima. Interval koeficijenta varijacije kreće se od gotovo trostrukog povećanja za nezrele neutrofile (44,26 % - 126,49 %) te do tridesetšesterostrukog povećanja u PCT pokazatelju (0 % - 36,33 %) (Tablica 3.).

5.4. PRIKAZ DESKRIPTIVNIH PODATAKA POJEDINAČNIH MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA SVINJSKIH ERITROCITA

U Tablici 4. prikazani su deskriptivni podatci morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita. Izmjereno je sveukupno 13482 eritrocita iz kontrolnih (neizloženih) i pokusnih (izloženih) krvnih uzoraka u 16 svinja ženskog spola. Deskriptivna analiza provedena je na svim pojedinačnim morfometrijskim pokazateljima eritrocita bez obzira na skupinu (Tablica 4.). Prisutni su umjereni rasponi najmanje i najveće vrijednosti u morfometrijskim pokazateljima eritrocita, a najniži u vrijednostima indeksa pravilnosti površine eritrocita (2,18 - 9,84) te najveći za izduljenost eritrocita (0,02 - 0,77). Postoji velika varijacija u rasponima vrijednosti morfometrijskih pokazatelja eritrocita među svinjama. Prisutni su široki intervali među morfometrijskim pokazateljima svinja. Interval koeficijenta varijacije kreće se u najmanjem intervalu za površinu eritrocita (12,58 % - 15,62 %) te najvećeg povećanja intervala u indeksu ispunjenosti eritrocita svinja (0,50 % - 30,12 %) (Tablica 4.).

Tablica 3. Deskriptivni podatci hematoloških pokazatelja u svinja

POKAZATELJI	BROJ UZORAKA	SREDNJA VRIJEDNOST	MEDIJAN	STANDARDNA DEVIJACIJA	KOEFIČIJENT VARIJACIJE (%)	NAJMANJA I NAJVEĆA VRIJEDNOST	95 % INTERVAL POUZDANOST	VARIJACIJE MEĐU SVINJAMA			
								INTERVAL SREDNJE VRIJEDNOST	INTERVAL MEDIJANE VRIJEDNOSTI	INTERVAL STANDARDNE VARIJACIJE	INTERVAL KOEFIČIJENTA VARIJACIJE (%)
Neutrofili (%)	96	44,91	44,50	1,06	23,07	20,00-69,00	42,81-47,01	27,83-59,50	28,50-58,00	3,27-10,38	7,84-24,93
Nezreli neutrofili (%)	96	2,17	2,00	0,21	97,20	0-12,00	1,74-2,59	0,67-4,33	0,50-3,50	0,75-4,59	44,26-126,49
Bazofili (%)	96	1,29	1,00	1,65	128,03	0-9,00	0,96-1,63	0-3	0-2,50	0-3,52	48,99-176,07
Eozinofili (%)	96	4,21	4,00	2,64	62,62	0-12,00	3,67-4,74	0,50-6,17	0,50-6,00	0,55-3,27	25,98-109,55
Limfociti (%)	96	42,51	42,00	10,89	25,61	21,00-69,00	40,30-44,72	32,17-58,67	31,00-58,00	1,83-10,99	3,92-28,16
Monociti (%)	96	4,81	5,00	2,47	51,28	1,00-16,00	4,31-5,31	3,66-7,83	3,00-7,00	1,10-4,36	21,91-71,00
Ukupni leukociti (10 ⁹ /L)	96	17,35	16,30	4,28	24,65	10,61-25,10	16,49-18,22	12,76-24,08	11,92-23,97	0,40-2,43	1,96-19,04
Neutrofili (10 ⁹ /L)	96	7,62	7,43	2,07	27,16	4,39-13,53	7,20-8,04	5,34-11,57	5,23-12,00	0,74-2,06	7,20-25,62
Nezreli neutrofili (10 ⁹ /L)	96	0,36	0,27	0,39	101,27	0-2,12	0,29-0,44	0,15-0,78	0,11-0,62	0,10-0,81	35,35-127,83
Bazofili (10 ⁹ /L)	96	0,24	0,15	0,32	133,03	0-1,42	0,18-0,31	0-0,68	0-0,68	0-0,55	45,27-175,15
Eozinofili (10 ⁹ /L)	96	0,71	0,67	0,46	65,20	0-2,15	0,61-0,80	0,11-1,27	0,12-1,23	0,13-0,70	32,44-109,66
Limfociti (10 ⁹ /L)	96	7,57	6,30	3,25	42,89	2,66-16,28	6,10-8,23	5,31-13,27	4,24-12,80	0,42-2,33	7,62-27,63
Monociti (10 ⁹ /L)	96	0,82	0,74	0,44	53,77	0,13-2,36	0,73-0,91	0,50-1,08	0,50-1,02	0,19-0,68	23,90-67,97
Ukupni eritrociti (10 ¹² /L)	96	6,82	6,57	0,96	14,06	5,37-8,96	6,62-7,01	5,79-8,30	5,67-8,34	0,04-0,49	0,75-17,30
Hemoglobin (g/L)	96	127,93	125,25	13,78	10,77	107,50-186,50	125,13-130,72	113,50-157,67	112,50-143,00	0,88-24,84	0,76-18,27
Hematokrit (L/L)	96	0,49	0,48	0,05	9,58	0,42-0,68	0,48-0,50	0,43-0,54	0,43-0,58	0,003-0,09	0,85-18,42
MCV (fL)	96	72,23	73,50	5,31	7,36	60,50-82,50	71,15-73,31	62,33-80,33	62,00-80,00	0,49-5,80	0,70-8,03
MCH (pg)	96	18,90	19,30	1,38	7,29	15,50-21,00	18,62-19,18	15,84-20,65	15,83-20,63	0,09-0,60	0,47-3,50
MCHC (g/L)	96	260,87	261,50	9,79	3,75	234,50-282,50	258,89-262,85	246,42-270,00	246,50-274,00	3,12-12,86	1,16-4,77
RDW (%)	96	18,68	18,25	1,27	6,78	16,95-23,50	18,42-18,93	17,17-21,93	17,15-21,90	0,09-1,51	0,49-6,89
Trombociti (10 ⁹ /L)	96	260,63	218,50	130,77	50,18	57,50-886,50	234,13-287,13	72,75-496,58	72,50-506,50	4,76-191,13	2,37-56,28
PCT (%)	96	0,003	0,003	0,001	40,88	0,005-0,006	0,002-0,003	0,008-0,05	0,001-0,005	0-0,0008	0-36,33
MPV (fL)	96	10,34	10,53	1,11	10,73	6,95-13,25	10,11-10,56	9,01-12,83	8,98-12,83	0,14-1,25	1,47-13,68
PDW (%)	96	43,48	43,75	2,14	4,91	29,50-46,30	43,04-43,91	42,10-45,51	42,28-45,75	0,47-3,01	1,09-14,83

MCV (eng. *Mean Cell Volume*) - prosječni volumen eritrocita; MCH (eng. *Mean Cell Hemoglobin*) - prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu; MCHC (eng. *Mean Cell Hemoglobin Concentration*) – prosječna koncentracija hemoglobina u litri eritrocita; RDW (eng. *Red blood cell Distribution Width*) - raspodjela eritrocita po volumenu; PCT (engl. *Plateletcrit*) - volumni udio trombocita u jedinici pune krvi; MPV (eng. *Mean Platelet Volume*) - prosječni volumen trombocita u krvi; PDW (eng. *Platelet Distribution Width*) – raspodjela trombocita po volumenu.

Tablica 4. Deskriptivni podatci pojedinačnih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita

POKAZATELJI		BROJ ERITROCITA	SREDNJA VRJEDNOST	MEDIJAN	STANDARDNA DEVIJACIJA	KOEFIJIENT VARIJACIJE (%)	NAJMANJA I NAJVEĆA VRJEDNOST	95 % INTERVAL POUZDANOSTI	VARIJACIJE MEĐU SVINJAMA			
									INTERVAL SREDNJE VRJEDNOSTI	INTERVAL MEDIJANE VRJEDNOSTI	INTERVAL STANDARDNE DEVIJACIJE	INTERVAL KOEFIJIENTA VARIJACIJE (%)
POKAZATELJI VELIČINE ERITROCITA	Površina (μm^2)	13482	33,70	33,34	50,55	15,00	14,94-91,11	33,62-33,79	31,22-37,87	30,55-37,79	3,88-5,91	12,58-15,62
	Opseg (μm)	13482	23,90	23,50	2,85	11,91	8,43-60,26	23,85-23,95	22,19-25,57	21,99-25,19	1,83-3,68	8,24-14,90
	Ispupčenost	13482	34,20	33,81	5,20	15,21	1,54-103,35	34,11-34,29	31,17-38,47	30,91-38,39	4,22-6,17	12,61-16,04
	Minimalni polumjer (μm)	13482	2,97	2,97	0,26	8,86	0,03-4,17	2,97-2,98	2,85-3,14	2,84-3,14	0,22-0,28	7,55-9,69
	Maksimalni polumjer (μm)	13482	3,53	3,51	0,31	8,69	1,97-7,64	3,53-3,54	3,39-3,75	3,41-3,68	0,24-0,36	6,91-9,52
	Duljina (μm)	13482	6,90	6,87	0,58	8,39	3,85-15,27	6,9-6,9	6,62-7,30	6,59-7,31	0,49-0,67	6,76-9,18
	Širina (μm)	13482	6,27	6,26	0,53	8,43	0,49-8,50	6,26-6,28	5,97-6,67	6,03-6,66	0,44-0,55	7,31-8,60
POKAZATELJI OBLIKA ERITROCITA	Eliptičnost	13482	1,10	1,08	0,09	8,96	0,95-7,75	1,10-1,11	1,10-1,14	1,07-1,10	0,07-0,25	5,98-22,02
	Izduljenost	13482	0,05	0,04	0,04	72,72	-0,02-0,77	0,05-0,05	0,04-0,06	0,03-0,05	0,02-0,05	64,49-81,44
	Indeks ispunjenosti	13482	0,99	0,99	0,07	7,66	0,78-9,70	0,99-0,99	0,98-0,99	0,99-0,99	0,01-0,30	0,50-30,12
	Zaobljenost	13482	0,86	0,87	0,07	7,74	0,35-1,23	0,86-0,86	0,84-0,87	0,85-0,89	0,06-0,07	6,46-9,27
	Faktor zaokruženosti oblika	13482	0,75	0,77	0,08	11,39	0,13-2,64	0,75-0,75	0,71-0,79	0,74-0,80	0,05-0,11	6,98-14,70
	Indeks pravilnosti površine	13482	4,12	4,03	0,31	7,43	2,18-9,84	4,11-4,13	4,00-4,25	3,96-4,12	0,17-0,43	4,23-10,45

Eliptičnost = duljina /širina; izduljenost = (duljina – širina)/(duljina + širina); indeks ispunjenosti = površina/ispupčenost; zaobljenost = $(4 \times \text{površina}) / [\pi \times (\text{maksimalni polumjer})^2]$; faktor zaokruženosti oblika = $4\pi \times \text{površina} / \text{opseg}^2$; indeks pravilnosti površine = $\text{opseg} / \sqrt{\text{površina}}$.

5.5. PRIKAZ PODATAKA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U LJUDI PREMA SPOLU I FREKVENCiji ZRAČENJA

U tablici 5. prikazani su hematološki pokazatelji ljudi, dobiveni pomoću hematološkog brojača Advia 2120i, oba spola, kontrolnih (neizloženih) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi sa tri različite frekvencije 5G elektromagnetskog zračenja; 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz) te skupno kontrolnih i pokusnih uzoraka ovisno o spolu i ukupno svih kontrolnih i pokusnih uzoraka neovisno o frekvenciji zračenja i spolu.

Iz tablica 5., 6., 7., 8. i 9. može se iščitati da su se pokusni i kontrolni uzorci značajno razlikovali u srednjim vrijednostima samo u četiri hematološka pokazatelja, i to: koncentracija hemoglobina bila je značajno veća ($p < 0,05$) u pokusnoj skupini uzoraka ozračenju sa 3500 MHz, broj limfocita bio je značajno veći ($p < 0,05$) u žena u pokusnoj skupini uzoraka ozračenju sa 2500 MHz, MCV je bio značajno veći u kontrolnoj skupini u odnosu na pokusnu skupinu uzoraka izloženih sa 2500 MHz, a MPV je bio značajno veći u kontrolnoj skupini žena u odnosu na pokusnu skupinu uzoraka izloženih sa 3500 MHz. Nakon statističke analize dobivenih podataka utvrđeno je da su se srednje vrijednosti hematoloških pokazatelja značajno razlikovale među spolovima. Značano veća vrijednost ($p < 0,001$) utvrđena je u udjelu bazofila, eozinofila i monocita, broju bazofila, eozinofila, eritrocita i retikulocita, koncentraciji hemoglobina te MCHC-u i hematokritu ($p < 0,01$), u muškaraca u odnosu na žene. Dok je značajno veća vrijednost u udjelu neutrofila ($p < 0,001$), broju neutrofila ($p < 0,5$) i trombocita ($p < 0,001$) te RDW-u ($p < 0,5$) bila u žena u odnosu na muškarce.

Tablica 5. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) pokazatelja diferencijalne krvne slike ljudi, oba spola, kontrolnih (neizloženih) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz)

BROJ LJUDI		FREKVENCIJA ZRAČENJA								
		700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO	UKUPNO	
		30	30	30	30	30	30	180	90	90
SKUPINA	SPOL	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna+Pokus	Kontrolna	Pokusna
Neutrofili (%)	M	56,25 (52,25-60,17)	56,91 (52,92-60,82)	55,70 [#] (51,70-59,63)	55,91 [#] (51,91-59,84)	55,81 (51,81-59,43)	55,50 (51,50-59,43)	56,01 ^{###} (54,39-57,63)		
	Ž	58,37 (54,38-62,25)	58,21 (54,22-62,10)	61,73 [#] (57,77-65,73)	62,37 [#] (58,42-66,16)	59,90 (55,92-63,75)	59,75 (55,77-63,60)	60,06 ^{###} (58,46-61,65)		
	M+Ž	57,31 (54,49-60,09)	57,56 (54,75-60,33)	58,75 (55,93-61,51)	59,18 (56,37-61,93)	57,87 (55,05-60,63)	57,64 (54,82-60,41)		57,98 (56,35-59,58)	58,13 (56,51-59,73)
Bazofili (%)	M	0,49 (0,39-0,61)	0,48 (0,38-0,60)	0,50 ^{##} (0,40-0,63)	0,55 ^{##} (0,45-0,68)	0,55 [#] (0,45-0,68)	0,55 [#] (0,45-0,68)	0,52 ^{###} (0,48-0,57)		
	Ž	0,35 (0,26-0,45)	0,36 (0,28-0,47)	0,30 ^{###} (0,22-0,40)	0,34 ^{###} (0,26-0,45)	0,39 [#] (0,31-0,51)	0,37 [#] (0,29-0,48)	0,35 ^{###} (0,31-0,39)		
	M+Ž	0,41 (0,34-0,49)	0,42 (0,35-0,50)	0,39 (0,32-0,47)	0,43 (0,36-0,52)	0,47 (0,40-0,55)	0,45 (0,38-0,54)		0,42 (0,38-0,47)	0,43 (0,39-0,48)
Eozinofili (%)	M	3,25 [#] (2,37-4,46)	3,25 [#] (2,36-4,45)	2,99 [#] (2,15-4,16)	3,03 [#] (2,18-4,20)	3,20 [#] (2,32-4,39)	3,09 [#] (2,23-4,26)	3,13 ^{###} (2,75-3,57)		
	Ž	1,84 [#] (1,20-2,81)	1,89 [#] (1,25-2,87)	1,53 [#] (0,96-2,44)	1,66 [#] (1,06-2,59)	1,71 [#] (1,10-2,65)	1,61 [#] (1,02-2,53)	1,70 ^{###} (1,42-2,04)		
	M+Ž	2,45 (1,88-3,19)	2,48 (1,91-3,22)	2,15 (1,61-2,85)	2,24 (1,70-2,96)	2,34 (1,79-3,07)	2,23 (1,69-2,94)		2,31 (1,97-2,70)	2,31 (1,98-2,71)
Limfociti (%)	M	33,95 (30,11-38,02)	33,75 (29,92-37,92)	34,31 [#] (30,45-38,38)	34,17 (30,32-38,24)	33,88 (30,04-37,95)	34,18 (30,33-38,25)	34,04 (32,44-35,68)		
	Ž	33,79 (29,96-37,86)	33,96 (30,12-38,03)	28,83 [#] (25,19-32,76)	30,71 (26,99-34,70)	32,77 (28,97-36,81)	32,81 (29,00-36,85)	32,12 (30,54-33,73)		
	M+Ž	33,87 (31,13-36,73)	33,86 (31,12-36,71)	31,50 (28,81-34,32)	32,42 (29,71-35,26)	33,32 (30,59-36,17)	33,49 (30,76-36,34)		32,89 (31,30-34,52)	33,25 (31,66-34,88)
Monociti (%)	M	6,07 (5,29-6,95)	5,79 (5,03-6,66)	6,47 [#] (5,67-7,38)	6,33 ^{##} (5,53-7,23)	6,59 [#] (5,78-7,50)	6,65 [#] (5,84-7,57)	6,31 ^{###} (5,97-6,66)		
	Ž	5,63 (4,89-6,49)	5,59 (4,84-6,44)	5,13 [#] (4,42-5,96)	4,89 ^{##} (4,20-5,70)	5,19 [#] (4,48-6,02)	5,49 [#] (4,75-6,33)	5,32 ^{###} (5,01-5,64)		
	M+Ž	5,85 (5,30-6,45)	5,69 (5,15-6,29)	5,77 (5,22-6,37)	5,57 (5,03-6,16)	5,85 (5,30-6,46)	6,04 (5,48-6,66)		5,82 (5,50-6,16)	5,76 (5,44-6,10)

Vrijednosti u istom stupcu i susjednom retku (uzorci muških i ženskih osoba iste skupine uzoraka) označene # statistički se značajno razlikuju [#] p<0,01; ^{##} p<0,001; ^{###} p<0,0001

Tablica 6. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) pokazatelja leukograma ljudi, oba spola, kontrolnih (neizloženih) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz)

		FREKVENCIJA ZRAČENJA								
		700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO		UKUPNO
BROJ LJUDI		30	30	30	30	30	30	180	90	90
SKUPINA	SPOL	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna+Pokus	Kontrolna	Pokusna
Ukupni leukociti (10 ⁹ /L)	M	6,82 (6,20-7,50)	6,85 (6,23-7,53)	6,45 (5,83-7,13)	6,31 (5,70-7,00)	6,28 (5,66-6,96)	6,22 (5,60-6,90)	6,48 (6,12-6,87)		
	Ž	6,99 (6,37-7,67)	7,13 (6,51-7,81)	6,77 (6,15-7,45)	6,78 (6,17-7,47)	7,06 (6,44-7,74)	7,10 (6,48-7,78)	6,97 (6,61-7,35)		
	M+Ž	6,91 (6,46-7,38)	6,99 (6,54-7,46)	6,61 (6,16-7,08)	6,54 (6,10-7,02)	6,66 (6,21-7,13)	6,64 (6,20-7,12)		6,72 (6,46-6,99)	6,72 (6,46-6,99)
Neutrofili (10 ⁹ /L)	M	3,94 (3,43-4,63)	3,98 (3,47-4,67)	3,57 (3,07-4,27)	3,55 (3,04-4,25)	3,51 (3,00-4,21)	3,45 [#] (2,95-4,16)	3,66 [#] (3,43-4,03)		
	Ž	4,11 (3,60-4,80)	4,18 (3,67-4,86)	4,16 (3,64-4,84)	4,22 (3,71-4,90)	4,31 (3,79-4,99)	4,33 [#] (3,81-5,01)	4,22 [#] (3,90-4,58)		
	M+Ž	4,03 (3,65-4,49)	4,08 (3,70-4,54)	3,84 (3,46-4,32)	3,85 (3,47-4,33)	3,87 (3,48-4,35)	3,84 (3,45-4,32)		3,91 (3,68-4,17)	3,92 (3,69-4,18)
Bazofili (10 ⁹ /L)	M	0,031 (0,024-0,038)	0,031 (0,024-0,038)	0,031 [#] (0,024-0,039)	0,035 [#] (0,029-0,043)	0,035 (0,028-0,042)	0,035 (0,028-0,042)	0,033 ^{###} (0,030-0,036)		
	Ž	0,023 (0,016-0,030)	0,027 (0,020-0,034)	0,021 [#] (0,014-0,028)	0,023 [#] (0,016-0,031)	0,027 (0,020-0,034)	0,027 (0,021-0,035)	0,024 ^{###} (0,022-0,027)		
	M+Ž	0,027 (0,022-0,032)	0,029 (0,024-0,034)	0,026 (0,021-0,031)	0,029 (0,024-0,034)	0,031 (0,026-0,036)	0,031 (0,026-0,036)		0,028 (0,025-0,031)	0,029 (0,027-0,032)
Eozinofili (10 ⁹ /L)	M	0,22 (0,16-0,29)	0,22 (0,16-0,29)	0,19 (0,14-0,27)	0,19 (0,14-0,27)	0,21 (0,15-0,28)	0,20 (0,15-0,28)	0,21 ^{##} (0,17-0,24)		
	Ž	0,13 (0,08-0,21)	0,13 (0,08-0,21)	0,10 (0,06-0,19)	0,11 (0,07-0,20)	0,11 (0,07-0,20)	0,11 (0,06-0,19)	0,12 ^{##} (0,08-0,16)		
	M+Ž	0,17 (0,13-0,22)	0,17 (0,13-0,23)	0,14 (0,10-0,20)	0,15 (0,11-0,21)	0,15 (0,11-0,21)	0,15 (0,10-0,20)		0,15 (0,13-0,19)	0,15 (0,13-0,19)
Limfociti (10 ⁹ /L)	M	2,22 (1,95-2,49)	2,22 (1,94-2,49)	2,19 (1,91-2,46)	2,15 (1,87-2,42)	2,10 (1,83-2,38)	2,10 (1,83-2,37)	2,16 (2,01-2,32)		
	Ž	2,33 (2,06-2,31)	2,39 (2,12-2,67)	1,95* (1,67-2,22)	2,10* (1,83-2,37)	2,24 (1,97-2,52)	2,25 (1,97-2,52)	2,21 (2,06-2,36)		
	M+Ž	2,27 (2,08-2,47)	2,31 (2,11-2,50)	2,07 (1,87-2,26)	2,12 (1,93-2,32)	2,17 (1,98-2,37)	2,18 (1,98-2,37)		2,17 (2,06-2,28)	2,20 (2,09-2,31)
Monociti (10 ⁹ /L)	M	0,41 (0,35-0,49)	0,39 (0,33-0,48)	0,41 (0,35-0,49)	0,39 (0,33-0,48)	0,43 (0,36-0,51)	0,43 (0,37-0,51)	0,41 (0,37-0,45)		
	Ž	0,39 (0,33-0,48)	0,39 (0,33-0,48)	0,34 (0,28-0,43)	0,33 (0,27-0,42)	0,37 (0,31-0,45)	0,39 (0,33-0,48)	0,37 (0,33-0,41)		
	M+Ž	0,40 (0,35-0,46)	0,39 (0,35-0,45)	0,37 (0,33-0,43)	0,36 (0,31-0,42)	0,39 (0,35-0,45)	0,41 (0,36-0,47)		0,39 (0,36-0,42)	0,38 (0,36-0,42)

Vrijednosti u istom retku i susjednom stupcu (kontrolne i pokusne skupine uzoraka) označene * statistički se značajno razlikuju * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Vrijednosti u istom stupcu i susjednom retku (uzorci muških i ženskih osoba iste skupine uzoraka) označene # statistički se značajno razlikuju # p<0,01; ## p<0,001; ### p<0,0001

Tablica 7. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) pokazatelja eritrograma ljudi, oba spola, kontrolnih (neizloženih) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz)

		FREKVENCIJA ZRAČENJA								
		700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO	UKUPNO	
BROJ LJUDI		30	30	30	30	30	30	180	90	90
SKUPINA	SPOL	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna+Pokus	Kontrolna	Pokusna
Ukupni eritrociti (10 ¹² /L)	M	5,05 ^{###} (4,88-5,22)	5,06 ^{###} (4,89-5,23)	5,13 ^{###} (4,96-5,30)	5,11 ^{###} (4,93-5,28)	5,01 ^{###} (4,84-5,18)	5,04 ^{###} (4,87-5,21)	5,07 ^{###} (4,97-5,16)		
	Ž	4,54 ^{###} (4,37-4,71)	4,55 ^{###} (4,38-4,73)	4,48 ^{###} (4,31-4,65)	4,50 ^{###} (4,33-4,67)	4,48 ^{###} (4,31-4,65)	4,49 ^{###} (4,32-4,67)	4,51 ^{###} (4,41-4,61)		
	M+Ž	4,80 (4,67-4,92)	4,81 (4,68-4,93)	4,80 (4,68-4,92)	4,80 (4,68-4,92)	4,75 (4,63-4,87)	4,77 (4,65-4,89)		4,78 (4,71-4,85)	4,79 (4,72-4,86)
Retikulociti (10 ⁹ /L)	M	57,13 (48,03-67,96)	57,20 (48,10-68,03)	58,50 (48,40-70,70)	59,77 (50,01-71,43)	57,14 (47,75-68,38)	59,21 (49,79-70,42)	58,15 [#] (54,08-62,53)		
	Ž	48,47 (39,50-59,47)	47,80 (38,85-58,82)	53,58 (43,57-65,90)	54,25 (44,22-66,55)	43,47 (34,60-54,60)	46,47 (37,54-57,52)	48,86 [#] (44,83-53,24)		
	M+Ž	52,62 (46,02-60,18)	52,29 (45,68-59,86)	55,99 (48,66-64,42)	56,94 (49,72-65,21)	49,84 (43,10-57,62)	52,45 (45,72-60,18)		52,76 (48,66-57,19)	53,85 (49,78-58,25)
Retikulociti (%)	M	11,23 (9,43-13,31)	11,22 (9,43-13,31)	11,32 (9,32-13,68)	11,65 (9,70-13,94)	11,40 (9,53-13,58)	11,73 (9,84-13,93)	11,42 (10,62-12,28)		
	Ž	10,60 (8,86-12,64)	10,41 (8,64-12,44)	11,75 (9,72-14,14)	11,87 (9,82-14,27)	9,59 (7,93-11,55)	10,23 (8,52-12,25)	10,71 (9,94-11,54)		
	M+Ž	10,91 (9,63-12,34)	10,81 (9,54-12,23)	11,53 (10,07-13,17)	11,76 (10,31-13,38)	10,46 (9,18-11,89)	10,96 (9,65-12,41)		10,96 (10,17-11,80)	11,17 (10,38-12,01)
Hematokrit (L/L)	M	0,46 ^{###} (0,45-0,48)	0,46 ^{###} (0,45-0,48)	0,47 ^{###} (0,45-0,49)	0,47 ^{###} (0,45-0,48)	0,46 ^{###} (0,44-0,48)	0,47 ^{###} (0,45-0,48)	0,46 ^{###} (0,46-0,47)		
	Ž	0,42 ^{###} (0,40-0,44)	0,42 ^{###} (0,41-0,44)	0,41 ^{###} (0,40-0,43)	0,42 ^{###} (0,40-0,43)	0,42 ^{###} (0,40-0,43)	0,42 ^{###} (0,40-0,43)	0,42 ^{###} (0,41-0,42)		
	M+Ž	0,44 (0,43-0,45)	0,44 (0,43-0,45)	0,44 (0,43-0,45)	0,44 (0,43-0,45)	0,44 (0,43-0,45)	0,44 (0,43-0,45)		0,44 (0,43-0,45)	0,44 (0,44-0,45)
Hemoglobin (g/L)	M	152 ^{###} (147-157)	151 ^{###} (146-156)	153 ^{###} (148-158)	153 ^{###} (148-158)	151 ^{###} (146-156)	151 ^{###} (146-156)	152 ^{###} (149-155)		
	Ž	136 ^{###} (131-141)	136 ^{###} (131-141)	134 ^{###} (129-139)	134 ^{###} (129-139)	134 ^{###} (129-139)	135 ^{###} (130-140)	135 ^{###} (132-138)		
	M+Ž	144 (140-147)	144 (140-147)	143 (140-147)	144 (140-147)	142* (139-146)	143* (139-146)		143 (141-145)	143 (141-145)

Vrijednosti u istom retku i susjednom stupcu (kontrolne i pokusne skupine uzoraka) označene * statistički se značajno razlikuju * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Vrijednosti u istom stupcu i susjednom retku (uzorci muških i ženskih osoba iste skupine uzoraka) označene # statistički se značajno razlikuju # p<0,01; ## p<0,001; ### p<0,0001

Tablica 8. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) raspodjele eritrocita po volumenu i eritrocitnih konstanti u ljudi, oba spola, kontrolnih (neizloženih) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz)

BROJ LJUDI		FREKVENCIJA ZRAČENJA								
		700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO	UKUPNO	
		30	30	30	30	30	30	180	90	90
SKUPINA	SPOL	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna+Pokus	Kontrolna	Pokusna
MCV (fL)	M	91,72 (89,22-94,09)	91,81 (89,30-94,18)	91,61* (89,10-93,98)	89,69* (87,18-92,06)	92,23 (89,73-94,61)	92,24 (89,74-94,61)	91,56 (90,21-92,86)		
	Ž	92,80 (90,30-95,18)	92,79 (90,28-95,16)	92,74 (90,24-95,12)	92,82 (90,32-95,20)	93,35 (90,85-95,73)	93,34 (90,84-95,72)	92,97 (91,63-94,28)		
	M+Ž	92,26 (90,51-93,95)	92,30 (90,54-94,00)	92,18 (90,42-93,88)	91,28 (89,52-92,97)	92,80 (91,04-94,49)	92,80 (91,04-94,49)		92,41 (91,41-93,40)	92,13 (91,12-93,12)
MCH (pg)	M	30,02 (29,32-30,70)	29,95 (29,25-30,63)	29,81 (29,12-30,49)	29,97 (29,27-30,65)	30,02 (29,32-30,70)	29,97 (29,27-30,65)	29,96 (29,67-30,24)		
	Ž	29,91 (29,21-30,59)	29,87 (29,17-30,55)	29,95 (29,25-30,63)	29,88 (29,18-30,56)	29,99 (29,29-30,67)	30,00 (29,30-30,68)	29,93 (29,65-30,21)		
	M+Ž	29,96 (29,47-30,45)	29,91 (29,42-30,39)	29,88 (29,39-30,37)	29,92 (29,43-30,41)	30,00 (29,51-30,49)	29,98 (29,49-30,47)		29,95 (29,67-30,23)	29,94 (29,66-30,22)
MCHC (g/L)	M	327 [#] (324-330)	326 [#] (323-329)	325 (322-328)	327 [#] (324-330)	326 [#] (323-329)	325 (322-328)	326 ^{###} (325-327)		
	Ž	322 [#] (319-325)	322 [#] (319-325)	323 (320-326)	322 [#] (319-325)	321 [#] (318-324)	321 (319-324)	322 ^{###} (321-323)		
	M+Ž	325 (323-327)	324 (322-326)	324 (322-326)	325 (322-327)	324 (321-326)	323 (321-325)		324 (323-325)	324 (323-325)
RDW (%)	M	12,98 (12,69-13,28)	12,97 (12,68-13,26)	13,03 (12,74-13,33)	13,02 (12,73-13,32)	13,07 (12,78-13,36)	13,06 (12,77-13,36)	13,02 [#] (12,90-13,14)		
	Ž	13,21 (12,92-13,51)	13,18 (12,89-13,48)	13,22 (12,93-13,52)	13,25 (12,95-13,54)	13,19 (12,90-13,49)	13,21 (12,92-13,51)	13,21 [#] (13,09-13,33)		
	M+Ž	13,10 (12,89-13,31)	13,07 (12,89-13,28)	13,13 (12,92-13,34)	13,13 (12,93-13,34)	13,13 (12,92-13,34)	13,14 (12,93-13,35)		13,12 (13,00-13,24)	13,11 (12,99-13,23)

MCV (eng. *Mean Cell Volume*) - prosječni volumen eritrocita; MCH (eng. *Mean Cell Hemoglobin*) - prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu; MCHC (eng. *Mean Cell Hemoglobin Concentration*) – prosječna koncentracija hemoglobina u litri eritrocita; RDW (eng. *Red blood cell Distribution Width*) - raspodjela eritrocita po volumen

Vrijednosti u istom retku i susjednom stupcu (kontrolne i pokusne skupine uzoraka) označene * statistički se značajno razlikuju * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Vrijednosti u istom stupcu i susjednom retku (uzorci muških i ženskih osoba iste skupine uzoraka) označene # statistički se značajno razlikuju [#] p<0,01; ^{##} p<0,001; ^{###} p<0,0001

Tablica 9. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) pokazatelja trombograma u ljudi, oba spola, kontrolnih (neizloženih) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz)

BROJ LJUDI SKUPINA		FREKVENCIJA ZRAČENJA								
		700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO	UKUPNO	
		30	30	30	30	30	30	180	90	90
SPOL		Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna+Pokus	Kontrolna	Pokusna
Trombociti (10 ⁹ /L)	M	257 (226-288)	263 (232-294)	259 (228-290)	259 (227-290)	246 ^{##} (215-277)	250 ^{##} (219-281)	256 ^{###} (243-268)		
	Ž	298 (267-329)	304 (272-335)	296 (265-327)	294 (263-326)	308 ^{##} (277-339)	304 ^{##} (273-335)	301 ^{###} (288-313)		
	M+Ž	277 (255-299)	283 (261-305)	277 (255-291)	277 (255-298)	277 (255-299)	277 (255-299)		277 (265-290)	279 (266-292)
MPV (fL)	M	8,55 (8,00-9,23)	8,52 (7,97-9,19)	8,75 (8,26-9,35)	8,75 (8,26-9,35)	8,84 (8,34-9,44)	8,89 (8,40-9,49)	8,71 (8,41-9,06)		
	Ž	8,32 (7,75-9,03)	8,23 (7,66-8,94)	8,73 (8,23-9,32)	8,63 (8,14-9,23)	8,69 (8,19-9,28)*	8,52 (8,02-9,11)*	8,51 (8,20-8,86)		
	M+Ž	8,43 (8,03-8,91)	8,37 (7,96-8,84)	8,74 (8,38-9,15)	8,69 (8,33-9,10)	8,76 (8,40-9,17)	8,70 (8,34-9,11)		8,64 (8,42-8,88)	8,58 (8,36-8,83)
Aktivacija trombocita (%)	M	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,002)		
	Ž	0,001 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,003)	0,001 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,003)	0,001 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,002)		
	M+Ž	0,002 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,002)		0,002 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,002)

MPV (eng. *Mean Platelet Volume*) - prosječni volumen trombocita.

Vrijednosti u istom retku i susjednom stupcu (kontrolne i pokusne skupine uzoraka) označene * statistički se značajno razlikuju * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Vrijednosti u istom stupcu i susjednom retku (uzorci muških i ženskih osoba iste skupine uzoraka) označene # statistički se značajno razlikuju # p<0,01; ## p<0,001; ### p<0,0001

5.6. PRIKAZ PODATAKA MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA LJUDSKIH ERITROCITA PREMA SPOLU I FREKVENCIJI ZRAČENJA

U tablicama 10. i 11. prikazani su različiti morfometrijski pokazatelji veličine i oblika eritrocita ljudi izmjerenih pomoću SFORM računalnog programa na 180 krvnih razmaza dobiveni vađenjem krvi ispitanicima oba spola (90 ženskog spola i 90 muškog spola). Izmjereno je sveukupno 26068 eritrocita iz kontrolnih (neizloženih) i pokusnih (izloženih) razmaza. Eritrociti su izmereni u 90 kontrolnih uzoraka / razmaza (neizloženi) i 90 pokusnih uzoraka / razmaza (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenju; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz), a u tablici 6. su prikazane vrijednosti (srednja vrijednost i 95 % interval pouzdanosti) različitih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita, pojedinačno prema skupinama, spolu, različitim frekvencijama te skupno kontrolnih i pokusnih uzoraka ovisno o spolu i ukupno svih kontrolnih i pokusnih uzoraka neovisno o frekvenciji zračenja i spolu.

Iz tablica 10. i 11. može se iščitati da su se ukupno svi kontrolni i pokusni uzorci (neovisno o frekvenciji zračenja i spolu) značajno razlikovali u srednjim vrijednostima u svim morfometrijskim pokazateljima veličine i oblika ljudskih eritrocita izuzev zaobljenosti, eliptičnosti i izduljenosti. Tako da su vrijednosti površine, opsega, minimalnog i maksimalnog polumjera, ispupčenosti, duljine, širine indeksa pravilnosti površine bile značajno veće ($p < 0,001$) u pokusnoj skupini uzoraka (neovisno o frekvenciji zračenja i spolu) u odnosu na kontrolne uzorke. Dok su vrijednosti indeksa ispunjenosti i faktora zaokruženosti oblika bile značajno manje ($p < 0,001$) u pokusnoj skupini uzoraka (neovisno o frekvenciji zračenja i spolu) u odnosu na kontrolne uzorke.

Nakon statističke analize dobivenih podataka utvrđeno je da su se srednje vrijednosti gotovo svih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita značajno razlikovale među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženim frekvencijom od 700 MHz neovisno o spolu. Tako da su vrijednosti površine, opsega, minimalnog i maksimalnog polumjera, ispupčenosti, duljine, širine i indeksa pravilnosti površine bile značajno veće ($p < 0,001$) u pokusnoj skupini uzoraka izloženih frekvenciji od 700 MHz neovisno o spolu u odnosu na kontrolne uzorke. Dok su vrijednosti indeksa ispunjenosti i faktora zaokruženosti oblika bile značajno manje ($p < 0,001$) u pokusnoj skupini uzoraka izloženih frekvenciji od 700 MHz neovisno o spolu u odnosu na kontrolne uzorke. Za sve prethodno navedene

pokazatelje značajne razlike među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 700 MHz neovisno o spolu imale su isti obrazac pojavljivanja u muškaraca i žena (zasebno analizirano prema spolu). No, te razlike između kontrolnih i pokusnih uzoraka u većini pokazatelja (površina, opseg, minimalni i maksimalni polumjer, ispupčenost, duljina, širina) u žena su imale veću statističku značajnost nego u muškaraca. Dok su razlike u indeksu pravilnosti površine, indeksu ispunjenosti i faktoru zaokruženosti oblika među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 700 MHz u žena bile sa manjom statističkom značajnošću u odnosu na muškarce.

Srednje vrijednosti pojedinih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita značajno su se razlikovale i među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 2500 MHz neovisno o spolu. Značajno veća vrijednost zabilježena je u pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 2500 MHz neovisno o spolu za opseg ljudskih eritrocita i indeksa pravilnosti površine na razini statističke značajnosti $p < 0,001$. Dok je značajno manja vrijednost zabilježena u pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 2500 MHz neovisno o spolu za indeks ispunjenosti ($p < 0,01$), zaobljenost eritrocita ($p < 0,01$) i faktoru zaokruženosti oblika ($p < 0,001$). Za indeks pravilnosti površine, indeks ispunjenosti i faktor zaokruženosti oblika utvrđene su značajne razlike među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženih frekvenciji od 2500 MHz neovisno o spolu. No, u žena su imale i isti obrazac pojavljivanja i istu razinu statističke značajnosti (zasebno analizirano prema spolu).

Srednje vrijednosti pojedinih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita značajno su se razlikovale i među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 3500 MHz neovisno o spolu. Značajno veća vrijednost zabilježena je u pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 3500 MHz neovisno o spolu za opseg ljudskih eritrocita i indeks pravilnosti površine na razini statističke značajnosti $p < 0,001$. Dok je značajno manja vrijednost zabilježena u pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 3500 MHz neovisno o spolu za indeks ispunjenosti i faktor zaokruženosti oblika ($p < 0,001$). Za sve prethodno navedene pokazatelje značajne razlike među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 3500 MHz neovisno o spolu, imale su i isti obrazac pojavljivanja i istu razinu statističke značajnosti u žena (zasebno analizirano prema spolu). Nadalje, u žena su još utvrđene značajno manje vrijednosti za eliptičnost ($p < 0,01$) i izduljenost eritrocita ($p < 0,05$) u pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 3500 MHz u odnosu na kontrolne

uzorke. Nakon statističke analize dobivenih podataka utvrđeno je da su se srednje vrijednosti svih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika eritrocita ljudi, izuzev eliptičnosti i izduljenosti, značajno razlikovale među spolovima. Značajno veća ($p < 0,001$) vrijednost površine, opsega, minimalnog i maksimalnog polumjera, ispupčenosti, duljine, širine i indeksa pravilnosti površine eritrocita zabilježena je u krvnim uzorcima žena u odnosu na krvne uzorke muškaraca neovisno o skupini uzoraka. Dok su značajno manje vrijednosti indeksa ispunjenosti ($p < 0,001$), faktora zaokruženosti oblika ($p < 0,001$) i zaobljenosti eritrocita ($p < 0,05$) bile u krvnim uzorcima žena u odnosu na krvne uzorke muškaraca neovisno o skupini uzoraka

Tablica 10. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) morfometrijskih pokazatelja veličine ljudskih eritrocita oba spola, kontrolnih (neizloženi) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz)

BROJ LJUDI		FREKVENCIJA ZRAČENJA									
		700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO		UKUPNO	
		30	30	30	30	30	30	180	90	90	
SKUPINA	SPOL	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna+Pokus	Kontrolna	Pokusna	
POKAZATELJI VELIČINE ERITROCITA	Površina (μm ²)	M	44,51#### (44,26-44,77)	45,16#### (44,91-45,41)	45,11 (44,85-45,38)	45,45 (45,19-45,71)	45,28#### (45,04-45,53)	45,68#### (45,43-45,93)	45,20#### (45,10-45,30)		
		Ž	45,53##### (45,27-45,79)	46,52##### (46,26-46,78)	45,59 (45,33-45,84)	45,79 (45,53-46,04)	47,96#### (47,70-48,20)	48,03#### (47,77-48,28)	46,57#### (46,46-46,67)		
		M+Ž	45,02*** (44,84-45,20)	45,84*** (45,66-46,02)	45,35 (45,17-45,53)	45,62 (45,43-45,80)	46,62 (46,44-46,79)	46,86 (46,68-47,03)		45,66*** (45,55-45,77)	46,10*** (46,00-46,21)
	Opseg (μm)	M	26,67##### (26,56-26,78)	27,16##### (27,05-27,27)	26,68## (26,57-26,80)	26,87#### (26,75-26,98)	27,03#### (26,92-27,14)	27,08#### (26,97-27,19)	26,91#### (26,87-26,96)		
		Ž	27,07##### (26,96-27,19)	27,55##### (27,43-27,66)	27,02## (26,91-27,13)	27,28#### (27,16-27,39)	28,05##### (27,94-28,16)	28,52##### (28,41-28,63)	27,58#### (27,54-27,63)		
		M+Ž	26,87*** (26,79-26,95)	27,35*** (27,27-27,43)	26,85** (26,77-26,93)	27,07** (26,99-27,15)	27,54*** (27,46-27,62)	27,80*** (27,72-27,88)		27,09*** (27,04-27,13)	27,41*** (27,36-27,45)
	Minimalni poluprijem (μm)	M	3,43##### (3,42-3,44)	3,46##### (3,45-3,47)	3,47 (3,46-3,49)	3,48 (3,46-3,49)	3,47#### (3,46-3,48)	3,48#### (3,47-3,49)	3,47#### (3,46-3,47)		
		Ž	3,48##### (3,47-3,49)	3,52##### (3,51-3,53)	3,48 (3,47-3,49)	3,47 (3,46-3,48)	3,56#### (3,55-3,57)	3,58#### (3,56-3,59)	3,51#### (3,51-3,52)		
		M+Ž	3,45*** (3,45-3,46)	3,49*** (3,48-3,50)	3,48 (3,47-3,48)	3,47 (3,47-3,48)	3,52 (3,51-3,52)	3,53 (3,52-3,54)		3,48*** (3,48-3,49)	3,50*** (3,49-3,50)
	Maksimalni poluprijem (μm)	M	4,04#### (4,03-4,05)	4,07#### (4,06-4,08)	4,05# (4,03-4,06)	4,07# (4,06-4,09)	4,07#### (4,06-4,09)	4,09#### (4,08-4,11)	4,07#### (4,06-4,7)		
		Ž	4,08##### (4,06-4,09)	4,13##### (4,11-4,14)	4,09# (4,07-4,10)	4,11# (4,10-4,12)	4,20#### (4,19-4,21)	4,19#### (4,18-4,20)	4,13#### (4,13-4,14)		
		M+Ž	4,06*** (4,05-4,07)	4,10*** (4,09-4,11)	4,07** (4,06-4,08)	4,09** (4,08-4,10)	4,14 (4,13-4,15)	4,14 (4,13-4,15)		4,09*** (4,08-4,09)	4,11*** (4,10-4,12)
	Ispupčenost (μm ²)	M	44,99#### (44,73-45,25)	45,68#### (45,42-45,94)	45,57 (45,30-45,83)	45,91 (45,65-46,18)	45,78#### (45,53-46,03)	46,18#### (45,93-46,44)	45,68#### (45,58-45,79)		
		Ž	46,02##### (45,76-46,28)	47,05##### (46,78-47,31)	46,07 (45,81-46,33)	45,30 (46,04-46,52)	48,50#### (48,25-48,76)	48,64#### (48,38-48,90)	47,10#### (47,00-47,20)		
		M+Ž	45,50*** (45,32-45,69)	46,36*** (46,18-46,55)	45,82 (45,63-46,00)	46,11 (45,92-46,29)	47,14 (46,96-47,32)	47,41 (47,23-47,59)		46,15*** (46,05-46,26)	46,63*** (46,52-46,73)
	Duljina (μm)	M	7,93#### (7,90-7,95)	7,99#### (7,97-8,02)	7,96## (7,93-7,99)	8,00# (7,97-8,02)	8,00#### (7,99-8,03)	8,05#### (8,03-8,08)	7,99#### (7,98-8,00)		
		Ž	8,01##### (7,98-8,03)	8,10##### (8,07-8,13)	8,04# (8,01-8,06)	8,07# (8,04-8,09)	8,25#### (8,23-8,28)	8,23#### (8,20-8,26)	8,12#### (8,11-8,13)		
		M+Ž	7,97*** (7,95-7,99)	8,05*** (8,03-8,06)	7,99 (7,98-8,02)	8,03 (8,01-8,05)	8,13 (8,11-8,15)	8,14 (8,12-8,16)		8,03*** (8,02-8,04)	8,07*** (8,06-8,08)
	Širina (μm)	M	7,18##### (7,15-7,20)	7,24##### (7,22-7,25)	7,25 (7,22-7,27)	7,29 (7,24-7,29)	7,25#### (7,22-7,27)	7,26#### (7,24-7,28)	7,24#### (7,23-7,25)		
		Ž	7,27##### (7,25-7,30)	7,37##### (7,34-7,39)	7,25 (7,23-7,27)	7,26 (7,24-7,29)	7,44#### (7,42-7,47)	7,48#### (7,46-7,51)	7,35#### (7,34-7,36)		
		M+Ž	7,22*** (7,21-7,24)	7,30*** (7,29-7,32)	7,25 (7,23-7,26)	7,26 (7,25-7,28)	7,34 (7,33-7,36)	7,37 (7,36-7,39)		7,27*** (7,26-7,28)	7,31*** (7,30-7,32)

Vrijednosti u istom retku i susjednom stupcu (kontrolne i pokusne skupine uzoraka) označene * statistički se značajno razlikuju * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Vrijednosti u istom stupcu i susjednom retku (uzorci muških i ženskih osoba iste skupine uzoraka) označene # statistički se značajno razlikuju # p<0,01; ## p<0,001; ### p<0,0001

Tablica 11. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) morfometrijskih pokazatelja oblika ljudskih eritrocita oba spola, kontrolnih (neizloženi) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz)

		FREKVENCIJA ZRAČENJA									
		700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO	UKUPNO		
BROJ LJUDI		30	30	30	30	30	30	180	90	90	
SKUPINA	SPOL	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna+Pokus	Kontrolna	Pokusna	
POKAZATELJI OBLIKA ERITROCITA	IPP	M	4,00*** (3,99-4,01)	4,05*** (4,04-4,06)	3,98## (3,97-3,99)	3,99### (3,98-4,00)	4,02### (4,01-4,03)	4,01### (4,00-4,02)	4,01### (4,00-4,01)		
		Ž	4,02* (4,01-4,03)	4,04* (4,03-4,05)	4,01#### (4,00-4,02)	4,04#### (4,03-4,05)	4,06#### (4,05-4,06)	4,12#### (4,11-4,13)	4,05### (4,04-4,05)		
		M+Ž	4,01*** (4,00-4,02)	4,04*** (4,04-4,05)	3,99*** (3,96-4,00)	4,01*** (4,01-,02)	4,04*** (4,03-4,04)	4,07*** (4,06-407)		4,01*** (4,01-4,02)	4,04*** (4,04-4,04)
	Indeks ispunjenosti	M	0,9895*** (0,9893-0,9897)	0,9887##### (0,9885-0,9889)	0,9901 (0,9899-0,9903)	0,9899### (0,9897-0,9901)	0,9893## (0,9891-0,9895)	0,9893### (0,9891-0,9895)	0,9895### (0,9894-0,9896)		
		Ž	0,9894* (0,9892-0,9896)	0,9889#### (0,9887-0,9891)	0,9896** (0,9894-0,9898)	0,9890#### (0,9888-0,9892)	0,9887#### (0,9885-0,9889)	0,9875#### (0,9873-0,9877)	0,9889### (0,9888-0,9889)		
		M+Ž	0,9894*** (0,9893-0,9896)	0,9888*** (0,9887-0,9889)	0,9899** (0,9897-0,9900)	0,9895** (0,9893-0,9896)	0,9890*** (0,9889-0,9891)	0,9884*** (0,9883-0,9885)		0,9894*** (0,9894-0,9895)	0,9889*** (0,9889-0,9890)
	Zaobljenost	M	0,868 (0,866-0,871)	0,867 (0,864-0,869)	0,875# (0,872-0,878)	0,871## (0,869-0,874)	0,868 (0,865-0,870)	0,867 (0,864-0,869)	0,869# (0,868-0,871)		
		Ž	0,871 (0,869-0,874)	0,870 (0,867-0,872)	0,868# (0,866-0,871)	0,863## (0,861-0,866)	0,864 (0,862-0,867)	0,870 (0,867-0,872)	0,868# (0,867-0,869)		
		M+Ž	0,870 (0,868-0,871)	0,868 (0,866-0,870)	0,872** (0,870-0,873)	0,867** (0,865-0,869)	0,866 (0,864-0,868)	0,868 (0,867-0,870)		0,869 (0,868-0,870)	0,868 (0,867-0,869)
	Eliptičnost	M	1,11 (1,10-1,11)	1,10 (1,10-1,11)	1,10## (1,10-1,10)	1,10## (1,10-1,11)	1,11 (1,11-1,12)	1,11## (1,11-1,12)	1,11 (1,10-1,11)		
		Ž	1,10 (1,10-1,11)	1,10 (1,10-1,10)	1,11## (1,10-1,11)	1,11## (1,11-1,12)	1,11** (1,11-1,12)	1,10#### (1,10-1,11)	1,11 (1,11-1,11)		
		M+Ž	1,11 (1,10-1,11)	1,11 (1,10-1,11)	1,11 (1,11-1,11)	1,11 (1,11-1,11)	1,11 (1,11-1,11)	1,11 (1,11-1,11)		1,11 (1,11-1,11)	1,11 (1,11-1,11)
	Izduljenost	M	0,049 (0,048-0,051)	0,049 (0,047-0,050)	0,046## (0,045-0,048)	0,048## (0,046-0,049)	0,049 (0,048-0,050)	0,051## (0,050-0,053)	0,049 (0,049-0,050)		
		Ž	0,048 (0,046-0,049)	0,047 (0,045-0,048)	0,051## (0,050-0,053)	0,052## (0,050-0,053)	0,051* (0,050-0,052)	0,047### (0,045-0,048)	0,049 (0,049-0,050)		
		M+Ž	0,048 (0,047-0,049)	0,048 (0,047-0,0549)	0,049 (0,048-0,050)	0,050 (0,049-0,051)	0,050 (0,049-0,051)	0,049 (0,048-0,050)		0,049 (0,049-0,050)	0,049 (0,048-0,049)
	FZO	M	0,788#### (0,785-0,791)	0,773#### (0,770-0,776)	0,80## (0,79-0,80)	0,793### (0,790-0,796)	0,782### (0,780-0,785)	0,784### (0,782-0,787)	0,787### (0,786-0,788)		
		Ž	0,783#### (0,780-0,786)	0,775#### (0,772-0,778)	0,788#### (0,785-0,790)	0,778#### (0,775-0,781)	0,768#### (0,765-0,771)	0,750#### (0,747-0,752)	0,774### (0,773-0,775)		
		M+Ž	0,785*** (0,783-0,787)	0,774*** (0,772-0,776)	0,793*** (0,791-0,794)	0,785*** (0,783-0,787)	0,775*** (0,773-0,777)	0,767*** (0,765-0,769)		0,784*** (0,783-0,785)	0,775*** (0,774-0,777)

Eliptičnost = duljina /širina; izduljenost = (duljina – širina)/(duljina + širina); indeks ispunjenosti = površina/ispupčenost; zaobljenost = $(4 \times \text{površina}) / [\pi \times (\text{maksimalni polumjer})^2]$; faktor zaokruženosti oblika = $4\pi \times \text{površina} / \text{opseg}^2$; indeks pravilnosti površine = $\text{opseg} / \sqrt{\text{površina}}$; IPP – indeks pravilnosti površine; FZO – faktora zaokruženosti oblika.

Vrijednosti u istom retku i susjednom stupcu (kontrolne i pokusne skupine uzoraka) označene * statistički se značajno razlikuju * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Vrijednosti u istom stupcu i susjednom retku (uzorci muških i ženskih osoba iste skupine uzoraka) označene # statistički se značajno razlikuju # p<0,01; ## p<0,001; ### p<0,0001

5.7. PRIKAZ PODATAKA HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U SVINJA PREMA FREKVENCiji ZRAČENJA

U tablicama 12. i 13. prikazani su hematološki pokazatelji svinja, dobiveni pomoću hematološkog brojača Abacus Junior Vet hematology analyzer, a diferencijalna krvna slika manualnom metodom na sveukupno, ženskog spola, kontrolnih (neizloženih) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenju; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz) te ukupno svih kontrolnih i pokusnih uzoraka neovisno o frekvenciji zračenja.

Iz tablica 12. i 13. može se iščitati da su se pokusni i kontrolni uzorci značajno razlikovali u srednjim vrijednostima samo u četiri hematološka pokazatelja, i to: udio je neutrofila bio značajno veći ($p < 0,05$) u pokusnoj skupini uzoraka (svi pokusni uzorci neovisno o frekvenciji zračenja), broj neutrofila bio je značajno manji ($p < 0,01$) u pokusnoj skupini uzoraka ozračenog sa 3500 MHz, broj eritrocita bio je značajno manji ($p < 0,01$) u pokusnoj skupini uzoraka ozračenog sa 3500 MHz, a MCV je bio značajno veći ($p < 0,05$) u pokusnoj skupini uzoraka izloženih 3500 MHz u odnosu na kontrolnu skupinu.

Tablica 12. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) pokazatelja diferencijalne krvne slike i leukograma u svinja ženskog spola, kontrolnih (neizloženi) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi sa 5G elektromagnetskim zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz) te ukupno svih kontrolnih i pokusnih uzoraka bez obzira na frekvenciju zračenja.

BROJ KRMAČA	FREKVENCIJA ZRAČENJA							
	700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO	
	16	16	16	16	16	16	48	48
SKUPINA	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna
Neutrofili (%)	43,75 (38,60-49,04)	43,50 (38,35-48,49)	45,31 (40,12-50,60)	45,75 (40,55-51,04)	48,75 (43,50-54,03)	42,38 (37,26-47,66)	45,93 (42,91-48,95)	43,87 (40,87-46,92)
Nezreli neutrofili (%)	1,81 (1,11-2,94)	3,06 (2,11-4,43)	1,25 (0,69-2,24)	1,69 (1,02-2,79)	1,94 (1,21-3,09)	3,35 (2,26-4,65)	1,64* (1,22-2,21)	2,56* (2,01-3,26)
Bazofili (%)	1,69 (0,97-2,92)	1,31 (0,70-2,45)	0,75 (0,33-1,71)	1,19 (0,61-2,29)	1,06 (0,53-2,12)	1,75 (1,02-2,99)	1,10 (0,74-1,65)	1,40 (0,98-1,99)
Eozinofili (%)	5,19 (3,90-6,87)	3,94 (2,84-5,44)	4,50 (3,31-6,09)	4,31 (3,15-5,87)	3,31 (2,31-4,72)	4,00 (2,89-5,52)	4,26 (3,55-5,11)	4,08 (3,39-4,91)
Limfociti (%)	43,75 (38,25-49,41)	44,56 (39,04-50,23)	42,81 (37,33-48,47)	42,19 (36,73-47,85)	40,25 (34,85-45,89)	41,50 (36,06-47,15)	42,26 (39,08-45,52)	42,75 (39,55-46,00)
Monociti (%)	3,69 (2,78-4,88)	3,94 (2,99-5,16)	5,13 (4,04-6,49)	4,81 (3,76-6,14)	5,19 (4,09-6,56)	6,13 (4,93-7,59)	4,61 (3,99-5,34)	4,88 (4,23-5,62)
Ukupni leukociti (10⁹/L)	17,33 (15,25-19,69)	17,32 (15,25-19,68)	17,33 (15,26-19,69)	17,15 (15,08-19,51)	17,83 (15,76-20,18)	17,15 (15,08-19,51)	17,49 (16,26-18,82)	17,21 (15,98-18,53)
Neutrofili (10⁹/L)	7,38 (6,41-8,51)	7,25 (6,27-8,37)	7,73 (6,75-8,85)	7,69 (6,71-8,81)	8,49** (7,51-9,60)	7,21** (6,23-8,33)	7,85 (7,27-8,48)	7,38 (6,80-8,01)
Bazofili (10⁹/L)	0,31 (0,15-0,48)	0,25 (0,08-0,41)	0,15 (0,01-0,32)	0,24 (0,07-0,40)	0,19 (0,03-0,35)	0,31 (0,15-0,47)	0,22 (0,12-0,31)	0,26 (0,17-0,36)
Eozinofili (10⁹/L)	0,88 (0,65-1,11)	0,65 (0,42-0,89)	0,73 (0,50-0,97)	0,72 (0,48-0,95)	0,61 (0,38-0,84)	0,66 (0,42-0,89)	0,74 (0,61-0,88)	0,67 (0,54-0,81)
Limfociti (10⁹/L)	7,84 (6,33-9,70)	8,05 (6,54-9,91)	7,56 (6,06-9,43)	7,42 (5,93-9,30)	7,35 (5,86-9,23)	7,20 (5,71-9,08)	7,58 (6,67-8,61)	7,55 (6,64-8,58)
Monociti (10⁹/L)	0,61 (0,41-0,84)	0,65 (0,45-0,88)	0,89 (0,69-1,12)	0,80 (0,60-1,03)	0,92 (0,72-1,15)	1,05 (0,85-1,28)	0,80 (0,68-0,93)	0,83 (0,71-0,96)

Vrijednosti u istom retku i susjednom stupcu (kontrolne i pokusne skupine uzoraka) označene * statistički se značajno razlikuju * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Tablica 13. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) pokazatelja eritograma i leukograma svinja ženskog spola, kontrolnih (neizloženi) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi sa 5G elektromagnetskim zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz) te ukupno svih kontrolnih i pokusnih uzoraka bez obzira na frekvenciju zračenja.

BROJ KRMAČA	FREKVENCIJA ZRAČENJA							
	700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO	
	16	16	16	16	16	16	48	48
SKUPINA	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna
Ukupni eritrociti ($10^{12}/L$)	6,81 (6,33-7,32)	6,76 (6,28-7,27)	6,74 (6,26-7,25)	6,80 (6,33-7,31)	7,02* (6,54-7,53)	6,77* (6,29-7,28)	6,85 (6,58-7,14)	6,78 (6,50-7,07)
Hemoglobin (g/L)	128 (123-135)	127 (122-134)	126 (120-133)	127 (122-134)	126 (130-133)	127 (121-133)	127 (123-130)	127 (124-131)
Hematokrit (L/L)	0,48 (0,46-0,50)	0,48 (0,45-0,50)	0,49 (0,46-0,51)	0,49 (0,46-0,51)	0,51 (0,49-0,53)	0,49 (0,47-0,52)	0,49 (0,48-0,51)	0,49 (0,47-0,50)
MCV (fL)	71,03 (68,32-73,74)	71,22 (68,51-73,93)	72,70 (69,99-75,41)	72,31 (69,60-75,02)	72,47* (69,76-75,18)	73,66* (7,95-76,37)	72,07 (70,50-73,63)	72,40 (70,83-73,96)
MCH (pg)	19,24 (18,61-19,84)	19,20 (18,57-19,80)	19,07 (18,44-19,67)	19,05 (18,42-19,64)	19,08 (18,45-19,67)	19,00 (18,37-19,60)	19,13 (18,77-19,48)	19,09 (18,72-19,43)
MCHC (g/L)	267 (263-272)	264 (259-269)	259 (254-264)	262 (257-266)	257 (252-261)	256 (252-261)	261 (258-264)	261 (258-263)
RDW (%)	18,52 (17,88-19,18)	18,47 (17,83-19,12)	18,69 (18,05-19,35)	18,62 (17,98-19,27)	18,86 (18,21-19,52)	18,90 (18,26-19,56)	18,69 (18,32-19,07)	18,66 (18,27-19,04)
Trombociti ($10^9/L$)	250 (191-327)	255 (196-332)	249 (190-326)	253 (194-330)	273 (213-349)	284 (224-360)	257 (221-299)	264 (227-306)
PCT (%)	0,003 (0,002-0,003)	0,003 (0,002-0,003)	0,003 (0,002-0,003)	0,003 (0,002-0,003)	0,003 (0,002-0,003)	0,003 (0,002-0,004)	0,003 (0,002-0,003)	0,003 (0,002-0,003)
MPV (fL)	10,25 (9,68-10,81)	10,50 (9,93-11,07)	10,52 (9,95-11,09)	10,42 (9,85-10,99)	10,08 (9,51-10,65)	10,24 (9,67-10,81)	10,28 (9,95-10,61)	10,38 (10,06-10,71)
PDW (%)	43,93 (42,87-45,00)	43,61 (42,55-44,68)	44,03 (42,96-45,09)	43,85 (42,79-44,92)	42,37 (41,31-43,43)	43,07 (42,01-44,14)	43,44 (42,83-44,05)	43,51 (42,90-44,13)

MCV (eng. *Mean Cell Volume*) - prosječni volumen eritrocita; MCH (eng. *Mean Cell Hemoglobin*) - prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu; MCHC (eng. *Mean Cell Hemoglobin Concentration*) – prosječna koncentracija hemoglobina u litri eritrocita; RDW (eng. *Red blood cell Distribution Width*) - raspodjela eritrocita po volumenu; PCT (engl. *Plateletcrit*) - volumni udio trombocita u jedinici pune krvi; MPV (eng. *Mean Platelet Volume*) - prosječni volumen trombocita u krvi; PDW (eng. *Platelet Distribution Width*) – raspodjela trombocita po volumenu.

Vrijednosti u istom retku i susjednom stupcu (kontrolne i pokusne skupine uzoraka) označene * statistički se značajno razlikuju * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

5.8. PRIKAZ PODATAKA MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA ERITROCITA SVINJA PREMA FREKVENCiji ZRAČENJA

U tablici 14. prikazani su morfometrijski pokazatelji veličine i oblika svinjskih eritrocita izmjerenih pomoću SFORM računalnog programa na 96 krvnih uzoraka / razmaza. Izmjereno je sveukupno 13482 eritrocita iz kontrolnih (neizloženih) i pokusnih (izloženih) krvnih uzoraka u 16 svinja ženskog spola. Eritrociti su izmereni u 48 kontrolnih uzoraka / razmaza (neizloženi) i 48 pokusnih uzoraka /razmaza (uzorci izloženi sa 5G elektromagnetskim zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz), a u Tablici 8. su prikazane vrijednosti (srednja vrijednost i 95 % interval pouzdanosti) različiti morfometrijski pokazatelji veličine i oblika svinjskih eritrocita, pojedinačno prema skupinama, različitim frekvencijama te ukupno svih kontrolnih i pokusnih uzoraka neovisno o frekvenciji zračenja.

Iz tablice 14. može se iščitati da su se ukupno svi kontrolni i pokusni uzorci (neovisno o frekvenciji zračenja) značajno razlikovali u srednjim vrijednostima u samo dva morfometrijska pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita i to u zaobljenosti i izduljenosti eritrocita. Tako da su vrijednosti zaobljenosti eritrocita bile značajno manje ($p<0,05$) u pokusnoj skupini uzoraka, a vrijednosti izduljenosti eritrocita bile značajno veće ($p<0,05$) u pokusnoj skupini uzoraka (neovisno o frekvenciji zračenja i spolu) u odnosu na kontrolne uzorke.

Nakon statističke analize dobivenih podataka ustvrđeno je da su se srednje vrijednosti pojedinih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita značajno razlikovale među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 700 MHz. Tako da su vrijednosti maksimalnog polumjera i izduljenosti eritrocita bile značajno veće ($p<0,05$) u pokusnoj skupini uzoraka izloženih frekvenciji od 700 MHz u odnosu na kontrolne uzorke. Dok su vrijednosti indeksa ispunjenosti, faktora zaokruženosti oblika i zaobljenosti eritrocita bile značajno manje ($p<0,001$) u pokusnoj skupini uzoraka izloženih frekvenciji od 700 MHz u odnosu na kontrolne uzorke. Srednje vrijednosti površine, opsega, maksimalnog polumjera, ispupčenosti, duljine i indeksa pravilnosti površine bile su veće u pokusnoj skupini uzoraka izloženih frekvenciji od 700 MHz u odnosu na kontrolne uzorke, ali te razlike nisu bile statistički značajne ($p>0,05$).

Srednje vrijednosti pojedinih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita značajno su se razlikovale i među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 3500 MHz. Značajno veća vrijednost zabilježena je u pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 3500 MHz za indeks ispunjenosti i faktora zaokruženosti oblika na razini statističke značajnosti $p < 0,001$. Dok je značajno manja vrijednost zabilježena u pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 3500 MHz opseg eritrocita i indeks pravilnosti površine ($p < 0,001$).

Srednje vrijednosti morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita nisu se značajno razlikovale među kontrolnim i pokusnim uzorcima izloženim frekvenciji od 2500 MHz.

Tablica 14. Srednje vrijednosti (95 % interval pouzdanosti) morfometrijski pokazatelji veličine i oblika svinjskih eritrocita ženskog spola, kontrolnih (neizloženi) i pokusnih uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz) te ukupno svih kontrolnih i pokusnih uzoraka bez obzira na frekvenciju zračenja.

BROJ KRMAČA SKUPINA		FREKVENCIJA ZRAČENJA							
		700 MHz		2500 MHz		3500 MHz		UKUPNO	
		16	16	16	16	16	16	48	48
		Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna	Kontrolna	Pokusna
Pokazatelji veličine eritrocita	Površina (μm^2)	33,44 (33,26-33,64)	33,62 (33,42-33,82)	33,87 (33,67-34,08)	33,83 (33,62-34,04)	33,84 (33,63-34,06)	33,61 (33,39-33,84)	33,72 (33,60-33,84)	33,69 (33,56-33,91)
	Opseg (μm)	23,16 (23,05-23,27)	23,36 (23,25-23,47)	24,23 (24,12-24,35)	24,30 (24,19-24,42)	24,45*** (24,34-24,57)	24,00*** (23,88-24,12)	23,95 (23,88-24,02)	23,89 (23,82-23,96)
	Minimalni polumjer (μm)	3,00 (2,99-3,01)	2,99 (2,98-3,00)	2,96 (2,95-2,97)	2,97 (2,96-2,98)	2,97 (2,96-2,98)	2,95 (2,93-2,96)	2,98 (2,97-2,98)	2,97 (2,96-2,97)
	Maksimalni polumjer (μm)	3,48* (3,46-3,49)	3,50* (3,49-3,52)	3,56 (3,55-3,57)	3,55 (3,54-3,57)	3,57 (3,55-3,58)	3,56 (3,54-3,57)	3,53 (3,53-3,54)	3,54 (3,53-3,55)
	Ispupčenost (μm^2)	33,83 (33,62-34,04)	34,05 (33,84-34,26)	34,40 (34,19-34,61)	34,37 (34,15-34,58)	34,43 (34,21-34,65)	34,14 (33,91-34,37)	34,22 (34,10-34,35)	34,18 (34,06-34,31)
	Duljina (μm)	6,82 (6,79-6,84)	6,86 (6,83-6,88)	6,96 (6,93-6,98)	6,94 (6,92-6,97)	6,94 (6,92-6,97)	6,93 (6,91-6,96)	6,90 (6,89-6,92)	6,91 (6,90-6,92)
	Širina (μm)	6,28 (6,26-6,30)	6,28 (6,26-6,30)	6,27 (6,24-6,29)	6,27 (6,25-6,29)	6,29 (6,27-6,31)	6,25 (6,23-6,27)	6,28 (6,26-6,29)	6,26 (6,25-6,28)
Pokazatelji oblika eritrocita	Indeks pravilnosti površine	4,01 (4,00-4,03)	4,04 (4,03-4,05)	4,17 (4,16-4,18)	4,18 (4,17-4,19)	4,21*** (4,20-4,22)	4,15*** (4,13-4,16)	4,13 (4,12-4,14)	4,12 (4,11-4,13)
	Indeks ispunjenosti	0,9884*** (0,9880-0,9887)	0,9875*** (0,9872-0,9878)	0,9848 (0,9845-0,9851)	0,9846 (0,9843-0,9850)	0,9831*** (0,9828-0,9835)	0,9848*** (0,9845-0,9852)	0,9854 (0,9852-0,9856)	0,9857 (0,9855-0,9858)
	Zaobljenost	0,878*** (0,875-0,880)	0,870*** (0,868-0,873)	0,850 (0,847-0,853)	0,853 (0,850-0,855)	0,847 (0,844-0,850)	0,844 (0,841-0,847)	0,858* (0,857-0,860)	0,856* (0,854-0,857)
	Eliptičnost	1,09 (1,08-1,09)	1,09 (1,09-1,10)	1,11 (1,11-1,12)	1,11 (1,11-1,11)	1,11 (1,11-1,11)	1,11 (1,11-1,12)	1,10 (1,10-1,11)	1,11 (1,10-1,11)
	Izduljenost	0,041* (0,039-0,042)	0,044* (0,042-0,045)	0,052 (0,050-0,053)	0,051 (0,049-0,052)	0,049 (0,048-0,051)	0,052 (0,050-0,053)	0,047* (0,046-0,048)	0,049* (0,048-0,050)
	Faktor zaokruženosti oblika	0,784*** (0,780-0,787)	0,775*** (0,771-0,778)	0,732 (0,729-0,735)	0,729 (0,725-0,732)	0,722*** (0,719-0,726)	0,740*** (0,736-0,743)	0,746 (0,744-0,748)	0,748 (0,746-0,750)

Eliptičnost = duljina / širina; izduljenost = (duljina – širina)/(duljina + širina); indeks ispunjenosti = površina/ispupčenost; zaobljenost = $(4 \times \text{površina}) / [\pi \times (\text{maksimalni polumjer})^2]$; faktor zaokruženosti oblika = $4\pi \times \text{površina} / \text{opseg}^2$; indeks pravilnosti površine = opseg/ $\sqrt{\text{površina}}$.

Vrijednosti u istom retku i susjednom stupcu (kontrolne i pokusne skupine uzoraka) označene * statistički se značajno razlikuju * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

5.9. SUBPOPULACIJE ERITOCITA NA OSNOVI MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA ERITROCITA LJUDI

Analizom glavnih komponenata prije grupiranja ljudskih eritrocita zadržane su 3 komponente s karakterističnom vrijednosti ($\lambda \geq 1$). Sve 3 komponente ukupno objašnjavaju 97 % varijance morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita (Tablica 15.).

Prvi činitelj predstavljala je veličina eritrocita (opseg, konveksnost, površina, duljina i širina), a najvažnija vrijednost za taj činitelj (čimbenik) bio je opseg eritrocita. Drugi i treći činitelj bili su usmjereni na oblik eritrocita (zaobljenost, faktor zaokruženosti oblika, indeks pravilnosti površine, izduljenost, eliptičnost i indeks ispunjenosti), a najvažnija vrijednost eritrocita za drugi činitelj bila je izduljenost ljudskih eritrocita, dok je najvažnija vrijednost za treći činitelj bio indeks ispunjenosti eritrocita. Iz tablice 15. od svake komponente/činitelja odabran je najvažniji pokazatelj (opseg, izduljenost i indeks ispunjenosti eritrocita). Konačan broj subpopulacija eritrocita dobiven je pomoću vrijednosti „izjednačenog box kriterija“. Ovom analizom je utvrđeno da su dvije subpopulacije najoptimalnije jer je vrijednost „izjednačenog box kriterija“ najveća (Slika 5.1.).

Analizom grupiranja (klaster analizom) dobivena su dva precizno definirana klastera ili subpopulacije eritrocita na temelju morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika eritrocita (Tablica 16.). Prvu subpopulaciju eritrocita (ES 1) činili su manji i okrugliji eritrociti, ispunjenijeg oblika i glađih (ravnijih) rubova (67,5 %), drugu subpopulaciju (ES 2) činili su veći eritrociti s naboranom (neravnom) površinom (32,5 %).

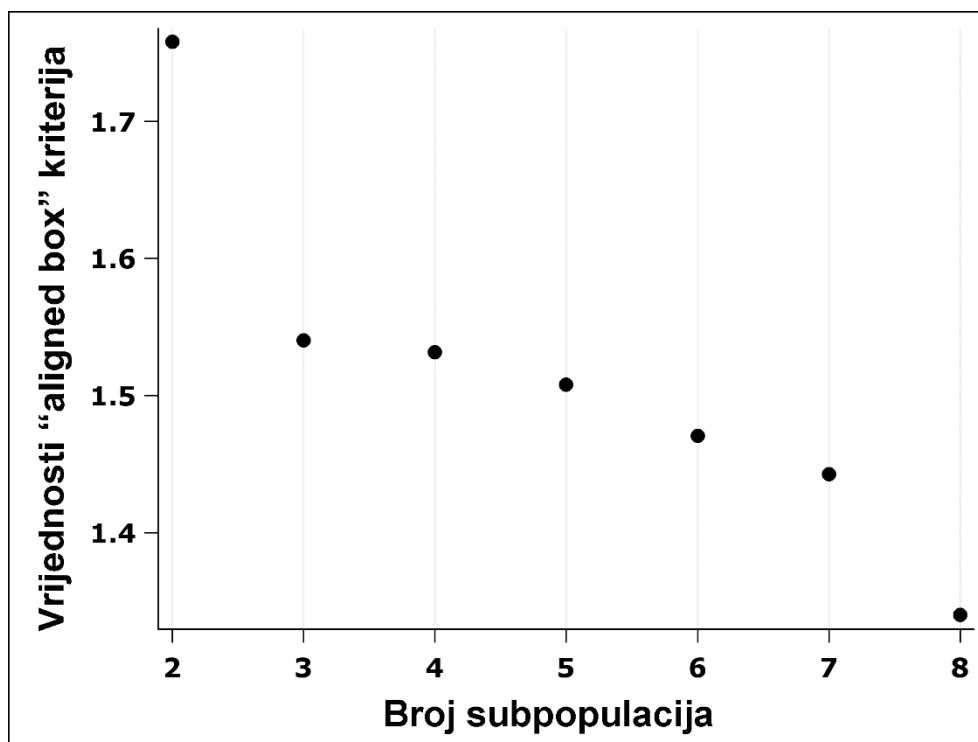
Na slici 2. je vidljivo da pokusna skupina ozračena sa 700 MHz ima veći udio eritrocita ES2 subpopulacije (31,5 % vs. 28,0 %), a manji udio ES1 subpopulacije (68,5 % vs. 72,0 %) u odnosu na kontrolnu skupinu, razlike u udjelu subpopulacija između skupina su statistički značajne ($P=0,0004$). Pokusna skupina ozračena sa 2500 MHz ima veći udio eritrocita ES2 subpopulacije (30,7 % vs. 28,7 %), a manji udio ES1 subpopulacije (69,3 % vs. 71,3 %) u odnosu na kontrolnu skupinu, razlike u udjelu subpopulacija između skupina su statistički značajne ($P=0,05$). Pokusna skupina ozračena sa 3500 MHz ima značajno veći ($P=0,0006$) udio eritrocita ES2 subpopulacije (39,6 % vs. 36,1 %) i značajno manji ($P=0,0006$) udio ES1 subpopulacije (60,4 % vs. 63,9 %) u odnosu na kontrolnu skupinu.

Tablica 15. Karakteristične vrijednosti (eigenvalues) morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita u analizi glavnih komponenata. Zadržane su tri komponente (faktor 1, 2, 3) s karakterističnim korijenom $\lambda \geq 1$ - Kaiserov kriterij.

MORFOMETRIJSKI POKAZATELJI VELIČINE I OBLIKA ERITROCITA	VELIČINA ERITROCITA	OBLIK ERITROCITA	
	FAKTOR 1	FAKTOR 2	FAKTOR 3
OPSEG (μm)	*0,97		
KONVEKSNOST (μm^2)	0,94		
POVRŠINA (μm^2)	0,2		
DULJINA (μm)	0,88		
ŠIRINA (μm)	0,80		
ZAOBLJENOST		0,91	
FAKTOR ZAOKRUŽENOSTI OBLIKA			0,70
INDEKS PRAVILNOSTI POVRŠINE			-0,74
IZDULJENOST		*-0,95	
ELIPTIČNOST		-0,94	
INDEKS ISPUNJENOSTI			*0,77
KARAKTERISTIČNI KORIJEN (λ) I OBJAŠNJENA VARIJANCA (%)	6,57 (50,6)	3,71 (28,6)	2,32 (17,8)
KUMULATIVNA VARIJANCA %	50,6	79,2	97,0

Elipičnost = duljina / širina; izduljenost = (duljina – širina)/(duljina + širina); indeks ispunjenosti = površina/ispupčenost; zaobljenost = $(4 \times \text{površina}) / [\pi \times (\text{maksimalni polumjer})^2]$; faktor zaokruživosti oblika = $4\pi \times \text{površina} / \text{opseg}^2$; indeks pravilnosti površine = $\text{opseg} / \sqrt{\text{površina}}$.

* Najvažnija vrijednost eritrocita za svaki faktor (za svaki faktor prikazane su vrijednosti veće od 0,60).



Slika 5.1. Odabir broja klastera ili subpopulacija ljudskih eritrocita pomoću vrijednosti „izjednačenog box kriterija“

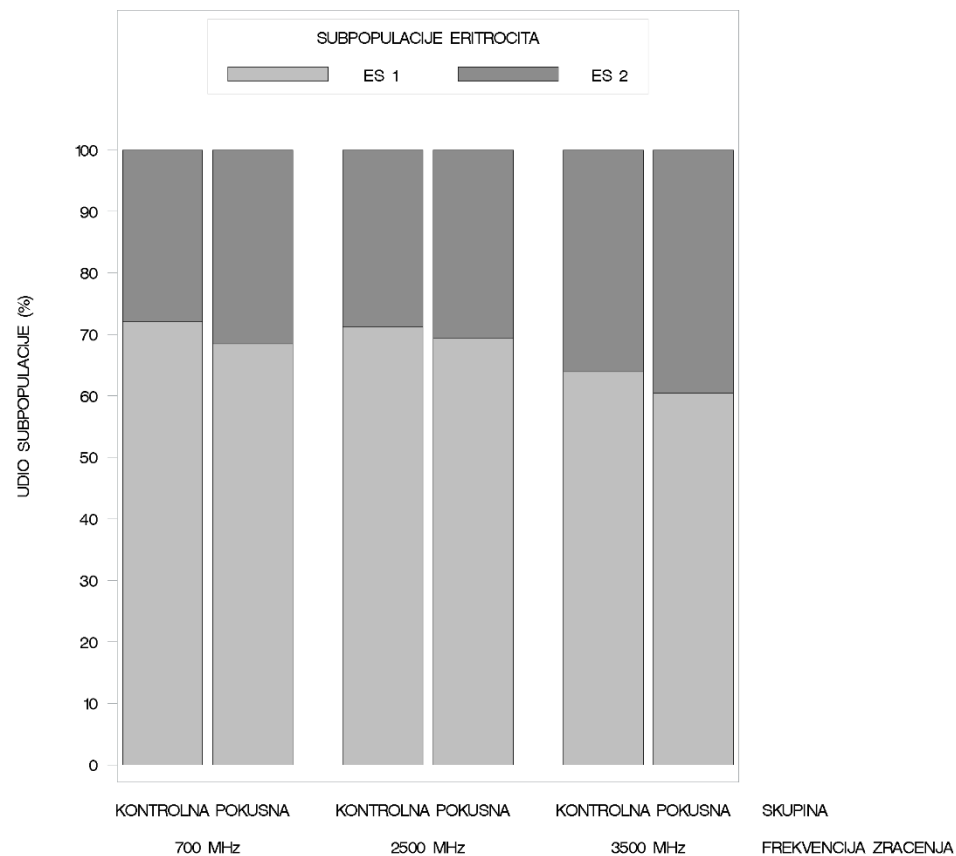
Tablica 16. Subpopulacije ljudskih eritrocita (ES 1 i ES 2) dobivene pomoću analize grupiranja morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika eritrocita (podaci su izraženi kao srednja vrijednost i standardna devijacija)

SUBPOPULACIJE ERITROCITA (KLUSTERI)	N (%)	VELIČINA ERITROCITA					
		Opseg (μm)	Ispupčenost (μm ²)	Površina (μm ²)	Duljina (μm)	Širina (μm)	
ES 1	17592 (67,5)	25,9±1,71	43,0±4,10	42,6±4,04	7,76±0,46	7,03±0,42	
ES 2	8476 (32,5)	29,9±2,53	53,4±3,63	52,7±3,55	8,66±0,41	7,83±0,37	
OBLIK ERITROCITA							
		Zaobljenost	Eliptičnost	Izduljenost	Indeks ispunjenosti	Faktor zaokruženosti oblika	Indeks pravilnosti površine
ES 1	17592 (67,5)	0,871±0,059	1,106±0,078	0,049±0,033	0,989±0,003	0,795±0,049	3,98±0,148
ES 2	8476 (32,5)	0,863±0,059	1,107±0,074	0,049±0,032	0,987±0,006	0,749±0,085	4,12±0,305

Eliptičnost = duljina /širina; izduljenost = (duljina – širina)/(duljina + širina); indeks ispunjenosti = površina/ispupčenost; zaobljenost = $(4 \times \text{površina}) / [\pi \times (\text{maksimalni polumjer})^2]$; faktor zaokruženosti oblika = $4\pi \times \text{površina} / \text{opseg}^2$; indeks pravilnosti površine = $\text{opseg} / \sqrt{\text{površina}}$

ES 1 - manji i okrugliji eritrociti, pravilnijih (glatkijih) rubova; ES 2 - veći eritrociti s nepravilnijim (naboranijim) rubovima

Frekvencija zračenja	Subpopulacije eritrocita	Skupina				Hi kvadrat	
		Kontrolna		Pokusna		Vrijednost	p
		%	N	%	N		
700 MHz	ES1	72,0	3111	68,5	2927	12,7	0,0004
	ES2	28,0	1209	31,5	1346		
	UKUPNO	100,0	4320	100,0	4273		
2500 MHz	ES1	71,3	3034	69,3	2912	3,7	0,05
	ES2	28,7	1224	30,7	1288		
	UKUPNO	100,0	4258	100,0	4200		
3500 MHz	ES1	63,9	2929	60,4	2679	11,7	0,0006
	ES2	36,1	1654	39,6	1755		
	UKUPNO	100,0	4583	100,0	4434		



Slika 5.2. Udio subpopulacija ljudskih eritrocita između kontrolne i pokusne skupine prema frekvenciji 5G elektromagnetskog zračenja (700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz)

5.10. SUBPOPULACIJE ERITOCITA NA OSNOVI MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA ERITROCITA SVINJA

Analizom glavnih komponenata prije grupiranja svinjskih eritrocita zadržane su 3 komponente (faktor 1, 2 i 3) s karakterističnom vrijednosti ($\lambda \geq 1$). Sve 3 komponente ukupno objašnjavaju 94,2 % varijance morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita (Tablica 17.).

Prvi činitelj predstavljala je veličina eritrocita (opseg, konveksnost, površina, duljina i širina), a najvažnija vrijednost za taj faktor bio je opseg eritrocita. Drugi i treći činitelj bili su usmjereni na oblik eritrocita (zaobljenost, faktor zaokruženosti oblika, indeks pravilnosti površine, izduljenost, eliptičnost i indeks ispunjenosti), a najvažnija vrijednost eritrocita za drugi činitelj bila je zaobljenost svinjskih eritrocita, dok je najvažnija vrijednost za treći faktor bio indeks pravilnosti površine eritrocita. Iz Tablica 17. od svake komponente/faktora odabran je najvažniji pokazatelj (opseg, zaobljenost i indeks pravilnosti površine eritrocita). Konačan broj subpopulacija eritrocita dobiven je pomoću vrijednosti „izjednačenog box kriterija“. Ovom analizom je utvrđeno da su dvije subpopulacije najoptimalnije jer je vrijednost „izjednačenog box kriterija“ najveća (Slika 5.3.).

Analizom grupiranja (klaster analizom) dobivena su dva precizno definirana klastera ili subpopulacije svinjskih eritrocita na temelju morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika eritrocita (Tablica 18.). Prvu subpopulaciju eritrocita (ES 1) činili su manji i okrugliji eritrociti, pravilnijih / glatkijih rubova (81,1 %), drugu subpopulaciju (ES 2) činili su veći eritrociti s nepravilnijim / naboranijim rubovima (18,9 %).

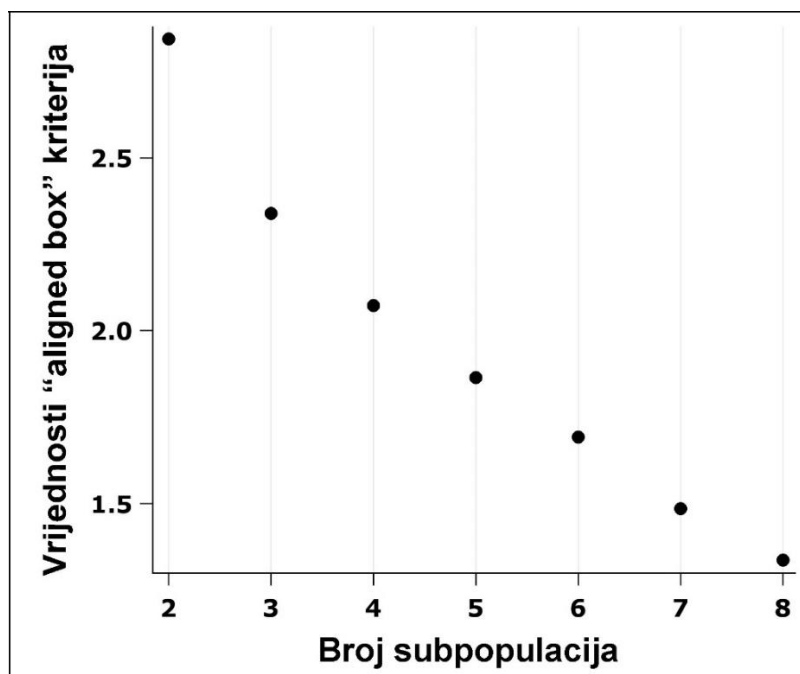
Na Slici 4. je vidljivo da pokusna skupina ozračena sa 700 MHz ima veći udio eritrocita ES2 subpopulacije (17,0 % vs. 15,9 %), a manji udio ES1 subpopulacije (83,0 vs. 84,1 %), no, razlike nisu statistički značajne ($P=0,30$). Udio subpopulacija ES1 i ES2 svinjskih eritrocita između kontrolne i pokusne skupine ozračena sa 2500 MHz gotovo je identičan (ES1 = 79,7 % vs. 79,6 %; ES2 = 20,3 % vs. 20,4 %). Pokusna skupina ozračena sa 3500 MHz ima veći udio eritrocita ES1 subpopulacije (80,5 % vs. 79,3 %), a manji udio ES2 subpopulacije (20,7 vs. 19,5 %), no, razlike nisu statistički značajne ($P=0,34$).

Tablica 17. Karakteristične vrijednosti (eigenvalues) morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita u analizi glavnih komponenata. Zadržane su tri komponente (faktor 1, 2, 3) s karakterističnim korijenom $\lambda \geq 1$ - Kaiserov kriterij.

MORFOMETRIJSKI POKAZATELJI VELIČINE I OBLIKA ERITROCITA	VELIČINA ERITROCITA	OBLIK ERITROCITA	
	FAKTOR 1	FAKTOR 2	FAKTOR 3
OPSEG (μm)	*0,95		
KONVEKSNOST (μm ²)	0,92		
POVRŠINA (μm ²)	0,90		
DULJINA (μm)	0,90		
ŠIRINA (μm)	0,79		
ZAOBLJENOST		*0,85	
FAKTOR ZAOKRUŽENOSTI OBLIKA			0,61
INDEKS PRAVILNOSTI POVRŠINE			*-0,64
IZDULJENOST		-0,84	
ELIPTIČNOST		-0,80	
INDEKS ISPUNJENOSTI			0,62
KARAKTERISTIČNI KORIJEN (λ) I OBJAŠNJENA VARIJANCA (%)	6,33 (48,7)	3,79 (29,1)	2,12 (16,4)
KUMULATIVNA VARIJANCA %	48,7	77,8	94,2

Eliptičnost = duljina / širina; izduljenost = (duljina – širina) / (duljina + širina); indeks ispunjenosti = površina / ispupčenost; zaobljenost = $(4 \times \text{površina}) / [\pi \times (\text{maksimalni polumjer})^2]$; faktor zaokruživosti oblika = $4\pi \times \text{površina} / \text{opseg}^2$; indeks pravilnosti površine = $\text{opseg} / \sqrt{\text{površina}}$.

* Najvažnija vrijednost eritrocita za svaki faktor (za svaki faktor prikazane su vrijednosti veće od 0,60).



Slika 5.3. Odabir broja klastera ili subpopulacija svinjskih eritrocita pomoću vrijednosti „izjednačenog box kriterija“ (engl. aligned box)

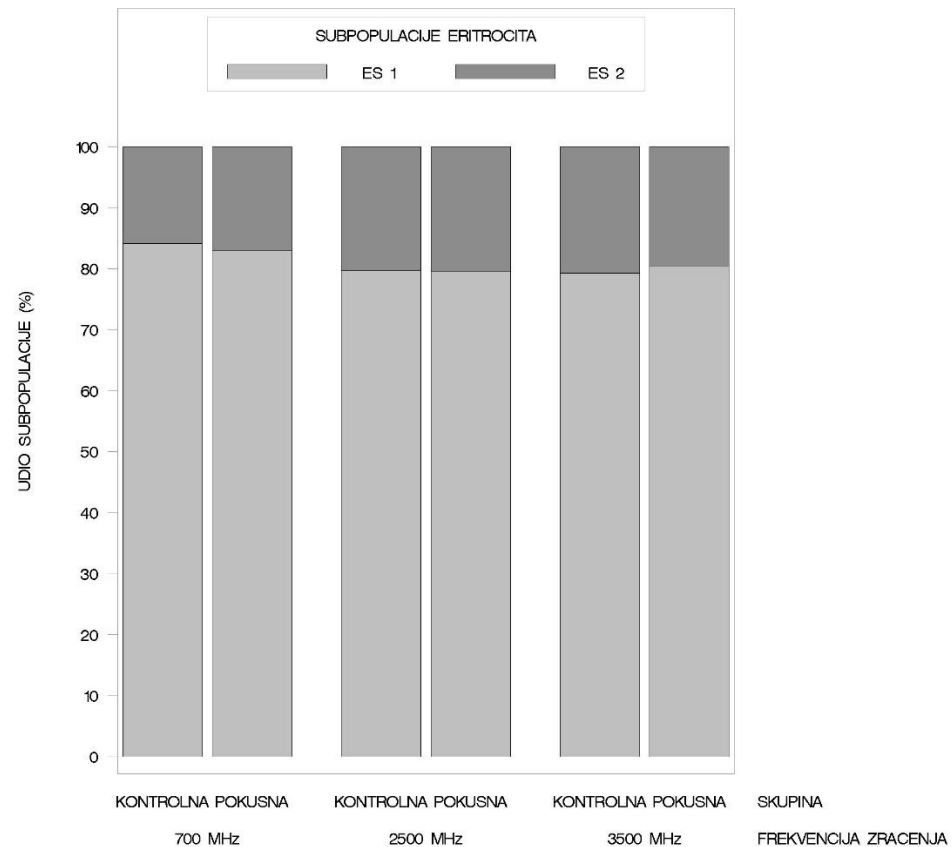
Tablica 18. Subpopulacije svinjskih eritrocita (ES 1 i ES 2) dobivene pomoću analize grupiranja morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika eritrocita (podaci su izraženi kao srednja vrijednost i standardna devijacija)

SUBPOPULACIJE ERITROCITA (KLASTERI)	VELIČINA ERITROCITA						
	N (%)	Opseg (μm)	Ispupčenost (μm²)	Površina (μm²)	Duljina (μm)	Širina (μm)	
ES 1	10826 (81,1)	23,0±1,93	32,3±3,62	31,9±3,57	6,72±0,45	6,10±0,41	
ES 2	2526 (18,9)	27,5±3,30	41,9±3,54	41,2±3,31	7,66±0,45	6,97±0,34	
		OBLIK ERITROCITA					
		Zaobljenost	Eliptičnost	Izduženost	Indeks ispunjenosti	Faktor zaokruženosti oblika	Indeks pravilnosti površine
ES 1	10826 (81,1)	0,859±0,066	1,105±0,102	0,048±0,035	0,986±0,006	0,758±0,070	4,08±0,233
ES 2	2526 (18,9)	0,852±0,068	1,101±0,082	0,046±0,034	0,982±0,012	0,702±0,114	4,28±0,484

Eliptičnost = duljina /širina; izduženost = (duljina – širina)/(duljina + širina); indeks ispunjenosti = površina/ispupčenost; zaobljenost = $(4 \times \text{površina}) / [\pi \times (\text{maksimalni polumjer})^2]$; faktor zaokruženosti oblika = $4\pi \times \text{površina} / \text{opseg}^2$; indeks pravilnosti površine = $\text{opseg} / \sqrt{\text{površina}}$.

ES 1 - manji i okrugliji eritrociti, pravilnijih/glatkijih rubova; ES 2 - veći eritrociti s nepravilnijim/naboranijim rubovima

Frekvencija zračenja	Subpopulacije eritrocita	Skupina				Hi kvadrat	
		Kontrolna		Pokusna		Vrijednost	p
		%	N	%	N		
700 MHz	ES1	84,1	1983	83,0	1981	1,05	0,30
	ES2	15,9	375	17,0	406		
	UKUPNO	100,0	2358	100,0	2387		
2500 MHz	ES1	79,7	1876	79,6	1793	0,01	0,90
	ES2	20,3	478	20,4	461		
	UKUPNO	100,0	2354	100,0	2254		
3500 MHz	ES1	79,3	1715	80,5	1478	0,90	0,34
	ES2	20,7	448	19,5	358		
	UKUPNO	100,0	2163	100,0	1836		



Slika 5.4. Udio subpopulacija svinjskih eritrocita između kontrolne i pokusne skupine prema frekvenciji 5G elektromagnetkog zračenja (700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz)

5.11. ODNOSI IZMEĐU MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA LJUDSKIH ERITROCITA

U tablicama 19. i 20. prikazani su korelacijski odnosi između morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita kod kontrolne (neizloženi uzorci) i pokusne skupine uzoraka (uzorci izloženi sa 5G elektromagnetskim zračenjem; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz).

Između pojedinih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita kod kontrolne skupine uzoraka utvrđeni su veliki i vrlo veliki korelacijski odnosi. Tako je koeficijent korelacije između površine ljudskih eritrocita i opsega iznosio $r = 0,93$; $p < 0,001$; između površine ljudskih eritrocita i minimalnog radijusa ($r = 0,83$; $p < 0,001$); između površine ljudskih eritrocita i maksimalnog radijusa ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između površine ljudskih eritrocita i ispučenosti ($r = 1,00$; $p < 0,001$); između površine ljudskih eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između površine ljudskih eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i minimalnog radijusa ($r = 0,73$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i maksimalnog radijusa ($r = 0,87$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i ispučenosti ($r = 0,94$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,86$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,82$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i indeksa pravilnosti površine ($r = 0,75$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i faktora zaobljenosti oblika ($r = -0,76$; $p < 0,001$); između minimalnog radijusa i ispučenosti eritrocita ($r = 0,83$; $p < 0,001$); između minimalnog radijusa i širina eritrocita ($r = 0,95$; $p < 0,001$); između maksimalnog radijusa i ispučenosti eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između maksimalnog radijusa i duljine eritrocita ($r = 0,99$; $p < 0,001$); između ispučenosti eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između ispučenosti eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između indeksa pravilnosti površine i indeksa ispunjenosti ($r = -0,89$; $p < 0,001$); između indeksa pravilnosti površine i faktora zaobljenosti oblika ($r = -1,00$; $p < 0,001$); između faktora zaobljenosti oblika i eliptičnosti eritrocita ($r = -0,88$; $p < 0,001$); između faktora zaobljenosti oblika i izduljenosti eritrocita ($r = -0,89$; $p < 0,001$); između eliptičnosti eritrocita i izduljenosti eritrocita ($r = 1,00$; $p < 0,001$) (Tablica 19.).

Između pojedinih morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita kod pokusne skupine uzoraka utvrđeni su veliki i vrlo veliki korelacijski odnosi. Tako je koeficijent korelacije između površine ljudskih eritrocita i opsega iznosio $r = 0,91$; $p < 0,001$;

između površine ljudskih eritrocita i minimalnog radijusa ($r = 0,83$; $p < 0,001$); između površine ljudskih eritrocita i maksimalnog radijusa ($r = 0,88$; $p < 0,001$); između površine ljudskih eritrocita i ispupčenosti ($r = 1,00$; $p < 0,001$); između površine ljudskih eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između površine ljudskih eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i minimalnog radijusa ($r = 0,71$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i maksimalnog radijusa ($r = 0,85$; $p < 0,001$); između opsega ljudskih eritrocita i ispupčenosti ($r = 0,92$; $p < 0,001$); između opseg ljudskih eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,84$; $p < 0,001$); između opseg ljudskih eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,80$; $p < 0,001$); između opseg ljudskih eritrocita i indeksa pravilnosti površine ($r = 0,79$; $p < 0,001$); između opseg ljudskih eritrocita i faktora zaobljenosti oblika ($r = -0,80$; $p < 0,001$); između minimalnog radijusa i ispupčenosti eritrocita ($r = 0,82$; $p < 0,001$); između minimalnog radijusa i širine eritrocita ($r = 0,95$; $p < 0,001$); između maksimalnog radijusa i ispupčenosti eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između maksimalnog radijusa i duljine eritrocita ($r = 0,98$; $p < 0,001$); između ispupčenosti eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između ispupčenosti eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između indeksa pravilnosti površine i indeksa ispunjenosti ($r = -0,91$; $p < 0,001$); između indeksa pravilnosti površine i faktora zaobljenosti oblika ($r = -1,00$; $p < 0,001$); između indeksa ispunjenosti i faktora zaobljenosti oblika ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između faktora zaobljenosti oblika i eliptičnosti eritrocita ($r = -0,87$; $p < 0,001$); između faktora zaobljenosti oblika i izduljenosti eritrocita ($r = -0,88$; $p < 0,001$); između eliptičnosti eritrocita i izduljenosti eritrocita ($r = 1,00$; $p < 0,001$) (Tablica 20.).

Tablica 19. Korelacijski odnosi između morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita kod kontrolne skupine uzoraka

MORFOMETRIJSKI POKAZATELJI VELIČINE I OBLIKA LJUDSKIH ERITROCITA

	POVRŠINA	OPSEG	MIN. RAD.	MAX. RAD.	ISPUP.	DULJ.	ŠIR.	IPP	II	ZAOB.	ELIPT.	IZDULJ.	FZO
POVRŠINA		0,93 <0,0001	0,83 <0,0001	0,89 <0,0001	1,00 <0,0001	0,90 <0,0001	0,89 <0,0001	0,37 <0,0001	-0,19 <0,0001	0,06 <0,0001	n.s.	n.s.	-0,37 <0,0001
OPSEG			0,73 <0,0001	0,87 <0,0001	0,94 <0,0001	0,86 <0,0001	0,82 <0,0001	0,75 <0,0001	-0,61 <0,0001	-0,16 <0,0001	0,005 <0,0001	0,05 <0,0001	-0,76 <0,0001
MIN. RAD.				0,54 <0,0001	0,83 <0,0001	0,56 <0,0001	0,95 <0,0001	0,19 <0,0001	-0,06 <0,0001	0,40 <0,0001	-0,42 <0,0001	-0,47 <0,0001	-0,19 <0,0001
MAX. RAD.					0,89 <0,0001	0,99 <0,0001	0,63 <0,0001	0,44 <0,0001	-0,28 <0,0001	-0,51 <0,0001	0,41 <0,0001	0,41 <0,0001	-0,44 <0,0001
ISPUP.						0,90 <0,0001	0,89 <0,0001	0,38 <0,0001	-0,22 <0,0001	-0,07 <0,0001	n.s.	n.s.	-0,38 <0,0001
DULJ.							0,63 <0,0001	0,42 <0,0001	-0,24 <0,0001	-0,46 <0,0001	0,43 <0,0001	0,43 <0,0001	-0,42 <0,0001
ŠIR.								0,28 <0,0001	-0,17 <0,0001	0,28 <0,0001	-0,43 <0,0001	-0,43 <0,0001	-0,28 <0,0001
IPP									-0,89 <0,0001	-0,28 <0,0001	0,15 <0,0001	0,15 <0,0001	-1,00 <0,0001
II										0,28 <0,0001	-0,11 <0,0001	-0,11 <0,0001	0,89 <0,0001
ZAOB.											-0,88 <0,0001	-0,89 <0,0001	0,28 <0,0001
ELIPT.												1,00 <0,0001	-0,15 <0,0001
IZDULJ.													-0,15 <0,0001
FZO													

MIN. RAD. – minimalni radijus; MAX. RAD. – maksimalni radijus; ISPUP.- ispupčenost;

DULJ. – duljina; ŠIR. – širina; IPP – indeks pravilnosti površine; II – indeks ispunjenosti;

ZAOB. –

zaobljenost; ELIPT. – eliptičnost;

IZDULJ. – izduljenost; FZO – faktor zaobljenosti oblika; n.s. – nije statistički značajno (engl. non significant) p>0,05.

Tablica 20. Korelacijski odnosi između morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika ljudskih eritrocita kod pokusne skupine uzoraka neovisno o frekvenciji zračenja

MORFOMETRIJSKI POKAZATELJI VELIČINE I OBLIKA LJUDSKIH ERITROCITA

	POVRŠINA	OPSEG	MIN. RAD.	MAX. RAD.	ISPUP.	DULJ.	ŠIR.	IPP	II	ZAOB.	ELIPT.	IZDULJ.	FZO
POVRŠINA		0,91 <0,0001	0,83 <0,0001	0,88 <0,0001	1,00 <0,0001	0,89 <0,0001	0,89 <0,0001	0,38 <0,0001	-0,020 <0,0001	-0,06 <0,0001	n.s.	n.s.	-0,38 <0,0001
OPSEG			0,71 <0,0001	0,85 <0,0001	0,92 <0,0001	0,84 <0,0001	0,80 <0,0001	0,79 <0,0001	-0,67 <0,0001	-0,15 <0,0001	0,04 <0,0001	0,04 <0,0001	-0,80 <0,0001
MIN. RAD.				0,52 <0,0001	0,82 <0,0001	0,53 <0,0001	0,95 <0,0001	0,21 <0,0001	-0,08 <0,0001	0,41 <0,0001	-0,49 <0,0001	-0,49 <0,0001	-0,21 <0,0001
MAX. RAD.					0,89 <0,0001	0,98 <0,0001	0,62 <0,0001	0,44 <0,0001	-0,29 <0,0001	-0,52 <0,0001	0,40 <0,0001	0,41 <0,0001	-0,44 <0,0001
ISPUP.						0,89 <0,0001	0,89 <0,0001	0,40 <0,0001	-0,24 <0,0001	-0,07 <0,0001	n.s.	n.s.	-0,40 <0,0001
DULJ.							0,62 <0,0001	0,42 <0,0001	-0,24 <0,0001	-0,46 <0,0001	0,43 <0,0001	0,43 <0,0001	-0,42 <0,0001
ŠIR.								0,31 <0,0001	-0,19 <0,0001	0,31 <0,0001	-0,45 <0,0001	-0,45 <0,0001	-0,31 <0,0001
IPP									-0,91 <0,0001	-0,24 <0,0001	0,11 <0,0001	0,11 <0,0001	-1,00 <0,0001
II										0,24 <0,0001	-0,07 <0,0001	-0,07 <0,0001	0,90 <0,0001
ZAOB.											-0,87 <0,0001	-0,88 <0,0001	0,24 <0,0001
ELIPT.												1,00 <0,0001	-0,11 <0,0001
IZDULJ.													-0,11 <0,0001
FZO													

MIN. RAD. – minimalni radijus; MAX. RAD. – maksimalni radijus; ISPUP.- ispupčenost;

DULJ. – duljina; ŠIR. – širina; IPP – indeks pravilnosti površine; II – indeks ispunjenosti;

ZAOB. –

zaobljenost; ELIPT. – eliptičnost;

IZDULJ. – izduljenost; FZO – faktor zaobljenosti oblika; n.s. – nije statistički značajno (engl. non significant) $p>0,05$.

5.12. ODNOSI IZMEĐU MORFOMETRIJSKIH POKAZATELJA VELIČINE I OBLIKA SVINJSKIH ERITROCITA

U tablicama 21. i 22. prikazani su korelacijski odnosi između morfoloških pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita kod kontrolne (neizloženi uzorak) i pokusne skupine uzoraka (uzorci izloženi 5G elektromagnetskom zračenju; frekvencije 700 MHz, 2500 MHz i 3500 MHz).

Između pojedinih morfoloških pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita kod kontrolne skupine uzoraka utvrđeni su veliki i vrlo veliki korelacijski odnosi. Tako je koeficijent korelacije između površine svinjskih eritrocita i opsega iznosio $r = 0,88$; $p < 0,001$; između površine svinjskih eritrocita i minimalnog radijusa ($r = 0,85$; $p < 0,001$); između površine svinjskih eritrocita i maksimalnog radijusa ($r = 0,87$; $p < 0,001$); između površine svinjskih eritrocita i ispupčenosti ($r = 1,00$; $p < 0,001$); između površine svinjskih eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između svinjskih ljudskih eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i maksimalnog radijusa ($r = 0,84$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i ispupčenosti ($r = 0,87$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,83$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,76$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i indeksa pravilnosti površine ($r = 0,78$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i faktora zaobljenosti oblika ($r = -0,77$; $p < 0,001$); između minimalnog radijusa i ispupčenosti eritrocita ($r = 0,84$; $p < 0,001$); između minimalnog radijusa i širine eritrocita ($r = 0,95$; $p < 0,001$); između maksimalnog radijusa i ispupčenosti eritrocita ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između maksimalnog radijusa i duljine eritrocita ($r = 0,98$; $p < 0,001$); između ispupčenosti eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između ispupčenosti eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između indeksa pravilnosti površine i indeksa ispunjenosti ($r = -0,93$; $p < 0,001$); između indeksa pravilnosti površine i faktora zaobljenosti oblika ($r = -1,00$; $p < 0,001$); između zaobljenosti eritrocita i eliptičnosti eritrocita ($r = -0,82$; $p < 0,001$); između zaobljenosti eritrocita i izduljenosti eritrocita ($r = -0,83$; $p < 0,001$); između eliptičnosti eritrocita i izduljenosti eritrocita ($r = 1,00$; $p < 0,001$) (Tablica 21.).

Između pojedinih morfoloških pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita kod pokusne skupine uzoraka utvrđeni su veliki i vrlo veliki korelacijski odnosi. Tako je koeficijent korelacije između površine svinjskih eritrocita i opsega iznosio $r = 0,85$; $p < 0,001$; između površine svinjskih eritrocita i minimalnog radiusa ($r = 0,85$; $p < 0,001$); između

površine svinjskih eritrocita i maksimalnog radijusa ($r = 0,88$; $p < 0,001$); između površine svinjskih eritrocita i ispupčenosti ($r = 1,00$; $p < 0,001$); između površine svinjskih eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između svinjskih eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i maksimalnog radijusa ($r = 0,85$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i ispupčenosti ($r = 0,89$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,85$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,78$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i indeksa pravilnosti površine ($r = 0,78$; $p < 0,001$); između opsega svinjskih eritrocita i faktora zaobljenosti oblika ($r = -0,77$; $p < 0,001$); između minimalnog radijusa i ispupčenosti eritrocita ($r = 0,84$; $p < 0,001$); između minimalnog radijusa i širina eritrocita ($r = 0,95$; $p < 0,001$); između maksimalnog radijusa i ispupčenosti eritrocita ($r = 0,88$; $p < 0,001$); između maksimalnog radijusa i duljine eritrocita ($r = 0,98$; $p < 0,001$); između ispupčenosti eritrocita i duljine eritrocita ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između ispupčenosti eritrocita i širine eritrocita ($r = 0,90$; $p < 0,001$); između indeksa pravilnosti površine i indeksa ispunjenosti ($r = -0,88$; $p < 0,001$); između indeksa pravilnosti površine i faktora zaobljenosti oblika ($r = -1,00$; $p < 0,001$); između zaobljenosti eritrocita i eliptičnosti eritrocita ($r = -0,83$; $p < 0,001$); između zaobljenosti eritrocita i izduljenosti eritrocita ($r = -0,84$; $p < 0,001$); između eliptičnosti eritrocita i izduljenosti eritrocita ($r = 1,00$; $p < 0,001$) (Tablica 22.).

Tablica 21. Korelacijski odnosi između morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita kod kontrolne skupine uzoraka

MORFOMETRIJSKI POKAZATELJI VELIČINE I OBLIKA SVINJSKIH ERITROCITA

	POVRŠINA	OPSEG	MIN. RAD.	MAX. RAD.	ISPUP.	DULJ.	ŠIR.	IPP	II	ZAOB.	ELIPT.	IZDULJ.	FZO
POVRŠINA		0,88 <0,0001	0,85 <0,0001	0,87 <0,0001	1,00 <0,0001	0,89 <0,0001	0,90 <0,0001	0,24 <0,0001	-0,13 <0,0001	n.s.	-0,05 <0,001	-0,04 <0,001	-0,25 <0,0001
OPSEG			0,66 <0,0001	0,84 <0,0001	0,87 <0,0001	0,83 <0,0001	0,76 <0,0001	0,78 <0,0001	-0,71 <0,0001	-0,25 <0,0001	0,006 <0,0001	0,07 <0,0001	-0,77 <0,0001
MIN. RAD.				0,57 <0,0001	0,84 <0,0001	0,59 <0,0001	0,95 <0,0001	0,05 <0,0001	0,07 <0,0001	0,40 <0,0001	-0,42 <0,0001	-0,48 <0,0001	-0,05 <0,0001
MAX. RAD.					0,89 <0,0001	0,98 <0,0001	0,66 <0,0001	0,35 <0,0001	-0,33 <0,0001	-0,49 <0,0001	0,34 <0,0001	0,36 <0,0001	-0,37 <0,0001
ISPUP.						0,90 <0,0001	0,90 <0,0001	0,25 <0,0001	-0,20 <0,0001	-0,06 <0,0001	n.s.	n.s.	-0,27 <0,0001
DULJ.							0,66 <0,0001	0,31 <0,0001	-0,26 <0,0001	-0,42 <0,0001	0,36 <0,0001	0,38 <0,0001	-0,32 <0,0001
ŠIR.								0,18 <0,0001	-0,12 <0,0001	0,27 <0,0001	-0,38 <0,0001	-0,43 <0,0001	-0,18 <0,0001
IPP									-0,93 <0,0001	-0,37 <0,0001	0,18 <0,0001	0,18 <0,0001	-1,00 <0,0001
II										0,42 <0,0001	-0,15 <0,0001	-0,15 <0,0001	0,91 <0,0001
ZAOB.											-0,82 <0,0001	-0,83 <0,0001	0,38 <0,0001
ELIPT.												1,00 <0,0001	-0,18 <0,0001
IZDULJ.													-0,18 <0,0001
FZO													

MIN. RAD. – minimalni radijus; MAX. RAD. – maksimalni radijus; ISPUP.- ispučenost; DULJ. – duljina; ŠIR. – širina; IPP – indeks pravilnosti površine; II – indeks ispunjenosti; ZAOB. – zaobljenost; ELIPT. – eliptičnost; IZDULJ. – izduljenost; FZO – faktor zaobljenosti oblika; n.s. – nije statistički značajno (engl. non significant) $p>0,05$.

Tablica 22. Korelacijski odnosi između morfometrijskih pokazatelja veličine i oblika svinjskih eritrocita kod pokusne skupine uzoraka neovisno o frekvenciji i zračenju

MORFOMETRIJSKI POKAZATELJI VELIČINE I OBLIKA SVINJSKIH ERITROCITA

	POVRŠINA	OPSEG	MIN. RAD.	MAX. RAD.	ISPUP.	DULJ.	ŠIR.	IPP	II	ZAOB.	ELIPT.	IZDULJ.	FZO
POVRŠINA		0,85 <0,0001	0,85 <0,0001	0,88 <0,0001	0,99 <0,0001	0,90 <0,0001	0,90 <0,0001	0,20 <0,0001	-0,014 <0,0001	n.s.	-0,05 <0,0001	n.s.	-0,22 <0,0001
OPSEG			0,69 <0,0001	0,85 <0,0001	0,89 <0,0001	0,85 <0,0001	0,78 <0,0001	0,78 <0,0001	-0,57 <0,0001	-0,21 <0,0001	0,008 <0,0001	0,08 <0,0001	-0,77 <0,0001
MIN. RAD.				0,54 <0,0001	0,84 <0,0001	0,57 <0,0001	0,95 <0,0001	0,07 <0,0001	0,08 <0,0001	0,41 <0,0001	-0,49 <0,0001	-0,49 <0,0001	-0,08 <0,0001
MAX. RAD.					0,88 <0,0001	0,98 <0,0001	0,64 <0,0001	0,38 <0,0001	-0,31 <0,0001	-0,49 <0,0001	0,34 <0,0001	0,38 <0,0001	-0,40 <0,0001
ISPUP.						0,90 <0,0001	0,90 <0,0001	0,29 <0,0001	-0,19 <0,0001	n.s.	-0,03 <0,005	0,03 <0,005	-0,30 <0,0001
DULJ.							0,65 <0,0001	0,34 <0,0001	-0,25 <0,0001	-0,40 <0,0001	0,40 <0,0001	0,40 <0,0001	-0,36 <0,0001
ŠIR.								0,20 <0,0001	-0,09 <0,0001	0,29 <0,0001	-0,43 <0,0001	-0,43 <0,0001	-0,20 <0,0001
IPP									-0,88 <0,0001	-0,36 <0,0001	0,20 <0,0001	0,20 <0,0001	-1,00 <0,0001
II										0,40 <0,0001	-0,18 <0,0001	-0,18 <0,0001	0,88 <0,0001
ZAOB.											-0,83 <0,0001	-0,84 <0,0001	0,36 <0,0001
ELIPT.												1,00 <0,0001	-0,20 <0,0001
IZDULJ.													-0,20 <0,0001
FZO													

MIN. RAD. – minimalni radijus; MAX. RAD. – maksimalni radijus; ISPUP.- ispučenost; DULJ. – duljina; ŠIR. – širina; IPP – indeks pravilnosti površine; II – indeks ispunjenosti; ZAOB. – zaobljenost; ELIPT. – eliptičnost; IZDULJ. – izduljenost; FZO – faktor zaobljenosti oblika; n.s. – nije statistički značajno (engl. non significant) $p > 0,05$.

6. RASPRAVA

Svaki električni uređaj stvara električno i magnetsko polje, povećavajući razinu RF-EMZ-a u okolini. Mobiteli, bežične mreže, pametni i prijenosni uređaji (primjerice, pametni satovi, narukvice, naočale, itd.) neprestano raspršuju u okolinu RF-EMZ neovisno o tome jesu li spojeni na mreže ili ne. Prema predviđanjima iz 2018. godine u 2021. godini u svijetu je trebalo biti 928 milijuna na mrežu povezanih prijenosnih uređaja (DI SERIO i sur., 2018.). Bežične tehnologije zahtijevaju daleko više energije nego žičane tehnologije pa milijuni bežičnih uređaja i njihova ogromna potrošnja energije generiraju mnogo neiskorištenog zaostalog RF-EMZ posvuda oko nas, koji se naziva *elektromagnetsko onečišćenje ili elektromagnetski smog* (WONGKASEM, 2021.). RF-EMZ različitih frekvencija antropogenog podrijetla se zbrajaju, a prisutna su u cjelokupnom okružju ljudi i životinja pa tako i zdravstvenim ustanovama (SAEFL, 2005.).

Zdravstveni djelatnici koji uzimaju uzorke krvi bolesnicima, koji pripremaju krvne uzorke za analizu, oni koji provode analize uzoraka u laboratorijima, oni koji proizvode i rukuju s krvnim pripravcima, oni koji primjenjuju krvne pripravke bolesnicima pa i sami bolesnici koji koriste mobilne telefone, a nerijetko posjeduju i više mobilnih uređaja. Nadalje, Wi-Fi mreže se koriste za poboljšanje komunikacije unutar bolnica, gdje su mobilne mreže ponekad manje pouzdane ili zabranjene.

Na temelju navedenog, važno je utvrditi utječe li i kako izlaganje RF-EMZ-u, osobito 5G frekvencijama na uzorke krvi *in vitro* jer oni ponekad od njihovog uzimanja do analize stoje određeno vrijeme izloženi RF-EMZ-u. Navedeno je značajno zbog kvalitete uzorka koja direktno utječe na postavljanje točne dijagnoze i/ili praćenja učinka terapije te prognoze bolesti. S obzirom na sveprisutno elektromagnetsko onečišćenje važno je utvrditi mijenja li izloženost uzoraka RF-EMZ-u ispitivane vrijednosti. Osim toga krvni pripravci poput koncentrata eritrocita i trombocita namijenjenih transfuzijskom liječenju pacijenata tijekom proizvodnje, čuvanja i rukovanja budu neko vrijeme izloženi RF-EMZ-u pa je važno je istražiti jesu li te stanice zbog izloženosti kraćeg životnog vijeka odnosno manje funkcionalne.

Ovo je istraživanje provedeno kako bi se analizirao učinak 5G elektromagnetskog zračenja na kompletnu krvnu sliku, morfometriju eritrocita u *in vitro* ozračenoj ljudskoj i svinjskoj krvi te na aktivaciju trombocita u ljudskoj krvi. U ovom je istraživanju utvrđeno da 5G elektromagnetsko zračenje različitih frekvencija (700 MHz, 2 500 MHz i 3 500

MHz) ne utječe na vrijednosti istraživanih hematoloških pokazatelja i aktivaciju trombocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj krvi. Izlaganje svinjske krvi 5G elektromagnetskom zračenju frekvencije od 3 500 MHz jedino utječe na promjenu vrijednosti pojedinih hematoloških pokazatelja. Međutim, *in vitro* izlaganje ljudske i svinjske krvi 5G elektromagnetskom zračenju ima učinak na morfometriju ljudskih i svinjskih eritrocita.

Vrijednosti istraživanih hematoloških pokazatelja u *in vitro* izloženoj ljudskoj krvi 5G elektromagnetskom zračenju u ovom istraživanju se nisu značajno mijenjale u odnosu na kontrolne vrijednosti. U dostupnoj literaturi nema podataka o učinku 5G elektromagnetskog zračenja na *in vitro* izložene krvne uzorke ljudi i životinja. Jedini dostupni podatci o *in vitro* izloženim uzorcima ljudske krvi RF-EMZ-u, ali 3G i 4G tehnologiji na hematološke pokazatelje su istraživanja koja su proveli KUMARI i sur. (2016.) te CHRISTOPHER i sur. (2020.). KUMARI i sur. (2016.) su u provedenom istraživanju utvrdili značajno smanjen broj eritrocita, leukocita i trombocita, dok se osmotska otpornost eritrocita nije značajno mijenjala nakon izlaganja krvi dragovoljaca u *in vitro* kontinuiranom RF-EMZ-u stvorenom mobilnim telefonom (Dual band EGSM na frekvenciji od 900/1800 MHz) u trajanju od 1 h. Rezultati ovoga istraživanja i KUMARI-a i sur. (2016.) se razlikuju, a mogući razlozi tome su različiti analitički postupci, odnosno korištena različita mobilna tehnologija/generacija, a time i frekvencija kojoj su bili izloženi krvni uzorci. Naime, osim što su uzorci izlagani različitim frekvencijama mobilnog uređaja različite tehnologije/generacije u odnosu na one koje su korištene u ovom istraživanju, autori su hematološke pokazatelje analizirali ručnim metodama, dok su se u ovom istraživanju hematološki pokazatelji analizirali pomoću automatskog hematološkog brojača, a uzorci su se izlagali u posebno konstruiranoj GTEM komori te su korištene frekvencije 5G elektromagnetskog zračenja.

U istraživanju kojeg su proveli CHRISTOPHER i sur. (2020.) utvrđeno je da izlaganje uzoraka ljudske krvi tijekom 1 sata kontinuiranom RF-EMZ-u stvorenog 4G mobilnim telefonom koji radi u frekvencijskom rasponu prijenosa od 2,3 do 2,4 GHz (SAR od oko 1,42 W/kg u aktivnom pozivu s aktivnim Wi-Fi-jem), dovodi do značajnog smanjenja broja trombocita te povećanja broja leukocita, povećanja koncentracije hemoglobina i ubrzane sedimentacije eritrocita. Rezultati istraživanja kojeg su proveli CHRISTOPHER i sur. (2020.) nisu u skladu sa rezultatima dobivenim u ovom

istraživanju, a mogući razlozi su kao i kod prethodno navedenog istraživanja: različita tehnologija/generacija mobilnog uređaja (4G) iako je frekvencija na kojoj je radio korišteni mobitel bila približna jednoj od frekvencija korištenih u ovom istraživanju (2 500 MHz, koja je ujedno i približna frekvenciji WI-FI-ja, 2 450 MHz). Nadalje, postoji i razlika između ova dva istraživanja u korištenju različitih analizatora i metoda, no, vjerojatno je razlici između dobivenih rezultata najviše doprinijela razlika u korištenoj tehnologiji izlaganja uzoraka krvi zračenju. KUMARI i sur. (2016.) i CHRISTOPHER i sur. (2020.) su koristili 3G i 4G tehnologiju, dok se u ovom istraživanju koristila 5G tehnologija, koja možda manje utječe na vrijednosti hematoloških pokazatelja odnosno na izložene krvne stanice ili njezin učinak nije odmah vidljiv (odgođen). S obzirom da u dostupnoj literaturi nema podataka o učinku 5G tehnologije na krvne pokazatelje *in vitro* i/ili *in vivo* u ljudi i životinja za sada dobivene podatke ovog istraživanja nije moguće usporediti s istom tehnologijom koja je korištena u ovom istraživanju.

Vrijednosti hematoloških pokazatelja u *in vitro* ozračenju svinjskoj krvi 5G elektromagnetskim zračenjem u ovom istraživanju se nisu značajno mijenjale u odnosu na neozračene uzorke neovisno o frekvenciji. Međutim, vrijednosti tri hematološka pokazatelja u izloženoj svinjskoj krvi sa frekvencijom od 3 500 MHz značajno su se mijenjale u odnosu na kontrolne uzorke i to tako da je broj eritrocita i neutrofila bio značajno manji, a vrijednost MCV značajno veća u pokusnim uzorcima. S obzirom da se vrijednost MCV izračunava tako da se vrijednost hematokrita podijeli s brojem eritrocita, odnosno MCV vrijednost i broj eritrocita su u obrnuto proporcionalnom odnosu, zbog smanjenog broja eritrocita povećala se i posljedično vrijednost MCV-a. *In vivo* i *in vitro* izlaganje RF-EMZ-u može uzrokovati apoptozu stanica koje imaju stanične organele, što je mogući uzrok smanjenja broja neutrofila (PEI i sur., 2019., LI i sur., 2020.). Osim toga značajno manji broj eritrocita i neutrofila u izloženoj svinjskoj krvi frekvenciji od 3 500 MHz može biti i posljedica negativnog učinka veće količine ROS-a nastalih zbog izlaganja RF-EMZ-u sa posljedičnim oksidativnim stresom (KAZEMI i sur., 2015., MASOUMI i sur., 2018., ADEBAYO i sur., 2019., ZOSANGZUALI i sur., 2021.). Nadalje, dobivene rezultate u ovom istraživanju možemo tumačiti prema saznanjima da učinci RF-EMZ na tjelesne sustave/stanice ovise o frekvenciji, jakosti polja i trajanju izloženosti (CHALLIS, 2005., ALGHAMDI i EL-GHAZALY, 2012., HU i sur., 2021., KARIPIDIS i sur., 2021b.). Naime, prema rezultatima ovoga istraživanja frekvencija od 3 500 MHz ima najštetniji učinak na vrijednosti

hematoloških pokazatelja nakon izlaganja uzoraka svinjske krvi. Dobiveni rezultati djelomično su u suglasju sa dobivenim rezultatima KUMARI i sur. (2016.) koji su u provedenom istraživanju utvrdili značajno smanjen broj eritrocita i leukocita. Tako je i u ovom istraživanju broj eritrocita i neutrofila (najzastupljenija podskupina leukocita u krvi ljudi i svinja) bila značajno niža u svinjskoj krvi izloženoj frekvenciji od 3 500 MHz. Iako su KUMARI i sur. (2016.) izlagali ljudske uzorke krvi različitim frekvencijama te koristili različitu mobilnu tehnologiju i različite metode u analiziranju uzoraka, dio dobivenih rezultata je u suglasju sa rezultatima ovog istraživanja, ali na svinjskim uzorcima. HALGAMUGE i sur. (2020.) su meta-analizom podataka dobivenih istraživanjima *in vitro* izloženih stanica ljudi i životinja RF-EMZ-u stvorenog mobilnim telefonom utvrdili, da su izložene ljudske stanice uključujući i krvne stanice manje podložne negativnom učinku RF-EMZ u odnosu na stanice štakora i miša. Specifični podtipovi stanica također pokazuju različitu podložnost negativnom netoplinskom učinku RF-EMZ stvorenog mobilnim telefonom, tako primjerice ljudski spermiji i epitelne stanice su podložniji, dok primjerice limfociti nisu (HALGAMUGE i sur., 2020.) podložni zračenju. Navedeno podrazumijeva da postoji vrsna razlika kao i razlika u podtipu stanica u osjetljivosti prema navedenome zračenju. Tako se i iz ovoga istraživanja može naslutiti da su se pojedini svinjski eritrociti i neutrofili lizirali te da su značajno osjetljiviji prema RF-EMZ-u u odnosu na ostale krvne stanice izložene frekvenciji 3 500 MHz. Istraživanje CHRISTOPHER-a i sur. (2020.) i rezultati ovog istraživanja u kojem su izloženi ljudski uzorci krvi nisu u suglasju sa rezultatima istraživanja provedenog na uzorcima svinjske krvi. CHRISTOPHER i sur. (2020.) su utvrdili da izlaganje uzoraka ljudske krvi tijekom 1 sata kontinuiranom RF-EMZ-u stvorenom 4G mobilnim telefonom frekvencije od 2 300 do 2 400 MHz, dovodi do značajnog smanjenja broja trombocita te povećanja broja leukocita i povećanja koncentracije hemoglobina. U ovom istraživanju, izlaganje uzoraka svinjske krvi RF-EMZ-u približne frekvencije (2 500 MHz), s kojom su se koristili i CHRISTOPHER i sur. (2020.), nije dovelo do promjene u vrijednostima istraživanih hematoloških pokazatelja. Rezultati istraživanja CHRISTOPHER i sur. (2020.) odnosno povećanje broja leukocita i povećanje koncentracije hemoglobina su teško objašnjivi s obzirom na to da se leukociti i eritrociti (sadrže hemoglobin koji kad se oni liziraju izlazi u plazmu) u *in vitro* uvjetima odnosno u krvi ne dijele, no smanjen broj trombocita mogao bi biti posljedica djelovanja veće količine ROS-a (oksidativni stres) nastalih kao posljedica izlaganja RF-EMZ odnosno jedan od štetnih

mehanizama djelovanja RF-EMZ (KAZEMI i sur., 2015., MASOUMI i sur., 2018., ADEBAYO i sur., 2019., ZOSANGZUALI i sur., 2021.). Rezultati ovog istraživanja u kojem su izloženi ljudski uzorci krvi nisu u suglasju s rezultatima ovog istraživanja provedenog na uzorcima svinjske krvi. Tehnologija izlaganja uzoraka je ista, jedino se razlikuju uređaji koji su korišteni za analizu krvi, s obzirom na to da se životinjski uzorci krvi moraju analizirati veterinarskim računalnim programom zbog vrsnih razlika u veličini i morfologiji krvnih stanica (VOIGT i SWIST, 2011., THRALL i sur., 2022.). Prema navedenom vjerojatna razlika među dobivenim rezultatima posljedica je vrsne otpornosti odnosno manje osjetljivosti u ovom slučaju ljudskih krvnih stanica na brzi odgovor stanica koji bi rezultirao lizom nakon izlaganja RF-EMZ-u (HALGAMUGE i sur., 2020.).

Rezultati GRAU i sur. (2018.) ukazuju na spolne razlike u hematološkim parametrima s većim vrijednostima pokazatelja eritograma (broj eritrocita, hematokrit, koncentracija hemoglobina) u muškaraca u usporedbi sa ženama, što je u suglasju i s ovim istraživanjem. Dobiveni rezultati su povezani s višim razinama testosterona u muškaraca što pospješuje eritropoezu, ali također su zabilježene genetske razlike u genu za eritropoetin i njegovom receptoru između muškaraca i žena (ZENG i sur., 2001., GRAU i sur., 2018.). Razlike su također primijećene između ženskih skupina sa ženama koje nisu imale kontracepciju, a u kojih je bio manji broj eritrocita, ali veći MCV i hematokrit u usporedbi sa ženama koje su koristile hormonsku kontracepciju (manju koncentraciju estradiola). Rezultati GRAU i sur. (2018.) su pokazali da žene imaju značajno veći broj trombocita, što je u suglasju sa rezultatima ovoga istraživanja. DALY (2011.) je također izvijestio o većem broju trombocita u žena s višom razinom estradiola i objasnio ga okidačkim učinkom estradiola na stvaranje protrombocita u megakariocitima. GRAU i sur. (2018.) su utvrdili da je MCV veći u žena koje nisu koristile hormonsku kontracepciju u odnosu na muškarce, a one koje jesu uzimale kontracepciju nisu imale značajno različite vrijednosti MCV-a u odnosu na muškarce. Dobivene rezultate autori pripisuju većoj razini estradiola u žena koji nisu koristile kontracepciju. U ovom istraživanju nismo utvrdili značajnu razliku između MCV-a žena i muškaraca, vjerojatno jer se radilo o većem broju mladih žena koje su bile uključene u istraživanje, a uzimale su kontracepciju, što nismo izdvajali u odvojene skupine te time ne možemo sa sigurnošću tumačiti dobivene rezultate. No, u ovom istraživanju za učinak 5G elektromagnetskog zračenja prema istraživanim morfometrijskim pokazateljima utvrđeno je da žene imaju značajno veće eritrocite u odnosu na muškarce.

U dostupnoj literaturi nema podataka o istraživanom učinku različitih frekvencija osobito ne 5G elektromagnetskog zračenja na hematološke pokazatelje nakon *in vivo* i *in vitro* izlaganja ljudi ni životinja odnosno njihove krvi. Također dobivene rezultate o učinku 5G elektromagnetskog zračenja na vrijednosti hematoloških pokazatelja nije moguće usporediti sa izloženim krvnim uzorcima svinja, jer do sada nisu istraživani učinci izlaganja svinja i/ili svinjske krvi RF-EMZ-u.

U ovom je istraživanju utvrđeno da 5G elektromagnetsko zračenje različitih frekvencija (700 MHz, 2 500 MHz i 3 500 MHz) ne utječe na aktivaciju trombocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj krvi. Istraživanje učinka RF-EMZ na ljudske trombocite načinili su LIPPI i sur. (2017.), a koje nije u suglasju s rezultatima ovoga istraživanja. Naime, autori su utvrdili značajno smanjenje agregacije/adhezije trombocita (aktivacije trombocita) i povećanje njihove veličine nakon *in vitro* izlaganja ljudske krvi RF-EMZ-u mobilnog telefona na frekvenciji od 900 MHz (3G mreža) tijekom 30 minuta. LIPPI i sur. (2017.) nisu koristili istu metodu određivanja aktivacije trombocita (analizator funkcije trombocita, PFA-100), u ovom istraživanju korištena je metoda protočne citometrije te su koristili stariju mobilnu tehnologiju i drugačiju frekvenciju zračenja. Sve navedeno moglo je dovesti do razlike između rezultata ovog istraživanja i istraživanja kojeg su proveli LIPPI i sur. (2017.). Nadalje, navedeni autori koristili su isti hematološki uređaj za detekciju broja trombocita i MPV kao što je korišten i u ovom istraživanju. Nisu utvrdili značajnu promjenu broja trombocita nakon izlaganja uzoraka ljudske krvi RF-EMZ-u kao što nije utvrđeno ni u ovom istraživanju. LIPPI i sur. (2017.) su utvrdili značajno veću vrijednost MPV-a nakon izlaganja uzoraka RF-EMZ-u, što nije u suglasju sa rezultatima ovoga istraživanja. Naime, nekoliko sekundi nakon aktivacije trombocita oni mijenjaju svoj oblik i povećavaju se aktivirajući membranske receptore te postaju metabolički i enzimski aktivniji (LIPPI, 2016.). Navedni autori tumače da je izlaganje trombocita RF-EMZ-u mobilnog telefona (900 MHz) izazvalo najprije hiperaktivaciju trombocita tijekom čega mijenjaju svoj oblik i otpuštaju sadržaj granula iz citoplazme, što se odražava u trajnom povećanju veličine trombocita odnosno MPV-a, no potom slijedi postupni pad osjetljivosti trombocita i odgovora na blaže agoniste kao što je adrenalin te time do smanjene aktivacije trombocita. Najvjerojatnija razlika u dobivenim rezultatima između ovog istraživanja i istraživanja kojeg su proveli LIPPI i sur. (2017.) je korištenje različite mobilne tehnologije i drugačije frekvencije zračenja koja vjerojatno ima značajniji učinak na ljudske trombocite.

U ovom istraživanju utvrđeno je da *in vitro* izlaganje ljudske i svinjske krvi tijekom 2 sata kontinuiranom 5G elektromagnetskom zračenju ima učinak na morfometriju ljudskih i svinjskih eritrocita. Podatci o morfometrijskim pokazateljima veličine i oblika eritrocita nakon izlaganja ljudi i/ili *in vitro* ljudske krvi RF-EMZ-u nisu istraženi, stoga dobivene rezultate nije moguće usporediti sa prethodnim istraživanjima. U ovom istraživanju bili su uključeni krvni uzorci muških i ženskih ispitanika, pa se dodatno istraživao i učinak 5G RF-EMZ-a na spol. Učinak 5G RF-EMZ-a na *in vitro* ozračene ljudske eritrocite muških i ženskih ispitanika očitovao se njihovim značajnim povećanjem, ispupčenjem (povećali konveksnu površinu) i naboranošću. Poznato je da RF-EMZ može oštetiti stanične organele kao što su stanična membrana, mitohondriji i DNK (LA VIGNERA i sur., 2012.). Nakon izlaganja RF-EMZ-u stanične membrane su „šokirane“ što uzrokuje elektroporaciju, tijekom koje se stvaraju pore u membrani za transport vode (akvaporini) što remeti ionsku ravnotežu unutar i izvan stanice (HA, 2001., IORIO i sur., 2011., KOOHESTANIDEHAGHI i sur., 2023.). Osim toga, RF-EMZ dovodi do nekroze, apoptoze ili autofagije stanica (MANNA i GHOSH, 2016.), promjene funkcionalnosti membranskih receptora (DE-MATTEI i sur., 2009.) i stvaranja prekomjerne količine slobodnih radikala (SIMK, 2007., DI LORETO i sur., 2009., ADEBAYO i sur., 2019.) te slabljenja antioksidativnog sustava stanice stvarajući uvjete oksidativnog stresa (ALCHALABI i sur., 2015.). Nakon oksidativnog stresa uzrokovanog RF-EMZ-om, oslobađaju se ROS iz njihovih mitohondrija (PANAGOPOULOS, 2011., KOOHESTANIDEHAGHI i sur., 2023.). Iako se posljedice opisane u prethodnim istraživanjima ne odnose na eritrocite već na druge izložene stanice poput spermija te se ne odnose na učinke 5G RF-EMZ-a, promjena oblika i membrane ljudskih eritrocita u ovom istraživanju izloženih *in vitro* 5G RF-EMZ-u mogla bi se pripisati nekom od prethodno navedenih mehanizama. Jedino dostupno istraživanje u kojem je provedeno *in vitro* izlaganje RF-EMZ-u je istraživanje koje su proveli NGUYEN i sur. (2017.), a u kojem su trokratno izloženi zečji eritociti pri frekvencij od 18 GHz po 1 minutu. Autori su utvrdili da izlaganje eritocita RF-EMZ-u frekvencije 18 GHz inducira povećanje propusnosti stanične membrane bez ugrožavanja stanične održivosti. Smatraju da membrane eritrocita postaju propusne zbog mehaničkog poremećaja membrana. Nadalje, dokazali su da povećana propusnost nije posljedica porasta temperature zbog izlaganja RF-EMZ-u. Iako su prethodno navedeni autori koristili puno veću frekvenciju *in vitro* izlaganja eritrocita trokratno tijekom samo jedne minute dok su u ovom istraživanju korištene puno manje

frekvencije (0,7 GHz, 2,5 GHz, 3,5 GHz), čini se da je učinak na eritrocite bio sličan odnosno uzrokovao je propusnost stanične membrane i promjenu oblika zbog njezinog mehaničkog poremećaja.

Učinak 5G RF-EMZ-u na izložene ljudske eritrocite ovoga istraživanja bio je da su se značajno povećali, ispupčili (povećali konveksnu površinu), a GIRASOLE i sur. (2012.) navode da je jedan od mehanizama za nastanak takvih eritrocita posljedica slabljenja strukture citoskeleta. Promjena strukture citoskeleta može izazvati poremećaj stanične membrane, čineći stanice propusnijima i osjetljivijima na deformaciju membrane. Mehaničke smetnje izazvane RF-EMZ-om mogu promijeniti propusnost stanične membrane, odnosno povećati njezinu propusnost (NGUYEN i sur., 2017.). Transformacija bikonkavnog (termodinamički povoljniji) u sferični oblik (NOWAKOWSKI i sur., 2001.), osim kao posljedica starenja eritrocita može biti posljedica konformacijske promjene bjelančevina u membrani eritrocita i redistribuciji membranskih fosfolipida s odvajanjem jednog fosfolipidnog sloja od drugog s posljedičnom promjenom oblika (DEUTICKE, 2003., BETZ i sur., 2007.). Promjena oblika stanice povezana je zapravo s konformacijskim promjenama bjelančevina i s promjenama u lipidima stanične membrane (LENZI i sur., 2021., STRIKOVA-KENDEROVA i sur., 2022.). Poznato je da RF-EMZ potiče prekomjerno stvaranje ROS-a koji dodatno oštećuje strukturne bjelančevine u membrani, ali uzrokuje i lipidnu peroksidaciju masnih kiselina u sastavu fosfolipidnog dvosloja. No, drugi mogući mehanizam koji je doveo do povećanja odnosno ispupčivanja izloženih ljudskih eritrocita 5G RF-EMZ-u je da izloženost stanica RF-EMZ-u uzrokuje elektroporaciju, tijekom koje se stvaraju akvaporini u njihovoj membrani, voda ulazi u stanicu te se pri tome narušava ionska ravnoteža u stanici te posljedično tome eritrociti mijenjaju svoj oblik i postaju sferični.

U ovom istraživanju učinak 5G RF-EMZ-a u *in vitro* ozračenim ljudskim eritrocitima ispitanika očitovao se ne samo značajnim povećanjem već su se eritrociti i ispupčili (povećali konveksnu površinu) i naborali. U fiziološkim uvjetima normalni ljudski eritrociti imaju bikonkavni diskoidni oblik, a poznato je da različiti agensi mogu promijeniti njihov oblik. Primjerice povećana osmolarnost izvanstanične tekućine, visok pH, smanjenje ATP-a, itd., što dovodi do naboranih oblika (ehinocita), karakteriziranih povećanom konveksnom površinom i „šiljcima/naborima“. Promjena oblika stanice povezana je zapravo s konformacijskim promjenama bjelančevina i s promjenama u lipidima stanične membrane

(LENZI i sur., 2021., STRIJKOVA-KENDEROVA i sur., 2022.), što dovodi do odvajanja fosfolipidnog dvosloja jednog od drugog te time do stvaranja konveksnih struktura na površini stanice (npr. ehinocitnih izbočina/nabora) (RUDENKO, 2010.). Prema svemu navedenome čini se da RF-EMZ u *in vitro* ozračenim ljudskim eritrocitima prema istom mehanizmu dovodi do promjene njihova oblika i stanične membrane uz prekomjerno stvaranje ROS-a koji dovodi do oksidativnog stresa (DASDAG i AKDAG, 2016.). Oksidativni stres uzrokuje oštećenje i deformaciju membrane eritrocita te u konačnici dovodi do bržeg starenja stanica i rane eritroze (MOHANTY i sur., 2014., LANGARI i sur., 2022.). Nadalje, promjena oblika stanice zbog djelomičnog ili potpunog gubitka deformabilnosti može se pojaviti kao posljedica različitih patoloških stanja (KIKO i sur., 2012.), nakupljanja neneutraliziranih ROS ili kao dio starenja eritrocita (BARBOUR i sur., 2008.). Poznato je da je oblik eritrocita određen mehaničkim svojstvima citoskeleta i obiljem adenozin trifosfata (ATP) (LAN i sur., 2015.). Utvrđeno je da je proces starenja potaknut unutarstaničnom koncentracijom ATP-a koja utječe na strukturu skeleta membrane (XING i sur., 2011.). ATP je važan za održavanje diskoidnog oblika eritrocita budući da smanjenje ATP-a uzrokuje promjenu iz diskoidnog u ehinocitni oblik (JELLINGER, 2007.). Na primjer, srpaste eritrocite karakteriziraju povišeni indeksi oksidativnog stresa i sniženi ATP (ANDERSEN i sur., 2017., STRIJKOVA-KENDEROVA i sur., 2022.)

U ovom istraživanju negativni učinak 5G elektromagnetskog zračenja na morfometriju ljudskih eritrocita u *in vitro* ozračenju krvi ovisio je o frekvenciji zračenja i spolu. Tako je najštetniji učinak na morfometriju ljudskih eritrocita utvrđen nakon njihovog izlaganja zračenju frekvencije od 700 MHz, zatim frekvenciji 3500 MHz, a najmanji učinak imala je frekvencija 2500 MHz. Dobivene rezultate možemo tumačiti prema saznanjima da učinci RF-EMZ-a na tjelesne sustave/stanice ovise o frekvenciji, jakosti polja i trajanju izloženosti (CHALLIS, 2005., ALGHAMDI i EL-GHAZALY, 2012., HU i sur., 2021., KARIPIDIS i sur., 2021b.).

U ovom je istraživanju utvrđeno da su eritrociti žena podložniji *in vitro* negativnom učinku 5G elektromagnetskog zračenja. Odnosno, zračenje frekvencije od 700 MHz ima značajniji učinak na vrijednosti morfometrijskih pokazatelja eritrocita žena u odnosu na eritrocite muškaraca, no negativni učinak zračenja sa 3 500 MHz i 2 500 MHz na morfometriju eritrocita zabilježen je skupno ne uzimajući u obzir spol, a kada se uzme u obzir spol, zabilježen je samo u žena. Osim toga, eritrociti su se u muškaraca značajnije naborali,

a eritrociti u žena značajnije povećali i ispupčili osobito nakon izlaganja 5G elektromagnetskom zračenju frekvencije od 700 MHz. "Deformabilnost" eritrocita opisuje se kao sposobnost stanica da reverzibilno mijenjaju svoj oblik kao odgovor na primijenjenu silu. Ovo obilježje omogućuje prolaz eritrocita kroz krvne žile promjera manjeg od njihovog, a time i opskrbu tkiva i organa kisikom koji je neophodan za stvaranje dovoljne količine ATP-a u stanicama (MOHANDAS i CHASIS, 1993.). Na deformabilnost eritrocita utječu različiti čimbenici, a jedan od njih je dušikov oksid (NO) (KLEINBONGARD i sur., 2006., GRAU i sur., 2013.). Smanjena biorasploživost eritrocita dušikvim oksidom smanjuje deformabilnost eritrocita, dok povećane razine eritrocita dušikvim oksidom pozitivno utječu na deformabilnost eritrocita (BOR-KUCUKATAY i sur., 2003., GRAU i sur., 2013.). Osim toga, smatra se da veća koncentracija estradiola povećava odnosno ima pozitivan učinak na deformabilnost eritrocita (FARBER i sur. 2018., GRAU i sur., 2018.). UNFER i sur. (2013.) su dokazali da estradiol povećava aktivnost CuZn superoksid dismutaze u eritrocitima (CuZnSOD). CuZnSOD povećava antioksidativni kapacitet te pozitivno utječe na deformabilnost eritrocita, a poznato je da slobodni radikali smanjuju deformabilnost eritrocita, odnosno kada je narušen odnos reaktivnih kisikovih/dušikovih vrsta (ROS/RNS) (SIMMONDS i sur., 2011.). Pozitivan učinak veće koncentracije estradiola na veću deformabilnost eritrocita dodatno se obašnjava činjenicom da estradiol povećava proizvodnju dušikova oksida u endotelnim stanicama (RUBANYI i sur., 1997., HAYNES i sur., 2000., GRAU i sur., 2018.). Prema svemu navedenom eritrociti žena imaju veću „deformabilnost“ u odnosu na muškarce te time možemo objasniti i dobivene rezultate. Naime, membrane eritrocita u muškaraca više su se naborale u odnosu na membrane eritrocita u žena, dok su se u žena značajnije povećale i ispupčile s obzirom na to da žene imaju veću elastičnost membrane eritrocita. U eritrocitima muškaraca membrane su se značajnije naborale vjerojatno zbog značajnijih konformacijskih promjena bjelančevina i promjena u lipidima stanične membrane.

U ovom istraživanju utvrđeno je značajno povećanje eritrocita, ispupčenost i naboranost stanične membrane u izloženoj krvi (5G elektromagnetskom zračenju) žena i muškaraca. Dobivene rezultate da su eritociti žena podložniji *in vitro* negativnom učinku 5G elektromagnetskog zračenja teško je objasniti s obzirom na poznate činjenice. Dokazano je da eritrociti muškaraca imaju ubranu hemolizu tijekom skladištenja zbog učinka osmotskog ili oksidativnog stresa zamjećene nakon transfuzije u odnosu na eritrocite u žena (RAVAL i

sur., 2011., JORDAN i sur., 2016., KANIAS i sur., 2016.). Spolna razlika eritrocita na ubrzanu hemolizu nakon transfuzije je povezana sa svojstvima samih membrana eritrocita, odnosno nije posredovana čimbenicima u krvnoj plazmi ili ženskim spolnim hormonima. Testosteron potiče spolne razlike odnosno povećanu osjetljivost na hemolizu eritrocita mehanizmom koji vjerojatno nastaje tijekom eritropoeze, što u konačnici modulira krhkost i reološka svojstva diferenciranih eritrocita u muškaraca i u muških miševa (KANIAS i sur., 2016.). Dobivene rezultate ovoga istraživanja da su eritociti žena podložniji *in vitro* negativnom učinku 5G elektromagnetskog zračenja u odnosu na eritrocite muškaraca, možemo tumačiti time da eritrociti u žena imaju veću „deformabilnost“ te brže reagiraju na izvanjski stres (izloženost RF-EMZ-u), izraženijim promjenama u svojstvima membrana, a posljedično tome povećanjem njihovog oblika i naboranosti membrane. Navedeno u konačnici ne mora značiti da ta promjena povećanja veličine eritrocita u žena, u odnosu na eritrocite u muškaraca, utječe na lošiju održivost i funkcionalnost eritrocita u žena. Iako su *in vitro* izloženi eritrociti u muškaraca pokazali manje značajne promjene od eritrocita u žena, prema poznatoj činjenici da su skloniji bržoj hemolizi odnosno slabijoj deformabilnosti od eritrocita u žena, postoji mogućnost da bi oni neovisno o manje značajnim promjenama oblika, a većoj naboranosti osobito nakon izlaganja frekvenciji od 700 MHz prije hemolizirali nego eritrociti u žena. S obzirom na dobivene rezultate u daljnjim istraživanjima potrebno je istražiti je li učinak 5G elektromagnetskog zračenja imao posljedice u održivosti eritrocita, njihovoj funkciji i skraćenom životnom vijeku. Nadalje, osobito je važno utvrditi jesu li dobivene spolne razlike učinka 5G elektromagnetskog zračenja povezane sa održivosti eritrocita, njihovom funkcijom i skraćenim životnim vijekom. Budući da u dostupnoj literaturi ne postoje podatci o morfometrijskim pokazateljima veličine i oblika eritrocita nakon izlaganja ljudi i/ili *in vitro* ljudske krvi RF-EMZ-u nisu istraženi pa dobivene rezultate nije moguće usporediti.

Uporabom računalne analize slike temeljene na morfometriji eritrocita i multivarijatnih statističkih metoda, uključujući analizu glavnih komponenti i klaster analizu moguće je utvrditi prisustvo subpopulacija eritrocita ovaca, na temelju njihovih morfometrijskih pokazatelja (ŽURA ŽAJA i sur., 2019.). Prisustvo subpopulacija eritrocita u ljudi i svinja na temelju njihovih morfometrijskih pokazatelja, istim statističkim metodama kao i u prethodno navedenom istraživanju, utvrđeno je i u ovom istraživanju nakon *in vitro* izlaganja krvi 5G elektromagnetskom zračenju u svim istraživanim frekvencijama. Utvrđeno je značajno

povećanje udjela ES 2 subpopulacija ljudskih eritrocita (veći, ispupčeniji i naboraniji) u odnosu na udio ES 1 subpopulacija ljudskih eritrocita (manji i okrugliji, ravnijih rubova) u *in vitro* izloženoj ljudskoj krvi. Glavni učinak starenja eritrocita je povezan sa povećanim udjelom eritrocita koji imaju naboranu membranu te povećan i okrugliji oblik (STRIJKOVA-KENDEROVA i sur., 2022.). Prema navedenome možemo smatrati da *in vitro* izlaganje ljuske krvi 5G elektromagnetskom zračenju ubrzava starenje eritrocita. Dobiveno potvrđuje da je *in vitro* izlaganje ljuske krvi 5G elektromagnetskom zračenju svim istraživanim frekvencijama imalo učinak na promjenu strukture citoskeleta što je izazvalo poremećaj stanične membrane, čineći stanice propusnijima i uzrokovalo je deformaciju membrane u većine izloženih eritrocita.

U dostupnoj literaturi nema ni podataka o učinku RF-EMZ-a na morfometrijske pokazatelje eritrocita svinja te stoga dobivene podatke o nije moguće usporediti s ostalim podacima. U ovom istraživanju utvrđeno je da učinak 5G elektromagnetskog zračenja na morfometriju svinjskih eritrocita u *in vitro* ozračenoj krvi ovisi o frekvenciji zračenja kao što je utvrđeno i za ljudske eritrocite. Nadalje, kao i za ljudske eritrocite najizraženiji učinak na morfometriju svinjskih eritrocita ima zračenje frekvencije od 700 MHz, zatim frekvencija 3500 MHz, a frekvencija od 2500 MHz nema značajan učinak na morfometriju svinjskih eritrocita, a koja je zabilježena u ljudskih eritrocita. Dobivene rezultate možemo tumačiti prema saznanjima da učinci RF-EMZ-a na tjelesne sustave/stanice ovise o frekvenciji i ostalim čimbenicima (CHALLIS, 2005., ALGHAMDI i EL-GHAZALY, 2012., HU i sur., 2021., KARIPIDIS i sur., 2021b.), a u ovom istraživanju na morfometriju svinjskih eritrocita najštetniji učinak ima zračenje frekvencije od 700 MHz za ljudske i za svinjske eritrocite. U ovom istraživanju utvrđeno je da zračenje frekvencije od 700 MHz dovodi do značajnog povećanja naboranosti i značajne promjene oblika eritrocita, odnosno izduljili su se, a učinak zračenja sa 3 500 MHz očitovao se sa značajno manjom naboranošću eritrocita i značajno manjim opsegom.

Naboranost stanične membrane je pokazatelj „zdravstvenog stanja“ stanice. Dokazano je da izmjene sastava lipida i asimetrija fosfolipidnog dvosloja utječu na oblik eritrocita, kao i na deformabilnost stanice. Promjene citoskeletnih proteina koji povezuju fosfolipidni dvosloj i mrežu spektrina utječu posebno na integritet membrane eritrocita. Promjene u obliku, mehaničkim obilježjima ili cjelovitosti eritrocita imaju ozbiljne implikacije na funkcionalnost stanice, bilo da su uzrokovane utjecajem okoliša, naslijeđem

ili uslijed bolesti. Naime, integritet citoskeleta mjeren kao površinska naboranost u korelaciji je s funkcionalnim statusom stanice (BUYS, 2013., GEEKIYANAGE i sur., 2020.). U ovom istraživanju učinak zračenja frekvencije od 700 MHz na svinjske eritrocite očitovao se kao značajno povećanje naboranosti i značajne promjene oblika eritrocita, odnosno izduljili su se. Takove promjene na eritrocitima su zabilježene u ljudi koji su imali dijabetes tipa II te u hiperkolesterolemiji (COOPER i sur., 1975., BUYS, 2013., STRIJKOVA-KENDEROVA i sur., 2022.). Navedeno bi ukazivalo da obzirom da svinje nemaju u krvi više kolesterola u odnosu na ljude, učinak frekvencije 700 MHz 5G elektromagnetskog zračenja imao je drugačiji mehanizam na svinjske eritrocite u odnosu na izložene ljudske eritrocite u ovom istraživanju, kod kojih se osim povećane naboranosti povećao i volumen eritrocita odnosno postali su više okrugliji/sferični.

Poznato je da mikrovalno zračenje uzrokuje tri različita mehanizma stanične smrti i to nekrozu, apoptozu ili autofagiju. Apoptoza je sporo napredujući i visoko regulirani programirani proces stanične smrti koji se može dogoditi i zbog unutarnjih i vanjskih podražaja. U apoptozu su uključeni različiti biokemijski događaji koji dovode do morfoloških promjena kao što su „skupljanje“ stanica, stvaranje naboranosti membrane kao posljedica stvorenih mjehurićastih tvorbi uzrokovanih promjenom u citoskeletu sa posljedičnim odvajanjem mebrane od citoplazme stanica, kondenzacija kromatina, fragmentacija kromosomske DNA i fragmentacija jezgre (MANNA i GHOSH, 2016.). Prema navedenom čini se da se izloženost svinjskih eritrocita frekvenciji 3 500 MHz 5G elektromagnetskom zračenju očitovala sa značajno manjom naboranošću eritrocita i značajno manjim opsegom kao posljedica procesa sličnog apoptozi/programiranoj smrti stanica što se i odrazilo na značajno manji broj eritrocita u izloženoj svinjskoj krvi pri istoj frekvenciji. Naime, apoptoza se događa samo u stanicama koje imaju mitohondrije, no utvrđeno je da se u eritrocitima događaju apoptozi nalik promijene (eriptoza) kao posljedica izvanjskih ili unutarnjih čimbenika (ALGHAREEB i sur., 2023.).

Prisustvo subpopulacija eritrocita u ljudi i svinja na temelju njihovih morfometrijskih pokazatelja, istim statističkim metodama kao i u istraživanju kojeg su proveli ŽURA ŽAJA i sur., (2019.), utvrđeno je i u ovom istraživanju nakon *in vitro* izlaganja krvi 5G elektromagnetskom zračenju svim istraživanim frekvencijama. Naime, 5G elektromagnetsko zračenje svih istraživanih frekvencija ne utječe na udio dobivenih subpopulacija svinjskih eritrocita u *in vitro* ozračenoj svinjskoj krvi.

U ovom istraživanju utvrđeno je da je sveukupni učinak 5G elektromagnetskog zračenja na morfometriju izloženih ljudskih eritrocita značajniji u odnosu na morfometriju izloženih svinjskih eritrocita. Izloženost RF-EMZ-u pridonosi kumulativni učinak suvremenih izvora izloženosti iz okoliša (STERLING i sur., 2022.), osim toga poznato je da postoji vrsna razlika u odgovoru prema osjetljivosti na RF-EMZ (HALGAMUGE i sur., 2020.). Nadalje, svinje se smatraju najboljim modelom za istraživanja čiji su rezultati primjenjivi na ljudima, a navodi se i moguća primjena svinjskih eritrocita u liječenju ljudi (CHORNENKYY i sur., 2023.). Za pretpostaviti je da je učinak 5G elektromagnetskog zračenja na morfometriju eritrocita kumulativan, budući da su svi ispitanici svakodnevno izloženi 5G elektromagnetskom zračenju te su imali značajnije promjene na morfometriji eritrocita ovisno i neovisno o frekvenciji zračenja u odnosu na svinje koje nisu toliko izložene.

7. ZAKLJUČCI

Rezultati istraživanja učinka 5G elektromagnetskog zračenja na hematološke pokazatelje, morfometriju eritrocita i aktivaciju trombocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj i životinjskoj krvi omogućuju sljedeće zaključke:

1. 5G elektromagnetsko zračenje nema učinak na vrijednosti hematoloških pokazatelja u *in vitro* ozračenju ljudskoj krvi.

2. 5G elektromagnetsko zračenje nema učinak na vrijednosti hematoloških pokazatelja u *in vitro* ozračenju svinjskoj krvi ne uzimajući u obzir frekvenciju zračenja.

5G elektromagnetsko zračenje frekvencije 3500 MHz ima negativan učinak na promjenu vrijednosti tri hematološka pokazatelja (broj neutrofila, broj eritrocita i MCV) u *in vitro* ozračenju svinjskoj krvi.

3. 5G elektromagnetsko zračenje ima negativan učinak na morfometriju ljudskih eritrocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj krvi.

In vitro ozračeni ljudski eritrociti muških i ženskih ispitanika su se značajno povećali, ispupčili (povećali konveksnu površinu) i naborali. Eritrociti su se u muškaraca značajnije naborali, a eritrociti u žena značajnije povećali i ispupčili.

4. Negativni učinak 5G elektromagnetskog zračenja na morfometriju ljudskih eritrocita u *in vitro* ozračenju krvi ovisi o frekvenciji zračenja i spolu.

Najštetniji učinak na morfometriju ljudskih eritrocita ima zračenje frekvencije od 700 MHz, zatim frekvencija 3500 MHz, a najmanji učinak ima frekvencija 2500 MHz.

Eritrociti žena su podložniji negativnom učinku 5G elektromagnetskog zračenja u *in vitro* ozračenju krvi.

Zračenje frekvencije od 700 MHz ima značajniji negativni učinak na vrijednosti morfometrijskih pokazatelja eritrocita žena u odnosu na eritrocite muškaraca, a negativni učinak zračenja sa 3500 MHz i 2500 MHz na morfometriju eritrocita zabilježen je skupno ne uzimajući u obzir spol te samo u žena.

5. 5G elektromagnetsko zračenje ima učinak na morfometriju svinjskih eritrocita u *in vitro* ozračenju krvi.

In vitro ozračeni svinjski eritrociti su značajno promijenili svoj oblik, odnosno izduljili se.

6. Učinak 5G elektromagnetskog zračenja na morfometriju svinjskih eritrocita u *in vitro* ozračenju krvi ovisi o frekvenciji zračenja.
Najizraženiji učinak na morfometriju svinjskih eritrocita ima zračenje frekvencije od 700 MHz, zatim frekvencija 3500 MHz, a frekvencija od 2500 MHz nema značajan učinak na morfometriju svinjskih eritrocita.
Zračenje frekvencije od 700 MHz dovelo je do značajnog povećanja naboranosti i značajne promjene oblika eritrocita, odnosno izduljili su se, a učinak zračenja s 3 500 MHz očitovao se sa značajno manjom naboranošću eritrocita i značajno manjim opsegom.
7. 5G elektromagnetsko zračenje svih istraživanih frekvencija značajno povećava udio ES 2 subpopulacija ljudskih eritrocita (veći, ispuččeniji i naboraniji) u *in vitro* ozračenju ljudskoj krvi.
8. 5G elektromagnetsko zračenje svih istraživanih frekvencija ne utječe na udio dobivenih subpopulacija svinjskih eritrocita u *in vitro* ozračenju svinjskoj krvi.
9. Naboraniji eritrociti imaju veće vrijednosti indeksa pravilnosti površine te manje vrijednosti indeksa ispunjenosti i faktora zaokruženosti oblika, što je potvrđeno korelacijskim analizama između navedenih morfometrijskih pokazatelja oblika eritrocita.
10. 5G elektromagnetsko zračenje nema učinak na aktivaciju trombocita u *in vitro* ozračenju ljudskoj krvi.

Zaključno iz dobivenih rezultata može se pretpostaviti da 5G elektromagnetsko zračenje osobito frekvencije 700 MHz ima učinak na funkciju eritrocita i kraći životni vijek eritrocita što je potrebno dodatno istražiti. Za pretpostaviti je da je učinak 5G elektromagnetskog zračenja na morfometriju / funkciju eritrocita kumulativan, s obzirom na to da su svi ispitanici svakodnevno izloženi 5G elektromagnetskom zračenju te su imali značajnije promjene na morfometriji eritrocita ovisno i neovisno o frekvenciji zračenja u odnosu na svinje koje nisu toliko izložene.

Budući se radi o prvom istraživanju o utjecaju 5G mreže na navedene pokazatelje, potrebna su svakako dodatna istraživanja koja bi mogla potvrditi ili opovrgnuti rezultate dobivene u ovom istraživanju.

8. POPIS LITERATURE

- ABDOLMALEKI, A., F. SANGINABADI, A. RAJABI, R. SABERI (2012): The effect of electromagnetic waves exposure on blood parameters. *Int. J. Hematol. Oncol. Stem. Cell. Res.* 6, 13-16.
- ADEBAYO, E. A., A. O. ADEEYO, M. A. OGUNDIRAN, O. OLABISI (2019): Bio-physical effects of radiofrequency electromagnetic radiation (RF-EMR) on blood parameters, spermatozoa, liver, kidney and heart of albino rats. *J. King Saud. Univ. Sci.* 31, 813–821.
- ADILI, N., M. MELIZI, H. BELABBAS (2016): Species determination using the red blood cells morphometry in domestic animals. *Vet. World* 9, 960–963. doi:10.14202/vetworld.2016.960-963
- ADILI, N., M. MELIZI, H. BELABBAS, A. BALA, S. MERAD, F. BOUALI, O. BENNOUNE (2017): Morphometric study of red blood cells in Sloughi and German Shepherd dogs. *Bulg. J. Vet. Med.* 20, 125–130.
- AGIWAL, M., A.ROY, N. SAXENA (2016): Next generation 5G wireless networks: A comprehensive survey. *IEEE Commun. Surv.* 18, 1617–1655.
- AHMED, I., E. BALESTRIERI, I. TUDOSA, F. LAMONACA (2021): Morphometric measurements of blood cell. *Meas.: Sens.* 18, 100294. doi.org/10.1016/j.measen.2021.100294.
- ALCHALABI, A. S. H., E. AKLILU, A. R. AZIZ, F. MALEK, S. H. RONALD, M. A. KHAN (2015): Exposure to 1800 MHz GSM- like radiofrequency electromagnetic field reduces follicular development and overall fertility of female rats. *South Asian J. Exp. Biol.* 5, 127-136.
- ALGHAMDI, M. S., N. A. EL-GHAZALY (2012): Effects of exposure to electromagnetic field on some hematological parameters in mice. *Open J. Med. Chem.* 2, 30-42.
- ALGHAREEB, S. A., M. A. ALFHILI, S. FATIMA (2023): Molecular mechanisms and pathophysiological significance of eryptosis. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 5079. doi: 10.3390/ijms24065079.
- AL-NAMARI, M. A., A.,M. MANSOOR, M. Y. I. IDRIS (2017): A brief survey on 5G wireless mobile network. *Int. J. Adv. Comput. Sci. Appl.* 8, 52–59.

- AL-UBOODY, W. S. H. (2015): Effect of mobil phone electromagnetic waves on the haematological and biochemical parameters in laboratory mice (*Mus musculus*). *Bas. J. Vet. Res.* 14, 250–264.
- ALZUA, B., M. SMITH, Y. CHEN (2020): A flow cytometry method for characterizing platelet activation. *Proceedings of the 2020 Design of Medical Devices Conference*. 2020 Design of Medical Devices Conference, 6–9 April, Minneapolis, Minnesota, USA., V001T01A010. ASME. doi.org/10.1115/DMD2020-9070
- AMES, B. N., M. K. SHIGENAGA, T. M. HAGEN (1993): Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 90. 7915–7922.
- ANDERSEN, A. D., M. BINZER, E. STENAGER, J. B. GRAMSBERGEN (2017): Cerebrospinal fluid biomarkers for Parkinson’s disease—A systematic review. *Acta Neurol. Scand.* 135, 34–56.
- AWWAD, M. H., S. A. M. EL-ZAWAHRY, R. M. SH. OUF (2017): Ripoprinting studies on the effect of mobile phone radiations on mice. *IJSR* 6, 222-233. doi: 10.21275/ART20173894
- AZAB, A. E., S. A. EBRAHIM (2017): Exposure to electromagnetic fields induces oxidative stress and pathophysiological changes in the cardiovascular system. *J. Appl. Biotechnol. Bioeng.* 4, 540-545.
- BANDARA, P., D. O. CARPENTER (2018): Planetary Electromagnetic Pollution: It Is Time to Assess Its Impact. *Lancet Planet. Health.* 2, e512–e514. doi.org/10.1016/S2542-5196(18)30221-3.
- BANIK, S., S. BANDYOPADHYAY, S. GANGULY (2003): Bioeffects of microwave - A brief review. *Bioresour. Technol.* 87, 155–159.
- BARBOUR, R., K. KLING, J. P. ANDERSON, K. BANDUCCI, T. COLE, L. DIEP, M. FOX, J. M. GOLDSTEIN, F. SORIANO, P. SEUBERT, T. J. CHILCOTE (2008): Red blood cells are the major source of alpha-synuclein in blood. *Neurodegener. Dis.* 5, 55–59.
- BASAGA, H. S. (1990): Biochemical aspects of free radicals. *Biochem. Cell. Biol.* 68, 989–998.
- BETZ, T., U. BAKOWSKY, M. R. MÜLLER, C. M. LEHR, I. BERNHARDT (2007): Conformational change of membrane proteins leads to shape changes of red blood cells. *Bioelectrochemistry* 70, 122–126.

- BOGDANOVA, A., L. KAESTNER, G. SIMIONATO, A. WICKREMA, A. MAKHRO (2020): Heterogeneity of red blood cells: causes and consequences. *Front. Physiol.* 11, 392. doi: 10.3389/fphys.2020.00392
- BOR-KUCUKATAY, M., R. B. WENBY, H. J. MEISELMAN, O. K. BASKURT (2003): Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 284, H1577–H1584. doi: 10.1152/ajpheart.00665.2002
- BOSCH, F. H., J. M. WERRE, B. ROERDINKHOLDER-STOELWINDER, T. H. HULS, F. L. WILLEKENS, M. R. (1992): Halie Characteristics of red blood cell populations fractionated with a combination of counterflow centrifugation and Percoll separation. *Blood* 79, 254-60.
- BROOKS, M. B., K.E. HARR, D. M. SEELIG, K. J. WARDROP, D. J. WEISS (2022): Schalm's Veterinary hematology, John Wiley & Sons, Hoboken, USA.
- BURMAŃCZUK, A., A. MILCZAK, T. GRABOWSKI, M. OSYPIUK, C. KOWALSKI (2016): The using of a piglets as a model for evaluating the dipyrone hematological effects. *BMC Vet. Res.* 12, 263.
- BUYS, A. V., M. J. VAN ROOY, P. SOMA, D. VAN PAPENDORP, B. LIPINSKI, E. PRETORIUS (2013): Changes in red blood cell membrane structure in type 2 diabetes: a scanning electron and atomic force microscopy study. *Cardiovasc. Diabetol.* 12, 25. doi.org/10.1186/1475-2840-12-25
- BUZZI, S., I. CHIH-LIN, T. E. KLEIN, H. V. POOR, C. YANG, A. ZAPPONE (2016): A survey of energy-efficient techniques for 5G networks and challenges ahead. *IEEE J. Sel. Areas Commun.* 34, 697–709.
- CALCABRINI, C., U. MANCINI, R. DE BELLIS, A. R. DIAZ, M. MARTINELLI, L. CUCCHIARINI, P. SESTILI, V. STOCCHI, L. POTENZA (2017): Effect of extremely low-frequency electromagnetic fields on antioxidant activity in the human keratinocyte cell line NCTC 2544. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 64, 415-422. doi: 10.1002/bab.1495. Epub 2016 Oct 10
- CHALLIS, L. J. (2005): Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics* 7, S98–S106.
- CHORNENKYY, Y., T. YAMAMOTO, H. HARA, S. R. STOWELL, I. GHIRAN, S. C. ROBSON, D. K. C. COOPER (2023): Future prospects for the clinical transfusion of pig red blood cells. *Blood Rev.* 61, 101113. doi.org/10.1016/j.blre.2023.101113.

- CHRISTOPHER, B., Y. MARY, M. KHANDAKER, D. BRADLEY, M. T. CHEW, J. JOHN (2020): Effects of mobile phone radiation on certain hematological parameters. *Radiat. Phys. Chem.* 166, 108443. doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.108443
- CONNOR, J., C. C. PAK, A. J. SCHROIT (1994): Exposure of phosphatidylserine in the outer leaflet of human red blood cells. Relationship to cell density, cell age, and clearance by mononuclear cells. *J. Biol. Chem.* 269, 2399-2404.
- COOPER, R. A., E. C. ARNER, J. S. WILEY, S. J. SHATTIL (1975): Modification of red cell membrane structure by cholesterol rich lipid dispersions. A model for the primary spur cell defect, *J. Clin. Invest.* 55, 115–126.
- Council Recommendation of 12 July 1999 on the limitation of exposure of the general public to electromagnetic fields (0 Hz to 300 GHz) (1999/519/EC).
- CUI, K., X. LUO, K. XU, M. R. VEN MURTHY (2004): Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 28, 771–799.
- D'ALESSANDRO, A., B. BLASI, G. M. D'AMICI, C. MARROCCO, L. ZOLLA (2013): Red blood cell subpopulations in freshly drawn blood: application of proteomics and metabolomics to a decades-long biological issue. *Blood. Transfus.* 11, 75-87. doi.org/10.2450/2012.0164-11
- DALY, M. E. (2011): Determinants of platelet count in humans. *Haematologica* 96, 10–13. doi: 10.3324/haematol.2010.035287
- DANGI, R., P. LALWANI, G. CHOUDHARY, I. YOU, G. PAU (2022): Study and Investigation on 5G Technology: A Systematic Review. *Sensors*, 22, 26. doi.org/10.3390/s22010026
- DASDAG, S., M. Z. AKDAG, (2016). The link between radiofrequencies emitted from wireless technologies and oxidative stress. *J. Chem. Neuroanat.* 75, 85–93. doi:10.1016/j.jchemneu.2015.09.001
- DE-MATTEI, M., K. VARANI, F. F. MASIERI (2009): Adenosine analogs and electromagnetic fields inhibit prostaglandin E2 release in bovine synovial fibroblasts Osteoarthritis Cartilage. 17, 252-262.

- DEUTICKE, B. (2003): Membrane lipids and proteins as a basis of red cell shape and its alterations. U: Red Cell Membrane Transport in Health and Disease (Bernhardt, I., J. C. Ellory, Eds.) Springer, Berlin/Heidelberg, Germany, str. 27–60.
- DI SERIO, A., J. BUCKLEY, J. BARTON, R. NEWBERRY, M. RODENCAL, G. DUNLOP, B. O'FLYNN. (2018): Potential of sub-GHz wireless for future IoT wearables and design of compact 915 MHz antenna. *Sensors* 18, 22. doi:10.3390/s18010022
- DI-LORETO, S., S. FALONE, V. CARACCIOLO (2009): Fifty hertz extremely low-frequency magnetic field exposure elicits redox and trophic response in rat-cortical neurons. *J. Cell. Physiol.* 219, 334-343.
- DONG, V. N. K., L. TANTISUWAT, P. SETTHAWONG, T. THARASANIT, S. SUTAYATRAM, A. KIJTAWORNARAT (2022): The preliminary chronic effects of electromagnetic radiation from mobile phones on heart rate variability, cardiac function, blood profiles, and semen quality in healthy dogs. *Vet. Sci.* 9, 201. doi.org/10.3390/vetsci9050201
- DŽAFIĆ, F., M. DELIĆ-ŠARAC, S. MUTEVELIĆ, J. KARAMEHIĆ (2018): Protočna citometrija: osnove i značaj u kliničkoj praksi. Soreli, Tuzla, BiH.
- ELZANATY, A., L. CHIARAVIGLIO, M.-S. ALOUINI (2021): 5G and EMF exposure: misinformation, open questions, and potential solutions. *Front. Comms. Net.* 2, 635716. doi:10.3389/frcmn.2021.635716
- ESCOLAR, G., J. G. WHITE (2000): Changes in glikoprotein expression after platelet activation: difference between *in vitro* and *in vivo* studies. *Thromb. Haemost.* 83, 371–86.
- FANG, Y. Z., S. YANG, G. WU (2002): Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18, 872–879.
- FARBER, P. L., T. FREITAS, C. SALDANHA, A. S. SILVA-HERDADE (2018): Betaestradiol and ethinylestradiol enhance RBC deformability dependent on their blood concentration. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 70, 339–345. doi: 10.3233/CH-180392
- FOLETTI, A., A. LISI, M. LEDDA, F. DE-CARLO, S. GRIMALDI (2009): Cellular ELF signals as a possible tool in informative medicine *Electromagn. Biol. Med.* 28, 71-79.

- FOSTER, K. R., J. E. MOULDER (2013): Wi-Fi and health: review of current status of research. *Health Phys.* 105, 561-75. doi:10.1097/HP.0b013e31829b49bb
- FRAGOPOULOU, A. F., S. L. KOUSSOULAKOS, L. H. MARGARITIS (2010): Cranial and postcranial skeletal variations induced in mouse embryos by mobile phone radiation. *Pathophysiol.* 17, 169–77.
- FRIDOVICH, I. (1999): Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 893, 13–18.
- GEEKIYANAGE, N., E. SAURET, S. SAHA, R. FLOWER, Y. T. GU (2020): Modelling of red blood cell morphological and deformability changes during *in-vitro* storage. *Appl. Sci.* 10, 3209; doi:10.3390/app10093209
- GIRASOLE, M., S., DINARELLI, G. BOUMIS, (2012): Structure and function in native and pathological erythrocytes: A quantitative view from the nanoscale. *Micron.* 43, 1273–1286.
- GOODMAN, R., A. LIN-YE, M. S. GEDDIS (2009): Extremely low frequency electromagnetic fields activate the ERK cascade, increase hsp70 protein levels and promote regeneration in Planaria. *Int. J. Radiat. Biol.* 85, 851-859.
- GRAU, M., J. M. CREMER, S. SCHMEICHEL, M. KUNKEL, W. BLOCH (2018): Comparisons of blood parameters, red blood cell deformability and circulating nitric oxide between males and females considering hormonal contraception: A longitudinal gender study. *Front. Physiol.* 9, 1835. doi: 10.3389/fphys.2018.01835.
- GRAU, M., S. PAULY, J. ALI, K. WALPURGIS, M. THEVIS, W. BLOCH, F. SUHR (2013): RBC-NOS-dependent S-nitrosylation of cytoskeletal proteins improves RBC deformability. *PLoS One* 8:e56759. doi: 10.1371/journal.pone.0056759
- GREMMEL, T., A. L. FRELINGER, A. D. MICHELSON (2016): Platelet physiology. *Semin. Thromb. Hemost.* 42, 191–204.
- HA, B.-Y. (2001): Stabilization and destabilization of cell membranes by multivalent ions. *Phys. Rev. E* 64, 051902. doi: 10.1103/PhysRevE.64.051902
- HALGAMUGE, M. N., E. SKAFIDASA, D. DAVIS (2020): A meta-analysis of *in vitro* exposures to weak radiofrequency radiation exposure from mobile phones (1990–2015). *Environ. Res.* 184, 109227. doi.org/10.1016/j.envres.2020.109227
- HALLIWELL, B. (1994): Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr. Rev.* 52, 253–265.

- HALLIWELL, B. (2001): Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging* 18, 685–716.
- HALLIWELL, B. (2007): Oxidative stress and cancer: have we moved forward. *Biochem. J.* 401, 1–11.
- HARDELL, L., M, CARLBERG (2020): Health risks from radiofrequency radiation, including 5G, should be assessed by experts with no conflicts of interest. *Oncol. Lett.* 20, 15. doi: 10.3892/ol.2020.11876
- HARDIAN, A. B., W. P. NUGRAHANI, I. P. RAHMAWATI, D. V. MEGARANI (2023): Blood cells morphometry and descriptive morphology of captive changeable hawk eagles (*Nisaetus cirratus*) at Wildlife rescue centre Jogja. *Acta. Vet. Indones.* 11, 69–78.
- HARVEY, J. W. (2009): The erythrocyte: Physiology, metabolism and biochemical disorders. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. (Kaneko, J. J., J. W. Harvey, M. L. Bruss, Eds.) San Diego, Academic Press Inc. str. 173-240.
- HASAN, H., A. ISSMER (2014): Effect of emitted radiation from mobile phones and its base station antennas on some biochemical parameters in human red blood cells. *Int. J. Sci. Engineer Res.* 5, 965-970.
- HASAN, I., M. R. ISLAM (2020): Biochemical and histopathological effects of mobile phone radiation on the liver of Swiss albino mice. *Eur. J. Anat.* 24, 257-261.
- HAYNES, M. P., D. SINHA, K. S. RUSSELL, M. COLLINGE, D. FULTON, M. MORALES-RUIZ, W. C. SESSA, J. R. BENDER (2000): Membrane estrogen receptor engagement activates endothelial nitric oxide synthase via the PI3-kinase-Akt pathway in human endothelial cells. *Circ. Res.* 87, 677–682. doi: 10.1161/01.RES.87.8.677
- HENSCHENMACHER, B., A. BITSCH, T. DE LAS HERAS GALA, H. J. FORMAN, A. FRAGOULIS, P. GHEZZI, R. KELLNER, W. KOCH, J. KUHNE, D. SACHNO, G. SCHMID, K. TSAIOUN, J. VERBEEK, R. WRIGHT (2022): The effect of radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) on biomarkers of oxidative stress in vivo and in vitro: A protocol for a systematic review. *Environ. Int.* 158, 106932. doi: 10.1016/j.envint.2021
- HIGGINS, J. M. (2015): Red blood cell population dynamics. *Clin. Lab. Med.* 35, 43-57. doi: 10.1016/j.cll.2014.10.002.

- Hrvatska regulatorna agencija za mrežne djelatnosti (HAKOM) (2021): Dostupno na: <https://www.hakom.hr/hr/5g-mreza-u-hrvatskoj/392> [pristupljeno 10.2.2024.]
- HU, C., H. ZUO, Y. LI (2021): Effects of Radiofrequency Electromagnetic Radiation on Neurotransmitters in the Brain. *Front. Public Health* 17, 691880.
- HUA, V. M., V. M. CHEN (2015): Procoagulant platelets and the pathways leading to cell death. *Semin. Thromb. Hemost.* 41, 405-12.
- ICNIRP (1998): Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. *Health Phys.* 74, 494-522. Dostupno na: <https://www.icnirp.org/cms/upload/publications/ICNIRPemfgdl.pdf> [pristupljeno 15.2.2024.]
- IORIO, R., S. DELLE-MONACHE, F. BENNATO (2011): Involvement of mitochondrial activity in mediating ELF-EMF stimulatory effect on human sperm motility *Bioelectromagn.* 32, 15-27.
- ITALIANO, J. E. Jr. (2013): Unraveling mechanisms that control platelet production. *Semin. Thromb. Hemost.* 39, 15-24.
- JBIREAL, J. M., A. E. AZAB, A. S. I. ELSAYED (2018): Disturbance in haematological parameters induced by exposure to electromagnetic fields. *Hematol. Transfus. Int. J.* 6, 242–251. doi: 10.15406/htij.2018.06.00193
- JELLINGER, K. A. (2007): Morphological substrates of parkinsonism with and without dementia: A retrospective clinico-pathological study. *J. Neural. Transm. Suppl.* 72, 91–104.
- JORDAN, A., D. CHEN, Q. L. YI, T. KANIAS, M. T. GLADWIN, J. P. ACKER (2016): Assessing the influence of component processing and donor characteristics on quality of red cell concentrates using quality control data. *Vox Sang.* 111, 8-15. doi: 10.1111/vox.12378.
- JURICA, K., I. BRČIĆ KARAČONJI, N. KOPJAR, A. SHEK-VUGROVEČKI, T. CIKAČ, V. BENKOVIĆ (2018): The effects of strawberry tree water leaf extract, arbutin and hydroquinone on haematological parameters and levels of primary DNA damage in white blood cells of rats. *J. Ethnopharmacol.* 215, 83-90. doi: 10.1016/j.jep.2017.12.039

- KANIAS, T., D. SINCHAR, D. OSEI-HWEDIEH, J. J. BAUST, A. JORDAN, J. C. ZIMRING, H. R. WATERMAN, K. S. DE WOLSKI, J. P. ACKER, M. T. GLADWIN (2016): Testosterone-dependent sex differences in red blood cell hemolysis in storage, stress and disease. *Transfusion*. 56, 2571–2583. doi:10.1111/trf.13745
- KARIPIDIS, K., C. BRZOZEK, C.R. BHATT, S. LOUGHRAN, A. WOOD (2021b): What evidence exists on the impact of anthropogenic radiofrequency electromagnetic fields on animals and plants in the environment? A systematic map protocol. *Environ. Evid.* 10, 39. doi.org/10.1186/s13750-021-00252-w
- KARIPIDIS, K., R. MATE, D. URBAN, R. TINKER, A. WOOD (2021a): 5G mobile networks and health—a state of the science review of the research into low-level RF fields above 6 GHz. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 31, 585–605. doi.org/10.1038/s41370-021-00297-6
- KAZEMI, E., S. M. J. MORTAZAVI, A. ALI-GHANBARI, S. SHARIFZADEH, R. RANJBARAN, Z. MOSTAFAVIPOUR, F. ZAL, M. HAGHANI (2015): Effect of 900 MHz Electromagnetic Radiation on the Induction of ROS in human peripheral blood mononuclear cells. *J. Biomed. Phys. Eng.* 5, 105–114.
- KHAMIDOVA, G. M. (2014): The influence of radiofrequency electromagnetic radiation on the platelet aggregation. *Int. J. Biomed.* 4, 155-158.
- KIKO, T., K. NAKAGAWA, A. SATOH, T. TSUDUKI, K. FURUKAWA, H. ARAI, T. MIYAZAWA (2012): Amyloid β levels in human red blood cells. *PLoS ONE* 7, e49620.
- KISMALI, G., E. OZGUR, G. GULER, A. AKCAY, T. SEL, N. SEYHAN (2012): The influence of 1800 MHz GSM-like signals on blood chemistry and oxidative stress in non-pregnant and pregnant rabbits. *Int. J. Radiat. Biol.* 88, 414–419.
- KIVRAK, E. G., K. K. YURT, A. A. KAPLAN, I. ALKAN, G. ALTUN (2017): Effects of electromagnetic fields exposure on the antioxidant defense system. *J. Microsc. Ultrastruct.* 5, 167-176.
- KLEINBONGARD, P., R. SCHULZ, T. RASSAF, T. LAUER, A. DEJAM, T. JAX, I. KUMARA, P. GHARINI, S. KABANOVA, B. OZÜYAMAN, H. G. SCHNÜRCH, A. GÖDECKE, A. A. WEBER, M. ROBENEK, H. ROBENEK, W. BLOCH, P. RÖSEN, M. KELM (2006): Red blood cells express a functional

- endothelial nitric oxide synthase. *Blood* 107, 2943–2951. doi: 10.1182/blood-2005-10-3992
- KOOHESTANIDEHAGHI, Y., M. A. KHALILI, F. FESAHAAT, M. SEIFY, E. MANGOLI, S. M. KALANTAR, S. A. NOTTOLA, G. MACCHIARELLI, M. G. PALMERINI (2023): Detrimental effects of radiofrequency electromagnetic waves emitted by mobile phones on morphokinetics, oxidative stress, and apoptosis in mouse preimplantation embryos. *Environ. Pollut.* 336, 122411. doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122411
- KUMARI, P., S. D. MANJULA, K. GAUTHAM (2016): In vitro study of effect of radiation emitted by mobile phone on osmotic fragility and other blood parameters. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* 7, 1283-1292.
- LA VIGNERA S., R. A. CONDORELLI, E. VICARI , R. D'AGATA, A. E. CALOGERO (2012): Effects of the exposure to mobile phones on male reproduction: a review of the literature. *J. Androl.* 33, 350–356. doi:10.2164/jandrol.111.014373
- LABAR, B., E. HAUPTMANN (2007): *Hematologija. Školska knjiga Zagreb.*
- LAI, H., N. P. SINGH (2004): Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. *Environ. Health Perspect.* 112, 687–694.
- LAN, J., J. LIU, Z. ZHAO, R. XUE, N. ZHANG, P. ZHANG, P. ZHAO, F. ZHENG, SUN, X. (2015): The peripheral blood of A β Binding RBC as a biomarker for diagnosis of Alzheimer's disease. *Age Ageing* 44, 458–464.
- LANGARI, A., V. STRIJKOVA, R. KOMSA-PENKOVA, A. DANAILOVA, S. KRUMOVA, S. G. TANEVA, I. GIOSHEVA, E. GARTCHEV, K. KERCHEVA, A. SAVOV, S. TODINOVA (2022): Morphometric and nanomechanical features of erythrocytes characteristic of early pregnancy loss. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 4512. doi.org/10.3390/ijms23094512
- LENZI, E., S. DINARELLI, G. LONGO, M. GIRASOLE, V. MUSSI (2021): Multivariate analysis of mean Raman spectra of erythrocytes for a fast analysis of the biochemical signature of ageing. *Talanta* 221, 121442.
- LESZCZYNSKI, D., S. JOENVAARA, J. REIVINEN, R. KUOKKA (2002): Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone

radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer- and blood-brain barrier-related effects. *Differentiation* 70, 120–129.

- LI, D. Y., J. D. SONG, Z. Y. LIANG, K. OSKOU EI, X. Q. XIAO, W. Z. HOU, J. T. LI, Y. S. YANG, M. L. WANG, M. MURBACH (2020): Apoptotic Effect of 1800 MHz Electromagnetic Radiation on NIH/3T3 Cells. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 17, 819. doi: 10.3390/ijerph17030819
- LINDEN, M. D., A. L. FRELINGER, M. R. BARNARD, K. PRZYKLENK, M. I. FURMAN, A. D. MICHELSON (2004): Application of flow cytometry to platelet disorders. *Semin. Thromb. Hemost.* 30, 501–511.
- LIPPI, G. (2016): Genetic and non-genetic determinants of mean platelet volume. *Blood* 127, 179-180.
- LIPPI, G., E. DANESE, G. BROCCO, M. GELATI, G. L. SALVAGNO, M. MONTAGNANA (2017): Acute effects of 30 minutes of exposure to a smartphone call on in vitro platelet function. *Blood. Transfus.* 15, 249-253. doi: 10.2450/2016.0327-15
- MAGIERA, A., J. SOLECKA (2020): Radiofrequency electromagnetic radiation from Wi-fi and its effects on human health, in particular children and adolescents. *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* 71, 251-259.
- MALARIĆ, K., D. ŠIMUNIĆ, R. ZENTNER (2016): Ekonomija i ekologija
- MANNA, D., R. GHOSH (2016): Effect of radiofrequency radiation in cultured mammalian cells: A review. *Electromagn. Biol. Med.* doi:10.3109/15368378.2015.1092158
- MANJUNATHA, M., M. SINGH (2000): Digital analysis of induced erythrocyte shape changes in hypercholesterolemia under in vitro conditions. *Curr. Sci.* 79, 1588–1591.
- MASOUMI, A., N. KARBALAEI, S. M. J. MORTAZAVI, M. SHABANI (2018): Radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi (2.4 GHz) causes impaired insulin secretion and increased oxidative stress in rat pancreatic islets. *Int. J. Radiat. Biol.* 94, 850-857. doi: 10.1080/09553002.2018.1490039
- MATTSON, M. P. (2004): Metal-catalyzed disruption of membrane protein and lipid signaling in the pathogenesis of neurodegenerative disorders. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1012, 37–50.

- MCKENZIE, S. B., J. L. WILLIAMS (2010): Clinical laboratory hematology. 2nd ed., Pearson, New Jersey.
- MEGHA, K., P. S. DESHMUKH, B. D. BANERJEE, A. K. TRIPATHI, M. P. ABEGAONKAR (2012): Microwave radiation induced oxidative stress, cognitive impairment and inflammation in brain of Fischer rats. *Indian J. Exp. Biol.* 50, 889–896.
- MOHANDAS, N., J. A. CHASIS (1993): Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin. Hematol.* 30, 171–192.
- MOHANTY, J. G., E. NAGABABU, J. M. RIFKIND (2014): Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. *Front. Physiol.* 28, 5–84.
- MONTOYA-NAVARRETE, A. L., A. L. GUERRERO-BARRERA, T. QUEZADA-TRISTÁN, A. G. VALDIVIA-FLORES, M. J. CANO-RÁBANO (2022): Red blood cells morphology and morphometry in adult, senior, and geriatricians dogs by optical and scanning electron microscopy. *Front. Vet. Sci.* 9, 998438. doi: 10.3389/fvets.2022.998438
- NGUYEN, H. P., V. H. PHAM, V. BAULIN, R. J. CROFT, R. J. CRAWFORD, E. P. IVANOVA (2017): The effect of a high frequency electromagnetic field in the microwave range on red blood cells. *Sci. Rep.* 7, 10798. doi:10.1038/s41598-017-11288-9
- NISHIYAMA, H. I. M., N. KATO (2014): Relay-by-smartphone: realizing multihop device-to-device communications. *IEEE Com. Mag.* 52, 56–65.
- NOWAKOWSKI, R., P. LUCKHAM, P. WINLOVE (2001): Imaging erythrocytes under physiological conditions by atomic force microscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 1514, 170–176.
- OKTEM, F., F. OZGUNER, H. MOLLAOGLU, A. KOYU, E. UZ (2005): Oxidative damage in the kidney induced by 900-MHz-emitted mobile phone: protection by melatonin. *Arch. Med. Res.* 36, 350–355.
- ORLIĆ, I. (2021): Istine i zablude o 5G mobilnoj mreži, infrastruktura i utjecaj na zdravlje. [Internet], raspoloživo na: <https://www.logicno.com/hrana-zdravlje/prof->

dr-sc-ivo-orlic-5g-mreza-i-utjecaj-na-zdravlje-istine-i-zablude.html, [pristupljeno 30.01.2024.].

- PANAGOPOULOS, D. J. (2011): Analyzing the health impacts of modern telecommunications microwaves U: BERHARDT L. V. *Advances in Medicine and Biology*, Nova Science Publishers, New York, USA.
- PARMAR, D., N., SAWKE, G. K. SAWKE (2015): Diagnostic application of computerised nuclear morphometric image analysis in fine needle aspirates of breast lesions. *Saudi. J. Health Sci.* 4, 51–55. doi:10.4103/2278-0521.151409
- PARVEEN, S., M. H. LASHARI, U. FAROOQ (2023): Morphometric analysis on erythrocytes of various livestock being reared in the Cholistan desert. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 75, 365-375. doi.org/10.1590/1678-4162-12767
- PEI, Y., H. GAO, L. LI, X. AN, Q. TIAN (2019): Effect of cell phone radiation on neutrophil of mice. *Int. J. Radiat. Biol.* 95, 1178-1184. doi: 10.1080/09553002.2019.1607605.
- PHO, PUBLIC HEALTH OTARIO (2023): Focus On: Health Effects of Radiofrequency Electromagnetic Fields, Including 5G. [Internet], raspoloživo na: https://www.publichealthontario.ca/-/media/Documents/H/2022/health-effects-radio-frequency-electromagnetic-fields5G.pdf?rev=449a888df3f543708314337fed91f2af&sc_lang=en [pristupljeno 30.01.2024.].
- PIACENTINI, R., C. RIPOLI, D. MEZZOGORI, G. B. AZZENA, C. GRASSI (2008): Extremely low-frequency electromagnetic fields promote in vitro neurogenesis via upregulation of Cav1- channel activity. *J. Cell. Physiol.* 215, 129-139.
- POLYAKOVA, A. G., A. G. SOLOVEVA, M. V. PRESNYAKOVA, V. L. KUZNETSOVA, P. V. PERETYAGIN, I. E. SAZONOVA (2018): The mechanism of the effect of microwave radiation on the parameters of homeostasis in living systems. *EPJ Web Conf.* 195, 10016. doi.org/10.1051/epjconf/201819510016
- POLJIČAK-MILAS, N., I. KARDUM-SKELIN, M. VUĐAN, T. S. MARENJAK, A. BALLARIN-PERHARIĆ, Z. MILAS (2009): Blood cell count analyses and erythrocyte morphometry in New Zealand white rabbits. *Vet. Arh.*, 79, 561–571.

- RAHMAN, M., H. J. BAEK (2019): Evaluation of erythrocyte morphometric indices in juvenile red spotted grouper, *E. Akaara* under elevated water temperature, *Dev. Reprod.* 4, 345–353. doi: 10.12717/DR.2019.23.4.345.
- RAMSTRÖM, S., A. SÖDERGREN, N. TYNNGÅRD, T. LINDAHL (2016): Platelet function determined by flow cytometry: New perspectives? *Semin. Thromb. Hemost.* 3, 268-281. doi.org/10.1055/s-0035-1570082
- RASTOGI, S. C. (2007): *Essentials of animal physiology*. 4th ed., New Age International, New Delhi, str. 220-243.
- RAVAL, J. S., J. H. WATERS, A. SELTSAM, E. A. SCHARBERG, E. RICHTER, M. V. KAMENEVA, M. H. YAZER (2011): Menopausal status affects the susceptibility of stored RBCs to mechanical stress. *Vox Sang.* 100, 418–21.
- REECE W. O. (2015): The composition and functions of blood. In: *Dukes' physiology of domestic animals*. 13th ed., (Reece, W. O., Ed.). Willey-Blackwell, Ames, USA, str. 114-136.
- ROMIĆ, M. (2021): Uloga protutrombocitnih protutijela u dijagnostičkoj obradi trombocitopenije. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.
- RUBANYI, G. M., A. D. FREAY, K. KAUSER, D. SUKOVICH, G. BURTON, D. B. LUBAHN, J. F. COUSE, S. W. CURTIS, K. S. KORACH (1997): Vascular estrogen receptors and endothelium-derived nitric oxide production in the mouse aorta. Gender difference and effect of estrogen receptor gene disruption. *J. Clin. Invest.* 99, 2429–2437. doi: 10.1172/ JCI119426
- RUDENKO, S. V. (2010): Erythrocyte morphological states, phases, transitions and trajectories. *Biochim. Biophys. Acta* 1798, 1767–1778.
- SAEFL (2005): *Electrosmog in the environment*. Swiss Agency for the Environment, Forests and Landscape, Bern, Switzerland.
- SALIEV, T., D. BEGIMBETOVA, A. R. MASOUD, B. MATKARIMOV (2019): Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: Two sides of a coin. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 141, 25-36.
- SCHWARTZ, Z., B. J. SIMON, M. A. DURAN, G. BARABINO, R. CHAUDHRI, B. D. BOYAN (2008): Pulsed electromagnetic fields enhance BMP-2 dependent osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells. *J. Orthopaedic Res.* 26, 1250-1255.

- SHYAMKRISHNAN, R., K. S. GAUTOM, P. SURAVI, B. DEBAPRIYA, K. P. BINOD (2022): Flow cytometry based platelet activation markers and state of inflammation among subjects with type 2 diabetes with and without depression. *Sci. Rep.* 12, 10039. doi: 10.1038/s41598-022-13037-z.
- SIMK, M. (2007): Cell type specific redox status is responsible for diverse electromagnetic field effects. *Curr. Med. Chem.* 14, 1141–1152.
- SIMKÓ, M., M.-O. MATTSSON (2019): 5G Wireless communication and health effects—A pragmatic review based on available studies regarding 6 to 100 GHz. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 16, 3406. doi:10.3390/ijerph16183406
- SIMMONDS, M. J., H. J. MEISELMAN, S. M. MARSHALL-GRADISNIK, M. PYNE, M. KAKANIS, J. KEANE, E. BRENU, R. CHRISTY, O. K. BASKURT (2011): Assessment of oxidant susceptibility of red blood cells in various species based on cell deformability. *Biorheology* 48, 293–304. doi: 10.3233/BIR-2012-0599
- SJAASTAD, Ø. V., O. SAND, K. HOVE (2017): Fiziologija domaćih životinja. (ur. hrv. izdanja Milinković Tur, S., M. Šimpraga). Naklada Slap, Jastrebarsko.
- SPURGEON, B. E. J., K. M. NASEEM (2020): Platelet flow cytometry: instrument setup, controls, and panel performance. *Cytom. B-Clin. Cytom.* 98B, 19–27.
- STADTMAN, E. R., C. N. OLIVER (1991): Metal-catalyzed oxidation of proteins. *J. Biol. Chem.* 9, 315-325. doi: 10.1016/0891-5849(90)90006-5
- STERLING, L., LOUIS-RAY HARRIS, KAMALI CARROLL (2022): The effects of wireless devices on male reproductive health: A literature overview. *Rev. Int. Androl.* 20, 196-206. doi.org/10.1016/j.androl.2020.10.004.
- STOLL, C., W. F. WOLKERS (2011): Membrane stability during biopreservation of blood cells. *Transfus. Med. Hemother.* 38, 89–97.
- STRIJKOVA-KENDEROVA, V., S. TODINOVA, T. ANDREEVA, D. BOGDANOVA, A. LANGARI, A. DANAILOVA, S. KRUMOVA, E. ZLATAREVA, N. KALAYDZHIEV, I. MILANOV, S. G. TANEVA (2021): Morphometry and stiffness of red blood cells-signatures of neurodegenerative diseases and aging. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 227. doi: 10.3390/ijms23010227.
- STRIJKOVA-KENDEROVA, V., S. TODINOVA, T. ANDREEVA, D. BOGDANOVA, A. LANGARI, A. DANAILOVA, S. KRUMOVA, E. ZLATAREVA, N. KALAYDZHIEV, I. MILANOV, S. G. TANEVA (2022): Morphometry and

- Stiffness of Red Blood Cells—Signatures of Neurodegenerative Diseases and Aging. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 227. doi.org/10.3390/ijms23010227
- THRALL, M. A., G. WEISER, R. W. ALLISON, T. W. CAMPBELL (2022): Veterinary hematology, clinical chemistry, and cytology. 3rd ed., Wiley-Blackwell, Ames, USA.
- TKALEC, M., K. MALARIC, B. PEVALEK-KOZLINA (2007): Exposure to radiofrequency radiation induces oxidative stress in duckweed *Lemna minor* L. *Sci. Total Environ.* 388, 78–89.
- UNFER, T. C., L. H. MAURER, D. M. KEMERICH, C. G. FIGUEIREDO, M. M. DUARTE, D. P. GELAIN, J. C. F. MOREIRA, T. EMANUELLI (2013): Non-genomic, direct modulatory effect of 17 β -estradiol, progesterone and their synthetic derivatives on the activity of human erythrocyte CuZn superoxide dismutase. *Free Radic. Res.* 47, 219–232. doi: 10.3109/10715762.2012.762770
- VALBERG, P. A., T. E. VAN DEVENTER, M. H. REPACHOLI (2007): Workgroup Report: Base Stations and Wireless Networks—Radiofrequency (RF) Exposures and Health Consequences. *Environ. Health Perspect.* 115, 416 – 424. doi.org/10.1289/ehp.9633
- VAN OSS, C. J. (1982): Shape of ageing erythrocytes. *Biorheology* 19, 725.
- VENUGOPAL, S. K., S. DEVARAJ, T. YANG, I. JIALAL (2002): alpha-tocopherol decreases superoxide anion release in human monocytes under hyperglycemic conditions via inhibition of protein kinase C-alpha. *Diabetes* 51, 3049–3054.
- VERMA, A., V. KUMAR, S. GUPTA (2023): Bio-effects of 5th generation electromagnetic waves on organs of human beings. *Glob. Health. J.* 7, 206–211. doi.org/10.1016/j.glohj.2023.11.005
- VINHOLT, P. J. (2019): The role of platelets in bleeding in patients with thrombocytopenia and hematological disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* 57, 1808–1817.
- VOIGT, G. L., S. L. SWIST (2011): Hematology techniques and concepts for veterinary technicians. 2nd ed., Wiley-Blackwell, Ames, USA.
- VUČETIĆ, D., B. BALINT, D. VOJVODIĆ, V. ILIĆ, V. SUBOTA (2011): Procena stepena aktivacije koncentrovanih trombocita tokom skladištenja na osnovu ekspresije membranskih glikoproteina. *Bilt. Transfuziol.* 57, 26–34.

- WONGKASEM, N. (2021): Electromagnetic pollution alert: Microwave radiation and absorption in human organs and tissues. *Electromagn. Biol. Med.* doi: 10.1080/15368378.2021.1874976
- WU, W., K. YAO, K. J. WANG, D. Q. LU, J. L. HE, L. H. XU, W. SUN (2008): Blocking 1800 MHz mobile phone radiation-induced reactive oxygen species production and DNA damage in lens epithelial cells by noise magnetic fields. *Zhejiang Da Xue Bao Yi Xue Ban* 37, 34–38.
- XING, X., H. JIN, Y. LU, Q. WANG, Y. PAN, J. CAI, H. WANG (2011): Detection of erythrocytes in patient with elliptocytosis complicating ITP using atomic force microscopy. *Micron*. 42, 42–46.
- YAO, K., W. WU, K. WANG, S. NI, P. YE, Y. YU, J. YE, L. SUN (2008): Electromagnetic noise inhibits radiofrequency radiation-induced DNA damage and reactive oxygen species increase in human lens epithelial cells. *Mol. Vis.* 14, 964–969.
- YOUSIF, J. A., A. M. ALSAHLANY (2022): Review: Electromagnetic radiation effects on the human tissues. *Neuroquantology* 20, 8130-8146.
- ZAETS, S. B., T. L. BEREZINA, C. MORGAN, M. KAMIYAMA, Z. SPOLARICS, D. Z. XU, G. E. A. DEITCH, W. MACHIEDO (2003): Effect of trauma-hemorrhagic shock on red blood cell deformability and shape. *Shock* 19, 268–273.
- ZENG, S. M., J. YANKOWITZ, J. A. WIDNESS, R. G. STRAUSS (2001): Etiology of differences in hematocrit between males and females: sequence-based polymorphisms in erythropoietin and its receptor. *J. Gend. Specif. Med.* 4, 35–40.
- ZHANG, S., B. YU, Q. LIU, Y. ZHANG, M. ZHU, L. SHI, H. CHEN (2022): Assessment of hematologic and biochemical parameters for healthy commercial pigs in China. *Animals* 12, 2464. doi: 10.3390/ani12182464.
- ZMYSLONY, M., J. M. JAJTE (1998): The role of free radicals in mechanisms of biological function exposed to weak, constant and net magnetic fields. *Med. Pr.* 49, 177–186.
- ZMYSLONY, M., P. POLITANSKI, E. RAJKOWSKA, W. SZYMCZAK, J. JAJTE (2004): Acute exposure to 930 MHz CW electromagnetic radiation in vitro affects reactive oxygen species level in rat lymphocytes treated by iron ions. *Bioelectromagnetics* 25, 324–328.

- ZOSANGZUALI, M., M. LALREMRUATI, C. LALMUANSANGI, F. NGHAKLIANA, L. PACHUAU, P. BANDARA, Z. SIAMA (2021): Effects of radiofrequency electromagnetic radiation emitted from a mobile phone base station on the redox homeostasis in different organs of Swiss albino mice. *Electromagn. Biol. Med.* 40, 3, 393-407. doi: 10.1080/15368378.2021.1895207
- ŽURA ŽAJA, I., M. VILIĆ, I. TOMULIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, K. MALARIĆ, P. TUCAK, I. TLAK GAJGER (2021): Učinak radiofrekvencijskog zračenja na ljude i životinje, s posebnim osvrtom na zajednice medonosne pčele (*Apis mellifera*). *Vet. stn* 52, 347-357. doi.org/10.46419/vs.52.3.5
- ŽURA ŽAJA, I., S. VINCE, N. POLJIČAK MILAS, I. R. A. LOBPREIS, B. ŠPOLJARIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, S. MILINKOVIĆ TUR, M. ŠIMPRAGA, L. PAJURIN, T. MIKUŠ, K. VLAHOVIĆ, M. POPOVIĆ, D. ŠPOLJARIĆ (2019): A new method of assessing sheep red blood cell types from their morphology. *Animals* 9, 1130. doi:10.3390/ani9121130

9. ŽIVOTOPIS S POPISOM OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA

Nikolino Žura rođen je u Šibeniku 1976. godine. Studij fizioterapije završio je 2001. u Visokoj zdravstvenoj školi, razlikovni studij fizioterapije 2005. godine u Zdravstvenom veleučilištu u Zagrebu, diplomirao fizioterapiju 2010. godine, te 2017. godine magistarski studij zdravstvenih znanosti na Alma Mater Europeae u Mariboru, Slovenija.

U Klinici za reumatske bolesti i rehabilitaciju KBC Zagreb zaposlen je od 2002. godine. kao glavni fizioterapeut Klinike, gdje održava i kliničku nastavu od 2005. godine.

U KBC Zagreb do sada je obnašao dužnost glavnog fizioterapeuta kliničke jedinice za fizioterapiju (2011.-2016.), a od 2016. godine glavni je fizioterapeut Klinike za reumatske bolesti i rehabilitaciju.

Od 2008.-2015. godine bio je u kumulativnome je radnom odnosu, a od 2015. godine u dopunskome radu na Zdravstvenom veleučilištu. Od 2002.-2010. godine bio je tajnik Povjerenstva za izdavačku djelatnost Zdravstvenoga veleučilišta. 2011. godine izabran za predavača u Katedri za fizioterapiju Zdravstvenoga veleučilišta, a reizabran 2017 godine. Od 2019. godine izabran je u nastavno zvanje višeg predavača na Zdravstvenom veleučilištu u Zagrebu.

Sudjelovao je u radu više domaćih i stranih skupova. Završio je nekoliko domaćih i međunarodnih tečajeva. Bio je član organizacijskih odbora u više domaćih skupova. Autor, koautor više radova i udžbenika i priručnika.

Od 2014. do 2019. godine bio je pročelnik Katedre za kineziologiju Zdravstvenoga veleučilišta, a od 2018. godine koordinator je specijalističkog diplomskog studija fizioterapije Zdravstvenoga veleučilišta u Zagrebu. Od 2019. je v. d. pročelnik Katedre za fizioterapiju Zdravstvenog veleučilišta Od 2018. godine vanjski je suradnik Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Popis objavljenih radova

ČOTA, S., V. DELIMAR, I. ŽAGAR, K. KOVAČ DURMIŠ, N. KRISTIĆ
CVITANOVIĆ, N. ŽURA, P. PERIĆ, N. LAKTAŠIĆ ŽERJAVIĆ (2023):
Efficacy of therapeutic ultrasound in the treatment of chronic calcific shoulder
tendinitis: a randomized trial. Eur. J. Phys. Rehabil. Med., 59, 1973
doi:10.23736/S1973-9087.22.07715-2.

- GAJARI, A., **N. ŽURA**, D. KISELJAK, V. FILIPOVIĆ (2015): Učinkovitost proprioceptivne neuromuskularne facilitacije u rehabilitaciji sindromasubakromijalnog sraza. *Fizioinfo* 15, 6-9.
- GRBEŠA, Đ., R. PEZEROVIĆ-PANIJAN, M. N. KALAYA, I. GORŠIĆ, A. ČAVČIĆ, **N. ŽURA**, B. BERBEROVIĆ (2007): Craniofacial characteristics of Croatian and Syrian populations. *Coll. Antropol.* 31, 1121-1125.
- GRGIĆ D., D. KISELJAK, I. UGARKOVIĆ, **N. ŽURA** (2023): Atletske discipline sprinta nakon amputacije donjeg ekstremiteta. *J. appl. health sci.* 9, 147-157
- GROZDEK ČOVČIĆ, G., I. JURAK, M. TELEBUH, Z. MAČEK, Ž. BERTIĆ, **N. ŽURA**, M. GRUBIŠIĆ, H. MATIĆ, M. HORVAT TIŠLAR, L. JAKUŠ (2022): Effects of Bobath treatment and specific mobilizations on gait in stroke patients: A randomized clinical trial. *NeuroRehabilitation* 50, 493-500. doi:10.3233/nre-210326
- JARAK, I., M. MILETIĆ, **N. ŽURA** (2016): Učinkovitost triggerpoint terapije kod tinitusa. *Physiotherapia Croatica* 14, 161-164
- KEROS, P., **N. ŽURA**, P. PERIĆ (2018): Suzbijanja boli neurostimulacijama: pet desetljeća „postavke o kontroli ulaza”. *J. appl. health sci.* 4, 63-72
- KIRINEC, B., **N. ŽURA**, I. JURAK, D. KISELJAK (2022): Utjecaj ozljede gležnja na dinamičku stabilnost. *J. appl. health sci.* 8, 15-25.
- KRALJEVIĆ, A., M. RUKAVINA, **N. ŽURA** (2019): Stres u radu fizioterapeuta. *J. appl. health sci.* 5, 257-264 doi:10.24141/1/5/2/11
- KRALJEVIĆ, A., M. RUKAVINA, **N. ŽURA**, L. JAKUŠ, M. TELEBUH, G. GROZDEK ČOVČIĆ, M. HORVAT TIŠLAR (2020): Assesment of work ability in physiotherapists. *Med. Jadertina* 50, 47-54
- LAKTAŠIĆ ŽERJAVIĆ, N., E. HRKIĆ, I. ŽAGAR, V. DELIMAR, K. KOVAČ DURMIŠ, S. ŠPOLJARIĆ CAREVIĆ, M. VUKOREPA, A. MATIJEVIĆ, **N. ŽURA**, P. PERIĆ (2021): Local cryotherapy, comparison of cold air and ice massage on pain and handgrip strength in patients with rheumatoid arthritis. *Psychiatr. Danub.* 4, 757-761.
- LAKTAŠIĆ-ŽERJAVIĆ, N., **N. ŽURA**, I. JURAK, M. JEZIDŽIĆ, I. ŽAGAR, K. KOVAČ DURMIŠ, J. DRAŽENOVIĆ, P. PERIĆ (2017): Kratkoročna

- učinkovitost terapijskog ultrazvuka i lasera u liječenju sindroma karpalnog kanala. Reumatizam 64, 103-109.
- ROŠIĆ, D., V. OMERHODŽIĆ, N. **ŽURA**, M. TEŽAK (2014): Funkcionalna anatomija dijafragme, mehanika disanja i trening dijafragmalnog disanja kod bolesnika s KOPB-om. FizioInfo 24, 12-16.
- ŠVAIĆ, V., N. **ŽURA** (2018): Cryotherapy effects measured by infrared thermography in elderly people with rheumatoid arthritis. The 14th International Conference on Quantitative InfraRed Thermography Organizing Committee of the Conference QIRT 2018 (ur.). Berlin: QIRT, 303-307.
- ŽIGER, T., N. **ŽURA**, A. BLAŽEVIĆ, V. NIKOLIĆ (2001): Distribucija pritiska u radiokarpalnom zglobu poslije krivog sraštavanja radijusa u tipičnoj zoni. Croat. Sports Med. J., 16, 10-15.
- ŽINIĆ, M., I. JURAK, N. **ŽURA** (2021): Usporedba učinkovitosti fokusiranog udarnog vala različitih frekvencija na bol uslijed petnoga trna. Med. Jadertina 51, 211-215.
- ŽURA**, N., M. VUKOREPA, I. JURAK, P. PERIĆ, J. BOTONJIĆ, A. MATIJEVIĆ, H. KOLAR MITROVIĆ, N. LAKTAŠIĆ ŽERJAVIĆ, K. KOVAČ DURMIŠ, N. KALEBOTA, I. ŽAGAR, I. LJ. ČAKTAŠ (2021): Decrease in handgrip strength in rheumatoid arthritis (RA): is there a sex-related difference?. Rheumatol. Int. 41, 1795-1802.
- ŽURA**, N., N. RIHTARIĆ (2005): Anatomska podloga manipulativnih zahvata. FizioInfo, 2, 2-3.
- ŽURA**, N., N. RIHTARIĆ (2006): Hod. FizioInfo 2, 10-14.
- ŽURA**, N., V. FILIPOVIĆ, I. JURAK (2020): Fizioterapijske vježbe i transkutana električna stimulacija u liječenju osteoartritisa koljena. Physiotherapia Croatica, 18, 173-179.
- ŽURA ŽAJA, I., M. VILIĆ, P. JURKOVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, M. PAVIĆ, M. OSTOVIĆ, S. MENČIK, N. POLJIČAK-MILAS, N. MAČEŠIĆ, M. SAMARDŽIJA, N. **ŽURA**, A. SLUGANOVIĆ, S. MILINKOVIĆ-TUR (2020): The effects of sex and castration on the serum biochemical profile in commercial pigs. Vet. Arh. 90, 323-330. doi: 10.24099/vet.arhiv.0804
- ŽURA ŽAJA, I., P. MARTINEC, I. BUTKOVIĆ, M. VILIĆ, S. MILINKOVIĆ-TUR, S. VINCE, N. **ŽURA**, A. SLUGANOVIĆ, M. SAMARDŽIJA, J. PEJAKOVIĆ

HLEDE, I. FOLNOŽIĆ (2023): Učinci radiofrekvencijskog elektromagnetskog zračenja na mušku plodnost. Vet. stn 54, 541-555. doi: 10.46419/vs.54.5.6

ŽURA ŽAJA, I., S. VINCE, I. BUTKOVIĆ, K. SENAŠI, N. POLJIČAK MILAS, K. MALARIĆ, M. LOJKIĆ, I. FOLNOŽIĆ, S. MILINKOVIĆ TUR, M. KRESZINGER, M. SAMARDŽIJA, S. CIPČIĆ, **N. ŽURA**, M. OSTOVIĆ, M. VILIĆ (2024): The distribution of boars spermatozoa in morphometrically distinct subpopulations after *in vitro* exposure to radiofrequency electromagnetic radiation at 2500 MHz and their motility. Animals 14, 828. <https://doi.org/10.3390/ani14060828>

Sudjelovanja na skupovima:

ŽURA, N., S. VINCE, M. VILIĆ, P. PERIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, J. MILJKOVIĆ, K. MALARIĆ, V. BERTA, S. ANDROCI, K. TOMAŠIĆ, N. POLJIČAK MILAS, S. MILINKOVIĆ TUR, I. ŽURA ŽAJA (2023): Sows erythrocyte morphometric parameters after *in vitro* blood exposure at 5G radiofrequency electromagnetic radiation. Book of Abstracts of 10th International Congress Veterinary Science and Profession. Zagreb: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 05.10.2023-07.10.2023., Zagreb, Hrvatska str. 138-138.

BUTKOVIĆ, I., S. VINCE, M. LOJKIĆ, I. FOLNOŽIĆ, S. MILINKOVIĆ TUR, M. VILIĆ, K. MALARIĆ, V. BERTA, **N. ŽURA**, I. ŽURA ŽAJA (2023): Effects of 5G radiofrequency electromagnetic radiation on antioxidant status of *in vitro* exposed semen of breeding boars. Dubrovnik Summer School on Molecular Biosciences in Medicine with the International Oxidative Stress Symposium - Book of Abstracts. Dubrovnik: Sveučilište u Dubrovniku, 11.09.2023-15.09.2023., Dubrovnik, Hrvatska, str. 59-59.

ŽURA ŽAJA, I., N. POLJIČAK MILAS, S. MILINKOVIĆ TUR, A. SHEK VUGROVEČKI, M. VILIĆ, **N. ŽURA**, I. BUTKOVIĆ, J. MILJKOVIĆ, P. PRGOMET, L. RODMAN, S. VINCE (2023): Morphometry as a method in the assessment of cell morphology in veterinary medicine. 16th Annual Meeting of Croatian Physiological Society with International participation Osijek, September

28-30, 2023. Osijek: Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek, Medicinski fakultet Osijek, Osijek, Hrvatska, str. 11-11.

ŽURA, N., I. ŽURA ŽAJA, A. SHEK VUGROVEČKI, J. MILJKOVIĆ, K. MALARIĆ, P. PERIĆ, S. VINCE, S. MILINKOVIĆ TUR, V. BERTA, S. ANDROCI, K. TOMAŠIĆ, M. VILIĆ (2023): Blood cell count after *in vitro* exposure at frequencies of 5G in pig. Eleventh international conference on radiation, natural sciences, medicine, engineering, technology and ecology (RAD 2023) 19.06.2023-24.06.2023. Herceg Novi, Crna Gora.

ŽURA, N., I. ŽURA ŽAJA, M. VILIĆ, S. VINCE, M. FRANIĆ, I. JURAK, M. VAJDIĆ, P. PERIĆ (2023): Jesu li učinci 5G zračenja na ljudsko i životinjsko zdravlje bezopasni? 22. konferencija medicinskih sestara i tehničara i 8. konferencija zdravstvenih profesija *Tehnologije i inovacije u zdravstvenoj skrbi i obrazovanju* Vodice: 21.- 22. 09. 2023. Zdravstveno veleučilište Zagreb.