

Analiza HMGB-1, RAGE, PCDH1 i Gd-IgA1 u bolesnika s IgA vaskulitisom

Held, Martina

Doctoral thesis / Disertacija

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:056352>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-04**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Martina Held

**Analiza HMGB-1, RAGE, PCDH1 i
Gd-IgA1 u bolesnika s IgA
vaskulitisom**

DISERTACIJA



Zagreb, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Martina Held

**Analiza HMGB-1, RAGE, PCDH1 i
Gd-IgA1 u bolesnika s IgA
vaskulitisom**

DISERTACIJA

Zagreb, 2024.

Klinički dio disertacije izrađen je u Zavodu za kliničku imunologiju, respiracijske i alergološke bolesti i reumatologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb, a eksperimentalni dio u Odjelu za laboratorijsku imunologiju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Mentor disertacije: Prof. dr. sc. Marija Jelušić

Komentor: Doc. dr. sc. Ana Kozmar

Eksperimentalni postupci i provedena analiza u ovom istraživanju financirani su sredstvima Hrvatske zaklade za znanost iz istraživačkog projekta IP-2019-04-8822: "Histološki, klinički, laboratorijski i genski prediktori ishoda bolesnika s Henoch-Schönleinovom purpurom i nefritisom", voditeljica: prof. dr. sc. Marija Jelušić koji se provodi na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.



ZAHVALA

Zahvaljujem cijenjenoj prof. dr. sc. Mariji Jelušić, mentorici na doktorskom i diplomskom studiju koja mi je svojim savjetima i iskustvom pomogla stvoriti temelje za daljnji stručni i znanstveni razvoj. Draga profesorice, hvala Vam na povjerenju, pruženoj prilici i prenesenom znanju te konstruktivnom i cjelovitom vodstvu pri izradi disertacije.

Zahvalu također upućujem i komentorici, dragoj doc. dr. sc. Ani Kozmar na suradnji, pomoći i vremenu uloženom u eksperimentalni dio istraživanja bez čega ova disertacija ne bi imala potpuno značenje.

Zahvaljujem dragim i vrijednim članovima istraživačke skupine HRZZ projekta koji su svojom podrškom i suradnjom također pridonijeli ovom radu: doc. dr. sc. Alenki Gagro iz Klinike za dječje bolesti Zagreb i dr. Saši Sršenu iz KBC-a Split na pomoći u prikupljanju ispitanika te dr. sc. Mariu Šestanu na pomoći i prijateljskoj susretljivosti za vrijeme trajanja čitavog projekta.

Dragom dr. Danielu Turudiću hvala na pomoći u statističkoj analizi podataka.

Dragoj rodbini, prijateljima i kolegama hvala što obogaćuju i oplemenjuju moje dane.

Veliko hvala mojoj dragoj obitelji, sestrama Mariji i Matei te majci Vesni na nepresušnoj vjeri u moj uspjeh! Ovu disertaciju s temom iz pedijatrijske reumatologije posvećujem upravo Vama za pruženu ljubav, radost i usađene trajne vrijednosti.

U Zagrebu 2024. godine

Martina Held

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Imunoglobulin A vaskulitis	1
1.1.1. Epidemiologija	2
1.1.2. Etiologija	2
1.1.3. Imunopatogeneza	5
1.1.4. Klinička slika	10
1.1.5. Dijagnostički pristup	14
1.1.6. Liječenje	21
1.1.7. Biomarkeri u IgAV-u i IgAVN-u	24
1.1.8. Prognoza i ishod	25
1.2. Obrazloženje teme	27
1.2.1. Imunoglobulin A1 bez galaktoze (Gd-IgA1)	28
1.2.2. Protein visoke pokretljivosti iz skupine 1 (HMGB1)	29
1.2.3. Receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije (RAGE)	31
1.2.4. Protokadherin 1 (PCDH1)	32
2. HIPOTEZA	35
3. CILJEVI	36
4. ISPITANICI i METODE	37
4.1. ISPITANICI	37
4.2. METODE RADA	37
4.2.1. Analiza kliničkih i laboratorijskih pokazatelja	37
4.2.2. Analiza Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1	39
4.2.3. Statistička analiza	43
5. REZULTATI	45
5.1. Pregled dobivenih rezultata u djece s IgAV-om i kontrolnih ispitanika	45
5.1.1. Usporedba općih i demografskih značajki	45
5.1.2. Kliničke značajke u djece s IgAV-om	46
5.1.2.1. Kožne manifestacije	49
5.1.2.2. Koštano-mišićni sustav	50
5.1.2.3. Gastrointestinalni sustav	51
5.1.2.4. Nefritis	54
5.1.3. Usporedba laboratorijskih nalaza u djece s IgAV-om i kontrolnih ispitanika	57
5.2. Pregled analize Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1	64

5.2.1. Usporedba Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u djece s IgAV-om i kontrolnih ispitanika	64
5.2.2. Usporedba Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 između djece s IgAV-om.....	66
5.2.3. Predikcija kliničkih značajki IgAV-a.....	70
5.2.4. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s kliničkim značajkama IgAV-a i aktivnosti bolesti	71
5.2.5. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s laboratorijskim nalazima	73
5.2.6. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s histološkim varijablama biopsije bubrega.....	77
5.2.7. ROC analiza vrijednosti određivanja Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1	78
6. RASPRAVA	83
7. ZAKLJUČAK	101
8. SAŽETAK	103
9. SUMMARY	105
10. LITERATURA	107
11. ŽIVOTOPIS	128

POPIS OZNAKA I KRATICA

ACE (engl. <i>angiotensin-converting enzyme</i>)	angiotenzin konvertirajući enzim
ADCC (engl. <i>antibody dependent cellular cytotoxicity</i>)	stanična citotoksičnost ovisna o protutijelima
AECA (engl. <i>anti-endothelial cell antibodies</i>)	antiendotelna stanična protutijela
AGE (engl. <i>advanced glycation end products</i>)	napredni krajnji produkti glikacije
AGT (engl. <i>angiotensinogen</i>)	angiotenzinogen
ANA (engl. <i>antinuclear antibodies</i>)	antinuklearna protutijela
ANCA (engl. <i>antineutrophil cytoplasmic antibodies</i>)	antineutrofilna citoplazmatska protutijela
ASGPR (engl. <i>asialoglycoprotein receptors</i>)	asijaloglikoproteinski receptori
AUC (engl. <i>area under the curve</i>)	površina ispod krivulje
β 2-GPI (engl. <i>beta-2-glycoprotein I</i>)	beta 2 glikoprotein I
BHS-A	beta hemolitički streptokok grupe A
BVAS (engl. <i>Birmingham Vasculitis Activity Score</i>)	Birminghamski bodovni sustav aktivnosti vaskulitisa
C1GalT1 (engl. <i>core 1 β1,3 galactosyltransferase</i>)	jezgrin tip I galaktoziltransferaze
C1GalT1C1 (engl. <i>core 1 synthase, glycoprotein-N-acetylgalactosamine 3-β-galactosyltransferase 1 specific chaperone 1</i>)	
CD (engl. <i>cluster of differentiation</i>)	diferencijacijski antigen
CHCC (engl. <i>Chapel Hill Consensus Conference</i>)	konsenzusna konferencija u Chapel Hillu
CRP (engl. <i>C-reactive protein</i>)	C-reaktivni protein
DAMP (engl. <i>damage associated molecular pattern</i>)	molekulski obrazac povezan s oštećenjem
DNK	deoksiribonukleinska kiselina

dsDNA (engl. <i>double stranded deoxyribonucleic acid</i>)	dvostruko lančana DNK
eGFR (engl. <i>estimated glomerular filtration rate</i>)	procijenjena glomerularna filtracija
ELISA (engl. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)	imunoenzimski test
EULAR (engl. <i>European Alliance of Associations for Rheumatology</i>)	Europski savez društava za reumatologiju
Fab (engl. <i>fragment antigen-binding</i>)	fragment koji veže antigen
Fc (engl. <i>fragment crystallizable</i>)	kristalizirani fragment
FMF (engl. <i>familial mediterranean fever</i>)	obiteljska mediteranska vrućica
Foxp3 (engl. <i>forkhead box P3</i>)	transkripcijski čimbenik regulacijskih limfocita T
GalNT2 (engl. <i>N-acetylgalactosaminyltransferase 2</i>)	N-acetilgalaktozaminiltransferaza 2
Gd-IgA1 (engl. <i>galactose-deficient IgA1</i>)	imunoglobulin A1 bez galaktoze
GWAS (engl. <i>genome-wide association study</i>)	cjelogenomsko istraživanje povezanosti
HLA (engl. <i>human leukocyte antigens</i>)	humani leukocitni antigeni
HMGB1 (engl. <i>high mobility group box 1</i>)	protein visoke pokretljivosti iz skupine 1
HSP (engl. <i>Henoch-Schönlein purpura</i>)	Henoch-Schönleinova purpura
ICAM-1 (engl. <i>intercellular adhesion molecule 1</i>)	međustanična adhezijska molekula
IFN- γ (engl. <i>interferon gamma</i>)	interferon gama
IgA	imunoglobulin A
IgAV (engl. <i>immunoglobulin A vasculitis</i>)	imunoglobulin A vaskulitis
IgE	imunoglobulin E
IgG	imunoglobulin G
IgM	imunoglobulin M

ISKDC (engl. <i>International Study of Kidney Disease in Children</i>)	Međunarodna studija bubrežnih bolesti u djece
IVIG (engl. <i>intravenous immunoglobulin</i>)	intravenski imunoglobulin
JIA (engl. <i>juvenile idiopathic arthritis</i>)	juvenilni idiopatski artritis
KIM-1 (engl. <i>kidney injury molecule-1</i>)	molekula oštećenja bubrega
LTB4 (engl. <i>leukotriene B4</i>)	leukotrien B4
MASP-1, MASP-2 (engl. <i>mannose-associated serine protease 1 and 2</i>)	serinska proteaza 1 i 2 povezana s manozom
MCP-1 (engl. <i>monocyte chemoattractant protein 1</i>)	protein kemijskog privlačenja monocita
MEST-C (engl. <i>mesangial and endocapillary hypercellularity, segmental sclerosis, interstitial fibrosis/tubular atrophy, crescents</i>)	mezangijska i endokapilarna hipercelularnost, segmentalna skleroza, intersticijska fibroza/tubularna atrofijska, polumjeseci
MHC (engl. <i>major histocompatibility complex</i>)	glavni sustav tkivne podudarnosti
MMP (engl. <i>matrix metalloproteinase</i>)	matriks metaloproteinaza
NAG (engl. <i>N-acetyl beta glucosaminidase</i>)	N-acetil beta glukozaminidaza
NET (engl. <i>neutrophil extracellular trap</i>)	neutrofilna izvanstanična zamka
NF- κ B (engl. <i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>)	jezgrin čimbenik kapa beta
NSAIDs (engl. <i>non-steroidal anti-inflammatory drugs</i>)	nesteroidni protuupalni lijekovi
PCDH1 (engl. <i>protocadherin-1</i>)	protokadherin 1
PRES (engl. <i>Paediatric Rheumatology European Society</i>)	Europsko pedijatrijsko reumatološko društvo
PRINTO (engl. <i>Paediatric Rheumatology International Trials Organisation</i>)	Međunarodna organizacija za istraživanja u pedijatrijskoj reumatologiji
PRR (engl. <i>pattern recognition receptor</i>)	receptor koji prepoznaje obrasce

PVAS (engl. <i>Pediatric Vasculitis Activity Score</i>)	bodovni sustav aktivnosti pedijatrijskog vaskulitisa
RA (engl. <i>rheumatoid arthritis</i>)	reumatoidni artritis
RAGE (engl. <i>receptor for advanced glycation end products</i>)	receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije
RF (engl. <i>rheumatoid factor</i>)	reumatoidni faktor
RNK	ribonukleinska kiselina
SARS-CoV-2 (engl. <i>severe acute respiratory syndrome - coronavirus 2</i>)	korona virus tip 2 povezan s teškim akutnim respiratornim sindromom
sCD89 (engl. <i>soluble cluster of differentiation 89</i>)	topljivi diferencijacijski antigen 89
SE	sedimentacija eritrocita
SHARE (engl. <i>single Hub and Access point for paediatric Rheumatology in Europe</i>)	
SLE (engl. <i>systemic lupus erythematosus</i>)	sistemska eritemski lupus
SMAD3 (engl. <i>small mothers against decapentaplegic homolog-3</i>)	SMAD3 signalni put
SQC (engl. <i>semiquantitative classification</i>)	semikvantitativna klasifikacija
ST6GalNAc2 (engl. <i>N-acetylgalactosaminide α2,6-sialyltransferase 2</i>)	N-acetilgalaktozaminid α 2,6 sialiltransferaza 2
TGF- β (engl. <i>transforming growth factor beta</i>)	transformirajući čimbenik rasta beta
TLR (engl. <i>Toll-like receptor</i>)	receptor sličan Tollu
TNF- α (engl. <i>tumour necrosis factor alpha</i>)	čimbenik tumorske nekroze alfa
UAGT (engl. <i>urinary angiotensinogen</i>)	urinarni angiotenzinogen
UZV	ultrazvuk
VCAM-1 (engl. <i>vascular cell adhesion molecule 1</i>)	adhezijska molekula vaskularnih stanica

1. UVOD

1.1. Imunoglobulin A vaskulitis (IgAV)

IgA vaskulitis (IgAV) sistemski je vaskulitis obilježen nekrotizirajućom upalom malih krvnih žila (arteriola, kapilara i postkapilarnih venula). Patohistološki riječ je o leukocitoklastičnom vaskulitisu posredovanom depozitima imunokompleksa imunoglobulina A1 (IgA1), koji posljedično dovode do upale i oštećenja stijenki krvnih žila (1–8).

Prema zajedničkim klasifikacijskim kriterijima Europskog saveza društava za reumatologiju (EULAR, engl. *European Alliance of Associations for Rheumatology*), Međunarodne organizacije za istraživanja u pedijatrijskoj reumatologiji (PRINTO, engl. *Paediatric Rheumatology International Trials Organisation*) i Europskog društva za pedijatrijsku reumatologiju (PRES, engl. *Paediatric Rheumatology European Society*) iz 2008. godine za dijagnozu IgAV-a neophodno je postojanje palpabilne netrombocitopenične purpura uz prisutnost barem još jednog od četiriju simptoma ili znaka bolesti: bol u truhu, patohistološki znakovi leukocitoklastičnog vaskulitisa s predominantnim IgA depozitima, artritis/artralgije i nefritis (7).

Engleski liječnik William Heberden još je 1801. godine prepoznao bolest i u svojoj knjizi *O kožnim bolestima (On Cutaneous Diseases)* opisao dvojicu dječaka s purpustom po koži nogu, bolnim potkožnim edemima, oteklinom koljena i nemogućnošću kretanja, bolovima u truhu, krvavim stolicama, hematurijom i oteklinom skrotalne regije (4, 9). Ipak IgAV, poznat još kao Henoch-Schönleinova purpura (HSP), svoj prijašnji naziv dobio je prema njemačkom pedijatru Eduardu Heinrichu Henochu i njegovom učitelju Johannu Lukasu Schönleinu koji su detaljno opisali simptome bolesti. Tako je Schönlein 1837. godine povezo purpurični osip i artritis nazvavši bolest *peliosis rheumatica*, odnosno *purpura rubra*, dok je Henoch 1874. godine uz purpuru primjetio da bolest zahvaća i gastrointestinalni sustav i bubrege uočivši precipitate u urinu bolesnika te tako povezo sve navedene simptome u jedan entitet (4).

Na međunarodnoj konferenciji u Chapel Hillu (CHCC, engl. *Chapel Hill Conference Consensus*) održanoj 2012. godine, eponim HSP zamijenjen je nazivom IgAV kao dio nove nomenklature sistemskih vaskulitisa čime je dodatno naglašena uloga IgA1 u nastanku bolesti (8).

1.1.1. Epidemiologija

IgAV najčešći je vaskulitis dječje dobi s procijenjenom svjetskom godišnjom incidencijom od 3 do 55,9 na 100.000 djece dok prevalencija varira od 6,1 do 20,4 na 100.000 djece (2, 10–12).

Koristeći suvremene geostatističke metode skupina naših autora pokazala je da IgAV nije nasumično raspodijeljen po Hrvatskoj već grupiran oko većih gradova u kontinentalnom i mediteranskom području. Preciznim metodama prosječna godišnja incidencija IgAV-a u Republici Hrvatskoj procijenjena je na 6,79 na 100.000 djece što je slično podacima iz ostalih europskih zemalja (13).

Širok raspon incidencije IgAV-a između različitih zemalja u svijetu odraz je etničke pripadnosti i geografskog smještaja populacija pa je tako najveća pojavnost bolesti u zemljama istočne Azije, srednja pojavnost među Europljanima dok najrjeđe obolijevaju pojedinci afričkog podrijetla (10). Razlika također može proizlaziti iz različitih istraživačkih metodologija prema kojima se ne bilježe uvijek svi oboljeli pacijenti, poglavito oni koji zbog blagih simptoma nisu liječeni u sekundarnoj ili tercijarnoj zdravstvenoj ustanovi (11, 12).

IgAV se, ovisno o izvoru literature, javlja s podjednakom učestalošću u djevojčica i dječaka (3, 4, 11) ili nešto češće u dječaka u odnosu na djevojčice u omjeru 0,9-1,5:1 (1, 5, 6, 12). Dob pojave IgAV-a je između 3. i 12. godine, rijetko prije druge godine života. Prema literaturnim podacima srednja dob pojave IgAV-a je 6 godina, a 90% bolesnika je mlađe od 10 godina (1, 3–6, 10–13). Za usporedbu, incidencija IgAV-a u odrasloj dobi je znatno niža i kreće se 0,8-1,8 na 100.000 oboljelih (12). IgAV se obično javlja tijekom jesenskih i zimskih mjeseci i prisutan je u cijelom svijetu (3, 4, 11, 12).

1.1.2. Etiologija

Smatra se da IgAV nastaje kao posljedica odlaganja imunih kompleksa u stijenku malih krvnih žila kod genetski predodređenih pojedinaca vjerojatno kao odgovor na okolišne čimbenike.

U prilog genetskoj podlozi IgAV-a idu etničke, geografske i rasne razlike u prevalenciji bolesti, obiteljsko grupiranje i veća pojavnost među bliskim rođacima (14–16) te rezultati cjelogenomskih istraživanja povezanosti (GWAS, engl. *genome-wide association study*) (17–20). Sklonost obolijevanju od IgAV-a zasigurno je složena budući da uključuje međusobnu interakciju više gena. Trenutna ispitivanja na tom području usmjerena su na brojne genetske

polimorfizme uključene u signalne putove povezane s upalom i imunološkim odgovorom kao što su geni unutar sustava humanih leukocitnih antigena (HLA, engl. *human leukocyte antigens*), citokinskih i kemokinskih receptora, sustava komplementa, adhezijske molekule, komponente renin-angiotenzinskog sustava, koagulacijskog i fibrinolitičkog sustava (20, 21). Neka istraživanja sugeriraju da su bolesnici s obiteljskom mediteranskom vrućicom (FMF, engl. *familial mediterranean fever*), odnosno nositelji MEFV gena pod povećanim rizikom za obolijevanje od IgAV-a (22–24). Pregledom literature pronalazi se podatak da je IgAV najčešći vaskulitis u bolesnika s FMF-om s prevalencijom 2,7-7% (25, 26).

Općenito, kad se uspoređuju genetske varijante između zdravih pojedinaca i bolesnika s IgAV-om, najveće razlike pronađene su u genima HLA sustava. Tako su primjerice *HLA-DRB1*01* i *HLA-DRB1*11* povezani s visokim rizikom za razvoj IgAV-a u bjelačke populacije dok *HLA-DRB1*03* i *HLA-DRB1*07*, čini se, imaju zaštitni učinak (27–29). Dosadašnji rezultati triju GWAS-a klasificiraju IgAV kao prototip bolesti povezane s HLA lokusima klase II (17–19). Prva studija na španjolskoj populaciji ukazala je na značaj polimorfizama u intergenskoj zoni *HLA-DQA1* i *-DQB1* i na *HLA-DRB1*11* i *-DRB1*13* lokusa za obolijevanje od IgAV-a dok je slabija povezanost dokazana za HLA gene klase I i za nekoliko regija izvan HLA (17). Druga studija provedena na finskoj populaciji pokazala je da je haplotip *DQA1*01:01/DQB1*05:01/DRB1*01:01* isključivo povezan s obolijevanjem od IgAV-a, a ne i drugih autoimunih bolesti (18), dok je treća studija na velikoj kineskoj kohorti potvrdila zapažanja prethodne dvije o jakoj povezanosti HLA-DRB1 s osjetljivošću na IgAV (19). U hrvatskoj populaciji kao značajan za obolijevanje od IgAV-a pokazao se alel *HLA-DRB1*12* (30). Premda rezultati GWAS-a ističu IgAV kao prototip bolesti HLA klase II, mogući utjecaj gena HLA klase I također je istraživan u IgAV-u, a rezultati su oprečni (18, 31–34). Među HLA genima klase I, *HLA-B*41:02* pokazao je značajnu povezanost s obolijevanjem od IgAV-a u španjolskoj populaciji i to neovisno o statusu *HLA-DRB1* (33), dok HLA-A2, HLA-A11 i HLA-B35 povećavaju rizik za bolest kod turske djece (31). Za razliku od njih, danski istraživači nisu pronašli povezanost HLA antigena klase I s IgAV-om (34). Pored svega toga epigenetske promjene koje uključuju metilaciju deoksiribonukleinske kiseline (DNK), modifikacije na histonima i nekodirajućim ribonukleinskim kiselinama (RNK) reguliraju ekspresiju gena i na taj način utječu na fenotip bolesti (35, 36).

Od okolišnih čimbenika kao najvjerojatniji pokretač IgAV-a u genetski predodređenih pojedinaca navode se ponajprije infekcije. Tome u prilog ide sezonska razlika u pojavi bolesti

koja je najviša tijekom jesenskih i zimskih mjeseci, a manja u ljetnim mjesecima što je u skladu s epidemijama većine respiratornih infekcija. Prema istraživanjima, otprilike 70-90% bolesnika 1-3 tjedna prije pojave IgAV-a ima prodromalnu infekciju gornjeg dišnog sustava, rjeđe probavnog sustava, te se stoga može pretpostaviti da infekcije igraju važnu ulogu u nastanku bolesti (4, 11). Različite bakterije i virusi dovode se u vezu s nastankom IgAV-a: beta hemolitički streptokok grupe A (BHS-A) (najčešće izolirani uzročnik), *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Bordetella pertussis*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enterocolitica*, *Yersinia enterocolitica*, *Bartonella henselae*, virusi influence i parainfluence, koronavirusi, Epstein-Barrin virus, citomegalovirus, parvovirus B19, adenovirusi, virusi hepatitisa, varicella-zoster virus (4, 12). Rezultati nedavno objavljene multicentrične studije na do sada najvećoj kohorti djece pokazali su da je najčešći oblik vaskulitisa nakon preboljele SARS-CoV-2 (engl. *severe acute respiratory syndrome - coronavirus 2*) infekcije bio upravo IgAV (37).

Ostali okolišni čimbenici koji se dovode u vezu s razvojem IgAV-a češće su opisani kao pojedinačni slučajevi i u odraslih bolesnika, a uključuju lijekove, cjepiva, toksine, alergene iz hrane i ubode insekata (4). Lijekovi koji se najčešće povezuju s mogućim nastankom IgAV-a jesu antibiotici (klaritromicin, ciprofloksacin, vankomicin), nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAIDs, engl. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*), inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE, engl. *angiotensin-converting enzyme*) i inhibitori angiotenzinskih receptora (losartan) (4, 38). U literaturi su opisani slučajevi razvoja IgAV-a nakon terapije biološkim lijekovima poput inhibitora čimbenika tumorske nekroze (TNF- α , engl. *tumor necrosis factor α*) osobito u bolesnika s upalnom bolešću crijeva i inhibitorom interleukina 17A (IL-17A) sekukinumabom koji inhibira Janus kinazu i služi za liječenje psorijaze i psorijatičnog artritisa (38–44).

U odraslih bolesnika IgAV može prethoditi pojavi malignih tumora ili biti dio paraneoplastičnog sindroma. Veza između pojave tumora i IgAV-a nije posve jasna, ali vjerojatno odražava imunološki odgovor na sam tumor u vidu abnormalne proizvodnje protutijela na tumorske antigene, križnog reagiranja stvorenih protutijela s epitopima vlastitih endotelnih stanica i smanjeni imunološki klirens (45–47).

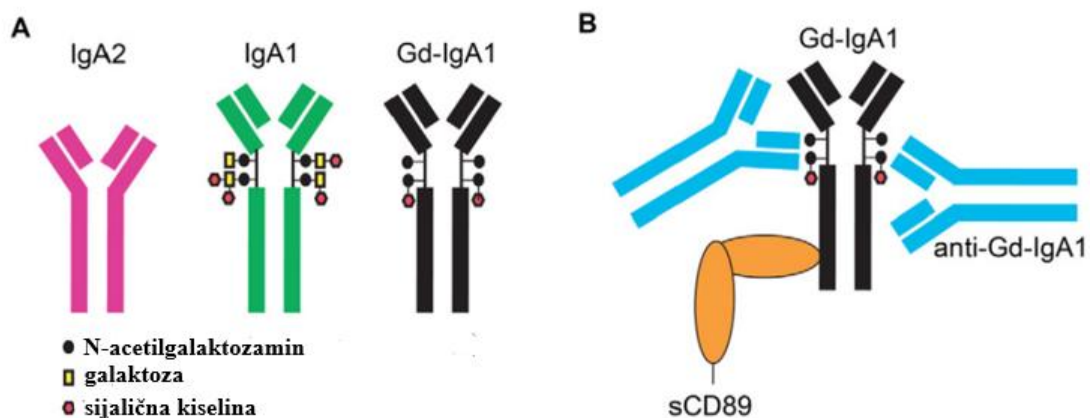
1.1.3. Imunopatogeneza

IgAV je vaskulitis malih krvnih žila čije glavno obilježje, kao što i sam naziv upućuje, jest patološko odlaganje depozita IgA1 u stijenke malih krvnih žila kože, sinovije, probavnog sustava i bubrega uz upalni infiltrat u kojem dominiraju neutrofili koji su dijelom raspadnuti (tzv. leukocitoklastični vaskulitis) i prisutnu fibrinoidnu nekrozu.

IgA čini 10-15% sveukupnih serumskih imunoglobulina te je nakon IgG-a druga najzastupljenija klasa ljudskih imunoglobulina. Ima važnu ulogu u humoralnoj imunosti gornjeg dijela dišnog sustava, probavnog sustava i genitourinarnog sustava te je dominantna klasa imunoglobulina u ljudskom sekretu (slina, suze, znoj, kolostrum). IgA postoji u obliku dva izotipa (podklase) IgA1 i IgA2. Dok IgA2 uglavnom prevladava u sekretima mukoznih sluznica, oko 90% sveukupnog serumskog IgA čini IgA1 pretežno u monomernom obliku, a manjim dijelom kao polimer. Serumski IgA1 pretežno proizvode limfociti B u koštanoj srži dok sekretorni IgA2 luče plazma stanice u blizini sluznice i egzokrine žlijezde. Ljudski IgA građen je od dvaju lakih lanaca s regijom koja veže antigen (Fab, engl. *fragment antigen-binding*) i dvaju teških lanaca koji čine Fc regiju (engl. *fragment crystallizable*) kojom stupa u interakciju s brojnim Fc receptorima. Svaki od lanaca sadrži konstantnu (C_{H1-3} i V_H) i varijabilnu domenu (V_H i V_L). Dvije susjedne konstantne domene teškog lanca (C_{H1} , C_{H2}) povezane su fleksibilnom zglobnom regijom (engl. *hinge region*), odnosno sekvencom složenom od aminokiselinskog niza serina, treonina i prolina (48). Obje podklase imaju N-vezane oligosaharide u teškim lancima, IgA1 u C_{H2} domeni i repu, a IgA2 u C_{H1} i C_{H2} , a strukturno se razlikuju u zglobnoj regiji koja je za 13 aminokiselina dulja u IgA1 nego u IgA2 i sastoji od dvije ponovljene sekvence aminokiselina. Zglobna regija u IgA1 sadrži tri do šest O-glikoziliranih serinskih i treoninskih ostataka dok IgA2 nema O-glikozilirane aminokiselinske ostatke. Iako uzorak O-glikozilacije u IgA1 može varirati, većinu O-vezanih šećera čine N-acetilgalaktozamin, na njega dodana galaktoza s jednom ili dvije sijalične kiseline (49). Sam proces odvija se u tri faze: [1] vezanje N-acetilgalaktozamina O-vezom za serin ili treonin u zglobnoj regiji IgA1 što katalizira enzim N-acetilgalaktozaminiltransferaza 2 (GalNT2) u Golgijevom tijelu limfocita B; [2] dodavanje galaktoze na N-acetilgalaktozamin pomoću enzima C1GalT1 (engl. *core 1 β 1,3 galactosyltransferase*) što zahtijeva prisutnost molekule pratitelja C1GalT1C1 (Cosmc), a odvija se u endoplazmatskom retikulumu (50, 51); [3] vezanje sijalične kiseline na galaktozu ili izravno na N-acetilgalaktozamin što kataliziraju enzimi α 2,3 sijaliltransferaza, odnosno N-acetilgalaktozaminid α 2,6 sijaliltransferaza 2 (engl. ST6GalNAc2, engl. *N-acetylgalactosaminide α 2,6-sialyltransferase 2*). Varijacije u

aktivnosti, ekspresiji i polimorfizmima gena za enzime uključene u glikozilaciju IgA1 u limfocitima B mogu dovesti do nastanka IgA1 koji nema galaktozu (Gd-IgA1, engl. *galactose-deficient IgA1*). Time glikozilacija kao posttranslacijska modifikacija kojom se dodaju šećeri na IgA može znatno utjecati na strukturu, oblik i izvršnu funkciju imunoglobulina (49, 52–55).

Glavni Fc receptor ljudskog IgA (Fc α RI) koji niskim afinitetom veže obje podklase je CD89 (engl. *cluster of differentiation 89*), transmembranski glikoprotein izražen ponajprije na eozinofilnim i neutrofilnim granulocitima, monocitima, nekim makrofazima, dendritičkim stanicama i Kupfferovim stanicama. CD89 prepoznaje Fc regiju IgA i u sklopu imunokompleksa, a postoji i u topljivom obliku (sCD89, engl. *soluble CD89*) koji nastaje odvajanjem izvanstaničnog dijela molekule (sl.1).



Slika 1. A: Građa Gd-IgA1 i usporedbe s IgA1 i IgA2 **B:** Gd-IgA1 može stvarati imunokomplekse s IgG i topljivim oblikom CD89 (preuzeto i prilagođeno prema referenci br. 57).

IgA2: imunoglobulin A2, IgA1: imunoglobulin A1, Gd-IgA1: imunoglobulin A1 bez galaktoze, sCD89: topljivi diferencijacijski antigen 89; anti-Gd-IgA1: antitijela na imunoglobulin A1 bez galaktoze

U obitelj IgA receptora ubrajaju se još i brojni površinski receptori na epitelnim stanicama sluznica poput polimernih Ig receptora uključenih u transport IgA i IgM, Fc α / μ R (CD351), asijaloglikoproteinski receptor (ASGPR) i transferinski receptor 1 (CD71). CD351 je izražen na stanicama lamine proprije crijevne sluznice, Panethovim stanicama, folikularnim dendritičkim stanicama tonzila, aktiviranim makrofazima i nekim vrstama B stanica pregerminalnog centra. ASGPR i CD71 su receptori zaduženi za kataboličku razgradnju i

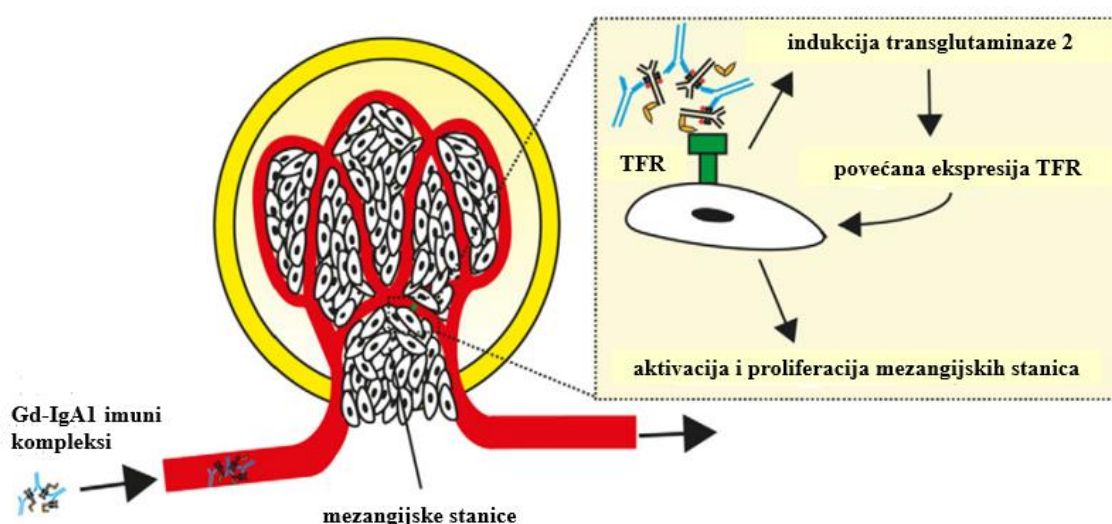
odlaganje IgA u tkivima. ASPGR se nalaze na hepatocitima i prepoznaju terminalnu galaktozu na N-glikiranim dijelovima IgA što dovodi do ulaska čitave molekule IgA i njezine razgradnje u hepatocitima. Čini se da CD71 posreduje u ulasku i razgradnji polimernih IgA putem dendritičkih stanica (48, 56–59).

Gd-IgA1 u niskim koncentracijama može biti prisutan i u zdravih pojedinaca, međutim u bolesnika s IgAV-om dolazi do njegovog pojačanog stvaranja uslijed nasljednih i/ili stečenih promjena u glikozilaciji IgA1. Od nasljednih uzroka za izdvojiti je smanjenu aktivnost enzima C1GalT1 u B limfocitima što onda prekomjerno pojačava aktivnost α 2,6-sijaliltransferaze i stvara nenormalno sijaliziranu Gd-IgA1, a slične promjene na razini enzima rade i citokini poput interleukina 6 (IL-6) i interleukina 4 (IL-4) (58, 60–63). Do promjena u strukturi i glikozilaciji IgA1 dovode i stečeni uzroci poput infekcija budući je poznato da IgAV često započinje poslije respiratorne infekcije. Kada sluznica nazofarinksa i orofarinksa oslabi zbog prethodne virusne ili BHS-A infekcije, bakterije poput *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus sanguis*, *Haemophilus influenzae* i *Neisseria meningitidis*, koje normalno koloniziraju epitel gornjih dišnih putova, prodiru kroz imunološki oslabljenu sluznicu gornjeg dišnog puta u krv i luče IgA1 proteaze, enzime koji su visoko specifični za zglobnu regiju IgA1. Ti proteolitički enzimi cijepaju IgA1 na mjestu peptidnih veza prolin-treonin i prolin-serin (64). Osim toga, navedene bakterije za svoj rast i razvoj troše galaktozu i sijaličnu kiselinu s N-acetilgalaktozamina u IgA1 pa i na taj način dovode do nastanka Gd-IgA1 (58, 64). Bilo zbog nasljednog ili stečenog uzroka, IgA1 kojem nedostaje galaktoza završava s N-acetilgalaktozaminom i/ili N-acetilneuraminskom kiselinom te ne može biti odstranjen iz krvi jer ga ne prepoznaju ASPGR (58, 60).

Literaturni podaci govore u prilog hipoteze višestrukog "udarca" prema kojoj je nasljedna sklonost za stvaranje strukturalno i biokemijski promijenjenog IgA1 samo prvi okidač (engl. *hit*) koji nije dostatan za kompletni razvoj IgAV-a, već je za nastanak bolesti potreban i drugi okidač, koji je najčešće posredovan upravo gore spomenutim virusnim i/ili bakterijskim infekcijama. Predložena su dva glavna hipotetska modela patogeneze IgAV-a koja objašnjavaju nastanak nefritisa i sistemskog oblika bolesti (58, 60).

Prema jednom od modela bolest se razvija na sljedeći način: [1] Dolazi do pojačanog stvaranja Gd-IgA1 koji djeluje kao strani antigen domaćinu (65–67); [2] Nastaje proizvodnja protutijela IgG i IgA usmjerenih na Gd-IgA1 čije podrijetlo nije u potpunosti poznato, ali vjerojatno ih jednim dijelom čine antiglikanska protutijela koja prepoznaju šećerne ostatke u staničnoj stijenci bakterija i ubikvitarno postoje u ljudskom tijelu radi održavanja homeostaze

dok su drugim dijelom novonastala protutijela potaknuta prethodnom infekcijom koja djeluje kao okidač za bolest (61, 68, 69); [3] IgG i IgA prepoznaju Gd-IgA1 i s njom tvore imunokomplekse IgG-Gd-IgA1 i IgA-Gd-IgA1, a Gd-IgA1 dodatno stvara i komplekse sa svojim topljivim CD89 receptorom; [4] Nastali imunokompleksi odlažu se u stijenke malih krvnih žila što rezultira upalom u koži, sinoviji, bubregu, probavnom i urogenitalnom sustavu (sl. 2). Ključni receptor za vezanje Gd-IgA1 imunokompleksa je CD71 čija ekspresija na mezangijskim stanicama se pojačava kao odgovor na povećanu razinu stvorenih imunokompleksa što dalje putem pozitivne povratne sprege i posljedično povećanog broja raspoloživih receptora dodatno povećava vezivanje imunokompleksa, a time i intenzitet upale (58, 59, 69–72).



Slika 2. Hipotetski model patogeneze nefritisa u sklopu IgAV-a (preuzeto i prilagođeno prema referenci br. 57).

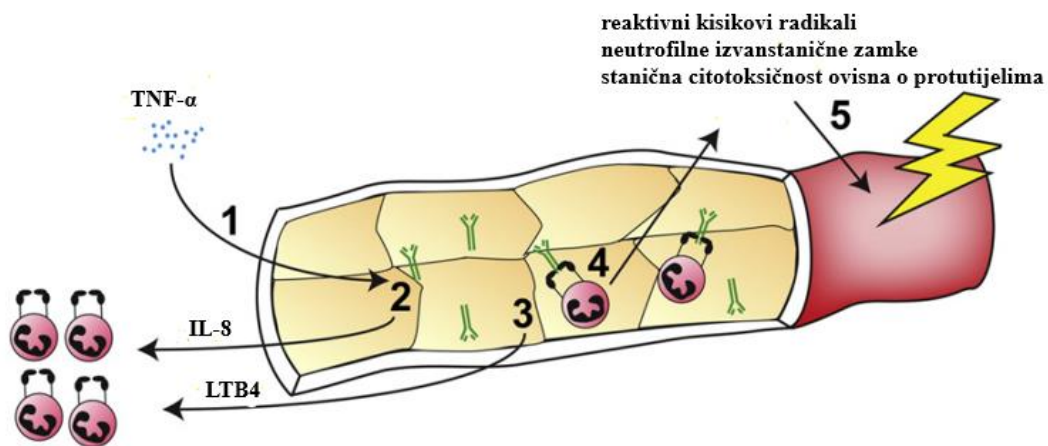
Gd-IgA1: imunoglobulin A1 bez galaktoze, TFR: transferinski receptor

Daljnji tijek potvrđuje poznate spoznaje o tome da IgAV spada u reakcije preosjetljivosti tipa III. Naime, stvoreni imunokompleksi IgG-Gd-IgA1, IgA-Gd-IgA1 i sCD89-Gd-IgA1 odlažu se u krvne žile kože i mezangij bubrega gdje pokreću kaskadu lektinskog puta koji veže manozu i alternativnog puta komplementa. Aktivirane komponente serinskih proteaza 1 i 2 povezanih s manozom (MASP-1, engl. *mannose-associated serin protease 1*; MASP-2, engl. *mannose-associated serin protease 2*), komponente komplementa C3a, C4d, C5a, properdin i C3 dalje aktiviraju endotelne stanice, privlače upalne stanice i luče proupalne citokine (72–76).

Prema drugoj hipotezi, u IgAV-u dolazi do prekomjernog stvaranja IgA antiendotelnih staničnih protutijela (AECA, engl. *anti-endothelial cell antibodies*). AECA su heterogena skupina protutijela kojima su ciljni antigeni citoskeletni proteini (β -aktin, α -tubulin, vimentin), glikolitički enzimi i enzimi uključeni u sintezu kolagena i normalno postoje u svih zdravih pojedinaca. AECA imaju više pozitivnih uloga budući da aktivacijom endotelne stanice smanjuju oslobađanje matriks metaloproteinaze 9 (MMP-9, engl. *matrix metalloproteinase-9*) čime djeluju protuupalno, snižavaju razine tromboksana A₂ i endotelina 1 i tako ostvaruju protutrombotski učinak te u konačnici potiču same endotelne stanice na uklanjanje stranih antigena i imunokompleksa (77–79). Pretpostavljeni mehanizam koji se događa u IgAV-u jest da, nakon infekcije mikroorganizmima čiji se epitopi podudaraju s vlastitim antigenima malih krvnih žila, stvorena AECA križno reagiraju na stijenke vlastitih krvnih žila i dovode do upale (58, 60, 80). Autoimunosni proces vjerojatno se odvija na sljedeći način: [1] Pojačano stvaranje IgA1-AECA; [2] Povišene proupalne razine TNF- α potiču vezanje IgA1-AECA na ciljnu molekulu beta-2-glikoprotein I (β 2-GPI) vezanu za fosfolipide na površini endotelne stanice te povećavaju ekspresiju adhezijskih molekula ICAM-1 (engl. *intercellular adhesion molecule 1*), VCAM-1 (engl. *vascular cell adhesion molecule 1*) i E-selektina na endotelnim stanicama i L-selektina na leukocitima (80–84); [3] Aktivirane endotelne stanice iz svojih Weibel-Paladnih tjelešaca oslobađaju P-selektin, ključan za početno nakupljanje neutrofilnih granulocita i interleukin 8 (IL-8), snažan kemokin koji potiče kemotaksiju (85, 86); [4] Vezanje IgA1 na Fc α RI neutrofila dovodi do oslobađanja leukotriena B₄ (LTB₄) čime se stvara začarani krug daljnje neutrofilne kemotaksije u kojoj pobuđeni neutrofili djeluju štetno za domaćina mehanizmom stanične citotoksičnosti ovisne o protutijelima (ADCC, engl. *antibody dependent cellular cytotoxicity*), stvaraju neutrofilne izvanstanične zamke (NET, engl. *neutrophil extracellular traps*), luče svoje enzime (mijeloperoksidaze, elastaze, proteaze, katepsin G) i reaktivne kisikove radikale (87). Dolazi do raspada neutrofila i raspršenja njihovih jezgara (leukocitoklazija), ekstravazacije eritrocita, nakupljanja fibrina i edema stijenki malih krvnih žila što daje morfološku sliku leukocitoklastičnog vaskulitisa koji obilježava IgAV (58, 80) (sl. 3).

Neka istraživanja su pokazala da je serumska razina Gd-IgA1 u djece s IgAV-om koja su razvila nefritis u sklopu bolesti značajno veća u usporedbi s djecom koja nemaju nefritis što bi potkrijepljivalo prvi predloženi model koji objašnjava patogenezu nefritisa u sklopu bolesti (61, 66, 67, 88–92). Budući da cirkulirajući imunokompleksi koji sadrže Gd-IgA1 ne mogu u potpunosti objasniti razvoj sistemskih manifestacija IgAV-a, predložen je i drugi

model patogeneze u kojima ulogu imaju antiendotelna protutijela, također potkrijepljen istraživanjima koja potvrđuju tu hipotezu (76, 82, 83, 85, 86, 93). Oba hipotetska modela patogeneze IgAV-a imaju istovjetni završni dio posredovan aktivnošću neutrofila koji oštećuju endotel malih krvnih žila i dovode do fibrinoidne nekroze.



Slika 3. Hipotetski model patogeneze IgAV-a (preuzeto i prilagođeno prema referenci br. 57).

TNF- α : čimbenik tumorske nekroze alfa, IL-8: interleukin 8, LTB4: leukotrien B4

U manje od 10% bolesnika s IgAV-om nijedan od predloženih modela patogeneze ne može objasniti nastanak bolesti što ukazuje na drugačiju etiopatogenezu bolesti neovisnu o poremećaju glikozilacije IgA1 i mehanizmima putem AECA, odnosno prouzročene drugim nasljednim ili okolišnim čimbenicima.

1.1.4. Klinička slika

IgAV najčešće započinje akutno s kožnim promjenama, a uz to mogu biti prisutni i konstitucijski simptomi poput blage vrućice, umora i malaksalosti.

Kožne promjene, najčešće u obliku palpabilne purpore ili petehija koje ne blijede na pritisak, prepoznatljivo su kliničko obilježje IgAV-a i prisutne u nekom trenutku u svih bolesnika (sl. 4). Purpurični osip obično je simetrično raspoređen po ekstenzornim stranama donjih udova i po stražnjici premda može biti proširen i na gornje udove, trup, lice i uške te je uvijek polimorfni. U početku se kožne lezije očituju kao grozdovi eritema, urtike i makulopapulozni osip, a potom prelaze u petehije i ekhimoze koje su raspoređene između

prethodno promijenjene kože. Kožne lezije u prosjeku traju deset dana mijenjajući boju od svijetlocrvene preko tamnocrvene i ljubičaste u smečkastu da bi potom u potpunosti izbljedjele ostavljajući u pojedinih bolesnika područja postupalne hiperpigmentacije (1, 3–6, 94). U ranoj fazi bolesti u mlađe djece uz purpurični osip mogu se pojaviti potkožni edemi dorzuma šaka, stopala i lica (1, 4).

Slika 4. *Purpurični osip u 8-godišnje djevojčice s IgAV-om (vlastita arhiva, fotografirano uz dozvolu djevojčice i majke).*



Teške kožne lezije s razvitkom nekroza, ulceracija, hemoragijskih bula i vezikula rijetko su opisane u djece dok je pojava takvih kožnih oblika češća u odraslih bolesnika (4, 94–97). Prema rezultatima nacionalnog retrospektivnog istraživanja tijekom desetogodišnjeg razdoblja 2,5% naše djece s IgAV-om razvilo je takve teške kožne promjene (96). Kod atipičnih i teških kožnih lezija, kao i u slučajevima kada su kožne promjene difuzno rasprostranjene, preporučeno je napraviti biopsiju kože kako bi se isključili drugi vaskulitisi, posebno vaskulitisi povezani s ANCA-om (ANCA, engl. *antineutrophil cytoplasmic antibodies*) (98). Biopsija kože u bolesnika s IgAV-om pokazuje leukocitoklastični vaskulitis koji obilježava fibrinoidna nekroza malih krvnih žila papilarnog dermisa (kapilare, venule i arteriole), perivaskularni edem i neutrofilna infiltracija s fragmentacijom njihovih jezgara, dok nalaz direktne imunofluorescencije kože pokazuje dominantne IgA depozite i C3 komponentu komplekta u dermisu (4, 7). Više istraživanja pokazalo je da postoji značajna povezanost između rasprostranjenosti, težine i trajanja purpuričnog osipa s pojavom sistemskih

manifestacija IgAV-a, odnosno sa zahvaćanjem probavnog sustava i bubrega u djece i u odraslih bolesnika (95–97, 99–101). Nedavno objavljeno međunarodno istraživanje provedeno na dosad najvećem broju djece s teškim kožnim promjenama (nekroze, ulceracije, bule) potvrdilo je da IgAV u tom slučaju ima teži klinički tijek s većim rizikom za razvoj nefritisa i teških gastrointestinalnih manifestacija (102).

Zahvaćanje koštano-mišićnog sustava u vidu bolova u zglobovima (artralgija) s ili bez artritisa druga je najčešća klinička manifestacija u IgAV-u. Javlja se u 70-90% bolesnika u ranoj akutnoj fazi bolesti, a u otprilike petine bolesnika bolovi u zglobovima mogu dan do dva prethoditi pojavi purpuričnog osipa (1, 3–6, 103–107). Zahvaćanje koštano-mišićnog sustava obrnuto je povezana s dobi pacijenata s češćom pojavom u mlađe djece nego u starije djece i odraslih (4). Artritis je obično nemigratorni, oligoartikularnog tipa i ne ostavlja kronična oštećenja u vidu deformiteta i erozija. Najčešće zahvaćeni zglobovi su gležnjevi i stopala, zatim koljena, laktovi, ručni zglobovi i prsti šake (1, 5, 94, 103–105). Zbog periartikularne otekline zglobovi su bolni, osjetljivi i ograničenih kretnji, no bez zglobnog izljeva sa znakovima aktivnog sinovitisa koji se karakteristično viđa kod juvenilnog idiopatskog artritisa (JIA) i reumatoidnog artritisa (RA). Uz primjenu simptomatskog liječenja bolovi u zglobovima i artritis prolaze unutar tjedan dana bez posljedica.

Gastrointestinalni sustav može biti zahvaćen u 45-75% djece s IgAV-om, a klinički se očituje bolovima u truhu, mučninom, povraćanjem i krvavo-sluzavim stolicama (1, 3–6, 26, 94, 99, 104–106, 108–117). U početku su bolovi u truhu difuzni da bi se potom smjestili u epigastrij i periumbilikalno. Bol je grčevita karaktera, pojačava se nakon hrane, a nastaje zbog submukoznog krvarenja i edema stijenke tankog crijeva što dovodi do izlaska intersticijske tekućine i krvi u lumen crijeva. Pankreatitis i kolecistitis rijetko su opisani u djece s IgAV-om, ali u slučaju pojave pojasastih bolova po sredini trbuha sa širenjem u leđa, odnosno bolova ispod desnog rebrenog luka koji se pojačavaju prilikom udisaja i šire do vrha desne lopatične kosti u obzir treba uzeti i tu mogućnost (112, 118, 119). U 20-50% djece dolazi do pojave asimptomatskog okultnog krvarenja bez drugih popratnih znakova koji bi upućivali na zahvaćenost probavnog sustava (99, 108, 109, 112). Ozbiljne gastrointestinalne komplikacije javljaju se u približno 5% bolesnika, a uključuju intususcepciju, perforaciju crijeva i masivno krvarenje (3, 94, 99, 108–111, 116). Retrospektivno istraživanje na hrvatskoj populaciji utvrdilo je da su rizični čimbenici za takve teške gastrointestinalne komplikacije u djece s IgAV-om prošireni purpurični osip i nefritis (99). Prema literaturi najčešća kirurška komplikacija IgAV-a kod djece je intususcepcija s učestalošću 0,7-13,6% (94, 108, 110–112,

116, 117). Zahvaćenost probavnog sustava obično nastupa paralelno ili unutar tjedan dana od pojave purpuričnog osipa, ali može i do dva tjedna prethoditi kožnim promjenama i time predstavljati diferencijalno-dijagnostički problem prema drugim stanjima koja se očituju kliničkom slikom bolova u truhu (1, 3–5).

Zahvaćenost bubrega, odnosno IgA vaskulitis nefritis (IgAVN), javlja se u 20-50% djece s IgAV-om, a taj postotak za odrasle bolesnike se kreće i do 70% (1, 3–6, 94, 103–106, 116, 117, 120). Značajne rizične čimbenike za razvoj IgAVN-a imaju djeca starija od 7 godina s perzistirajućom purpurom i teškim kožnim i gastrointestinalnim manifestacijama te djeca koja su pretila (4, 96, 102, 121–126). Mikroskopska hematurija s ili bez proteinurije najčešći je nalaz u urinu kod djece s IgAV-om, a obično se razvije unutar 4 tjedna od početka bolesti. U akutnoj fazi bolesti može se javiti i makroskopska hematurija koja obično traje kratko. U neke djece može se razviti hipertenzija s akutnim nefritičkim sindromom, zatim proteinurija različitog stupnja koja se može očitovati i nefrotskim sindromom te brzoprogresivni glomerulonefritis (1, 3–6). IgAVN je najozbiljnija kronična manifestacija bolesti povezana s morbiditetom i mortalitetom i u djece i u odraslih bolesnika. Rizik od kronične bubrežne bolesti u djece s IgAV-om je manji nego u odraslih i kreće se u rasponu 1-5% (1, 3–5, 121, 127–129).

U 10-20% dječaka može doći do razvoja orhitisa koji se najčešće očituje bolovima i oteklinom skrotalne regije. Simptomi su obično blagi i rijetke su komplikacije u vidu torzije testisa (1, 5, 94, 130–132). Zahvaćanje testisa i skrotuma nije uvijek jednostavno povezati s IgAV-om budući da tipični simptomi u trenutku dijagnoze često još nisu ni prisutni ili su već završili.

Središnji živčani sustav može biti zahvaćen u do 10% djece s IgAV-om i to najčešće u vidu glavobolje, vrtoglavice, promjena u raspoloženju i konvulzija. Nastaju zbog cerebralnog vaskulitisa, a mogu biti posljedica i izražene hipertenzije uslijed bubrežne zahvaćenosti (133–135). U literaturi su također opisani periferna neuropatija, cerebralna ishemija i intrakranijska krvarenja (133, 134).

U rijetke, ali moguće manifestacije bolesti ubrajaju se zahvaćenost pluća opisana većinom u adolescenata i odraslih bolesnika s katkad fatalnim komplikacijama poput difuzne alveolarne hemoragije, miokarditis, trombotski događaji i zahvaćenost očiju u vidu skleritisa, uveitisa i okluzije centralnih retinalnih arterija (94, 136).

1.1.5. Dijagnostički pristup

Bolesnika se klasificira kao IgAV na temelju EULAR/PRINTO/PRES kriterija, koji imaju osjetljivost od 100% i specifičnost od 87% u odnosu na druge vaskulitise (7).

Za klasificiranje bolesnika obvezni kriterij je postojanje palpabilne purpure i/ili petehija bez trombocitopenije ili drugog koagulacijskog poremećaja uz prisutnost barem još jednog od četiriju navedena kriterija: difuzna bol u trbuhu, patohistološki nalaz leukocitoklastičnog vaskulitisa s predominantnim IgA depozitima ili glomerulonefritisa s predominantnim IgA depozitima, artritis/artralgija i zahvaćenost bubrega (tabl. 1).

Tablica 1. EULAR/PRINTO/PreS kriteriji za IgAV (prilagođeno iz reference br. 7).

KRITERIJ	DEFINICIJA	OSJETLJIVOST	SPECIFIČNOST
PURPURA (obvezni kriterij)	palpabilna purpura ili petehije bez trombocitopenije, dominantno na donjim udovima	89%	86%
UZ BAREM JEDAN OD SLJEDEĆIH KRITERIJA:			
bolovi u trbuhu	difuzna, akutna, grčevita bol koja može uključivati intususcepciju ili gastrointestinalno krvarenje	61%	64%
histopatologija	leukocitoklastični vaskulitis s predominantnim IgA depozitima ili proliferativni glomerulonefritis	93%	89%
artritis ili artralgije	artritis s akutnim početkom uz oteklinu, bol i ograničenu pokretljivost zgloba artralgije s akutnim početkom uz bolove u zglobovima bez otekline i ograničenja pokreta	78%	42%
zahvaćanje bubrega	proteinurija: > 0,3 g u 24-satnom urinu ili omjer albumin/kreatinin > 30 mg/mmol ili ≥ 2+ na test traci hematurija: > 5 eritrocita u vidnom polju velikog povećanja ili nakupine eritrocita u sedimentu urina ili ≥ 2+ eritrocita na test traci	33%	70%
UKUPNO		100%	87%

Kako bi se omogućilo poboljšanje i ujednačenost skrbi za bolesnike s IgAV-om, istraživačka skupina iz sekcije za vaskulitis u sklopu inicijative SHARE (engl. *Single Hub and Access point for paediatric Rheumatology in Europe*) donijela je 2019. godine preporuke za dijagnozu i liječenje IgAV-a u djece (98).

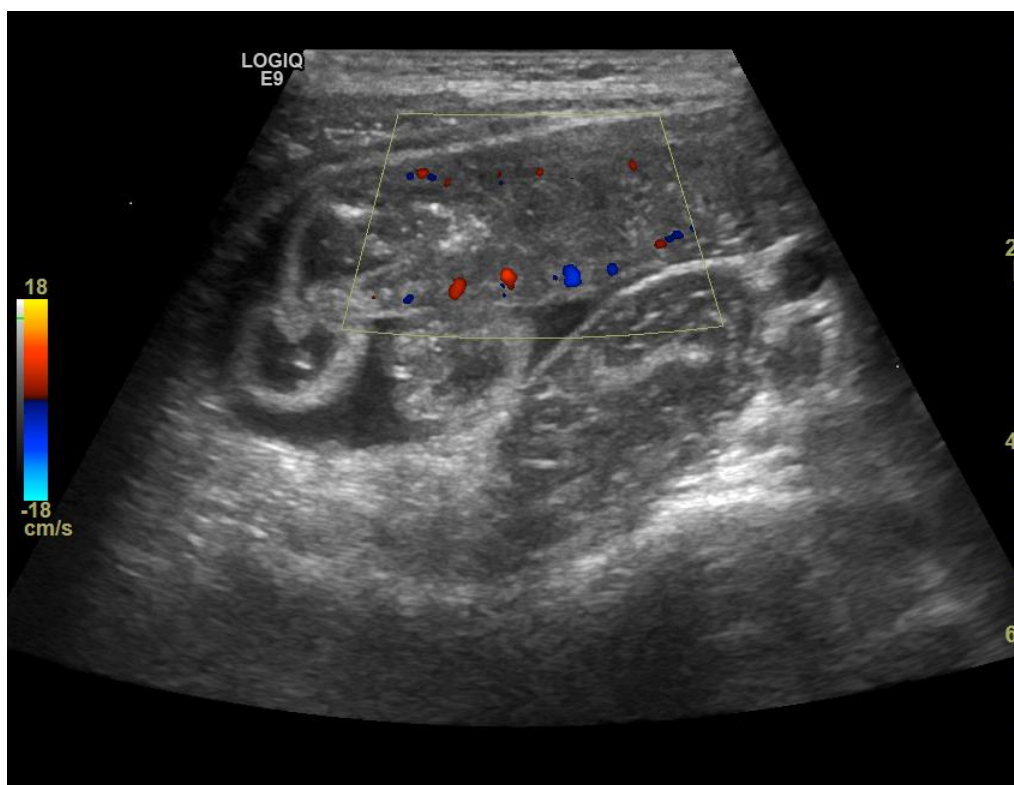
Dijagnoza IgAV postavlja se na osnovi kliničke slike, odnosno fizikalnog pregleda u kojem obvezno moraju biti prisutne kožne promjene najčešće kao palpabilna purpura ili petehije dominantno po koži stopala, potkoljenica i glutealne regije. Detaljna anamneza, osobito na nedavnu izloženost infekcijama, alergijama i lijekovima može dodatno olakšati potvrdu dijagnoze IgAV-a. Daljnji dijagnostički pristup usmjeren je na laboratorijsku i radiološku obradu kako bi se isključile druge slične bolesti i prepoznale eventualne komplikacije IgAV-a.

Ne postoje laboratorijski nalazi koji su strogo specifični za IgAV, ali odsustvo trombocitopenije i uredni koagulacijski testovi s velikom sigurnošću razlikuju IgAV od drugih purpura. U akutnoj fazi bolesti u kompletnoj krvnoj slici može biti prisutna leukocitoza sa skretanjem ulijevo i anemija. Također se mogu naći blago ubrzana sedimentacija eritrocita (SE) i povišen C-reaktivni protein (CRP) te ponekad povišeni feritin, fibrinogen i d-dimeri kao pokazatelji reakcije akutne faze. U otprilike 50% djece u akutnoj fazi bolesti povišena je serumska razina IgA. Također, u velikog broja djece registrira se povećan ukupni IgE dok su razine IgG i IgM obično unutar referentnih vrijednosti za dob (4, 137–139). Od rutinskih biokemijskih parametara svakako treba odrediti pokazatelje bubrežne funkcije: kreatinin, ureju i procijenjenu glomerularnu filtraciju (eGFR, engl. *estimated glomerular filtration rate*) te izmjeriti krvni tlak. Kao probir na nefritis treba napraviti kvalitativni i kvantitativni pregled urina (98). Iz prvog jutarnjeg urina treba analizirati omjer albumina i kreatinina i pregledati urin na prisutnost eritrocita i proteina te analizirati količinu izlučenih proteina u 24-satnom urinu. Značajni nalazi koji upućuju na postojanje nefritisa prema EULAR/PRINTO/PRES kriterijima su sljedeći: proteinurija $> 0,3$ g u 24-satnom urinu ili omjer albumin/kreatinin > 30 mmol/mg u jutarnjem uzorku urina te > 5 eritrocita u vidnom polju velikog povećanja ili $\geq 2+$ eritrocita u kvalitativnom pregledu urina test trakom. Na temelju preporuka SHARE u bolesnika s utvrđenim nefritisom u bilo kojem trenutku bolesti ili za vrijeme praćenja indicirano je napraviti biopsiju bubrega u sljedećim slučajevima: 1. proteinurija > 250 mg/mmol koja traje dulje od 4 tjedna, kao i svaka veća proteinurija neovisno o trajanju; 2. proteinurija 100 - 250 mg/mmol ako perzistira dulje od 3 mjeseca; 3. eGFR < 90 ml/min/1,73 m²; 4. brzoprogresivni glomerulonefritis; 5. nefrotski sindrom; 6. nefritički sindrom (98).

Ako dijagnoza IgAV-a nije jasna ili postoje značajne sistemske manifestacije bolesti potrebno je uraditi imunološke pretrage koje uključuju mjerenje razine ukupnog komplementa te C3 i C4 komponenti komplementa, antinuklearna protutijela (ANA, engl. *antinuclear antibodies*), protutijela na dvostruko lančanu DNK (dsDNA, engl. *double stranded DNA*), ANCA, reumatoidni faktor (RF, engl. *rheumatoid factor*) i krioglobuline. U IgAV-u serumska razina ukupnog komplementa i C3 i C4 komponenti komplementa normalne su, ANCA su negativna, a ANA i RF nisu karakteristični. Ako postoji anamneza nedavne respiratorne infekcije, treba uzeti mikrobiološke obriske nazofarinksa i ždrijela te napraviti antistreptolizinski titar (AST-O). Potrebno je napraviti analizu stolice na okultno krvarenje i na fekalni kalprotektin koji se pokazao kao dobar biljeg za upalna stanja gastrointestinalnog sustava (140, 141). Kod sumnje na pankreatitis treba analizirati amilaze i lipaze u serumu.

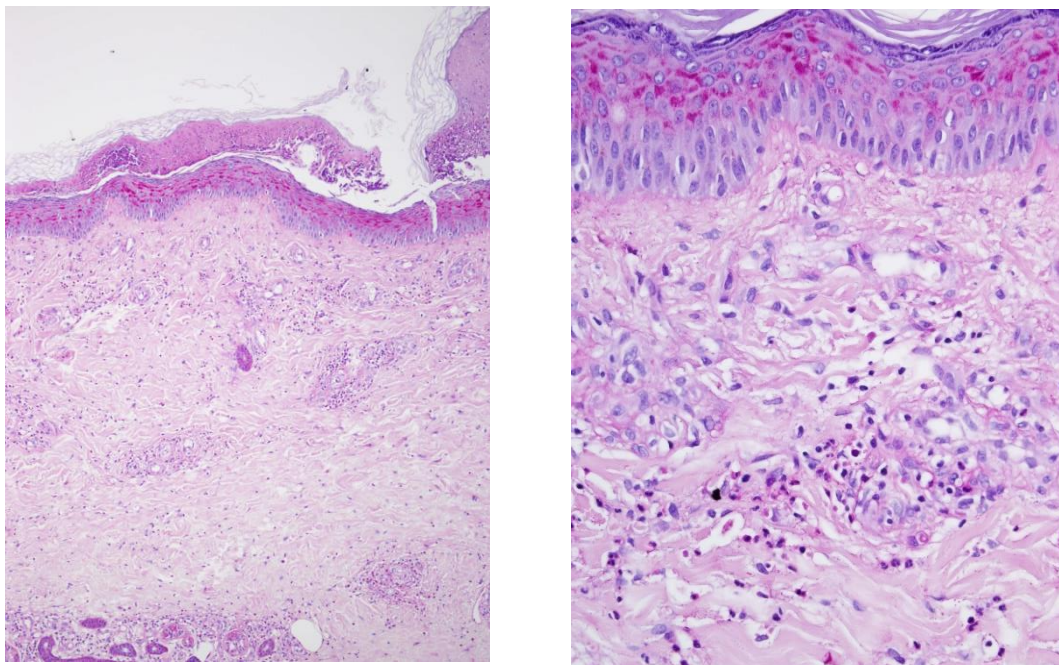
Radiološke pretrage rade se u djece koja razviju gastrointestinalne i urogenitalne manifestacije ili imaju netipičnu prezentaciju IgAV-a s komplikacijama poput intususcepcije, pankreatitisa, zahvaćenosti pluća, srca i središnjeg živčanog sustava. Ultrazvučna dijagnostika (UZV) prvi je izbor u otkrivanju crijevnog vaskulitisa među slikovnim metodama zbog svoje neinvazivnosti i sigurne primjene što je osobito važno u dječjoj populaciji. UZV trbuha može ukazivati na postojanje povećanih limfnih čvorova i pojačanu vaskularizaciju terminalnog ileuma te tako razlikovati IgAV od akutne upale crvuljka. Znakovi zadebljanja crijevne stijenke uz edem sluznice ultrazvučno izgledaju poput ograničenih hipoehogenih polumjeseca, a obojenim doplerom u zahvaćenom dijelu crijeva detektira se smanjeni protok (94, 108, 112, 142, 143) (sl. 5). Prednost UZV-a jest mogućnost procjene količine intraabdominalne tekućine i ranog uočavanja komplikacija poput intususcepcije. Na UZV-u intususcepcija se specifično prikazuje kao okrugla tvorba s vanjskim hipoehogenim rubom koji okružuje ehogeni središnji dio („znak krafne”) i intestinalni edem uz manju količinu slobodne intraperitonealne tekućine (3, 108, 109, 112, 143, 144). Kod sumnje na intususcepciju, indicirana je irigografija koja u tom slučaju može biti i terapijska mjera. Ako postoji sumnja na akalkulozni kolecistitis i pankreatitis, UZV-om mogu se prikazati promjene na žučnom mjehuru i upalne promjene na gušterači. Nativna rentgenska snimka trbuha u djece s bolovima u truhu može pokazivati dilatirane crijevne vijuge kao posljedicu oskudnog crijevnog motiliteta. Kod krvarenja iz probavnog sustava uputno bi bilo napraviti endoskopsku dijagnostiku. UZV skrotuma s obojenim doplerom u dječaka s bolnim i otečenim testisima pokazuje epididimalni edem, zadebljanje skrotalne stijenke i pojačanu vaskularizaciju testisa (131, 132).

Magnetska rezonancija s angiografijom mozga radiološka je metoda izbora kod kliničke sumnje na cerebralni vaskulitis (133).



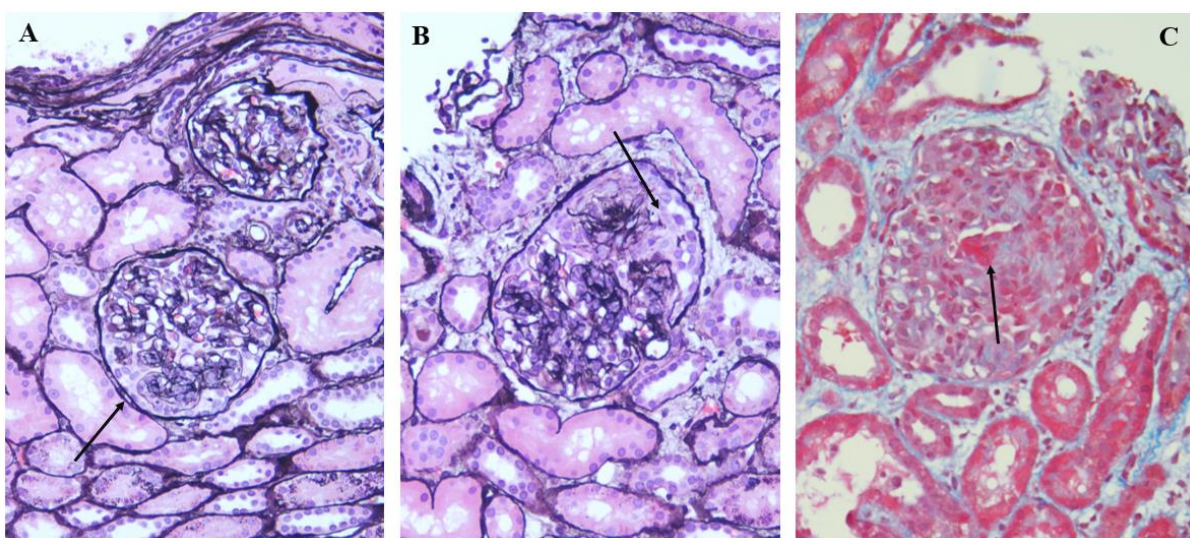
Slika 5. UZV trbuha u 6-godišnje djevojčice s IgAV-om koja je razvila gastrointestinalne manifestacije u sklopu bolesti. Ileocekalno se vide zadebljane vijuge crijeva inhomogenije strukture širine oko 5-6 mm sa znacima izraženije vaskularizacije pri pregledu obojenim doplerom uz ehogenije mezenterijsko masno tkivo. (Klinički zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju, KBC Zagreb).

Biopsija kože vrlo je rijetko indicirana u djece s IgAV-om, a prema preporukama SHARE radi se isključivo u slučaju atipično raspoređenih kožnih promjena i to na mjestu najsvježijih promjena ne starijih od 24 do 48 sati jer je tada najveća vjerojatnost da će imunofluorescencija za IgA biti pozitivna. Premda negativan nalaz na imunofluorescentnoj mikroskopiji ne isključuje dijagnozu IgAV-a, svrha biopsije kože je potvrda dijagnoze IgAV-a i isključivanje drugih vaskulitisa poput ANCA vaskulitisa koji u starije djece u početku mogu nalikovati na IgAV (98). Patohistološki pregled bioptirane kože u bolesnika s IgAV-om na svjetlosnom mikroskopu prikazuje leukocitoklastični vaskulitis, a direktna imunofluorescencija pokazuje depozite IgA i C3 u dermalnim kapilarama, venulama i arteriolama pridonoseći sveukupnoj dijagnozi IgAV-a s osjetljivošću 92-100% (1, 3, 4) (sl. 6).



Slika 6. Leukocitoklastični vaskulitis kože u IgAV-u. Metoda bojenja PAS (engl. periodic acid-Schiff reaction), povećanje 400 puta (ljubaznošću doc. dr. sc. Stele Bulimbašić, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb).

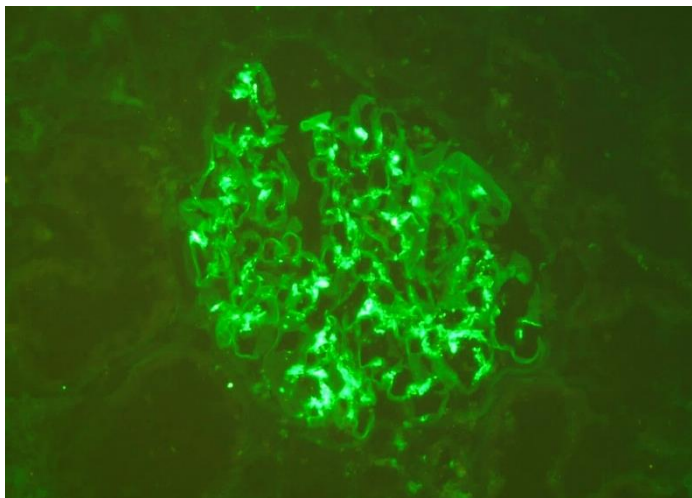
Patohistološki nalaz biopsije bubrega na svjetlosnoj mikroskopiji obično pokazuje mezangijsku i/ili endokapilarnu hipercelularnost s ili bez celularnih polumjeseca (sl. 7).



Slika 7. Svjetlosna mikroskopija bubrega u IgAVN-u, povećanje 400 puta. A) Endokapilarna hipercelularnost, metoda bojanja po Jonesu. B) Celularni polumjesec, metoda bojanja po Jonesu. C) Fibrinoidna nekroza, trikromno bojenje po Massonu (Ljubaznošću doc. dr. sc. Stele Bulimbašić, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb).

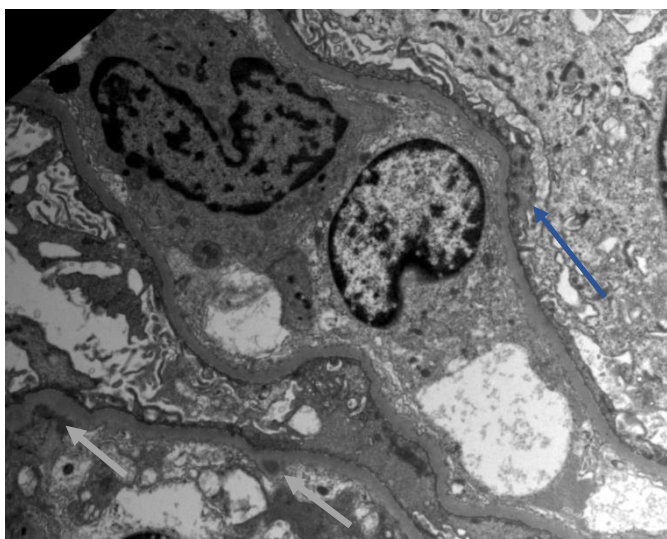
Za definitivnu dijagnozu nefritisa važno je pregledati bioptat na imunofluorescentnom mikroskopu. Nalaz predominantno zrnatih depozita IgA i C3 komponente komplementa uz odsutnost komponenti klasičnog puta aktivacije komplementa (C1q i C4) potvrđuje dijagnozu IgAVN-a (sl. 8).

Elektronska mikroskopija dodatno pridonosi ispravnosti dijagnoze nalazom mezangijskih i subendotelnih depozita (3) (sl. 9).



Slika 8. *Imunofluorescentna mikroskopija prikazuje depozite IgA, povećanje 400 puta (Ljubaznošću doc. dr. sc. Stele Bulimbašić, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb).*

Slika 9. *Elektronska mikroskopija prikazuje subendotelne imune depozite (bijele strelice) i podocyte s izraženim difuznim gubitkom nožica (plava strelica) (Ljubaznošću doc. dr. sc. Stele Bulimbašić, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb).*



U patohistološkoj analizi bubrežnih bioptata u bolesnika s IgAVN-om primjenjuje se nekoliko različitih klasifikacija: ISKDC klasifikacija (engl. *International Study of Kidney Disease in Children*), Haasova klasifikacija, Oxfordska klasifikacija i modificirana semikvantitativna klasifikacija (145–149).

Najduže primjenjivana je ISKDC klasifikacija koja bubrežne biopate kategorizira u jedan od šest histoloških stupnjeva od kojih se prvih pet stupnjeva temelje na prisutnosti i

broju polumjeseca, a šesti stupanj predstavlja membranoproliferativni glomerulonefritis s promjenama u mezangiju i stijenci glomerularnih kapilara (145). Haasova klasifikacija za IgA nefropatiju temelji se na statistički značajnoj, pozitivnoj korelaciji histoloških stupnjeva nefritisa s prognozom IgA nefropatije i nije validirana u djece i odraslih bolesnika s IgAVN-om (146). Oxfordska klasifikacija za IgA nefropatiju revidirana je 2016. godine, a uključuje pet morfoloških obilježja: mezangijsku hipercelularnost (M), endokapilarnu proliferaciju (E), segmentalnu sklerozu (S), tubularnu atrofiju (T) i prisutnost polumjeseca (C) (tzv. MEST-C score, engl. *mesangial and endocapillary hypercellularity, segmental sclerosis, interstitial fibrosis/tubular atrophy, crescents*) i može se koristiti kod djece i odraslih bolesnika s IgAVN-om (147, 149–153). Najnovija klasifikacija iz 2017. godine, modificirana semikvantitativna klasifikacija (SQC, engl. *semiquantitative classification*), boduje 14 varijabli uključujući promjene na glomerulima, tubulima, intersticiju i krvnim žilama bubrega te procjenjuje ne samo aktivnu već i kroničnu komponentu nefritisa (145). Nedavno objavljena multicentrična studija, koja je usporedila sve četiri navedene klasifikacije, pokazala je da je za interpretaciju bubrežnih bioptata u IgAV-u najbolje koristiti modificiranu semikvantitativnu klasifikaciju i Oxfordsku klasifikaciju (128).

Dijagnoza IgAV-a u većini slučajeva je jasna, međutim, kod netipične kliničke slike diferencijalno-dijagnostički se svakako trebaju razmotriti drugi sistemski vaskulitisi koji se očituju purpuričnim osipom, sistemske bolesti vezivnog tkiva, bolesti s IgA depozitima, hematološke bolesti i koagulacijski poremećaji (tabl. 2).

Tablica 2. Diferencijalna dijagnoza IgAV-a (prilagođeno prema referenci br. 1).

druge vrste vaskulitisa	vaskulitis povezan s ANCA hipokomplementemijski urtikarijski vaskulitis hipersenzitivni vaskulitis krioglobulinemijski vaskulitis paraneoplastični vaskulitisi medikamentozni vaskulitis
akutni hemoragijski edem u djece	
obiteljska mediteranska vrućica	
sistemske bolesti vezivnog tkiva	sistemski eritemski lupus juvenilni dermatomiozitis miješana bolest vezivnog tkiva
sistemski tip juvenilnog idiopatskog artritisa/adultni oblik Stillove bolesti	
antifosfolipidni sindrom	
koagulacijski poremećaji	diseminirana intravaskularna koagulopatija von Willebrandova bolest hereditarna hemoragijska teleangiektazija
trombocitopenije	idiopatska trombocitopenična purpura trombotička mikroangiopatija
infekcije	meningokokna sepsa
Sweetov sindrom	
Gardner Diamondov sindrom	
Stevens-Johnsonov sindrom	

1.1.6. Liječenje

Većina djece s IgAV-om ima samoograničavajući tijek bolesti stoga specifična terapija nije potrebna, odnosno provodi se potpuno i simptomatsko liječenje. Kod težih oblika bolesti liječenje ovisi o vrsti i težini zahvaćenog organa, a uključuje sistemsku primjenu glukokortikoida i imunosupresivnih lijekova (1, 3, 5).

Osnovni principi potpornog liječenja uključuju hidraciju, održavanje elektrolitnog balansa, simptomatsko ublažavanje boli i praćenje razvoja mogućih komplikacija.

Dehidracija i elektrolitni disbalans mogu se javiti tijekom akutne faze bolesti zbog vrućice i gastroenterokolitisa pa ako tekućina i elektroliti ne mogu biti primjereno nadoknađeni peroralnim unosom treba razmotriti njihovu intravensku nadoknadu.

Kod akutne artralgijske i artritisa preporučeno je mirovanje i primjena analgetika i NSAID-a. Budući da djeluju tako da inhibiraju ciklooksigenazu 1 čime smanjuju nastanak tromboksana A₂ i prostaglandina te tako utječu na agregaciju trombocita i smanjenje bubrežne perfuzije, NSAID se ne preporučuju kod gastrointestinalnog krvarenja i nefritisa.

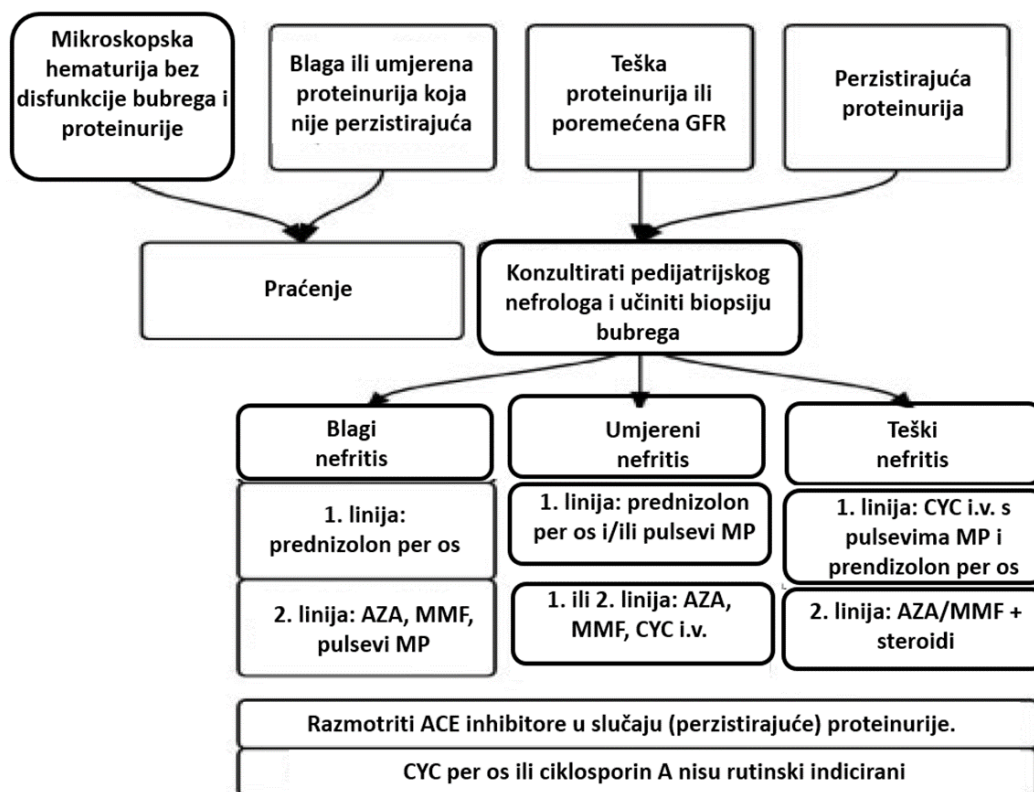
Kožne promjene obično ne zahtijevaju specifično liječenje osim kod teških manifestacija. Optimalan način liječenja bolesnika s ulceracijama, bulama i nekrozama nije točno definiran, ali većina tih bolesnika liječi se sistemskim glukokortikoidima u dozi 0,5-1 mg/kg/dan (5, 102). Studije ukazuju i na pozitivan učinak dapsona kod kožnih promjena koje traju dulje od šest tjedana u dozi 1-2 mg/kg/dan tijekom tjedan dana (154, 155). Pretpostavljeni mehanizam djelovanja dapsona u leukocitoklastičnom vaskulitisu je supresija IL-8 koji djeluje kemotaktički na neutrofile, sprječavanje oslobađanja enzima i toksičnih radikala iz neutrofila i antioksidativni učinak (154, 155). Kod dugotrajnog purpuričnog osipa može se primjenjivati i kolhicin (156).

Primjena glukokortikoida indicirana je u slučajevima teške zahvaćenosti probavnog sustava, orhitisa, cerebralnog vaskulitisa i plućne hemoragije (1, 5, 98, 99, 131–133). Kod životno ugrožavajućih stanja ili organskog zatajenja inicijativa SHARE preporučuje dodavanje citotoksičnih immunosupresiva (98). U slučaju jakih bolova u truhu ili gastrointestinalnog krvarenja indicirana je uporaba glukokortikoida u dozi 1-2 mg/kg/dan, a u refraktornim slučajevima ili ako nije moguć oralni put primjene, treba dati pulsne doze metilprednizolona 10-30 mg/kg do najviše 1 g dnevno kroz tri uzastopna dana (98). Postoje prijepori oko primjene glukokortikoida i oprečni rezultati objavljenih istraživanja (157–161). Prema nekim autorima dokazane dobrobiti liječenja glukokortikoidima u ranoj fazi razvitka gastrointestinalnih manifestacija jesu ublažavanje bolova u truhu, smanjenje rizika za nastanak intususcepcije i time potrebe za kirurškim zahvatom i kraće trajanje hospitalizacije (157–159) dok drugi nisu primijetili značajno smanjenje rizika ponovnog javljanja gastrointestinalnih simptoma niti jasnu prednost glukokortikoida u odnosu na suportivno liječenje nazogastričnom dekompresijom, antibioticima i parenteralnom prehranom (160, 161). Profilaktička primjena glukokortikoida u sprječavanju nefritisa nije indicirana budući da su randomizirana kontrolirana istraživanja pokazala da su bolesnici koji su ih primali u ranoj fazi bolesti s jednakom učestalošću razvili nefritis kao oni koji ih nisu primali (98, 161–163).

Iako potonja istraživanja ukazuju na to da glukokortikoidi ne preveniraju nastanak bubrežne bolesti, bolesnici s nefritisom ipak zahtijevaju primjenu glukokortikoida zajedno s imunosupresivima i antihipertenzivima radi bržeg postizanja remisije. Kod većine djece s IgAV-om nefritis je obično blag, prolazan i bez posljedica na bubrežnu funkciju te se najčešće očituje izoliranom eritrociturijom koja ne zahtijeva biopsiju bubrega niti imunosupresivnu terapiju, ali bolesnike treba pratiti najmanje šest mjeseci (98).

Prema preporukama SHARE u sve djece s IgAVN-om preporučuje se u terapiju uvesti ACE inhibitore radi povoljnog učinka na sprječavanje ili ograničavanje sekundarnoga glomerularnog oštećenja. U djece s proteinurijom $< 2,5$ g/dU i urednim eGFR-om kao prva linija liječenja preporučuju se peroralni glukokortikoidi, a u slučaju perzistiranja proteinurije u terapiju treba dodati neki od imunosupresivnih lijekova: azatioprin, mikofenolat mofetil ili primjeniti pulsne doze glukokortikoida. Preporuka za liječenje umjereno teškog IgAVN, definiranog s proteinurijom $> 2,5$ g/dU i eGFR-om < 80 ml/min/1,73m², s manje od 50% polumjeseca u nalazu bubrežne biopsije, uključuje primjenu pulsniha doza glukokortikoida uz dodatak azatioprina, mikofenolat mofetila ili intravenskog ciklofosfamida kod refrakternosti. Liječenje teških oblika IgAVN-a s nalazima proteinurije $> 2,5$ g/dU, eGFR-om < 80 ml/min/1,73 m² i s više od 50% polumjeseca u bioptatu bubrega sastoji se od pulseva glukokortikoida i ciklofosfamida, a nastavlja se s peroralnim glukokortikoidima u kombinaciji s azatioprinom ili mikofenolat mofetilom kao terapijom održavanja (98) (sl. 10).

Kod najtežih slučajeva kada su iscrpljene terapijske mogućnosti dolazi u obzir plazmafereza, intravenski imunoglobulini (IVIG) i rituksimab iako za nijedno od njih nema dovoljno randomiziranih istraživanja, već samo serije slučajeva koje potvrđuju uspjeh u liječenju (1, 3, 5, 164). Zaključno, inicijativa SHARE dala je međunarodne preporuke za liječenje djece s IgAV-om i time omogućila usklađivanje i optimiziranje skrbi za sve bolesnike.



Slika 10. Preporuke inicijative SHARE za liječenje nefritisa u sklopu IgAV-a (prilagođeno prema referenci br. 98).

AZA: azatioprin, MMF: mikofenolat-mofetil, MP: metilprednizolon, CYC: ciklofosamid, ACE: angiotenzin konvertirajući enzim

1.1.7. Biomarkeri u IgAV-u i IgAVN-u

Biomarker je endogena molekula koja se može objektivno mjeriti kao pokazatelj fiziološkog ili patološkog procesa ili kao odgovor na terapijsku intervenciju, a može se izvesti iz molekularnih, histoloških, radiografskih ili fizioloških karakteristika (165–167). Biomarkere je moguće određivati iz tkivnih uzoraka, tjelesnih tekućina poput krvi, slina, suza i metaboličkih razgradnih produkata poput urina i stolice. Određivanje iz tjelesnih tekućina i razgradnih produkata ima brojne prednosti jer se do biološkog uzorka relativno lako dolazi, prikupljanje uglavnom ne zahtijeva primjenu invazivnih postupaka, a uočene promjene, kao što je to primjerice slučaj s uzorkom urina, mogu izravno odražavati promjene koje postoje u parenhimu organa i organskog sustava od interesa.

U kontekstu IgAV-a, biomarkeri mogu imati više ciljeva koji se međusobno ne isključuju, a to su utvrđivanje sklonosti za obolijevanje, bolje razumijevanje

imunopatogeneze, procjenu aktivnosti bolesti, prognostički značaj kao i procjenu odgovora na terapiju (166, 167).

Usprkos mnogim potencijalnim biomarkerima koji se stalno ispituju i pronalaze iz seruma djece s IgAV-om, u literaturi najčešće spominjani nalaz je povišena razina Gd-IgA1, posebno u djece s IgAVN-om (61, 66, 67, 88–92). Osim Gd-IgA1 istraživanja su pokazala da povišene serumske razine specifičnih protutijela, pentraksina 3 (168), MMP-9 (169), angiotenzinogena (AGT, engl. *angiotensinogen* (170), alfa aktina glatkog mišića i c-Met (171) te snižena koncentracija apolipoproteina M (172) također povezane s rizikom za nefritis u djece s IgAV-om. Među biomarkerima u urinu značajnima za nefritis pokazale su se komponente komplementa C3, C4, C5 i C5a (173) te čimbenik inhibicije migracije makrofaga (MIF, engl. *macrophage migration inhibitory factor*) koji dobro korelira s mikroalbuminurijom i 24-satnom proteinurijom (174). Nedavno objavljeni sustavni pregled kao najznačajnije biomarkere u urinu u djece s IgAVN-om izdvaja KIM-1 (engl. *kidney injury molecule*), MCP-1 (engl. *monocyte chemoattractant protein 1*), NAG (engl. *N-acetyl-beta-glucosaminidase*) i AGT, a prva tri korelirala su s aktivnosti bolesti (175). Primjena proteomike i metabolomike pokazuje obećavajući pristup u istraživanju biomarkera u IgAV-u u djece. Tako je jedno istraživanje pokazalo da su dihidroksiaceton fosfat (DHAP (18:0)), prostaglandin D2/I2, 5-metiltetrahidrofolična kiselina, porfobilinogen i N-acetil-4-O-acetilneuraminska kiselina acid/N-acetil-7-O-acetilneuraminska kiselina povišeni u serumu djece koja će razviti nefritis i prije nego što dođe do zahvaćenosti bubrega (176). Jedno proteomsko istraživanje pokazalo je da serumski AGT korelira s nefritisom i može poslužiti kao potencijalni biomarker progresije IgAV-a (170) dok je drugo istraživanje pokazalo da su serumske razine C4a i IgA neovisni čimbenici rizika za razvoj IgAVN-a, a d-dimeri za razvoj gastrointestinalnih manifestacija (177). Niti jedan od ispitivanih biomarkera u serumu i urinu kod djece s IgAV-om nije validiran niti je određivanje bilo kojeg od biomarkera uvedeno u rutinsku kliničku primjenu.

1.1.8. Prognoza i ishod

Većina oboljele djece s IgAV-om ima odličnu prognozu i potpuno se oporavi tijekom nekoliko tjedana bez ikakvih posljedica. Kod 15-40% djece dolazi do recidiva, najčešće purpuričnog osipa s bolovima u trbuhu unutar šest mjeseci od njihove prve pojave (1, 3–5). U mlađe djece vjerojatnost recidiva je manja nego u starije djece (1, 5). Recidivi se mogu

javljati spontano ili nakon respiratorne infekcije, ali je epizoda blažeg i kraćeg trajanja od prethodne. Teži tijek bolesti sa zahvaćenim gastrointestinalnim sustavom, artritisom, dobi iznad 8 godina i nefritisom povezani su s većom učestalosti recidiva (1, 5, 122, 178, 179).

Djecu s IgAV-om koja inicijalno nisu razvila nefritis treba pratiti najmanje šest mjeseci jer je to vrijeme unutar kojeg se u 97% oboljelih očekuju mogući patološki nalazi u urinu ukoliko će doći do razvoja nefritisa (3, 4, 129). U akutnoj fazi bolesti morbiditet je gotovo isključivo povezan sa zahvaćanjem gastrointestinalnog sustava, a iznimno i s neurološkim poremećajima ako su prisutni. Kasnije je glavni i gotovo jedini uzrok morbiditeta i mortaliteta kod djece s IgAV-om nefritis (1, 5). Bolesnici s IgAVN-om u najboljem slučaju zahtijevaju redovito praćenje bubrežne funkcije, kontrole urina i vrijednosti tlaka, dok u najtežim slučajevima uz sve to i dugotrajno liječenje kombinacijom glukokortikoida i imunosupresivnih lijekova kako bi se spriječile komplikacije i razvoj završnog stadija kronične bubrežne bolesti.

Istraživanja pokazuju različite rezultate ishoda djece s IgAVN-om. Kod minimalnih bubrežnih promjena više od tri četvrtine bolesnika potpuno se oporavi unutar 2 godine (1). Najtežu prognozu imaju bolesnici s brzoprogresivnim glomerulonefritisom jer u kratkom vremenu dolazi do pogoršanja bubrežne funkcije uz gubitak više od 50% glomerula što zahtijeva brzu indukcijsku terapiju, a unatoč tome u većine unutar godine dana dolazi do bubrežnog zatajenja (1, 3). Velik rizik za razvoj završnog stadija bubrežne bolesti imaju bolesnici koji su se na početku prezentirali nefritičkim, a osobito nefrotskim sindromom (3, 4, 129, 180). Jedan sustavni pregled literature pokazao je da se taj postotak kreće do 20% i da je rizik 2,5 puta veći u ženske djece (129). Završni stadij bubrežne bolesti nastupa u 1-5% bolesnika (1, 3–5, 121, 127–129). Prema istraživanjima, prognoza transplantiranih pacijenata s IgAVN-om dobra je jer je ukupna stopa preživljenja presađaka unutar 10 godina blizu 90%, iako se histološki recidiv, ali bez onog kliničkog, može vidjeti i u do 60% transplantiranih bolesnika (3, 5).

Ostaje otvoreno pitanje koliko dugo treba pratiti djecu s IgAVN-om koja su ušla u remisiju bolesti. Jedno istraživanje koje je 23 godine pratilo 78 bolesnika s IgAVN-om od dječje do odrasle dobi pokazalo je da je do 44% bolesnika s inicijalno teškim IgAVN-om i do 13% bolesnika s inicijalno blažim IgAVN-om razvilo hipertenziju i imalo smanjenu bubrežnu funkciju, a više od trećine žena imalo je opstetričke komplikacije u vidu EPH gestoza (181). Drugo istraživanje s medijanom praćenja od 24 godine pokazalo je da je čak 70% žena koje su imale IgAVN u djetinjstvu imalo hipertenziju, proteinuriju i edeme u trudnoći (182).

Iz toga bi se dalo zaključiti da djeca s IgAVN-om zahtijevaju dugo praćenje koje prelazi i u odraslu dob.

1.2. Obrazloženje teme

Moderna istraživanja u reumatologiji, kao medicinskoj specijalnosti koja se bavi dijagnostikom i liječenjem sistemskih autoimunskih i upalnih reumatskih bolesti, trenutno su usmjerena na ispitivanja raznih biomarkera iz neinvazivnih bioloških uzoraka kao što su serum, urin, stolica, slina i suze s ciljem pronalaženja idealnog biljega koji bi razlikovao i prepoznao aktivnost bolesti, mogućnost rasplamsavanja i ukazivao na specifičnosti kliničkih i laboratorijskih značajka reumatske bolesti koja je od interesa istraživanja (167, 183–188).

Istraživanja u IgAV-u koji je također predmet proučavanja reumatologije, napose pedijatrijske, također su usmjerena prema otkrivanju neinvazivnih i pouzdanih dijagnostičkih i prognostičkih biomarkera koji bi ukazivali na produljeno trajanje autoimunskog procesa i omogućili rano prepoznavanje bolesnika s nepovoljnim tijekom bolesti, posebno onih koji su ugroženi razvojem nefritisa kao najznačajnije kronične komplikacije bolesti (88, 168–177).

Tema ovog istraživanja polazi od pretpostavke da pronalaženje biomarkera visoke osjetljivosti i specifičnosti u IgAV-u može biti od kliničke važnosti zbog ranog otkrivanja, praćenja, pravovremene terapijske intervencije i prognoze bolesnika.

U tu svrhu ispitat će se sljedeća 4 potencijalna biomarkera za IgAV:

- imunoglobulin A1 bez galaktoze (Gd-IgA1)
- protein visoke pokretljivosti iz skupine 1 (HMGB1, engl. *high mobility group box 1*)
- receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije (RAGE, engl. *receptor for advanced glycation end products*)
- protokadherin 1 (PCDH1, engl. *protocadherin 1*)

1.2.1. Imunoglobulin A1 bez galaktoze (Gd-IgA1)

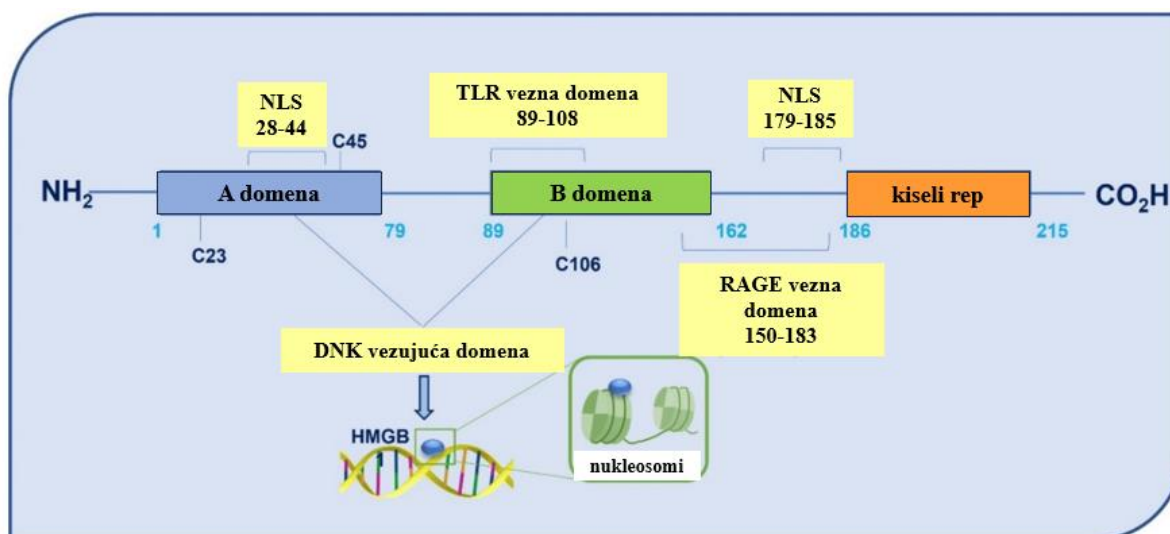
Prema već opisanom hipotetskom modelu čini se da su Gd-IgA1 i stvoreni imunokompleksi koji ga sadrže uključeni u patogenezu IgAV-a, a osobito nefritisa. Unatoč tome, uloga Gd-IgA1 u IgAV-u i dalje je kontroverzna i nije poznato je li Gd-IgA1 pored nefritisa uključen i u patogenezu sistemske upale. Rezultati dvaju istraživanja tvrde da Gd-IgA1 ne postoji u bolesnika s IgAV-om i da nema razlike u serumskim razinama između IgAV-a i zdravih ispitanika te je jedino prisutan u bolesnika s nefritisom (92, 189). Dodatno u prilog razlike između bolesnika s nefritisom i onih bez nefritisa govore rezultati istraživanja u kojima cirkulirajući Gd-IgA1 imunokompleksi jedino u bolesnika s IgAVN-om sadrže IgG i da su upravo u takvom obliku odgovorni za odlaganje u glomerule (190). Istu tezu podupire istraživanje provedeno na 30 djece s IgAV-om, od kojih je 20 imalo nefritis, koje je pokazalo da je koncentracija imunokompleksa IgG-Gd-IgA1 i Gd-IgA1 značajno veća u serumu i supernatantu stanične kulture u djece s nefritisom u usporedbi s djecom koja nisu razvila nefritis i sa zdravim kontrolama (61). Oprečne rezultate dijelom je pokazala grupa autora koja je detektirala Gd-IgA1 u endotelnim stanicama dermisa pokazavši da je odlaganje Gd-IgA1 jedan od preduvjeta za razvoj IgAV-a, neovisno o tome je li riječ o obliku bolesti ograničenom samo na kožu ili sistemskom obliku bolesti s nefritisom. U ispitivanoj kohorti bolesnika jedino kod sistemskog oblika bolesti detektirane su serumske koncentracije Gd-IgA1 veće od 20 µg/ml ostavivši otvoreno pitanje određivanja praga osjetljivosti za razvoj sistemskog IgAV-a (65). Da je Gd-IgA1 uključen u patogenezu IgAV-a pokazalo je istraživanje u kojem je serumska koncentracija Gd-IgA1 pozitivno korelirala s udjelom folikularnih pomoćnih T limfocita i razinama IL-6 (89).

Prema većini dosad objavljenih rezultata serumska razina Gd-IgA1 u djece s IgAVN-om značajno je veća u usporedbi s djecom koja nemaju nefritis (61, 66, 67, 88–92), a slično vrijedi i za odrasle bolesnike (65, 191, 192). Jedno od istraživanja provedenih na odraslim bolesnicima s IgAVN-om pokazalo je da su visoke serumske koncentracije Gd-IgA1 povezane s velikim rizikom progresije nefritisa sugerirajući da bi se određivanje Gd-IgA1 moglo iskoristiti kao biomarker bubrežnog oštećenja (191). Da Gd-IgA1 vjerojatno može poslužiti kao potencijalni biomarker u IgAV-u, pokazalo je kohortno istraživanje na 67 djece s IgAV-om, među kojima je bilo 23 s nefritisom, gdje su se značajnim za ranu detekciju nefritisa pokazale serumske koncentracije $\geq 1485,57$ U/ml i koncentracije $\geq 105,74$ U/mmol u urinu (91).

1.2.2. Protein visoke pokretljivosti iz skupine 1 (HMGB1)

HMGB1, poznat pod nazivom amfoterin, nehistsonski je protein koji veže kromatin, izoliran 1973. godine iz telećeg timusa, a naziv je dobio zbog svoje visoke elektroforetske pokretljivosti (193). Odmah na početku HMGB1 je prepoznat kao DNK-vezujući protein, a slijedom toga otkrivale su se brojne nuklearne uloge poput one molekule pratitelja koji pomaže u savijanju DNK i reguliranju transkripcije, popravku DNK, stabilizaciji nukleosoma, rekombinaciji V(D)J gena, zatim autofagije i razgradnje oštećenih staničnih organela u citoplazmi stanice (194). Kasnije spoznaje pokazale su da, osim unutar jezgre i citoplazme stanice, HMGB1 vezanjem za brojne izvanstanične receptore ostvaruje niz interakcija s upalnim stanicama i citokinima, sudjeluje u regeneraciji, proliferaciji, diferencijaciji i apoptozi stanica, ima neurotransmiterski učinak i održava homeostazu (194, 195).

HMGB1 je ubikvitarni jednolančani protein građen od 215 aminokiselina, a strukturno se sastoji od dvije DNK-vezne podjedinice nazvane A i B domenom i negativno nabijenog C-terminalnog repa. Uloga A domene jest prepoznavanje oštećenja na DNK dok je B domena vjerojatno zadužena za upalni odgovor budući da jedina tvori aktivirajući kompleks s CpG-A-oligonukleotidnim slijedom. Za kiseli C-terminalni rep pretpostavlja se da posreduje u promjeni trodimenzionalne strukture HMGB1, čime olakšava vezanje HMGB1 za histone i nukleosome (195–200). HMGB1 sadrži dva nuklearna lokalizacijska signala, NLS1 i NLS2, koji pokreću pomicanje iz jezgre u citoplazmu, jednu TLR (engl. *Toll-like receptors*) veznu domenu i jednu RAGE veznu domenu (198) (sl. 11).



Slika 11. Struktura HMGB1: dvije homologne DNK-vezne domene A i B, kiseli rep, dva nuklearna lokalizacijska signala (NLS), RAGE vezna domena i TLR vezna domena (preuzeto i prilagođeno iz reference br. 198).

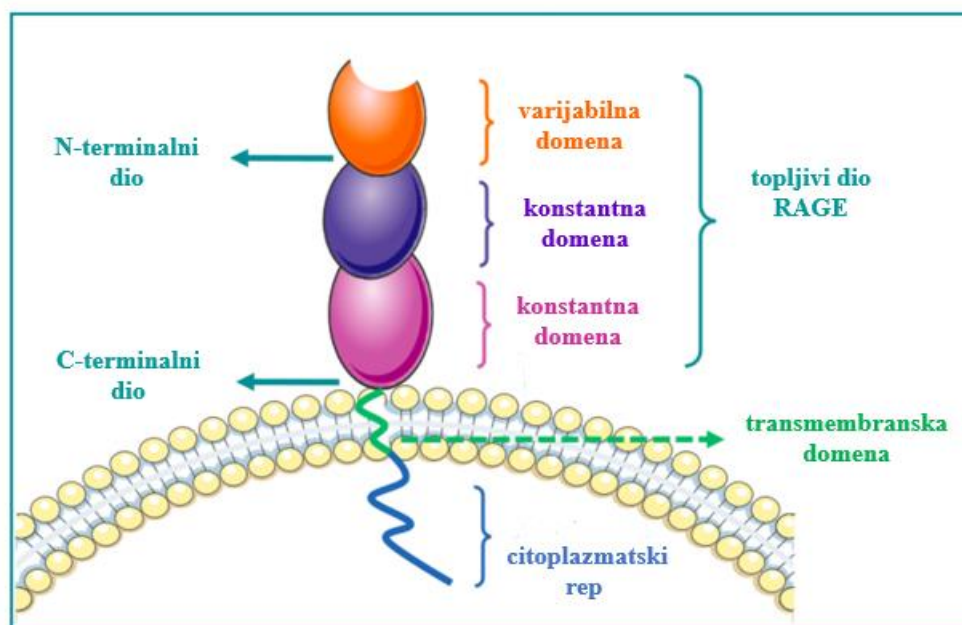
U fiziološkim je uvjetima HMGB1 visoko koncentriran u jezgri, čak 30 puta više nego u citoplazmi u koju dopijeva prilikom oštećenja jezgre i pod utjecajem posttranslacijskih modifikacija poput acetilacije, metilacije, fosforilacije, glikozilacije i oksidacije (194, 195, 198). HMGB1 je izražen u različitim tkivima, visoke razine prisutne su u tkivu slezene i timusa, a oslobađaju ga i upalne stanice poput makrofaga, monocita, dendritičkih stanica, neutrofila, NK-stanica, sinovijalni fibroblasti i tumorske stanice (194, 198). Može biti otpušten pasivnim putem iz oštećenih i nekrotičnih stanica te aktivno oslobađanjem iz monocita i makrofaga, nakon stimulacije egzogenim patogenim molekulama poput bakterijskog lipopolisaharida, endogenim citokinima TNF- α , IL-1, IFN- γ ili zbog ishemije. Jednom kada dođe u izvanstanični prostor HMGB1 djeluje kao molekulski obrazac povezan s oštećenjem (DAMP, engl. *damage associated molecular pattern*), odnosno alarmin i veže se za svoje brojne receptore, a neki od njih su RAGE, TLR2, TLR4, TLR7 i TLR9, α -sinukleinski filamenti, CXCL12, CD24 i trombospondin (194, 195, 198, 199). Osim što je alarmin, HMGB1 pojačava izražaj površinskih biljega na dendritičkim stanicama i pomaže u njihovom fenotipskom sazrijevanju te dovodi do prikupljanja upalnih stanica i njihovog vezanja za adhezijske molekule na endotelu krvnih žila (201–203).

Brojni objavljeni radovi govore u prilog tome da je HMGB1 kao DAMP uključen u nastanak i razvoj upalnih bolesti, tumora, autoimunskih bolesti, šećerne bolesti, kardiovaskularnih bolesti i neurodegenerativnih bolesti (183, 194, 195, 198–200, 204–209). Rezultati jedne meta analize pokazali su da je serumska koncentracija HMGB1 značajno veća u bolesnika s autoimunskim bolestima i može odražavati aktivnost bolesti (183).

U istraživanju koje je imalo za cilj procijeniti značaj HMGB1 u raznim bubrežnim bolestima, skupina autora objavila je da je serumska koncentracija HMGB1 značajno veća u bolesnika s IgAVN-om u odnosu na kontrolne ispitanike. Rezultati su pokazali da HMGB1 ima specifičnost od 71% kao dijagnostički marker u serumu bolesnika s IgAVN-om (209). Sporadične studije o IgAV-u u djece pokazale su da je HMGB1 značajno viši u serumu oboljele djece i izražen u citoplazmi endotelnih stanica kože iz kojih inducira otpuštanje TNF- α i IL-6 (210). Osim toga, prema jednom objavljenom istraživanju HMGB1 pozitivno korelira s upalnim pokazateljima i hiperkoagulabilnošću u IgAV-u, a serumska koncentracija mu je veća u djece koja su razvila nefritis u sklopu bolesti (211). U mišjem modelu kožnog vaskulitisa blokada HMGB1 dovela je do značajnog poboljšanja upalnog odgovora sugerirajući potencijalni terapijski učinak (212).

1.2.3. Receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije (RAGE)

RAGE je transmembranski protein iz porodice imunoglobulina prvotno izoliran 1992. godine iz endotelnih stanica goveđih pluća, a nazvan je zbog svoje sposobnosti da veže krajnje produkte uznapredovale glikacije (AGE, engl. *advanced glycation end products*) koji uglavnom uključuju glikoproteine (213, 214). RAGE je visoko izražen u pneumocitima tipa I i II, a također je prisutan u neutrofilima, monocitima/makrofazima, limfocitima, u srčanom tkivu, jetri, bubregu, neuronima, endotelu krvnih žila, glatkoj i skeletnoj muskulaturi (195, 200, 215). Strukturno se sastoji od 404 aminokiselina i ima tri dijela: izvanstaničnu domenu s jednim varijabilnim i dva konstantna dijela, transmembransku domenu i citoplazmatski hidrofobni rep (195, 216) (sl. 12).



Slika 12. *Struktura RAGE: izvanstanični dio koji se sastoji od tri domene: varijabilne domene i dvije konstantne domene, zatim transmembranski dio i citoplazmatski rep unutar stanice (preuzeto i prilagođeno iz reference br. 216).*

Funkcionalno gledano, postoji u membranskom i topljivom obliku. Membranski RAGE djeluje kao multiligandni receptor za različite endogene i egzogene molekule, a zbog uloge u prirođenoj imunosti i sposobnosti otkrivanja klase liganada kroz zajedničke obrasce ubraja se u receptore za prepoznavanje obrazaca (PRR, engl. *pattern recognition receptor*). U glavne ligande ubrajaju se AGE i HMGB1, a na RAGE također se može vezati i obitelj proteina S100, kromatinske strukture od DNK i RNK, kolagen tipa I, kolagen tipa IV, proteini

toplinskog šoka, fibrilarni proteini poput amiloida β i serumskog amiloida A, β 2-integrin, laki lanci imunoglobulina i prioni (195, 216, 217). Nakon vezivanja endogenih i egzogenih liganada na membranu RAGE-a dolazi do aktivacije NF- κ B (engl. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) signalnog puta i time transkripcije DNK i proizvodnje prvenstveno proupalnih citokina (200, 216). Neke od uloga RAGE-a u imunološkom sustavu uključuju usmjeravanje nezrelih dendritičkih stanica u limfne čvorove čime posreduje u njihovoj aktivaciji, sudjelovanje u sazrijevanju i polarizaciji T limfocita, a djeluje kao endotelna adhezijska molekula putem izravne interakcije sa svojim ligandom β 2-integrinom (202, 218, 219). Za razliku od membranskog, topljivi oblik molekule (sRAGE, engl. *soluble RAGE*) sastoji se jedino od izvanstaničnog dijela, a može s jednakom specifičnošću vezati ligande. Nastaje proteolitičkim cijepanjem od membranskog RAGE-a ili kao rezultat alternativnog spajanja. sRAGE djeluje kao mamac receptor za ligande i natječe se za njihovo vezanje s membranskim RAGE te na takav način zapravo ostvaruje zaštitničku ulogu budući da vezanjem liganada koji potencijalno djeluju proupalno, smanjuje štetne učinke po domaćina i ubrzava njihovu eliminaciju iz cirkulacije (195).

Istraživanje provedeno na populaciji od 626 zdravih dobrovoljaca pokazalo je da su koncentracije HMGB1 i sRAGE obrnuto proporcionalne u cirkulaciji što može imati klinički i terapijski značaj (220). Inverzni odnos između HMGB1 i sRAGE dokazan je u serumu i sinovijalnoj tekućini djece oboljele od JIA i sistemskog eritemskog lupusa (SLE, engl. *systemic lupus erythematosus*) (204). Općenito, dosadašnja istraživanja prepoznala su ulogu RAGE-a u brojnim kroničnim i upalnim bolestima poput malignih bolesti, autoimunskih bolesti, artritisa, Alzheimerove bolesti, šećerne bolesti, u procesima starenja i smrti stanice (195, 200, 204, 216). Osim sporadičnih istraživanja u nekim vaskulitisima, RAGE do sada nije ispitan u bolesnika s IgAV-om (205, 221, 222).

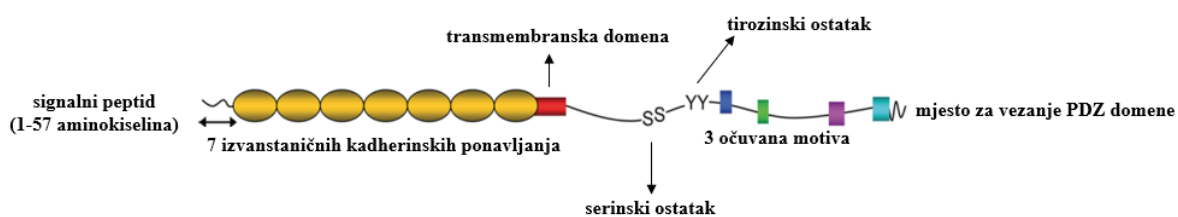
1.2.4. Protokadherin 1 (PCDH1)

Kadherini su transmembranski glikoproteini ovisni o kalciju koji sudjeluju u međustaničnoj adheziji, odnosno održavanju spojeva između stanica. Otkriveni su krajem 1970-ih godina 20. stoljeća, a ime im je skraćenica sintagme kalcijaska adhezija. Kadherini se dijele na četiri osnovne skupine: klasični kadherini, blisko povezani kadherini, protokadherini i dezmosomalni kadherini (223).

Obitelj protokadherina otkrivena je 1993. godine i čini najveću skupinu kadherina s opisanih oko 70 vrsta od kojih je većina visoko izražena u središnjem živčanom sustavu gdje

vjerojatno sudjeluju u stvaranju specifičnih sinaptičkih veza (224). Protokadherini se dalje dijele na sljedeće porodice: grupirane (cPCDH, engl. *clustered protocadherins*) protokadherine (α , β , γ), flamingo protokadherine, velike protokadherine i negrupirane (ncPCDH eng. *non-clustered protocadherins*) protokadherine [δ (δ_1 , δ_2) i ϵ] (225, 226). U δ_1 porodicu ubraja se PCDH1, prvotno identificiran pod nazivom PC42 (engl. *phosphatidylcholine 42*) u štakorskom mozgu i tkivu retine (224). Kasnije se spoznalo da je, osim u neuronima i glija stanicama, ljudski i mišji PCDH1 također izražen u keratinocitima, epitelu dišnog sustava, plućima, fibroblastima, endotelnim stanicama, perifernim mononuklearima i bubregu (224, 227, 228).

Smatra se da PCDH1 daje određenu elastičnost i posreduje u međuepitelnoj adheziji ne-neuronskog tkiva koje je izloženo raznim mehaničkim i kemijskim podražajima. Ljudski i mišji PCDH1 pokazuju visoku istovjetnost aminokiselinskih sekvenci koja iznosi čak 96% (229). Ljudski PCDH1 sadrži 1237 aminokiselina, a građen je od citoplazmatske domene s tri očuvana motiva (CM₁₋₃, engl. *cytoplasmic motifs*), transmembranske domene i sedam izvanstaničnih kadherinskih ponavljanja (EC₁₋₇, engl. *extracellular*) (225–227, 229). Na C-terminalnom kraju repa PCDH1 također sadrži vezno mjesto za PDZ domenu važnu u signalizaciji (230) (sl. 13).



Slika 13. Struktura PCDH1: 7 kadherinskih ponavljanja, transmembranska domena i 3 očuvana citoplazmatska motiva na koju može biti vezana PDZ domena (preuzeto i prilagođeno iz reference br. 229).

Dok uloga CM₁ i CM₂ još nije poznata, CM₃ služi kao vezno mjesto za proteinsku fosfatazu 1 alfa (PP1 α) važnu u kontroli staničnog ciklusa i apoptozi te morfogenezi pluća (229, 231).

Osim što djeluje kao adhezijska molekula između stanica, ostale uloge PCDH1 još uvijek nisu poznate kao što, osim već spomenute interakcije s PP1 α preko CM₃ domene, nisu istražene ni interakcije s drugim signalnim molekulama. U dvohibridnom kvascu PCDH1 identificiran je kao vezni protein za SMAD3 (engl. *small mothers against decapentaplegic*

homolog-3), signalne molekule koja posreduje u epitelno-mezenhimalnoj tranziciji i epitelnom popravku potaknutom od TGF- β (229).

Disfunkcija PCDH1 do sada je opisana u nekim bolestima poput ekcema, atopijskog dermatitisa, astme, u nekim malignim tumorima, poput karcinoma gušterače, gdje je pretpostavljeni mehanizam nastanka tih bolesti gubitak međustanične adhezije i nepotpuna diferencijacija epitelnog sloja (227, 229, 232–235). Pretpostavljeni mehanizam sudjelovanja PCDH1 u nastanku astme također uključuje i aktivaciju signalnih puteva pri čemu pojačano vezanje PCDH1 za SMAD3 smanjuje aktivaciju TGF- β i time epitelni popravak (229). Pojačana ekspresija PCDH1 dokazana je u keratinocitima u kasnoj fazi cijeljenja rane (234, 235). U bolesnika s karcinomom gušterače izražaj PCDH1 bio je pojačan u malignom tkivu, povezan s dubinom tumorske invazije i metastazama u limfnim čvorovima. Čini se da PCDH1 može poticati razvoj malignih tumora jer stupanjem u interakciju s onkogenom KPNB1 (engl. *karyopherin β 1*) neposredno potiče ulaz p65 u stanice i interakciju s NF- κ B signalnim putem (233). Izražaj PCDH1 smanjen je u štakorskom modelu tumora bubrega (228). Općenito, PCDH1 je izražen u glomerularnom epitelu za vrijeme embrionalnog razvoja miša, a potom samo u proksimalnim tubulima odraslih jedinki (228). Istraživanje proteomskog urinarnog panela u bolesnika s IgA nefropatijom pokazalo je višestruko povišenu koncentraciju PCDH1 u urinu kod tih bolesnika, a mehanizam nastanka protumačen je oštećenjem glomerularnog endotela i epitela proksimalnih tubula koji sadrže PCDH1, uslijed čega dolazi do gubitka spomenutog proteina urinom (236). Budući da je PCDH1 izražen u brojnim tkivima te dokazan kod atopijskih i malignih bolesti, treba istražiti ima li kakvog utjecaja i na autoimunosne reumatske bolesti.

2. HIPOTEZA

Povišena razina Gd-IgA1, HMGB1 i PCDH1 i snižena razina RAGE u serumu i urinu bolesnika s IgAV-om u odnosu na kontrolnu skupinu, označavaju aktivnu bolest i prediktori su IgAVN-a.

3. CILJEVI

OPĆI CILJ: Odrediti razinu Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece oboljele od IgAV i usporediti s kontrolnom skupinom.

SPECIFIČNI CILJEVI:

1. Odrediti razinu Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece oboljele od IgAV na početku bolesti i nakon 6 mjeseci od postavljanja dijagnoze.
2. Usporediti razinu Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece s IgAV-om bez IgAVN-a u odnosu na skupinu djece s IgAVN-om.
3. Odrediti odabrane laboratorijske parametre u bolesnika s IgAV-om na početku bolesti i nakon 6 mjeseci od postavljanja dijagnoze te u djece iz kontrolne skupine.
4. Utvrditi stupanj korelacije između razine Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 te izraženosti kliničke slike, odabranih laboratorijskih parametara i aktivnosti bolesti.

4. ISPITANICI i METODE

Ovo prospektivno istraživanje provedeno je u razdoblju od siječnja 2020. do listopada 2023. godine.

Etičko Povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu odobrilo je istraživanje u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost IP-2019-04-8822: "Histološki, klinički, laboratorijski i genski prediktori ishoda bolesnika s Henoch-Schönleinovom purpustom i nefritisom", voditeljica: Prof. dr. sc. Marija Jelušić (Ur. Broj: 380-59-10106-19-111/215, Klasa: 641-01/19-02/01).

4.1. ISPITANICI

IgAV skupina: 86 djece s dijagnozom IgAV-a postavljenom prema EULAR-ovim/PRINTO-ovim/PRES-ovim kriterijima iz 2008. godine iz tri tercijarna centra za pedijatrijsku reumatologiju u Republici Hrvatskoj: Klinički bolnički centar Zagreb, Klinika za dječje bolesti Zagreb i Klinički bolnički centar Split.

Kontrolna skupina: 70 djece koja nemaju kliničkih niti laboratorijskih znakova upalne bolesti, a kojima su se zbog drugih (ne-upalnih) bolesti uzimali venska krv i urin u sklopu rutinske dijagnostičke obrade te se po dobi i spolu nisu razlikovali od djece s IgAV-om.

Prilikom uključivanja u istraživanje roditelji ili zakonski skrbnici sve djece, kao i sva djeca starija od 8 godina, potpisala su pisani informirani pristanak.

4.2. METODE RADA

4.2.1. Analiza kliničkih i laboratorijskih pokazatelja

U sve djece s IgAV-om uključene u istraživanje učinjen je kompletni klinički pregled kojim su se bilježile pojedine značajke iz kliničke slike IgAV-a kod postavljanja dijagnoze te na kontrolnim pregledima nakon 3, 6 i 12 mjeseci od postavljanja dijagnoze bolesti.

U kliničkoj slici bolesnika s IgAV-om promatrali su se: karakteristike i rasprostranjenost kožnih promjena, prisutnost težih kožnih promjena (nekroze, ulceracije, bule), prisutnost i lokalizacija artritisa i/ili artralgijske, prisutnost i vrsta gastrointestinalnih manifestacija, zahvaćenost bubrega i urogenitalnog sustava i zahvaćenost središnjeg živčanog sustava.

U sve djece vodila se evidencija o primijenjenoj terapiji (lijekovi, doze, početak i trajanje terapije) i izmjerio krvni tlak.

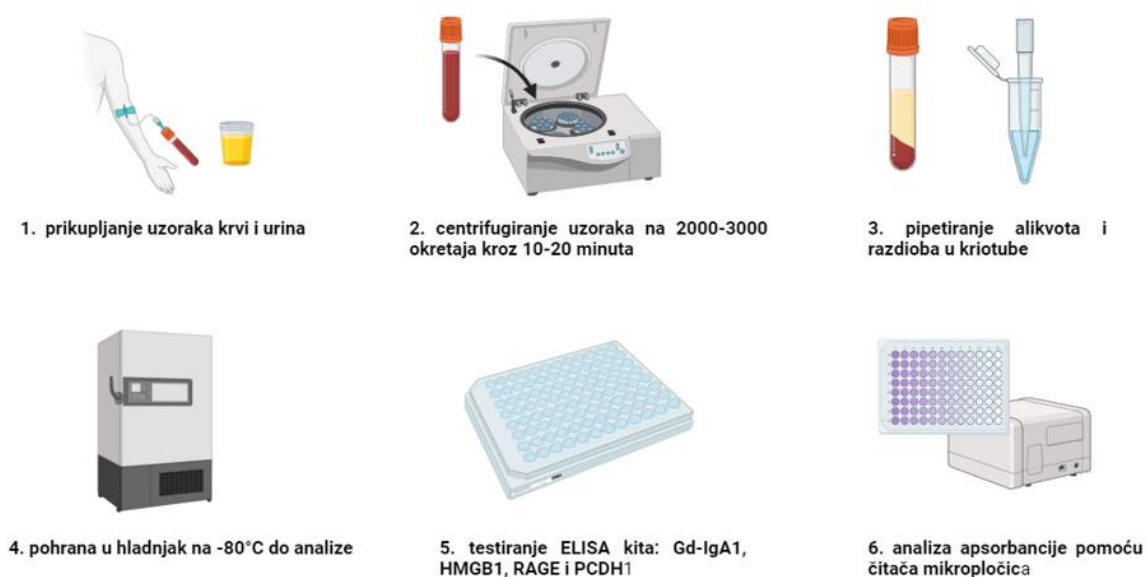
Aktivnost IgAV-a procijenjena je pomoću PVAS (engl. *Pediatric Vasculitis Activity Score*) upitnika u akutnoj fazi bolesti (237). Sastoji se od 64 kliničke varijable (simptomi ili znakovi bolesti) koje su podijeljene na devet organskih sustava: opći (konstitucionalni) simptomi, koža, zahvaćenost sluznice ili očiju, zahvaćenost sluha, nosne sluznice i/ili prisutnost subglotične stenoze, kliničke manifestacije na plućima i/ili smetnje disanja u vidu dispneje, zahvaćenost kardiovaskularnog sustava, zahvaćenost probavnog sustava, nefritis i zahvaćenost središnjeg i/ili perifernog živčanog sustava. Svaka klinička varijabla, ako je prisutna, ocjenjuje se s određenim brojem bodova koji se zatim skupno zbrajaju, a ukupan broj bodova može biti u rasponu 0-63 i predstavlja aktivnost bolesti mjerenu u tom trenutku.

Indikacija za biopsiju bubrega postavljena je na temelju preporuka SHARE (98), a nalaz bubrežne biopsije validiran je prema revidiranoj Oxfordskoj klasifikaciji (149). Ishod nefritisa ocijenjen je na temelju modificirane Counahanove klasifikacije nakon šest mjeseci praćenja (180). Prema toj klasifikaciji ishod se ocjenjuje na četiri načina, kao A, B, C ili D. Ishod A definiran je kao uredan status s urednim nalazima urina ili mikrohematurijom s urednom bubrežnom funkcijom; ishod B je definiran urednim statusom uz proteinuriju < 1 g/dan ili < 40 mg/h/m²; ishod C definiran je kao proteinurija > 1 g/dan ili > 40 mg/h/m², i/ili hipertenzija s eGFR-om > 60 ml/min/1,73 m², dok se ishod D definira bubrežnim zatajenjem (eGFR < 60 ml/min/1,73 m²) ili smrću. Ishod A i B općenito se ocjenjuje kao dobar dok se ishod C i D ocjenjuje kao loš.

Kod postavljanja dijagnoze svim ispitanicima (IgAV i kontrolna skupina) uzeti su uzorci venske krvi i urina iz kojih su analizirani laboratorijski pokazatelji koji su sastavni dio dijagnostičke obrade i praćenja: SE, CRP, hemoglobin, leukociti, trombociti, ureja, kreatinin, feritin, fibrinogen, d-dimeri, protrombinsko vrijeme, aktivirano parcijalno protrombinsko vrijeme, ukupni proteini, albumini, imunoglobulini G, A, M i E, aktivnost klasičnog puta komplementa (CH50), C3, C4, AST-O titar, kvalitativna analiza urina (test-traka i sediment), 24-satna proteinurija, omjer albumin/kreatinin u urinu, eGFR, stolica na okultno krvarenje i kalprotektin. Sve navedene laboratorijske pretrage ponovljene su nakon šest mjeseci samo u bolesnika s IgAV-om.

Osim laboratorijskih pretraga u uzorcima venske krvi i urina u obje skupine kod postavljanja dijagnoze određivane su razine Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1, a isti postupak je ponovljen nakon šest mjeseci samo u bolesnika s IgAV-om.

Uzorak od 9 ml periferne krvi u svih ispitanika uzet je iz kubitalne vene i izvađen u epruvete (vacutainere) s aktivatorom zgrušavanja (Greiner Bio-One International AG, Kremismünster, Austrija). Svi ispitanici dali su uzorak prvog jutarnjeg urina. Venska krv i urin centrifugirani su kroz 10 minuta na 2000-3000 okretaja (Hettich Torofix 32; Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Njemačka). Tako dobiveni serum i urin aspirirani su pomoću pipete, alikvoti su razdijeljeni u kriotube (Kartell, Noviglio, Italija) i pohranjeni u ledenicu na -80°C (Eppendorf U410; s.br.: F410IR113753; Eppendorf, Hamburg, Njemačka) do analize (sl. 14).

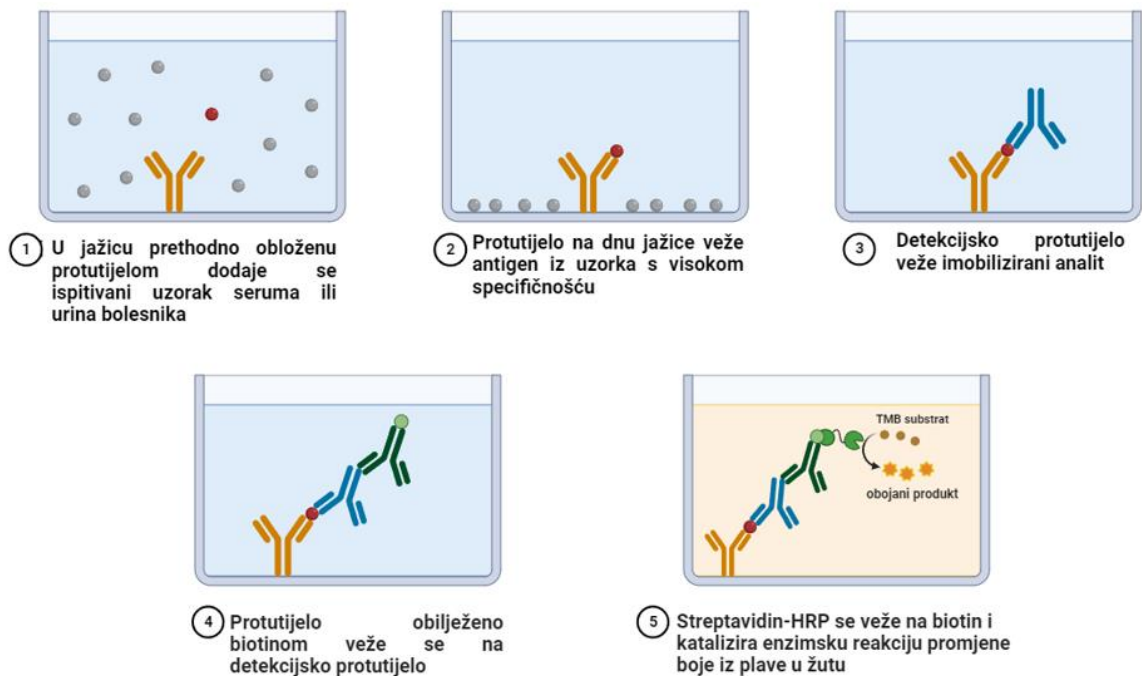


Slika 14. Postupak rada za laboratorijsko određivanje Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 (oblikovano pomoću BioRender.com)

4.2.2. Analiza Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1

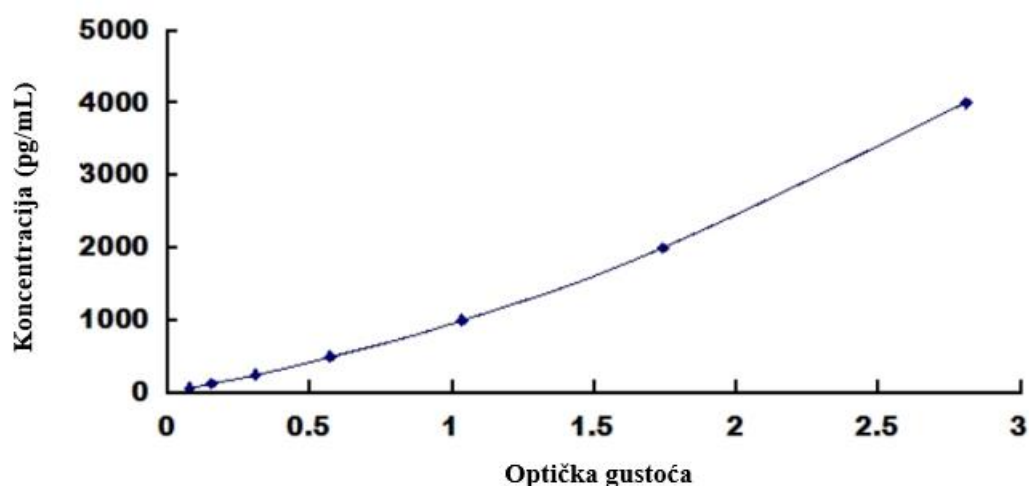
Razine Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u uzorcima seruma i urina izmjerene su pomoću enzimskog imunotesta (ELISA, engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*) prema uputama proizvođača u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb, u Odjelu za laboratorijsku imunologiju.

Analiza se radi po principu sendvič ELISA testa u kojem se količina antigena mjeri između dva sloja protutijela (sl. 15). Antigen koji se određuje mora sadržavati najmanje dva antigenska mjesta sposobna za vezanje na protutijela jer najmanje dva protutijela sudjeluju u "sendviču". Prednost ove metode je visoka osjetljivost i uvjeti izvođenja koji ne moraju biti sterilni (238).



Slika 15. Princip sendvič ELISA testa (preuzeto i oblikovano pomoću BioRender.com)

Standardna krivulja za sendvič ELISA test tipično pokazuje linearni odnos između optičke gustoće i koncentracije ispitivanog analita (sl. 16).



Slika 16. Standardna krivulja sendvič ELISA testa (preuzeto i prilagođeno prema ELISA kit HMGB1 SEA399Hu Cloud Clone instruction manual)

Human Gd-IgA1 ELISA MyBioSource (San Diego, SAD) kit Cat.NO MBS1607395 jest sendvič ELISA test osmišljen za preciznu kvantitativnu detekciju ljudskog Gd-IgA1 u serumu, plazmi, urinu, supernatantu stanične kulture, homogenatu tkiva i ostalim biološkim tekućinama. U jažice ELISA pločice prethodno obložene humanim Gd-IgA1 protutijelima dodaju se standardi poznatih koncentracija i uzorci seruma i urina. Za vrijeme inkubacije od sat vremena na 37°C Gd-IgA1 iz uzoraka i standarda vežu se na protutijela u pločicama. Potom se dodaje ljudsko Gd-IgA1 protutijelo obilježeno biotinom koje se veže za Gd-IgA1 u uzorku. Nakon ispiranja nevezanih protutijela dodaje se streptavidin konjugiran s peroksidazom hrena (HRP, *engl. horseradish peroxidase*) koje se veže za Gd-IgA1 protutijelo obilježeno biotinom. Nakon inkubacije od sat vremena nevezani streptavidin - HRP ispiru se, a dodaje se supstratna otopina koja oboji svaku od jažica proporcionalno količini razvijenog ljudskog Gd-IgA1. Reakcija se prekida dodatkom kisele otopine koja plavu boju odmah promijeni u žutu. Postupak analize Gd-IgA1 treba završiti unutar 10 minuta od dodavanja otopine za zaustavljanje određivanjem optičke gustoće (apsorbancije) na 450 nm svake od jažica uz pomoć čitača mikrotitarskih pločica. Dobiveni rezultati su izraženi u µg/ml.

Prema uputama proizvođača SEA399Hu 96 tests ELISA High Mobility Group Protein 1 (HMG1) Cloud Clone Corp. (Houston, SAD) na sličan način analizirao se HMGB1 u serumu i urinu. Sve reakcije se odvijaju na 37°C. Nakon pripreme standarda i reagensa, uzorci seruma i urina razrijeđeni u omjeru 1:10, dodaju se u odgovarajuće mikrotitarske pločice prethodno

obložene s biotin konjugiranim protutijelom specifičnim za HMGB1. Nakon ispiranja nevezanih analita u svaku jažicu mikrotitarske pločice doda se avidin konjugiran s HRP-om i inkubira kroz sat vremena. Nakon dodavanja tetrametilbenzidin (TMB) supstrata, jedino one jažice koje sadrže HMGB1, biotin konjugirano protutijelo i avidin konjugiran s enzimom pokazat će promjenu boje u plavu. Reakcija enzim-supstrat prekida se dodavanjem otopine sumporne kiseline koja plavu boju pretvara u žutu. Apsorbancija dobivene razvijene boje se odmah očita spektrofotometrijski na valnoj duljini od 450 nm. Koncentracija HMGB1 određuje se usporedbom optičke gustoće uzoraka s vrijednostima standardne krivulje. U uputama proizvođača navedena je najniža detektabilna vrijednost HMGB1 koja iznosi < 28,3 pg/ml, a uobičajeni raspon vrijednosti detekcije iznosi 62,5-4000 pg/ml.

Human RAGE Elisa kit Biorbyt (Cambridge, UK) kataloškog broja orb864692 jest sendvič ELISA test za kvalitativno i kvantitativno in vitro određivanje topljivog oblika RAGE-a u serumu, plazmi, urinu, homogenatu tkiva i ostalim tjelesnim tekućinama. Postupak analize sličan je kao i u prethodna dva opisana testa, te se također odvija na 37°C. U jažice mikrotitarske pločice obložene protutijelom na RAGE, dodaju se standardi i uzorci koji se potom vežu na navedeno protutijelo. Nakon ispiranja u jažice se doda protutijelo obilježeno biotinom i inkubira tijekom 30 minuta. Nakon ponovnog ispiranja dodaje se kompleks avidin-biotin peroksidaze (SABC, engl. *avidin-biotin peroxidase complex*) i inkubira kroz 20 minuta. Dodavanjem TMB supstrata enzimska reakcija oboji jažice u plavo, a nakon ispiranja nevezanog TMB-a dodaje se otopina za stopiranje koja odmah zaustavlja reakciju i boji je u žuto. Apsorbancija se mjeri spektrofotometrijski na valnoj duljini od 450 nm, a koncentracija RAGE u serumu i urinu proporcionalna je optičkoj gustoći te se izračunava iz standardne krivulje. Osjetljivost ELISA testa može detektirati koncentraciju < 15,6 pg/ml.

Human PCDH1 ELISA kit Biorbyt (Cambridge, UK) služi za kvantitativnu detekciju PCDH1 u uzorcima ljudskog seruma, plazme, urina i tkivnih uzoraka po principu sendvič ELISA testa. Reakcije se odvijaju na 37°C. Mikrotitarska pločica s 96 jažica na dnu je obložena protutijelom na PCDH1 s biotin konjugiranim protutijelom koji služi za detekciju. Nakon pripreme, u jažice se dodaju standardi i uzorci seruma i urina u razrijeđenju 1:10, a potom slijedi inkubacija u trajanju od 90 minuta. Nakon ispiranja puferom u jažice se dodaje biotin konjugirano protutijelo te po naknadnom ispiranju i streptavidin – HRP konjugat. Nevezani konjugati streptavidina se ispiru nakon čega se dodaje TMB supstrat koji reakciju oboji u plavo. Nakon dodavanja otopine za stopiranje koja sadrži sumpornu kiselinu enzimska reakcija se odmah oboji u žutu. Mikrotitarska pločica se odmah očita spektrofotometrijski te

se na valnoj duljini od 450 nm dobiju vrijednosti apsorbancija iz kojih se računa ciljna koncentracija PCDH1 u ng/ml preračunata prema razrijeđenju.

Rezultati u urinu prikazani su kao omjer dobivenih koncentracija u urinu u odnosu na vrijednost kreatinina u urinu ispitanika.

Rezultati enzimskog imunotesta očitani su pomoću uređaja za spektrometrijsko očitavanje mikrotitarskih pločica SPECTROstar® Nano (BMG Labtech GmbH, Ortenberg, Njemačka) serijskog broja 601-1808.

4.2.3. Statistička analiza

Statistička analiza podataka provedena je korištenjem programske podrške Statistica for Windows verzija 12.0, GraphPad Prism verzija 9.1.2 te R for Windows verzija 4.2.3. Podaci su prikazani tablično i grafički, a priprema podataka izvršena je pomoću računalnog tabličnog programskog paketa MS Excel Office 2019.

Numerički podaci prikazani su opisno pomoću aritmetičke sredine i standardne devijacije u slučaju simetrične distribucije, a u protivnom pomoću medijana i interkvartilnih raspona. Prema potrebi učinjene su transformacije numeričkih varijabli koje nisu simetrično raspodijeljene pomoću logaritamske, Box-Cox ili drugih prikladnih transformacija.

Kategorijske varijable prikazane su deskriptivno pomoću apsolutnih i relativnih proporcija. Razlike među kategorijskim varijablama ispitane su pomoću χ^2 , odnosno Fisherovog egzaktnog testa.

S obzirom na dizajn istraživanja, razlike među numeričkim varijablama ispitale su se dvosmjernom analizom varijance (2x2 (vrijeme x skupina) engl. *two-way ANOVA*) s Tukeyevim *post hoc* testom kod simetrično distribuiranih podataka, dok su kod asimetrične distribucije razlike među skupinama ispitane pomoću Mann Whitneyevog U testa, a unutar skupina (u početku i na kraju istraživanja) pomoću Wilcoxonovog testa.

Povezanost između numeričkih varijabli koje su simetrično distribuirane testirane su pomoću Pearsonovog korelacijskog testa, a među varijablama koje su asimetrično distribuirane pomoću Kendallovog tau testa. Univarijantna logistička regresija analizirala je mogu li Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 biti prediktori postojanja IgAV-a ili nekog od kliničkih obilježja bolesti (artritis, nefritis).

ROC (engl. *receiver operating characteristic*) analizom prikazane su optimalne granične vrijednosti s najvećom prediktivnom točnošću za Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u razlikovanju bolesnika i kontrolne skupine.

Sve p vrijednosti dvosmjerne su, a razina statističke značajnosti određena je s $\alpha < 0,05$.

5. REZULTATI

5.1. Pregled dobivenih rezultata u djece s IgAV-om i kontrolnih ispitanika

5.1.1. Usporedba općih i demografskih značajki

U istraživanje je uključeno 86 djece s dijagnozom IgAV-a, 49 djevojčica i 37 dječaka (omjer 1,32:1). Medijan (raspon) dobi s pripadajućim interkvartilnim rasponom bio je 6,4 (4,5-7,8) godina, najmlađe dijete imalo je 2,25 godina, a najstarije 12,75 godina.

Kontrolna skupina sastojala se od 70 djece, 36 djevojčica i 34 dječaka, a nije se značajnije razlikovala prema spolu od ispitivane skupine dok je po dobi bila starija (tabl. 3).

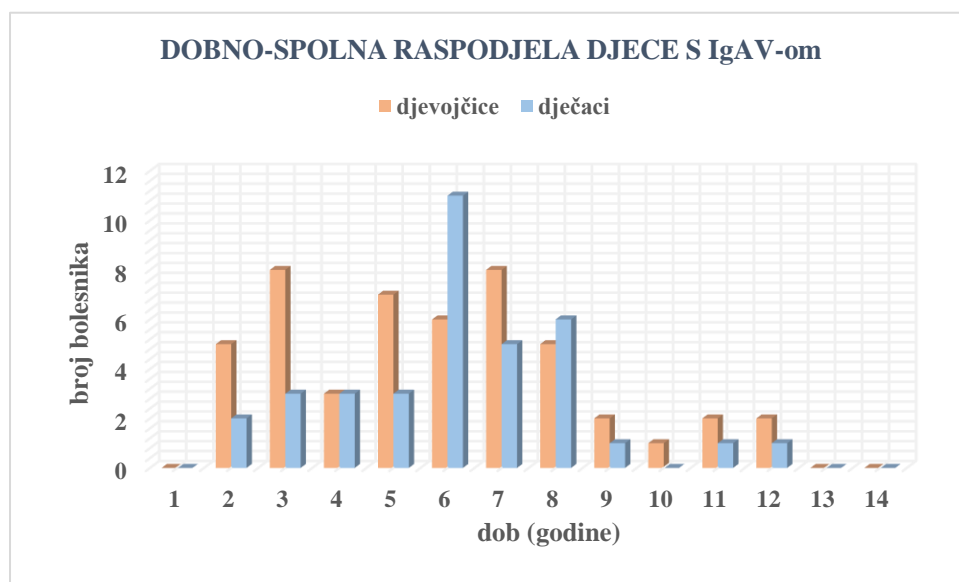
Tablica 3. Raspodjela ispitanika po spolu

varijabla		IgAV (N=86)	kontrolna skupina (N=70)	p vrijednost
spol (%)	ženski	49 (57%)	36 (51,4%)	0,48*
	muški	37 (43%)	34 (48,6%)	
dob (godine)		6,4 (4,5-7,8)	10,5 (9-12,75)	< 0,001**

Podaci su prikazani kao cijeli broj (%) i kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom u slučaju asimetrične raspodjele podataka; *hi-kvadrat test; **Mann-Whitney U test za nezavisne uzorke

U djevojčica pojavnost IgAV-a bila je najveća u dobi 3-7 godina, a u dječaka u dobi 6-8 godina (sl. 17).

Slika 17. Dobna i spolna raspodjela 86 djece s IgAV-om u trenutku dijagnoze



5.1.2. Kliničke značajke u djece s IgAV-om

Sva djeca s IgAV-om imala su kožne promjene, 76 bolesnika (88,4%) imalo je zahvaćen koštano-mišićni sustav, 39 bolesnika (45,3%) imalo je zahvaćen gastrointestinalni (GI) sustav dok je nefritis sveukupno razvilo 26 bolesnika (30,2%). U 6 dječaka (16,2%) bio je zahvaćen urogenitalni sustav. Sistemske komplikacije u vidu respiratornog distresnog sindroma razvio je 1 bolesnik (1,2%) (tabl. 4).

Tablica 4. Kliničke značajke djece s IgAV-om uključene u istraživanje

Zahvaćen organ i/ili organski sustav	Klinička obilježja (opis)	IgAV (N=86)
Koža		86 (100%)
	purpura	64 (74,4%)
	petehije	9 (10,5%)
	purpure i petehija	9 (10,5%)
	purpura i hematomi	4 (4,6%)
	prošireni osip	32 (37,2%)*
	recidivirajući osip	17 (19,8%)*
	teške kožne promjene (ulceracije, nekroze)	4 (4,6%)*
	potkožni edem	26 (30,2%)*
Koštano-mišićni sustav		76 (88,4%)
	artritis	12 (15,8%)
	artralgije	16 (21%)
	artritis i artralgije	48 (63,2%)
Gastrointestinalni sustav		39 (45,3%)
	bolovi u trbuhu	30 (34,8%)*
	pozitivan test na okultno krvarenje	17 (19,8%)*
	krvarenje iz probavnog sustava (hematemeza, hematokezija, melena)	3 (3,5%)*
	invaginacija crijeva	3 (3,5%)*
Bubrezi		26 (30,2%)
	eritrociturija	11 (42,3%)
	proteinurija	2 (7,7%)

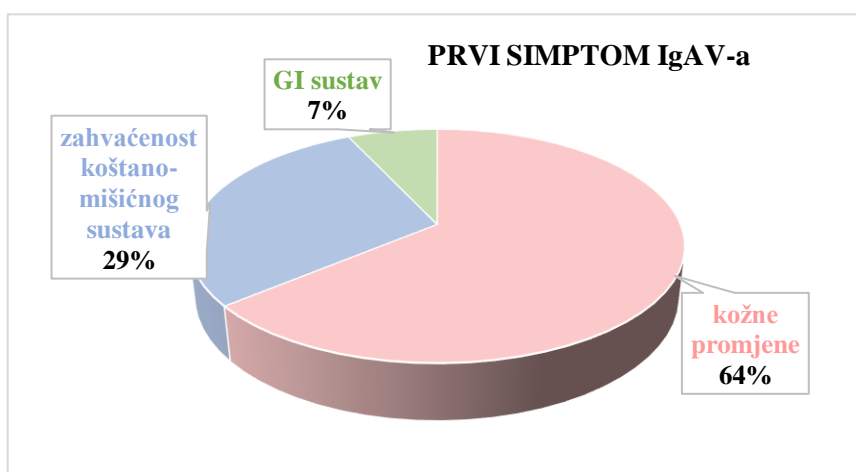
eritrociturija i proteinurija	13 (50%)
Urogenitalni sustav	6 (16,2%)**
oteklina testisa	5 (83,3%)
epididimoorhitis	1 (16,7%)
Sistemske komplikacije	1 (1,2%)*

Podaci su prikazani kao cijeli broj (%)

Napomena: *izraženo na ukupnom broju budući da bolesnik može razviti više kliničkih manifestacija zahvaćenog organa i/ili organskog sustava; **primjenjivo samo za dječake

U 60 bolesnika (69,8%) pojavi IgAV-a prethodila je infekcija. Pri tome je 51 bolesnik (85%) imao infekciju dišnog sustava dok je preostalih 9 bolesnika (15%) imalo infekciju GI sustava. Najčešće izolirani uzročnici iz obriska nosne sluznice i ždrijela u oboljele djece bili su *S. aureus* (17,6%), *M. catarrhalis* (15,%), *S. pyogenes* (13,7%). Najveći broj bolesnika dijagnosticiran je tijekom jeseni (43%) i zimi (18,6%).

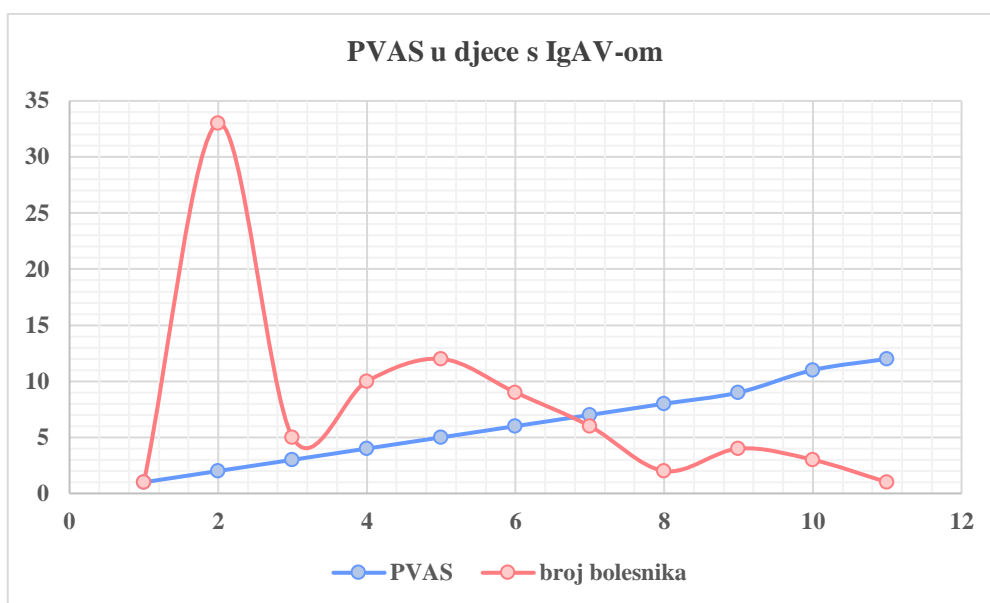
U 55 djece (64%) purpura je bila prvi simptom kliničke prezentacije IgAV-a, u 25 djece (29%) bolest je započela simptomima koštano-mišićnog sustava dok je u 6 djece (7%) zahvaćenost GI sustava obilježila početak IgAV-a (sl. 18).



Slika 18. Prvi simptom u kliničkoj prezentaciji IgAV-a.

Aktivnost IgAV-a, mjerena PVAS upitnikom, u akutnoj fazi bolesti iznosila je 4 (2-6) (prikazano kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom).

Najveća vrijednost PVAS-a iznosila je 12, a najmanja vrijednost bila je 1. Najčešća vrijednost PVAS-a bila je 2 izmjerena u 33 djece (38,4%), odnosno najveći broj oboljele djece imalo je nisku aktivnost bolesti (sl. 19).



Slika 19. PVAS je u najvećeg broja djece s IgAV-om bio nizak s vrijednostima u rasponu 2-6 budući se najčešće radilo o oboljeloj djeci koja su imala kožne promjene i zahvaćen koštano-mišićni sustav. Najteži bolesnici s IgAV-om imali su više vrijednosti PVAS-a jer je u njih bio i veći broj zahvaćenih organskih sustava (probavni sustav i/ili bubrezi). Međutim, iz grafikona je razvidno da je broj takvih bolesnika bio manji u odnosu na bolesnike s nižom aktivnošću bolesti.

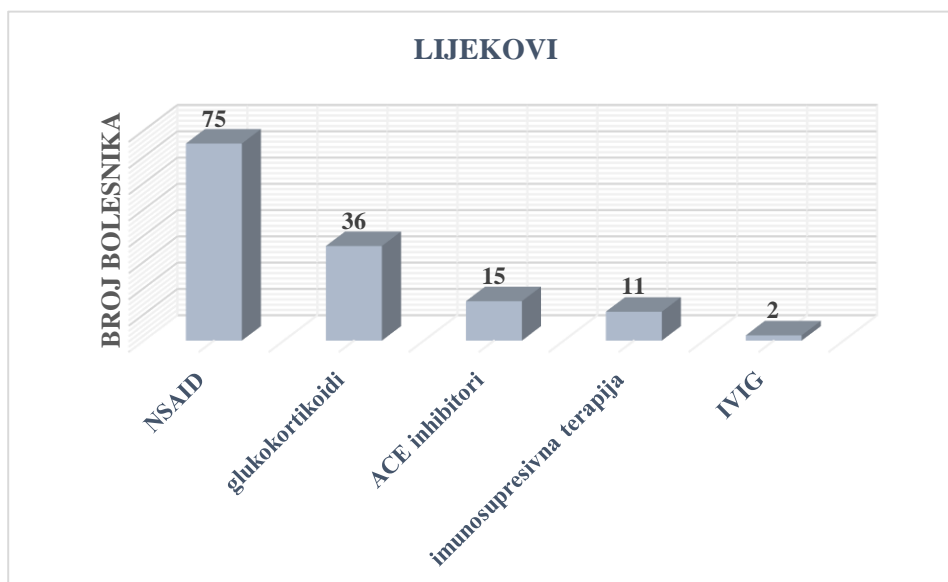
Oboljela djeca najčešće su liječena s NSAID koji su primjenjivani u sveukupno 75 bolesnika (87,2%) (sl. 20).

Sljedeći po učestalosti bili su glukokortikoidni lijekovi koje je u peroralnom ili intravenskom obliku primalo 36 bolesnika (41,8%).

Antihipertenzivnom terapijom iz skupine ACE inhibitora liječeno je sveukupno 15 bolesnika (17,4%) dok je imunosupresivnu terapiju koja je uključivala mikofenolat mofetil ili azatioprin primalo 11 bolesnika (12,8%).

Zbog razvoja sekundarne hipogamaglobulinemije dvoje bolesnika primalo je nadoknadu IVIG-a.

Slika 20. Lijekovi koji su se koristili u liječenju djece s IgAV-om.



5.1.2.1. Kožne manifestacije

Kožne promjene bile su najčešće prisutne u vidu palpabilne purpore u 64 bolesnika (74,4%) dok je izolirane petehije imalo 9 bolesnika (10,5%). Istodobno prisutnu palpabilnu purpuru i petehije razvilo je 9 bolesnika (10,5%). Sveukupno 82 bolesnika (95,4%) imalo je kožne promjene s tipičnom kliničkom prezentacijom. Hematomi uz purpuru bili su najrjeđa klinička prezentacija prisutna u 4 bolesnika (4,6%).

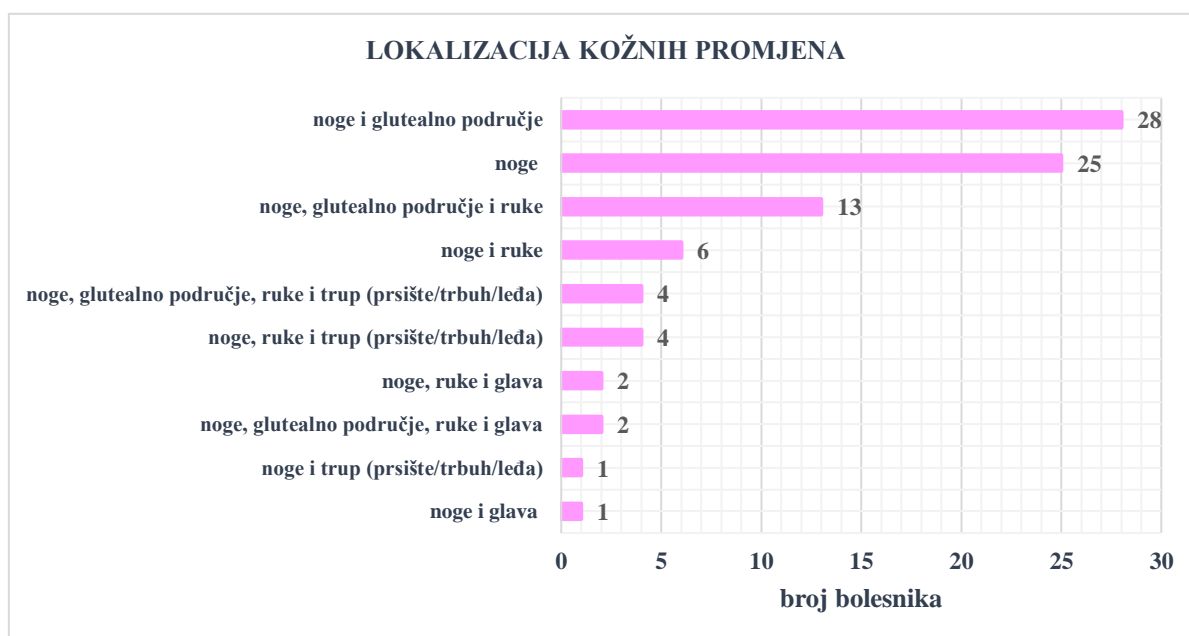
Teške kožne promjene u vidu ulceracija i nekroza razvilo je 4 bolesnika (4,6%).

Kožne promjene bile su najvećem broju djece ograničene na donje udove i glutealno područje, a u 33 bolesnika (38,4%) proširile su se iznad tih razina (tabl. 4, sl. 21).

Bolesnici s IgAV-om koji su razvili GI simptome ($\chi^2=3,23$, $p=0,072$) ili nefritis ($\chi^2=0,95$, $p=0,328$) nisu imali veću proširenost osipa u odnosu na ostale bolesnike s IgAV-om (tabl. 5 i 6).

Recidive kožnih promjena u tijeku IgAV-a imalo je 16 bolesnika (18,6%). Biopsija kože napravljena je u 3 bolesnika (3,5%).

Potkožne edeme koji se mogu javiti na više različitih mjesta razvilo je 26 bolesnika (30,2%), a po redoslijedu učestalosti bili su prisutni na dorzumima stopala u 16 bolesnika, dorzumu šaka u 8 bolesnika, lumbalne regije (leđa) u 4 bolesnika, a u 1 bolesnika na temporalnom dijelu glave.



Slika 21. *Raspodjela kožnih promjena u djece s IgAV-om pokazuje da najveći broj, njih 53 (61,6%), ima uobičajeno prisutne promjene po koži nogu i glutealnog područja.*

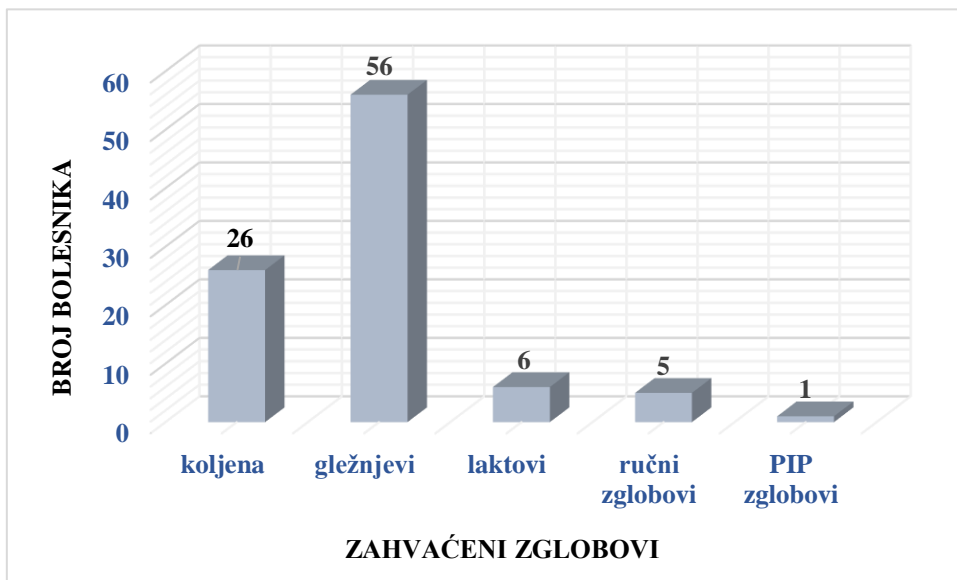
5.1.2.2. Koštano-mišićni sustav

Koštano-mišićni sustav u najvećeg broja djece, njih 48 (63,2%), očitovao se oteklinama i bolovima u zglobovima, u 16 djece (21%) bile su prisutne samo artralgijske dok je artritis bez prisutnih artralgijskih razvilo 12 djece (15,8%) (tabl. 4).

Artritis udružen s artralgijskim kao vodeći simptom od strane koštano-mišićnog sustava se znatno učestalije pojavljivao u ispitivanoj populaciji IgAV-a nego isključivo izolirane artralgijske, odnosno artritis ($\chi^2=43,57$, $p<0,001$).

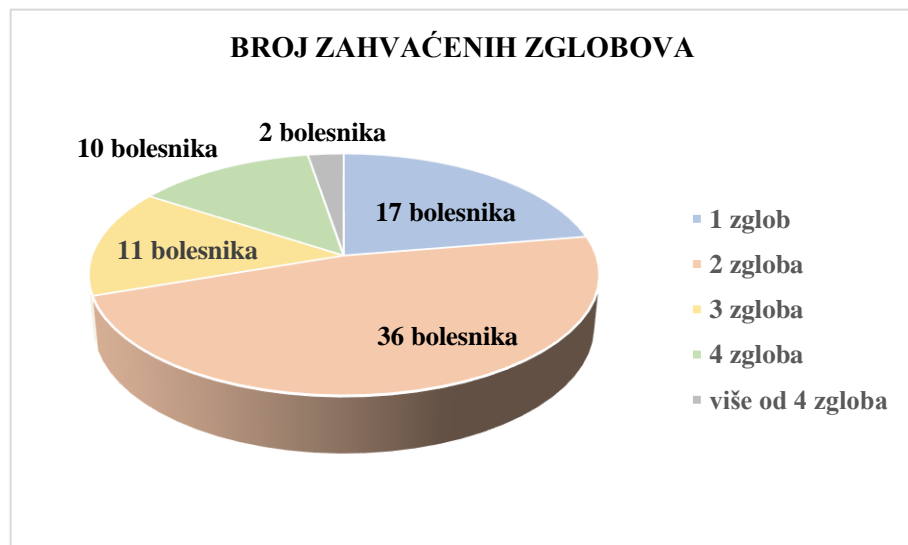
Najčešće zahvaćeni zglobovi bili su gležnjevi u 56 bolesnika i koljena u 26 bolesnika, potom laktovi u 6 bolesnika i ručni zglobovi u 5 bolesnika, a u jedne bolesnice i proksimalni interfalangealni (PIP) zglobovi (sl. 22). Artritisom i/ili artralgijskim su najčešće bila zahvaćena po 2 zgloba (sl. 23).

U djece sa zahvaćenim koštano-mišićnim sustavom znatno učestalije su primjenjivani NSAID ($\chi^2=14,05$, $p<0,001$).



Slika 22. Zahvaćeni zglobovi u bolesnika s artritisaom i/ili artralgijsama.

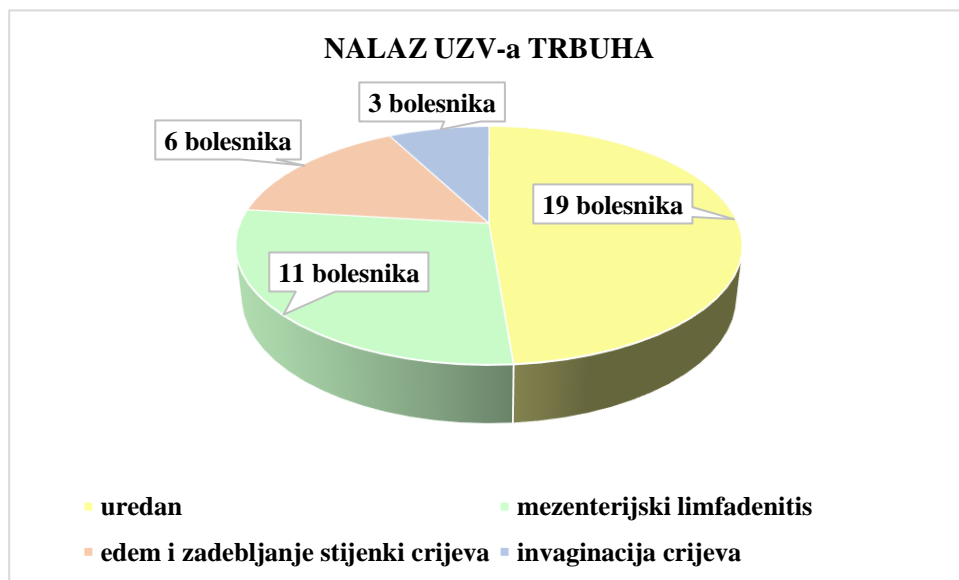
Slika 23. Zahvaćeni zglobovi u bolesnika s artritisaom i/ili artralgijsama.



5.1.2.3. Gastrointestinalni sustav

Zahvaćenost GI sustava klinički se najčešće očitovala bolovima u trbuhu i to u 30 bolesnika (34,8%). Ozbiljne GI simptome u vidu invaginacije crijeva i makroskopskog krvarenja iz probavnog trakta razvilo je sveukupno 6 bolesnika (7%) (tabl. 4).

UZV trbuha je učinjen u svih bolesnika sa zahvaćenim GI sustavom te je u 11 bolesnika (28,2%) opisan kao mezenterijski limfadenitis, a u 6 bolesnika (15,4%) opisan je edem uz zadebljanje crijevne stijenke. UZV je u sva 3 bolesnika (8%) s invaginacijom crijeva istu i detektirao (sl. 24).



Slika 24. Nalaz UZV-a trbuha u djece s IgAV-om koja su imala zahvaćen GI sustav.

Djeca s IgAV-om koja su razvila GI manifestacije u sklopu bolesti nisu se statistički značajnije razlikovala po dobi i spolu od preostale djece s IgAV-om.

Djeca sa zahvaćenim GI sustavom statistički su rjeđe imala koštano-mišićne simptome ($\chi^2=4,26$, $p=0,038$) u usporedbi s djecom koja su imala IgAV bez GI manifestacija, odnosno postojala je negativna korelacija između GI i koštano-mišićnih simptoma ($\tau= -0,252$, $p<0,001$).

Proširenost kožnih promjena iznad razine donjih udova bila je učestalije prisutna u djece sa zahvaćenim GI sustavom i blizu postizanja statističke značajnosti ($\chi^2=3,23$, $p=0,072$) te je značajno pozitivno bila povezana s GI sustavom ($\tau=0,168$, $p=0,022$).

Nije uočena učestalija pojava nefritisa u skupini djece s IgAV-om koja su imala zahvaćen GI sustav ($\chi^2=1,09$, $p=0,297$) (tabl. 5).

Tablica 5. Usporedba demografskih i kliničkih značajki u djece s IgAV-om koja su razvila GI manifestacije u sklopu bolesti i djece bez GI manifestacija

varijabla	IgAV		p vrijednost
	IgAV bez GI (N=47)	IgAV s GI (N=39)	
dob (godine)	5,8 (4,4-7,5)	7,0 (5,4-8,4)	0,453*
spol (%)	ženski	26 (55,3%)	0,733**
	muški	21 (44,7%)	
prethodna infekcija u anamnezi (%)	30 (63,8%)	30 (77%)	0,188**
kožne promjene proširene iznad razine donjih udova (%)	14 (29,8%)	19 (48,7%)	0,072**

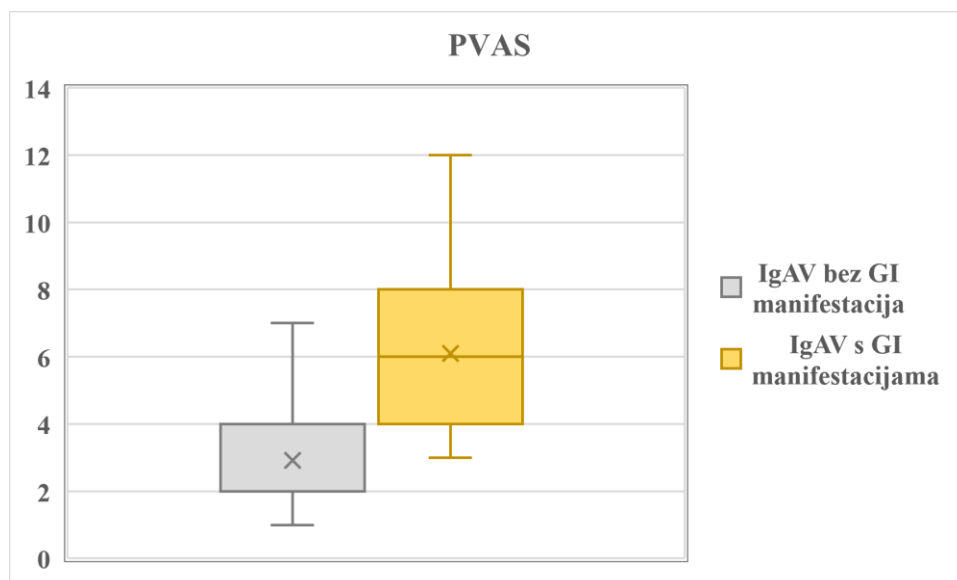
recidivi kožnih promjena (%)	9 (19,1%)	7 (18%)	0,887**
prisutnost teških kožnih promjena (%)	3 (6,4%)	1 (2,6%)	0,623***
potkožni edemi (%)	15 (31,9%)	11 (28,2%)	0,709**
zahvaćenost koštano-mišićnog sustava (%)	45 (95,7%)	31 (79,5%)	0,038***
nefritis (%)	12 (25,5%)	14 (35,9%)	0,297**
zahvaćenost urogenitalnog sustava (%)	3 (14,3%)	3 (18,75%)	> 0,999***
relaps IgAV-a	10 (21,3%)	11 (28,2%)	0,456**
PVAS	2 (2-3,5)	6 (4-7,5)	< 0,001*
TERAPIJA			
NSAID	44 (93,6%)	31 (79,5%)	0,060***
glukokortikoidi	10 (21,3%)	26 (66,7%)	< 0,001**
imunosupresivna terapija	3 (6,4%)	8 (20,5%)	0,060***
ACE inhibitori	4 (8,5%)	11 (28,2%)	0,023***
IVIG	0 (0%)	2 (5,1%)	0,203***

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, GI - gastrointestinalni, PVAS - bodovni sustav za aktivnost pedijatrijskog vaskulitisa, NSAID - nesteroidalni protuupalni lijekovi, ACE - angiotenzin konvertirajući enzim, IVIG - intravenski imunoglobulini

Podaci su prikazani kao cijeli broj (%), srednja vrijednost \pm SD (standardna devijacija) u slučaju simetrične raspodjele podataka ili kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom u slučaju asimetrične raspodjele podataka

*Mann-Whitneyjev U test; **hi kvadrat test; ***Fisherov egzaktni test

Slika 25. Kvantilni dijagram prikazuje statistički značajne razlike u aktivnosti bolesti mjerene PVAS upitnikom između oboljele djece bez i s GI manifestacijama.



PVAS je također bio statistički značajno veći ($Z = -5,92$, $p < 0,001$) te je pozitivno korelirao sa zahvaćanjem GI sustava ($\tau = 0,587$, $p < 0,001$) (tabl. 5, sl. 25).

Potreba za glukokortikoidnim lijekovima bila je značajno veća u djece koja su imala zahvaćen probavni sustav u sklopu IgAV-a ($\chi^2 = 18,04$, $p < 0,001$), a češće su liječeni i antihipertenzivnim lijekovima ($\chi^2 = 4,95$, $p = 0,023$). Zahvaćenost GI sustava i upotreba glukokortikoida bili su značajno snažno pozitivno povezani ($\tau = 0,477$, $p < 0,001$).

5.1.2.4. Nefritis

Nefritis se klinički očitovao patološkim nalazom urina u 26 bolesnika, a vrijeme proteklo od dijagnoze IgAV-a do pojave nefritisa kretalo se u rasponu od 13 (4,25-25,5) dana (prikazano kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom) s najmanjom vrijednosti od 0 dana, a najvećom od 223 dana.

Djeca koja su razvila nefritis u sklopu IgAV-a nisu se statistički značajnije razlikovala po dobi, spolu, antropometrijskim obilježjima (tjelesna masa, tjelesna visina i indeks tjelesne mase (ITM)) i vrijednostima sistoličkog i dijastoličkog tlaka od preostale djece s IgAV-om. Djeca s nefritisom po dobi su bila nešto starija, a razlika je bila granično značajna ($Z = -1,95$, $p = 0,05$). Gledano u kliničkim značajkama IgAV-a također nije bilo statistički značajnih razlika između oboljele djece s nefritisom i bez nefritisa iako su recidivi kožnih promjena u djece s nefritisom bili nešto učestaliji te također blizu granice statističke značajnosti ($\chi^2 = 3,64$, $p = 0,056$) (tabl. 6). Dob ($\tau = 0,175$, $p = 0,017$) i recidivi kožnih promjena ($\tau = 0,182$, $p = 0,013$) su značajno pozitivno bili povezani s nefritisom.

Tablica 6. Usporedba demografskih, antropometrijskih i kliničkih značajki u djece s IgAV-om bez nefritisa i s nefritisom

varijabla	IgAV		p vrijednost
	IgAV bez nefritisa (N=60)	IgAVN (N=26)	
dob (godine)	6,2 (4,4-7,3)	7,4 (5,7-8,2)	0,05*
spol (%)	ženski	36 (60%)	0,389**
	muški	24 (40%)	
stanovanje u prigradskim i ruralnim mjestima (%)	23 (38,3%)	16 (61,5%)	0,047**
tjelesna masa (kg)	23,5 (17-32)	27,3 (17,8-38)	0,333*

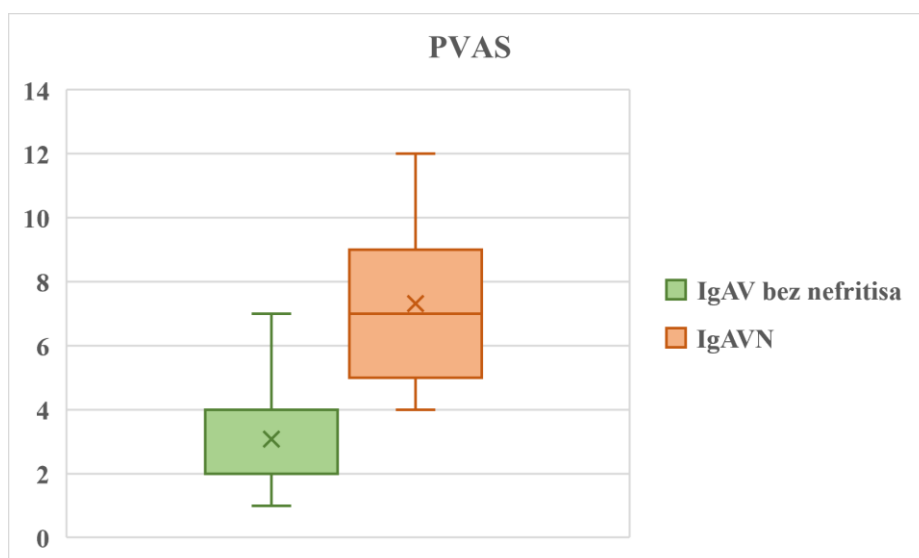
tjelesna visina (cm)	125 (109-134)	127,25 (110,5-141)	0,904*
ITM (kg/m ²)	16 (15-19)	17 (15-22)	0,502*
sistolički arterijski tlak (mmHg)	106,9 ± 12,7	110,2 ± 15,5	0,393****
dijastolički arterijski tlak (mmHg)	66,7 ± 10,2	68,8 ± 13,8	0,519****
prethodna infekcija u anamnezi (%)	43 (71,6%)	17 (65,4%)	0,560**
kožne promjene proširene iznad razine donjih ekstremiteta (%)	21 (35%)	12 (46,1%)	0,328**
recidivi kožnih promjena (%)	8 (13,3%)	8 (30,8%)	0,056**
prisutnost teških kožnih promjena (%)	3 (5%)	1 (3,8%)	> 0,999****
potkožni edemi (%)	15 (25%)	11 (42,3%)	0,108**
zahvaćenost koštano-mišićnog sustava (%)	53 (88,3%)	23 (88,5%)	> 0,999****
zahvaćenost probavnog sustava (%)	25 (41,7%)	14 (53,8%)	0,297**
zahvaćenost urogenitalnog sustava (%)	4 (16,7%)	2 (15,4%)	> 0,999****
relaps IgAV-a	8 (13,3%)	13 (50%)	< 0,001**
PVAS	2 (2-4)	7 (5-9)	< 0,001*
TERAPIJA			
NSAID	54 (90%)	21 (80,8%)	0,239**
glukokortikoidi	20 (33,3%)	16 (61,5%)	0,015**
imunosupresivna terapija	0 (0%)	11 (42,3%)	< 0,001****
ACE inhibitori	1 (1,7%)	14 (53,9%)	< 0,001****
IVIG	0 (0%)	2 (7,7%)	0,089****

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, ITM – indeks tjelesne mase, PVAS - bodovni sustav za aktivnost pedijatrijskog vaskulitisa, NSAID - nesteroidalni protuupalni lijekovi, ACE - angiotenzin konvertirajući enzim, IVIG - intravenski imunoglobulini

Podaci su prikazani kao cijeli broj (%), srednja vrijednost ± SD (standardna devijacija) u slučaju simetrične raspodjele podataka ili kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom u slučaju asimetrične raspodjele podataka

*Mann-Whitneyjev U test test; **hi kvadrat test; ***t-test parova; ****Fisherov egzakti test

Oboljela djeca s nefritisom češće su imala relapse IgAV-a ($\chi^2=13,2$, $p<0,001$) i veću aktivnost bolesti mjerenu s PVAS ($Z= -6,51$, $p<0,001$) (tabl. 6, sl. 26). PVAS je značajno pozitivno korelirao s nefritisom ($\tau=0,647$, $p<0,001$).



Slika 26.
Kvantilni dijagram prikazuje statistički značajne razlike u aktivnosti bolesti mjerene PVAS upitnikom između oboljele djece bez i s nefritisom

U djece s IgAVN-om upotreba glukokortikoidnih lijekova bila je češća ($\chi^2=5,93$, $p=0,015$), kao i potreba za liječenjem imunosupresivnim lijekovima ($\chi^2=29,1$, $p<0,001$) i ACE inhibitorima ($\chi^2=34,3$, $p<0,001$) nego u preostale djece s IgAV-om (tabl. 6).

Prisutnost nefritisa je značajno pozitivno korelirala s primjenom antihipertenziva ($\tau=0,649$, $p<0,001$), imunosupresiva ($\tau=0,597$, $p<0,001$) i glukokortikoida ($\tau=0,247$, $p<0,001$).

Ukupno je bioptirano 12 bolesnika s nefritisom (46,2%). Za analizu bubrežnih bioptata primjenjena je Oxfordska klasifikacija (tabl. 7). Svi bolesnici imali su histološki aktivnu bolest. Mezangijski (M1) i/ili endokapilarni (E1) hipercelularitet nađen je u svih bolesnika, a celularni polumjeseci u polovice bolesnika pri čemu su u svih polumjeseci bili prisutni u manje od 25% glomerula (C1). Znakove kroniciteta, odnosno tubularnu atrofiju (T1/T2) i/ili intersticijsku fibrozu, nije imao nijedan bolesnik.

Tablica 7. Pregled nalaza bubrežne biopsije u 12 djece s nefritisom u sklopu IgAV-a

histološka varijabla	Oxfordske klasifikacije	BIOPTIRANA DJECA S NEFRITISOM											
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
mezangijska	M0	+							+				+
hipercelularnost	M1		+	+	+	+	+	+		+	+	+	
endokapilarna	E0				+	+		+			+	+	
hipercelularnost	E1	+	+	+			+		+	+			+
segmentalna	S0	+	+			+	+	+		+	+	+	
glomeruloskleroza	S1			+	+				+				+

tubularna atrofija	T0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
i/ili intersticijska	T1												
fibroza	T2												
polumjeseci	C0			+	+	+		+	+		+		
	C1	+	+					+			+		+
	C2												

Sva djeca s nefritisom imala su dobar ishod, 18 djece je ocijenjeno kao ishod A dok je 8 djece ocijenjeno kao B.

5.1.3. Usporedba laboratorijskih nalaza u djece s IgAV-om i kontrolnih ispitanika

Djeca s IgAV-om imala su statistički značajno više vrijednosti SE-a, CRP-a, broja leukocita, neutrofila i trombocita, fibrinogena, d-dimera, omjera albumina i kreatinina u urinu i IgA te statistički značajno niže vrijednosti hemoglobina, kreatinina, ukupnih proteina i albumina u usporedbi s kontrolnom skupinom djece (tabl. 8). Serumski kreatinin pozitivno je korelirao s dobi ispitanika ($\tau=0,529$, $p<0,001$).

Tablica 8. Usporedba laboratorijskih nalaza djece s IgAV-om i kontrolnih ispitanika

varijabla	IgAV (N=86)	kontrolna skupina (N=70)	p vrijednost
SE (mm/h)	18 (8-30)	7 (4,75-11)	< 0,001*
CRP (mg/l)	6,8 (2,1-18,3)	1 (1-1)	< 0,001*
leukociti ($\times 10^9/l$)	10,1 (8,2-12,8)	6,15 (5,0-7,0)	< 0,001*
neutrofilii ($\times 10^9/l$)	5,5 (4,2-8,1)	2,7 (2,1-3,7)	< 0,001*
eritrociti ($\times 10^{12}/l$)	4,62 \pm 0,42	4,75 \pm 0,38	0,063**
hemoglobin (g/l)	124,3 \pm 11,3	130,8 \pm 11,1	< 0,001**
trombociti ($\times 10^9/l$)	355,3 \pm 82,1	291,8 \pm 71,6	< 0,001**
kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	35 (28-40,25)	44 (36,25-50,75)	< 0,001*
urea (mmol/l)	4,5 \pm 1,15	4,4 \pm 1,08	0,647**
fibrinogen (g/l)	3,5 (2,8-4,2)	2,4 (2,2-2,8)	< 0,001*
d-dimeri ($\mu\text{g/l}$)	2,9 (1,1-7,3)	0,2 (0,19-0,33)	< 0,001*
PV	1,01 \pm 0,15	0,99 \pm 0,13	0,653**
APTV (s)	25,4 \pm 3,8	25,65 \pm 2,09	0,703**

omjer albumin/kreatinin u urinu (mg/mmol)	5,1 (1,3-14)	0,85 (0,6-1,3)	< 0,001*
ukupni proteini (g/l)	68,5 (65-72)	72 (69,5-74)	< 0,001*
albumini (g/l)	39,44 ± 5,13	45,16 ± 3,05	< 0,001**
IgA (g/l)	1,7 (1,25-2,42)	1,24 (0,98-1,56)	< 0,001*
IgG (g/l)	10,92 ± 2,92	10,68 ± 2,09	0,612**
IgM (g/l)	0,94 (0,7-1,2)	1,1 (0,8-1,3)	0,164*

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, SE - sedimentacija eritrocita, CRP - C-reaktivni protein, PV - protrombinsko vrijeme, APTV aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, IgA - imunoglobulin A, IgG - imunoglobulin G, IgM - imunoglobulin M
Podaci su prikazani kao cijeli broj (%), srednja vrijednost ± SD (standardna devijacija) u slučaju simetrične raspodjele podataka ili kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom u slučaju asimetrične raspodjele podataka
*Mann-Whitney U test za nezavisne uzorke; **t-test za nezavisne uzorke

Djeca s IgAV-om su prilikom postavljanja dijagnoze bolesti imala statistički značajno više vrijednosti SE-a, CRP-a, broja leukocita i neutrofila, ureje, fibrinogena, d-dimera, feritina, IgA i IgG, komponenti komplementa i kalprotektina te učestalije pozitivan nalaz okultnog krvarenja u stolici u usporedbi s razdobljem nakon šest mjeseci. Vrijednosti eritrocita, APTV-a, ukupnih proteina i albumina bile su statistički značajno niže (tabl. 9).

Tablica 9. Usporedba laboratorijskih nalaza u djece s IgAV-om na početku bolesti i nakon šest mjeseci praćenja

varijabla	IgAV		p vrijednost
	0. mjesec (N=86)	6. mjesec (N=84)	
SE (mm/h)	18 (8-30)	9 (6-14)	< 0,001*
CRP (mg/l)	6,8 (2,2-17,8)	1 (0,6-1,7)	< 0,001*
leukociti (x10 ⁹ /l)	10,1 (8,2-12,74)	7,24 (6,1-8,03)	< 0,001*
neutrofili (x10 ⁹ /l)	5,48 (4,18-8,04)	3,15 (2,41-4,04)	< 0,001*
eritrociti (x10 ¹² /l)	4,62 ± 0,42	4,75 ± 0,35	0,04**
hemoglobin (g/l)	124,3 ± 11,3	127,2 ± 8,9	0,068**
trombociti (x10 ⁹ /l)	343 (290-402)	324 (288-367)	0,072*
kreatinin (μmol/l)	35 (28-40)	36 (31,5-42)	0,197*
urea (mmol/L)	4,35 (3,6-5,4)	4,05 (3,4-4,6)	0,005*
fibrinogen (g/l)	3,5 (2,8-4,15)	2,7 (2,4-3,1)	< 0,001*
d-dimeri (μg/l)	2,89 (1,15-7,27)	0,27 (0,19-0,36)	< 0,001*

PV	0,99 (0,91-1,11)	1,02 (0,92-1,11)	0,624*
APTV (s)	25 (23,2-26,4)	27,25 (25,6-28,6)	< 0,001 *
feritin (ng/ml)	58,45 (34,6-86,1)	24,85 (16,2-41,7)	< 0,001 *
omjer albumin/kreatinin u urinu (mg/mmol)	5,1 (1,3-14)	3,7 (1-12)	0,154*
eritrociturija ($\geq 2+$ na urin test traci) (%)	22 (25,6%)	13 (15,5%)	0,103***
proteinurija ($\geq 2+$ na urin test traci) (%)	14 (16,3%)	8 (9,5%)	0,189***
24-satna proteinurija (g/dU)	0,07 (0,05-0,15)	0,07 (0,05-0,14)	0,625*
eGFR (ml/min/1,73 m ²)	139,2 \pm 29,7	148,2 \pm 29,4	0,111**
ukupni proteini (g/l)	68,5 (65-72)	72 (67-74)	< 0,001 *
albumini (g/l)	39,45 (37-42)	44 (42-46,2)	< 0,001 *
IgA (g/l)	1,69 (1,25-2,42)	1,49 (1-1,9)	< 0,001 *
IgG (g/l)	10,49 (8,88-12,7)	9,78 (8,42-11,61)	< 0,001 *
IgM (g/l)	0,94 (0,71-1,21)	1,03 (0,76-1,26)	< 0,001 *
ukupni IgE (kIU/l)	69,65 (24,6-116)	65,65 (22,9-145)	0,925*
C3 (g/l)	1,32 \pm 0,24	1,22 \pm 0,21	0,003 **
C4 (g/l)	0,27 (0,21-0,33)	0,23 (0,17-0,26)	< 0,001 *
CH50 (%)	91 (79-109)	81 (76-97)	0,017 *
pozitivni test na okultno krvarenje (%)	24 (27,9%)	1 (1,2%)	< 0,001 *****
kalprotektin (μ g/g)	37 (20-83)	28 (20-34)	0,002 *

Kraticice: IgAV - IgA vaskulitis, SE - sedimentacija eritrocita, CRP - C-reaktivni protein, PV - protrombinsko vrijeme, APTV - aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, eGFR - glomerularna filtracija, IgA - imunoglobulin A, IgG - imunoglobulin G, IgM - imunoglobulin M, IgE - imunoglobulin E, C3, C4 - komponente komplementa C3 i C4, CH50 - ukupni komplement
Podaci su prikazani kao cijeli broj (%), srednja vrijednost \pm SD (standardna devijacija) u slučaju simetrične raspodjele podataka ili kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom u slučaju asimetrične raspodjele podataka
*Wilcoxonov t-test za zavisne uzorke; **t-test parova; ***hi kvadrat test; ****Fisherov egzaktni test

Djeca s IgAV-om koja su razvila GI manifestacije bolesti imala su statistički značajno više vrijednosti 24-satne proteinurije u usporedbi s djecom koja nisu razvila GI manifestacije te je pronađena značajna pozitivna korelacija ovih dviju varijabli ($\tau=0,224$, $p=0,002$).

Vrijednosti fekalnog kalprotektina bile su statistički značajno više u oboljele djece s GI manifestacijama i značajno su pozitivno korelirale sa zahvaćanjem GI sustava ($\tau=0,267$,

p<0,001). Pozitivni nalaz okultnog krvarenja u stolici također je snažno pozitivno korelirao s GI manifestacijama u IgAV-u ($\tau=0,631$, p<0,001) (tabl. 10).

Tablica 10. Usporedba laboratorijskih nalaza u djece s IgAV-om s GI manifestacijama bolesti i bez GI manifestacija u akutnoj fazi bolesti

varijabla	IgAV		p vrijednost
	IgAV bez GI (N=47)	IgAV s GI (N=39)	
SE (mm/h)	23,6 (11-32)	19,4 (6-28)	0,197*
CRP (mg/l)	13,3 (2,6-16,3)	14,3 (1,9-20,3)	0,586*
leukociti ($\times 10^9/l$)	11,5 (8,9-13,6)	10,1 (6,9-12,24)	0,092*
neutrofilii ($\times 10^9/l$)	6,3 (4,2-7,67)	6,43 (4,1-8,2)	0,769*
eritrociti ($\times 10^{12}/l$)	4,65 \pm 0,35	4,59 \pm 0,5	0,615**
hemoglobin (g/l)	124,5 \pm 9,6	124,05 \pm 13,24	0,859**
trombociti ($\times 10^9/l$)	365,02 \pm 81,03	343,5 \pm 82,9	0,228**
kreatinin ($\mu\text{mol}/l$)	34,6 \pm 9,3	36,9 \pm 10,7	0,275**
urea (mmol/l)	4,23 \pm 1,03	4,8 \pm 1,2	0,026**
fibrinogen (g/l)	3,6 (2,9-4,1)	3,5 (2,7-4,3)	0,775*
d-dimeri ($\mu\text{g}/l$)	4,06 (1,27-4,95)	6,3 (1,0-8,4)	0,736*
PV	1,02 \pm 0,16	0,99 \pm 0,14	0,493**
APTV (s)	25,96 \pm 4,11	24,7 \pm 3,3	0,127**
feritin (ng/ml)	69,4 (36,7-84)	65,8 (28,4-88,0)	0,579*
omjer albumin/kreatinin u urinu (mg/mmol)	13,74 (1,23-12,0)	8,0 (1,55-17,0)	0,427*
eritrociturija ($\geq 2+$ na urin test traki) (%)	11 (23,4%)	13 (33,3%)	0,307****
proteinurija ($\geq 2+$ na urin test traki) (%)	5 (10,6%)	10 (25,6%)	0,068***
24-satna proteinurija (g/dU)	0,21 (0,04-0,09)	0,31 (0,05-0,27)	0,012*
eGFR (ml/min/1,73 m ²)	142,28 (123-158)	136,1 (111,5-152,5)	0,442*
ukupni proteini (g/l)	69,32 (66-72)	66,74 (65-72)	0,101*
albumini (g/l)	38,84 \pm 4,19	40,16 \pm 6,05	0,235**
IgA (g/l)	1,81 (1,13-2,32)	1,98 (1,37-2,44)	0,412*

IgG (g/l)	11,2 ± 2,7	10,6 ± 3,2	0,331**
IgM (g/l)	1,02 (0,79-1,22)	0,96 (0,66-1,15)	0,143*
ukupni IgE (kIU/l)	78 (36,15-107,5)	56,8 (22,1-151,5)	0,826*
ASTO	187,45 (50-282)	283,42 (50-306)	0,466*
C3 (g/l)	1,32 ± 0,23	1,33 ± 0,25	0,766**
C4 (g/l)	0,28 ± 0,08	0,27 ± 0,11	0,901**
CH50 (%)	91,25 (80,5-110)	91,43 (79-107,5)	0,652*
pozitivni test na okultno krvarenje u stolici (%)	0 (0%)	23 (58,9%)	<0,001****
kalprotektin (µg/g)	30,5 (20-51,75)	45 (30-223)	0,004*

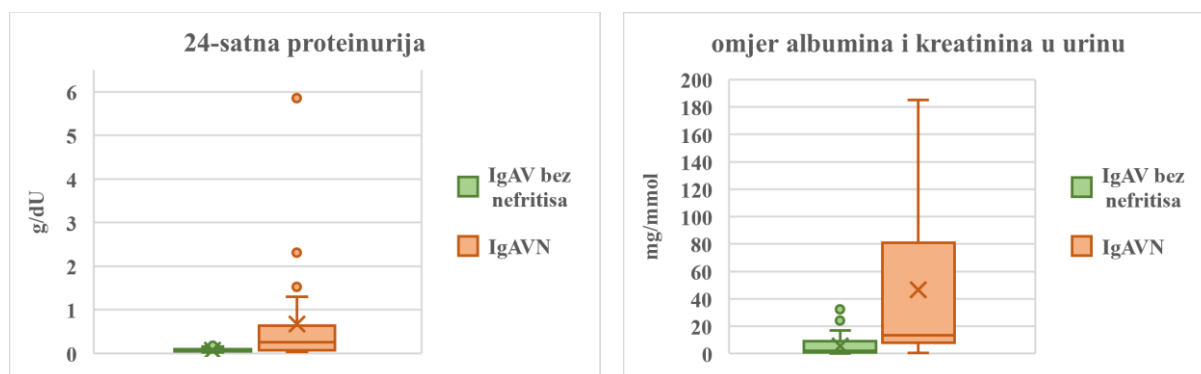
Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, GI – gastrointestinalni, SE - sedimentacija eritrocita, CRP - C-reaktivni protein, PV - protrombinsko vrijeme, APTV - aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, eGFR - glomerulama filtracija, IgA - imunoglobulin A, IgG - imunoglobulin G, IgM - imunoglobulin M, IgE - imunoglobulin E, ASTO - antistreptolizinski titar, C3, C4 - komponente komplemента C3 i C4, CH50 - ukupni komplement

Podaci su prikazani kao cijeli broj (%), srednja vrijednost ± SD (standardna devijacija) u slučaju simetrične raspodjele podataka ili kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom u slučaju asimetrične raspodjele podataka

*Mann Whitneyjev U test; **t-test parova; ***hi kvadrat test, ****Fisherov egzaktni test

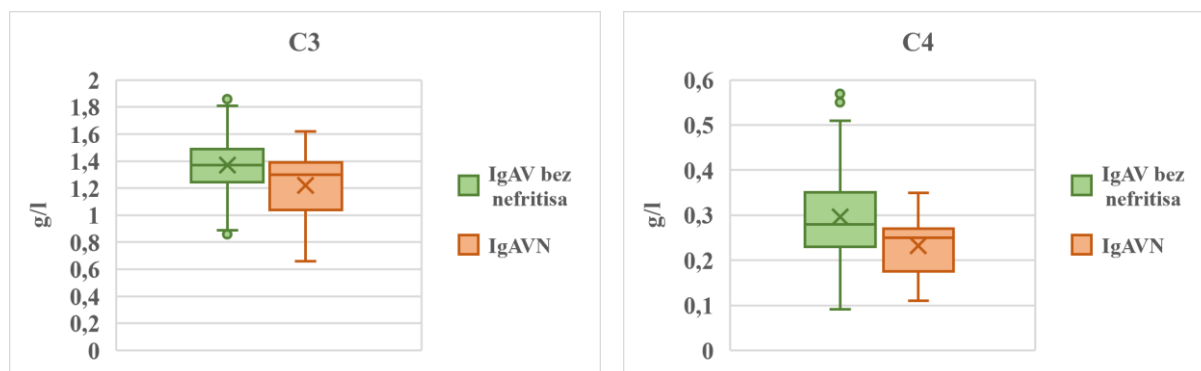
Djeca s IgAV-om koja su razvila nefritis u sklopu bolesti imala su statistički značajno više vrijednosti omjera albumina i kreatinina u urinu i 24-satne proteinurije te nalaz eritrociturije i proteinurije u usporedbi s djecom koja nemaju nefritis (tabl. 11, sl. 27).

Snažne i značajne pozitivne korelacije utvrđene su za nalaze eritrociturije ($\tau=0,891$, $p<0,001$) i proteinurije ($\tau=0,669$, $p<0,001$) u oboljele djece s nefritisom. Vrijednosti omjera albumina i kreatinina u urinu ($\tau=0,389$, $p<0,001$) i 24-satne proteinurije ($\tau=0,406$, $p<0,001$) također su značajno pozitivno korelirale s nefritisom u IgAV-u.



Slika 27. Kvantilni dijagram prikazuje statistički značajne razlike u omjeru albumina i kreatinina u urinu i 24-satne proteinurije između oboljele djece bez i s nefritisom.

Vrijednosti komponenti komplementa C3 i C4 bile su značajno niže u oboljele djece s nefritisom te su također značajno negativno korelirale s nefritisom ($\tau = -0,207$, $p = 0,006$; $\tau = -0,244$, $p = 0,001$) (tabl. 11, sl. 28).



Slika 28. Kvantilni dijagram prikazuje statistički značajne razlike u vrijednostima C3 i C4 komponente komplementa između oboljele djece s nefritisom i bez nefritisa.

Tablica 11. Usporedba laboratorijskih nalaza u djece s IgAV-om bez nefritisa i s nefritisom na početku bolesti

varijabla	IgAV		p vrijednost
	IgAV bez nefritisa (N=60)	IgAVN (N=26)	
SE (mm/h)	19 (8,5-30)	17 (8-28)	0,696*
CRP (mg/l)	7,45 (2,85-24,45)	4,15 (1,0-11,7)	0,118*
leukociti ($\times 10^9/l$)	10,45 (8,75-12,93)	9,7 (6,9-12,24)	0,142*
neutrofili ($\times 10^9/l$)	5,72 (4,62-8,03)	4,45 (3,58-8,13)	0,161*
eritrociti ($\times 10^{12}/l$)	4,68 \pm 0,37	4,48 \pm 0,51	0,044**
hemoglobin (g/l)	125,6 \pm 10,1	121,3 \pm 13,4	0,103**
trombociti ($\times 10^9/l$)	358,13 \pm 83,87	348,62 \pm 79,07	0,624**
kreatinin ($\mu\text{mol}/l$)	35,23 \pm 9,7	36,62 \pm 10,75	0,558**
urea (mmol/l)	4,47 \pm 1,07	4,52 \pm 1,34	0,857**
fibrinogen (g/l)	3,6 (2,9-4,3)	3,1 (2,4-3,7)	0,028*
d-dimeri ($\mu\text{g}/l$)	2,8 (1,13-5,34)	3,29 (1,27-9,26)	0,733*
PV	1,01 \pm 0,15	0,99 \pm 0,16	0,435**
APTV (s)	25,15 (23,7-26,4)	24,3 (22,8-27,1)	0,279*
feritin (ng/ml)	64,6 (43-90)	50,7 (28,4-78)	0,081*
omjer albumin/kreatinin	2,2 (1-9)	13,5 (7,89-78,8)	<0,001*

u urinu (mg/mmol)			
eritrociturija ($\geq 2+$ na urin test traci) (%)	0 (0%)	24 (92,3%)	<0,001****
proteinurija ($\geq 2+$ na urin test traci) (%)	0 (0%)	15 (57,7%)	<0,001***
24-satna proteinurija (g/dU)	0,06 (0,04-0,09)	0,26 (0,08-0,61)	<0,001*
eGFR (ml/min/1,73 m ²)	134,8 \pm 29,0	149,6 \pm 29,4	0,083**
ukupni proteini (g/l)	69 (66-72)	68 (64-70)	0,283*
albumini (g/l)	39,65 \pm 4,75	38,95 \pm 5,99	0,568**
IgA (g/l)	1,69 (1,25-2,13)	1,84 (1,28-2,63)	0,498*
IgG (g/l)	11,05 \pm 2,97	10,62 \pm 2,84	0,516*
IgM (g/l)	0,96 (0,69-1,21)	0,89 (0,77-1,17)	0,610*
ukupni IgE (kIU/l)	59,9 (24,6-116)	78 (34,2-104)	0,731*
ASTO	100 (50-349)	100 (81-271)	0,992*
C3 (g/l)	1,37 \pm 0,21	1,22 \pm 0,26	0,008**
C4 (g/l)	0,29 \pm 0,09	0,23 \pm 0,07	0,005**
CH50 (%)	90 (79-106,5)	93,5 (82-110)	0,961*
pozitivni test na okultno krvarenje (%)	16 (26,7%)	8 (30,8%)	0,697****
kalprotektin (μ g/g)	38 (20-80)	33,5 (20-86,5)	0,822*

Kraticke: IgAV - IgA vaskulitis, IgAVN - IgA vaskulitis nefritis, SE - sedimentacija eritrocita, CRP - C-reaktivni protein, PV - protrombinsko vrijeme, APTV - aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, eGFR - glomerularna filtracija, IgA - imunoglobulin A, IgG - imunoglobulin G, IgM - imunoglobulin M, IgE - imunoglobulin E, ASTO - antistreptolizinski titar, C3, C4 - komponente komplementa C3 i C4, CH50 - ukupni komplement

Podaci su prikazani kao cijeli broj (%), srednja vrijednost \pm SD (standardna devijacija) u slučaju simetrične raspodjele podataka ili kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom u slučaju asimetrične raspodjele podataka

*Mann Whitneyjev U test; **t-test parova; ***hi kvadrat test, ****Fisherov egzakti test

Proteinurija kao patološki nalaz u urinu se znatno učestalije pojavljivao u bioptirane djece s nefritisom u usporedbi sa svim ostalim ($\chi^2=16,34$, $p<0,001$). Ishod nefritisa u djece koja su bioptirana je češće ocijenjen kao B ($\chi^2=7,95$, $p=0,005$) te je značajno snažno pozitivno korelirao s eritrociturijom ($\tau=0,667$, $p<0,001$) i proteinurijom ($\tau=0,639$, $p<0,001$) te također nešto slabije, ali isto značajno pozitivno s 24-satnom proteinurijom ($\tau=0,561$, $p<0,001$) i omjerom albumina i kreatinina u urinu ($\tau=0,491$, $p<0,001$). Endokapilarna hipercelularnost u

nalazu bubrežne biopsije je značajno pozitivno korelirala s vrijednošću 24-satne proteinurije ($\tau=0,437$, $p=0,048$).

5.2. Pregled analize Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1

5.2.1. Usporedba Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u djece s IgAV-om i kontrolnih ispitanika

Koncentracije HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu te Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu izmjerene na početku bolesti bile su statistički značajno više u bolesnika s IgAV-om u usporedbi s kontrolnom skupinom ispitanika (tabl. 12).

Tablica 12. Usporedba koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece s IgAV-om na početku bolesti i kontrolnih ispitanika

uzorak		IgAV (N=86)	kontrolna skupina (N=70)	p vrijednost
SERUM	Gd-IgA1 ($\mu\text{g/ml}$)	52,4 (25,3-96,1)	54,1 (19,4-90,3)	0,299
	HMGB1 (pg/ml)	5573 (2274-13829)	1088 (574,3-2942)	< 0,001
	RAGE (pg/ml)	309,9 (166,6-432,1)	201,3 (112,7-319,6)	0,005
	PCDH1 (ng/ml)	44,5 (28,2-61,5)	18,8 (1,2-45,4)	< 0,001
URIN	Gd-IgA1 (mg/mmol)	10,8 (6,3-21,2)	5,4 (3,2-9,3)	< 0,001
	HMGB1 (ng/mmol)	178,4 (96,7-596,9)	57,1 (36,9-168)	< 0,001
	RAGE (ng/mmol)	12,2 (7,3-21,2)	5,9 (4,1-10,4)	< 0,001
	PCDH1 (ng/mmol)	174,6 (72,8-327,5)	71,1 (2,1-138,1)	< 0,001

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1,

RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1

Podaci su prikazani kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom, u analizi je korišten Mann Whitney U test

Koncentracije HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu te Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu izmjerene u djece s IgAV-om šest mjeseci nakon postavljanja dijagnoze, i dalje su značajno više u usporedbi s kontrolnom skupinom ispitanika (tabl. 13).

Tablica 13. Usporedba koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece s IgAV-om šest mjeseci nakon početka bolesti i kontrolne skupine ispitanika

uzorak		IgAV (N=83)	kontrolna skupina (N=70)	p vrijednost
SERUM	Gd-IgA1 (µg/ml)	49,9 (22,1-87,8)	54,1 (19,4-90,3)	0,668
	HMGB1 (pg/ml)	3477 (1308-6445)	1088 (574,3-2942)	< 0,001
	RAGE (pg/ml)	302,4 (163,2-388)	201,3 (112,7-319,6)	0,014
	PCDH1 (ng/ml)	46,9 (31,8-59,6)	18,8 (1,2-45,4)	< 0,001
URIN	Gd-IgA1 (mg/mmol)	11,7 (5,9-18,9)	5,4 (3,2-9,3)	< 0,001
	HMGB1 (ng/mmol)	173,1 (94,2-380,2)	57,1 (36,9-168)	< 0,001
	RAGE (ng/mmol)	10,1 (5,9-18,7)	5,9 (4,1-10,4)	< 0,001
	PCDH1 (ng/mmol)	226,4 (102,1-414,9)	71,1 (2,1-138,1)	< 0,001

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1, RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1

Podaci su prikazani kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom, u analizi je korišten Mann Whitney U test

Dodatno, provedena univarijantna logistička regresija je kao prediktore IgAV-a izdvojila HMGB1 i RAGE u serumu te RAGE u urinu (tabl. 14).

Tablica 14. Logistička regresija u predikciji IgAV-a

varijabla		SE	z-vrijednost	OR	95% CI	p vrijednost
SERUM	Gd-IgA1	0,107	0,555	1,001	0,997-1,006	0,579
	HMGB1	0,036	3,923	1,000	1,0001-1,0003	< 0,001
	RAGE	0,074	2,712	1,004	1,001-1,007	0,007
	PCDH1	0,487	1,849	1,018	0,999-1,038	0,064
URIN	Gd-IgA1	0,341	1,159	1,029	0,981-1,087	0,246
	HMGB1	0,083	-0,122	0,999	0,999-1,001	0,903
	RAGE	0,224	1,968	1,033	1,002-1,070	0,049
	PCDH1	0,098	0,495	1,001	0,997-1,005	0,621

Kratice: SE (engl. standard error) - standardna pogreška, OR (engl. odds ratio) - omjer izgleda, CI (engl. confidence interval) - interval pouzdanosti

5.2.2. Usporedba Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 između djece s IgAV-om

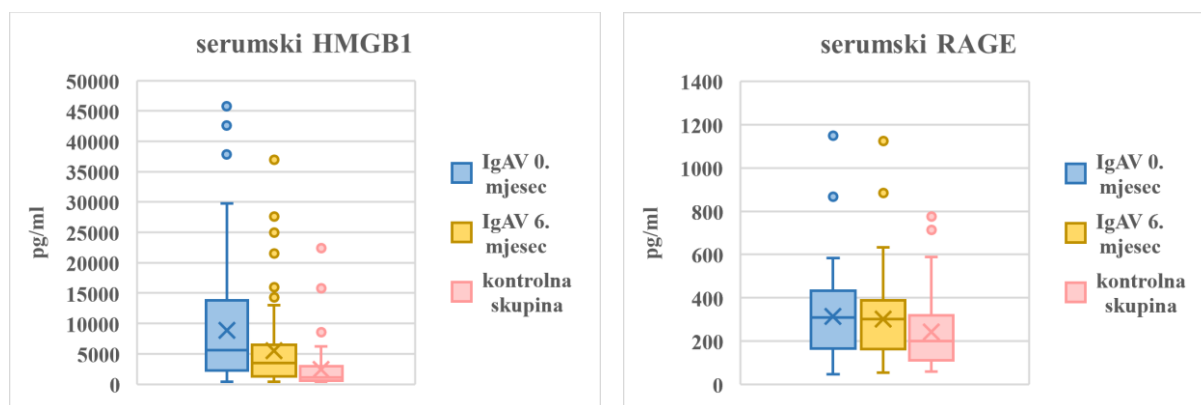
Koncentracija HMGB1 i RAGE u serumu izmjerena u djece s IgAV-om na početku bolesti su značajno veće u usporedbi s koncentracijom izmjerenom šest mjeseci nakon početka bolesti, odnosno u razdoblju praćenja. Koncentracija Gd-IgA1 i PCDH1 nije se značajnije razlikovala u promatranom razdoblju. Značajne razlike nije bilo niti za vrijednosti izmjerene u urinu (tabl. 15, sl. 21).

Tablica 15. Usporedba koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece s IgAV-om na početku bolesti i nakon šest mjeseci praćenja

uzorak		IgAV		p vrijednost
		0. mjesec (N=86)	6. mjesec (N=83)	
SERUM	Gd-IgA1 (µg/ml)	52,4 (25,3-96,1)	49,9 (22,1-87,8)	0,231
	HMGB1 (pg/ml)	5573 (2274-13829)	3477 (1308-6445)	<0,001
	RAGE (pg/ml)	309,9 (166,6-432,1)	302,4 (163,2-388)	0,012
	PCDH1 (ng/ml)	44,5 (28,2-61,5)	46,9 (31,8-59,6)	0,746
URIN	Gd-IgA1 (mg/mmol)	10,8 (6,3-21,2)	11,7 (5,9-18,9)	0,944
	HMGB1 (ng/mmol)	178,4 (96,7-596,9)	173,1 (94,2-380,2)	0,755
	RAGE (ng/mmol)	12,2 (7,3-21,2)	10,1 (5,9-18,7)	0,077
	PCDH1 (ng/mmol)	174,6 (72,8-327,5)	226,4 (102,1-414,9)	0,109

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1, RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1

Podaci su prikazani kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom, u analizi je korišten Wilcoxonov t-test za zavisne uzorke



Slika 29. Kvantilni dijagram prikazuje statistički značajne razlike u serumskim koncentracijama HMGB1 i RAGE između kontrolne skupine i djece s IgAV-om na početku bolesti i nakon šest mjeseci. Statistička značajnost ($p < 0,05$) postoji kada se usporede IgAV 0. mjesec i kontrolna skupina, IgAV 6. mjesec i kontrolna skupina te između same oboljele djece.

Koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu nije se značajno razlikovala između djece s IgAV-om kojoj su kožne promjene bile ograničene samo na donje udove u usporedbi s djecom kojoj su se kožne promjene proširile iznad razine donjih udova (tabl. 16).

Tablica 16. Usporedba koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece s IgAV-om u djece ovisno o proširenosti kožnih promjena iznad razine donjih udova

uzorak		IgAV		p vrijednost
		kožne promjene samo na donjim udovima (N=53)	proširene kožne promjene (N=33)	
SERUM	Gd-IgA1 (µg/ml)	52,74 (25,92-96,0)	50,96 (24,82-91,6)	0,667
	HMGB1 (pg/ml)	5497,8 (2251,3-13799,5)	5599,8 (4108,5-10369,5)	0,795
	RAGE (pg/ml)	332,67 (211,05-425,17)	283,9 (146,62-436,89)	0,865
	PCDH1 (ng/ml)	44,84 (31,39-58,92)	44,25 (10,21-70,88)	0,696
URIN	Gd-IgA1 (mg/mmol)	10,3 (6,0-18,6)	11,9 (7,2-22,1)	0,194
	HMGB1 (ng/mmol)	170,67 (100,06-349,1)	258,03 (94,76-729,05)	0,569
	RAGE (ng/mmol)	12,84 (7,09-23,07)	11,82 (7,48-20,63)	0,645
	PCDH1 (ng/mmol)	174,6 (77,4-276,8)	218,6 (61,1-364,1)	0,535

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1,

RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1

Podaci su prikazani kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom, u analizi je korišten Mann Whitney U test

Nije bilo statistički značajnih razlika u koncentraciji Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu između djece s IgAV-om koja su razvila GI manifestacije u sklopu bolesti u usporedbi s onima bez GI manifestacija (tabl. 17).

Tablica 17. Usporedba koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece s IgAV-om bez GI manifestacija i s GI manifestacijama

uzorak		IgAV		p vrijednost
		IgAV bez GI (N=47)	IgAV s GI (N=39)	
SERUM	Gd-IgA1 (µg/ml)	64,71 (28,34-99,36)	37,2 (23,64-90,67)	0,161
	HMGB1 (pg/ml)	5497,8 (1523,9-13915,9)	6055,8 (2975,4-13799,5)	0,557
	RAGE (pg/ml)	316,09 (206,84-445,23)	307,8 (141,3-421,5)	0,563
	PCDH1 (ng/ml)	40,78 (24,58-59,74)	47,12 (33,31-62,92)	0,383
URIN	Gd-IgA1 (mg/mmol)	10,3 (6,42-17,42)	11,1 (6,08-25,21)	0,563
	HMGB1 (ng/mmol)	166,94 (89,63-349,10)	262,6 (104,5-722,8)	0,182
	RAGE (ng/mmol)	12,04 (7,09-18,55)	12,3 (9,2-24,98)	0,528
	PCDH1 (ng/mmol)	159,07 (61,11-276,89)	204,5 (74,81-364,7)	0,320

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, GI - gastrointestinalni, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1, RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1
Podaci su prikazani kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom, u analizi je korišten Mann Whitney U test

Nije bilo statistički značajne razlike u koncentraciji Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu između djece s IgAV-om koja su razvila nefritis u sklopu bolesti u usporedbi s onima bez nefritisa izmjereno na početku bolesti (tabl. 18).

Tablica 18. Usporedba koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece s IgAV-om bez nefritisa i s nefritisom na početku bolesti

uzorak		IgAV (0. mjesec)		p vrijednost
		IgAV bez nefritisa (N=60)	IgAVN (N=26)	
SERUM	Gd-IgA1 (µg/ml)	55,7 (23,5-96,9)	50 (31,2-91,6)	0,783
	HMGB1 (pg/ml)	5477,5 (2266,6-14531,6)	6303,9 (2349-11042,9)	0,966
	RAGE (pg/ml)	294,1 (145,3-434,2)	314,1 (251,7-425,2)	0,492
	PCDH1 (ng/ml)	46,5 (32,4-62,4)	41,0 (2,6-59)	0,309
URIN	Gd-IgA1 (mg/mmol)	10,8 (6,3-18,9)	10,8 (6,4-25,7)	0,657
	HMGB1 (ng/mmol)	143,1 (88,9-568,3)	340,9 (134,7-644,1)	0,083
	RAGE (ng/mmol)	12,2 (8,2-17,6)	13,8 (6,9-29,1)	0,540
	PCDH1 (ng/mmol)	174,4 (86,3-302,7)	186,4 (6,2-364,1)	0,733

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, IgAVN - IgA vaskulitis nefritis, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1, RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1
Podaci su prikazani kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom, u analizi je korišten Mann Whitney U test

Koncentracija HMGB1 u urinu izmjerena u djece s IgAV-om koja su razvila nefritis su statistički značajno veće u usporedbi s djecom koja nisu razvila nefritis izmjereno šest mjeseci nakon početka bolesti, odnosno u razdoblju praćenja (tabl. 19).

Tablica 19. Usporedba koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu djece s IgAV-om bez nefritisa i s nefritisom nakon šest mjeseci praćenja

uzorak		IgAV (6. mjesec)		p vrijednost
		IgAV bez nefritisa (N=58)	IgAVN (N=25)	
SERUM	Gd-IgA1 (µg/ml)	51,09 (21,52-88,75)	40,24 (27,93-90,1)	0,863
	HMGB1 (pg/ml)	3245 (1367-5552)	3519 (1241-9295)	0,832
	RAGE (pg/ml)	275,9 (140,8-369)	331,3 (236,4-416,6)	0,073
	PCDH1 (ng/ml)	49,74 (38,35-59,07)	41,27 (10,8-65,1)	0,206
URIN	Gd-IgA1 (mg/mmol)	12,04 (6,86-19,36)	11,17 (4,26-19,98)	0,618
	HMGB1 (ng/mmol)	133,2 (85,9-318,6)	270,9 (146,7-542,7)	0,049
	RAGE (ng/mmol)	8,6 (5,9-19,1)	11,99 (6,04-18,52)	0,697
	PCDH1 (ng/mmol)	209,1 (103-409,5)	257,1 (77,6-459,2)	0,699

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, IgAVN - IgA vaskulitis nefritis, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1, RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1
Podaci su prikazani kao medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom, u analizi je korišten Mann Whitney U test

5.2.3. Predikcija kliničkih značajki IgAV-a

Univarijantna logistička regresija kao prediktore artritisa u IgAV-u izdvojila je Gd-IgA1, RAGE i PCDH1 u serumu te HMGB1 u urinu (tabl. 20).

Tablica 20. Logistička regresijska analiza u predikciji artritisa u IgAV-u

varijabla		SE	z-vrijednost	OR	95% CI	p vrijednost
SERUM	Gd-IgA1	0,1753	-2,200	0,972	0,943-0,992	0,0278
	HMGB1	0,037	0,885	1,000	0,999-1,000	0,3762
	RAGE	0,182	-2,219	0,992	0,983-0,998	0,0265
	PCDH1	0,354	2,502	1,068	1,021-1,137	0,0124
URIN	Gd-IgA1	0,594	1,752	1,079	1,007-1,206	0,0797
	HMGB1	0,085	2,222	1,001	1,000-1,002	0,0263
	RAGE	0,343	1,408	1,036	0,998-1,001	0,1590
	PCDH1	0,172	-1,700	0,994	0,986-0,999	0,0892

Kratice: SE (engl. standard error) - standardna pogreška, OR (engl. odds ratio) - omjer izgleda, CI (engl. confidence interval) - interval pouzdanosti

Univarijantna logistička regresija nije izdvojila Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu kao značajne za nastanak nefritisa u IgAV-u (tabl. 21).

Tablica 21. Logistička regresijska analiza u predikciji nefritisa u IgAV-u

varijabla		SE	z-vrijednost	OR	95% CI	p vrijednost
SERUM	Gd-IgA1	0,002	0,470	1,001	0,997-1,005	0,638
	HMGB1	0,019	-0,666	0,999	0,999-1,000	0,505
	RAGE	0,001	0,688	1,001	0,998-1,003	0,492
	PCDH1	0,009	-1,315	0,988	0,970-1,005	0,189
URIN	Gd-IgA1	0,016	0,245	1,004	0,971-1,035	0,806
	HMGB1	0,0003	-0,563	0,999	0,999-1,000	0,573
	RAGE	0,011	0,835	1,009	0,986-1,034	0,404
	PCDH1	0,163	-0,033	0,999	0,998-1,002	0,974

Kratice: SE (engl. standard error) - standardna pogreška, OR (engl. odds ratio) - omjer izgleda, CI (engl. confidence interval) - interval pouzdanost

5.2.4. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s kliničkim značajkama IgAV-a i aktivnosti bolesti

Serumska koncentracija RAGE je značajno negativno korelirala s brojem zahvaćenih zglobova ($\tau = -0,227$, $p = 0,010$) te značajno pozitivno s artralgijskim i artritisom ($\tau = 0,185$, $p = 0,030$). Serumska koncentracija Gd-IgA1 negativno je korelirala s artritisom ($\tau = -0,203$, $p = 0,033$), a serumski PCDH1 negativno je korelirao s artralgijskim ($\tau = -0,192$, $p = 0,043$) (tabl. 22).

Tablica 22. Korelacija serumske koncentracije Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s kliničkim karakteristikama djece s IgAV-om

KLINIČKE ZNAČAJKE IgAV-a		Kendallova tau korelacija	SERUM			
			Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1
KOŽNE	proširenost	τ	0,002	0,031	-0,073	0,067
	PROMJENE	kožnih promjena	p	0,979	0,728	0,411
	recidivi kožnih	τ	-0,077	0,001	0,028	0,041
	promjena	p	0,389	0,987	0,757	0,649
	teže kožne	τ	0,015	0,035	0,068	0,075
	promjene	p	0,870	0,697	0,448	0,400
	potkožni edem	τ	0,036	0,017	-0,028	0,056
		p	0,686	0,853	0,750	0,527
KOŠTANO- MIŠIĆNI SUSTAV	broj zahvaćenih	τ	0,064	0,107	-0,227	-0,064
	zglobova	p	0,466	0,223	0,010	0,466
	artralgijske	τ	0,102	0,063	-0,131	-0,192
		p	0,285	0,508	0,169	0,043
	artritis	τ	-0,203	0,085	-0,099	0,182
		p	0,033	0,369	0,298	0,054
	artralgijske i	τ	0,067	-0,118	0,185	0,025
	artritis	p	0,477	0,216	0,030	0,796
GASTROINTESTINALNI SUSTAV		τ	-0,126	0,053	-0,052	0,078
		p	0,159	0,552	0,558	0,381
NEFRITIS		τ	-0,025	-0,004	-0,062	0,091
		p	0,778	0,963	0,487	0,308

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1, RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1

Značajna pozitivna povezanost pronađena je između koncentracije PCDH1 u urinu s artritismom ($\tau=0,238$, $p=0,012$) (tabl. 23).

Tablica 23. Korelacija koncentracije Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu s kliničkim karakteristikama djece s IgAV-om

KLINIČKE ZNAČAJKE IgAV-a		Kendallova tau korelacija	URIN			
			Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1
KOŽNE	proširenost	τ	0,075	0,044	-0,038	0,017
	PROMJENE	kožnih promjena	p	0,401	0,623	0,668
	recidivi kožnih	τ	0,044	-0,034	-0,040	0,079
	promjena	p	0,622	0,700	0,653	0,377
	teže kožne	τ	0,011	0,079	0,044	0,024
	promjene	p	0,902	0,378	0,623	0,790
	potkožni edem	τ	0,078	-0,004	0,039	0,076
		p	0,384	0,966	0,658	0,395
KOŠTANO- MIŠIĆNI SUSTAV	broj zahvaćenih	τ	0,064	0,120	0,045	0,049
	zglobova	p	0,466	0,170	0,604	0,578
	artralgije	τ	-0,092	-0,050	-0,050	-0,138
		p	0,333	0,601	0,601	0,146
	artritis	τ	0,153	0,126	0,059	0,238
		p	0,107	0,185	0,531	0,012
	artralgije i	τ	-0,038	-0,053	-0,003	-0,063
	artritis	p	0,690	0,576	0,974	0,504
GASTROINTESTINALNI SUSTAV		τ	0,052	0,119	0,057	0,089
		p	0,558	0,180	0,524	0,316
NEFRITIS		τ	-0,040	-0,155	-0,055	0,031
		p	0,652	0,082	0,535	0,728

Kratice: IgAV - IgA vaskulitis, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1, RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1

U djece s IgAV-om koncentracije Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu nisu značajno korelirale s PVAS zbrojem (tabl. 24).

Tablica 24. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s PVAS zbrojem

Kendallova tau korelacija		SERUM				URIN			
		Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1	Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1
PVAS	τ	-0,054	0,030	0,020	-0,041	0,019	0,121	0,068	0,009
	p	0,495	0,703	0,796	0,608	0,814	0,126	0,390	0,905

Kratice: PVAS - bodovni sustav za aktivnost pedijatrijskog vaskulitisa, Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1, RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1

5.2.5. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s laboratorijskim nalazima

U djece s IgAV-om serumske koncentracije HMGB1 su pozitivno korelirale s CRP-om ($\tau=0,161$, $p=0,029$), feritinom ($\tau=0,219$, $p=0,004$) i IgG-om ($\tau=0,147$, $p=0,045$) na početku bolesti. Serumske koncentracije RAGE su pozitivno korelirale s IgG ($\tau=0,145$, $p=0,048$), a serumski PCDH1 s brojem trombocita ($\tau=0,218$, $p=0,003$). Koncentracije Gd-IgA1, RAGE i PCDH1 u urinu su značajno negativno korelirale sa serumskim vrijednostima kreatinina. HMGB1 u urinu je značajno pozitivno korelirao s nalazom eritrociturije u sedimentu urina ($\tau=0,183$, $p=0,012$) na početku bolesti. Koncentracije Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu su značajno pozitivno korelirale s omjerom albumina i kreatinina u urinu (tabl. 25).

Tablica 25. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s laboratorijskim nalazima na početku bolesti

nalazi	Kendallova tau korelacija	SERUM				URIN			
		Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1	Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1
SE	τ	0,063	0,092	0,059	0,059	-0,163	-0,167	-0,029	-0,055
	p	0,407	0,228	0,440	0,438	0,034	0,030	0,704	0,475
CRP	τ	-0,020	0,161	0,026	0,041	0,061	0,044	0,077	0,097
	p	0,782	0,029	0,725	0,578	0,411	0,550	0,299	0,191
leukociti	τ	0,093	0,002	-0,071	0,112	0,018	-0,156	-0,025	-0,031
	p	0,207	0,982	0,336	0,129	0,806	0,033	0,737	0,676
neutrofili	τ	-0,012	0,108	-0,060	0,137	0,048	-0,144	-0,051	-0,006
	p	0,873	0,143	0,410	0,062	0,514	0,049	0,485	0,938
eritrociti	τ	-0,047	0,056	0,020	0,071	-0,109	-0,059	-0,089	-0,072
	p	0,524	0,448	0,785	0,341	0,143	0,425	0,227	0,331
hemoglobin	τ	-0,037	0,083	0,056	0,065	-0,087	-0,029	-0,069	-0,056
	p	0,614	0,264	0,449	0,378	0,243	0,695	0,349	0,453

trombociti	τ	0,105	-0,021	-0,038	0,218	0,111	-0,009	-0,045	0,092
	p	0,154	0,771	0,602	0,003	0,130	0,899	0,536	0,210
kreatinin	τ	-0,097	0,100	0,054	0,000	-0,155	-0,099	-0,156	-0,149
	p	0,192	0,178	0,467	1,0	0,038	0,182	0,036	0,044
urea	τ	-0,001	0,007	0,071	-0,081	-0,109	-0,013	-0,027	-0,043
	p	0,985	0,920	0,341	0,276	0,142	0,861	0,712	0,558
fibrinogen	τ	0,023	0,116	-0,033	0,014	0,011	-0,017	0,073	-0,035
	p	0,763	0,124	0,659	0,856	0,883	0,823	0,334	0,637
D-dimeri	τ	-0,009	0,065	0,122	-0,011	0,106	0,220	0,116	0,149
	p	0,905	0,379	0,098	0,878	0,148	0,003	0,115	0,042
PV	τ	0,063	0,032	-0,058	0,071	-0,039	-0,070	0,074	0,022
	p	0,391	0,665	0,433	0,334	0,596	0,347	0,314	0,771
APTV	τ	-0,047	-0,097	-0,003	0,043	0,150	0,007	0,037	0,062
	p	0,526	0,189	0,964	0,558	0,042	0,929	0,617	0,403
feritin	τ	-0,054	0,219	0,057	-0,096	-0,198	0,018	0,039	-0,078
	p	0,471	0,004	0,447	0,201	0,009	0,810	0,603	0,298
alb/kreatinin u urinu	τ	0,047	0,050	-0,015	0,0003	0,203	0,193	0,187	0,149
	p	0,534	0,509	0,838	0,997	0,007	0,010	0,013	0,047
eritrociturija	τ	0,065	0,029	0,044	-0,028	0,047	0,183	0,095	-0,007
	p	0,374	0,683	0,548	0,700	0,524	0,012	0,194	0,923
proteinurija	τ	-0,125	0,013	0,032	0,013	-0,005	0,022	0,044	-0,033
	p	0,089	0,853	0,659	0,853	0,943	0,765	0,551	0,649
24-satna proteinurija	τ	-0,057	-0,002	0,109	0,007	-0,080	0,005	0,014	-0,0003
	p	0,435	0,979	0,134	0,922	0,273	0,949	0,853	0,997
eGFR	τ	0,056	-0,096	0,096	-0,004	0,090	0,141	0,037	0,120
	p	0,544	0,295	0,295	0,962	0,328	0,126	0,689	0,190
ukupni proteini	τ	-0,039	0,075	0,098	-0,044	-0,134	-0,045	-0,100	-0,092
	p	0,601	0,320	0,191	0,562	0,075	0,550	0,183	0,223
albumini	τ	-0,127	0,0002	-0,064	-0,081	-0,072	0,035	-0,059	-0,013
	p	0,085	0,997	0,381	0,269	0,330	0,636	0,423	0,861
IgA	τ	-0,104	0,073	0,085	0,042	-0,134	-0,047	-0,100	-0,049
	p	0,157	0,319	0,246	0,566	0,068	0,519	0,176	0,500
IgG	τ	-0,062	0,147	0,145	0,076	-0,152	-0,049	-0,132	-0,090
	p	0,397	0,045	0,048	0,300	0,038	0,500	0,073	0,220
IgM	τ	-0,016	0,079	-0,026	-0,037	-0,027	-0,049	-0,073	-0,051
	p	0,829	0,279	0,726	0,615	0,715	0,497	0,321	0,488
IgE	τ	0,141	-0,011	0,017	-0,198	-0,065	0,041	0,031	-0,098
	p	0,084	0,895	0,831	0,015	0,423	0,619	0,699	0,227

C3	τ	-0,004	0,046	0,017	0,058	-0,040	-0,107	-0,002	-0,054
	p	0,954	0,546	0,826	0,443	0,602	0,160	0,980	0,478
C4	τ	-0,028	0,069	0,053	-0,027	-0,099	-0,024	0,047	-0,071
	p	0,713	0,369	0,488	0,725	0,194	0,750	0,540	0,352
CH50	τ	-0,070	0,010	-0,011	0,123	-0,007	0,007	0,005	0,016
	p	0,417	0,908	0,898	0,154	0,935	0,935	0,954	0,853
kalprotektin	τ	-0,037	0,076	0,105	0,098	0,023	0,088	0,091	-0,004
	p	0,621	0,309	0,159	0,191	0,753	0,235	0,225	0,958

U razdoblju praćenja, serumske koncentracije Gd-IgA1 su značajno pozitivno korelirale s eGFR-om ($\tau=0,183$, $p=0,049$), a negativno s nalazom proteinurije ($\tau= -0,192$, $p=0,010$) i vrijednostima 24-satne proteinurije ($\tau= -0,218$, $p=0,004$). I dalje ostaju značajne pozitivne korelacije HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu s omjerom albumina i kreatinina u urinu.

Dodatno, koncentracija HMGB1 u urinu značajno je pozitivno korelirala s vrijednostima eGFR ($\tau=0,254$, $p=0,006$). U razdoblju praćenja ostaje značajna pozitivna korelacija između koncentracije HMGB1 u urinu i eritrociturije u nalazu sedimenta urina ($\tau=0,193$, $p=0,009$) (tabl. 26).

Tablica 26. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s laboratorijskim nalazima nakon šest mjeseci

nalazi	Kendallova tau korelacija	SERUM				URIN			
		Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1	Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1
SE	τ	-0,100	0,028	0,031	0,053	-0,110	-0,036	-0,068	-0,064
	p	0,190	0,711	0,682	0,502	0,151	0,636	0,373	0,422
CRP	τ	-0,093	0,091	0,016	0,036	0,199	0,122	0,034	0,100
	p	0,241	0,251	0,842	0,667	0,132	0,124	0,665	0,227
leukociti	τ	-0,053	0,099	-0,052	0,050	0,014	0,068	-0,087	-0,084
	p	0,485	0,193	0,496	0,531	0,854	0,367	0,252	0,286
neutrofili	τ	-0,120	0,038	0,118	0,066	0,055	0,080	0,001	0,023
	p	0,117	0,617	0,123	0,410	0,472	0,298	0,986	0,771
eritrociti	τ	-0,134	-0,007	-0,088	-0,056	-0,060	-0,010	-0,130	-0,143
	p	0,079	0,932	0,245	0,481	0,431	0,899	0,086	0,070
hemoglobin	τ	-0,133	0,042	-0,026	-0,022	-0,067	0,067	-0,035	-0,074
	p	0,083	0,584	0,731	0,787	0,382	0,382	0,647	0,352
trombociti	τ	0,004	0,013	-0,139	0,242	-0,124	-0,033	-0,276	-0,073
	p	0,961	0,864	0,066	0,002	0,101	0,665	<0,001	0,352

kreatinin	τ	-0,100	0,048	0,001	0,040	-0,241	-0,068	-0,097	-0,193
	p	0,190	0,519	0,984	0,609	0,001	0,359	0,193	0,013
urea	τ	0,147	0,019	0,079	-0,033	-0,033	-0,026	0,049	-0,101
	p	0,052	0,801	0,299	0,672	0,659	0,735	0,518	0,202
fibrinogen	τ	-0,097	0,123	0,046	-0,009	0,002	0,063	0,031	-0,030
	p	0,206	0,108	0,552	0,907	0,976	0,411	0,686	0,703
D-dimeri	τ	-0,238	-0,048	0,022	-0,030	-0,086	-0,033	-0,098	-0,183
	p	0,002	0,537	0,776	0,706	0,265	0,668	0,205	0,023
PV	τ	-0,088	0,042	-0,007	0,122	-0,029	0,015	-0,091	-0,085
	p	0,253	0,582	0,930	0,130	0,707	0,848	0,238	0,288
APTV	τ	0,095	0,019	-0,048	0,152	0,080	-0,032	0,039	0,082
	p	0,216	0,798	0,535	0,059	0,299	0,680	0,605	0,309
ferritin	τ	-0,150	-0,032	-0,113	-0,105	-0,064	-0,023	-0,032	-0,124
	p	0,058	0,688	0,156	0,207	0,416	0,772	0,688	0,135
alb/kreatinin u urinu	τ	-0,002	-0,048	-0,024	0,067	0,114	0,184	0,298	0,184
	p	0,982	0,533	0,760	0,407	0,141	0,018	<0,001	0,023
eritrociturija	τ	-0,141	0,074	0,082	-0,044	-0,061	0,193	-0,019	0,009
	p	0,059	0,323	0,273	0,572	0,411	0,009	0,796	0,902
proteinurija	τ	-0,192	0,011	0,032	-0,002	-0,115	0,120	-0,025	-0,029
	p	0,010	0,881	0,667	0,982	0,124	0,107	0,736	0,712
24-satna proteinurija	τ	-0,218	0,199	0,152	0,043	-0,137	0,148	-0,040	0,038
	p	0,004	0,009	0,045	0,583	0,071	0,051	0,596	0,628
eGFR	τ	0,183	0,051	0,221	-0,090	0,113	0,254	0,182	0,148
	p	0,049	0,586	0,018	0,345	0,225	0,006	0,051	0,119
ukupni proteini	τ	0,001	0,031	0,031	0,122	-0,111	-0,028	-0,048	-0,097
	p	0,990	0,699	0,699	0,136	0,160	0,718	0,543	0,236
albumini	τ	0,050	-0,013	-0,040	0,080	0,003	-0,060	-0,078	-0,029
	p	0,520	0,865	0,605	0,319	0,966	0,441	0,309	0,721
IgA	τ	-0,116	-0,030	0,064	0,068	-0,142	0,025	0,032	-0,018
	p	0,132	0,695	0,410	0,400	0,067	0,746	0,682	0,819
IgG	τ	-0,060	0,036	0,033	0,153	-0,117	-0,117	-0,053	-0,127
	p	0,440	0,644	0,669	0,058	0,130	0,130	0,493	0,115
IgM	τ	-0,066	0,005	-0,107	0,038	-0,051	-0,081	-0,082	-0,104
	p	0,395	0,948	0,166	0,641	0,509	0,298	0,290	0,196
IgE	τ	0,130	-0,082	-0,005	-0,031	-0,024	-0,062	0,047	-0,005
	p	0,135	0,350	0,952	0,740	0,780	0,474	0,593	0,961
C3	τ	-0,172	-0,036	-0,086	0,057	-0,101	-0,001	-0,103	-0,146
	p	0,027	0,641	0,269	0,484	0,195	0,993	0,187	0,070

C4	τ	-0,069	-0,109	0,032	-0,023	-0,005	0,035	0,173	0,044
	p	0,380	0,165	0,688	0,778	0,948	0,656	0,028	0,592
CH50	τ	-0,020	0,034	-0,089	0,007	-0,014	-0,009	-0,048	-0,107
	p	0,812	0,692	0,297	0,937	0,874	0,919	0,571	0,234
kalprotektin	τ	0,060	0,010	0,218	-0,039	0,012	0,001	0,112	0,064
	p	0,513	0,916	0,017	0,686	0,896	0,995	0,220	0,506

Koncentracija HMGB1 u urinu značajno je pozitivno korelirala s ishodom nefritisa ($\tau=0,287$, $p=0,044$) (tabl. 27).

Tablica 27. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s ishodom IgAVN-a

nalazi	Kendallova tau korelacija	SERUM				URIN			
		Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1	Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1
ishod	τ	-0,238	0,119	0,049	0,122	0,069	0,287	0,059	0,019
nefritisa	p	0,096	0,405	0,727	0,427	0,627	0,044	0,677	0,900

Kratice: Gd-IgA1 - imunoglobulin A1 bez galaktoze, HMGB1 - protein visoke pokretljivosti iz skupine 1, RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije, PCDH1 - protokadherin 1

5.2.6. Korelacija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s histološkim varijablama biopsije bubrega

Koncentracija PCDH1 u serumu značajno je pozitivno korelirala s histološkim nalazom mezangijske hiperCelularnosti (M1) ($\tau=0,450$, $p=0,042$), a negativno s endokapilarnom hiperCelularnosti (E1) ($\tau= -0,478$, $p=0,030$) u bioptirane djece (tabl. 28).

Tablica 28. Korelacija koncentracije Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu s nalazom histoloških varijabli Oxfordske klasifikacije

histološka varijabla	Kendallova tau korelacija	SERUM			
		Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1
mezangijska	τ	-0,261	0,071	0,024	0,450
hiperCelularnost	p	0,238	0,748	0,915	0,042
endokapilarna	τ	0,062	0,187	0,187	-0,478
hiperCelularnost	p	0,778	0,397	0,397	0,030

segmentalna	τ	-0,087	-0,043	0,043	-0,130
glomeruloskleroza	p	0,694	0,844	0,844	0,555
polumjeseci	τ	0,229	0,104	-0,062	-0,021
	p	0,300	0,638	0,778	0,925

Kratice: M0 vs. M1 (mezangijska hipercelularnost), E0 vs. E1 (endokapilarna hipercelularnost), S0 vs. S1 (segmentalna glomeruloskleroza), C0 vs. C1 + C2 (polumjeseci, od engl. crescents)

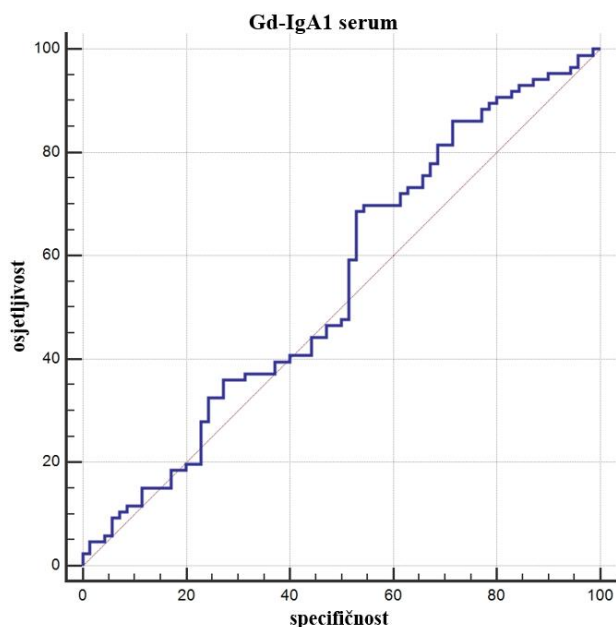
Tablica 29. Korelacija koncentracije Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu s nalazom histoloških varijabli Oxfordske klasifikacije

histološka varijabla Oxfordske klasifikacije	Kendalova tau korelacija	URIN			
		Gd-IgA1	HMGB1	RAGE	PCDH1
mezangijska	τ	-0,071	-0,166	-0,024	0,024
hipercelularnost	p	0,748	0,453	0,915	0,915
endokapilarna	τ	-0,229	0,104	0,270	-0,312
hipercelularnost	p	0,300	0,638	0,221	0,158
segmentalna	τ	-0,218	0,043	-0,043	0,043
glomeruloskleroza	p	0,325	0,844	0,844	0,844
polumjeseci	τ	0,229	-0,021	0,270	-0,146
	p	0,300	0,925	0,221	0,509

Kratice: M0 vs. M1 (mezangijska hipercelularnost), E0 vs. E1 (endokapilarna hipercelularnost), S0 vs. S1 (segmentalna glomeruloskleroza), C0 vs. C1 + C2 (polumjeseci, od engl. crescents)

5.2.7. ROC analiza vrijednosti određivanja Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1

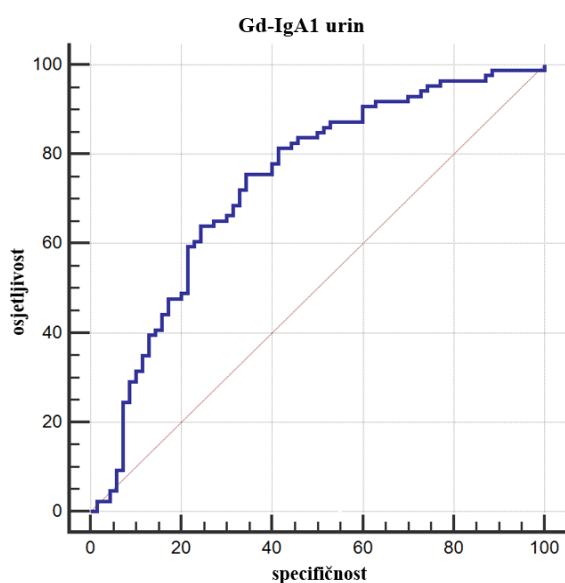
ROC analiza određivanja serumske koncentracije Gd-IgA1 kod postavljanja dijagnoze pokazala je da nema značajne razlike između djece s IgAV-om i kontrolne skupine u predikciji postojanja bolesti budući da je površina ispod krivulje (AUC, engl. *area under the curve*) iznosila 54,9% ($p=0,304$), osjetljivost je bila 68,6%, a specifičnost 47,1% (sl. 30).



površina ispod ROC krivulje (AUC)	0,549
standardna greška	0,0472
95%-tni interval pouzdanosti	0,467-0,628
Z statistika	1,028
razina značajnosti P	0,3041
Youdenov indeks J	0,1575
optimalni kriterij	> 31,716
osjetljivost	68,60
specifičnost	47,14

Slika 30. ROC analiza vrijednosti određivanja Gd-IgA1 u serumu kod postavljanja dijagnoze u predikciji postojanja IgAV-a.

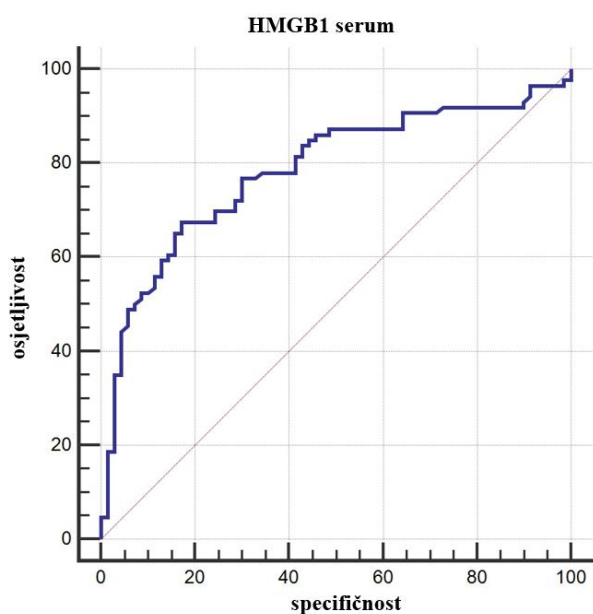
Za razliku od toga, pri ROC analizi određivanja koncentracije Gd-IgA1 u urinu kod postavljanja dijagnoze pri vrijednosti 6,4 mg/mmol nađena je značajna površina ispod krivulje od 73,6% ($p < 0,001$) s osjetljivošću od 75,6% i specifičnošću od 65,7% u razlikovanju oboljele djece od kontrolnih ispitanika (sl. 31).



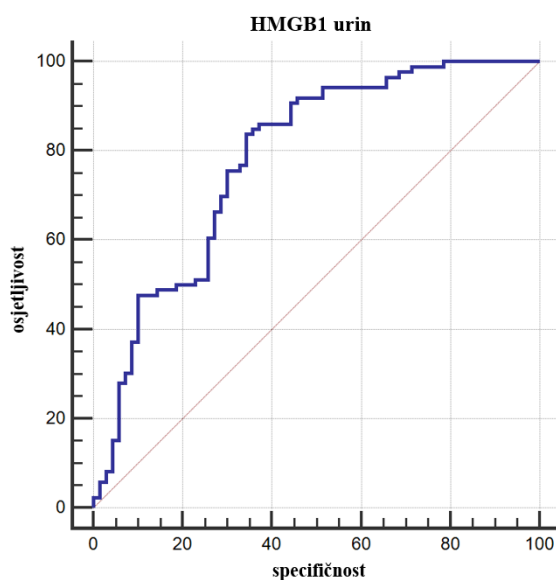
površina ispod ROC krivulje (AUC)	0,736
standardna greška	0,0413
95%-tni interval pouzdanosti	0,659-0,803
Z statistika	5,714
razina značajnosti P	<0,0001
Youdenov indeks J	0,4130
optimalni kriterij	> 6,383
osjetljivost	75,58
specifičnost	65,71

Slika 31. ROC analiza vrijednosti određivanja Gd-IgA1 u urinu kod postavljanja dijagnoze u predikciji postojanja IgAV-a.

Za razliku od Gd-IgA1, ROC analiza određivanja koncentracije HMGB1 kod postavljanja dijagnoze pokazala je statističke značajne razlike i u serumu i u urinu i to pri vrijednostima $> 3926,95$ pg/ml u serumu i $> 81,5$ ng/mmol u urinu. Naime, nađene su značajne razlike površina ispod krivulje od 78,4% ($p < 0,001$) za koncentraciju u serumu, odnosno 78,2% ($p < 0,001$) za koncentraciju u urinu s osjetljivošću od 67,4% odnosno 83,7% te specifičnosti od 82,9% odnosno 65,7% u razlikovanju djece s IgAV-om od kontrolne skupine (sl. 32).



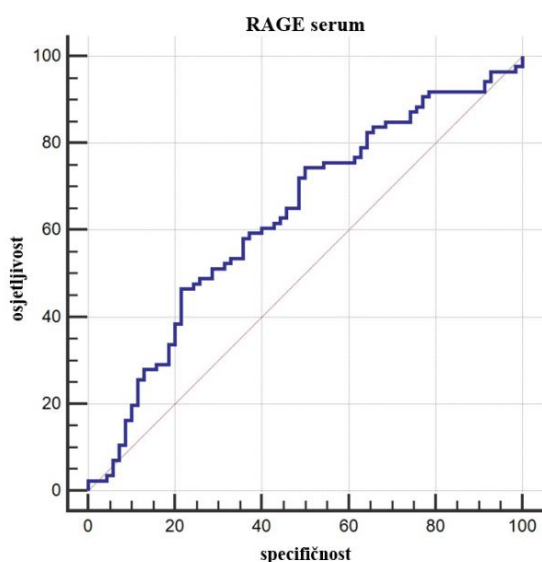
površina ispod ROC krivulje (AUC)	0,784
standardna greška	0,0374
95%-tni interval pouzdanosti	0,711-0,846
Z statistika	7,604
razina značajnosti P	<0,0001
Youdenov indeks J	0,5030
optimalni kriterij	> 3926,95
osjetljivost	67,44
specifičnost	82,86



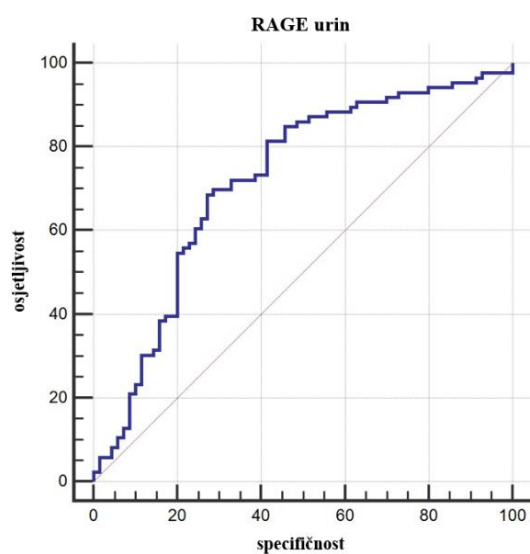
površina ispod ROC krivulje (AUC)	0,782
standardna greška	0,0380
95%-tni interval pouzdanosti	0,709-0,844
Z statistika	7,427
razina značajnosti P	<0,0001
Youdenov indeks J	0,4944
optimalni kriterij	> 81,481
osjetljivost	83,72
specifičnost	65,71

Slika 32. ROC analiza određivanja koncentracije HMGB1 u serumu i urinu kod postavljanja dijagnoze u predikciji postojanja IgAV-a.

Sličan rezultat ROC analize također je pokazala i koncentracija RAGE gdje su u serumu i u urinu kod postavljanja dijagnoze nađene statistički značajne razlike. Pri tome pri vrijednostima $> 329,02$ pg/ml u serumu i $> 9,25$ ng/mmol u urinu površina ispod krivulje iznosila je 63,1% ($p=0,004$) za serum, odnosno 72% ($p<0,001$) za urin s osjetljivošću od 46,5% odnosno 68,6% te specifičnošću od 78,6% odnosno 72,9% u razlikovanju djece s IgAV-om od kontrolne skupine (sl. 33).



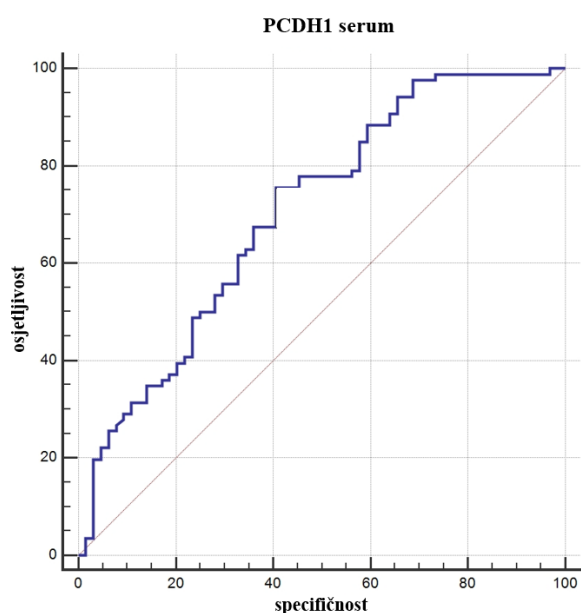
površina ispod ROC krivulje (AUC)	0,631
standardna greška	0,0452
95%-tni interval pouzdanosti	0,550-0,707
Z statistika	2,900
razina značajnosti P	0,0037
Youdenov indeks J	0,2508
optimalni kriterij	$> 329,02$
osjetljivost	46,51
specifičnost	78,57



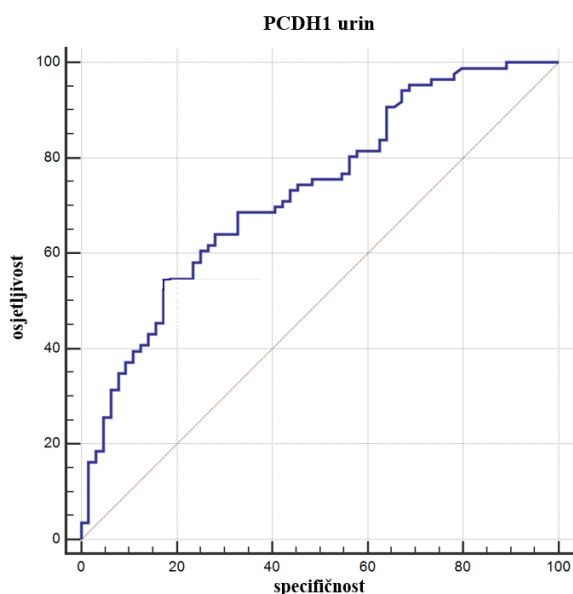
površina ispod ROC krivulje (AUC)	0,720
standardna greška	0,0425
95%-tni interval pouzdanosti	0,642-0,789
Z statistika	5,167
razina značajnosti P	$<0,0001$
Youdenov indeks J	0,4146
optimalni kriterij	$> 9,254$
osjetljivost	68,60
specifičnost	72,86

Slika 33. ROC analiza određivanja koncentracije RAGE u serumu i urinu kod postavljanja dijagnoze u predikciji postojanja IgAV-a.

I za PCDH1 ROC analizom dobivene su značajne razlike u serumu i u urinu kod postavljanja dijagnoze. Pri vrijednosti $> 29,03$ ng/ml u serumu i $> 158,18$ u ng/mmol u urinu površina ispod krivulje iznosila je 70,5% ($p < 0,001$), odnosno 72,8% ($p < 0,001$) s osjetljivošću od 75,6% odnosno 54,6% te specifičnosti od 59,4% i 81,3% u razlikovanju oboljele djece od kontrolne skupine (sl. 34).



površina ispod ROC krivulje (AUC)	0,705
standardna greška	0,0434
95%-tni interval pouzdanosti	0,625-0,776
Z statistika	4,718
razina značajnosti P	<0,0001
Youdenov indeks J	0,3496
optimalni kriterij	> 29,03
osjetljivost	75,58
specifičnost	59,38



površina ispod ROC krivulje (AUC)	0,728
standardna greška	0,0411
95%-tni interval pouzdanosti	0,650-0,798
Z statistika	5,550
razina značajnosti P	<0,0001
Youdenov indeks J	0,3590
optimalni kriterij	> 158,18
osjetljivost	54,65
specifičnost	81,25

Slika 34. ROC analiza određivanja koncentracije PCDH1 u serumu i urinu kod postavljanja dijagnoze u predikciji postojanja IgAV-a.

6. RASPRAVA

IgAV sa svojom procijenjenom godišnjom incidencijom 3-55,9 na 100.000 djece predstavlja najčešći vaskulitis kod djece u svijetu, a tako i u Hrvatskoj gdje je prosječna godišnja incidencija precizno procijenjena na 6,79 na 100.000 djece po čemu smo slični s ostalim europskim zemljama (2, 10–13). Postavljanje dijagnoze IgAV-a u svakodnevnom kliničkom radu relativno je jednostavno zbog jasnih EULAR/PRINTO/PRES klasifikacijskih kriterija, a i sama bolest prepoznatljiva je zbog svojih karakterističnih kožnih promjena (7). Ipak, ostaju određeni izazovi i nepoznanice vezane uz sam IgAV, a tiču se patogeneze bolesti, trajanja autoimunskog procesa i praćenja bolesnika. Kada razmišljamo o mogućim oštećenjima i dugoročnim komplikacijama samog IgAV-a kao najznačajniji izdvaja se nefritis koji se, ovisno o literaturnim podacima, javlja u 20-40% djece s IgAV-om te predstavlja rizik kroničnog oštećenja bubrežne funkcije u oboljele djece u rasponu 1-5% (1, 3–6, 120, 121, 127, 128). Pitanja i izazovi koji se pritom nameću uključuju pravovremeno prepoznavanje i liječenje takvih bolesnika, a u pogledu IgAV-a čini se da bi analiza cirkulirajućih biomarkera u serumu i urinu mogla imati, između ostalog, upravo i takvu korist (166–177).

Opće karakteristike ispitanika uključenih u ovo istraživanje pokazale su da demografski podaci o djeci s IgAV-om, s obzirom na raspon dobi koji je u ovom istraživanju bio 6,4 (4,5-7,8) godina, odgovaraju podacima vezanim uz dob većini dosad objavljenih istraživanja (10, 11, 13, 96, 97, 99, 102, 113–115, 121, 124, 137). S druge strane, u radovima turskih i azijskih autora prosječna dob oboljele djece bila je starija od 7,5 godina (101, 103, 116, 117, 125, 139) dok su tek sporadična istraživanja u kojima se IgAV dijagnosticira u djece mlađe od 5,5 godina (107, 138, 239). S obzirom na raspodjelu po spolu među oboljelom djecom s IgAV-om u ovom istraživanju dominiraju djevojčice u omjeru 1,3:1 što nije uobičajena raspodjela budući da je, barem prema većini do sad objavljenih istraživanja, IgAV podjednako zastupljen u oba spola (11, 13, 26, 96, 97, 99, 116, 178). Ima istraživanja koja su zabilježila učestalije obolijevanje muške djece u odnosu na žensku djecu i do 1,8 puta više (105). Malo je objavljenih istraživanja u kojima dominiraju ženska djeca (101, 104, 106). Dobiveni rezultat veće prevalencije djevojčica naspram dječaka u ovom istraživanju možda se može objasniti općenito povećanom predispozicijom za autoimunosne reumatske bolesti koje se inače češće javljaju u ženskog spola što se povezuje s utjecajem spolnih hormona estrogena i prolaktina, spolnim dimorfizmom, učinkom X-kromosoma na stanice imunološkog sustava, posebno Th1 stanice koje su uključene u autoimunosni odgovor, pa sve do spoznaja kako veliki broj gena uključenih u imunološki odgovor poput Foxp3, TLR7, TLR8, CD40L itd. je prisutan upravo

na X-kromosomu (240, 241). Međutim, u IgAV-u koji se obično pojavljuje u djece predpubertetske dobi kada su razine spolnih hormona podjednake u djevojčica i dječaka, prevalencija ženskog spola ne može se u potpunosti objasniti samo spolnim razlikama nego vjerojatno postoji i neki drugi biološki uzrok koji dovodi do te razlike (242).

Najveći broj oboljele djece dijagnosticiran je tijekom jeseni i zime što odgovara većini istraživanja (11, 97, 103–106, 113, 116, 120, 178). To se vjerojatno može pripisati sezonskoj pojavi respiratornih infekcija koje se smatraju jednim od glavnih okolišnih čimbenika za razvoj IgAV-a (11, 58, 103, 116, 178). U ovom istraživanju u više od dvije trećine djece razvoju IgAV-a također je prethodila infekcija, najčešće gornjeg dišnog sustava, a gotovo identične rezultate zabilježila su također i neka druga istraživanja (96, 113, 116, 178). Najveći broj djece s IgAV-om u ovom istraživanju dolazi iz dva najveća hrvatska grada ili okolnih bližih mjesta što je slično zapažanjima iz prethodno objavljene nacionalne epidemiološke studije (13). Prema podacima Državnog zavoda za statistiku rezultati zadnjeg popisa stanovništva iz 2021. pokazuju da u Republici Hrvatskoj (RH) ukupno živi 3 871 833 stanovnika, a od toga djeca, odnosno stanovništvo mlađe od 18 godina s ukupnim brojem od 774 817 čini točno petinu stanovništva RH-a (20%) (243). Prema velikom epidemiološkom istraživanju o pojavnosti IgAV-a u pedijatrijskoj populaciji RH-a procijenjena godišnja incidencija IgAV-a iznosi 6,79 (s intervalom pouzdanosti 6,26-7,36) na 100.000 djece. To znači da približno u godini dana u RH se može očekivati oko 50 oboljele djece $[6,79 (6,26-7,36) \times (774\ 817/100\ 000) = 52,6 (48,5-57)]$. Nacionalna retrospektivna istraživanja provedena od početka 2009. do kraja 2019. godine u pet najvećih kliničkih ustanova koja imaju prijavljenu zdravstvenu djelatnost pedijatrijske reumatologije zabilježila su više od 600 oboljele djece od IgAV-a u jedanaestogodišnjem razdoblju što potvrđuje očekivanu prosječnu incidenciju od 50-ak novooboljele djece u godini dana (96, 99). Epidemiološko istraživanje Piram i suradnika brojčanu raznolikost incidencije oboljele djece s IgAV-om obrazložilo je raspršenjem po zdravstvenim ustanovama različitih kategorija među kojima primarne i privatne zdravstvene ustanove imaju zajednički udio od 10% te je također naglasilo očekivani, statistički značajniji udio djece s IgAV-om koja imaju težu kliničku sliku bolesti među tercijarnim zdravstvenim ustanovama (11). Vjerojatno slično objašnjenje može postojati i za RH. Naime iako je godišnja incidencija precizno procijenjena na 6,79 na 100.000 djece, podaci o oboljeloj djeci dobiveni su upisom u pet tercijarnih centara koja su sudjelovala što znači da vjerojatno postoje slučajevi koji su tijekom prethodnih godina ostali neupisani (na razini tercijarnih centara). Zbog "raspršenja" manjeg dijela oboljele djece koje se dogodi

po sekundarnim i privatnim zdravstvenim ustanovama moguće je da je godišnja incidencija IgAV-a u RH ipak malo veća, premda je precizna geostatistička studija obuhvatila 90% populacije od interesa dajući relativno stabilnu vrijednost. Pored precizno izračunate incidencije IgAV-a nacionalna epidemiološka studija ukazala je na zanimljivo grupiranje djece s IgAVN-om na području istočne Hrvatske linearnom dužinom oko rijeka Drave, Save i Dunava te u mediteranskom području (13). Ovo istraživanje s ukupno 86 oboljele djece s IgAV-om nema dovoljno veliku kohortu ispitanika niti uključenost svih centara u RH da uoči takvo grupiranje, ali uočeno je da su oboljela djeca s nefritisom češće dolazila iz okolnih mjesta blizu grada Zagreba, konkretnije iz gradskih i ruralnih naselja Zagrebačke županije i iz manjih hrvatskih mjesta općenito. Navedeno zapažanje se time oslanja na rezultate iz velike nacionalne studije prema kojima djeca s IgAV-om koja razviju nefritis ne dolaze iz gradskih već prigradskih i ruralnih mjesta budući da su žarišta (engl. *hot spot clusters*) nefritisa prema epidemiološkoj studiji bila mahom slavonski gradići i sela uz rijeke što također spada u manja mjesta. Može se samo nagađati zašto dolazi do takvih žarišta, a objašnjenja mogu biti od socioekonomskih preko okolišnih čimbenika pa do nedostupnosti zdravstvene zaštite.

Kožne promjene koje su nužan kriterij za dijagnozu IgAV-a bile su prisutne kod sve oboljele djece i to najčešće tipično kao palpabilna purpura i/ili petehije bez prisutne trombocitopenije ili nekog drugog koagulacijskog poremećaja što u praktičnom smislu kliničaru omogućuje dijagnosticiranje bolesti s velikom sigurnošću. Moguća je pojava nešto manje uobičajenih kožnih promjena poput hematoma u kombinaciji s palpabilnom purpurom koje je u ovom istraživanju imalo 4 oboljele djece (4,6%). Španjolski autori su u svojoj kohorti u čak 43% oboljele djece uz purpurični osip dodatno opisali prisutne makularne, papularne, vezikularne ili urtikarijalne promjene (104). Ulceracije i nekroze bile su prisutne u 4 oboljele djece (4,6%) što je u skladu s literaturnim podacima o rijetkoj pojavi takvih teških kožnih promjena (4, 96, 97, 103). Točan uzrok i mehanizam nastanka takvih kožnih promjena u IgAV-u nisu jasni, a uključuju traumu, pritisak, fragilitet kože, imunološku disregulaciju, lokalno djelovanje leukocitne esteraze, MMP-2 i MMP-9 koje dovode do proteolize kolagena u koži (244). Nije nađena značajna povezanost između proširenosti i izraženosti kožnih promjena s većom učestalosti drugih kliničkih obilježja IgAV-a, ponajprije nefritisa i gastrointestinalnih manifestacija. Literaturni podaci su po tom pitanju kontradiktorni iako najveći broj istraživanja potvrđuje da postoji pozitivna povezanost (95–97, 99–102). Izuzetak je istraživanje na 87 odraslih bolesnika gdje nije pronađena povezanost između proširenosti kožnih promjena i nefritisa, odnosno sistemskih manifestacija IgAV-a (245). Slično drugim

istraživanjima, i u ovom su kožne promjene u najvećeg broja bolesnika bile prvi klinički znak IgAV-a (103–105, 114, 115). Učestalost recidiva kožnih promjena, koja je u ovom istraživanju iznosila 18,6%, također odgovara većini literaturnih podataka (1, 3–5, 97, 116). Jedino se istraživanje Wanga i suradnika ističe po velikom broju recidiva budući je čak 73% bolesnika imalo recidive kožnih promjena (103). Budući da je u najvećeg broja bolesnika dijagnoza IgAV-a jasna na temelju kliničke slike, biopsija kože rijetko je indicirana što je slučaj i u ovom istraživanju gdje je napravljena u 3 bolesnika (3,5%) te je u svim slučajevima patohistološki nalaz bioptata kože ukazivao na leukocitoklastični vaskulitis s IgA depozitima što je kompatibilno dijagnozi. Potkožni edemi registrirani su u 30,2% oboljele djece što je gotovo identično rezultatima zabilježenim iz jednog turskog istraživanja (116).

Koštano-mišićne manifestacije su, nakon kožnih promjena, bila druga po učestalosti značajka IgAV-a u ovom istraživanju što je sukladno većini istraživanja (96, 97, 99, 102–107, 115). Oboljela djeca većinom su imala istodobno prisutne otekline i bolove u zglobovima, a najčešće su bili zahvaćeni veliki zglobovi poput gležnjeva i koljena dok su ručni zglobovi i mali zglobovi šaka bili rijetko zahvaćeni, slično podacima ostalih istraživanja (103–105, 124). I u ovom istraživanju najčešće je bila riječ o oligoartritisu budući da je najveći broj oboljele djece imao zahvaćen po dva zgloba (103–105). Koštano-mišićni simptomi u 29% bolesnika prethodili su kožnim promjenama što je dvostruko više nego u ranije objavljenim istraživanjima (104, 105).

Gastrointestinalni simptomi u ovom istraživanju bili su prisutni u 45,3% djece s IgAV-om što je u okviru prosjeka koji je opisan u retrospektivnim istraživanjima hrvatske populacije (96, 97, 99, 113). Zahvaćenost GI sustava u IgAV-u se prema podacima iz različitih istraživanja kreće 45-75% (26, 99, 104–106, 108–117), a tako širok raspon je vjerojatno rezultat etničkih razlika budući da populacije s dalekog istoka bilježe postotak veći od 70% (114) dok se u europskim populacijama, kao primjerice u talijanskom istraživanju učestalost kretala oko 50% (105). Moguće je da su tako široki rasponi dijelom i okolišno uvjetovani budući da se u azijskim populacijama, češće nego u europskim, infekcija s *H. pylori* etiopatogenetski povezuje s razvojem IgAV-a te se izolira u djece s gastrointestinalnim manifestacijama bolesti (246, 247). Turska populacija ima rezultate slične europskim (26, 115–117), štoviše postotak zahvaćenosti GI sustava u oboljele djece u ovom istraživanju je istovjetan rezultatima koje su dobili Batu i suradnici gdje je također iznosio 45,3% u pedijatrijskoj populaciji (26). Najveći broj bolesnika s GI manifestacijama imao je blagu kliničku sliku koja je uključivala bolove u trbuhu i pozitivan nalaz okultnog krvarenja u

stolici dok su komplikacije poput intususcepcije i krvarenja (hematemeze, melene i hematokezije) bile rijetko zastupljene (3,5%), ali u skladu s istraživanjima o njihovoj pojavnosti među oboljelom djecom (99, 109, 111–113, 115–117). Najveći broj oboljele djece imalo je uredan nalaz UZV-a trbuha, sljedeći po učestalosti bio je nalaz mezenterijskog limfadenitisa, a UZV se, kao i u drugim istraživanjima, pokazao osobito vrijednom dijagnostičkom pretragom u prepoznavanju invaginacije crijeva budući da je u troje oboljele djece to i potvrdio (109, 112, 142–144). U ovom istraživanju kožne promjene proširene iznad razine donjih udova su pozitivno povezane s GI manifestacijama IgAV-a dok zahvaćenost koštano-mišićnog sustava pokazuje negativnu povezanost. Djeca koja su imala zahvaćen GI sustav nisu značajno učestalije razvijala nefritis što je u suprotnosti s većinom istraživanja koja GI manifestacije povezuju s povećanim rizikom za razvoj nefritisa i sistemskih manifestacija IgAV-a (99, 113, 116, 121–124).

U ovom istraživanju 26 djece (30,2%) je u tijeku IgAV-a razvilo znakove nefritisa prema postavljenim EULAR/PRINTO/PRES klasifikacijskim kriterijima koji prisutnost nefritisa definiraju barem jednom od mogućih laboratorijskih promjena u urinu: 24-satnom proteinurijom većom od 0,3 g/dU, omjerom albumin/kreatinin u urinu većim od 30 mg/mmol, kvalitativnom prisutnošću proteina 2+ na test traci ili eritrociturijom s više od 2+ na kvalitativnom pregledu test trakom, odnosno s više od 5 eritrocita u mikroskopskom pregledu sedimenta urina (7). Tu odmah treba napomenuti mogući selekcijski bias koji se pritom javlja budući da djeca s promjenama u urinu manjim od opisanih u važećim klasifikacijskim kriterijima nisu razmatrana da imaju znakove nefritisa pa time nisu ni izdvojeni kao skupina. Nefritis se najčešće očitovao istodobno prisutnom eritrociturijom i proteinurijom slično kao u nekim istraživanjima (103, 120, 126). U najvećeg broja oboljele djece, točnije njih 19 (73%), nefritis se razvio unutar 4 tjedna od početka IgAV-a, odnosno za vrijeme akutne faze bolesti što je u skladu s većinom objavljenih istraživanja (104, 105, 113, 120). U preostalo sedmero djece nefritis se razvio u nekom trenutku tijekom razdoblja praćenja te je detektiran na jednom od rutinskih pregleda koje je za svu oboljelu djecu bilo svaka dva do tri mjeseca pa sve do barem navršenih godinu dana od dijagnosticiranja IgAV-a. Tako je najkasniju pojavu nefritisa imao dječak kojem se u kontrolnim nalazima urina otkrila eritrociturija nakon 223 dana što je u prosjeku bilo 7,5 mjeseci od početka IgAV-a. Navedeno dodatno naglašava važnost kontroliranja rutinskih nalaza urina koje bi prema jednoj sustavnoj analizi trebalo pratiti barem šest mjeseci (129), a vjerojatno bi godina dana bila idealna za svu oboljelu djecu s IgAV-om, kako predlažu preporuke inicijative SHARE (98). Gotovo polovica oboljele djece

s nefritisom je bioptirana, a sva ta djeca u nalazima urina imala su eritrocituriju i proteinuriju te je biopsija bubrega napravljena sukladno stručnim preporukama (98). U analizi bioptata korištena je revidirana Oxfordska klasifikacija koja je primjenjiva za pedijatrijsku populaciju s IgAVN-om, a dobro predviđa ishod bolesti (128, 147, 150, 151). Za razliku od ostalih istraživanja u kojima se kao rizični čimbenici nefritisa spominju starija dob, muški spol, debljina, perzistirajuća purpura, teške kožne i gastrointestinalne manifestacije u ovom istraživanju sa sigurnošću nije identificiran nijedan konkretan rizični čimbenik za nefritis (96, 99, 102, 121–126). Međutim, čini se da bi učestaliji recidivi kožnih promjena možda mogli biti rizični čimbenik nefritisa budući da je razlika između djece s nefritisom i bez nefritisa koja su imala recidive kožnih promjena bila blizu granice dostizanja statističke značajnosti ($p=0,056$), a značajna pozitivna korelacija između ta dva entiteta ipak je dokazana. Također, zapažena je slaba, ali značajna pozitivna korelacija između nefritisa i dobi bolesnika ($\tau=0,175$, $p=0,017$) što u praktičnom smislu znači da se u kliničkom radu može očekivati kako će starija djeca imati veću tendenciju da razviju nefritis.

Urogenitalne manifestacije, koje najčešće uključuju oteklinu i bolnost skrotalne regije, razvilo je 6 dječaka s IgAV-om (16,2%) što je u skladu s podacima zabilježenim u literaturi o njihovoj pojavnosti (105, 130–132). UZV skrotuma s obojenim doplerom napravljen je u samo jednog dječaka s jakim bolovima u skrotalnoj regiji i ukazivao je na pojačanu vaskularizaciju epididimisa i zadebljanu ovojnicu testisa kako je tipično i opisano u sklopu osnovne bolesti. Nije uvijek potrebno raditi UZV skrotalne regije svim bolesnicima, ali je ta pretraga svakako nužna kada postoji klinička sumnja na akutno kirurško zbiljevanje poput torzije testisa (130–132). Testisi se, uz oči (rožnicu i retinu), središnji živčani sustav i placentu smatraju imunološki privilegiranim mjestom zbog slabije izraženosti klasičnih MHC-1 molekula, konstitucijske izraženosti Fas liganda koji kontrolira ulazak aktiviranih i potencijalno autoreaktivnih limfocita koji izražavaju Fas pokretanjem njihove apoptoze, zatim zbog testikularnih makrofaga koji inhibiraju lučenje proupalnih citokina TNF- α , IL-1 β i IL-6 i prevladavajućih regulacijskih T limfocita koji lokalnom proizvodnjom TGF- β sprečavaju autoimunosnu reakciju i to osobito u onom dijelu gdje je fizička barijera krv-testis najslabija (248, 249). Zašto dolazi do autoimune upale u skrotalnoj regiji u IgAV-u još se ne zna, ali je odgovor vjerojatno sličan obrazloženju koje postoji za autoimuni orhitis, a to je da uslijed povećane proizvodnje proupalnih citokina IL-1, IL-6, TNF- α i IL-12 dolazi do promjene imunološkog mikrokoliša samog testisa te do povećane propusnosti krvnih žila na barijeri krv-testis i time ulaska upalnih stanica s posljedičnim oštećenjem (250, 251). Uz izuzetak

jednog bolesnika koji je razvio tešku komplikaciju u vidu akutnog respiratornog distresnog sindroma druge moguće sistemske manifestacije IgAV-a u vidu zahvaćenosti središnjeg živčanog sustava i kardiovaskularnog sustava u ovom istraživanju nisu zabilježene. Od komplikacija koje su uočene za izdvojiti je sekundarnu hipogamaglobulinemiju u djevojčice i dječaka s nefritisom koja je posljedično nastala zbog gubitka proteina (albumina i globulina) urinom.

Barem jedan relaps IgAV-a doživjelo je 21 bolesnika (24,4%) što je u rasponu učestalosti recidiva bolesti koje se prema literaturi kreće 15-40% (97, 104, 105, 113, 116, 179). Relaps bolesti je u ovom istraživanju definiran kao ponovna pojava kožnih promjena ili drugih sistemskih manifestacija karakterističnih za IgAV nakon asimptomatskog razdoblja u trajanju od najmanje jednog mjeseca (104, 106, 179). U najvećeg broja bolesnika relaps je bio vezan za kožne promjene, a u manjem broju bilo je riječ o patološkom nalazu urina što je u skladu s istraživanjima (97, 113, 116, 179). Dvoje djece s nefritisom u četiri navrata imalo je povrat bolesti, što je ujedno i najveći ukupni broj relapsa zabilježen u ovom istraživanju. Broj relapsa je snažno pozitivno korelirao s recidivima purpuričnog osipa ($\tau=0,647$, $p<0,001$) što potvrđuje i klinička zapažanja iz prakse kako je povrat IgAV-a najčešće vezan uz kožne promjene.

Slično ostalim istraživanjima i u ovom su najčešće primjenjivani lijekovi bili NSAID i glukokortikoidi (26, 105, 116, 117). Objašnjenje tako visokom postotku primjene NSAID-a u oboljele djece je velika učestalost simptoma od strane koštano-mišićnog sustava što je potvrđeno snažnom pozitivnom korelacijom ($\tau=0,432$, $p<0,001$). Glukokortikoidi su statistički značajnije primjenjivani u oboljele djece s nefritisom i GI manifestacijama te je također primjećena snažna pozitivna povezanost njihove upotrebe u djece s nefritisom ($\tau=0,247$, $p<0,001$) i gastrointestinalnim manifestacijama IgAV-a ($\tau=0,476$, $p<0,001$). Statistički značajno učestalija primjena antihipertenziva iz skupine ACE inhibitora kao i imunosupresivnih lijekova u djece s nefritisom očekivano je zapažena kao i snažna pozitivna korelacija ($\tau=0,649$, $p<0,001$; $\tau=0,597$, $p<0,001$). Upotreba imunosupresiva je snažno pozitivno korelirala s eritrociturijom ($\tau=0,572$, $p<0,001$) i proteinurijom ($\tau=0,773$, $p<0,001$).

Rutinski laboratorijski nalazi učinjeni u ispitanika pokazali su da su djeca s IgAV-om imala ubranu SE, više vrijednosti CRP-a, nižu vrijednost hemoglobina, veći broj leukocita, neutrofila i trombocita u usporedbi s kontrolnom skupinom djece po čemu su dobiveni rezultati istovjetni sa opažanjima drugih istraživanja (115, 252). Značajne razlike u upalnim parametrima i krvnoj slici također su uočene i među samim bolesnicima kada se usporedio

početak bolesti s razdobljem praćenja nakon šest mjeseci. Oboljela djeca imala su više vrijednosti d-dimera i fibrinogena naspram kontrolne skupine na početku bolesti, ali također i međusobno kada se usporedila akutna faza bolesti i razdoblje praćenja. Budući da IgAV prema klasifikacijskim kriterijima ne može imati u podlozi koagulacijski poremećaj, povišene vrijednosti d-dimera i fibrinogena se u tom slučaju ne tumače kao poremećaj koagulacije već kao odraz upalnog zbivanja i oštećenja endotelnih stanica koje iz svojih Weibel-Paladnih tjelešaca oslobađaju von Willebrandov faktor i P-selektin zbog čega dolazi do adhezije trombocita i pokretanja koagulacijskog sustava kojeg uvijek prati i pojačana fibrinoliza, a d-dimeri kao razgradni produkti fibrinogena pritom rastu (253, 254). Također jedno od mogućih obrazloženja je da upala "otapa" fibrinski film koji u normalnim uvjetima prekriva endotelne stanice pri čemu dolazi do povećanja količine fibrinskih niti u cirkulaciji, a i sam plazmin sudjeluje u upali cijepanjem C3 komponente komplekta (255). Povećan omjer albumina i kreatinina u urinu te snižene koncentracije ukupnih proteina i albumina u oboljele djece naspram kontrolne skupine odraz su s jedne strane nefritisa koji je dio kliničke slike bolesti, ali razlog također može biti u povećanoj propusnosti probavne cijevi za bjelančevine uslijed crijevnog vaskulitisa. Potonji razlog mogao bi možda objasniti značajnu razliku dobivenu u vrijednostima ukupnih proteina i albumina između akutne faze bolesti i razdoblja praćenja u kojem je došlo do normalizacije tih nalaza u oboljele djece. Budući da su gastrointestinalni simptomi gotovo u pravilu akutne naravi nastupom kliničke remisije za očekivati je da će i laboratorijski nalazi biti uredni. Za razliku od toga, omjer albumina i kreatinina u urinu, vrijednosti 24-satne proteinurije i nalazi eritrociturije i kvalitativne proteinurije ne pokazuju značajne razlike u oboljele djece na početku bolesti i nakon šest mjeseci praćenja. Navedeno implicira da nefritis, koji postoji u dijelu bolesnika, pokazuje sporiji oporavak nego ostale kliničke značajke IgAV-a, kao primjerice kožne promjene, artritis pa i gastrointestinalne manifestacije, koje su većim dijelom bile te koje su stvarale značajnu razliku u rutinskim laboratorijskim nalazima na početku bolesti u usporedbi s razdobljem praćenja. Niže vrijednosti serumskog kreatinina u djece s IgAV-om naspram kontrolnih ispitanika odraz su razlike u dobi budući da su oboljela djeca bila mlađa od kontrolne skupine, a i dokazana je snažna pozitivna korelacija visine serumskog kreatinina s dobi ispitanika ($\tau=0,529$, $p<0,001$). Serumski koncentracija kreatinina ovisi o dobi, spolu, tjelesnoj visini, tjelesnoj masi, hidraciji, razini tjelesne aktivnosti i o metodi kojom se određuje (256, 257). Budući da navedeni čimbenici mogu imati znatnog utjecaja na točnu vrijednost serumskog kreatinina, kao i na eGFR koji se iz njega računski određuje, u ovom istraživanju kreatinin i

eGFR dalje nisu razmatrani sa sigurnošću za procjenu glomerularnog oštećenja. Premda ima ključnu ulogu u imunopatogenezi IgAV-a, a depoziti IgA u koži ili glomerulima su ujedno i dio klasifikacijskih kriterija bolesti, objavljena istraživanja pokazuju različiti postotak oboljele djece s povišenim vrijednostima serumskog IgA u akutnoj fazi bolesti (104–106, 137, 139, 239). U talijanskom istraživanju ukupno je 37% oboljele djece imalo povišen IgA (105), španjolski autori zabilježili su postotke do 57% (104, 106) dok su istraživanja grčkih i kineskih autora u više 70% oboljele djece zapazila povišene vrijednosti serumskog IgA što su ujedno i najveći objavljeni postotci (139, 239). Značajna razlika između bolesnika i kontrolnih ispitanika po pitanju vrijednosti serumskog IgA svakako je opisana (137, 138). I u ovom istraživanju opažena je značajna razlika u serumskim vrijednostima IgA između bolesnika i kontrolne skupine, dok je postotak oboljele djece s razinama serumskog IgA većeg od referentnih za dob iznosio 22% što je manje nego u objavljenim istraživanjima (104–106, 139, 239). Završetkom akutne faze bolesti serumske vrijednosti IgA, IgG i IgM izmjerene u oboljele djece značajno su se razlikovale na početku bolesti i u razdoblju praćenja. Sustav komplementa je zasigurno uključen u patogenezu IgAV-a (73–76) premda su u većine bolesnika serumske razine komponenti komplementa C3 i C4 obično unutar referentnog raspona (104, 105, 139). U ovom istraživanju djeca s IgAV-om imala su značajno više razine C3 i C4 komponenti komplementa na početku bolesti u usporedbi s razdobljem nakon šest mjeseci, a slično je zapaženo i u drugim istraživanjima (137, 138, 239). Budući da IgAV može imati više kliničkih značajki među kojima se kao najznačajnije izdvajaju nefritis i zahvaćenost probavnog sustava u ovom istraživanju međusobno su analizirana i sama oboljela djeca s IgAV-om ovisno o tome jesu li imala navedene kliničke značajke. Značajne razlike uočile su se u vrijednostima fibrinogena, C3 i C4 komponente komplementa koje su bile snižene u oboljele djece s nefritisom u usporedbi s ostalim bolesnicima te patološkim nalazima omjera albumina i kreatinina u urinu, 24-satne proteinurije, eritrociturije i kvalitativne proteinurije koji su očekivano bili prisutni u bolesnika s nefritisom. Meta analiza koja se bavila rizičnim čimbenicima za nefritis u IgAV-u pokazala je da su snižene vrijednosti C3 učestalije prisutne u oboljelih s nefritisom (123). Da je sustav komplementa vjerojatno uključen u patogenezu nefritisa i u ovom istraživanju pokazale su značajne negativne korelacije C3 i C4 komponente komplementa u oboljele djece koja su razvila nefritis. Očekivana razlika uočena je za pozitivni nalaz testa na okultno krvarenje u stolici i za fekalni kalprotektin koji su bili značajno viši u oboljele djece s gastrointestinalnim simptomima IgAV-a po čemu ovo istraživanje ima slična zapažanja o kliničkoj koristi mjerenja razine

kalprotektina kao mogućeg markera upale, osobito u stanjima kada je zahvaćen gastrointestinalni sustav (140, 141). Kalprotektin se oslobađa iz neutrofila i makrofaga koji migriraju na mjesto upale u probavnom sustavu, izlučuje se u stolici i pritom ostaje stabilan u stolici i do tjedan dana te stoga uistinu može biti koristan kao marker crijevne upale. Neka istraživanja pokazala su da je kalprotektin isključivo marker zahvaćenosti gastrointestinalnog sustava u IgAV-u i da je osjetljiviji od tradicionalnih pokazatelja upale poput CRP-a i leukocitoze (140, 141). I u ovom istraživanju može se reći da je kalprotektin vezan uz gastrointestinalne manifestacije IgAV-a jer, osim što je bio značajno veći u oboljele djece s tim značajkama, pozitivno je korelirao sa zahvaćenošću probavnog sustava ($\tau=0,267$, $p<0,001$) i s nalazom pozitivnog okultnog krvarenja u stolici ($\tau=0,434$, $p<0,001$).

U djece koja su razvila nefritis i/ili gastrointestinalne manifestacije IgAV-a zapažena je značajno veća aktivnost bolesti. BVAS (engl. *Birmingham Vasculitis Activity Score*) se koristi za standardnu procjenu aktivnosti primarnih sistemskih vaskulitisa. Iako je razvijen za odrasle bolesnike, istraživanja koja su uključivala pedijatrijske bolesnike pokazala su da je BVAS dobar i za procjenu aktivnosti bolesti u oboljele djece s IgAV-om, nodoznim poliarteritisom, granulomatoznim poliangiitisom i Takayasuovim arteritisom (258). Budući da djeca koja boluju od sistemskih vaskulitisa mogu imati drugačije kliničke manifestacije i komorbiditete nego odrasli bolesnici skupina stručnjaka iz Europskog društva za pedijatrijsku reumatologiju razvila je pedijatrijske upitnike za vaskulitise dječje dobi (237). Stoga se u svrhu utvrđivanja aktivnosti bolesti i stupnja oštećenja bubrega u djece s IgAV-om koriste dva klinička upitnika: PVAS i PVDI (engl. *Pediatric Vasculitis Damage Index*). PVAS, koji je prikladniji za upotrebu u pedijatrijskih bolesnika s primarnim vaskulitisom, razvijen je korištenjem modifikacije BVAS-a prikladne za pedijatrijsku dob. Procjenjuju se novonastali simptomi i/ili znakovi ili oni koji su se pogoršali kroz naredna 4 tjedna, a da pritom ne traju dulje od 3 mjeseca. U ovom istraživanju najveći broj djece imao je nisku aktivnost bolesti što je i očekivano s obzirom na to da je veći dio oboljele djece imao kožne promjene s koštano-mišićnim manifestacijama. Primijećen je porast vrijednosti PVAS-a ako je broj zahvaćenih organskih sustava bio veći (tu se prvenstveno misli na GI manifestacije i nefritis). Općenito, podaci o procjeni aktivnosti i oštećenja u djece s IgAV-om ograničeni su i tek su sporadična istraživanja koja su uopće i koristila navedene upitnike (259). U ovom istraživanju vrijednost PVAS-a snažno je pozitivno korelirala sa zahvaćanjem probavnog sustava i nefritisom ($\tau=0,587$, $p<0,001$; $\tau=0,647$, $p<0,001$) kao i s određenim laboratorijskim nalazima koji, očekivano, pridonose povećanju vrijednosti samog PVAS-a, a tu su se značajnim izdvojile

eritrociturija ($\tau=0,623$, $p<0,001$) i kvalitativna proteinurija ($\tau=0,529$, $p<0,001$) te pozitivni nalaz okultnog krvarenja u stolici ($\tau=0,431$, $p<0,001$). Očekivano, veća aktivnost IgAV-a mjerena PVAS-om snažno je pozitivno korelirala s upotrebom glukokortikoidnih lijekova ($\tau=0,476$, $p<0,001$), imunosupresivnih lijekova ($\tau=0,505$, $p<0,001$) i antihipertenziva ($\tau=0,519$, $p<0,001$).

U ovom istraživanju nakon šest mjeseci praćenja određen je ishod nefritisa prema modificiranoj Counahanovoj klasifikaciji u 26 djece koja su ga razvila i u svih je ocijenjen kao dobar. Ipak, kada se promatraju sami bolesnici s nefritisom i među njima ima razlike pa tako je za očekivati bilo da će postojati razlika između one djece koja su podvrgnuta biopsiji bubrega naspram one koja nisu bioptirana. Bioptirana djeca s nefritisom su češće imala istodobno prisutne eritrocite i proteine u urinu što je i za očekivati, odnosno u skladu s kliničkim zapažanjima iz prakse da bolesnici s težom kliničkom slikom nefritisa budu podvrgnuti biopsiji bubrega. Slijedom toga, ishod B koji je po definiciji "lošiji" od ishoda A je češće prisutan u bioptirane djece s nefritisom. Puno bitnije od toga je rezultat značajnih pozitivnih korelacija ishoda nefritisa s patološkim nalazima urina ponajprije eritrociturijom ($\tau=0,667$, $p<0,001$) i proteinurijom ($\tau=0,639$, $p<0,001$) što potvrđuje saznanja iz kliničke prakse kako je u praćenju djece s IgAV-om koja su razvila nefritis najvažnije kontroliranje rutinskih nalaza urina. Budući da je ovo bilo prospektivno istraživanje oboljela djeca s nefritisom još se uvijek prate i ne mogu se utvrditi zaključci konačnog ishoda njihove bolesti. Preostala djeca s IgAV-om koja nisu razvila nefritis su se redovito klinički pratila barem godinu dana.

Svrha ovog istraživanja iz područja pedijatrijske reumatologije bila je ispitati biomarkere u serumu i urinu u djece oboljele od IgAV-a, a koji bi ukazivali na aktivnost autoimunskog procesa, dobro korelirali s kliničkim značajkama bolesti, rutinskim laboratorijskim nalazima te moguće bili prediktor oštećenja i komplikacija osobito u onih bolesnika koji su ugroženi nefritisom, odnosno njegovim razvojem. Odabrani biomarkeri uključivali su Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 te su izmjerene njihove koncentracije u serumu i urinu u oboljele djece i uspoređene s kontrolnom skupinom te kroz razdoblje praćenja od šest mjeseci u samih bolesnika.

Gd-IgA1 je do sada najčešće opisivan mogući biomarker u serumu u djece s IgAV-om i gotovo isključivo je pokazatelj nefritisa (61, 66, 67, 88–92). Pritom je malo istraživanja koja su pokazala da Gd-IgA1 može biti uključen u sistemsku patogenezu IgAV-a, a ne samo uz nefritis. Rad grupe autora proveden na odraslim bolesnicima s IgAV-om uspoređivao je

serumsku koncentraciju Gd-IgA1 u IgAV-u ograničenom samo na kožne promjene i u sistemskom obliku koji je uključivao nefritis. Premda su bolesnici s IgAV-om ograničenim na kožne promjene imali sveukupno niži serumski Gd-IgA1 od bolesnika sa sistemskim oblikom bolesti, za koji je prag osjetljivosti postavljen na vrijednosti više od 20 µg/ml, u svih bolesnika dokazano je odlaganje Gd-IgA1 u male krvne žile dermisa čime se implicira da je Gd-IgA1 osim nefritisa uključen u patogenezu IgAV-a i to sigurno kožnih promjena, a vjerojatno i nekih drugih manifestacija (65). Wang i suradnici su također pokazali da je serumski Gd-IgA1 prisutan u većoj koncentraciji u djece s IgAV-om naspram kontrola, dok su se djeca s IgAV-om međusobno razlikovala u vrijednostima Gd-IgA1 koje su bile veće kod nefritisa (89). I ovo istraživanje pokazalo je da postoji razlika između djece s IgAV-om i kontrolnih ispitanika budući da je koncentracija Gd-IgA1 na početku bolesti bila veća u oboljele djece nego u kontrola uz napomenu da je ta razlika uočena u urinu, a ne u serumu. Nadalje, uočena razlika koncentracija Gd-IgA1 u urinu ostala je značajna i tijekom razdoblja praćenja od šest mjeseci što indirektno upućuje da u djece s IgAV-om postoji oštećenje glomerularne filtracijske barijere, a dobivene korelacije također upućuju na navedena razmišljanja. Koncentracija Gd-IgA1 u urinu u akutnoj fazi IgAV-a pozitivno je korelirala s omjerom albumina i kreatinina u urinu ($\tau=0,203$, $p=0,007$) dok je serumska koncentracija Gd-IgA1 nakon šest mjeseci praćenja negativno korelirala s vrijednostima 24-satne proteinurije ($\tau= -0,218$, $p=0,004$) i kvalitativne proteinurije ($\tau= -0,192$, $p=0,010$). Unatoč opisanim povezanostima, ROC analiza nije izdvojila koncentraciju serumskog Gd-IgA1 pri kojima bi se značajno razlikovala djeca s IgAV-om od kontrolne skupine djece. Ni prema regresijskoj analizi serumski Gd-IgA1 nije značajan u predikciji nefritisa u ovom istraživanju, ali je moguće povezan s artritisom. ROC analiza je zato jasno izdvojila koncentraciju Gd-IgA1 u urinu značajnu u razlikovanju oboljele djece i kontrolne skupine, ali regresijska analiza i u ovom slučaju nije izdvojila Gd-IgA1 u urinu kao prediktor nalaza nefritisa u IgAV-u pri čemu zasigurno utjecaj ima i broj, odnosno veličina skupine djece s nefritisom, koji je u ovom istraživanju malen.

HMGB1 je već prethodno opisivane kao mogući biomarker u brojnim upalnim reumatskim bolestima poput RA, JIA, SLE, ANCA-povezanih vaskulitisa i Behçetove bolesti (183, 195, 204–208). Mali broj istraživanja o ulozi HMGB1 u IgAV-u pokazao je oprečne rezultate u smislu da je, prema nekim istraživanjima serumska koncentracija HMGB1 veća u oboljele djece s IgAV-om i da nema razlike među bolesnicima ovisno o nefritisu (210), dok su drugi autori pokazali da su koncentracije HMGB1 isključivo povećane u bolesnika s

nefritisom u sklopu bolesti (209, 211). Rezultati provedenog istraživanja pokazali su da koncentracija HMGB1 u serumu i urinu za vrijeme akutne faze IgAV-a (kada bolest tek nastaje) su bile značajno više u oboljele djece naspram kontrolnih ispitanika, a u ROC analizi izračunate su koncentracije HMGB1 u serumu i urinu pri kojima se značajno detektiraju oboljela djeca u odnosu na kontrolnu skupinu. Uloga koju HMGB1 ima u IgAV-u zasigurno je složena budući da se pregledom literature pronalazi radova koji govore u prilog značajnom doprinosu u patogenezi i kliničkom razvoju vaskulitisa malih krvnih žila (u koje spada i IgAV) (183, 205, 207, 208). Logistička regresija također potvrdno govori u prilog HMGB1 kao mogućem biomarkeru koji razlikuje IgAV od kontrolne skupine u ovom istraživanju, posebno serumskim koncentracijama koje ostaju značajne nakon provedene analize. Osim toga, da je HMGB1 moguće povezan s upalnim odgovorom u IgAV-u pokazuje dobiveni rezultat značajne pozitivne korelacije između serumske koncentracije HMGB1 i CRP-a ($\tau=0,161$, $p=0,029$) na početku bolesti što je u skladu s prethodno objavljenim kineskim istraživanjem o njihovoj međusobnoj vezi (211). Isto tako pozitivno je korelirao s razinom IgG-a ($\tau=0,147$, $p=0,045$) i feritina ($\tau=0,219$, $p=0,004$). S druge strane, HMGB1 u urinu na početku bolesti pozitivno je korelirao s omjerom albumina i kreatinina u urinu ($\tau=0,193$, $p=0,01$) i nalazom eritrociturije ($\tau=0,183$, $p=0,012$). Dobivena je značajna pozitivna korelacija HMGB1 u urinu s vrijednostima D-dimera ($\tau=0,22$, $p=0,003$). Istraživanja o međudjelovanju HMGB1 i koagulacijskog sustava pokazala su da HMGB1 potiče ekspresiju tkivnog čimbenika u endotelnim stanicama i to upravo vezanjem za svoje receptore RAGE, TLR4 i TLR2 na endotelu krvnih žila te aktivacijom transkripcijskih čimbenika NF κ B i Egr-1 (207, 260). Logistička regresija izdvaja HMGB1 u urinu značajnim u predikciji artritisa u IgAV-u stoga se može reći da HMGB1 ima različite proupalne učinke u IgAV-u, od nastanka same bolesti do određenih kliničkih manifestacija. U razdoblju nakon šest mjeseci od početka bolesti i dalje ostaju povišene koncentracije HMGB1 u serumu i urinu u oboljele djece naspram kontrola što bi se moglo objasniti niskom upalnom aktivnošću ili oštećenjem tkiva koje je preostalo unatoč kliničkoj remisiji. Uočena je statistički značajna razlika u serumskoj koncentraciji HMGB1 u akutnoj fazi u usporedbi s razdobljem praćenja između samih bolesnika što implicira da bi HMGB1 mogao biti dobar pokazatelj aktivnosti bolesti te moguće kao DAMP poslužiti i u kliničkom praćenju djece s IgAV-om. Statistički značajna razlika u serumskoj koncentraciji HMGB1 između bolesnika potiče na razmišljanja odakle proizlazi dobivena razlika. Budući da jedina klinička značajka IgAV-a koja preostaje u oboljele djece s IgAV-om je nefritis opravdano bi bilo razmišljati o nefritisu kao mogućem

uzroku, iako konkretna statistički značajna razlika među samim bolesnicima ovisno o nefritisu nije nađena po čemu su rezultati ovog istraživanja jednaki onima koje su dobili Chen i suradnici (210). Istraživanja su pokazala da je u ANCA-povezanom vaskulitisu koncentracija HMGB1 u urinu viša u bolesnika s nefritisom u usporedbi s bolesnicima u remisiji i zdravim kontrolama te da može odražavati aktivnu bolest (261, 262). Slična usporedba mogla bi se primijeniti i na rezultate dobivene u ovom istraživanju budući da je koncentracija HMGB1 u urinu izmjerena nakon šest mjeseci bila značajno veća u djece s nefritisom nego u djece bez nefritisa. Ako uzmemo u obzir da bi glomerularne endotelne stanice i tubularne epitelne stanice nakon oštećenja mogle pasivno oslobađati HMGB1 opravdano bi bilo razmišljati kako vrijednosti dobivene iz urina odražavaju upalu koja se zbiva u bubregu te da bi prema tome HMGB1 onda mogao biti dobar pokazatelj zaostalog oštećenja ili aktivnosti IgAV-a. Osim toga, vrijedno je za izdvojiti i neke od korelacija koje su dobivene u razdoblju praćenja. Tako je serumski HMGB1 nakon šest mjeseci praćenja značajno pozitivno korelirao s nalazom 24-satne proteinurije ($\tau=0,199$, $p=0,009$) dok je koncentracija HMGB1 u urinu i dalje značajno pozitivno korelirala s omjerom albumina i kreatinina u urinu ($\tau=0,184$, $p=0,018$) i nalazom eritrociturije ($\tau=0,193$, $p=0,009$). Ove pozitivne i značajne povezanosti HMGB1 u serumu i urinu s nalazima bubrežnih parametara, a osobito konzistentna, pozitivna korelacija HMGB1 u urinu s nalazom eritrociturije i s omjerom albumina i kreatinina u urinu koji preostaju i u razdoblju praćenja također impliciraju razmišljanja o HMGB1 kao mogućem biomarkeru nefritisa u IgAV-u. Dodatno, pronađene su značajne pozitivne korelacije HMGB1 u urinu s ishodom nefritisa ($\tau=0,287$, $p=0,044$) koji, iako je u svih bolesnika ocijenjen dobrim, također opravdava navedena obrazloženja.

Koncentracija RAGE u serumu i urinu bolesnika s IgAV-om izmjerena na početku bolesti i u razdoblju praćenja nakon šest mjeseci bila je statistički značajno viša nego u kontrolnih ispitanika čime nije potvrđena hipoteza kojom se vodilo ovo istraživanje, a to je očekivanje sniženih vrijednosti u bolesnika naspram kontrola. Većina dosad objavljenih istraživanja o ulozi sRAGE u upalnim reumatskim bolestima govori u prilog sniženim serumskim vrijednostima sRAGE i recipročnom odnosu s jednim od njegovih ciljnih liganda HMGB1 (195, 200, 204, 205). Međutim, pažljivim pregledom literature, osobito posljednjih godina, pronalaze se radovi autora koji su objavili suprotne rezultate od do sada ustaljenih, a to je da serumske koncentracije sRAGE-a mogu biti povišene u nekim upalnim reumatskim bolestima i da sRAGE dobro korelira s upalnim pokazateljima poput CRP-a i SE (263, 264). Moguće objašnjenje zašto ne dolazi uvijek do smanjenja cirkulirajućeg RAGE-a u upali

proizlazi iz promijenjenog veznog afiniteta ciljnih liganada za RAGE, smanjene dostupnosti liganda koji se troše u upali, a i sam RAGE ostvaruje svoje djelovanje neovisno o HMGB1 budući da ima više različitih receptora. Moguću ulogu RAGE kao biomarkera pokazuje ROC analiza s izračunatim značajnim koncentracijama pri kojima se u serumu i urinu mogu detektirati oboljela djeca u odnosu na kontrolnu skupinu djece. Od rezultata za izdvojiti je značajnu pozitivnu korelaciju RAGE s artritismom i artralgijskim kao najčešćim lokomotornim manifestacijama u IgAV-u ($\tau=0,185$, $p=0,030$). Zanimljiv je rezultat negativne korelacije serumskog RAGE s brojem zahvaćenih zglobova ($\tau= -0,227$, $p=0,010$), odnosno da su oboljela djeca s većim brojem zahvaćenih zglobova imala nižu serumsku koncentraciju RAGE-a. Takav, inverzan odnos između koncentracije RAGE-a i kliničke slike artritisa opisan je u JIA, ali ne i u svim slučajevima RA u odraslih (204, 263, 265). Općenito je ovo istraživanje pokazalo kako postoji povezanost između artritisa i artralgijske i serumske koncentracije RAGE, a potvrđuje ju i logistička regresija koja RAGE u serumu izdvaja kao prediktor pojavnosti artritisa. Iako veći broj istraživanja ukazuje na protuupalnu ulogu, čini se da RAGE ipak može djelovati proupalno kada se veže s $\beta 2$ integrinom Mac-1 (CD11b/CD18), što aktivira NF κ B signalni put i proizvodnju proupalnih citokina IL-6 i TNF- α , a također potiče nakupljanje leukocita i daljnju kemotaksiju (219, 266). Serumski RAGE pozitivno je korelirao s vrijednostima IgG-a ($\tau=0,145$, $p=0,048$). Kako je nalaz hipergamaglobulinemije zabilježen u upalnim reumatskim bolestima, nije neobično da vrijednosti međusobno pozitivno koreliraju. Slično kao i kod Gd-IgA1 i HMGB1, koncentracija RAGE u urinu na početku bolesti pozitivno je korelirala s omjerom albumina i kreatinina u urinu ($\tau=0,187$, $p=0,013$). Nakon šest mjeseci praćenja serumski RAGE značajno je pozitivno korelirao s nalazom 24-satne proteinurije ($\tau=0,152$, $p=0,045$) dok je koncentracija RAGE u urinu i dalje značajno pozitivno korelirala s omjerom albumina i kreatinina u urinu ($\tau=0,298$, $p<0,001$) i nanovo s C4 komponentom komplementa ($\tau=0,173$, $p=0,028$). Isto tako, za izdvojiti je da je serumska koncentracija RAGE na početku bolesti bila značajno viša nego u razdoblju nakon šest mjeseci što implicira moguću ulogu u praćenju aktivnosti bolesti te ju dodatno potvrđuje i rezultat logističke regresije. Nakon provedene regresijske analize značajne razlike među oboljelom djecom nije bilo ovisno o nefritisu, stoga RAGE prema ovom istraživanju nije prediktor pojavnosti nefritisa u IgAV-u, a objašnjenje zašto je tome tako je zasigurno dijelom i zbog malog broja djece koja u ovom istraživanju imaju nefritis.

Koncentracija PCDH1 u serumu i urinu na početku bolesti bila je značajno veća u djece s IgAV-om nego u kontrolne skupine te je ostala značajno povišena i u razdoblju

rekonvalescencije, odnosno nakon šest mjeseci praćenja. ROC analiza je precizno izdvojila koncentracije u serumu i urinu pri kojima PCDH1 može detektirati pojavnost IgAV u odnosu na kontrolnu skupinu djece. Poznato je da PCDH1 sudjeluje u održavanju međustaničnih spojeva i da daje elastičnost epitelnim tkivima. Do sada nije ispitivan u autoimunim reumatskim bolestima i može se samo nagađati ima li ulogu u patogenezi upalnih reumatskih bolesti, i ako da, koju. Općenito, malo je radova koji opisuju ulogu PCDH1 u ljudi. Do sada je istraživana u alergijskim bolestima poput atopijskog dermatitisa i astme u kojem je dokazana njegova disfunkcija što dovodi do smanjene adhezivne sile između epitelних stanica dišnog sustava i time slabije zaštitne funkcije (229, 232, 234, 235). Čini se da PCDH1 vezanjem za signalnu molekulu SMAD3 suprimira TGF- β signalni put (229). Interakcija SMAD3 i TGF- β aktivna je u određenim autoimunim bolestima, a posebice je opisana u sistemskoj sklerozi u kojoj TGF- β ima središnju ulogu jer potiče odlaganje kolagena, proliferaciju, migraciju i nakupljanje fibroblasta i mezenhimalnih stanica (267–269). Moglo bi se prema tome nagađati ima li možda PCDH1 kakvu ulogu u sprečavanju moguće fibroze. No, prerano je za donošenje takvih zaključaka, budući da nisu poznate ni uloge nekih strukturnih dijelova samog PCDH1 poput citoplazmatskih domena i PDZ domene za koju se zna da sudjeluje u različitim, još uvijek nerazjašnjenim signalnim putevima. S druge pak strane, aktivacija signalnog puta TGF- β /SMAD3 potrebna je za diferencijaciju regulatornih limfocita T važnih u održavanju imunotolerancije. Nakon vezanja s TGF- β , SMAD3 ulazi u jezgru gdje stupa u interakciju s transkripcijskim čimbenicima koji potiskuju stvaranje IL-2 i IFN- γ , a potiču transkripciju Foxp3, a i sam TGF- β potiče diferencijaciju regulacijskih T limfocita izravnim djelovanjem na Foxp3 (270–273). Budući da je smanjena razina regulacijskih T limfocita povezana s nastankom IgAV-a u djece, moguće je da je upravo to i objašnjenje na koji način bi PCDH1 mogao biti uključen u patogenezu IgAV-a (274–277). PCDH1 se u ovom istraživanju može izdvojiti kao mogući biomarker budući da ga logistička regresija izdvaja kao značajnog, a i nađene su i pozitivne korelacije. Serumski PCDH1 je na početku bolesti pozitivno korelirao s brojem trombocita ($\tau=0,218$, $p=0,003$), a ta je povezanost ostala i nakon šest mjeseci praćenja ($\tau=0,242$, $p=0,002$). Koncentracija PCDH1 u urinu značajno je pozitivno korelirala s omjerom albumina i kreatinina u urinu ($\tau=0,149$, $p=0,045$), što je ostalo prisutno i u razdoblju praćenja ($\tau=0,184$, $p=0,023$). Nadalje, koncentracija PCDH1 u serumu značajno je pozitivno bila povezana s nalazom mezangijske hipercelularnosti ($\tau=0,450$, $p=0,042$), a negativno s nalazom endokapilarne hipercelularnosti ($\tau= -0,478$, $p=0,030$) u bioptiranih bolesnika. Neka istraživanja pokazala su da je prisutnost mezangijske

hipercelularnosti (M1) u Oxfordskoj klasifikaciji čimbenik lošijeg ishoda nefritisa u djece s IgAV-om (128, 153), a slično je pokazano i za endokapilarnu hipercelularnost (151, 278). Ipak, unatoč opisanim mogućim povezanostima, logistička regresija, slično kao i za Gd-IgA1, ne izdvaja PCDH1 kao značajan za razlikovanje IgAV-a od kontrolne skupine, a nije niti prediktor pojavnosti nefritisa u ovom istraživanju.

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da je hipoteza kojom se vodilo ovo istraživanje jednim dijelom potvrđena budući da su serumske razine HMGB1 i PCDH1 te razine Gd-IgA1, HMGB1 i PCDH1 urinu bile značajno više u oboljele djece nego u kontrolnoj skupini. Prema hipotezi aktivnu bolest među njima mogao bi označavati jedino serumski HMGB1 koji se izdvaja značajnim i u razdoblju praćenja kao i nakon provedene regresijske analize. Serumski RAGE nije bio snižen kako je prvotno definirano u hipotezi i kako bi se očekivalo s obzirom na dosad najveći broj objavljenih rezultata u istraživanjima u reumatologiji te je ovim istraživanjem promijenjena ustaljena paradigma o isključivo inverznom odnosu HMGB1 i RAGE. Niti jedan od ispitivanih biomarkera nije se pokazao prediktorom pojavnosti nefritisa među djecom s IgAV-om niti je bio izravno pozitivno ili negativno povezan s PVAS. Treba napomenuti da je i ovaj negativan rezultat također znanstveno prihvatljiv jer usmjerava daljnja istraživanja o pronalaženju biomarkera nefritisa u IgAV-u u nekom drugom smjeru.

Neka od ograničenja koja su pratila ovo istraživanje, pa time sigurno i utjecala na rezultate, su učinak protuupalnih lijekova koji su u nekih bolesnika primijenjeni prije uključivanja u istraživanje, odnosno prije uzimanja bioloških uzoraka, potom neki laboratorijski nalazi nisu bili dostupni zbog tehničkih ograničenja što također može imati utjecaja na neke od rezultata. Nadalje, svako laboratorijsko testiranje u praktičnom radu ima svoju točnost i ograničenja pa tako i imunoenzimski testovi, a na rezultate istraživanja može utjecati i bilo koji od brojnih složenih koraka u tehničkom i metodološkom dijelu pokusa. Također broj djece s IgAV-om koja su razvila nefritis u ovom istraživanju relativno je malen stoga dobivene rezultate i opažene uzročno-posljedične povezanosti treba pažljivo tumačiti.

Znanstveni doprinos ove disertacije je što pridonosi razvoju biomarkera u području IgAV-a. Ovo istraživanje potvrdilo je neke ranije utvrđene povezanosti između ispitivanih biomarkera i različitih kliničkih, laboratorijskih i patoloških varijabli, za neke je nađena suprotna povezanost, a nađene su i nove povezanosti što je dobar temelj za nova istraživanja. Također ovim istraživanjem potvrdila se i potreba za otkrivanjem novih mjerljivih biomarkera u cilju bolje procjene aktivnosti bolesti i rizika za razvoj kroničnih oštećenja, napose nefritisa.

Čini se da je nekako najteže izdvojiti marker oštećenja koji bi ukazivao na nefritis, a koji jedini i ostaje kao kronična komplikacija IgAV-a koja zahtijeva, naravno, i terapijsku intervenciju, što potvrđuje neiscrpnu potrebu za budućim istraživanjima čiji rezultati mogu postati temeljem novih terapijskih pristupa, a bilo bi idealno kad bi navedene spoznaje postale primjenjive i u svakodnevnom kliničkom radu.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Koncentracija HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu te koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu statistički je značajno viša u djece s IgAV-om u odnosu na kontrolnu skupinu djece, pri čemu se HMGB1 u serumu te RAGE u serumu i urinu mogu izdvojiti kao prediktori pojavnosti IgAV-a.

2. Koncentracije HMGB1 i RAGE u serumu ostaju statistički značajno više u djece s IgAV-om i u razdoblju praćenja, odnosno nakon šest mjeseci u odnosu na kontrolnu skupinu djece i između samih bolesnika. To može ukazivati na nisku upalnu aktivnost ili oštećenje tkiva koje je preostalo unatoč kliničkoj remisiji, a navedene molekule imaju potencijal u praćenju aktivnosti bolesti i kliničkom praćenju djece s IgAV-om.

3. Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu u djece s IgAV-om ovisno o nefritisu. Iz navedenog proizlazi kako navedene molekule ne mogu poslužiti kao biljezi za detekciju nefritisa u IgAV-u. Time nije potvrđena hipoteza ovog istraživanja. Stoga pronalaženje odgovarajućeg biomarkera za nefritis ostaje izazov za buduća istraživanja. Do tada za praćenje bolesnika i dalje služe tradicionalni pokazatelji bubrežnog oštećenja, a to su eritrociturija i proteinurija te biopsija bubrega.

4. Gd-IgA1, RAGE i PCDH1 u serumu te HMGB1 u urinu prediktori su pojavnosti artritisa.

5. Koncentracije HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu značajno su pozitivno korelirale s omjerom albumina i kreatinina u urinu na početku bolesti i u razdoblju praćenja, a HMGB1 u urinu je također i značajno pozitivno korelirao s nalazom eritrociturije u sedimentu urina na početku bolesti i nakon šest mjeseci praćenja. Premda se ove molekule nisu pokazale kao prediktori nefritisa, imaju potencijal u njegovom praćenju s obzirom na to da je omjer albumina i kreatinina u urinu i nalaz sedimenta urina važan u donošenju odluke o biopsiji bubrega i terapiji.

6. Koncentracija HMGB1 u urinu u djece s IgAVN-om izmjerena šest mjeseci nakon početka bolesti, odnosno u razdoblju praćenja, bila je veća u usporedbi s djecom koja nisu razvila nefritis te je značajno pozitivno korelirala s ishodom nefritisa. Budući da će određeni broj

djece u sklopu IgAV-a razviti nefritis, ali od toga broja samo će manji dio imati perzistirajući nefritis s rizikom od razvoja kronične bubrežne bolesti, mjerenje koncentracije HMGB1 u urinu moglo bi imati potencijal u kliničkom praćenju bolesnika s nefritisom i donošenju terapijskih odluka.

7. Koncentracija PCDH1 u serumu značajno je pozitivno bila povezana s nalazom mezangijske hipercelularnosti, a negativno s nalazom endokapilarne hipercelularnosti u bioptiranih bolesnika. S obzirom na to da mezangijska i endokapilara hipercelularnost mogu biti pokazatelji lošijeg ishoda u bolesnika s nefritisom u sklopu IgAV-a, navedena molekula također bi mogla imati potencijal u praćenju bolesnika s nefritisom.

8. SAŽETAK

Uvod: IgA vaskulitis (IgAV) najčešći je vaskulitis dječje dobi, a obilježava ga sistemska upala u malim krvnim žilama. Obično je povoljnog ishoda, međutim moguće su akutne komplikacije s gastrointestinalnim manifestacijama i nefritis kao kronična, dugoročna komplikacija. Iako su u IgAV-u ispitivani različiti biomarkeri, patogeneza bolesti još uvijek nije poznata niti su poznati biomarkeri koji bi mogli ukazivati na aktivnu bolest i predvidjeti moguća oštećenja.

Ciljevi istraživanja: Ispitati koncentraciju Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu u djece s IgAV-om i u kontrolnih ispitanika te utvrditi postoji li povezanost s kliničkim značajkama, laboratorijskim nalazima, aktivnosti bolesti i predikcijom pojavnosti nefritisa u djece s IgAV-om.

Ispitanici i metode: Prospektivno istraživanje provedeno je u razdoblju od siječnja 2020. do listopada 2023., a uključilo je 86 djece s IgAV-om i 70 djece iz kontrolne skupine. Koncentracije Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu i urinu određene su imunoenzimskom (ELISA) metodom u akutnoj fazi bolesti i nakon šest mjeseci praćenja u djece s IgAV-om te jednokratno u kontrolnoj skupini.

Rezultati: Koncentracija HMGB1, RAGE i PCDH1 u serumu te koncentracija Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu su statistički značajno veće u djece s IgAV-om nego u kontrolnih ispitanika ($p < 0,001$). U djece s IgAV-om uočena je statistički značajna razlika u vrijednostima koncentracija HMGB1 (5573 pg/ml vs. 3477 pg/ml vs. 1088 pg/ml, $p < 0,001$) i RAGE (309 pg/ml vs. 302,4 pg/ml vs. 201,3 pg/ml, $p = 0,012$) u serumu na početku bolesti u usporedbi s koncentracijom izmjerenom nakon šest mjeseci praćenja te između kontrolne skupine. Regresijska analiza nije izdvojila nijedan od ispitivanih biomarkera kao prediktor nefritisa. Koncentracije Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 u urinu su pozitivno korelirale s omjerom albumina i kreatinina u urinu na početku bolesti, a HMGB1, RAGE i PCDH1 i u razdoblju praćenja. Serumna koncentracija RAGE značajno je pozitivno korelirala s koštano-mišićnim manifestacijama IgAV-a ($\tau = 0,185$, $p = 0,030$), kao i PCDH1 u urinu ($\tau = 0,238$, $p = 0,012$). Logistička regresija izdvojila je serumski Gd-IgA1 (CI 0,943-0,982, $p = 0,028$), RAGE (CI 0,983-0,998, $p = 0,026$) i PCDH1 (CI 1,021-1,137, $p = 0,012$) te HMGB1 u urinu (CI 1,000-1,002, $p = 0,026$) kao prediktore pojavnosti artritisa. Koncentracija HMGB1 u urinu značajno je pozitivno korelirala s ishodom nefritisa ($\tau = 0,287$, $p = 0,044$). Koncentracija

PCDH1 u serumu značajno je pozitivno bila povezana s nalazom mezangijske hipercelularnosti ($\tau=0,450$, $p=0,042$), a negativno s nalazom endokapilarne hipercelularnosti ($\tau= -0,478$, $p=0,030$) u bioptiranih bolesnika.

Zaključak: Dobiveni rezultati upućuju na moguću povezanost Gd-IgA1, HMGB1, RAGE i PCDH1 s IgAV-om pri čemu HMGB1 i RAGE pokazuju povišene vrijednosti tijekom praćenja te bi mogli biti pokazatelj aktivnosti bolesti. Ispitivani biomarkeri u ovom istraživanju nisu bili prediktori pojavnosti nefritisa, najvažnije dugoročne komplikacije IgAV-a. Međutim, HMGB1 i PCDH1 mogu imati potencijal u praćenju bolesnika koji su razvili nefritis zbog pozitivne povezanosti s ishodom nefritisa odnosno s nalazom bioptata bubrega.

9. SUMMARY

Analysis of HMGB1, RAGE, PCDH1 and Gd-IgA1 in patients with IgA vasculitis, Martina Held, 2024.

Introduction: IgA vasculitis (IgAV) is the most common childhood vasculitis characterized by systemic inflammation of small blood vessels. It usually has a favorable outcome, however, acute complications with gastrointestinal manifestations and nephritis as chronic, long term complication are possible. Although various biomarkers have been investigated in IgAV, the pathogenesis of the disease is not elucidated yet, nor are known biomarkers that could indicate active disease and predict possible damage.

Objectives: To examine the concentrations of Gd-IgA1, HMGB1, RAGE and PCDH1 in serum and urine in children with IgAV and in control subjects and to determine whether there is an association with clinical features, laboratory findings, disease activity and prediction of nephritis in children with IgAV.

Subjects and methods: A prospective study was conducted in the period from January 2020 until October 2023, and included 86 children with IgAV and 70 children from the control group. Concentrations of Gd-IgA1, HMGB1, RAGE and PCDH1 in serum and urine were determined by immunoenzymatic (ELISA) method in the acute phase of the disease and after six months follow up interval in children with IgAV and once in the control group.

Results: Concentrations of HMGB1, RAGE and PCDH1 in sera and concentrations of Gd-IgA1, HMGB1, RAGE and PCDH1 in urine were statistically significantly higher in children with IgAV than in the control group ($p < 0.001$). In children with IgAV, a statistically significant difference was observed in concentrations of HMGB1 (5573 pg/mL vs. 3477 pg/mL vs. 1088 pg/mL, $p < 0.001$) and RAGE (309 pg/mL vs. 302.4 pg/mL vs. 201.3 pg/mL, $p = 0.012$) in sera at the onset of the disease compared to the concentration measured after six months follow up and between the control group. Regression analysis didn't reveal any of investigated biomarkers as a predictor of nephritis. Concentrations of Gd-IgA1, HMGB1, RAGE and PCDH1 in urine positively correlated with the urine albumine to creatinine ratio at the onset of the disease, and HMGB1, RAGE and PCDH1 in the follow up interval. Serum RAGE were significantly positively correlated with musculoskeletal manifestations of IgAV ($\tau = 0.185$, $p = 0.030$), as well as urinary PCDH1 ($\tau = 0.238$, $p = 0.012$). Logistic regression distinguished serum Gd-IgA1 (CI 0.943-0.982, $p = 0.028$), RAGE (CI 0.983-0.998, $p = 0.026$) and PCDH1 (CI 1.021-1.137, $p = 0.012$) and urinary HMGB1 (CI 1.000-1.002, $p = 0.026$) as

predictors of the incidence of arthritis. Concentration of HMGB1 in urine was significantly positively correlated with the outcome of nephritis ($\tau=0.287$, $p=0.044$). Concentration of PCDH1 in the serum was significantly positively correlated with the finding of mesangial hypercellularity ($\tau=0.450$, $p=0.042$) and negatively with the finding of mesangial hypercellularity ($\tau= -0.478$, $p=0.030$) in biopsied patients.

Conclusion: Results imply a possible association of Gd-IgA1, HMGB1, RAGE and PCDH1 with IgAV, whereby HMGB1 and RAGE show elevated values during the disease follow up and could be an indicator of disease activity. The investigated biomarkers in this study were not predictors of the occurrence of nephritis, the most important long term complication of IgAV. However, HMGB1 and PCDH1 could have a potential role in the follow up of patients with nephritis due to a positive association with the outcome of nephritis and with the renal biopsy findings.

10. LITERATURA

1. Brogan P, Nott KA. Immune complex small-vessel vasculitis: IgA vasculitis (Henoch-Schonlein) and hypersensitivity vasculitis. U: Textbook of Pediatric Rheumatology. 2021. str. 456–64.
2. Jelusic M, Sestan M, Giani T, Cimaz R. New insights and challenges associated with IgA vasculitis and IgA vasculitis with nephritis - is it time to change the paradigm of the most common systemic vasculitis in childhood? *Front Pediatr.* 2022;10:853724.
3. Trnka P. Henoch-Schönlein purpura in children. *J Paediatr Child Health.* 2013;49(12):995–1003.
4. González LM, Janniger CK, Schwartz RA. Pediatric Henoch-Schönlein purpura. *Int J Dermatol.* 2009;48(11):1157–65.
5. Oni L, Sampath S. Childhood IgA vasculitis (Henoch Schonlein purpura)-advances and knowledge gaps. *Front Pediatr.* 2019;7:257–66.
6. Pillebout E, Sunderkötter C. IgA vasculitis. *Semin Immunopathol.* 2021;43(5):729–38.
7. Ozen S, Pistorio A, Iusan SM, Bakkaloglu A, Herlin T, Brik R i sur. EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schönlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener granulomatosis and childhood Takayasu arteritis: Ankara 2008. Part II: Final classification criteria. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(5):798–806.
8. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F i sur. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013;65:1–11.
9. Rook A. William Heberden's cases of anaphylactoid purpura. *Arch Dis Child.* 1958;33(169):271.
10. Gardner-Medwin JM, Dolezalova P, Cummins C, Southwood TR. Incidence of Henoch-Schonlein purpura, Kawasaki disease, and rare vasculitides in children of different ethnic origins. *Lancet.* 2002;360(9341):1197–202.
11. Piram M, Maldini C, Biscardi S, De Suremain N, Orzechowski C, Georget E i sur. Incidence of IgA vasculitis in children estimated by four-source capture-recapture analysis: a population-based study. *Rheumatology (Oxford).* 2017;56(8):1358–66.
12. Piram M, Mahr A. Epidemiology of immunoglobulin A vasculitis (Henoch–Schönlein): current state of knowledge. *Curr Opin Rheumatol.* 2013;25(2):171–8.
13. Sapina M, Frkovic M, Sestan M, Srsen S, Ovuka A, Batnozic Varga M i sur. Geospatial clustering of childhood IgA vasculitis and IgA vasculitis-associated nephritis. *Ann Rheum Dis.* 2021;80(5):610–6.
14. Ostini A, Simonetti GD, Pellanda G, Bianchetti MG, Ferrarini A, Milani GP. Familial Henoch-Schönlein syndrome. *J Clin Rheumatol.* 2016;22(2):80–1.

15. Zhang Y, Gu W, Mao J. Sibling cases of Henoch–Schönlein purpura in two families and review of literature. *Pediatr Dermatol*. 2008;25(3):393–5.
16. Motoyama O, Iitaka K. Familial cases of Henoch-Schonlein purpura in eight families. *Pediatr Int*. 2005;47(6):612–5.
17. López-Mejías R, Carmona FD, Castañeda S, Genre F, Remuzgo-Martínez S, Sevilla-Perez B i sur. A genome-wide association study suggests the HLA class II region as the major susceptibility locus for IgA vasculitis. *Sci Rep*. 2017;7(1):5088.
18. Koskela M, Nihtilä J, Ylinen E, Kolho KL, Nuutinen M, Ritari J i sur. HLA-DQ and HLA-DRB1 alleles associated with Henoch-Schönlein purpura nephritis in Finnish pediatric population: a genome-wide association study. *Pediatr Nephrol*. 2021;36:2311–8.
19. Xia L, Chen M, Zhang H, Zheng X, Bao J, Gao J i sur. Genome-wide association study of 7661 Chinese Han individuals and fine-mapping major histocompatibility complex identifies HLA-DRB1 as associated with IgA vasculitis. *J Clin Lab Anal*. 2022;36(6):e24457.
20. López-Mejías R, Castañeda S, Genre F, Remuzgo-Martínez S, Carmona FD, Llorca J i sur. Genetics of immunoglobulin-A vasculitis (Henoch-Schönlein purpura): an updated review. *Autoimmun Rev*. 2018;17(3):301–15.
21. Jelusic M, Sestan M. IgA vasculitis or Henoch-Schönlein purpura: genetics and beyond. *Pediatr Nephrol*. 2021;36:2149–53.
22. Gershoni-Baruch R, Broza Y, Brik R. Prevalence and significance of mutations in the familial Mediterranean fever gene in Henoch-Schönlein purpura. *J Pediatr*. 2003;143(5):658–61.
23. Balcı-Peynircioğlu B, Kaya-Akça Ü, Arıcı ZS, Avcı E, Akkaya-Ulum ZY, Karadağ Ö i sur. Comorbidities in familial Mediterranean fever: analysis of 2000 genetically confirmed patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2020;59(6):1372–80.
24. Altug U, Ensar C, Sayin DB, Ensari A. MEFV gene mutations in Henoch-Schönlein purpura. *Int J Rheum Dis*. 2013;16(3):347–51.
25. Abbara S, Grateau G, Ducharme-Bénard S, Saadoun D, Georgin-Lavialle S. Association of vasculitis and familial mediterranean fever. *Front Immunol*. 2019;10:763.
26. Batu E, Sarı A, Erden A, Sönmez H, Armağan B, Kalyoncu U i sur. Comparing immunoglobulin A vasculitis (Henoch-Schönlein purpura) in children and adults: a single-centre study from Turkey. *Scand J Rheumatol*. 2018;47(6):481–6.
27. López-Mejías R, Genre F, Pérez BS, Castañeda S, Ortego-Centeno N, Llorca J i sur. HLA-DRB1 association with IgA vasculitis (Henoch-Schönlein). *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(3):823–7.

28. Amoli M, Thomson W, Hajeer A, Calviño M, Garcia-Porrúa C, Ollier W i sur. HLA-DRB1*01 association with Henoch-Schonlein purpura in patients from Northwest Spain. *J Rheumatol.* 2001;28(6):1266–70.
29. Amoroso A, Berrino M, Canale L, Coppo R, Cornaglia M, Guarrera S i sur. Immunogenetics of Henoch-Schoenlein disease. *Eur J Immunogenet.* 1997;24(5):323–33.
30. Held M, Stingl Jankovic K, Sestan M, Sapina M, Kifer N, Srsen S i sur. HLA polymorphisms and clinical manifestations in IgA vasculitis. *Int J Mol Sci.* 2024;25(2):882.
31. Peru H, Soylemezoglu O, Gonen S, Cetinyurek A, Bakkaloğlu SA, Buyan N i sur. HLA class 1 associations in Henoch Schonlein purpura: increased and decreased frequencies. *Clin Rheumatol.* 2008;27(1):5–10.
32. Amoli MM, Thomson W, Hajeer AH, Calvino MC, Garcia-Porrúa C, Ollier WER i sur. HLA-B35 association with nephritis in Henoch-Schönlein purpura. *J Rheumatol.* 2002;29(5):948–9.
33. López-Mejías R, Genre F, Sevilla Pérez B, Castañeda S, Ortego-Centeno N, Llorca J i sur. Association of HLA-B*41:02 with Henoch-Schönlein purpura (IgA vasculitis) in Spanish individuals irrespective of the HLA-DRB1 status. *Arthritis Res Ther.* 2015;17(1):102.
34. Østergaard JR, Storm K, Lamm LU. Lack of association between HLA and Schoenlein-Henoch Purpura. *Tissue Antigens.* 1990;35(5):234–5.
35. Luo S, Liang G, Zhang P, Zhao M, Lu Q. Aberrant histone modifications in peripheral blood mononuclear cells from patients with Henoch–Schönlein purpura. *Clin Immunol.* 2013;146(3):165–75.
36. Sugino H, Sawada Y, Nakamura M. IgA vasculitis: etiology, treatment, biomarkers and epigenetic changes. *Int J Mol Sci.* 2021;22(14):7538.
37. Batu ED, Sener S, Ozomay Baykal G, Arslanoglu Aydin E, Özdel S, Gagro A i sur. The characteristics of patients with COVID19–associated pediatric vasculitis: an International, multicenter study. *Arthritis Rheumatol.* 2023;75(4):499–506.
38. Rasmussen C, Tisseyre M, Garon-Czmil J, Atzenhoffer M, Guillevin L, Salem JE i sur. Drug-induced IgA vasculitis in children and adults: revisiting drug causality using a dual pharmacovigilance-based approach. *Autoimmun Rev.* 2021;20(1):102707.
39. Rolle AS, Zimmermann B, Poon SH. Etanercept-induced Henoch-Schönlein purpura in a patient with ankylosing spondylitis. *J Clin Rheumatol.* 2013;19(2):90–3.
40. Lee A, Kasama R, Evangelisto A, Elfenbein B, Falasca G. Henoch-Schönlein purpura after etanercept therapy for psoriasis. *J Clin Rheumatol.* 2006;12(5):249–51.
41. Rasmussen C, Abitbol V, El Karoui K, Bourrier A, Paule R, Vuitton L i sur. IgA vasculitis in patients with inflammatory bowel disease: new insights into the role of TNF- α blockers. *Rheumatology (Oxford).* 2022;61(5):1957–65.

42. Reverte M, Etienne M, Fouchard M, Doucet L, Brenaut E, Misery L. Occurrence of Henoch-Schönlein purpura in a patient treated with secukinumab. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(12):455–7.
43. Perkovic D, Simac P, Katic J. IgA vasculitis during secukinumab therapy. *Clin Rheumatol*. 2021;40(5):2071–3.
44. Ozince RB, Ak T, Erzin YZ, Melikoglu M, Seyahi E. Secukinumab-induced IgA vasculitis in a patient with psoriatic arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2023;26(9):1811–5.
45. Pertuiset E, Lioté F, Launay-Russ E, Kemiche F, Cerf-Payrastre I, Chesneau AM. Adult Henoch-Schönlein purpura associated with malignancy. *Semin Arthritis Rheum*. 2000;29(6):360–7.
46. Mitsui H, Shibagaki N, Kawamura T, Matsue H, Shimada S. A clinical study of Henoch-Schönlein purpura associated with malignancy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23(4):394–401.
47. Hankard A, Michot JM, Terrier B, Brihaye B, Chanal J, Combe C i sur. New insights on IgA vasculitis with underlying solid tumor: a nationwide French study of 30 patients. *Clin Rheumatol*. 2021;40(5):1933–40.
48. Woof JM, Russell MW. Structure and function relationships in IgA. *Mucosal Immunol*. 2011;4(6):590–7.
49. Vattepu R, Sneed SL, Anthony RM. Sialylation as an important regulator of antibody function. *Front Immunol*. 2022;13:818736.
50. Xiang T, Qiao M, Xie J, Li Z, Xie H. Emerging roles of the unique molecular chaperone Cosmc in the regulation of health and disease. *Biomolecules*. 2022;12(12):1732–51.
51. Ju T, Cummings RD. A unique molecular chaperone Cosmc required for activity of the mammalian core 1 β 3-galactosyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(26):16613–8.
52. Ding L, Chen X, Cheng H, Zhang T, Li Z. Advances in IgA glycosylation and its correlation with diseases. *Front Chem*. 2022;10:974854.
53. Gale DP, Molyneux K, Wimbury D, Higgins P, Levine AP, Caplin B i sur. Galactosylation of IgA1 is associated with common variation in C1GALT1. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(7):2158–66.
54. An JD, Lü Q, Zhao HT, Cao Y, Yan B, Ma Z. A study on the association between C1GALT1 polymorphisms and the risk of Henoch-Schönlein purpura in a Chinese population. *Rheumatol Int*. 2013;33(10):2539–42.
55. He X, Zhao P, Kang S, Ding Y, Luan J, Liu Z i sur. C1GALT1 polymorphisms are associated with Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Pediatr Nephrol*. 2012;27(9):1505–9.
56. Monteiro RC, van de Winkel J. IgA Fc receptors. *Annu Rev Immunol*. 2003;21(1):177–204.

57. Pasquier B, Lepelletier Y, Baude C, Hermine O, Monteiro RC. Differential expression and function of IgA receptors (CD89 and CD71) during maturation of dendritic cells. *J Leukoc Biol.* 2004;76(6):1134–41.
58. Heineke MH, Ballering AV, Jamin A, Ben Mkaddem S, Monteiro RC, Van Egmond M. New insights in the pathogenesis of immunoglobulin A vasculitis (Henoch-Schönlein purpura). *Autoimmun Rev.* 2017;16(12):1246–53.
59. Moura IC, Centelles MN, Arcos-Fajardo M, Malheiros DM, Collawn JF, Cooper MD i sur. Identification of the transferrin receptor as a novel immunoglobulin IgA1 receptor and its enhanced expression on mesangial cells in IgA nephropathy. *J Exp Med.* 2001;194(4):417–26.
60. Song Y, Huang X, Yu G, Qiao J, Cheng J, Wu J i sur. Pathogenesis of IgA vasculitis: an up-to-date review. *Front Immunol.* 2021;12:771619.
61. Suzuki H, Moldoveanu Z, Julian BA, Wyatt RJ, Novak J. Autoantibodies specific for galactose-deficient IgA1 in IgA vasculitis with nephritis. *Kidney Int Rep.* 2019;4(12):1717–24.
62. Yamada K, Kobayashi N, Ikeda T, Suzuki Y, Tsuge T, Horikoshi S i sur. Down-regulation of core 1 1,3-galactosyltransferase and Cosmc by Th2 cytokine alters O-glycosylation of IgA1. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(12):3890–7.
63. Suzuki H, Raska M, Yamada K, Moldoveanu Z, Julian BA, Wyatt RJ i sur. Cytokines alter IgA1 O-glycosylation by dysregulating C1GalT1 and ST6GalNAc-II enzymes. *J Biol Chem.* 2014;289(8):5330–9.
64. Senior BW, Woof JM. The influences of hinge length and composition on the susceptibility of human IgA to cleavage by diverse bacterial IgA1 proteases. *J Immunol.* 2005;174(12):7792–9.
65. Neufeld M, Molyneux K, Pappelbaum KI, Mayer-Hain S, von Hodenberg C, Ehrchen J i sur. Galactose-deficient IgA1 in skin and serum from patients with skin-limited and systemic IgA vasculitis. *J Am Acad Dermatol.* 2019;81(5):1078–85.
66. Tang M, Zhang X, Li X, Lei L, Zhang H, Ling C i sur. Serum levels of galactose-deficient IgA1 in Chinese children with IgA nephropathy, IgA vasculitis with nephritis, and IgA vasculitis. *Clin Exp Nephrol.* 2021;25(1):37–43.
67. Mizerska-Wasiak M, Gajewski Ł, Cichoń-Kawa K, Małydk J, Dziedzic-Jankowska K, Leszczyńska B i sur. Serum Gd-IgA1 levels in children with IgA nephropathy and Henoch-Schönlein nephritis. *Cent Eur J Immunol.* 2018;43(2):162–7.
68. Temme JS, Butler DL, Gildersleeve JC. Anti-glycan antibodies: roles in human disease. *Biochem J.* 2021;478(8):1485–509.
69. Suzuki H, Yasutake J, Makita Y, Tanbo Y, Yamasaki K, Sofue T i sur. IgA nephropathy and IgA vasculitis with nephritis have a shared feature involving galactose-deficient IgA1-oriented pathogenesis. *Kidney Int.* 2018;93(3):700–5.

70. Zhang Q, Yan L, Chen M, Gui M, Lu L, Deng F i sur. IgA1 isolated from Henoch-Schönlein purpura children promotes proliferation of human mesangial cells in vitro. *Cell Biol Int*. 2019;43(7):760–9.
71. Haddad E, Moura IC, Arcos-Fajardo M, Macher MA, Baudouin V, Alberti C i sur. Enhanced expression of the CD71 mesangial IgA1 receptor in Berger disease and Henoch-Schönlein nephritis. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(2):327–37.
72. Lau KK, Suzuki H, Novak J, Wyatt RJ. Pathogenesis of Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(1):19–26.
73. Damman J, Mooyaart AL, van den Bosch TPP, Seelen MA, van Doorn MB. Lectin and alternative complement pathway activation in cutaneous manifestations of IgA-vasculitis: a new target for therapy? *Mol Immunol*. 2022;143:114–21.
74. Demir S, Yet I, Sardan Ekiz M, Sag E, Bilginer Y, Celikbicak O i sur. Plasma proteomic analysis reveals the potential role of lectin and alternative complement pathways in IgA vasculitis pathogenesis. *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(10):1729.
75. Hisano S, Matsushita M, Fujita T, Iwasaki H. Activation of the lectin complement pathway in Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Am J Kidney Dis*. 2005;45(2):295–302.
76. Yang YH, Tsai IJ, Chang CJ, Chuang YH, Hsu HY, Chiang BL. The interaction between circulating complement proteins and cutaneous microvascular endothelial cells in the development of childhood Henoch-Schönlein purpura. *PLoS One*. 2015;10(3):e0120411.
77. Ronda N, Leonardi S, Orlandini G, Gatti R, Bellosta S, Bernini F i sur. Natural anti-endothelial cell antibodies (AECA). *J Autoimmun*. 1999;13(1):121–7.
78. Ronda N, Haury M, Nobrega A, Kaveri SV, Coutinho A, Kazatchkine MD. Analysis of natural and disease-associated autoantibody repertoires: anti-endothelial cell IgG autoantibody activity in the serum of healthy individuals and patients with systemic lupus erythematosus. *Int Immunol*. 1994;6(11):1651–60.
79. Servettaz A, Guilpain P, Camoin L, Mayeux P, Broussard C, Tamby MC i sur. Identification of target antigens of antiendothelial cell antibodies in healthy individuals: a proteomic approach. *Proteomics*. 2008;8(5):1000–8.
80. Guilpain P, Mouthon L. Antiendothelial cells autoantibodies in vasculitis-associated systemic diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008;35(1–2):59–65.
81. Del Papa N, Guidali L, Sala A, Buccellati C, Khamashta MA, Ichikawa K i sur. Endothelial cells as target for antiphospholipid antibodies. Human polyclonal and monoclonal anti- β 2-glycoprotein I antibodies react in vitro with endothelial cells through adherent β 2-glycoprotein I and induce endothelial activation. *Arthritis Rheum*. 1997;40(3):551–61.
82. Yang YH, Wang SJ, Chuang YH, Lin YT, Chiang BL. The level of IgA antibodies to human umbilical vein endothelial cells can be enhanced by TNF- α treatment in children with Henoch-Schönlein purpura. *Clin Exp Immunol*. 2002;130(2):352–7.

83. Yang YH, Chang CJ, Chuang YH, Hsu HY, Yu HH, Lee JH i sur. Identification and characterization of IgA antibodies against β 2-glycoprotein I in childhood Henoch-Schönlein purpura. *Br J Dermatol*. 2012;167(4):874–81.
84. Gok F, Ugur Y, Ozen S, Dagdeviren A. Pathogenesis-related adhesion molecules in Henoch-Schonlein vasculitis. *Rheumatol Int*. 2008;28(4):313–6.
85. Yang YH, Huang YH, Lin YL, Wang LC, Chuang YH, Yu HH i sur. Circulating IgA from acute stage of childhood Henoch-Schönlein purpura can enhance endothelial interleukin (IL)-8 production through MEK/ERK signalling pathway. *Clin Exp Immunol*. 2006;144(2):247–53.
86. Yang YH, Lai HJ, Huang CM, Wang LC, Lin YT, Chiang BL. Sera from children with active Henoch-Schonlein purpura can enhance the production of interleukin 8 by human umbilical venous endothelial cells. *Ann Rheum Dis*. 2004;63(11):1511–3.
87. Chen XQ, Tu L, Tang Q, Huang L, Qin YH. An emerging role for neutrophil extracellular traps in IgA vasculitis: a mini-review. *Front Immunol*. 2022;13:912929.
88. Pillebout E, Jamin A, Ayari H, Housset P, Pierre M, Sauvaget V i sur. Biomarkers of IgA vasculitis nephritis in children. *PLoS One*. 2017;12(11):e0188718.
89. Wang B, Shao-Kuan FR, Dong C. Expression and significance of follicular helper T cells and galactose-deficient IgA1 in children with Henoch-Schönlein purpura. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2020;22(5):473–7.
90. Mizerska-Wasiak M, Gajewski Ł, Cichoń-Kawa K, Siejko A, Małydk J, Splawa-Neyman A i sur. Relationship between Gd-IgA1 and TNFR1 in IgA nephropathy and IgA vasculitis nephritis in children – multicenter study. *Cent Eur J Immunol*. 2021;46(2):199–209.
91. Kang ZJ, Liu B, Li ZH, Duan CR, Wu TH, Xun M i sur. Value of galactose-deficient IgA1 in the early diagnosis of Henoch-Schönlein purpura nephritis in children. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* . 2019;21(2):172–5.
92. Lau KK, Wyatt RJ, Moldoveanu Z, Tomana M, Julian BA, Hogg RJ i sur. Serum levels of galactose-deficient IgA in children with IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Nephrol*. 2007;22(12):2067–72.
93. Fujieda M, Oishi N, Naruse K, Hashizume M, Nishiya K, Kurashige T i sur. Soluble thrombomodulin and antibodies to bovine glomerular endothelial cells in patients with Henoch-Schonlein purpura. *Arch Dis Child*. 1998;78(3):240–4.
94. Du L, Wang P, Liu C, Li S, Yue S, Yang Y. Multisystemic manifestations of IgA vasculitis. *Clin Rheumatol*. 2021;40(1):43–52.
95. Belli AA, Dervis E. The correlation between cutaneous IgM deposition and renal involvement in adult patients with Henoch-Schönlein purpura. *Eur J Dermatol*. 2014;24(1):81–4.

96. Sestan M, Srsen S, Kifer N, Sapina M, Batnozić Varga M, Ovuka A i sur. Persistence and severity of cutaneous manifestations in IgA vasculitis is associated with development of IgA vasculitis nephritis in children. *Dermatology*. 2022;238(2):340–6.
97. Held M, Šestan M, Grgurić D, Kifer N, Vidović A, Frković M i sur. Association between cutaneous manifestations and clinical features of IgA vasculitis. *Reumatizam*. 2023;69(1):14–23.
98. Ozen S, Marks SD, Brogan P, Groot N, de Graeff N, Avcin T i sur. European consensus-based recommendations for diagnosis and treatment of immunoglobulin A vasculitis-the SHARE initiative. *Rheumatology (Oxford)*. 2019;58(9):1607–16.
99. Sestan M, Kifer N, Frković M, Sapina M, Srsen S, Batnozić Varga M i sur. Gastrointestinal involvement and its association with the risk for nephritis in IgA vasculitis. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2021;13:1759720X211024828.
100. St. John J, Vedak P, Garza-Mayers AC, Hoang MP, Nigwekar SU, Kroshinsky D. Location of skin lesions in Henoch-Schönlein purpura and its association with significant renal involvement. *J Am Acad Dermatol*. 2018;78(1):115–20.
101. Johnson EF, Lehman JS, Wetter DA, Lohse CM, Tollefson MM. Henoch-Schönlein purpura and systemic disease in children: retrospective study of clinical findings, histopathology and direct immunofluorescence in 34 paediatric patients. *Br J Dermatol*. 2015;172(5):1358–63.
102. Sestan M, Kifer N, Sozeri B, Demir F, Ulu K, Silva CA i sur. Clinical features, treatment and outcome of pediatric patients with severe cutaneous manifestations in IgA vasculitis: multicenter international study. *Semin Arthritis Rheum*. 2023;61:152209.
103. Wang X, Zhu Y, Gao L, Wei S, Zhen Y, Ma Q. Henoch-Schönlein purpura with joint involvement: analysis of 71 cases. *Pediatr Rheumatol*. 2016;14(1):20.
104. Calviño MC, Llorca J, García-Porrúa C, Fernández-Iglesias JL, Rodríguez-Ledo P, González-Gay MA. Henoch-Schönlein purpura in children from Northwestern Spain. *Medicine (Baltimore)*. 2001;80(5):279–90.
105. Trapani S, Micheli A, Grisolia F, Resti M, Chiappini E, Falcini F i sur. Henoch Schonlein purpura in childhood: epidemiological and clinical analysis of 150 cases over a 5-year period and review of literature. *Semin Arthritis Rheum*. 2005;35(3):143–53.
106. García-Porrúa C, Calviño MC, Llorca J, Couselo JM, González-Gay MA. Henoch-Schönlein purpura in children and adults: clinical differences in a defined population. *Semin Arthritis Rheum*. 2002;32(3):149–56.
107. Fretzayas A, Sionti I, Moustaki M, Papadimitriou A, Nicolaidou P. Henoch-Schönlein purpura: a long-term prospective study in Greek children. *J Clin Rheumatol*. 2008;14(6):324–31.
108. Ebert EC. Gastrointestinal manifestations of Henoch-Schonlein purpura. *Dig Dis Sci*. 2008;53(8):2011–9.

109. Chang WL, Yang YH, Lin YT, Chiang BL. Gastrointestinal manifestations in Henoch-Schönlein purpura: a review of 261 patients. *Acta Paediatr.* 2004;93(11):1427–31.
110. Choong CK, Beasley SW. Intra-abdominal manifestations of Henoch-Schönlein purpura. *J Paediatr Child Health.* 1998;34(5):405–9.
111. Katz S, Borst M, Seekri I, Grosfeld JL. Surgical evaluation of Henoch-Schönlein purpura. Experience with 110 children. *Arch Surg.* 1991;126(7):849–53.
112. Rubino C, Monacelli C, Marrani E, Paci M, Indolfi G, Simonini G i sur. Gastrointestinal involvement in IgA vasculitis: a single-center 11-year study on a cohort of 118 children. *Clin Rheumatol.* 2021;40(12):5041–6.
113. Held M, Šestan M, Kifer N, Grgurić D, Mudri S, Frković M i sur. Clinical and laboratory features of IgA vasculitis with gastrointestinal involvement: a 12-year experience of the Referral Centre for Paediatric and Adolescent Rheumatology of the Republic of Croatia. *Reumatizam.* 2022;68(1):21–31.
114. Hong J, Yang HR. Laboratory markers indicating gastrointestinal involvement of Henoch-Schönlein purpura in children. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2015;18(1):39–47.
115. Makay B, Gücenmez ÖA, Duman M, Ünsal E. The relationship of neutrophil-to-lymphocyte ratio with gastrointestinal bleeding in Henoch-Schönlein purpura. *Rheumatol Int.* 2014;34(9):1323–7.
116. Ekinçi RMK, Balci S, Melek E, Karabay Bayazit A, Dogruel D, Altintas DU i sur. Clinical manifestations and outcomes of 420 children with Henoch Schönlein purpura from a single referral center from Turkey: a three-year experience. *Mod Rheumatol.* 2020;30(6):1039–46.
117. Karadağ ŞG, Tanatar A, Sönmez HE, Çakmak F, Kıyak A, Yavuz S i sur. The clinical spectrum of Henoch-Schönlein purpura in children: a single-center study. *Clin Rheumatol.* 2019;38(6):1707–14.
118. Zhang Q, Guo Q, Gui M, Ren Z, Hu B, Lu L i sur. Henoch-Schönlein purpura with acute pancreatitis: analysis of 13 cases. *BMC Pediatr.* 2018;18(1):159.
119. Helbling R, Lava SA, Simonetti GD, Camozzi P, Bianchetti MG, Milani GP. Gallbladder and pancreas in Henoch-Schönlein purpura. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016;62(3):457–61.
120. Čekada N, Šestan M, Held M, Frković M, Sršen S, Vrljićak K i sur. Henoch-Schönlein purpura nephritis in children: experience of the two tertiary care centers for pediatric and adolescent rheumatology of the Republic of Croatia from 2006 to 2017. *Liječ Vjesn.* 2019;141(56):115–23.
121. Sano H, Izumida M, Shimizu H, Ogawa Y. Risk factors of renal involvement and significant proteinuria in Henoch-Schönlein purpura. *Eur J Pediatr.* 2002;161(4):196–201.

122. Shin JI, Park JM, Shin YH, Hwang DH, Kim JH, Lee JS. Predictive factors for nephritis, relapse, and significant proteinuria in childhood Henoch–Schönlein purpura. *Scand J Rheumatol*. 2006;35(1):56–60.
123. Chan H, Tang YL, Lv XH, Zhang GF, Wang M, Yang HP i sur. Risk factors associated with renal involvement in childhood Henoch-Schönlein purpura: a meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11(11):e0167346.
124. Rigante D, Candelli M, Federico G, Bartolozzi F, Porri MG, Stabile A. Predictive factors of renal involvement or relapsing disease in children with Henoch-Schonlein purpura. *Rheumatol Int*. 2005;25(1):45–8.
125. Zhao YL, Liu ZJ, Bai XM, Wang YC, Li GH, Yan XY. Obesity increases the risk of renal involvement in children with Henoch-Schönlein purpura. *Eur J Pediatr*. 2015;174(10):1357–63.
126. Dundar HA, Pektanc M, Bayram MT, Soylu A, Kavukcu S. Obesity is associated with severe clinical course in children with Henoch-Schonlein purpura. *Pediatr Nephrol*. 2020;35(12):2327–33.
127. Stewart M, Savage JM, Bell B, McCord B. Long term renal prognosis of Henoch-Schonlein purpura in an unselected childhood population. *Eur J Pediatr*. 1988;147(2):113–5.
128. Kifer N, Bulimbasic S, Sestan M, Held M, Kifer D, Srsen S i sur. Semiquantitative classification (SQC) and Oxford classifications predict poor renal outcome better than The International Study of Kidney Disease in Children (ISKDC) and Haas in patients with IgAV nephritis: a multicenter study. *J Nephrol*. 2023;36(2):441–9.
129. Narchi H. Risk of long term renal impairment and duration of follow up recommended for Henoch-Schonlein purpura with normal or minimal urinary findings: a systematic review. *Arch Dis Child*. 2005;90(9):916–20.
130. Hu JJ, Zhao YW, Wen R, Luo YY, Zhou WG, Liu YH i sur. Immunoglobulin A vasculitis with testicular/epididymal involvement in children: a retrospective study of a ten-year period. *Front Pediatr*. 2023;11:1141118.
131. Buscatti IM, Abrão HM, Kozu K, Marques VL, Gomes RC, Sallum AME i sur. Characterization of scrotal involvement in children and adolescents with IgA vasculitis. *Adv Rheumatol*. 2018;58(1):38–42.
132. Sunar Yayla EN, Bakkaloğlu SA. Clinical features of paediatric immunoglobulin A vasculitis patients with scrotal involvement. *Mod Rheumatol*. 2023;33(5):1016–20.
133. Garzoni L, Vanoni F, Rizzi M, Simonetti GD, Simonetti BG, Ramelli GP i sur. Nervous system dysfunction in Henoch-Schonlein syndrome: systematic review of the literature. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48(12):1524–9.
134. Østergaard J, Storm K. Neurologic manifestations of Schönlein-Henoch purpura. *Acta Paediatr Scand*. 1991;80(3):339–42.

135. Liu A, Zhang H. Detection of antiphospholipid antibody in children with Henoch-Schönlein purpura and central nervous system involvement. *Pediatr Neurol.* 2012;47(3):167–70.
136. Cazzato S, Bernardi F, Cinti C, Tassinari D, Canzi A, Bergamaschi R i sur. Pulmonary function abnormalities in children with Henoch-Schonlein purpura. *Eur Respir J.* 1999;13(3):597–601.
137. Ding Y, Zhou Y, Li HR, Xiong YH, Yin W, Zhao L. Characteristics of immune function in the acute phase of Henoch-Schönlein purpura. *Clin Rheumatol.* 2021;40(9):3711–6.
138. Pan Y, Ye Q, Shao W, Shang S, Mao J, Zhang T i sur. Relationship between immune parameters and organ involvement in children with Henoch-Schonlein purpura. *PLoS One.* 2014;9(12):e115261.
139. Ruan JW, Fan GZ, Niu MM, Jiang Q, Li RX, Qiu Z i sur. Serum immunoglobulin profiles in Chinese children with Henoch-Schönlein purpura. *Scand J Immunol.* 2022;96(3):e13191.
140. Paek EY, Yi DY, Kang B, Choe BH. Fecal calprotectin as a marker of gastrointestinal involvement in pediatric Henoch-Schönlein purpura patients: a retrospective analysis. *BMC Pediatr.* 2020;20(1):374.
141. Teng X, Gao C, Sun M, Wu J. Clinical significance of fecal calprotectin for the early diagnosis of abdominal type of Henoch-Schonlein purpura in children. *Clin Rheumatol.* 2018;37(6):1667–73.
142. Ge Y, Liu S. Ultrasound, X-ray, computed tomography and clinical tests for diagnosis of abdominal purpura in children: a retrospective study. *Exp Ther Med.* 2020;19(6):3559–64.
143. Couture A, Veyrac C, Baud C, Galifer RB, Armelin I. Evaluation of abdominal pain in Henoch-Schönlein syndrome by high frequency ultrasound. *Pediatr Radiol.* 1992;22(1):12–7.
144. Hu SC, Feeney MS, McNicholas M, O’Halpin D, Fitzgerald RJ. Ultrasonography to diagnose and exclude intussusception in Henoch-Schonlein purpura. *Arch Dis Child.* 1991;66(9):1065–7.
145. Koskela M, Ylinen E, Ukonmaanaho EM, Autio-Harmainen H, Heikkilä P, Lohi J i sur. The ISKDC classification and a new semiquantitative classification for predicting outcomes of Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Pediatr Nephrol.* 2017;32(7):1201–9.
146. Haas M. IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura nephritis. U: Jennette JC, Olson JC, Schwartz MM, Silva FG, editors. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins: Heptinstall’s Pathology of the Kidney; 2007. str. 423–86.
147. Xu K, Zhang L, Ding J, Wang S, Su B, Xiao H i sur. Value of the Oxford classification of IgA nephropathy in children with Henoch-Schönlein purpura nephritis. *J Nephrol.* 2018;31(2):279–86.

148. Jelusic M, Sestan M, Cimaz R, Ozen S. Different histological classifications for Henoch-Schönlein purpura nephritis: which one should be used? *Pediatr Rheumatol*. 2019;17(1):10.
149. Trimarchi H, Barratt J, Cattran DC, Cook HT, Coppo R, Haas M i sur. Oxford classification of IgA nephropathy 2016: an update from the IgA nephropathy classification working group. *Kidney Int*. 2017;91(5):1014–21.
150. Wang M, Wang R, He X, Zhang P, Kuang Q, Yao J i sur. Using MEST-C scores and the International Study of Kidney Disease in children classification to predict outcomes of Henoch-Schönlein purpura nephritis in children. *Front Pediatr*. 2021;9:658845.
151. Luo X, Tan J, Wan D, Chen J, Hu Y. Predictability of the Oxford classification of IgA nephropathy in Henoch-Schonlein purpura nephritis. *Int Urol Nephrol*. 2022;54(1):99–109.
152. Ho Kim C, Jin Lim B, Sung Bae Y, Eun Kwon Y, Ly Kim Y, Heon Nam K i sur. Using the Oxford classification of IgA nephropathy to predict long-term outcomes of Henoch–Schönlein purpura nephritis in adults. *Mod Pathol*. 2014;27(7):972–82.
153. Yun D, Kim DK, Oh KH, Joo KW, Moon KC, Kim YS i sur. MEST-C pathological score and long-term outcomes of child and adult patients with Henoch-Schönlein purpura nephritis. *BMC Nephrol*. 2020;21(1):33.
154. Roman C, Dima B, Muyshont L, Schurmans T, Gilliaux O. Indications and efficiency of dapsone in IgA vasculitis (Henoch-Schonlein purpura): case series and a review of the literature. *Eur J Pediatr*. 2019;178(8):1275–81.
155. Lee KH, Park JH, Kim DH, Hwang J, Lee G, Hyun JS i sur. Dapsone as a potential treatment option for Henoch-Schönlein purpura (HSP). *Med Hypotheses*. 2017;108:42–5.
156. Sais G, Vidaller A, Jucglà A, Gallardo F, Peyrí J. Colchicine in the treatment of cutaneous leukocytoclastic vasculitis. Results of a prospective, randomized controlled trial. *Arch Dermatol*. 1995;131:1399–402.
157. Ronkainen J, Koskimies O, Ala-Houhala M, Antikainen M, Merenmies J, Rajantie J i sur. Early prednisone therapy in Henoch-Schönlein purpura: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Pediatr*. 2006;149(2):241–7.
158. Weiss PF, Klink AJ, Localio R, Hall M, Hexem K, Burnham JM i sur. Corticosteroids may improve clinical outcomes during hospitalization for Henoch-Schönlein purpura. *Pediatrics*. 2010;126(4):674–81.
159. Weiss PF, Feinstein JA, Luan X, Burnham JM, Feudtner C. Effects of corticosteroid on Henoch-Schönlein purpura: a systematic review. *Pediatrics*. 2007;120(5):1079–87.
160. Gonzalez-Gay MA, Llorca J. Controversies on the use of corticosteroid therapy in children with Henoch-Schönlein purpura. *Semin Arthritis Rheum*. 2005;35(3):135–7.
161. Huber AM, King J, McLaine P, Klassen T, Pothos M. A randomized, placebo-controlled trial of prednisone in early Henoch Schönlein purpura. *BMC Med*. 2004;2(1):7.

162. Dudley J, Smith G, Llewelyn-Edwards A, Bayliss K, Pike K, Tizard J i sur. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial to determine whether steroids reduce the incidence and severity of nephropathy in Henoch-Schonlein purpura (HSP). *Arch Dis Child*. 2013;98(10):756–63.
163. Chartapisak W, Opastirakul S, Hodson EM, Willis NS, Craig JC. Interventions for preventing and treating kidney disease in Henoch-Schönlein purpura (HSP). *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;3:CD005128.
164. Donnithorne KJ, Atkinson TP, Hinze Ch, Nogueira JB, Saeed SA, Askenazi DJ i sur. Rituximab therapy for severe refractory chronic Henoch-Schönlein purpura. *J Pediatr*. 2009;155(1):136–9.
165. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med*. 2018;243(3):213–21.
166. Brogan P, Eleftheriou D. Vasculitis update: pathogenesis and biomarkers. *Pediatr Nephrol*. 2018;33(2):187–98.
167. Hatemi G, Esatoglu SN, Yazici Y. Biomarkers in vasculitis. *Curr Opin Rheumatol*. 2018;30(1):30–5.
168. Ge W, Wang HL, Sun RP. Pentraxin 3 as a novel early biomarker for the prediction of Henoch-Schönlein purpura nephritis in children. *Eur J Pediatr*. 2014;173(2):213–8.
169. Zhou TB, Yin SS. Association of matrix metalloproteinase-9 level with the risk of renal involvement for Henoch-Schönlein purpura in children. *Ren Fail*. 2013;35(3):425–9.
170. He X, Yin W, Ding Y, Cui SJ, Luan J, Zhao P i sur. Higher serum angiotensinogen is an indicator of IgA vasculitis with nephritis revealed by comparative proteomes analysis. *PLoS One*. 2015;10(6):e0130536.
171. Zhang L, Han C, Sun C, Meng H, Ye F, Na S i sur. Serum levels of alpha-smooth muscle actin and c-Met as biomarkers of the degree of severity of Henoch-Schonlein purpura nephritis. *Transl Res*. 2013;161(1):26–36.
172. Wu J, He L, Bai L, Tan L, Hu M. Apolipoprotein M serum levels correlate with IgA vasculitis and IgA vasculitis nephritis. *Dis Markers*. 2019;2019:1825849.
173. Wright RD, Marro J, Northey SJ, Corkhill R, Beresford MW, Oni L. Urinary complement proteins are increased in children with IgA vasculitis (Henoch-Schönlein purpura) nephritis. *Pediatr Nephrol*. 2023;38(5):1491–8.
174. Wang J, Li Y, Chen Y, Dai X, Di Y, Shen M i sur. Urinary macrophage migration inhibitory factor as a noninvasive biomarker in pediatric Henoch-Schönlein purpura nephritis. *J Clin Rheumat*. 2017;23(5):258–61.
175. Williams CEC, Toner A, Wright RD, Oni L. A systematic review of urine biomarkers in children with IgA vasculitis nephritis. *Pediatr Nephrol*. 2021;36(10):3033–44.
176. Demir S, Kaplan O, Celebier M, Sag E, Bilginer Y, Lay I i sur. Predictive biomarkers of IgA vasculitis with nephritis by metabolomic analysis. *Semin Arthritis Rheum*. 2020;50(6):1238–44.

177. Liu L, Liu H, Zhu K, Zhang L, Yin X, Han L i sur. Proteome analysis reveals novel serum biomarkers for Henoch-Schönlein purpura in Chinese children. *J Proteomics*. 2023;276:104841.
178. Liao CH, Tsai M, Yang YH, Chiang BL, Wang LC. Onset age is a risk factor for refractory pediatric IgA vasculitis: a retrospective cohort study. *Pediatr Rheumatol*. 2020;18(1):86.
179. Calvo-Río V, Hernández JL, Ortiz-Sanjuán F, Loricera J, Palmou-Fontana N, González-Vela MC i sur. Relapses in patients with Henoch-Schönlein purpura. Analysis of 417 patients from a single center. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(28):e4217.
180. Counahan R, Winterborn M, White R, Heaton J, Meadow S, Bluett N i sur. Prognosis of Henoch-Schonlein nephritis in children. *Br Med J*. 1977;2(6078):11-4.
181. Goldstein AR, White RH, Akuse R, Chantler C. Long-term follow-up of childhood Henoch-Schönlein nephritis. *Lancet*. 1992;339(8788):280-2.
182. Ronkainen J, Nuutinen M, Koskimies O. The adult kidney 24 years after childhood Henoch-Schönlein purpura: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2002;360(9334):666-70.
183. Zhu B, Zhu Q, Li N, Wu T, Liu S, Liu S. Association of serum/plasma high mobility group box 1 with autoimmune diseases. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(29):e11531.
184. Kim JW, Jung JY, Lee SW, Baek WY, Kim HA, Suh CH. S100A8 in serum, urine, and saliva as a potential biomarker for systemic lupus erythematosus. *Front Immunol*. 2022;13:886209.
185. Angeles-Han ST, Miraldi Utz V, Thornton S, Schulert G, Rodriguez-Smith J, Kauffman A i sur. S100 proteins, cytokines, and chemokines as tear biomarkers in children with juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2021;29(7-8):1616-20.
186. Wang N, Yang L, Shang L, Liang Z, Wang Y, Feng M i sur. Altered fecal metabolomics and potential biomarkers of psoriatic arthritis differing from rheumatoid arthritis. *Front Immunol*. 2022;13:812996.
187. Atzeni IM, Al-Adwi Y, Doornbos-van der Meer B, Roozendaal C, Stel A, van Goor H i sur. The soluble receptor for advanced glycation end products is potentially predictive of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Front Immunol*. 2023;14:1189257.
188. Hamberg V, Wallman JK, Mogard E, Lindqvist E, Olofsson T, Andréasson K. Elevated fecal levels of the inflammatory biomarker calprotectin in early systemic sclerosis. *Rheumatol Int*. 2022;43(5):961-7.
189. Allen A, Willis F, Beattie T, Feehally J. Abnormal IgA glycosylation in Henoch-Schonlein purpura restricted to patients with clinical nephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13(4):930-4.

190. Levinsky RJ., Barratt TM. IgA immune complexes in Henoch-Schönlein purpura. *Lancet*. 1979;314(8152):1100–3.
191. Zhang X, Xie X, Shi S, Liu L, Lv J, Zhang H. Plasma galactose-deficient immunoglobulin A1 and loss of kidney function in patients with immunoglobulin A vasculitis nephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2021;35(12):2117–23.
192. Berthelot L, Jamin A, Viglietti D, Chemouny JM, Ayari H, Pierre M i sur. Value of biomarkers for predicting immunoglobulin A vasculitis nephritis outcome in an adult prospective cohort. *Nephrol Dial Transplant*. 2018;33(9):1579–90.
193. Goodwin GH, Johns EW. Isolation and characterisation of two calf-thymus chromatin non-histone proteins with high contents of acidic and basic amino acids. *Eur J Biochem*. 1973;40(1):215–9.
194. Kang R, Chen R, Zhang Q, Hou W, Wu S, Cao L i sur. HMGB1 in health and disease. *Mol Aspects Med*. 2014;40:1–116.
195. Pilzweger C, Holdenrieder S. Circulating HMGB1 and RAGE as clinical biomarkers in malignant and autoimmune diseases. *Diagnostics (Basel)*. 2015;5(2):219–53.
196. Read CM, Cary PD, Crane-Robinson C, Driscoll PC, Norman DG. Solution structure of a DNA-binding domain from HMG1. *Nucleic Acids Res*. 1993;21(15):3427–36.
197. Goodwin GH, Johns EW. The isolation and purification of the high mobility group (HMG) nonhistone chromosomal proteins. *Methods Cell Biol*. 1977;16:257–67.
198. Taverna S, Tonacci A, Ferraro M, Cammarata G, Cuttitta G, Bucchieri S i sur. High mobility group box 1: biological functions and relevance in oxidative stress related chronic diseases. *Cells*. 2022;11(5):849.
199. Bertheloot D, Latz E. HMGB1, IL-1 α , IL-33 and S100 proteins: dual-function alarmins. *Cell Mol Immunol*. 2017;14(1):43–64.
200. Sims GP, Rowe DC, Rietdijk ST, Herbst R, Coyle AJ. HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer. *Annu Rev Immunol*. 2010;28(1):367–88.
201. Messmer D, Yang H, Telusma G, Knoll F, Li J, Messmer B i sur. High mobility group box protein 1: an endogenous signal for dendritic cell maturation and Th1 polarization. *J Immunol*. 2004;173(1):307–13.
202. Dumitriu IE, Baruah P, Valentinis B, Voll RE, Herrmann M, Nawroth PP i sur. Release of high mobility group box 1 by dendritic cells controls T cell activation via the receptor for advanced glycation end products. *J Immunol*. 2005;174(12):7506–15.
203. Fiuza C, Bustin M, Talwar S, Tropea M, Gerstenberger E, Shelhamer JH i sur. Inflammation-promoting activity of HMGB1 on human microvascular endothelial cells. *Blood*. 2003;101(7):2652–60.
204. Bobek D, Grčević D, Kovačić N, Lukić IK, Jelušić M. The presence of high mobility group box-1 and soluble receptor for advanced glycation end-products in juvenile idiopathic arthritis and juvenile systemic lupus erythematosus. *Pediatr Rheumatol*. 2014;12(1):50.

205. Page TH, Chiappo D, Brunini F, Garnica J, Blackburn J, Dudhiya F i sur. Danger-associated molecular pattern molecules and the receptor for advanced glycation end products enhance ANCA-induced responses. *Rheumatology (Oxford)*. 2022;61(2): 834–45.
206. de Souza AWS, Félix Perazzio S, de França NR, Andrade LEC, Bijl M, Westra J i sur. High mobility group box 1 serum levels are increased in Behçet’s disease, but not associated with disease activity or disease manifestations. *Rheumatology*. 2015;54(12):2151–5.
207. Wang C, de Souza AWS, Westra J, Bijl M, Chen M, Zhao MH i sur. Emerging role of high mobility group box 1 in ANCA-associated vasculitis. *Autoimmun Rev*. 2015;14(11):1057–65.
208. Wang C, Gou S, Chang D, Yu F, Zhao M, Chen M. Association of circulating level of high mobility group box 1 with disease activity in antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis. *Arthritis Care Res*. 2013 Nov;65(11):1828–34.
209. Sato F, Maruyama S, Hayashi H, Sakamoto I, Yamada S, Uchimura T i sur. High mobility group box chromosomal protein 1 in patients with renal diseases. *Nephron Clin Pract*. 2008;108(3):194–201.
210. Chen T, Guo Z, Wang W, Qin S, Cao N, Li M. Increased serum HMGB1 levels in patients with Henoch-Schönlein purpura. *Exp Dermatol*. 2014;23(6):419–23.
211. Wang FY, Jiang XM, Lu M. Expression and clinical significance of serum high-mobility group protein box 1 in children with Henoch-Schönlein purpura. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2015;17(8):792–5.
212. Wang J, Fu L, Yang H, Cao K, Sun Q, Chen T. The anti-inflammatory effects of HMGB1 blockades in a mouse model of cutaneous vasculitis. *Front Immunol*. 2020;11:2032.
213. Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC i sur. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem*. 1992;267(21):14998–5004.
214. Twarda-Clapa A, Olczak A, Białkowska AM, Koziolkiewicz M. Advanced glycation end-products (AGEs): formation, chemistry, classification, receptors, and diseases related to AGEs. *Cells*. 2022;11(8):1312.
215. Brett J, Schmidt AM, Yan SD, Zou YS, Weidman E, Pinsky D i sur. Survey of the distribution of a newly characterized receptor for advanced glycation end products in tissues. *Am J Pathol*. 1993;143(6):1699–712.
216. Yue Q, Song Y, Liu Z, Zhang L, Yang L, Li J. Receptor for advanced glycation end products (RAGE): a pivotal hub in immune diseases. *Molecules*. 2022;27(15):4922.
217. Sparvero LJ, Asafu-Adjei D, Kang R, Tang D, Amin N, Im J i sur. RAGE (Receptor for advanced glycation endproducts), RAGE ligands and their role in cancer and inflammation. *J Transl Med*. 2009;7(1):17.

218. Manfredi AA, Capobianco A, Esposito A, De Cobelli F, Canu T, Monno A i sur. Maturing dendritic cells depend on RAGE for in vivo homing to lymph nodes. *J Immunol.* 2008;180(4):2270–5.
219. Chavakis T, Bierhaus A, Al-Fakhri N, Schneider D, Witte S, Linn T i sur. The pattern recognition receptor (RAGE) is a counterreceptor for leukocyte integrins: a novel pathway for inflammatory cell recruitment. *J Exp Med.* 2003;198(10):1507–15.
220. Fukami A, Adachi H, Yamagishi S, Matsui T, Ueda S, Nakamura K i sur. Factors associated with serum high mobility group box 1 (HMGB1) levels in a general population. *Metabolism.* 2009;58(12):1688–93.
221. Mahajan N, Dhawan V, Malik S, Jain S. Serum levels of soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in Takayasu’s arteritis. *Int J Cardiol.* 2010;145(3):589–91.
222. Wittkowski H, Hirono K, Ichida F, Vogl T, Ye F, Yanlin X i sur. Acute Kawasaki disease is associated with reverse regulation of soluble receptor for advance glycation end products and its proinflammatory ligand S100A12. *Arthritis Rheum.* 2007;56(12):4174–81.
223. Hulpiau P, van Roy F. Molecular evolution of the cadherin superfamily. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009;41(2):349–69.
224. Sano K, Tanihara H, Heimark RL, Obata S, Davidson M, St John T i sur. Protocadherins: a large family of cadherin-related molecules in central nervous system. *EMBO J.* 1993;12(6):2249–56.
225. Frank M, Kemler R. Protocadherins. *Curr Opin Cell Biol.* 2002;14(5):557–62.
226. Kim SY, Yasuda S, Tanaka H, Yamagata K, Kim H. Non-clustered protocadherin. *Cell Adh Migr.* 2011;5(2):97–105.
227. Modak D, Sotomayor M. Identification of an adhesive interface for the non-clustered $\delta 1$ protocadherin-1 involved in respiratory diseases. *Commun Biol.* 2019;2(1):354.
228. Redies C, Heyder J, Kohoutek T, Staes K, Van Roy F. Expression of protocadherin-1 (Pcdh1) during mouse development. *Dev Dyn.* 2008;237(9):2496–505.
229. Tellez F, Vandepoele K, Brouwer U, Koning H, Elderman RM, Hackett TL i sur. Protocadherin-1 binds to SMAD3 and suppresses TGF-1-induced gene transcription. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2015;309:725–35.
230. Demontis F, Habermann B, Dahmann C. PDZ-domain-binding sites are common among cadherins. *Dev Genes Evol.* 2006;216(11):737–41.
231. Hormi-Carver KK, Shi W, Liu CWY, Berndt N. Protein phosphatase 1 alpha is required for murine lung growth and morphogenesis. *Dev Dyn.* 2004;229(4):791–801.
232. Koning H, Sayers I, Stewart CE, Jong D, Hacken NHT, Postma DS i sur. Characterization of protocadherin-1 expression in primary bronchial epithelial cells: association with epithelial cell differentiation. *FASEB J.* 2012;26(1):439–48.

233. Ye Z, Yang Y, Wei Y, Li L, Wang X, Zhang J. PCDH1 promotes progression of pancreatic ductal adenocarcinoma via activation of NF- κ B signalling by interacting with KPNB1. *Cell Death Dis.* 2022;13(7).
234. Tellez GF, Nawijn MC, Koppelman GH. Protocadherin-1: Epithelial barrier dysfunction in asthma and eczema. *Eur Respir J.* 2014;43(3):671–4.
235. Tellez GF, Willemse BWM, Brouwer U, Brinksma SN, Vandepoele K, Noordhoek JA i sur. Protocadherin-1 localization and cell adhesion function in airway epithelial cells in asthma. *PLoS One.* 2016;11(10).
236. Samavat S, Kalantari S, Nafar M, Rutishauser D, Rezaei-Tavirani M, Parvin M i sur. Diagnostic urinary proteome profile for immunoglobulin A nephropathy. *Iran J Kidney Dis.* 2015;9:239–48.
237. Dolezalova P, Price-Kuehne FE, Özen S, Benseler SM, Cabral DA, Anton J i sur. Disease activity assessment in childhood vasculitis: development and preliminary validation of the Paediatric Vasculitis Activity Score (PVAS). *Ann Rheum Dis.* 2013;72(10):1628–33.
238. Hayrapetyan H, Tran T, Tellez-Corrales E, Madiraju C. Enzyme-linked immunosorbent assay: types and applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1–17.
239. Fretzayas A, Sionti I, Moustaki M, Nicolaidou P. Clinical impact of altered immunoglobulin levels in Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Int.* 2009;51(3):381–4.
240. Lleo A, Battezzati PM, Selmi C, Gershwin ME, Podda M. Is autoimmunity a matter of sex? *Autoimmun Rev.* 2008;7(8):626–30.
241. Sakkas L, Chikanza I. Sex bias in immune response: it is time to include the sex variable in studies of autoimmune rheumatic diseases. *Rheumatol Int.* 2024;44(2): 203–9.
242. Cattalini M, Soliani M, Caparello MC, Cimaz R. Sex differences in pediatric rheumatology. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2019;56(3):293–307.
243. <https://popis2021.hr/index.html> [Internet]. Državni zavod za statistiku.
244. Kobayashi T, Hattori S, Nagai Y, Tajima S, Nishikawa T. Differential regulation of MMP-2 and MMP-9 gelatinases in cultured human keratinocytes. *Dermatology.* 1998;197(1):1–5.
245. Poterucha TJ, Wetter DA, Gibson LE, Camilleri MJ, Lohse CM. Correlates of systemic disease in adult Henoch-Schönlein purpura: a retrospective study of direct immunofluorescence and skin lesion distribution in 87 patients at Mayo Clinic. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(4):612–6.
246. Xiong LJ, Meng M. Current views of the relationship between *Helicobacter pylori* and Henoch-Schonlein purpura in children. *World J Clin Pediatr.* 2016;5(1):82–8.
247. Xiong LJ, Tong Y, Wang ZL, Mao M. Is *Helicobacter pylori* infection associated with Henoch-Schonlein purpura in Chinese children? a meta-analysis. *World J Pediatr.* 2012;8(4):301–8.

248. Li N, Wang T, Han D. Structural, cellular and molecular aspects of immune privilege in the testis. *Front Immunol.* 2012;3:152.
249. Hedger MP. Macrophages and the immune responsiveness of the testis. *J Reprod Immunol.* 2002;57(1–2):19–34.
250. Hedger MP, Meinhardt A. Cytokines and the immune-testicular axis. *J Reprod Immunol.* 2003;58(1):1–26.
251. Jacobo P, Guazzone VA, Theas MS, Lustig L. Testicular autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2011;10(4):201–4.
252. Karadağ ŞG, Çakmak F, Çil B, Tanatar A, Sönmez HE, Kıyak A i sur. The relevance of practical laboratory markers in predicting gastrointestinal and renal involvement in children with Henoch–Schönlein Purpura. *Postgrad Med.* 2021;133(3):272–7.
253. Brendel-Müller K, Hahn A, Santer R, Schneppenheim R. Laboratory signs of activated coagulation are common in Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Nephrol.* 2001;16(12):1084–8.
254. Yilmaz D, Kavakli K, Ozkayin N. The elevated markers of hypercoagulability in children with Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Hematol Oncol.* 2005;22(1):41–8.
255. Bianchini G, Lotti T, Fabbri P. Fibrin deposits and fibrinolytic activity in Schonlein-Henoch syndrome. *Int J Dermatol.* 1983;22(2):103–6.
256. Pottel H, Hoste L, Dubourg L, Ebert N, Schaeffner E, Eriksen BO i sur. An estimated glomerular filtration rate equation for the full age spectrum. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(5):798–806.
257. Mian AN, Schwartz GJ. Measurement and estimation of glomerular filtration rate in children. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2017;24(6):348–56.
258. Demirkaya E, Ozen S, Pistorio A, Galasso R, Ravelli A, Hasija R i sur. Performance of the Birmingham Vasculitis Activity Score and disease extent index in childhood vasculitides. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30(1 Suppl 70):162–8.
259. Avcı B, Kurt T, Aydın F, Çelikel E, Tekin ZE, Sezer M i sur. Association of Pediatric Vasculitis Activity Score with immunoglobulin A vasculitis with nephritis. *Pediatr Nephrol.* 2023;38(3):763–70.
260. Lv B, Wang H, Tang Y, Fan Z, Xiao X, Chen F. High-mobility group box 1 protein induces tissue factor expression in vascular endothelial cells via activation of NF-κB and Egr-1. *Thromb Haemost.* 2009;102(08):352–9.
261. de Souza A, Abdulahad W, Sosicka P, Bijzet J, Limburg P, Stegeman C i sur. Are urinary levels of high mobility group box 1 markers of active nephritis in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis? *Clin Exp Immunol.* 2014;178(2):270–8.
262. Ma TT, Wang H, Wang C, Chang DY, Zhao MH, Chen M. Urinary levels of high mobility group box-1 are associated with disease activity in antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis. *PLoS One.* 2015;10(4):e0123586.

263. Jafari Nakhjavani MR, Jafarpour M, Ghorbanihaghjo A, Abedi Azar S, Malek Mahdavi A. Relationship between serum-soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) and disease activity in rheumatoid arthritis patients. *Mod Rheumatol*. 2019;29(6):943–8.
264. Kanne A, Jülich M, Mahmutovic A, Tröster I, Sehnert B, Urbonaviciute V i sur. Association of high mobility group box chromosomal protein 1 and receptor for advanced glycation end products serum concentrations with extraglandular involvement and disease activity in Sjögren's syndrome. *Arthritis Care Res*. 2018;70(6):944–8.
265. Myles A, Viswanath V, Singh YP, Aggarwal A. Soluble receptor for advanced glycation endproducts is decreased in patients with juvenile idiopathic arthritis (ERA category) and inversely correlates with disease activity and S100A12 levels. *J Rheumatol*. 2011;38(9):1994–9.
266. Pullerits R, Brisslert M, Jonsson I, Tarkowski A. Soluble receptor for advanced glycation end products triggers a proinflammatory cytokine cascade via $\beta 2$ integrin Mac-1. *Arthritis Rheum*. 2006;54(12):3898–907.
267. Chen SJ, Yuan W, Mori Y, Levenson A, Varga J, Trojanowska M. Stimulation of type I collagen transcription in human skin fibroblasts by TGF- β : involvement of Smad 3. *J Invest Dermatol*. 1999;112(1):49–57.
268. Cotton S, Herrick A, Jayson M, Freemont A. TGF β - a role in systemic sclerosis? *J Pathol*. 1998;184(1):4–6.
269. Jinnin M. Mechanisms of skin fibrosis in systemic sclerosis. *J Dermatol*. 2010;37(1):11–25.
270. Zhang Q, Geng M, Li K, Gao H, Jiao X, Ai K i sur. TGF- β 1 suppresses the T-cell response in teleost fish by initiating Smad3- and Foxp3-mediated transcriptional networks. *J Biol Chem*. 2023;299(2):102843.
271. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*. 2003;299(5609):1057–61.
272. Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei K jian, Li L, Marinos N i sur. Conversion of peripheral CD4+CD25– naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF- β induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med*. 2003;198(12):1875–86.
273. Liu Y, Zhang P, Li J, Kulkarni AB, Perruche S, Chen W. A critical function for TGF- β signaling in the development of natural CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. *Nat Immunol*. 2008;9(6):632–40.
274. Chen O, Zhu X, Ren H, Wang Y, Sun R. The imbalance of Th17/Treg in Chinese children with Henoch-Schonlein purpura. *Int Immunopharmacol*. 2013;16(1):67–71.
275. Li B, Ren Q, Ling J, Tao Z, Yang X, Li Y. The change of Th17/Treg cells and IL-10/IL-17 in Chinese children with Henoch-Schonlein purpura. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(3):e13991.

276. Li Y, Zhou Y, Zhu D, Wang Y. The role of T cells in the development of Henoch-Schonlein purpura. *Front Biosci.* 2018;23(5):837–51.
277. Donadio ME, Loiacono E, Peruzzi L, Amore A, Camilla R, Chiale F i sur. Toll-like receptors, immunoproteasome and regulatory T cells in children with Henoch-Schönlein purpura and primary IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol.* 2014;29(9):1545–51.
278. Huang X, Ma L, Ren P, Wang H, Chen L, Han H i sur. Updated Oxford classification and the international study of kidney disease in children classification: application in predicting outcome of Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Diagn Pathol.* 2019;14(1):40.

11. ŽIVOTOPIS

Martina Held rođena je 17. prosinca 1991. godine u Zagrebu gdje je završila osnovnu školu Luka i opću gimnaziju u Sesvetama. 2011. godine upisala je Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu na kojem je diplomirala 2017. godine i stekla zvanje doktora medicine. Pripravnički liječnički staž u trajanju od pet mjeseci odradila je u Kliničkom bolničkom centru Zagreb. Poslije položenog stručnog ispita pred ispitnom komisijom Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske stekla je pravo samostalnog rada. Kao liječnica radila je u službi obiteljske medicine Doma zdravlja Zagreb Istok i Doma zdravlja Zagreb Centar te u hitnoj medicinskoj pomoći Nastavnog zavoda za hitnu medicinu Grada Zagreba. Od studenog 2020. godine zaposlena je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu kao asistent na projektu Hrvatske zaklade za znanost IP-2019-04-8822: "*Histološki, klinički, laboratorijski i genski prediktori ishoda bolesnika s Henoch-Schönleinovom purpurom i nefritisom*", pod voditeljstvom prof. dr. sc. Marije Jelušić. Istodobno sa zaposlenjem na HRZZ projektu upisala je sveučilišni poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu u Zagrebu kojeg uspješno završava izradom disertacije pod mentorstvom prof. Jelušić. Kao suradnica sudjeluje i na domaćem projektu sveučilišne potpore ("*Mogućnosti personalizirane medicine u liječenju bolesnika s autoimunskim i autoinflamatornim bolestima*") i na nekoliko projekata Međunarodne organizacije za istraživanja u pedijatrijskoj reumatologiji ("*JIA classification study: The PRINTO Evidence-based Revision of the International League Against Rheumatism (ILAR) Classification criteria for juvenile idiopathic arthritis*"; "*Cross-cultural adaptation and validation of the Localised Scleroderma Quality of Life Instrument (LoSQI) in juvenile localised scleroderma (JLS)*"; "*The impact of eyesight on the quality of life of children and youngs*"). Aktivno je sudjelovala na međunarodnim i domaćim kongresima i stručnim skupovima s usmenim izlaganjima i poster priopćenjima. Kao prvoj autorici i suautorici objavljeno joj je 11 članaka indeksiranih u Current Contents bazi podataka te 3 rada u časopisima s domaćom recenzijom. Kao prva autorica nagrađena je za stručni izvorni rad "*Kliničke i laboratorijske značajke IgA vaskulitisa s gastrointestinalnom zahvaćenošću: dvanaestogodišnje iskustvo Referentnog centra za pedijatrijsku i adolescentnu reumatologiju Republike Hrvatske*" objavljen u časopisu Reumatizam, službenom glasilu Hrvatskog reumatološkog društva.