Aktivnost eritrocitne glutation S-transferaze u djece oboljele od HenochSchönleinove purpure

Frković, Marijan

Doctoral thesis / Disertacija

2020

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:105:335258

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Marijan Frković

Aktivnost eritrocitne glutation S-transferaze u djece oboljele od Henoch-Schönleinove purpure

DISERTACIJA

Zagreb, 2020.

Disertacija je izrađena u Zavodu za kliničku imunologiju, respiracijske i alergološke bolesti i reumatologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Marija Jelušić

Zahvaljujem mentorici, prof. dr.sc. Mariji Jelušić na stručnom vodstvu te ukazanom povjerenju i strpljenju.

Na pomoći u izradi ovog rada zahvaljujem: spec.med.biokem. Ani Mlinarić, doc.dr.sc. Milanu Miloševiću, prof.dr.sc. Dunji Rogić, doc.dr.sc. Alenki Gagro, dr. Saši Sršenu, dr. Željki Nikolaus Banic, prof. Andrei Pavlić, mag. sestrinstva Danici Grgurić, med. sestri Serafini Barišić, prvost. sestrinstva Slavici Ohnec, prvost. sestrinstva Ružici Ivanek i gospođi Svjetlani Palčić

Rad posvećujem svojoj obitelji. Svi za jednog, jedan za sve!

KAZALO

1.	UVOD	1
1.1.	Henoch-Schönleinova purpura (HSP).....	1
1.1.1.	Epidemiologija	2
1.1.2.	Etiopatogeneza	2
1.1.3.	Histologija	15
1.1.4.	Klinička slika bolesti	16
1.1.5.	Laboratorijski nalazi	19
1.1.6.	Klasifikacijski kriteriji i postavljanje dijagnoze	20
1.1.7.	Tijek bolesti	22
1.1.8.	Liječenje	23
1.1.9.	Prognoza	25
1.1.10.	Histološke klasifikacije nefritisa u sklopu HSP	26
1.1.11.	Biološki markeri nefritisa u sklopu HSP (HSPN)	29
1.2.	Glutation S-transferaze (GSTs) / eritrocitna glutation S-transferaza (e-GST)	34
2.	HIPOTEZA	42
3.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA	43
3.1.	Opći cilj	43
3.2.	Specifični ciljevi	43
4.	ISPITANICI I METODE	44
4.1	Ispitanici	44
4.2.	Metode rada	45
4.2.1.	Anamneza i fizikalni pregled	45
4.2.2.	Laboratorijske pretrage	45
4.2.2.1.	Određivanje aktivnosti e-GST	47
4.3.	Statističke metode	48
5.	REZULTATI	49
5.1.	Pregled osnovnih podataka o ispitanicima	49
5.2.	Pregled i usporedba rutinskih laboratorijskih nalaza ispitanika	54
5.3.	Aktivnost e-GST	67

5.4. Korelacija aktivnosti e-GST s osnovnim podacima i rutinskim laboratorijskim nalazima ispitanika 71
5.5. ROC analiza vrijednosti određivanja e-GST 77
6. RASPRAVA ……..…….. 81
7. ZAKLJUČCI ……..……..... 96
8. SAŽETAK ……..…….. 98
9. SUMMARY ...……..... 100
10. LITERATURA .....……..... 102
11. ŽIVOTOPIS ……..... 126

POPIS OZNAKA I KRATICA

aCl	antikardiolipin
ACR	Američko reumatološko društvo (engl. *American College of Rheumatology*)
AECA	antiendotelna protutijela (engl. *anti-endothelial cell antibodies*)
AHA	Američko kardiološko društvo (engl. *American Heart Association*)
α-SMA	alfa aktin glatkog mišića (engl. *alpha-smooth muscle actin*)
ANA	antinuklearna protutijela (engl. *antinuclear antibodies*)
ANCA	antineutrofilna citoplazmatska protutijela (engl. *anti-neutrophilic cytoplasmic autoantibody*)
APRIL	ligand koji pokreće proliferaciju (engl. *A proliferation-inducing ligand*)
ASGP-R	asijaloglikoproteinski receptori (engl. *asialoglycoprotein receptors*)
AST-O	antistreptolizinski titar
AUC	površina ispod ROC krivulje (engl. *area under the ROC curve*)
BAFF	faktor aktivacije limfocita B iz TNF obitelji (engl. *B cell activating factor of the TNF family*)
β2GPI	beta 2-glikoprotein I
BHS-A	beta hemolitički streptokok grupe A
C1GALT1	engl. *Core 1 Synthase, Glycoprotein-N-Acetylgalactosamine 3-Beta-Galactosyltransferase 1*
C1GALT1C1	engl. *Core 1 Synthase, Glycoprotein-N-Acetylgalactosamine 3-Beta-Galactosyltransferase 1 specific chaperone 1*
CD	diferencijacijska skupina (engl. *cluster of differentiation*)
CDNB	1-kloro-2,4-dinitrobenzen
CKD	kronična bubrežna bolest (engl. *chronic kidney disease*)
CRP	C-reaktivni protein
CTLA-4	kostimulacijska molekula CTLA-4 (engl. *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*)

DM	šećerna bolest (lat. *diabetes mellitus*)
eGFR	procijenjena brzina glomerularne filtracije (engl. *estimated glomerular filtration rate*)
e-GST	eritrocitna glutation S-transferaza
ESRD	terminalno zatajenje bubrega (engl. *end stage renal disease*)
EULAR	Europska liga za borbu protiv reumatizma (engl. *European League Against Rheumatism*)
Fab	fragment koji veže antigen (engl. *antigen-binding fragment*)
Fc	kristalizirani fragment (engl. *fragment, crystallizable*)
GalNAc	N-acetilgalaktozamin
Gd-IgA1	IgA1 s manjkom galaktoze (engl. *galactose-deficient IgA1*)
GSH	glutation
GST	glutation S-transferaza
GWAS	cjelogenomska istraživanja povezanosti (engl. *genome-wide association study*)
HLA	humani leukocitni antigeni (engl. *human leukocyte antigens*)
hsCRP	visokoosjetljivi C-reaktivni protein (engl. *high-sensitivity C-reactive protein*)
HSP	Henoch-Schönleinova purpura
HSPN	Henoch-Schönleinova purpura s nefritisom
IgAN	IgA nefropatija
IL	interleukin
ISKDC	Međunarodna studija bubrežnih bolesti u djece (engl. *International Study of Kidney Disease in Children*)
K/DOQI	Inicijativa za kakvoću ishoda bubrežne bolesti (engl. *kidney disease outcomes quality initiative*)
KIM-1	molekula oštećenja bubrega – 1 (engl. *kidney injury molecule*)
MALT	mukozno limfoidno tkivo (engl. *mucosa-associated lymphoid tissue*)
MBL	lektin koji veže manozu (engl. *mannose-binding lectin*)

MCP	protein kemijskog privlačenja monocita (engl. *monocyte chemoattractant protein*)
MEST-C	engl. *mesangial and endocapillary hypercellularity, segmental sclerosis, interstitial fibrosis/tubular atrophy, crescents*
MIF	čimbenik inhibicije migracije makrofaga (engl. *macrophage migration inhibitory factor*)
mRNA	glasnička ribonukleinska kiselina (engl. *messenger ribonucleic acid*)
NAPlr	plazminski receptor povezan s nefritisom (engl. *nephritis-associated plasmin receptor*)
NGAL	neutrofilni gelatinaza vezani lipokalin (engl. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*)
NSAID	nesteroidni protu-upalni lijekovi (engl. *nonsteroidal anti-inflammatory drugs*)
PHD	patohistološka dijagnoza
PReS	Europsko pedijatrijsko reumatološko društvo (engl. *Paediatric Rheumatology European Society*)
PRINTO	Međunarodna organizacija za istraživanja u dječjoj reumatologiji (engl. *Paediatric Rheumatology International Trials Organisation*)
PTX	pentraksin (engl. *Pentraxin*)
RAGE	receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije (engl. *receptor for advanced glycation end products*)
RANTES	regulator funkcije limfocita T (engl. *regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*)
RF	reumatoidni faktor
ROC	engl. *receiver operating characteristic*
SE	sedimentacija eritrocita
SHARE	engl. *Single Hub and Access point for paediatric Rheumatology in Europe*
SNP	polimorfizam pojedinačnog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*)
STAT3	pretvornik signala i aktivator transkripcije 3 (engl. *signal transducer and activator of transcription 3*)
SQC	semikvantitativna klasifikacija (engl. *semiquantitative classification*)

TBS	engl. *total biopsy score*
TGF	transformirajući čimbenik rasta (engl. *transforming growth factor*)
TLR	receptori slični Tollu (engl. *Toll-like receptor*)
TNF	čimbenik tumorske nekroze (engl. *tumor necrosis factor*)
Treg	regulacijski limfociti T (engl. *regulatory T-lymphocytes*)

1. UVOD

1.1. Henoch-Schönleinova purpura

Vaskulitisi su heterogena skupina reumatskih bolesti karakterizirana upalom i posljedičnim oštećenjem stijenke krvnih žila. Najčešći vaskulitis dječje dobi je Henoch-Schönleinova purpura (HSP) (1-14).

Entitet je prvi prepoznao i u knjizi „On Cutaneous Diseases“ opisao engleski liječnik William Heberden 1801. godine (1,15-19). Današnji naziv bolest je ipak dobila prema njemačkim liječnicima Johannu Lukasu Schönleinu i njegovu učeniku Eduardu Heinrichu Henochu, koji su u razdoblju od 1837. do 1899. godine detaljno opisali sve simptome (15-18,20).

HSP pripada skupini vaskulitisa malih krvnih žila, posebno arteriola, kapilara i venula (5,6,21). Patohistološki, riječ je o leukocitoklastičnom vaskulitisu s infiltracijom stijenki malih krvnih žila neutrofilima uz mogući razvoj nekroze (1,3,5,11,22). U stijenci i oko krvnih žila u kožnim eflorescencijama svih oboljelih, odnosno u mezangiju bubrega oboljelih u kojih se razvije i nefritis, nalaze se depoziti imunokompleksa koji sadrže IgA (5,6,18,21,23).

Iako postoje i drugi klasifikacijski kriteriji, kao što su kriteriji Američkog reumatološkog društva (ACR, engl. *American College of Rheumatology*) (3,9,24,25), Michaelovi kriteriji, Helanderovi kriteriji (20), kriteriji Američkog kardiološkog društva (AHA, engl. *American Heart Association*) (5), te definicije/nomenklature (npr. *Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides* 2012.) (21,26), prema zajedničkim klasifikacijskim kriterijima Europske lige za borbu protiv reumatizma (EULAR, engl. *European League Against Rheumatism*), Međunarodne organizacije za istraživanja u dječjoj reumatologiji (PRINTO, engl. *Paediatric Rheumatology International Trials Organisation*) i Europskog pedijatrijskog reumatološkog društva (PReS, engl. *Paediatric Rheumatology European Society*), formiranim u Ankari 2008. godine, uz palpabilnu purpuru kao obvezan simptom, na razvoj ove bolesti u dječjoj dobi ukazuje prisutnost još barem jednog od ostalih simptoma ili nalaza: artritis/artralgije jednog ili više zglobova (najčešće distalnih zglobova donjih

ekstremiteta), bolovi u trbuhu, nefritis te nalaz depozita IgA u bioptatu kožne promjene ili bubrega (3,5,6,12,24).

Unatrag nekoliko godina se, sukladno konsenzusu postignutom na konferenciji u Chapel Hillu 2012. godine, za ovu bolest u literaturi koristi i naziv IgA vaskulitis (6,21,27).

1.1.1. Epidemiologija

Bolest se, ovisno o izvoru literature, javlja s podjednakom učestalošću (16) ili do 1,9 puta češće u dječaka u odnosu na djevojčice (4,5,9,17,18,22,28-31). Incidencija iznosi 3 – 30 oboljelih na 100 000 osoba mlađih od 18 godina godišnje (1,4,7,9,11-13,15,16,19,20,22,23,28,32-39), vrh incidencije je između 4. i 7. godine života (4,8,28,32,40), odnosno većina oboljelih mlađa je od 10 godina (4,12,13,16,17,29,30,41). Iako je pojava bolesti moguća i u odrasloj dobi, incidencija se s dobi smanjuje (35) i nakon 18. godine znatno je niža: 1,3 – 4 oboljela na 100 000 odraslih osoba (7,9,38), odnosno odrasli bolesnici čine otprilike desetinu ukupnog broja oboljelih (7,38). Prevalencija HSP u osoba mlađih od 18 godina iznosi 6,1 – 20,4 / 100 000 (3,4).

1.1.2. Etiopatogeneza

Smatra se da se bolest javlja u genetski predisponiranih osoba pod djelovanjem faktora okoliša, posebno infektivnih uzročnika (3,42).

U prilog genetskoj podlozi primarno govore razlike u prevalenciji bolesti ovisno o geografskom smještaju populacije, odnosno rasnoj i etničkoj pripadnosti. Bolest se tako najčešće javlja u zemljama jugoistočne Azije, a najrjeđe u zemljama središnje Afrike. Češće se javlja u pripadnika žute rase (incidencija 24/100 000 osoba mlađih od 18 godina), nego u pripadnika bijele rase (17,8/100 000), a najrjeđe obolijevaju pripadnici crne rase (6,2/100 000) (7,28,34). Također, rizik od pobolijevanja veći je u bliskih rođaka oboljelog u odnosu na opću populaciju (34), a opisani su i slučajevi obiteljskog grupiranja oboljelih (3,7,34,43). Na genetsku podlogu ukazuje i povišena koncentracija molekula imunoglobulina A1 s manjkom

galaktoze (Gd-IgA1, engl. *Galactose-deficient IgA1*) u barem jednog roditelja većine oboljele djece (2,3,36,44).

Rezultati ciljanog detektiranja polimorfizama različitih pojedinačnih gena kandidata, odabranih na temelju njihove potencijalne biološke funkcije ili njihove pozicije unutar regije otprije povezane s istom ili sličnim bolestima, te noviji rezultati cjelogenomskih istraživanja povezanosti (GWAS, engl. *genome-wide association study*) ukazuju na kompleksnu patogenezu HSP prouzročenu primarno interakcijama među većim brojem različitih gena, uz pritom ograničenu ulogu svakog pojedinačnog gena u razvoju bolesti (34). Polimorfizmi koji imaju potencijalni učinak na povećan rizik od pojavnosti HSP i razvoj nefritisa ciljano su detektirani među genima HLA sustava (humani leukocitni antigeni, engl. *human leukocyte antigens*) na kratkom kraku kromosoma 6 (6p21.3). Povezanost polimorfizama s pojavnošću bolesti i rizikom od razvoja nefritisa uglavnom se razlikuje između različitih rasa i etničkih skupina (34,45).

Polimorfizmi s najvećim rizikom za razvoj bolesti i komplikacija detektirani su GWAS-om u intergenskoj zoni HLA DQA1-DQB1 te na lokusima HLA-DRB1*11 i B1*13, a nešto manji rizik povezan je s alelima HLA klase I (1,3,7,8,34,45-47).

Izvan HLA sustava, kao rizični za razvoj bolesti i komplikacija detektirani su pojedini polimorfizmi gena za citokine (IL-6 promotor (interleukin-6 promotor), IL-1β, IL-1Ra (interleukin-1 receptor antagonist), IL-18, interferon gama, transformirajući faktor rasta beta 1, kemokini (čimbenik inhibicije migracije makrofaga (MIF, engl. *macrophage migration inhibitory factor*), IL-8, regulator funkcije limfocita T (RANTES, engl. *regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*), protein kemijskog privlačenja monocita (MCP-1, engl. *monocyte chemoattractant protein*), adhezijske molekule (P-selektin, E-selektin), komponente sustava renin-angiotenzin (angiotenzin i angiotenzin konvertirajući enzim), te drugi elementi koji sudjeluju u upalnim / imunološkim procesima (receptori slični Tollu 2 i 4 (TLR2, TLR4, engl. *Toll-like receptor*), lektin koji veže manozu (MBL, engl. *mannose-binding lectin*), tirozin fosfataza, kostimulacijska molekula CTLA-4 (engl. *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*), ali i geni za druge bolesti (npr. gen za obiteljsku mediteransku vrućicu – MEFV). Detektirani su i polimorfizmi gena za enzim C1GALT1 (engl. *Core 1 Synthase, Glycoprotein-N-Acetylgalactosamine 3-Beta-Galactosyltransferase 1*), koji reduciraju aktivnost

navedenog enzima odnosno glikozilaciju IgA1 molekula te dovode do pojačane produkcije Gd-IgA1 koji ima ključnu ulogu u patogenezi bolesti (1,3,7,8,34,46,48-55).

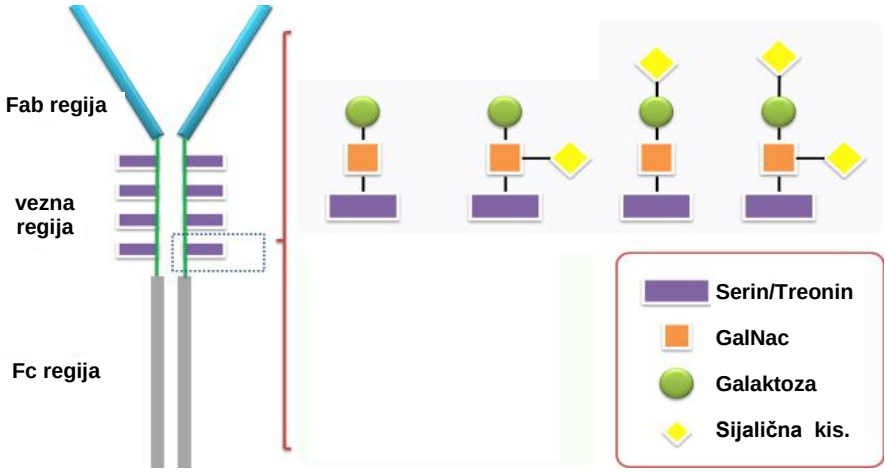
Dosadašnji rezultati GWAS-a klasificiraju HSP kao prototip bolesti vezane uz HLA lokuse klase II, u koju spadaju i arteritis orijaških stanica te ANCA (antineutrofilna citoplazmatska protutijela, engl. *Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies*) vaskulitisi (34,39,56-58).

U prilog djelovanju faktora okoliša govore primarno sezonske razlike u incidenciji bolesti, koja je u većini istraživanja dva puta viša ujesen i zimi u odnosu na proljeće i ljeto (3,5,17,20,29,38,59), ali i različiti mikroorganizmi detektirani mikrobiološkom i serološkom obradom u oboljele djece (beta hemolitički streptokok serološke grupe A (BHS-A), *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Mycoplasma pneumoniae, Bartonella henselae, Helicobacter pylori,* virusi *parainfluenzae* i *influenzae*, parvovirus B19, Epstein-Barrov virus, *varicella zoster* virus, *Strongiloides stercoralis*) (3,7,16,17,22,60-64). U bolesnika s HSP detektirana je usto pojačana ekspresija glasničkih ribonukleinskih kiselina (mRNA, engl. *messenger RNA*), koje kodiraju TLR s ključnom ulogom u imunološkoj reakciji usmjerenoj na ekstrinzične antigene (65). Opisani su i rijetki, u pravilu pojedinačni slučajevi pretpostavljenog djelovanja drugih faktora okoliša (cjepiva, lijekovi, hrana, ubodi insekata, udar električne struje...) (4,5,17,66-68).

HSP je bolest posredovana imunokompleksima koji sadrže imunoglobulin A1 (IgA1) i koji se deponiraju dominantno u kapilarama kože, probavne cijevi i glomerula (15).

IgA1 producirajuće stanice dominantno se nalaze u mukoznom limfoidnom tkivu (produkcija IgA u formi polimera) i koštanoj srži (IgA u formi monomera). Inicijalni IgA odgovor na infekciju obilježen je nalazom polimernog IgA u mukoznim sekretima te serumu (36,69,70). IgA sudjeluje u imunološkim procesima aktiviranjem sustava komplementa te aktiviranjem neutrofila, monocita/makrofaga, dendritičkih stanica, eozinofila i Kuppferovih stanica preko molekula klastera diferencijacije 89 (CD, engl. *cluster of differentiation*), koje su na danim stanicama receptor za kristalizirajući fragment (Fc fragment, engl. *fragment, crystallizable*) IgA.

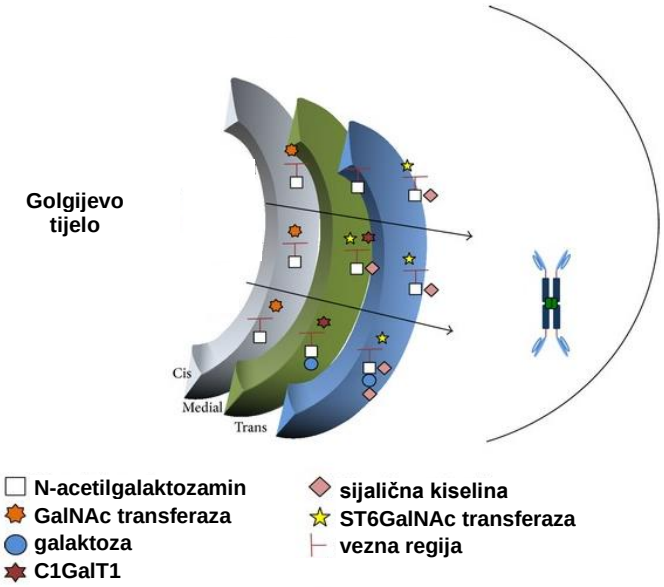
Humani IgA sastoji se od dvaju teških i dvaju lakih lanaca s antigen vežućom regijom (Fab, engl. *antigen-binding fragment*) kojom veže antigen, te Fc regijom kojom može stupiti u interakciju s Fc receptorom (7). IgA se dijeli u dvije potklase odnosno dva izotipa: IgA1 (90 % serumskog IgA) i IgA2 (10 % serumskog IgA) (36,44). IgA1 i IgA2 imaju N vezane glikane koji sadrže N-acetilglukozamin (u IgA1 jedan vezan na CH2 domenu, a drugi na repni dio), a samo IgA1 ima i O vezane glikane, čiji je početni šećer N-acetilgalaktozamin (GalNAc) vezan na atome kisika aminokiselina serina ili treonina u veznoj regiji teških lanaca. O vezani glikani se uz GalNAc sastoje i od na njega β1,3-vezane galaktoze (galaktozilacija), a krajnju ekstenziju strukture tvore molekule sijalične kiseline vezane na galaktozu ili GalNAc (sijalizacija), ili oba (36). Svaka vezna regija IgA1 ima po devet potencijalnih O-glikozilacijskih mjesta, od kojih je obično zauzeto tri do šest (3,16,22,36,69,71). Kompozicija O-glikana u IgA1 varijabilna je, a dominirajuća forma je GalNAc-galaktoza disaharid u mono- ili disijaliziranoj formi (Slika 1) (36,72).



Slika 1. Molekula IgA1 (preuzeto i prilagođeno iz referencije br.72)

O-glikozilacija spojne regije IgA1 je posttranslacijska modifikacija i odvija se stupnjevito u odjeljcima Golgijeva aparata (7). Glikoziltransferaze su smještene u različitim dijelovima navedene organele, što stanici omogućuje kontrolu nad glikozilacijom u više točaka, preko lokalizacije, ekspresije i aktivnosti pojedinih enzima. GalNAc transferaze (posebno GalNAcT2) kataliziraju inicijaciju O-glikozilacije, odnosno vezivanje GalNAc na serin ili treonin vezne regije IgA1.

Potom C1GALT1, čija biosinteza i aktivnost ovise o specifičnom molekularnom pratitelju (C1GALT1C1/Cosmc), na endoplazmatskom retikulumu katalizira vezanje galaktoze na GalNAc. Modifikacija formiranih galaktoza-GalNAc struktura odvija se dodavanjem sijalične kiseline na galaktozu (djelovanjem galaktoza-β1,3GalNAc-α2,3-sialiltransferaze (ST3Gal)) i / ili na GalNAc rezidue (djelovanjem α2,6-sialiltransferaze (ST6GalNAc)) (Slika 2) (12,16,36,71).



Slika 2. Glikozilacija IgA1 molekula (preuzeto i prilagođeno iz referencije br.71)

Glikozilacija spojne regije IgA1 važna je radi vezivanja molekula IgA1 preko galaktoze (moguće i preko GalNAc) na asijaloglikoproteinske receptore (ASGP-R, engl. *asialoglycoprotein receptors*) na površini hepatocita, nakon čega slijedi internalizacija cijelih IgA1 molekula i njihova kompletna degradacija djelovanjem lizosoma unutar navedenih stanica (36). Samo se male količine IgA kataboliziraju u bubrezima, koži i slezeni (36).

Iako se i u zdravih osoba mogu detektirati minimalne količine Gd-IgA1 (36), u većine oboljelih od HSP dokazan je nasljedni, najčešće autosomno dominantni (s penetracijom 80 %) (2,16,19,36,69), a u manjeg dijela X spolno vezani (39) poremećaj posttranslacijske modifikacije vezne regije IgA1, koji rezultira aberantnom O-vezanom glikozilacijom, odnosno naglašenom produkcijom Gd-IgA1 (12,36,39,52,69). Za razliku od IgA1, Gd-IgA1 u spojnoj regiji umjesto krajnjih

molekula galaktoze ima „ogoljele" molekule GalNAc (posebno na reziduama T228/S230 i S232) (1-3,16,69,73,74). Naprijed navedeno potvrđuje dokazano smanjena ekspresija galaktoziltransferaze, ali i povišena ekspresija sijalotransferaza u imunosnim stanicama koje produciraju IgA1 u oboljelih osoba (dominantno mukoznim stanicama, u manjoj mjeri u perifernim cirkulirajućim i intersticijskim stanicama te stanicama u koštanoj srži) (19,35,36,69-71). Sijalizacija smanjuje agregaciju IgA1 molekula, ali povećava afinitet Gd-IgA1 za mezangijske stanice (69).

Čak i uz genetsku predispoziciju, početak bolesti zahtijeva i okidač, odnosno „drugi hitac". Iako molekularna narav okidača još nije poznata, činjenica je da bolest često počinje nakon akutne infekcije gornjeg dijela respiratornog sustava (36). U oboljelih od HSP to ukazuje na alteraciju mukoznog imunološkog sustava u smislu moguće prekomjerne reaktivnosti i smanjene rezistencije na antigensku mukoznu penetraciju − proboj raznih mikrobnih antigena (uz moguću križnu reaktivnost s tkivnim antigenima) i mukoznih antigen-reaktivnih imunoloških stanica preko lokalnih limfnih čvorova (tzv. „mukoznog vatrozida") u sistemsku cirkulaciju, koštanu srž i druge organe, te promjene u interakciji signalnih molekula i IgA1 producirajućih stanica (12,35,70,75,76).

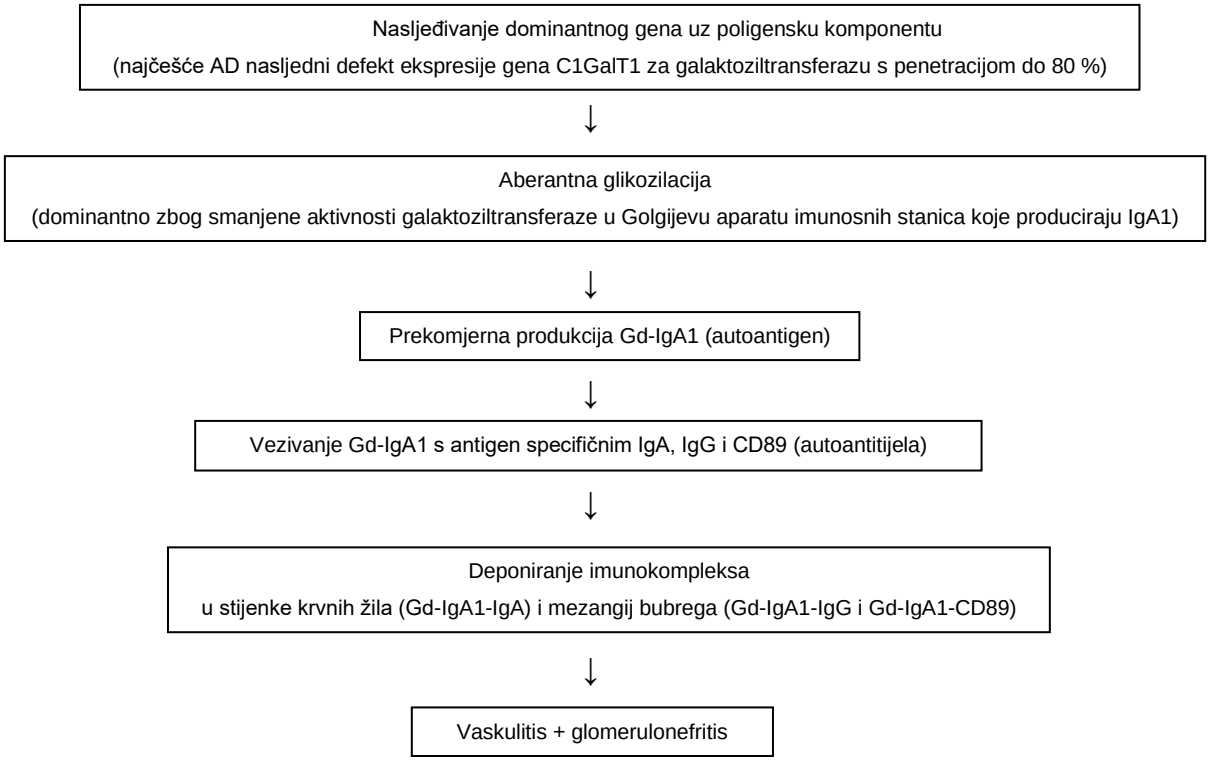
U bolesnika je dokazana povišena razina liganda koji inducira proliferaciju (APRIL, engl. *A proliferation-inducing ligand*) i djeluje na T neovisno dozrijevanje i dugoročno preživljavanje IgA producirajućih plazma stanica, povišena ekspresija B staničnog faktora aktivacije iz TNF obitelji (BAFF, engl. *B cell activating factor of the TNF family*) te citokina iz obitelji IL-6 (7,36,57,70,71). Njihovo zajedničko djelovanje, posebno djelovanje IL-6 preko kanoničkog pretvarača signala i aktivatora transkripcije 3 (STAT3, engl. *signal transducer and activator of transcription 3*) (36), rezultira naglašenom proliferacijom i produženim preživljavanjem limfocita B prilikom infekcija sluznice, a direktnim signalnim djelovanjem na Golgijev aparat i promjenom aktivnosti glikosijalotransferaza u konačnici i pojačanom produkcijom Gd-IgA1 (7,36,71). Na „proinflamatorno stanje" limfocita B ukazuje naglašena ekspresija mRNA za TLR9 (27,36) i BAFF u mononuklearima periferne krvi te povišene serumske koncentracije BAFF (36). U oboljelih je također dokazana i hiperreaktivnost limfocita B i T u odgovoru na specifičnu antigensku stimulaciju (virusi, bakterije, gljive), koja rezultira pojačanom

produkcijom Gd-IgA1 u mukoznim i tonzilarnim stanicama (15). U bolesnika je smanjen broj protuupalnih T regulacijskih (Treg) limfocita (3,77,78), kao i koncentracija IL-10. Broj proupalnih Th17 limfocita je povećan, uz povišene koncentracije IL-17 koji stimulira endotelnu produkciju kemokina i akumulaciju neutrofila u stijenci krvnih žila (3,77,79). Usto je povišen i broj cirkulirajućih folikularnih pomagačkih limfocita T koji produciraju IL-21 i imaju važnu ulogu u regulaciji aktivnosti limfocita B i pojačanoj produkciji IgA (80).

Kao ključnom elementu u razvoju HSP (81), prekomjernoj produkciji Gd-IgA1 od strane mukoznog imunološkog sustava (15,16,71) pridonose i infekcije pojedinim mikroorganizmima (posebno *Str. pneumoniae,* BHS-A, *H. influenzae* i *Neisseria meningitides* (36)), čije proteaze odvajaju galaktozu i sijaličnu kiselinu s GalNAc u veznoj regiji IgA1, pri čemu također nastaje Gd-IgA1 (7,39).

Neovisno o mehanizmu nastanka, molekule Gd-IgA1 u cirkulaciji međusobno su agregirane u formi polimera (36). Djeluju i kao autoantigeni, direktno stimulirajući produkciju specifičnog IgG s kojim stvaraju imunokomplekse (Gd-IgA1-IgG) (2,12,19,21,22,36,69,73,82,83). Za Gd-IgA1 (GalNAc) specifični IgG stvara se i kao križno reaktivna molekula tijekom imunoloških reakcija pokrenutih infekcijama različitim mikroorganizmima koji na svojoj površini također imaju molekule GalNAc (7,22). Gd-IgA1 formiraju i komplekse sa solubilnim CD89, (Gd-IgA1-sCD89) koji se s površine monocita odvaja nakon njihove aktivacije (7,12). Među svim navedenim, u oboljelih dominiraju Gd-IgA1-IgG imunokompleksi (36). U fiziološkim je uvjetima u zdravih ljudi IgA1 u serumu dominantno u formi monomera (> 90 %), a O-glikani djeluju antiagregacijski (36). Teoretski se i Gd-IgA1 (koji je u formi polimera), može vezati na ASGP-R (jer ASGP-R prepoznaje i GalNAc). No, ako je na GalNAc vezana sijalična kiselina ili je Gd-IgA1 u sastavu imunokompleksa, ASGP-R ne prepoznaje takve molekule IgA1 (36). Usto, zbog dimenzija cirkulirajućih imunokompleksa onemogućen je njihov prolazak kroz relativno male endotelne fenestre i ulazak Gd-IgA1 u Disseove prostore jetre, odnosno vezanje na hepatocitne receptore i njegova degradacija (7,12,16,19,22,35,36,71). Nasuprot tomu, navedeni cirkulirajući imunokompleksi lako prolaze kroz veće endotelne fenestre kapilara (posebno u koži i sluznici probavne cijevi), a preko glomerularnih krvnih žila ulaze i u mezangij bubrega (16,19,22,35,36,69), gdje uz aktivaciju alternativnog i lektinskog puta sustava

komplementa, direktno stimuliraju aktivaciju i proliferaciju mezangijskih stanica (19,35,69) te privlačenje i aktivaciju upalnih stanica (Slika 3) (16,19,22,35,36).



Slika 3. Pretpostavljeni patogenetski slijed nastanka Gd-IgA1 / patogeneze HSP (preuzeto i prilagođeno iz referencije br. 36)

Aktivacija sustava komplementa igra bitnu ulogu u patogenezi bolesti (36). Do aktivacije dolazi sistemski, na cirkulirajućim imunokompleksima koji sadrže Gd-IgA1-IgG, ali i lokalno, posebno u glomerulima, gdje mezangijske stanice mogu eksprimirati C3 komponentu komplementa nakon stimulacije imunokompleksima ili pod djelovanjem IL-1 i čimbenika tumorske nekroze alfa (TNF-α, engl. *tumor necrosis factor*) (36).

Na aktivaciju alternativnog puta sustava komplementa, tipičnu za HSP, ukazuje nalaz elemenata C3 u sastavu cirkulirajućih imunokompleksa oboljelih koji predstavljaju površinu na kojoj se aktivira C3 (posebno polimerne forme IgA), povišene serumske razine properdina, te depoziti C3 i properdina u bubrežnom tkivu, paralelni s depozitima IgA prema miješanom mezangijsko-kapilarnom uzorku (35,36). C3 među ostalim inducira sekretornu fazu mezangijskih stanica, odnosno pojačanu produkciju ekstracelularnog matriksa (36).

Na aktivaciju lektinskog puta sustava komplementa ukazuju depoziti MBL i MBL vezane serinske proteaze u mezangiju bubrega (69). Lektin inače ima visok afinitet za GalNAc na površini različitih mikroorganizama, ali i ogoljele GalNAc Gd-IgA1 u imunokompleksima deponiranim u mezangiju bubrega te se lektinski put smatra posebno važnim u oštećenju glomerula (3,7,83). Izraženost glomerularnih depozita MBL, MBL vezane serinske proteaze i C4d korelira sa stupnjem proteinurije, odnosno težinom histoloških promjena kod razvoja nefritisa (35,36).
Iako IgA ne može pokrenuti aktivaciju klasičnog puta komplementa, na njegovu barem djelomičnu aktivaciju ukazuju depoziti pentraksina 3 (PTX3, engl. *pentraxin*) − proteina vezanog uz aktivaciju klasičnog puta sustava komplementa koji produciraju mezangijske stanice stimulirane TNF-α i IgA (69). U stijenci kapilara papilarnog dermisa i subpapilarnog dermalnog pleksusa te bubrežnog tkiva, paralelno s depozitima IgA, dokazani su depoziti terminalnog C5b-9 kompleksa koji napada membranu i koji u bubrezima inducira mezangijski stres, potencira produciju fibronektina, transformirajućeg čimbenika rasta beta (TGF-β, engl. *transforming growth factor*) i IL-6 te dovodi do oštećenja podocita (36).

Deponiranje cirkulirajućih imunokompleksa koji sadrže Gd-IgA1 u mezangiju bubrega (u manjoj mjeri u subendotelnom i subepitelnom prostoru), potpomognuto intraglomerularnim filtracijskim tlakom (12), smatra se inicijalnim i specifičnim patogenetskim događajem u razvoju nefritisa u sklopu HSP (HSPN), ali i IgA nefropatije (IgAN) (16,22,36). Renalni depoziti IgA u HSPN sadrže polimerni IgA1, što ukazuje na sintezu IgA1 tijekom mukoznog imunološkog odgovora (36). Aktivnost imunokompleksa ovisi o veličini i njihovu sastavu: samo veliki IgA1 imunokompleksi (> 800 kDa) induciraju mezangijske stanice, a veći udio Gd-IgA1 u imunokompleksima pojačava njihovu sposobnost aktivacije i proliferacije mezangijskih stanica, odnosno kompleksi bez Gd-IgA1 ili sam Gd-IgA1 nemaju navedeni efekt (36). Iako se depoziti imunokompleksa s Gd-IgA1 smatraju ključnim u razvoju HSPN, intenzitet njihova deponiranja (dio Gd-IgA1 deponira se u mezangiju bubrega i neimunološkim vezanjem na proteine ekstracelularnog matriksa (36), u mezangiju može (81) ali ne mora nužno korelirati sa serumskom razinom Gd-IgA1 (76). Dio istraživanja pak navodi pozitivnu korelaciju između intenziteta mezangijskih depozita imunokompleksa s Gd-IgA1 te stupnja segmentalne glomerularne skleroze i tubularne atrofije/intesticijske fibroze

(S1 + T1/2 prema Oxfordskoj klasifikaciji) te negativnu korelaciju s procijenjenom brzinom glomerularne filtracije (eGFR, engl. *estimated glomerular filtration rate*) (81).

Vezanje imunokompleksa za mezangijske stanice (u užem smislu – potporne stanice unutar glomerula s funkcijom regulacije glomerularne filtracije i fagocitoze) odvija se preko mezangijskog transferinskog receptora − 1 (TfR1 ili CD71) (7,22,36,69) i IgA Fc receptora (FcαR1 ili CD89) (7,22,36): prvo se imunokompleksi s Gd-IgA1 vežu sa solubilnim CD89 te induciraju naglašenu mezangijsku ekspresiju CD71 (22,69). Vezanjem za CD71 pokreće se reakcija mezangijskih stanica na depozite imunokompleksa s Gd-IgA1, koja se manifestira proliferacijom, produkcijom ekstracelularnog matriksa te produkcijom i otpuštanjem MCP-1 i IL-8, koji privlače monocite i polimorfonukleare (35,36). Produciraju usto i prostaglandine, angiotenzin II te dušik-oksid sintaze (12). Mezangijske stanice mogu biti stimulirane i citokinima akutne (IL-1, TNF-α, IL-6) i kronične faze upale (trombocitnog faktora rasta i TGF-β), koje produciraju samostalno ili ih produciraju infiltrirane upalne stanice (12,35). IgA1 se također na mezangijske stanice može vezati putem integrina α1/β1 te α2/β1 (36).

Imunokompleksi aktiviraju i makrofage i limfocite (mezangijske stanice u širem smislu), koji također luče inflamatorne i profibrogene citokine i kemokine (15,82). Uz aktivaciju mezangijskih stanica, depoziti imunokompleksa aktiviraju i sustav komplementa (alternativni i posebno lektinski put), koji potencira razvoj upale odnosno nefritisa (7,15,22).

U oboljelih je povišena i aktivnost TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8 koje luče vaskularne endotelne stanice i koji propagiraju upalni odgovor (3,79,84). Pritom je posebno važno djelovanje TNF-α, koji povećava citotoksični potencijal glomerularnih makrofaga što rezultira formiranjem ekstracelularnog matriksa te oštećenjem glomerularne membrane, odnosno povećanjem njezine propusnosti i pojavom proteinurije (3). Na makrofage djeluje i MIF, proinflamatorni citokin koji pod djelovanjem imunokompleksa kod razvoja HSPN otpuštaju mezangijske stanice. MIF blokira nasumičnu migraciju makrofaga te ih lokalizira i imobilizira u intersticiju. Pod direktnim djelovanjem MIF-a i makrofaga slijedi indukcija proliferacije mezangijskih stanica uz intersticijsku fibrozu i formiranje polumjeseca (85).

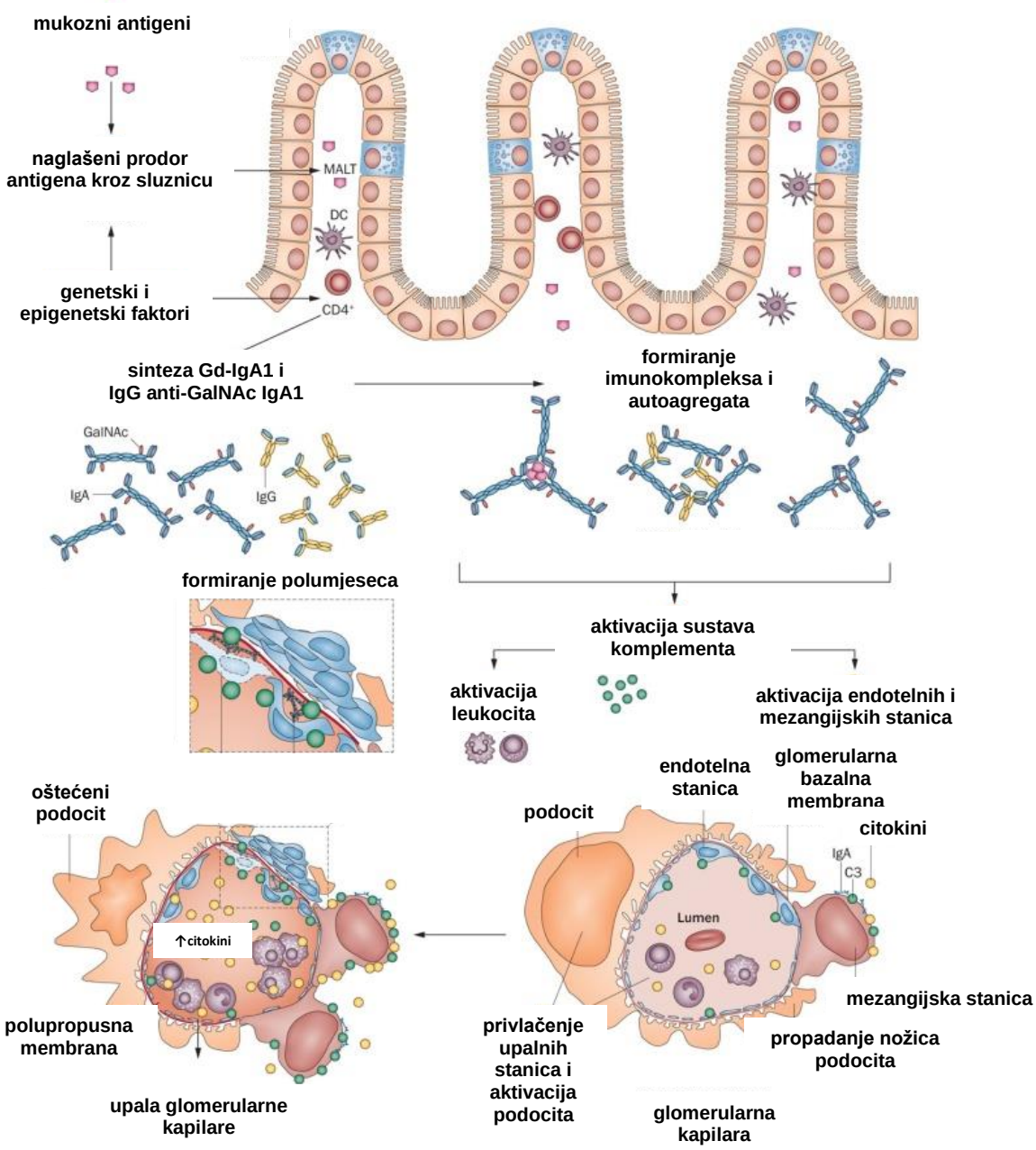
Kemokini koje produciraju mezangijske stanice (posebno TNF-α i TGF-β (12,36)) djeluju na podocite prouzročujući promjene u njihovu metabolizmu, migraciji i adherenciji na bazalnu membranu uz posljedično povećanje glomerularne propusnosti, odnosno razvoj proteinurije (12,35). Osim zbog djelovanja kemokina na podocite, proteinurija nastaje i zbog hiperfiltracije uslijed smanjenja ukupne mase funkcionalnih nefrona (35). Smatra se također da oksidativni stres, nastao na podlozi imunološki posredovanog oštećenja renalnih vaskularnih endotelnih stanica, rezultira aktivacijom tubularnih epitelnih i stromalnih stanica, što dovodi do mogućnosti razvoja intersticijske fibroze (86,87).

Polumjeseci su učestali nalaz u patohistološkom nalazu bioptata bubrega kod HSPN. Njihova je pojava obično udružena s destrukcijom kapilarnog zida i proliferacijom endokapilarnih stanica, a imunoflorescencijom se uz njih detektiraju i subendotelni depoziti IgA i komponente komplementa, a elektronskim mikroskopom gusti subendotelni depoziti (16,35). Pretpostavljeni patogenetski slijed njihova formiranja uključuje subendotelne i mezangijske depozite imunokompleksa s IgA, lokalnu aktivaciju sustava komplementa, produkciju IL-8 od strane mezangijskih i endotelnih stanica uz privlačenje neutrofila, ekspresiju von Willebrandova faktora na endotelnim stanicama i indukciju koagulacijske kaskade uz glomerularno deponiranje fibrina, destrukciju bazalne membrane, privlačenje makrofaga i citokinima induciranu proliferaciju epitelnih stanica u Bowmanovu prostoru te prekid kapsularnog integriteta Bowmanova prostora uz njegovu infiltraciju fibroblastima uz fibrozu (35). Pritom je važno da postoje naznake genetske predispozicije sklonosti razvoju polumjeseca u pojedinih bolesnika (35).

Fibrinogen koji se deponira u kapilarnim petljama i mezangiju dovodi do aktivacije imunosnih stanica (kod HSP posebno Th2 limfocita uz poliklonsku aktivaciju limfocita B), potencira razvoj upale stimulirajući produkciju IL-1, IL-6 i TNF-α od strane mononukleara, toksično djeluje na podocite uz ubrzavanje njihova propadanja, dovodi do disfunkcije endotelnih stanica i povećavanja mikrovaskularne permabilnosti te stimulira renalne fibroblaste preko TLR2, TLR4 i unutarstaničnih adhezijskih molekula uz razvoj intersticijske fibroze (88).

Zaključno, aberantna O-glikozilacija i posljedično naglašena sinteza Gd-IgA1 smatraju se ključnim elementima u formiranju Gd-IgA1 imunokompleksa i

njihovu odlaganju u stijenke kapilara i mezangij bubrega, odnosno pokretanju složenih imunoloških zbivanja u patogenezi HSP i HSPN (Slika 4) (12,36,76).



Slika 4. Patogeneza HSPN (preuzeto i prilagođeno iz referencije br. 12)

Uz sve navedeno, u prilog imunološkim zbivanjima kao osnovi HSP govore i nalazi povišenih koncentracija cirkulirajućih IgA1-ANCA i IgA1-RF (reumatoidni faktor) (3,7,15) IgA1-AECA (antiendotelna protutijela, engl. *anti-endothelial cell antibodies*) (3,7,15,89) i IgA1-aCl (antikardiolipinska protutijela) (69,84,89-91).

U patogenezi, prije svega ekstrarenalnih elemenata HSP, posebno su važna AECA (7), križno reaktivna protutijela koja nastaju prilikom infekcije pojedinim mikroorganizmima. Svoju ulogu u patogenezi ostvaruju preko molekula β2-GPI (beta 2 glikoprotein I), koje se vežu na površinske fosfolipide endotelnih stanica i pritom otkrivaju dotad skrivene antigene. AECA se s visokim afinitetom vežu na β2GPI (β2- glikoprotein I) i pritom aktiviraju endotelne stanice uz posljedičnu produkciju IL-8 i neutrofilnu kemotaksiju. Privučeni neutrofili bivaju aktivirani vezivanjem IgA na FcαR1, a oni, među ostalim, produciraju TNF-α koji potencira vezanje AECA na endotel, te leukotrien B4 koji pokreće migraciju neutrofila. Osim toga, AECA induciraju oštećenje endotelnih stanica mehanizmima komplementom posredovane citotoksičnosti (7).

Kako u dijelu radova nije nađena povišena serumska razina Gd-IgA1 (12,35,36,39,69,83), niti IgG u IgA1 imunokompleksima u bolesnika s HSP bez nefritisa (12,36), razlika između razvoja HSP i HSPN mogla bi upravo biti dominacija mehanizma putem AECA kod HSP, odnosno putem Gd-IgA1 kompleksa kod HSPN (7).

Konačno, u prilog kompleksnoj patogenezi HSP govori i činjenica da se navedena bolest javlja samo u dijela osoba s defektom glikozilacije IgA1, odnosno rođaci oboljele osobe s povišenim serumskim koncentracijama Gd-IgA1 u pravilu ne obolijevaju (2,12,36). Prema teoriji dvaju hitaca, smatra se da sam defekt glikozilacije nije dostatan za razvoj bolesti nego je nužan i drugi hitac, odnosno djelovanje još nekog nasljednog faktora ili faktora okoliša koji pokreće razvoj bolesti (2,7). Moguće je da je riječ o individualnoj razlici u stupnju agregacije Gd-IgA1, prisutnosti drugih molekula osim Gd-IgA1 u imunokompleksima te različitu djelovanju oksidativnog stresa (12). Nasuprot tomu, dio oboljelih od HSP (< 10 %) nema povišene vrijednosti Gd-IgA1 u serumu ili bioptatima, što ukazuje na mogućnost i drugačije etiopatogeneze bolesti, neovisne o poremećaju glikozilacije vezne regije IgA1, odnosno prouzročene drugim nasljednim faktorima ili faktorima okoliša (2,19,22). U tih je bolesnika moguće riječ o djelovanju plazminskog receptora povezanog s nefritisom (NAPIr, engl. *nephritis-associated plasmin receptor*) iz grupe BHS-A antigena (19,22) ili o eozinofilnoj aktivaciji, odnosno renalnoj ekspresiji alfa aktina glatkog mišića (α-SMA, engl. *alpha-smooth muscle actin*) (19). Zanimljivo je i da približno 5 % opće populacije ima visoke serumske

koncentracije Gd-IgA1, većinom bez ikakvih kliničkih reperkusija (36,71). U serumu ostalih zdravih osoba Gd-IgA1 može se detektirati u minimalnim koncentracijama (36).

1.1.3. Histologija

Tipičan histološki nalaz pri svjetlosnoj mikroskopiji bioptata kožne eflorescencije kod HSP je leukocitoklastični vaskulitis obilježen infiltracijom neutrofila u stijenke i oko kapilara gornjih i srednjih slojeva dermisa, uz fragmentaciju njihovih jezgara, dok se imunoflorescencijom detektiraju depoziti IgA i C3 u stijenci navedenih krvnih žila (3,15,16,20). Kombinacija tih dvaju nalaza rezultira specifičnošću od 100 % u postavljanju dijagnoze IgA vaskulitisa (16), uz napomenu da se prilikom biopsije kožne promjene, a kako bi se izbjegli lažno negativni nalazi, preporučuje bioptirati rub svježe kožne eflorescencije jer IgA depoziti nestaju tijekom vremena zbog proteolize i fagocitoze (3). Histološki nalazi pri svjetlosnoj mikroskopiji bioptata bubrega u slučaju razvoja HSPN mogu varirati, od umjerene fokalne ili segmentalne mezangijske proliferacije do teškog mezangioproliferativnog glomerulonefritisa s polumjesecima uz segmentalnu kapilarnu trombozu (15,16). U ranoj, akutnoj fazi, karakteristična je mezangijska i endokapilarna hipercelularnost s fibrinoidnom nekrozom i malim celularnim polumjesecima, a u uznapredovaloj fazi dominira segmentalna skleroza s fibroznim polumjesecima (12). Pri imunoflorescenciji se nalaze difuzno rasprostranjeni, granulirani depoziti IgA (koji dokazano odgovara Gd-IgA1) (76), moguće u kombinaciji s depozitima IgM i IgG (31), C3 i properdina u mezangiju i rjeđe u paramezangijskim kapilarama (15,16,39). Nedostatak C1q i C4 (klasični put aktivacije komplementa) − (iako nalaz može biti i pozitivan (31)), razlikuje ovaj nalaz u odnosu na druge imunološki posredovane glomerulonefritise (npr. nefritis u sklopu sistemskog eritemskog lupusa (SLE) (16). Nalaz fibrinogena ukazuje na lošiju prognozu nefritisa (92). Na elektronskom mikroskopu vide se difuzni gusti depoziti u mezangiju (16,35).

1.1.4. Klinička slika bolesti

Razvoju kliničke slike HSP u većine oboljele djece prethodi najčešće akutna infekcija gornjeg dijela respiratornog trakta, koja se razvije nekoliko dana ili tjedana prije (3,5,8,9,15,20,38,59). U tim su slučajevima najčešće izolirani uzročnici u brisevima ždrijela i nazofarinksa streptokoki, stafilokoki te virus parainfluence, a rjeđe je riječ o drugim bakterijama ili virusima (3,7,16,17,22,60-64). U dijela bolesnika sa simptomima akutne respiratorne infekcije ne detektira se mikrobiološki uzročnik (1,16). Nasuprot tomu, opisani su i rjeđi slučajevi razvoja bolesti nakon akutnog gastroenteritisa ili infekcija urotrakta te u pravilu pojedinačni slučajevi nakon cijepljenja (najčešće cjepivo protiv ospica, parotitisa i rubeole (MoPaRu)) (32), primjene različitih lijekova, u sklopu alergijskih reakcija na nutritivne alergene, kroničnog tonzilitisa, reumatske vrućice te nakon uboda insekata ili ozljeda (strujni udar) (3-5,16,17,66-68). U manjeg dijela oboljele djece HSP se ne može povezati s pretpostavljenim egzogenim okidačem.

Klinički karakteristična manifestacija bolesti jesu kožne eflorescencije koje se inicijalno mogu javiti u formi urtikarijalnog ili makulopapuloznog osipa, a potom evoluiraju u tipične promjene tipa palpabilne purpure s petehijama i ekhimozama koje ne blijede na pritisak (3). Opisani su i pojedinačni slučajevi buloznog hemoragijskog osipa (16,93). S dobi bolesnika smanjuje se elevacija eflorescencija iznad razine kože, a povećava se opseg i učestalost ekhimoza (manji elasticitet dermisa) (3). Eflorescencije mogu biti različitih dimenzija (od nekoliko mm do nekoliko cm u promjeru) i različite gustoće − od rijetkih do gustih ili konfluirajućih i nisu praćene svrbežom. U pravilu su tipičnog rasporeda: inicijalno su najčešće lokalizirane oko lateralnih maleola, a potom se postupno šire na kožu stopala, nogu i glutealne regije, što se objašnjava djelovanjem sile teže i mjestima izraženog vanjskog pritiska na površinske kapilare kože (6,15). Mogu se razviti i na koži skrotuma, ruku, aksila te retroaurikularnog područja, a rijetko mogu biti i difuzne (15,24). U pravilu se razvijaju i evoluiraju brzo, kroz nekoliko sati, a potom tijekom u prosjeku desetak dana mijenjaju boju od inicijalno crvene, zatim ljubičaste i smeđe do postupnog blijeđenja i nestajanja (dinamika površinskih kožnih hematoma) (17). U pojedinim fazama bolesti, s obzirom na neravnomjerno i/ili ponavljajuće izbijanje, mogu biti u različitim fazama regresije. Kod izraženog

vaskulitisa mogu nekrotizirati uz sekundarno, ožiljno cijeljenje (3,6,15,16,17,24,93) (Slike 5A i 5B).




Slike 5A i 5B. Kožne promjene kod HSP (vlastita arhiva autora, fotografirano uz dozvolu roditelja)

U do 78 % bolesnika razvijaju se artralgije/artritis, koji u pravilu zahvaćaju gležnjeve i/ili koljena (16,23). Nemigratornog su tipa, rijetko zahvaćaju druge zglobove i mogu prethoditi kožnim promjenama. Regrediraju kroz nekoliko dana do tjedana bez posljedica (15,16).

U 50 − 75 % oboljelih razvijaju se difuzni bolovi u trbuhu, koji mogu biti praćeni mučninom i povraćanjem (15,16,23). Bolovi nastaju zbog otoka sluznice dominantno jejunuma uslijed vaskulitisom prouzročenog submukoznog krvarenja i edema stijenke crijeva, a mogu biti praćeni okultnim ili makroskopskim krvarenjem. Bolovi se rijetko mogu razviti i zbog akutnih komplikacija koje zahtijevaju hitnu kiruršku intervenciju. Među njima najčešća je intususcepcija, a bitno rjeđe perforacija (94), formiranje fistule, masivna hematemeza, pankreatitis (95), kolecistitis ili hidrops žučnjaka s mogućom perforacijom (95,96) te pseudomembranozni kolitis (3,15,16,23). Bolovi u trbuhu obično se javljaju paralelno s kožnim promjenama, ali mogu im prethoditi i do dva tjedna.

U do 100 % bolesnika, ovisno o strogosti kriterija i učestalosti uzimanja uzoraka urina u pojedinim radovima, razvija se nefritis (1,2,4,11,15,16,19,22,23,27,28,33,35,40,59,63,69,83,88,97-101). U većini slučajeva riječ je o blagom, tranzitornom nefritisu, obilježenom mikrohematurijom i/ili graničnom proteinurijom, koji se obično kao posljednji simptom razvija unutar četiri do osam tjedana (1,10,12,16,18,69,98), bitno rjeđe do nekoliko mjeseci nakon prve pojave kožnih promjena (1,15,98). Moguć je i akutni razvoj teškog nefritisa s nefrotskim / nefritičkim sindromom, hipertenzijom ili akutnim zatajenjem

bubrega. U 1 − 25 % bolesnika s nefritisom (2,5,8,10,11,15,19,22,28,33,37,83,98), on poprima formu kronične, progresivne bolesti koja dovodi do kronične renalne insuficijencije, u pravilu kroz nekoliko godina (15).

U 10 − 20 % muške djece može se razviti orhitis (3), koji se najčešće prezentira bolnim, unilateralnim skrotalnim edemom (5,102), moguće i eritemom (103). Rijetke su druge komplikacije vezane uz urogenitalni sustav, kao što su torzija i nekroza testisa, prijapizam, ureteritis s opstrukcijom uretera i hidronefrozom, epididimitis, tromboza krvnih žila, hematom ili edem sjemenovoda, purpurične lezije ili tromboza penisa te otok prepucija (3,5,18,98,104,105).

U rijetke, ali moguće manifestacije bolesti, ubrajaju se vaskulitis pluća s krvarenjem (hemoptiza, pad koncentracije eritrocita, plućni infiltrati na rendgenskoj snimci srca i pluća), afekcija središnjeg živčanog sustava u vidu vaskulitisa ili sindroma posteriorne reverzibilne encefalopatije / hipertenzivne encefalopatije (glavobolje, konvulzije, smetnje vida, pareza ličnog živca) i miozitis (3,16,23,98,106-109).

Bolest je u pravilu samoograničavajućeg, benignog tijeka (1,5,17). Simptomi afekcije kože, zglobova i probavne cijevi mogu se javiti u bilo kojem redoslijedu, fluktuiraju u trajanju od nekoliko dana do tjedana i potom u potpunosti regrediraju (1). Mogući su relapsi navedenih simptoma, najčešće kožnih promjena, koji se javljaju u približno trećine djece u pravilu unutar šest mjeseci od njihove prve pojave (5). U dijela bolesnika vezani su uz ponovljene akutne respiratorne infekcije gornjeg dijela respiratornog trakta, dok se u dijela bolesnika javljaju bez jasnog okidača (15). Obično su praćeni blaže izraženim simptomima (5), a zanimljivo je da je infekcija u anamnezi koja prethodi prvoj epizodi bolesti protektivni faktor za relapse (110).

Klinička slika HSP može se razviti udruženo s bolestima jetre, upalnim bolestima crijeva, ankilozantnim spondilitisom te atopijskim dermatitisom (21,111-113). Diferencijalno dijagnostički, osim kod drugih vaskulitisa (hipersenzitivni, urtikarijski hipokomplementarni, AAV...), simptomi nalik onima kod HSP mogu se javiti u trombocitopeničnim purpurama (idiopatska ili trombotička) ili drugim reumatskim bolestima (SLE, juvenilnom dermatomiozitisu (JDM), Sjögrenovu sindromu ili miješanim bolestima veziva) (18,22). U slučaju febriliteta prvo treba isključiti meningokoknu sepsu i diseminiranu intravaskularnu koagulaciju, ali

pomišljati i na obiteljsku mediteransku vrućicu te druge sindrome periodične vrućice (20,50).

1.1.5. Laboratorijski nalazi

Rutinski laboratorijski nalazi nisu specifični u djece s HSP (18).

U do 62,5 % djece s HSP registrirana je ubrzana sedimentacija eritrocita (SE) (17,20) koja, isto kao i povišene vrijednosti C-reaktivnog proteina (CRP), ne korelira s rizikom od razvoja HSPN (13).

U do 31 % djece s HSP registrirana je anemija (20). U do 45,7 % djece registrirana je leukocitoza (20), koja ukoliko je izražena ($L > 15 \times 10^9/L$) korelira s povećanim rizikom od razvoja HSPN (8,13). U do 57,8 % djece registrirana je trombocitoza (20) koja prema Chanu i suradnicima također pozitivno korelira s rizikom od razvoja nefritisa (13).

U dijelu istraživanja u većine djece s HSP u akutnoj fazi detektirane su visoke koncentracije d-dimera koje su dobro korelirale s težinom bolesti. Smatra se da navedeni nalaz predstavlja lokalnu reakciju unutar inflamiranih krvnih žila, a ne sistemsku aktivaciju sustava koagulacije i hiperfibrinolizu (3). Prema istraživanju Wanga i suradnika, povišene koncetracije d-dimera pozitivno koreliraju s rizikom od razvoja HSPN (29).

U više od 50 % djece s HSP utvrđene su povišene koncentracije IgA u akutnoj fazi bolesti (3,13,20), ali bez razlike među oboljelima s nefritisom i bez njega (114), te stoga nisu prognostički faktor u smislu rizika od razvoja nefritisa (3,13). Međutim, prema istraživanju Parka i suradnika, omjer IgA1 i C3 pozitivno korelira s rizikom od razvoja nefritisa (3). Koncentracije IgG i IgM u serumu oboljelih jednake su kao u zdrave djece (114).

U 3 − 33 % djece s HSP detektirana je snižena ukupna aktivnost klasičnog puta aktivacije komplementa (CH50), u 4 − 8 % koncentracija C3, te u 8 − 17 % koncentracija C4 komponente komplementa (17,115). Dio istraživača navodi hipokomplementemiju kao tranzitorni fenomen koji nije vezan uz rizik od razvoja nefritisa (3,12,17,115). Nasuprot tomu, postoje i istraživanja koja snižene koncentracije C3, registrirane u 10 − 20 % djece s HSPN, navode kao neovisni

rizik od razvoja HSPN (8,13). Postoje i istraživanja u kojima nije detektirana hipokomplementemija (20).

Antistreptolizinski titar (AST-O) povišen je u 47,5 % djece s HSP (17). Povišene vrijednosti koreliraju s rizikom od razvoja HSPN, ali definitivni mehanizmi koji povezuju streptokoknu infekciju i HSPN zasad su nepoznati (8,13).

Antinuklearna protutijela (ANA, engl. *antinuclear antibodies*) i ANCA u djece s HSP su nedetektibilna (20).

U 20 − 80 % djece s HSP registrirana je hematurija s proteinurijom ili bez nje te nefritički i/ili nefrotski sindrom (23). Kod nefrotskog sindroma u djece su snižene serumske koncentracije albumina i IgG te povišene serumske koncentracije ureje (31).

U 51,5 % djece pozitivan je test stolice na okultno krvarenje u akutnoj fazi bolesti (4), a navedeni nalaz prema dijelu istraživanja korelira s rizikom od razvoja nefritisa (13,116).

1.1.6. Klasifikacijski kriteriji i postavljanje dijagnoze

Vezano uz postavljanje dijagnoze, bolest se klinički obvezno prezentira netrombocitopeničnom, palpabilnom purpurom, u gotovo 90 % slučajeva sa specifičnim rasporedom eflorescencija na koži stopala, potkoljenica i glutealne regije (3,6,15), dok je u preostalim slučajevima difuzna (24). Prema EULAR/PRINTO/PReS klasifikacijskim kriterijima iz 2008. godine, na razvoj bolesti u dječjoj dobi (uz ukupnu senzitivnost od 100 % i specifičnost od 87 % (6,9,20,24)), ukazuje prisutnost još barem jednog od ostalih simptoma: artritis/artralgije jednog ili više zglobova (najčešće distalnog dijela donjih ekstremiteta), bolovi u trbuhu i nefritis, dok se u slučaju biopsije, u bioptatu kožne promjene ili bubrega detektiraju depoziti IgA (Tablica 1) (3,5,6,12,16,23,24,32).

Tablica 1. EULAR/PRINTO/PReS kriteriji za HSP (preuzeto i prilagođeno iz referencije br. 24)

kriterij	objašnjenje	senzitivnost (%)	specifičnost (%)
purpura (obvezni kriterij)	purpura (obično palpabilna ili zrnata) ili petehije, s predominacijom na donjim ekstremitetima, nevezano uz trombocitopeniju	89	86
bolovi u trbuhu	difuzni bolovi u trbuhu po tipu kolika, s akutnim početkom, u anamnezi ili kod fizikalnog pregleda mogu uključivati intususcepciju ili gastrointestinalno krvarenje	61	64
histopatologija	tipično leukocitoklastični vaskulitis s predominacijom IgA depozita ili proliferativni glomerulonefritis s predominacijom IgA depozita	93	89
artritis/artralgije	artritis s akutnim početkom: otok zgloba ili bol u zglobu s ograničenjem opsega pokreta artralgije s akutnim početkom: bol u zglobu bez otoka ili ograničenja pokreta	78	42
zahvaćanje bubrega	proteinurija > 0,3 g/24h ili > 30 mmol/mg omjera albumin/kreatinin (U) u jutarnjem uzorku hematurija ili nakupine E: > 5 E / u polju visoke rezolucije ili nakupine E u vidnom polju ili ≥ 2+ na pregledu test trakom	33	70
	purpura (obično palpabilna ili zrnata) ili petehije i bar još jedan od sljedećih četiriju kriterija: - bolovi u trbuhu - patohistološki nalaz - artritis/artralgije - afekcija bubrega	100	87

Prema preporukama SHARE inicijative (engl. *Single Hub and Access point for paediatric Rheumatology in Europe*) iz 2019. godine (23), u dijagnostičkom algoritmu za IgA vaskulitis, biopsija jedne od najsvježijih kožnih eflorescencija indicirana je samo kod atipičnog rasporeda eflorescencija. Svrha klasične patohistološke analize i imunoflorescencije, kojima se detektira leukocitoklastični vaskulitis s depozitima IgA (uz napomenu da negativan nalaz imunoflorescencije ne isključuje dijagnozu HSP (117), potvrda je dijagnoze HSP, ali i isključivanje drugih oblika vaskulitisa, na primjer AAV, koji posebno u starije djece inicijalno mogu nalikovati na HSP.

Prema preporukama te inicijative, a vezano uz mogući razvoj HSPN, nužno je redovito praćenje svih bolesnika uz mjerenje krvnog tlaka, određivanje eGFR, analizu urina u smislu detekcije hematurije i određivanje koncentracije proteina u urinu, kroz minimalno 6 − 12 mjeseci, čak i kad su svi navedeni parametri inicijalno uredni. Iako je nefritis u većine bolesnika blag (normalni eGFR, blaga do umjerena proteinurija, PHD (patohistološka dijagnoza) glomerulonefritis klase I ili II prema klasifikaciji međunarodne studije bubrežnih bolesti u djece (ISKDC, engl. *International Study of Kidney Disease in Children*) i tranzitoran (nekoliko tjedana),

ključni je cilj ovakvog pristupa detekcija kontinuirane bubrežne upale koja s vremenom može progredirati do nepopravljivog, kroničnog oštećenja bubrežne funkcije. Kod bolesnika s utvrđenim nefritisom u bilo kojem trenutku bolesti ili praćenja, biopsija bubrega indicirana je u slučajevima teške proteinurije (> 2,5 g/dU, kroz ≥ 4 tjedna ili prije, ovisno o procjeni), perzistentne umjerene proteinurije (1 − 2,5 g/dU kroz ≥ 3 mjeseca), pada eGFR ispod 80 ml/min/1,73 m^2, razvoja akutnog oštećenja bubrega s poremećajem bubrežne funkcije u sklopu brzoprogresivnog glomerulonefritisa te u slučajevima razvoja nefrotskog ili nefritičkog sindroma. U slučajevima jakih abdominalnih bolova, SHARE inicijativa preporučuje isključivanje razvoja akutnog kirurškog zbivanja (posebno intususcepcije), primarno ultrazvučnom evaluacijom intraabdominalnog statusa (16,23).

1.1.7. Tijek bolesti

HSP je najčešće benigna, samoograničavajuća bolest koja prosječno traje četiri tjedna (1,5,17), ali u trećine oboljelih inicijalni simptomi ponavljaju se u razdoblju i do šest mjeseci (1,6,63). Relapsirajući tijek bolesti češći je, ovisno o istraživanju, u slučaju protrahiranog trajanja purpure, razvoja artritisa (8), povećanog broja leukocita u krvnoj slici na početku bolesti, perzistentne hematurije ili pozitivnih nalaza stolice na okultno krvarenje (9). Protektivni učinak u smislu relapsa ima prethodna infekcija u anamnezi (9). Iako se u akutnoj fazi bolest može komplicirati izraženom afekcijom probavnog sustava, rjeđe testisa, pluća ili središnjeg živčanog sustava, glavni je i gotovo jedini uzrok morbiditeta i mortaliteta djece oboljele od HSP nefritis, odnosno HSPN (6,12-14,22,99,100). HSPN (definiran nalazom eritrociturije i/ili proteinurije), ovisno o strogosti kriterija i učestalosti analize uzoraka urina u različitim istraživanjima, razvija se u do 100 % djece s HSP (13,14,27,32,35,39,114,118). Obično se otkrije unutar četiri do šest tjedana, odnosno u do 97 % slučajeva unutar tri do šest mjeseci (1,12,15,37,98), kao posljednji simptom nakon pojave prvih kožnih eflorescencija (1,12,15,37,63,98). Prezentira se mikrohematurijom (> 5 E/mm^3) i/ili graničnom proteinurijom (koncentracija proteina u 24-satnom urinu: 0,15 – 0,5 g/dU) (hematurija i proteinurija istodobno u 50 % bolesnika (37)), u trajanju od nekoliko

tjedana (1,15). Ipak, u 1 − 15 % bolesnika s minimalnim abnormalnostima urina (32,37,97,114,119), a u 20 − 40 % bolesnika koji inicijalno razviju nefritički ili nefrotski sindrom (1,9,37,97,119), razvija se u razdoblju od nekoliko mjeseci do nekoliko godina trajno oštećenje bubrežne funkcije različitog stupnja (5,31,37,97). Rizik od takvog ishoda u bolesnika s HSPN trenutačno je potpuno individualno nepredvidiv (12,14,15,118,120). Zasad se još samo pretpostavlja da kompletna rezolucija nefritisa nastaje kod kratkog djelovanja uzročnog faktora, odnosno ranog početka adekvatne terapije (12,23,121). S obzirom na to da se među svim oboljelima u kojih se razvije HSPN on registrira u 97 % slučajeva unutar tri do šest mjeseci od pojave prvih simptoma (1,12,37,98) nužno je redovito praćenje svih oboljelih od HSP prema SHARE smjernicama kroz minimalno 6 − 12 mjeseci od početka osnovne bolesti, neovisno o jenjavanju ili potpunoj regresiji svih ostalih simptoma (23). Manji dio autora smatra da kod dijela bolesnika može doći do privremene potpune normalizacije nalaza urina, što pogrešno može upućivati na ozdravljenje, nakon čega ponovno uslijedi relaps i progresija nefritisa (3,24,35,37,82). Stoga navedeni autori preporučuju praćenje oboljele djece u puno dužem razdoblju, čak i do 20 godina (3,12,24,37,82).

1.1.8. Liječenje

Liječenje HSP zahtjevno je s obzirom na velik broj oboljelih sa spontanim povoljnim ishodom bolesti te nasuprot tomu, individualno nepredvidiv tijek bolesti. Usto, donedavno nisu postojale jedinstvene smjernice za liječenje ni same osnovne bolesti ni njezine glavne komplikacije – HSPN, što je rezultiralo izrazitim varijacijama u terapijskim pristupima (1,8,10,12,15,16,18,19,22,23,35,74,83,98,99, 122-127). Glavni je razlog navedenog baziranje preporuka na iskustvima u liječenju IgAN (22) te na ekspertnom mišljenju pojedinih skupina stručnjaka, a ne na kontroliranim studijama (23).

SHARE inicijativa objavila je u siječnju 2019. preporuke za liječenje HSP i HSPN u dječjoj dobi (23). Prema njima, analgezija paracetamolom ili ibuprofenom zbog artralgija/artritisa nije kontraindicirana ako kod bolesnika nema znakova nefritisa ili postoji samo mikrohematurija. Primjena nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID, engl. *nonsteroidal anti-inflammatory drugs*) kontraindicirana je kod akutnog

krvarenja iz probavnog sustava, ali analgezija se bez odgode preporučuje i u djece s jakim abdominalnim bolovima, a tijekom dijagnostičkog isključivanja akutnog, kirurškog abdominalnog zbivanja. Iako većina djece u liječenju zahtijeva samo suportivnu terapiju i eventualno adekvatnu analgeziju, u neke djece indicirana je i primjena glukokortikoida. Osim u pojedinim slučajevima HSPN, glukokortikoidi su indicirani i kod razvoja orhitisa, vaskulitisa CNS-a, plućnog krvarenja te izražene afekcije probavnog sustava (posebno izraženih bolova u trbuhu te intestinalnog krvarenja). U najtežim slučajevima navedenih komplikacija mogu biti indicirane i puls doze metilprednizolona. Profilaktička primjena glukokortikoida u liječenju HSP ne preporučuje se (1,5,6,8,16,18,23,128-130), jer među ostalim ne sprečavaju razvoj HSPN (100). Nadalje, u djece u koje se registrira mikroskopska hematurija bez poremećaja bubrežne funkcije i proteinurije te u djece s blagom (do 1 g/dU) ili umjerenom (1−2,5 g/dU) tranzitornom proteinurijom, terapija nije potrebna. U slučaju proteinurije koja traje duže od tri mjeseca, neovisno o eventualnoj terapiji glukokortikoidima ili drugim imunosupresivima, preporučuje se terapija inhibitorima angiotenzin konvertirajućeg enzima ili blokatorima angiotenzinskih receptora kako bi se preveniralo sekundarno glomerulano oštećenje. U slučaju blagog HSPN (normalni eGFR i blaga do umjerena proteinurija), preporučuje se oralna primjena glukokortikoida. Ako unatoč terapiji i dalje postoji perzistentna proteinurija, preporučuje se kao drugu liniju ili dodatnu terapiju uvesti azatioprin, mikofenolat mofetil ili ciklosporin. Moguće je primijeniti i puls doze metilprednizolona iako su one rijetko potrebne kod blagog nefiritsa. Kod umjerenog nefritisa (< 50 % polumjeseca u bioptatu bubrega + eGFR < 80 ml/min/1,73m^2 ili teška perzistentna proteinurija (> 2,5 g/dU)), preporučuje se terapija prednizolonom p. o. ili metilprednizolonom i. v. (uključujući i puls doze) uz dodatak azatioprina ili mikofenolat mofetila p. o. ili ciklofosfamida i. v. U slučajevima teškog HSPN terapija je identična terapiji nefritisa kod drugih sistemskih vaskulitisa sa zahvaćanjem bubrega, npr. kod AAV. Inicijalno se koriste visoke doze glukokortikoida i ciklofosfamida i. v. za indukciju remisije, a za njezino održavanje niske doze glukokortikoida u kombinaciji s azatioprinom ili mikofenolat mofetilom (6,23).

U literaturi se kao opcija liječenja u slučaju relapsa kožnih promjena i perzistirajućih patoloških nalaza urina u oboljele djece s kroničnim tonzilitisom

često navodi i tonzilektomija s adenoidektomijom. Po navedenim zahvatima u dijela bolesnika opisan je prestanak relapsa kožnih promjena, a u bolesnika s nefritisom čak i normalizacija patološkog nalaza urina (35,63,131-136). Međutim, kako pojačana aktivnost imunološkog sustava u oboljelih od HSP ovisi i o ekstratonzilarnom mukoznom limfoidnom tkivu (MALT, engl. *mucosa-associated lymphoid tissue*), a s druge strane, sam Gd-IgA1 nije jedini patogenetski faktor u pokretanju bolesti (131), nužno je provjeravanje učinkovitosti i opravdanosti navedenih zahvata u većim, kontroliranim studijama (35,134,135).

1.1.9. Prognoza

HSP u dječjoj dobi u pravilu je benigna, samoograničavajuća bolest koja najčešće spontano regredira kroz nekoliko tjedana, bez ikakvih posljedica (1,4,5,17,23). Dugoročno je gotovo jedini uzrok morbiditeta i mortaliteta kronična bubrežna bolest (6,12,14,22,23,31,37,99,100). U slučaju razvoja nefritisa: češće u djece starije od deset godina (4,8,13,30), dječaka (8,12,13,31) i pretile djece (137, u slučajevima opsežnijih kožnih promjena koje zahvaćaju i trup i gornje ekstremitete (116) ili traju duže od mjesec dana (8,10,13,48,128,138,139), kod relapsa bolesti (12,13,15,48,139), kod afekcije probavnog sustava (8,12,13,29,31,48,128,139), nalaza okultnog krvarenja u stolici (13,116), kod rano detektiranih abnormalnosti urina (101), ranog razvoja ili perzistiranja nefritičkog i/ili nefrotskog sindroma (8,10,11,15,16,31,35,48,97,99,128), ali i odgođenog razvoja nefritisa (> 1 mj. nakon kožnih promjena) ili proteinurije duže od jedne godine (14), hipertenzije (35,99), leukocitoze (> 15 x 10^9/L) (8,13, trombocitoze (> 500 x 10^9/L) (8,13,140) ili niskih vrijednosti C3 (8,13), povišenih vrijednosti AST-O (8,13), povišene razine d-dimera (29,141), snižene aktivnosti faktora XIII (15), kod histološkog nalaza papilarnog dermalnog edema i perivaskularnih depozita C3 pri biopsiji kožne eflorescencije (40), a posebno kod nalaza više od 50 % ekstrakapilarnih, polumjesečastih formacija u bioptatu bubrega prema ISKDC klasifikaciji (10,23,35,48,125,128), vjerojatnost razvoja kroničnog nefritisa i trajnog oštećenja bubrežne funkcije, uključujući i terminalno zatajenje, iznosi ukupno 1 do 25 % (2,5,8,11,12,14,15,19,22,23,28,33,35,37,83,98,142,143). Međutim, u slučaju razvoja HSPN, njegova progresija prema terminalnom zatajenju bubrega i dalje se

trenutačno smatra individualno nepredvidivom. Čak i lezije nižeg stupnja prema ISKDC klasifikaciji mogu biti vezane uz progresiju prema kroničnoj bubrežnoj bolesti (CKD, engl. *chronic kidney disease*), a lezije višeg stupnja mogu rezultirati (čak i spontanim), izlječenjem (12,14,22,31,35,37). Terminalno zatajenje bubrega (ESRD, engl. *end stage renal disease*) kao posljednji − 5. stupanj CKD, može se razviti polagano, kroz nekoliko godina (15), ali i iznenada, nakon inicijalno blagog nefritisa ili godina praćenja diskretnih, stabilnih urinarnih abnormalnosti (22,31,37).

1.1.10. Histološke klasifikacije nefritisa u sklopu HSP

Zlatnim standardom za potvrdu dijagnoze i praćenje uspjeha liječenja HSPN smatra se biopsija bubrega (37).

Najčešće primjenjivana histološka klasifikacija korištena za analizu bioptata bubrega kod HPSN je ISKDC klasifikacija objavljena 1977. godine (12,14,19,37,100,114,143-145). Njezinu osnovu predstavlja nalaz i broj zahvaćenih glomerula (100), odnosno nalaz polumjeseca, lezija čiji patogenetski mehanizam još nije u potpunosti razjašnjen, a vezan je uz destrukciju kapilarne stijenke zbog fibrinoidne nekroze, koja pak nastaje na podlozi endokapilarne proliferacije i infiltracije upalnih stanica, uključujući makrofage i neutrofile (37). Patohistološki nalazi biopsije svrstavaju se u jednu od šest kategorija: prvih pet temelji se na prisutnosti i broju polumjeseca, a šesta predstavlja membranoproliferativni glomerulonefritis s promjenama u mezangiju i stijenci glomerularnih kapilara. Prisutnost, broj i tip polumjeseca, koji čine osnovu klasifikacije, inicijalno se doimala kao obećavajući prognostički faktor s obzirom na lošije ishode kod bolesnika s više od 50 % polumjeseca u bioptatu (146-149), odnosno bolje dugoročne ishode vezane uz stupnjeve I, II i IIIa (15). Međutim, prema dijelu naknadno provedenih studija, pacijenti s nižim stupnjem histoloških promjena, čak i bez prisutnosti polumjeseca, mogu razviti kroničnu renalnu insuficijenciju. Nasuprot tomu, u pacijenata s višim stupnjem histoloških promjena može doći do spontane regresije bubrežnih lezija (12,14,35,150-154). Usto, ISKDC uzima u obzir samo mezangijsku proliferaciju i broj glomerula s polumjesecima, a ne uzima u obzir tubularne lezije, intersticijsku fibrozu, intersticijsku i glomerularnu upalu, karakteristike polumjeseca (lokalizirani ili oko

cijelog glomerula, fibrozni ili ne), segmentalnu sklerozu i aterosklerozu, odnosno razliku između akutnih i kroničnih glomerularnih lezija ni endokapilarnu hipercelularnost (14,35,37,100,150,155). Dio autora stoga smatra da ISKDC loše korelira s težinom kliničke prezentacije i dugoročnom prognozom HSPN (12,14,35,143,155,156).

Druga patohistološka klasifikacija koja se dominantno primjenjuje u analizi bioptata bubrega oboljelih od IgAN je Oxfordska klasifikacija, inicijalno objavljena 2009. (22,100,157,158) i revidirana 2016. godine (22,159-161). Iako je validirana samo u skupini bolesnika s IgAN (157,158,162,163), također se koristi i kod bolesnika s HSPN (37,143,150). Temelji se na detekciji skleroziranih glomerula i opsegu intersticijske fibroze. Sustav bodovanja uključuje pet morfoloških karakteristika: M – mezangijsku hipercelularnost (M0 < ili = 0,5, M1 > 0,5), E – endokapilarnu proliferaciju (E0 odsutna, E1 prisutna), S − segmentalnu glomerulosklerozu i adhezije / promjene na podocitima (S0 odsutne, S1 prisutne), T – tubularnu atrofiju / intersticijsku fibrozu (T0 0 − 25 %, T1 26 − 50 %, T2 > 50 %) te C – prisutnost polumjeseca: MEST-C score (engl. *mesangial and endocapillary hypercellularity, segmental sclerosis, interstitial fibrosis/tubular atrophy, crescents*) (37). Prema inicijalnim rezultatima, svaka od varijabli ima neovisnu vrijednost u predviđanju kliničkog ishoda IgAN (157,162), uz iznimku E varijable koja nema prediktivnu vrijednost u djece (164). Iako postoje radovi koji potvrđuju navedene rezultate (157), naknadna ispitivanja klasifikacije u djece s IgAN, a potom i djece s HSPN nisu dala jednoznačne rezultate.

Patohistološka klasifikacija po Leeju iz 1982. (165) i njoj vrlo slična klasifikacija po Haasu iz 1997. godine (37), temelje se na statistički značajnoj, pozitivnoj korelaciji histoloških stupnjeva nefritisa s prognozom IgAN. Radovi koji uspoređuju klasifikacije po Haasu i Oxfordsku klasifikaciju ukazuju na podjednaku vrijednost navedenih u predikciji progresije IgAN u odraslih bolesnika (166). Klasifikacije nisu validirane u djece s HSPN.

Zadnja i najnovija među histološkim klasifikacijama koje se koriste u HSPN modificirana je semikvantitativna klasifikacija (engl. *modified SQC*), koju su razvili Koskela i suradnici (100). Sustav bodovanja u navedenoj klasifikaciji uzima u obzir 14 varijabli − promjena na razini glomerula, tubula, intersticija i krvnih žila bubrega te se rezultat definira kao ukupan rezultat biopsije (TBS, engl. *total biopsy score*),

s maksimumom od 26 bodova. Dodatno SQC može biti podijeljen u indeks aktivnosti (maksimalno devet bodova), indeks kroniciteta (maksimalno 16 bodova) te fokalnu (0 bodova) ili difuznu mezangijsku proliferaciju (jedan bod) (100). Tubulointersticijski indeks zasebni je parametar u SQC-u, u kojem se kombinacija svih tubularnih i intersticijskih parametara, uključujući aktivne i kronične promjene, boduje s maksimalno pet bodova. Autori klasifikacije smatraju da je razlikovanje aktivnih od kroničnih bubrežnih lezija iznimno bitno jer nalaz dominantno aktivnih promjena zahtijeva ranu imunosupresivnu terapiju, dok inicijalni nalaz dominantno kroničnih lezija ne opravdava dugotrajnu, agresivnu imunosupresivnu terapiju (100). Tubulointersticijske lezije te istodobna prisutnost aktivnih i kroničnih lezija prediktor su loše prognoze (37). Prema navedenoj klasifikaciji, najbolji faktori predikcije ishoda u HSPN su TBS i indeks aktivnosti (37,100). Nalaz aktivnih lezija uz TBS ≥ 11 najbolji je pretkazatelj loše prognoze nefritisa. U navedenoj studiji potvrđena je i ranija premisa dijela autora (119,147,152) o povezanosti dugoročnog ishoda HSPN sa stupnjem afekcije bubrega na početku bolesti. Prema njoj, stupanj proteinurije i art. hipertenzije u vrijeme postavljanja dijagnoze bolesti pozitivno koreliraju s lošijim ishodom (100,119,147,152). Iako se navedena klasifikacija smatra najkoherentnijom i najsenzitivnijom u smislu predikcije ishoda HSPN, broj bolesnika koji su sudjelovali u originalnoj studiji iz 2017. godine mali je (53 bolesnika) te je nužna validacija klasifikacije na većem broju bolesnika s HSPN (37).

Uz navedene, postoji niz radova o HSPN u kojima se koriste modificirane ili lokalne patohistološke klasifikacije (10,37,97), koje pokušavaju korelirati PHD nalaz bubrega s ishodima nefritisa. Među navedenima posebno je zanimljiv rad skupine korejskih autora iz 2019., koji u bolesnika s HSPN ukazuje na statistički značajnu pozitivnu korelaciju stupnja tubulointersticijske infiltracije M2 makrofagima i (vremenski i prostorno usko vezane) fibroze s formiranjem polumjeseca kao prediktora lošeg ishoda nefritisa (145). Dio radova ukazuje i na pozitivnu korelaciju lošijih ishoda nefritisa i gustoće C3 i C4d depozita u bioptatima bubrega bolesnika s IgAN (36), što će vjerojatno biti predmet studija i u bolesnika s HSPN.

Zaključno: iako je invazivna obrada – biopsija bubrega − zlatni standard za postavljanje dijagnoze HSPN, njezina vrijednost u prediktivnom smislu uvelike

ovisi o mnogim kliničkim varijablama, ali i primijenjenoj klasifikaciji. Kako bi se validirala prognostička vrijednost pojedinih klasifikacija, ali i odredili jednoznačni parametri praćenja aktivnosti bolesti odnosno uspjeha liječenja, nužne su multicentrične, prospektivne studije na velikom broju oboljelih od HSPN (37). Osim toga, kako je u nekoliko studija dokazana razlika u kliničkim i histološkim karakteristikama između djece i odraslih s HSPN (167), nužne su studije koje uključuju bolesnike ovisno o dobi.

1.1.11. Biološki markeri nefritisa u sklopu HSP (HSPN)

Za postavljanje dijagnoze HSP utvrđeni su relativno jasni klinički kriteriji, ali su pitanja etiopatogeneze, ranog utvrđivanja težine bolesti i trajanja autoimunog procesa te najvažnije − rane detekcije razvoja i prognoze HSPN, koji se razvija u dijela bolesnika i glavni je uzrok morbiditeta/mortaliteta u oboljele djece, još uvijek nedovoljno razjašnjena. Kako bi se odgovorilo na navedena pitanja te poboljšali terapijski ishodi, trenutačni istraživački napori usmjereni su prema otkrivanju neinvazivnih i pouzdanih dijagnostičkih i prognostičkih biomarkera koji će omogućiti rano, individualno prepoznavanje bolesnika ugroženih razvojem HSPN.

Dosad proučavani potencijalni biomarkeri HSPN mogu se podijeliti u genetske (naprijed navedene), serumske i urinarne (36).

Slijedom poznatih činjenica o etiopatogenezi HSP i HSPN, ali i prema dijelu autora sličnoj bolesti − IgAN, Pillebout i suradnici (114) postavili su hipotezu prema kojoj će temeljem određivanja koncentracija imunoglobulina, citokina, imunokompleksa koji sadrže IgA, Gd-IgA1 i neutrofilnog gelatinaza vezanog lipokalina (NGAL, engl. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) u serumu i urinu na početku bolesti, uspješno rano razlikovati pacijente s nefritisom u odnosu na one bez nefritisa u sklopu HSP. Rezultati njihova istraživanja ukazuju da među oboljelima ne postoje statistički značajne razlike u serumskim koncentracijama navedenih proučavanih parametara, ali su koncentracije IgA, IgM i IgG, Gd-IgA1-IgG i IgA-CD89, IL-6, IL-8 i IL-10 u urinu statistički značajno više u oboljelih s nefritisom u odnosu na oboljele bez nefritisa i kontrolnu skupinu (8,114).

Koncentracija NGAL, proteina akutne faze koji se aktivira pri ozljedi epitelnih stanica odnosno tubula, niti u serumu niti u urinu nije diskriminirajući biomarker nefritisa među bolesnicima s HSP (114).

U gotovo identičnom istraživanju Berthelota i suradnika, provedenom u populaciji odraslih bolesnika s HSPN, kao najpouzdaniji pretkazatelj loše prognoze u smislu razvoja kronične bubrežne bolesti pokazala se visoka koncentracija IgA u urinu na početku bolesti (168). Navedeno istraživanje naglašava razlike između HSP i HSPN bolesnika te bolesnika dječje i odrasle dobi, odnosno potrebu provođenja odvojenih istraživanja u navedenim bolestima i populacijama bolesnika, a ne puku ekstrapolaciju i preslikavanje rezultata dobivenih istraživanjima IgAN, odnosno s odrasle na dječju populaciju.

Kao jedan od potencijalnih, senzitivnih i specifičnih biomarkera ranog oštećenja bubrega u HSP, Bienias i suradnici proučavali su molekulu oštećenja bubrega – 1 (KIM-1, engl. *Kidney injury molecule*) (169). Molekula pripada tipu 1 transmembranskih proteina i inicijalno je detektirana kao adhezivna molekula epitelnih stanica. Inicijalno zanemariva ekspresija u tkivu bubrega zdravih eksperimentalnih životinja naglo se povećava u epitelnim stanicama proksimalnih tubula pri ishemijskoj ili toksičnoj renalnoj ozljedi. Ishemijsko-hipoksična ozljeda, nastala na podlozi vaskulitisa, dovodi inicijalno do aktivacije, a u uznapredovalim fazama i apoptoze tubularnih epitelnih stanica. Tubulointersticijsko oštećenje smatra se početnom i, u odnosu na glomerularno oštećenje, važnijom fazom razvoja raznih bubrežnih bolesti, uključujući i HSPN. Istraživanja pokazuju da se promjena u ekspresiji KIM-1 kod oštećenja bubrega detektira puno ranije u odnosu na promjene koncentracije konvencionalnih biomarkera (npr. urinarni niskomolekularni protein, mikroalbuminurija, urinarni enzimi). Osim toga, KIM-1 stabilne su neovisno o fizikalno-kemijskim svojstvima urina. U skupini bolesnika s IgAN razina KIM-1 u urinu je povišena i pozitivno korelira sa stupnjem aktivnosti bolesti, odnosno lošom prognozom. U navedenom istraživanju urinarne koncentracije KIM-1 statistički su značajno više u djece s HSP i HSPN u odnosu na kontrolnu skupinu, ali i statistički značajno više u djece s HSPN u odnosu na djecu s HSP. Usto, koncentracije KIM-1 statistički su značajno više i u odnosu na koncentracije standardnih biomarkera oštećenja bubrega: kreatinina u serumu te kreatinina i β2 mikroglobulina u urinu. Koncentracije KIM-1 u urinu pozitivno

koreliraju sa stupnjem proteinurije, ali i stupnjem patohistoloških promjena prema ISKDC klasifikaciji. Zaključno, urinarni KIM-1 smatra se osjetljivim i specifičnim biomarkerom ranog oštećenja bubrega u HSP, čija koncentracija u bolesnika u kojih je učinjena biopsija bubrega pouzdano korelira s gradacijom patohistoloških nalaza prema ISKDC klasifikaciji (169,170). U istraživanju Dua i suradnika, urinarne koncentracije KIM-1 u djece s HSPN pozitivno koreliraju sa stupnjem akutne bubrežne lezije (171).

Kao potencijalni rani biomarker razvoja nefritisa u HSP proučavan je i PTX 3 (174). Pentraksini su skupina evolucijski konzerviranih proteina koja se dijeli prema dimenziji pojedinih molekula. Tako npr. CRP i serumski amiloid P pripadaju skupini kratkih pentraksina koji se produciraju u jetri. PTX3, za razliku od njih, pripada skupini dugih pentraksina koje produciraju vaskularne endotelne stanice, makrofagi, dendritičke stanice, fibroblasti i stanice glatke muskulature u odgovoru na djelovanje proinflamatornih citokina kao što su IL-1 i TNF-α. Zbog ekstrahepatične sinteze, PTX3 se u odnosu na CRP smatra pouzdanijim biomarkerom razvoja pojedinih vaskulitisa (172,173), ali i drugih sistemskih, imunoloških bolesti. U odnosu na druge glomerularne nefropatije, u kojima je razina PTX3 u bioptatima bubrega niska, u bioptatima bubrega bolesnika s IgAN, PTX3 detektiran je u povećanim količinama u glomerularnim mezangijskim i endotelnim stanicama. U kulturama stanica dokazano je da tubularne epitelne, mezangijske i endotelne stanice mogu, pod djelovanjem TNF-α i IgA, sintetizirati PTX3, ali biti i ciljne stanice za PTX3, te pod njegovim djelovanjem producirati sekundarne medijatore kao što je faktor aktivacije trombocita i tkivni faktor te s pomoću njih posredno dovesti do oštećenja bubrega. Serumske koncentracije PTX3 statistički su značajno više u djece s HSP i HSPN u odnosu na kontrolnu skupinu, te statistički značajno više u djece s HSPN u odnosu na djecu bez nefritisa. Iako serumska koncentracija PTX3 dobro korelira sa stupnjem proteinurije, u ranim fazama razvoja HSPN serumska koncentracija PTX3 počinje rasti prije pojave proteinurije. Još je osjetljiviji prediktor razvoja nefritisa u odnosu na serumsku ureu i kreatinin, čije koncentracije ostaju normalne sve do redukcije eGFR < 50 %. Kod razvoja HSPN, PTX3 preciznije korelira s aktivnošću bolesti u odnosu na CRP. Zaključno, određivanje serumske razine PTX3 se prema Geu i

suradnicima može koristiti kao pouzdan i specifičan rani pretkazatelj razvoja HSPN (174).

Povlačeći analogiju s metaboličkim promjenama u bolesnika s CKD, Sun i suradnici detektirali su, uz statistički značajan nalaz povišenih serumskih koncentracija d-dimera u bolesnika s HSPN u odnosu na bolesnike s HSP, i tri metabolita čije povišene koncentracije potencijalno ukazuju na rizik od razvoja nefritisa u djece s HSP (141). P-krezol sulfat, kao humani metabolit crijevne flore, uremijski je toksin vezan za proteine. Porast njegove koncentracije korelira s težinom oštećenja bubrega u CKD. Pet-propil furanopropanoična kiselina, koja inhibira aktivnu tubularnu sekreciju i smanjuje transport organskih kiselina u bubregu, također se akumulira u serumu bolesnika s CKD. Tri-hidroksibutarična kiselina međuprodukt je metabolizma L-valina. U eksperimentalnih životinja dokazano inhibira aktivnost kreatinin kinaze te pridonosi razvoju bubrežnih lezija prouzročujući mitohondrijsku disfunkciju. Kombinacija praćenja porasta koncentracije d-dimera i navedenih metabolita detektira HSP bolesnike dječje dobi s rizikom od razvoja nefritisa uz senzitivnost od 94,7 % i specifičnost od 80,8 %. (141).

U bolesnika s HSP tijekom akutne faze bolesti, a posebno u bolesnika s HSPN, Cao i suradnici detektirali su povišene serumske koncentracije visfatina (91). Visfatin je citokin iz skupine transformirajućih faktora rasta-β. Primarno ga luče adipociti, a zajedno s IL-7 i faktorima matičnih stanica potiče diferencijaciju ranih razvojnih stadija limfocita B. S druge strane, izraženo je aktiviran u akutnim ozljedama tkiva, akutnoj hipoksiji, upali i oksidativnom stresu te se smatra markerom vaskularnih lezija, posebno oštećenja endotelnih stanica. U patogenezi HSP sudjeluje stimulirajući diferencijaciju ranih razvojnih stadija limfocita B i produkciju autoantitijela. Kako je njegova serumska koncentracija statistički značajno viša u djece koja razvijaju HSPN u odnosu na djecu bez znakova nefritisa, visfatin može služiti i kao biomarker rizika od razvoja nefritisa u bolesnika s HSP (91).

MIF je proupalni citokin koji regulira efektorne funkcije makrofaga i aktivaciju T stanica te ima bitnu ulogu u funkcioniranju mehanizama prirođene i stečene imunosti. Pri fiziološkim uvjetima MIF je u bubrezima slabo eksprimiran u glomerularnim epitelnim stanicama te stanicama kortikalnih tubula. Pojačana

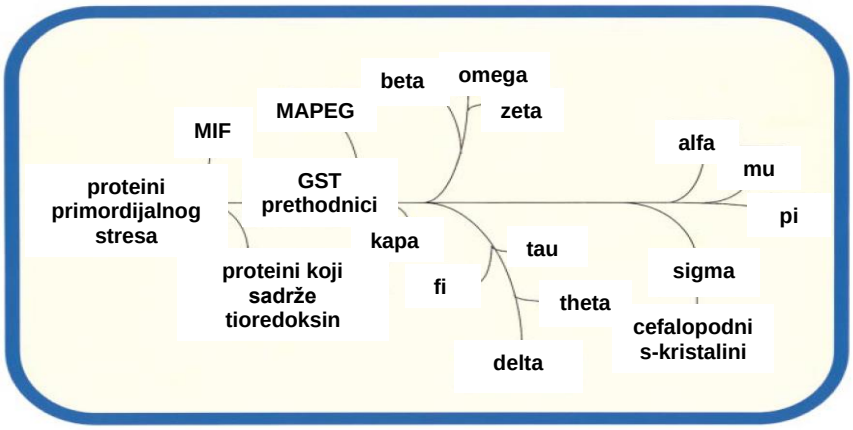
ekspresija MIF-a dokazana je u bolesnika s fokalnom glomerularnom sklerozom kod kojih njegove urinarne koncentracije koreliraju s brojem intraglomerularnih i intersticijskih makrofaga te sa stupnjem nakupljanja mezangijskog matriksa i intersticijske fibroze u bioptatu bubrega. Urinarne koncentracije povišene su i u bolesnika s IgAN te SLE nefritisom. U djece s razvojem HSPN, urinarne koncentracije MIF-a statistički su značajno više u odnosu na djecu s HSP i kontrolnu skupinu, ali bez korelacije sa serumskim koncentracijama kreatinina i ureje. Zaključno, prema Wangu i suradnicima MIF u urinu dobar je rani pretkazatelj razvoja HSPN (85).

Uz navedene primjere pokušaja otkrivanja ranih i pouzdanih biomarkera razvoja nefritisa u HSP, među ostalim potencijalnim biomarkerima, istraživanim u manjim studijama, navode se: solubilni transferinski receptor (sTfR) (175), matriks metaloproteinaza-9 (176), angiotenzin (8,177,178), IgA imunokompleksi velike molekularne mase (69), faktor XIII, aktivirani makrofagi i α-SMA (69,179), mijeloid vezani protein 8/14, tj. S100A8/9 ili kalprotektin, IgA-AECA, trombomodulin (15), IL-8 i IgA-aCl (180), leukotrien B4 i lipoksin A_4 (1), podociti u urinu (181), MCP-1 (182), omjer IgA/C3 (36), mezangijski depoziti Gd-IgA1 (81), heparan sulfat i urinarni peptidi (36), α-GST i π-GST u urinu (169). Buduća istraživanja potencijalnih biomarkera rane predikcije razvoja nefritisa u HSP sigurno će obuhvatiti i procjenu primjenjivosti određivanja koncentracije signalnih molekula prirođenog imunološkog sustava S100: A4 (metastatin) (183), A8/A9 i A12 (184) u urinu i serumu, kao i ekspresije receptora za krajnje produkte uznapredovale glikacije (RAGE, engl*. receptor for advanced glycation end products*) (185), koji imaju dokazanu ulogu u patogenezi različitih nefropatija (dijabetička nefropatija, nefropatija vezana uz debljinu, hipertenzivna nefropatija, lupus nefritis, renalna amiloidoza …) (183-185).

Rezultati niti jednog od navedenih istraživanja dosad nisu validirani niti je određivanje bilo kojeg od ispitivanih bioloških markera uvedeno u svakodnevnu praksu prilikom obrade i liječenja djece oboljele od HSP. Validacija predloženih i traganje za novim biomarkerima nužni su radi rasvjetljavanja etiopatogeneze HSPN, ali i ranog otkrivanja bolesnika ugroženih razvojem kroničnog nefritisa i trajnim oštećenjem bubrežne funkcije (12).

1.2. Glutation S-transferaze / eritrocitna glutation S-transferaza

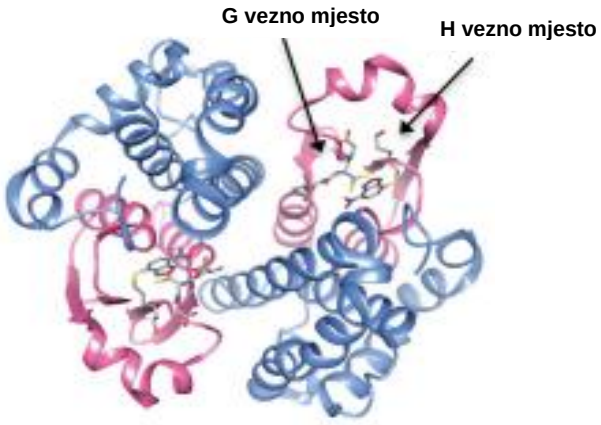
Glutation S-transferaze (GSTs) evolucijski su vrlo stara, multifunkcionalna proteinska superobitelj koja se razvila iz tioredoksin/glutaredoksin prethodnika u odgovoru na razvoj oksidativnog stresa (186,187). Široko su rasprostranjene u prirodi te ih nalazimo u prokariota i eukariota (Slika 6) (186,188-192).



Slika 6. Evolucijska divergencija GST (preuzeto i prilagođeno iz referencije br. 186)

S obzirom na staničnu lokalizaciju dijele se u tri skupine: citosolne, mitohondrijske i mikrosomalne GSTs (187-191,193). Citosolne GSTs kod ljudi i ostalih sisavaca dijele se prema kemijskim, fizikalnim i strukturnim karakteristikama u sedam klasa: alfa, zeta, theta, mi, pi, sigma i omega (186-188, 194-198). Klase izoenzima obilježavaju se velikim arapskim slovima iza GST (npr. za alfa klasu GSTA, za pi klasu GSTP itd.), a podjedinice homo- ili heterodimera arapskim brojevima odijeljenim spojnicom (npr. GSTP1-1) (199-201).

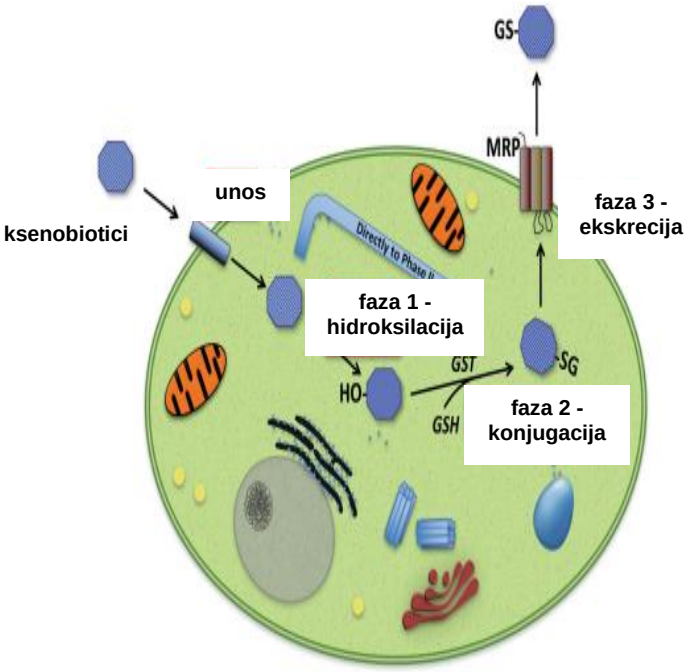
U svakom monomeru citosolne GST postoje dvije domene: N terminalna domena nalik tioredoksinu i C terminalna alfa spiralna domena. Vezno mjesto N terminalne domene evolucijski je visoko konzervirano mjesto G, odgovorno za vezanje glutationa (GSH). Manje evolucijski konzervirano vezno mjesto C terminalne domene je mjesto H, zaduženo za vezanje širokog spektra hidrofobnih kosupstrata (Slika 7) (188,193,200).



Slika 7. Molekula GST (preuzeto i prilagođeno iz referencije br. 188)

Citosolne GST u sisavaca uglavnom su dimerne strukture (187,188,197), mogu postojati u formi monomera (posebno GST M i P), ali i formirati heterodimere, čime se mijenja specifičnost (187) i omogućuje preklapanje specifičnosti za pojedine supstrate (193).

Enzimska detoksikacija ksenobiotika (tvari unesenih u organizam izvana) i endobiotika (tjelesnih tvari u povišenim koncentracijama) podijeljena je u tri glavne faze (188). Faza 1, s oksidacijom kao glavnom reakcijom, dominantno je katalizirana sustavom citokroma P450. Faza 2 obilježena je konjugacijom aktiviranih ksenobiotika i endobiotika s endogenim, vodotopivim supstratom (GSH, glukuronska kiselina ili glicin). Faza 1 i 2 dovode do konverzije lipofilnih, nepolarnih ksenobiotika i endobiotika u vodotopive, manje toksične metabolite. Faza 3 obuhvaća aktivnu, transmembransku eliminaciju nastalih konjugata koji su naglašeno hidrofilni (što onemogućuje njihovu spontanu difuziju iz citosola u međustanični prostor djelovanjem transmembranskih proteina višestruke otpornosti na lijekove tipa 1 i 2) (Slika 8) (186,187,188).



Slika 8. Enzimska detoksikacija ksenobiotika (preuzeto i prilagođeno iz referencije br. 188)

Citosolne GSTs glavni su enzimi detoksikacijske faze 2 (186,188,192,193,202). Najvažnija je funkcija GSTs kataliziranje konjugacije reduciranih formi GSH sa širokim spektrom hidrofobnih i elektrofilnih, endogenih i egzogenih supstrata različitih dimenzija (188,194,203-205), a u svrhu povećanja njihove topivosti i olakšanog transmembranskog transporta izvan stanica. Time se sprečava interakcija toksičnih supstrata s ključnim staničnim proteinima, lipidima i nukleinskim kiselinama, ali i omogućuje transport izvan organizma − izlučivanjem putem bubrega (196,204,205). Osim navedene, GSTs imaju i niz drugih enzimskih i neenzimskih funkcija: djeluju kao peroksidaze (redukcija fosfolipida, masnih kiselina, hiperoksida) (186,187,206) i izomeraze, štite stanicu od H_2O_2 i protein kinazama posredovane inducirane smrti (186-188,193,207) te nekatalitički vežu širok spektar endogenih i egzogenih liganda, čime također olakšavaju njihov transport izvan stanica (186,187,192-194,203,204,208,209). Povezane su i sa sintezom leukotriena, prostaglandina, testosterona i progesterona te degradacijom tirozina (187,188).

Svaka klasa GST enzima kodirana je s jednim ili više visokopolimorfnih gena (210). Enzimska aktivnost GSTs ovisi o delecijskim polimorfizmima ili polimorfizmima pojedinačnog nukleotida (SNP, engl. *single nucleotid*

polymorphism) GST gena (187,193,211,212), količini egzogenih ili endogenih supstrata koji moduliraju ekspresiju GST gena (187,198,212), stabilnoj opskrbi GSH pod djelovanjem sintetskih enzima gama-glutamilcistein sintetaze i glutation sintetaze (187,201,213,214) te aktivnosti specifičnih transportnih molekula koje uklanjaju konjugate GSH iz stanice (Slika 8) (187,201,214).

Kod ljudi su GSTs eksprimirane u stanicama svih organa i tkiva uz stanično specifičnu distribuciju pojedinih izoformi (npr. GSTA u hepatocitima, a GSTP u stanicama bilijarnog trakta itd.) (186,193,210,215). Iako različite izoforme mogu biti različito eksprimirane u istom tkivu (196) ovisno o tkivnoj ekspoziciji endobioticima i ksenobioticima, visoke intracelularne koncentracije u kombinaciji s njihovom stanično specifičnom distribucijom omogućuju korištenje GSTs kao biomarkera očekivanog oštećenja određenog tipa stanica (npr. serumska GSTA kao biomarker oštećenja hepatocita kod transplantacije ili djelovanje toksina ili infekcije na jetru (216-218), serumske GSTA i GSTP kao biomarkeri oštećenja stanica proksimalnog odnosno distalnog tubula kod transplantacije, toksičnog oštećenja ili ishemije bubrega (219,220), tkivna GSTM2 kod razvoja glomerulonefritisa zbog djelovanja protutijela usmjerenih na glomerularnu bazalnu membranu (221).

Glavna je intraeritrocitna transferaza izoenzim eritrocitna glutation S-transferaza (e-GST ili GSTP1-1) (198), koja čini > 95 % citosolnih GST u navedenim stanicama (193,196-198,205,222). Osim u eritrocitima, ova jedina GST klase pi (194) još se nalazi i u stanicama mozga, pluća i kože (193,194,197,207,223). e-GST je homodimerički protein mase 46 kDa (192,193,197,198), čiji je kodirajući gen lociran na kromosomu 11. U eritrocitima je eksprimirana tijekom eritropoeze (194,197) te, s obzirom na to da su zreli eritrociti enukleirane stanice bez mogućnosti sinteze e-GST, njezina količina odnosno aktivnost ostaje konzervirana tijekom cijelog životnog vijeka navedenih stanica (192-194,197).

Spol ne utječe na razlike u aktivnosti e-GST (224), iako dio autora navodi do 10 % veću aktivnost u osoba ženskog spola (192,225). S obzirom na dob, u zdravih osoba aktivnost e-GST brzo se smanjuje tijekom prvih nekoliko tjedana po porodu, ostaje stabilna do zrele životne dobi te se nakon 75. godine ponovno blago, postupno povećava (197,224). Tijekom većeg dijela života prosječna aktivnost e-GST, ovisno o izvoru literature, iznosi od 2,0 +/– 0,5 (225) do 5,8 +/–

0,4 U/g_{Hb} (196-198,204,222). Razlike u aktivnosti e-GST između zdravih pojedinaca ovise i o SNP GSTP1 gena, pri kojem A-G tranzicija na nukleotidnoj poziciji 1578 na kodonu 105 u egzonu 5 rezultira zamjenom izoleucina (Ile) valinom (Val) u e-GST (211). U pripadnika bijele rase frekvencija genotipske varijante GSTP1 Ile/Ile, koja rezultira sintezom e-GST normalne aktivnosti, iznosi 51,5 %, a varijante Ile/Val i Val/Val koje rezultiraju sintezom e-GST niže aktivnosti, 39,4 % odnosno 9,1 % (211). Nasuprot fiziološkim uvjetima, aktivnost e-GST korelira s porastom razine cirkulirajućih toksina – npr. u stanjima uremije ili pri hiperbilirubinemiji (194,196-198,204,205,224). Suplementacija vitamina E kao antioksidansa u tim uvjetima ne mijenja aktivnost e-GST, što ukazuje da povišena aktivnost u navedenim patološkim stanjima nije rezultat oksidativnog stresa eritrocita nego naglašenog djelovanja povišene koncentracije toksičnih supstrata na eritroidne prekursore u koštanoj srži, a u smislu indukcije pojačane transkripcije GSTP1 gena (196,198). U bolesnika s CKD navedeni efekt korelira sa stupnjevima poremećaja bubrežne funkcije prema Inicijativi za kakvoću ishoda bubrežne bolesti (K/DOQI, engl. kidney disease outcomes quality initiative) (196,204).

Stabilnost enzima u uzorcima pune krvi karakteristika je e-GST posebno pogodna za analitičke svrhe. Aktivnost enzima ne smanjuje se za više od 5 % niti nakon 14 dana čuvanja uzorka na temperaturi od 4 ºC, odnosno tri dana na temperaturi od 8 ºC (192,196). Na temperaturi od –80 ºC aktivnost e-GST u uzorku ostaje stabilna duže od mjesec dana (196). Stupanj ekspresije enzima direktno korelira s njegovom aktivnošću, odnosno 1 jedinica je količina enzima koja katalizira konjugaciju 1 mikromola GSH na 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) u jednoj minuti pri 37 ºC (196). Pri tumačenju rezultata važno je imati na umu da utvrđena aktivnost e-GST ne daje uvid u trenutačnu, kratkoročnu prisutnost toksičnih supstrata u krvi, nego je biosenzor njihova toksičnog učinka na eritroidne prekursore (194,197) u razdoblju od nekoliko tjedana (194,198) i korelira s prosječnim životnim vijekom eritrocita (192,194,197). Primjer analogan navedenom je određivanje koncentracije hemoglobina $A1_c$ kao dugoročnog markera razine glukoze u krvi (197). Također, e-GST ne otkriva kemijsku narav toksina, nego samo njegovu prisutnost (192). Zaključno, određivanje aktivnosti e-GST jednostavna je i jeftina pretraga za koju je potreban uzorak svega nekoliko mikrolitara pune krvi (192,196).

Pojačana aktivnost e-GST u više je istraživanja utvrđena u odraslih bolesnika s vrijednostima eGFR ispod vrijednosti od 60 ml/min u razdoblju > 3 mj. (198), koja se smatra granicom pri definiranju CKD (192-194,196-198,205,226). U navedenih, aktivnost e-GST dobro korelira sa stupnjevima CKD prema K/DOQI klasifikaciji (196,197,205), a u bolesnika s ESRD statistički je značajno viša prije početka dijalize u odnosu na bolesnike u kojih se dijaliza provodi (193). Pretpostavka je da je riječ o posljedici toksičnog djelovanja više od 90 uremijskih toksina različitih dimenzija na eritroidne prekursore u koštanoj srži u smislu poticanja ekspresije GSTP1 gena i posljedične pojačane sinteze e-GST (197), čija aktivnost odražava kompenzatorni protektivni mehanizam protiv akumuliranih toksičnih supstrata (226). Stoga je određivanje aktivnosti e-GST primjenjivo kao marker toksičnosti uremije koji dobro korelira sa stupnjem oštećenja bubrega (194), a kako je e-GST smještena u eritrocitima i ne podliježe dijalizi (197,198), i kao dugoročna mjera efikasnosti dijalize (193,194,196,197,205,227). Aktivnost e-GST u navedenoj skupini bolesnika ne korelira niti sa serumskim koncentracijama ureje i albumina niti visokoosjetljivog C-reaktivnog proteina (hsCRP, engl. *high-sensitivity C-reactive protein*), jer oni reflektiraju kratkoročnu toksičnost (197). S druge strane, ne korelira niti s koncentracijama hemoglobina, transferina, serumskog željeza i alfa-1 kiselog glikoproteina kao markerima kronične upale, a niti s koncentracijama beta-2 mikroglobulina kao markerom bubrežne funkcije. Pretpostavka je da s jedne strane ne injiciraju svi toksini upalu, ali i da GST neutraliziraju mnoge toksine neovisno o njihovu inflamatornom potencijalu (196). Aktivnost e-GST u CKD stoga je dobar marker prosječne toksičnosti cirkulirajućih uremijskih toksina (neovisno o njihovoj koncentraciji ili dimenzijama) u razdoblju od nekoliko tjedana, koji pozitivno korelira sa stupnjem oštećenja bubrežne funkcije i komplementaran je klasičnim markerima razvoja CKD (196,197).

U bolesnika u kojih je zbog ESRD učinjena transplantacija bubrega, utvrđena je različita aktivnost e-GST ovisno o podrijetlu transplantiranog bubrega (198). Bolesnici kojima je transplantiran bubreg živog donora imali su tri mjeseca nakon transplantacije jednaku aktivnost e-GST kao i bolesnici na dijalizi prije transplantacije ili bolesnici s CKD gr. IV, dok su bolesnici s transplantiranim kadaveričnim bubregom imali za četvrtinu veću aktivnost e-GST u jednakom razdoblju nakon transplantacije (9,8+/– 0,8 U/g_{Hb} vs. 11,7 +/– 0,4 U/g_{Hb}). Smatra

se da izostanak smanjenja aktivnosti e-GST u transplantiranih u odnosu na dijalizirane bolesnike te razlika između transplantiranih bolesnika ovisno o podrijetlu bubrega nastaju zbog gubitka dijela detoksikacijskih kompetencija bubrega (koje se obično kroz razdoblje duže od promatranog ipak djelomično oporave) uslijed reperfuzijsko-ishemijskog oštećenja, izraženijeg pri transplantaciji kadaveričnih bubrega. U svih transplantiranih bolesnika aktivnost e-GST ne korelira s drugim markerima bubrežne funkcije (albuminurija, serumske koncentracije kreatinina i ureje), što ukazuje na specifične kompetencije funkcionalnog bubrega u eliminaciji sistemskih toksina, čije promjene nisu detektibilne uobičajenim biomarkerima bubrežne funkcije. Nešto viša aktivnost e-GST nađena je u transplantiranih bolesnika liječenih niskim dozama glukokortikoida u odnosu na bolesnike u kojih je dana terapija obustavljena (13,1+/– 0,7 U/g_{Hb} vs. 10,9 +/– 0,5 U/g_{Hb}). Budući da steroidi sudjeluju u razvoju inzulinske rezistencije, smatra se da navedena razlika nastaje zbog gliko-metaboličke disfunkcije uslijed djelovanja steroida i posljedične pojačane produkcije toksina, a ne direktnog učinka steroida na aktivost e-GST. Osim navedenog, u bolesnika s akutnom reakcijom odbacivanja transplantata registriran je nagli porast aktivnosti e-GST od 180 %. Zaključno, e-GST se i u transplantiranih bolesnika smatra osjetljivim biomarkerom efikasnosti bubrežne funkcije (198).

Dijabetička nefropatija jedan je od glavnih uzroka CKD i ESRD. Pretpostavlja se da oštećenje bubrega u šećernoj bolesti (DM, lat. *diabetes mellitus*) nastaje kao posljedica kompleksnih interakcija metaboličkih i hemodinamskih faktora. Donedavno je stupanj mikroalbuminurije smatran prognostičkim faktorom dijabetičke nefropatije. Međutim, kako mikroalbuminurija u DM bolesnika može i regredirati, a s druge strane, u trećine DM bolesnika pad eGFR će uslijediti nakon nekoliko godina od pojave mikroalbuminurije, trenutačna istraživanja usmjerena su prema pronalaženju novih, pouzdanijih biomarkera oštećenja bubrega u dijabetičkoj nefropatiji (205). U odraslih bolesnika s DM tipa II i nefropatijom detektirana je pojačana aktivnost e-GST koja korelira s njezinim stupnjem prema K/DOQI klasifikaciji. Međutim, povišena aktivnost e-GST u odnosu na zdrave osobe nađena je i u oboljelih od DM tipa II bez elemenata razvoja nefropatije detektiranih uobičajenim markerima. S obzirom na ranije radove o pozitivnoj korelaciji aktivnosti e-GST sa stupnjem težine nefropatije u

CKD bolesnika koji ne boluju od DM tipa II, smatra se da povišena aktivnost e-GST u bolesnika bez znakova nefropatije ukazuje na visoku senzitivnost e-GST u ranoj detekciji oštećenja bubrega u odnosu na druge, standardne biomarkere. Zaključno, moguće je da je e-GST novi biomarker za ranu dijagnozu nefropatije kod DM tipa II (205), odnosno biomarker vrlo ranog oštećenja bubrega, pozitivan i prije pojave mikroalbuminurije (198,204,228).

Aktivnost e-GST pojačana je u odraslih bolesnika sa sistemskom sklerodermijom (SSc), u kojih dobro korelira s aktivnošću bolesti prema Valentinijevu indeksu aktivnosti bolesti i težinom bolesti prema modificiranom Rodnanovu kožnom indeksu, neovisno o trajanju bolesti (203). Međutim, u bolesnika nije nađena korelacija aktivnosti e-GST sa stupnjem oštećenja bubrega prema K/DOQI, odnosno i u bolesnika bez znakova ili samo s blažim znakovima afekcije bubrega (CKD 0-I) detektirana je povišena aktivnost e-GST kao i u bolesnika sa težim stupnjevima afekcije bubrega (CKD II odnosno CKD III) (9, 3 +/– 0,4 / 9,0 +/– 0,5 / 10,5 +/– 1,5). Pretpostavka je da navedeno ukazuje na visoku osjetljivost e-GST u vrlo ranom otkrivanju afekcije bubrega u sSC bolesnika, u vrijeme kad još nije detektibilna drugim standardnim biomarkerima (alternativno, pojačana aktivnost e-GST u sSC prouzročena je prisutnošću ili akumulacijom jednog ili više toksina koji pokreću autoimuni proces). Zaključno, određivanje aktivnosti e-GST, s obzirom na neinvazivnost, jednostavnost, brzinu i ekonomičnost pretrage, može služiti kao odličan komplementarni test u praćenju aktivnosti bolesti i procjene učinkovitosti terapije u bolesnika sa sSC (203).

Istraživanja vezana uz stupanj ekspresije e-GST u djece oboljele od različitih autoimunih bolesti, uključujući i HSP ili bolesti bubrega, uključujući i HSPN prema dostupnoj literaturi, dosad nisu provođena.

2. HIPOTEZA

Kontinuirano povećana aktivnost e-GST u djece oboljele od HSP ukazuje na prolongirano trajanje autoimunog procesa i rani je prediktor kroničnog oštećenja bubrežne funkcije.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

3.1. Opći cilj:

- ispitivanje vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u praćenju aktivnosti bolesti i ranom određivanju prognoze u djece oboljele od HSP.

3.2. Specifični ciljevi:

- određivanje aktivnosti e-GST u djece s HSP na početku bolesti i usporedba s aktivnošću e-GST u zdrave djece
- određivanje aktivnosti e-GST u djece s HSP nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze
- utvrđivanje stupnja korelacije aktivnosti e-GST s dobi oboljele djece, izraženošću kliničke slike i praćenim laboratorijskim parametrima (sedimentacija eritrocita, C-reaktivni protein, hemoglobin, leukociti, trombociti, ureja, kreatinin, feritin, d-dimeri, ukupni proteini, imunoglobulini A i M, AST-O, nalaz urina (hematurija > 5 E/mm^3), 24-satna proteinurija (≥ 0,15 g/dU), klirens kreatinina, stolica na okultno krvarenje).

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ispitanici

U istraživanje je uključeno 97 djece s dijagnozom HSP koja su primljena na liječenje u Kliniku za pedijatriju KBC-a Zagreb u razdoblju od rujna 2015. do rujna 2018. godine. Oboljela djeca uključena su u istraživanje tijekom inicijalne obrade i prije početka liječenja, odnosno po postavljanju dijagnoze sukladno EULAR/PRINTO/PReS kriterijima iz 2008. godine (6,9,20,24).

Djeca s postavljenom dijagnozom HSP podijeljena su u dvije skupine ovisno o znakovima nefritisa na početku bolesti i/ili tijekom šestomjesečnog praćenja: 1. skupina HSP bolesnika bez znakova nefritisa, 2. skupina HSP bolesnika sa znakovima nefritisa. U istraživanje nisu uključena djeca s HSP koja otprije imaju poznate kronične upalne ili kronične bubrežne bolesti.

Kontrolnu skupinu činilo je 52 djece koja prilikom uključivanja u istraživanje nisu imala kliničko-laboratorijskih znakova upale, a kojoj su se tijekom hospitalizacije u Klinici za pedijatriju KBC-a Zagreb u sklopu obrade drugih (neupalnih) bolesti uzimali uzorci venske krvi.

U svih bolesnika određena je aktivnost e-GST prilikom uključivanja te tri i šest mjeseci nakon uključivanja u istraživanje, a u djece u kontrolnoj skupini aktivnost e-GST određena je jednokratno, iz uzorka krvi uzetog prilikom obrade drugih, neupalnih stanja.

Klinički dio istraživanja proveden je u Zavodu za kliničku imunologiju, respiracijske bolesti i alergologiju i reumatologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb, a laboratorijski dio u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Istraživanje je počelo nakon odobrenja etičkih povjerenstava Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Od roditelja sve djece kao i djece starije od 12 godina koja su sudjelovala u istraživanju, nakon objašnjavanja ciljeva i uvjeta istraživanja te prije počinjanja postupaka vezanih uz istraživanje, pribavljena je pisana suglasnost za sudjelovanje.

4.2. Metode rada

4.2.1. Anameza i fizikalni pregled

U sve oboljele djece inicijalno je učinjena rutinska reumatološka obrada (anamneza, fizikalni pregled, laboratorijske pretrage) temeljem koje je postavljena dijagnoza HSP. U anamnezi su detaljno prikupljeni podaci o eventualnim okidačima bolesti (prethodne infekcije, aplikacija cjepiva, prehrana, ...) te redoslijedu pojavljivanja, trajanju i izraženosti simptoma. Fizikalnim pregledom utvrđeni su antropometrijski parametri (dob, spol, visina, tjelesna masa) i izraženost pojedinih elemenata kliničke slike HSP. Na kontrolnim ambulantnim pregledima nakon tri i šest mjeseci uzeti su dodatni anamnestički podaci vezani uz opće stanje i eventualni relaps ili pojavu novih simptoma bolesti te je učinjen kompletan fizikalni pregled. Od uključivanja u istraživanje za svakog je ispitanika vođena detaljna evidencija medikamentozne terapije primijenjene tijekom liječenja (primijenjeni lijekovi, doze, načini aplikacije, početak i trajanje terapije).

U kontrolnoj skupini ispitanika uzeti su anamnestički podaci i učinjen je kompletan fizikalni pregled uz bilježenje antropometrijskih parametara prilikom uključivanja u istraživanje.

4.2.2. Laboratorijske pretrage

Biološki uzorci (krv i urin) analizirani u istraživanju uzeti su u oboljele djece neposredno po postavljanju dijagnoze, a prije početka liječenja te na kontrolnim pregledima nakon tri i šest mjeseci od trenutka uključivanja u istraživanje. Biološki uzorci u kontrolnoj skupini ispitanika uzeti su u jednom navratu, tijekom obrade vezane uz druge (neupalne) bolesti. Uzorci krvi uzeti su u odgovarajuće epruvete s podtlakom venepunkcijom kubitalne vene, a uzorci urina prikupljani su u standardne spremnike korištene u svakodnevnom radu u Klinici.

U sve djece s HSP i djece u kontrolnoj skupini prilikom uključivanja u istraživanje analizirani su sljedeći laboratorijski pokazatelji:

- brzina sedimentacije eritrocita (SE)
- serumska koncentracija C-reaktivnog proteina

- serumska koncentracija hemoglobina
- broj leukocita i trombocita u perifernoj krvi
- serumska koncentracija ureje i kreatinina
- serumska koncentracija feritina
- serumska koncentracija d-dimera
- koncentracija serumskih proteina
- serumska koncentracija imunoglobulinskih razreda IgA i IgM
- serumska koncentracija komponenti komplementa C3 i C4
- serumska koncentracija protutijela za streptolizin O (AST-O)
- broj E/mm^3 urina
- korigirani klirens kreatinina (cCr)
- procijenjena brzina glomerularne filtracije (eGFR)
- koncentracija proteina u uzorku 24-satnog urina
- prisutnost krvi u stolici (test stolice na okultno krvarenje).

U sve djece s HSP nakon tri i šest mjeseci od uključivanja u istraživanje ponovno su analizirani svi navedeni laboratorijski pokazatelji osim serumske koncentracije komponenti komplementa C3 i C4 i serumske koncentracije AST-O.

Bubrežna funkcija evaluirana je u sve djece oboljele od HSP i djece u kontrolnoj skupini na početku istraživanja, a u djece s HSP dodatno nakon tri i šest mjeseci od uključivanja u istraživanje:

- detektiranjem proteinurije, definirane kao nalaz ekskrecije proteina ≥ 0,15 grama po volumenu urina prikupljenog tijekom 24 sata (g/dU)
- detektiranjem hematurije, definirane kao nalaz > 5 E po volumenu u mm^3 (E/mm^3)
- određivanjem korigiranog klirensa kreatinina te procijenjene brzine glomerularne filtracije gdje je sukladno preporukama SHARE inicijative kao granična vrijednost uzeta < 80 ml/min/1,73 m^2.

4.2.2.1. Određivanje aktivnosti e-GST

Aktivnost e-GST u djece s HSP ispitivana je neposredno po postavljanju dijagnoze te tri i šest mjeseci nakon uključivanja u istraživanje, a u djece u kontrolnoj skupini jednokratno, prilikom uključivanja u istraživanje.

Uzorak krvi za određivanje aktivnosti e-GST uzet je u svih ispitanika iz kubitalne vene u tijeku jednakog postupka kojim je uzimana krv i za ostale, uobičajenim algoritmom obrade i ovim istraživanjem predviđene laboratorijske pretrage krvi, u standardizirane epruvete s EDTA (3 ml) i pohranjen na 4 ºC, ne duže od 72 sata. Uzorak za određivanje aktivnosti e-GST iz pune krvi pripremljen je dilucijom 40 ml krvi s 1 ml bidestilirane vode. Nakon dvije minute, 0,1 ml hemoliziranog uzorka inkubiran je komercijalnim pripravkom Glutatione S-Transferase (GST) Assay Kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), koji koristi CDNB. Količina ekstraeritrocitne GST u tako pripravljenim uzorcima smatra se zanemarivom, a hemoliza eritrocita ne producira relevantne spektrometrijske artefakte. Dodatno, e-GST čini više od 95 % GST u eritrocitima te se utvrđena aktivnost enzima odnosi gotovo isključivo na navedeni izoenzim.

GST katalizira konjugaciju L-glutationa na 1-kloro-2,4-dinitrobenzen preko tiolne grupe glutationa:

$$\text{GSH + CDNB} \xrightarrow{\text{GST}} \text{GS-DNB konjugat + HCl}$$

Enzimski produkt, S-glutationil-2,4-dinitrobezen, apsorbira elektromagnetsko zračenje pri valnoj duljini od 340 nm. Stupanj porasta apsorpcije direktno je proporcionalan aktivnosti GST u uzorku.

Unutar 60 minuta od pripreme uzorka enzimatska aktivnost e-GST utvrđivana je spektrometrijski određivanjem apsorpcije enzimatskog produkta S-glutationil-2,4-dinitrobenzena na 340 nm, pri temperaturi od 37 ºC. Aktivnost e-GST izražena je u enzimskim jedinicama (U) pri temperaturi od 37 ºC i normalizirana po gramima hemoglobina (Hb), čija je vrijednost određivana u istom uzorku krvi (U/g_{Hb}).

Određivanje aktivnosti e-GST nije rutinska laboratorijska pretraga, odnosno aktivnost e-GST određivana je samo za potrebe ovog istraživanja.

4.3. Statističke metode

Podaci su prikazani tablično i grafički. Priprema podataka izvršena je s pomoću računalnog tabličnog kalkulatora Microsoft Office Excel. Kolmogorov-Smirnovljevim testom analizirana je raspodjela kontinuiranih numeričkih vrijednosti te su se u skladu s dobivenim podacima primijenili odgovarajući neparametrijski testovi. Kategorijske i nominalne vrijednosti prikazane su kroz odgovarajuće frekvencije i udjele, dok su se razlike među njima analizirale Fisherovim egzaktnim testom, odnosno Fisher-Freeman-Haltonovim testom u slučajevima tablica većih od 2 x 2 formata. Kontinuirane vrijednosti prikazane su kroz medijane i interkvartilne raspone, a razlike među njima analizirane su Kruskal-Wallisovim testom s post-hoc Mann-Whitneyjevim U testom. Razlike u dinamici izmjerenih vrijednosti u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze analizirane su Friedmanovim testom, posebno za skupinu s nefritisom, a posebno za skupinu bez nefritisa. Spearmanovi koeficijenti korelacije ρ (ro) korišteni su u analizi povezanosti aktivnosti e-GST s dobi oboljele djece, izraženošću kliničke slike i praćenim laboratorijskim parametrima (sedimentacija eritrocita, C-reaktivni protein, hemoglobin, leukociti, trombociti, ureja, kreatinin, feritin, d-dimeri, ukupni proteini, imunoglobulini A i M, AST-O, nalaz urina (hematurija > 5 E/mm³), 24-satna proteinurija (≥ 0,15 g/dU) i klirens kreatinina). ROC analizom prikazane su granične vrijednosti e-GST u predikciji nefritisa.

Vrijednosti P manje od 0,05 smatrane su značajnima. U analizi se koristila programska podrška IBM SPSS Statistics, verzija 25.0 (https://www.ibm.com/analytics/spss-statistics-software) te MedCalc for Windows, verzija 19.0.3 (MedCalc Statistical Software version 19.0.3 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; https://www.medcalc.org; 2019)).

5. REZULTATI

5.1. Pregled osnovnih podataka o ispitanicima

Određivanje aktivnosti e-GST učinjeno je u 97 djece s dijagnozom HSP, uz medijan (interkvartilni raspon) dobi od 82,0 (58,0 − 118,0) mjeseci. Među oboljelom djecom ukupno je bilo 62 dječaka i 35 djevojčica (M : Ž 1,8 : 1). Tijekom istraživanja u 55 / 97 (56,7 %) oboljele djece nisu registrirani znakovi nefritisa (HSP bez nefritisa), a u 42 / 94 (43,3 %) oboljele djece registrirani su znakovi nefritisa (HSP s nefritisom). Navedene dvije skupine oboljele djece nisu se statistički značajno razlikovale prema dobi i spolu.

Kontrolnu skupinu činilo je 52 djece, prosječne dobi 115 mjeseci (52 − 171 mj.): 36 dječaka i 16 djevojčica. Kontrolna skupina u odnosu na skupine oboljele djece statistički se nije razlikovala prema spolu, ali su djeca u kontrolnoj skupini bila statistički značajno starija (tablice 2A i 2B).

Tablica 2A. Podjela skupina ispitanika s obzirom na dob (Kruskal-Wallisov test)

	Skupina	N	Min.	Max.	Centile			P
					25.	Medijan	75.	
DOB (mjeseci)	HSP bez nefritisa	55	27,0	194,0	58,0	72,0	107,0	0,005
	HSP s nefritisom	42	29,0	209,0	56,3	91,0	138,0	
	Kontrola	52	20,0	171,0	76,3	115,0	138,5	

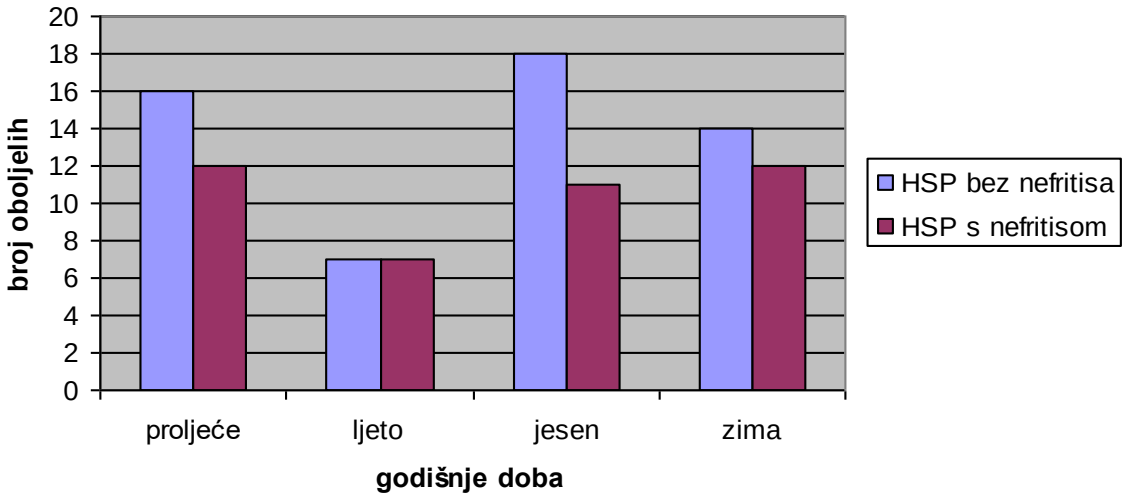
HSP – Henoch-Schönleinova purpura

Tablica 2B. Podjela skupina ispitanika s obzirom na spol (X^2 test)

		Skupina						P
		HSP bez nefritisa		HSP s nefritisom		Kontrola		
		N	%	N	%	N	%	
Spol	Muški	36	65,5 %	26	61,9 %	36	69,2 %	0,757
	Ženski	19	34,5 %	16	38,1 %	16	30,8 %	

HSP – Henoch-Schönleinova purpura

S obzirom na sezonu pojave HSP, u 29 djece bolest je počela ujesen (HSP bez nefritisa 18 / HSP s nefritisom 11), u 28 u proljeće (HSP bez nefritisa 16 / HSP s nefritisom 12), u 26 zimi (HSP bez nefritisa 14 / HSP s nefritisom 12), dok je u najmanjeg broja bolesnika – 14, počela ljeti (HSP bez nefritisa 7 / HSP s nefritisom 7). S obzirom na sezonu pojave HSP, među skupinama oboljele djece nije bilo statistički značajne razlike (P = 0,876) (Slika 9).



Slika 9. Podjela HSP bolesnika s obzirom na sezonu pojave bolesti

Infekcija je prethodila razvoju HSP u 64 (65,9 %) oboljele djece. Infekcija respiratornog trakta navedena je u anamnezi 54 (55,7 %), a gastrointestinalnog trakta u 10 (10,3 %) oboljele djece. U brisevima gornjih dišnih puteva mikrobiološkom obradom je u 10 (10,3 %) oboljele djece izoliran BHS-A, u 9 (9,3 %) zlatni stafilokok, a u 6 (6,2 %) djece ostali bakterijski uzročnici. S obzirom na prethodnu infekciju, tip infekcije te nalaz brisa ždrijela i/ili nazofarinksa, nije bilo statistički značajnih razlika među skupinama oboljele djece (tablica 3).

Tablica 3. Prethodne infekcije u oboljele djece (X^2 test ili Fisherov egzaktni test)

		Skupina				P
		HSP bez nefritisa		HSP s nefritisom		
		N	%	N	%	
Prethodna infekcija	Ne	17	30,9 %	16	38,1 %	0,459
	Da	38	69,1 %	26	61,9 %	
Tip infekcije	ARI	33	86,8 %	21	80,8 %	0,511
	GI	5	13,2 %	5	19,2 %	
Bris ždrijela / bris nazofarinksa	Normalna flora	40	74,1 %	31	73,8 %	0,679
	BHS-A	5	9,3 %	5	11,9 %	
	S. aureus	4	7,4 %	5	11,9 %	
	S. pneumoniae	2	3,7 %	1	2,4 %	
	H. influenzae	2	3,7 %	0	0,0 %	
	M. catarrhalis	1	1,9 %	0	0,0 %	

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, ARI – akutna respiratorna infekcija, GI – gastrointestinalna infekcija, BHS-A – beta hemolitički streptokok grupe A, S. aureus – zlatni stafilokok, S. pneumoniae – pneumokok, H. influenzae – hemofilus influence, M. catarrhalis – moraksela kataralis

U slučajevima prethodne infekcije, ona je prethodila razvoju purpuričnih kožnih promjena s medijanom od 14 dana u oboljele djece bez nefritisa, te medijanom od 17 dana u oboljele djece s nefritisom. Vrijeme proteklo od prethodne infekcije do razvoja kožnih promjena bilo je statistički značajno duže u bolesnika s nefritisom (tablica 4).

Tablica 4. Vrijeme od prethodne infekcije do početka razvoja purpure u oboljele djece (Kruskal-Wallisov test)

	Skupina	N	Min.	Max.	Centile			P
					25.	Medijan	75.	
Vrijeme (dani) od infekcije do pojave purpure	HSP bez nefritisa	38	5,00	27,00	10,00	14,00	17,25	0,038
	HSP s nefritisom	26	6,00	60,00	11,75	17,00	24,25	

HSP – Henoch-Schönleinova purpura

Niti jedno dijete nije cijepljeno unutar mjesec dana prije pojave HSP. Osim cijepljenja, u 33 (34 %) oboljele djece (HSP bez nefritisa 17 + HSP s nefritisom 16), nije detektiran niti drugi potencijalni okidač početka bolesti.

Purpura, kao obvezan simptom za postavljanje dijagnoze HSP, registrirana je u sve oboljele djece (97/97, 100 %). Bila je proširena iznad razine pojasa u 22 (22,7 %), a eflorescencije promjera ≥ 10 mm registrirane su u 35 (36,1 %) oboljele

djece. Do relapsa kožnih promjena unutar šest mjeseci od početka bolesti došlo je u 39 (40,2 %) djece s HSP. Prema učestalosti ostalih nalaza/kriterija za postavljanje dijagnoze, najčešće su registrirani artritis/artralgije u 71 (73,2 %), potom bolovi u trbuhu u 38 (39,2 %), a nefritis na početku bolesti u 35 (36,1 %) oboljele djece. Ostali simptomi javljali su se u pojedinačnih bolesnika. Kod usporedbe svih navedenih kategorijskih varijabli nije bilo statistički značajnih razlika među skupinama oboljele djece (tablica 5).

Tablica 5. Karakteristike purpure (relaps kožnih promjena, dimenzije, proširenost kožnih promjena iznad razine pojasa) i ostalih simptoma u oboljele djece (X^2 test ili Fisherov egzaktni test).

		Skupina				**P**
		HSP bez nefritisa		**HSP s nefritisom**		
		N	**%**	**N**	**%**	
Relaps kožnih promjena	Ne	37	67,3 %	23	54,8 %	0,209
	Da	18	32,7 %	19	45,2 %	
Dimenzije eflorescencija	< 10 mm	36	65,5 %	26	61,9 %	0,718
	≥ 10 mm	19	34,5 %	16	38,1 %	
Purpura iznad razine pojasa	Ne	39	70,9 %	36	85,7 %	0,094
	Da	16	29,1 %	6	14,3 %	
Artritis/artralgije	Ne	11	20,0 %	15	35,7 %	0,083
	Da	44	80,0 %	27	64,3 %	
Bolovi u trbuhu	Ne	33	60,0 %	26	61,9 %	0,849
	Da	22	40,0 %	16	38,1 %	
Nefritis inicijalno	Ne	0	0,0 %	7	16,7 %	n/a
	Da	0	0,0 %	35	83,3 %	
Biopsija bubrega	Ne	55	100,0 %	39	92,9 %	0,044
	Da	0	0,0 %	3	7,1 %	
Ostali simptomi	Ne	52	94,5 %	38	90,5 %	0,478
	Melena	0	0,0 %	1	2,4 %	
	Povraćanje	2	3,6 %	2	4,8 %	
	Orhitis	0	0,0 %	1	2,4 %	
	Glavobolja	1	1,8 %	0	0,0 %	

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, n/a – "*not applicable*"

Biopsija bubrega učinjena je u troje djece s HSP s nefritisom. U sve bioptirane djece patohistološki nalaz odgovarao je nefritisu u sklopu IgA vaskulitisa. Biopsija kože nije učinjena ni u jednog djeteta.

U terapiji su u 45 (46,4 %) djece primijenjeni glukokortikoidi, a u 51 (52,6 %) djeteta NSAID. S obzirom na primijenjenu navedenu medikamentoznu terapiju, nije bilo statistički značajnih razlika među skupinama oboljele djece (tablica 6).

Inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima te azatioprin i mikofenolat mofetil korišteni su u pojedinačnim slučajevim liječenja oboljele djece s nefritisom (6 djece / 2 djece / 1 dijete).

Tablica 6. Terapija primijenjena u oboljele djece (X^2 test ili Fisherov egzaktni test)

		Skupine				P
		HSP bez nefritisa		HSP s nefritisom		
		N	%	N	%	
Terapija glukokortikoidima	Ne	31	56,4 %	21	50,0 %	0,533
	Da	24	43,6 %	21	50,0 %	
Terapija NSAID	Ne	24	43,6 %	22	52,4 %	0,393
	Da	31	56,4 %	20	47,6 %	

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, NSAID – nesteroidni protuupalni lijekovi

Medijan trajanja terapije glukokortikoidima iznosio je 0,0 (0,0 − 19,0) dana u skupini oboljele djece bez nefritisa, odnosno 2,5 dana (0,0 – 25,5) u skupini oboljele djece s nefritisom. Medijan trajanja terapije NSAID iznosio je 3,0 (0,0 − 7,0) dana u skupini oboljele djece bez nefritisa, odnosno 0,0 dana (0,0 – 8,0) u skupini oboljele djece s nefritisom. S obzirom na trajanje terapije glukokortikoidima i NSAID nije bilo statistički značajne razlike među skupinama oboljele djece (tablica 7).

Tablica 7. Trajanje terapije glukokortikoidima i nesteroidnim protuupalnim lijekovima u oboljele djece (Kruskal-Wallisov test)

	Skupina	N	Min.	Max.	Centile			P
					25.	Medijan	75.	
Terapija GK (broj dana)	HSP bez nefritisa	55	0,00	120,00	0,00	0,00	19,00	0,283
	HSP s nefritisom	42	0,00	150,00	0,00	2,50	25,50	
Terapija NSAID (broj dana)	HSP bez nefritisa	55	0,00	21,00	0,00	3,00	7,00	0,589
	HSP s nefritisom	42	0,00	26,00	0,00	0,00	8,00	

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, GK – glukokortikoidi, NSAID – nesteroidni protuupalni lijekovi

5.2. Pregled i usporedba rutinskih laboratorijskih nalaza ispitanika

U svih su ispitanika inicijalno određene vrijednosti: sedimentacije eritrocita, C-reaktivnog proteina, hemoglobina, leukocita i trombocita u perifernoj krvi, serumske razine ureje i kreatinina, serumske razine feritina, serumske razine d-dimera, koncentracije serumskih proteina, serumske razine imunoglobulinskih razreda (IgA, IgM), antistreptolizinskog titra, serumska razina C3 i C4 komponente komplementa, broja E/mm^3 urina, korigiranog klirensa kreatinina, procijenjene brzine glomerularne filtracije, proteina u uzorku 24-satnog urina te prisutnost krvi u stolici (test stolice na okultno krvarenje).

Znakove nefritisa (hematurija (> 5 E/mm^3) i/ili proteinurija (≥ 0,15 g proteina /dU)), na početku bolesti imalo je 34 (34/97, 35 %) djece s HSP. Samo hematuriju inicijalno je imalo 18 (53 %), samo proteinuriju 6 (17,6 %), a nalaz hematurije i proteinurije 10 (29,4 %) bolesnika s inicijalno registriranim nefritisom. Poremećaj bubrežne funkcije u smislu nalaza eGFR ≤ 80ml/min/1,73m^2 inicijalno je imalo samo dvoje djece s HSP s nefritisom (tablica 8).

Tablica 8. Rutinski laboratorijski nalazi u svih ispitanika na početku istraživanja (Kruskal-Wallisov test)

	Skupina	N	Min.	Max.	Centile			P
					25.	Medijan	75.	
SE (mm/h)	HSP bez nefritisa	55	3,00	83,00	12,00	18,00	25,00	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	0,40	34,00	10,00	17,00	24,00	
	Kontrola	52	2,00	25,00	5,00	7,00	11,00	
CRP (mg/L)	HSP bez nefritisa	55	0,30	89,40	2,03	8,00	14,93	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	0,30	55,60	1,58	6,05	15,98	
	Kontrola	52	0,30	1,20	0,30	0,30	0,30	
Hb (g/L)	HSP bez nefritisa	55	101,00	146,00	121,00	127,00	132,00	0,006
	HSP s nefritisom	42	81,00	167,00	122,00	130,50	136,00	
	Kontrola	52	110,00	151,00	126,25	132,00	138,75	
L (x 10^9/L)	HSP bez nefritisa	55	5,10	23,30	8,58	11,30	14,81	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	3,50	21,37	8,93	11,67	14,18	
	Kontrola	52	3,70	10,56	5,93	7,40	9,13	
Trc (x 10^9/L)	HSP bez nefritisa	55	103,00	533,00	278,00	342,00	427,00	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	199,00	661,00	314,50	388,50	441,75	
	Kontrola	52	189,00	437,00	253,00	294,00	329,00	
Ureja (mmol/L)	HSP bez nefritisa	55	2,00	7,50	3,20	3,90	4,70	0,425
	HSP s nefritisom	42	2,20	8,10	3,48	4,15	5,05	
	Kontrola	52	1,80	7,00	3,30	4,10	4,98	
Kreatinin (µmol/L)	HSP bez nefritisa	55	27,00	78,00	30,00	38,00	48,00	0,023
	HSP s nefritisom	42	28,00	85,00	38,25	45,00	53,00	
	Kontrola	52	27,00	63,00	39,00	44,00	48,00	
Feritin (µg/L)	HSP bez nefritisa	55	9,90	189,00	36,13	65,60	102,10	0,842
	HSP s nefritisom	42	21,50	168,10	46,50	68,00	93,20	
	Kontrola	52	14,20	138,00	42,78	59,80	98,75	
d-dimeri (mg/L)	HSP bez nefritisa	55	0,35	9,98	0,92	2,03	3,59	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	0,15	11,83	0,59	2,13	3,90	
	Kontrola	52	0,12	0,49	0,24	0,31	0,37	
Uk. proteini (g/L)	HSP bez nefritisa	55	54,00	82,00	64,00	68,00	71,00	0,006
	HSP s nefritisom	42	53,00	82,00	65,00	70,50	74,00	
	Kontrola	52	59,00	81,00	69,00	71,00	73,00	
IgG (g/L)	HSP bez nefritisa	55	6,48	15,84	8,20	10,03	11,78	0,648
	HSP s nefritisom	42	5,50	31,07	8,18	10,10	12,41	
	Kontrola	52	6,71	14,41	9,01	10,32	12,01	

IgA (g/L)	HSP bez nefritisa	55	0,66	161,00	1,25	1,65	2,15	0,001
	HSP s nefritisom	42	0,97	5,91	1,64	2,11	2,85	
	Kontrola	52	0,36	3,72	1,12	1,58	2,07	
IgM (g/L)	HSP bez nefritisa	55	0,27	2,22	0,63	0,79	1,04	0,038
	HSP s nefritisom	42	0,49	9,39	0,76	0,94	1,22	
	Kontrola	52	0,45	2,60	0,66	0,98	1,32	
AST-O (IU/ml)	HSP bez nefritisa	55	0,00	2774,00	0,00	114,00	346,00	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	0,00	1652,00	0,00	131,00	270,25	
	Kontrola	52	0,00	437,00	0,00	0,00	0,00	
C3 (g/L)	HSP bez nefritisa	55	0,90	1,74	1,22	1,26	1,39	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	0,60	1,79	1,02	1,27	1,44	
	Kontrola	52	0,91	1,70	1,29	1,42	1,51	
C4 (g/L)	HSP bez nefritisa	55	0,08	0,40	0,23	0,26	0,34	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	0,03	0,44	0,20	0,23	0,27	
	Kontrola	52	0,12	0,42	0,22	0,29	0,33	
E u urinu (/mm³)	HSP bez nefritisa	55	0,00	5,00	0,00	0,00	1,00	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	0,00	1280,00	3,50	9,50	36,25	
	Kontrola	52	0,00	4,00	0,00	0,00	2,00	
Proteini u 24-satnom urinu (g/dU)	HSP bez nefritisa	55	0,02	0,15	0,05	0,07	0,10	0,002
	HSP s nefritisom	42	0,03	1,11	0,07	0,09	0,21	
	Kontrola	52	0,02	0,14	0,04	0,07	0,11	
cCR (ml/min/1,73m^2)	HSP bez nefritisa	55	80,50	180,40	114,50	136,00	149,20	0,007
	HSP s nefritisom	42	75,10	186,00	98,30	124,00	131,75	
	Kontrola	52	98,30	148,40	114,55	126,10	133,75	
eGFR (ml/min/1,73m^2)	HSP bez nefritisa	55	77,08	175,79	94,26	121,06	138,22	0,058
	HSP s nefritisom	42	70,26	173,42	89,65	99,81	118,26	
	Kontrola	52	88,35	139,09	99,00	111,40	120,24	

HSP − Henoch-Schönleinova purpura, SE – sedimentacija eritrocita, CRP – C-reaktivni protein, Hb – hemoglobin, L – leukociti, Trc – trombociti, IgG – imunoglobulin G, IgA – imunoglobulin A, IgM – imunoglobulin M, AST-O – antistreptolizinski titar, C3 – komponenta komplementa C3, C4 − komponenta komplementa C4, E – eritrociti, cCR – korigirani klirens kreatinina, eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije

Među inicijalno učinjenim nalazima u skupini djece s HSP bez nefritisa u odnosu na skupinu djece s HSP s nefritisom statistički značajno niže vrijednosti zabilježene su za nalaze serumske koncentracije kreatinina, IgA i IgM, broja E/mm^3 urina, koncentracije proteina u 24-satnom urinu, a statistički značajno više vrijednosti za nalaze C4, korigiranog klirensa kreatinina i iz njega izvedene procijenjene brzine glomerularne filtracije. U odnosu na kontrolnu skupinu, obje su skupine oboljele djece na početku istraživanja imale statistički značajno više vrijednosti sedimentacije eritrocita, C-reaktivnog proteina, broja leukocita i trombocita, antistreptolizinskog titra te statistički značajno niže vrijednosti C3 i C4 komponente komplementa (tablica 9).

Tablica 9. Post-hoc razlike u laboratorijskim nalazima između pojedinih skupina na početku istraživanja (Mann-Whitneyjev U test)

	P vrijednosti		
	HSP bez nefritisa vs. HSP s nefritisom	**HSP bez nefritisa vs. kontrola**	**HSP s nefritisom vs. kontrola**
SE (mm/h)	0,320	< 0,001	< 0,001
CRP (mg/L)	0,751	< 0,001	< 0,001
Hb (g/L)	0,164	0,002	0,102
L (x 10^9/L)	0,942	< 0,001	< 0,001
Trc (x 10^9/L)	0,107	0,002	< 0,001
Ureja (mmol/L)	0,271	0,258	1,000
Kreatinin (mmol/L)	0,021	0,018	0,775
Feritin (µg/L)	0,633	0,609	0,882
d-dimeri (mg/L)	0,686	< 0,001	< 0,001
Ukupni proteini (g/L)	0,208	0,001	0,226
IgG (g/L)	0,550	0,348	0,906
IgA (g/L)	0,008	0,179	< 0,001
IgM (g/L)	0,029	0,028	0,888
AST-O (IU/ml)	0,850	< 0,001	< 0,001
C3 (g/L)	0,427	< 0,001	0,001
C4 (g/L)	< 0,001	0,856	0,001
E u urinu (/mm^3)	< 0,001	0,287	< 0,001
Proteini u 24-satnom urinu (g/dU)	0,001	0,851	0,002
cCR (ml/min/1,73m^2)	0,005	0,019	0,228
eGFR (ml/min/1,73m^2)	0,035	0,261	0,073

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, SE – sedimentacija eritrocita, CRP – C-reaktivni protein, Hb – hemoglobin, L – leukociti, Trc – trombociti, IgG – imunoglobulin G, IgA – imunoglobulin A, IgM – imunoglobulin M, AST-O – antistreptolizinski titar, C3 – komponenta komplementa C3, C4 – komponenta komplementa C4, E – eritrociti, cCR – korigirani klirens kreatinina, eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije

Test stolice na okultno krvarenje bio je pozitivan na početku bolesti u 16 (16,5 %) oboljele djece, bez statistički značajne razlike među djecom bez nefritisa i s nefritisom (tablica 10). U sve djece u kontrolnoj skupini test stolice na okultno krvarenje bio je negativan.

Tablica 10. Test stolice na okultno krvarenje u oboljele djece na početku istraživanja (X^2 test)

		Skupine				P
		HSP bez nefritisa		HSP s nefritisom		
		N	%	N	%	
Test stolice na okultno krvarenje	Negativno	48	87,3 %	33	78,6 %	0,253
	Pozitivno	7	12,7 %	9	21,4 %	

HSP – Henoch-Schönleinova purpura

U daljnjem tijeku istraživanja (nakon tri i šest mjeseci) ponovno su učinjeni svi navedeni nalazi (osim AST-O, C3 i C4), samo u oboljele djece.

Među nalazima učinjenim nakon tri mjeseca u skupini djece s HSP bez nefritisa u odnosu na skupinu djece s HSP s nefritisom statistički značajno niže vrijednosti zabilježene su za nalaze kreatinina i broja E u mm^3 urina, a značajno više za nalaze korigiranog klirensa kreatinina te iz njega izvedenog eGFR. Među ostalim rutinskim laboratorijskim nalazima učinjenim nakon tri mjeseca od početka istraživanja nije bilo statistički značajne razlike među skupinama oboljele djece (tablica 11).

Među nalazima učinjenim nakon šest mjeseci u skupini djece s HSP bez nefritisa u odnosu na skupinu djece s HSP s nefritisom statistički značajno niže vrijednosti zabilježene su za nalaze kreatinina i broja E u mm^3 urina, a značajno više za nalaz eGFR. Među ostalim rutinskim laboratorijskim nalazima učinjenim nakon šest mjeseci od početka istraživanja nije bilo statistički značajne razlike među skupinama oboljele djece (tablica 12).

U 8 HSP bolesnika (8/97, 8,2 %) znakovi nefritisa razvili su se nakon tri ili šest mjeseci. Nakon tri mjeseca praćenja znakovi nefritisa registrirani su u 25 (25/97, 25,8 %) HSP bolesnika. Samo hematuriju imalo je 17, samo proteinuriju 3, a nalaz hematurije i proteinurije 5 bolesnika. Nakon šest mjeseci praćenja znakove nefritisa imalo je 18 (18/97, 18,6 %) HSP bolesnika. Samo hematuriju imalo je 12, samo proteinuriju 2, a nalaz hematurije i proteinurije 4 bolesnika. Znakove nefritisa

cijelo vrijeme praćenja imalo je 12 (12/97, 12,4 %) djece, od toga 4 konstantno samo hematuriju, dok je preostalih 8 imalo ili proteinuriju ili hematuriju i proteinuriju ovisno o vremenu uzorkovanja. Poremećaj bubrežne funkcije u smislu nalaza eGFR ≤ 80ml /min/1,73m^2 nakon tri i šest mjeseci praćenja imalo je samo po jedno dijete (ne isto) s HSP s nefritisom. Oboljela djeca bez nefritisa imala su eGFR > 80 ml/min/1,73m^2 u svim određivanjima (tablice 11 i 12).

Tablica 11. Rutinski laboratorijski nalazi u bolesnika nakon tri mjeseca od početka istraživanja (Mann-Whitney U test)

	Skupina	N	Min.	Max.	Centile			P
					25.	Medijan	75.	
SE (mm/h)	HSP bez nefritisa	55	2,00	51,00	4,00	6,00	12,00	0,795
	HSP s nefritisom	42	2,00	38,00	4,00	7,00	14,00	
CRP (mg/L)	HSP bez nefritisa	55	0,10	19,40	0,30	0,30	1,70	0,590
	HSP s nefritisom	42	0,10	21,20	0,30	0,30	0,95	
Hb (g/L)	HSP bez nefritisa	55	108,00	149,00	124,00	132,00	136,00	0,936
	HSP s nefritisom	42	112,00	161,00	122,75	129,50	139,00	
L (x 10^9/L)	HSP bez nefritisa	55	4,80	19,40	6,70	8,10	10,10	0,790
	HSP s nefritisom	42	4,78	17,32	6,70	8,00	9,60	
Trc (x 10^9/L)	HSP bez nefritisa	55	166,00	481,00	274,00	311,00	378,00	0,154
	HSP s nefritisom	42	240,00	461,00	293,75	335,50	370,50	
Ureja (mmol/L)	HSP bez nefritisa	55	1,80	7,70	3,50	3,90	4,70	0,922
	HSP s nefritisom	42	1,60	6,80	3,08	4,20	4,73	
Kreatinin (mmol/L)	HSP bez nefritisa	55	27,00	81,00	32,00	39,00	46,00	0,003
	HSP s nefritisom	42	27,00	82,00	40,00	44,50	53,25	
Feritin (µmol/L)	HSP bez nefritisa	55	6,00	135,10	16,00	35,70	57,00	0,907
	HSP s nefritisom	42	7,00	289,00	22,13	29,50	56,00	
d-dimeri (mg/L)	HSP bez nefritisa	55	0,08	12,36	0,17	0,22	0,34	0,548
	HSP s nefritisom	42	0,13	1,30	0,17	0,27	0,37	
Uk. proteini (g/L)	HSP bez nefritisa	55	60,00	78,00	67,00	70,00	73,00	0,163
	HSP s nefritisom	42	58,00	75,00	65,00	69,00	73,00	
IgA (g/L)	HSP bez nefritisa	55	0,58	3,17	1,21	1,52	1,90	0,141
	HSP s nefritisom	42	0,82	4,48	1,21	1,68	2,13	

IgM (g/L)	HSP bez nefritisa	55	0,34	1,83	0,75	0,90	1,10	0,382
	HSP s nefritisom	42	0,41	1,73	0,72	1,00	1,19	
IgG (g/L)	HSP bez nefritisa	55	5,92	17,27	8,33	9,37	10,64	0,779
	HSP s nefritisom	42	1,91	13,62	7,69	9,08	11,28	
E u urinu (/mm^3)	HSP bez nefritisa	55	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	<0,001
	HSP s nefritisom	42	0,00	4250,00	0,00	6,50	17,25	
Proteini u 24-satnom urinu (g/dU)	HSP bez nefritisa	55	0,02	0,18	0,05	0,07	0,09	0,052
	HSP s nefritisom	42	0,02	0,94	0,05	0,08	0,11	
cCR (ml/min/1,73m^2)	HSP bez nefritisa	55	65,10	174,20	119,40	138,00	146,00	<0,001
	HSP s nefritisom	42	61,80	146,30	103,30	115,30	128,28	
eGFR (ml/min/1,73m^2)	HSP bez nefritisa	55	81,58	156,48	97,36	114,60	133,45	0,001
	HSP s nefritisom	42	74,36	142,22	89,40	101,05	115,05	

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, SE – sedimentacija eritrocita, CRP – C-reaktivni protein, Hb – hemoglobin, L – leukociti, Trc – trombociti, IgG – imunoglobulin G, IgA – imunoglobulin A, IgM – imunoglobulin M, AST-O – antistreptolizinski titar, C3 – komponenta komplementa C3, C4 – komponenta komplementa C4, E – eritrociti, cCR – korigirani klirens kreatinina, eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije

Tablica 12. Rutinski laboratorijski nalazi u bolesnika nakon šest mjeseci od početka istraživanja (Mann-Whitney U test)

	Skupina	**N**	**Min.**	**Max.**	**Centile**			**P**
					25.	**Medijan**	**75.**	
SE (mm/h)	HSP bez nefritisa	55	2,00	30,00	4,00	7,00	11,00	0,887
	HSP s nefritisom	42	1,00	23,00	4,75	7,50	11,25	
CRP (mg/L)	HSP bez nefritisa	55	0,10	34,10	0,30	0,30	1,00	0,896
	HSP s nefritisom	42	0,10	19,90	0,30	0,30	0,93	
Hb (g/L)	HSP bez nefritisa	55	108,00	147,00	122,00	129,00	136,00	0,771
	HSP s nefritisom	42	109,00	156,00	123,75	129,50	136,25	
L (x 10^9/L)	HSP bez nefritisa	55	2,60	11,90	7,00	8,10	9,20	0,667
	HSP s nefritisom	42	4,71	11,70	6,74	7,70	9,33	
Trc (x 10^9/L)	HSP bez nefritisa	55	176,00	503,00	267,00	311,00	378,00	0,665
	HSP s nefritisom	42	206,00	472,00	268,50	323,50	376,50	
Ureja (mmol/L)	HSP bez nefritisa	55	2,30	7,80	3,30	3,90	5,00	0,345
	HSP s nefritisom	42	2,20	6,10	3,20	3,84	4,33	
Kreatinin (mmol/L)	HSP bez nefritisa	55	28,00	65,00	35,00	41,00	47,00	0,010
	HSP s nefritisom	42	27,00	78,00	39,75	45,50	55,50	

Feritin (µmol/L)	HSP bez nefritisa	55	8,70	156,00	21,00	32,40	58,00	0,143
	HSP s nefritisom	42	5,00	237,00	20,00	28,50	38,50	
d-dimeri (mg/L)	HSP bez nefritisa	55	0,15	0,53	0,19	0,24	0,31	0,818
	HSP s nefritisom	42	0,08	3,46	0,17	0,24	0,35	
Uk. proteini (g/L)	HSP bez nefritisa	55	6,27	14,29	8,20	9,54	10,80	0,489
	HSP s nefritisom	42	4,82	13,52	8,12	9,03	10,37	
IgA (g/L)	HSP bez nefritisa	55	0,66	2,95	1,10	1,52	1,79	0,164
	HSP s nefritisom	42	0,79	4,12	1,34	1,60	1,90	
IgM (g/L)	HSP bez nefritisa	55	0,38	1,97	0,68	0,84	1,01	0,067
	HSP s nefritisom	42	0,47	1,80	0,74	1,05	1,23	
IgG (g/L)	HSP bez nefritisa	55	6,27	14,29	8,20	9,54	10,80	0,489
	HSP s nefritisom	42	4,82	13,52	8,12	9,03	10,37	
E u urinu (/mm³)	HSP bez nefritisa	55	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	< 0,001
	HSP s nefritisom	42	0,00	8553,00	0,00	4,00	15,25	
Proteini u 24-satnom urinu (g/dU)	HSP bez nefritisa	55	0,02	0,16	0,05	0,07	0,09	0,080
	HSP s nefritisom	42	0,03	0,85	0,06	0,08	0,09	
cCR (ml/min/1,73m^2)	HSP bez nefritisa	54	50,00	170,30	112,75	131,55	144,20	0,111
	HSP s nefritisom	42	76,60	163,80	110,80	123,10	134,98	
eGFR (ml/min/1,73m^2)	HSP bez nefritisa	55	78,86	154,56	97,64	110,93	125,50	0,006
	HSP s nefritisom	42	67,40	146,04	88,61	100,17	114,55	

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, SE – sedimentacija eritrocita, CRP – C-reaktivni protein, Hb – hemoglobin, L – leukociti, Trc – trombociti, IgG – imunoglobulin G, IgA – imunoglobulin A, IgM – imunoglobulin M, AST-O – antistreptolizinski titar, C3 – komponenta komplementa C3, C4 – komponenta komplementa C4, E – eritrociti, cCR – korigirani klirens kreatinina, eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije

Zavisne promjene vrijednosti rutinskih nalaza (Friedmanov test) u objema skupinama oboljele djece (HSP bez nefritisa + HSP s nefritisom) u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze pokazale su značajnu razliku u: brzini sedimentacije eritrocita ($P < 0,001$ / $P < 0,001$; pad brzine) (tablica 13), koncentraciji C-reaktivnog proteina ($P < 0,001$ / $P < 0,001$; pad koncentracije) (tablica 14), broju leukocita ($P < 0,001$ / $P < 0,001$; pad broja) (tablica 15), broju trombocita ($P < 0,001$ / $P = 0,003$, pad broja) (tablica 16), koncentraciji feritina ($P < 0,001$ / $P < 0,001$; pad koncentracije) (tablica 17), koncentraciji d-dimera ($P < 0,001$ / $P < 0,001$; pad koncentracije) (tablica 18),

koncentraciji imunoglobulina A ($P < 0,001$ / $P < 0,001$; pad koncentracije) (tablica 19) i broju E/mm^3 urina ($P = 0,002$ / $P = 0,041$, pad broja) (tablica 20).

U skupini djece s HSP bez nefritisa značajna razlika registrirana je u navedenom razdoblju u koncentraciji hemoglobina ($P = 0,008$, oscilacije koncentracije), koncentraciji kreatinina ($P = 0,002$, oscilacije koncentracije) i procijenjenoj brzini glomerularne filtracije ($P = 0,005$; pad vrijednosti), a u skupini djece s HSP s nefritisom u koncentraciji imunoglobulina G ($P = 0,004$, pad koncentracije), koncentraciji proteina u volumenu 24-satnog urina ($P = 0,036$, pad koncentracije) te korigiranom klirensu kreatinina ($P = 0,006$, oscilacija vrijednosti). U skupini djece s HSP bez nefritisa nije bilo značajne razlike u dinamici koncentracije imunoglobulina G ($P = 0,133$), koncentracije proteina u volumenu 24-satnog urina ($P = 0,639$) i korigiranog klirensa kreatinina ($P = 0,074$), a u skupini djece s HSP s nefritisom u dinamici koncentracije hemoglobina ($P = 0,458$), koncentracije kreatinina ($P = 0,458$) i procijenjene brzine glomerularne filtracije ($P = 0,539$).

Niti u jednoj skupini nisu registrirane značajne razlike u dinamici serumskih koncentracija ureje, ukupnih proteina i imunoglobulina M.

Tablica 13. Zavisne promjene brzine sedimentacije u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze (Friedmanov test)

Skupina		N	Centile		
			25.	Medijan	75.
HSP bez nefritisa	SE 1 (mm/h)	55	12,00	18,00	25,00
	SE 2 (mm/h)	55	4,00	6,00	12,00
	SE 3 (mm/h)	55	4,00	7,00	11,00
HSP s nefritisom	SE 1 (mm/h)	42	10,00	17,00	24,00
	SE 2 (mm/h)	42	4,00	7,00	14,00
	SE 3 (mm/h)	42	4,75	7,50	11,25

HSP bez nefritisa	N	55
	X2 test (Friedmanov)	52,353
	Df	2
	P	< 0,001
HSP s nefritisom	N	42
	X2 test (Friedmanov)	30,160
	Df	2
	P	< 0,001

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, SE – sedimentacija eritrocita

Tablica 14. Zavisne promjene vrijednosti C-reaktivnog proteina u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze (Friedmanov test)

Skupina		N	Centile		
			25.	Medijan	75.
HSP bez nefritisa	CRP 1 (mg/L)	55	2,03	8,00	14,93
	CRP 2 (mg/L)	55	0,30	0,30	1,80
	CRP 3 (mg/L)	55	0,30	0,30	1,00
HSP s nefritisom	CRP 1 (mg/L)	42	1,58	6,05	15,98
	CRP 2 (mg/L)	42	0,30	0,30	0,95
	CRP 3 (mg/L)	42	0,30	0,30	0,93

HSP bez nefritisa	N	55
	X2 test (Friedmanov)	62,789
	df	2
	P	< 0,001
HSP s nefritisom	N	42
	X2 test (Friedmanov)	38,053
	df	2
	P	< 0,001

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, CRP – C-reaktivni protein

Tablica 15. Zavisne promjene broja leukocita u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze (Friedmanov test)

Skupina		N	Centile		
			25.	Medijan	75.
HSP bez nefritisa	L 1 (x 10^9/L)	55	8,58	11,30	14,81
	L 2 (x 10^9/L)	55	6,70	8,10	10,10
	L 3 (x 10^9/L)	55	7,00	8,10	9,20
HSP s nefritisom	L 1 (x 10^9/L)	42	8,93	11,67	14,18
	L 2 (x 10^9/L)	42	6,70	8,00	9,60
	L 3 (x 10^9/L)	42	6,74	7,70	9,33

HSP bez nefritisa	N	55
	X2 test (Friedmanov)	42,218
	df	2
	P	< 0,001
HSP s nefritisom	N	42
	X2 test (Friedmanov)	23,222
	df	2
	P	< 0,001

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, L – leukociti

Tablica 16. Zavisne promjene broja trombocita u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze (Friedmanov test)

Skupina		N	Centile		
			25.	Medijan	75.
HSP bez nefritisa	Trc 1 (x 10^9/L)	55	278,00	342,00	427,00
	Trc 2 (x 10^9/L)	55	274,00	311,00	378,00
	Trc 3 (x 10^9/L)	55	267,00	311,00	378,00
HSP s nefritisom	Trc 1 (x 10^9/L)	42	314,50	388,50	441,75
	Trc 2 (x 10^9/L)	42	293,75	335,50	370,50
	Trc 3 (x 10^9/L)	42	268,50	323,50	376,50

HSP bez nefritisa	N	55
	X2 test (Friedmanov)	11,806
	df	2
	P	0,003
HSP s nefritisom	N	42
	X2 test (Friedmanov)	15,533
	df	2
	P	< 0,001

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, Trc – trombociti

Tablica 17. Zavisne promjene koncentracije feritina u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze (Friedmanov test)

Skupina		N	Centile		
			25.	Medijan	75.
HSP bez nefritisa	feritin 1 (µg/L)	55	46,50	68,00	93,20
	feritin 2 (µg/L)	55	16,00	35,70	57,00
	feritin 3 (µg/L)	55	21,00	32,40	58,00
HSP s nefritisom	feritin 1 (µg/L)	42	36,13	65,60	102,10
	feritin 2 (µg/L)	42	22,13	29,50	56,00
	feritin 3 (µg/L)	42	20,00	28,50	38,50

HSP bez nefritisa	N	55
	X2 test (Friedmanov)	47,187
	df	2
	P	< 0,001
HSP s nefritisom	N	42
	X2 test (Friedmanov)	30,232
	df	2
	P	< 0,001

HSP – Henoch-Schönleinova purpura

Tablica 18. Zavisne promjene koncentracije d-dimera u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze (Friedmanov test)

Skupina		N	Centile		
			25.	Medijan	75.
HSP bez nefritisa	d-dimeri 1 (mg/L)	55	0,92	2,03	3,59
	d-dimeri 2 (mg/L)	55	0,17	0,22	0,34
	d-dimeri 3 (mg/L)	55	0,19	0,24	0,31
HSP s nefritisom	d-dimeri 1 (mg/L)	42	0,59	2,13	3,90
	d-dimeri 2 (mg/L)	42	0,17	0,27	0,37
	d-dimeri 3 (mg/L)	42	0,17	0,24	0,35

HSP bez nefritisa	N	55
	X2 test (Friedmanov)	81,333
	df	2
	P	< 0,001
HSP s nefritisom	N	42
	X2 test (Friedmanov)	56,000
	df	2
	P	< 0,001

HSP – Henoch-Schönleinova purpura

Tablica 19. Zavisne promjene koncentracije imunoglobulina A u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze (Friedmanov test)

Skupina		N	Centile		
			25.	Medijan	75.
HSP bez nefritisa	IgA 1 (g/L)	55	1,25	1,65	2,15
	IgA 2 (g/L)	55	1,21	1,52	1,90
	IgA 3 (g/L)	55	1,10	1,52	1,79
HSP s nefritisom	IgA 1 (g/L)	42	1,64	2,11	2,85
	IgA 2 (g/L)	42	1,21	1,68	2,13
	IgA 3 (g/L)	42	1,34	1,60	1,90

HSP bez nefritisa	N	55
	X2 test (Friedmanov)	17,651
	df	2
	P	< 0,001
HSP s nefritisom	N	42
	X2 test (Friedmanov)	38,286
	df	2
	P	< 0,001

HSP – Henoch-Schönleinova purpura

Tablica 20. Zavisne promjene broja eritrocita/mm^3 urina u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze (Friedmanov test)

Skupina		N	Centile		
			25.	Medijan	75.
HSP bez nefritisa	E u urinu 1 (/mm^3)	55	0,00	0,00	1,00
	E u urinu 2 (/mm^3)	55	0,00	0,00	0,00
	E u urinu 3 (/mm^3)	55	0,00	0,00	0,00
HSP s nefritisom	E u urinu 1 (/mm^3)	42	3,50	9,50	36,25
	E u urinu 2 (/mm^3)	42	0,00	6,50	17,25
	E u urinu 3 (/mm^3)	42	0,00	4,00	15,25

HSP bez nefritisa	N	55
	X2 test (Friedmanov)	12,505
	Df	2
	P	0,002
HSP s nefritisom	N	42
	X2 test (Friedmanov)	6,411
	df	2
	P	0,041

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, E – eritrociti

5.3. Aktivnost e-GST

Aktivnost e-GST određena je u svih ispitanika inicijalno − na početku istraživanja, a u skupini oboljele djece i tri te šest mjeseci nakon početka istraživanja (tablica 21).

Tablica 21. Aktivnost eritrocitne glutation S-transferaze u odnosu na razvoj nefritisa u djece oboljele od HSP i kontrolnoj skupini (Kruskal-Wallisov test s post-hoc Mann-Whitneyjevim U testom)

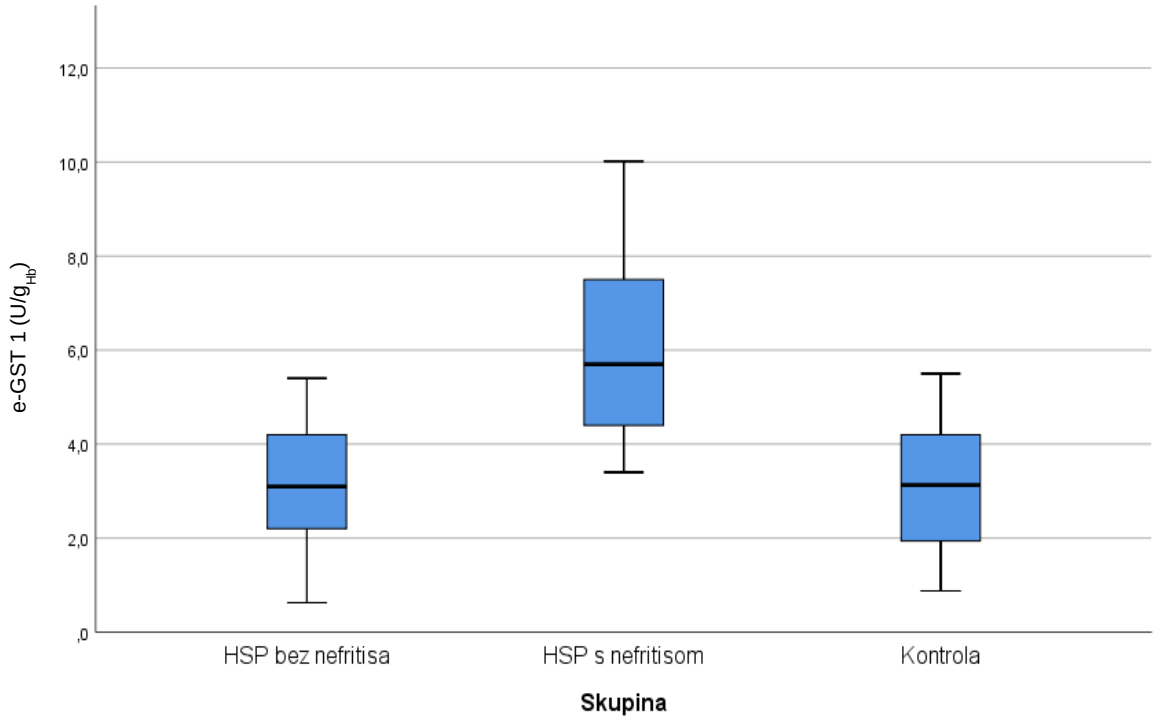
	Skupina	N	Min.	Max.	Centile		
					25.	Medijan	75.
e-GST 1 (U/g_{Hb})	HSP bez nefritisa	55	0,63	5,40	2,20	3,10	4,20
	HSP s nefritisom	42	3,40	10,02	4,38	5,70	7,50
	Kontrola	52	0,88	5,50	1,91	3,13	4,20
e-GST 2 (U/g_{Hb})	HSP bez nefritisa	55	0,80	5,60	2,30	3,30	4,10
	HSP s nefritisom	42	1,50	9,60	4,18	5,00	6,23
e-GST 3 (U/g_{Hb})	HSP bez nefritisa	55	0,90	5,50	2,10	3,30	4,10
	HSP s nefritisom	42	1,20	9,50	3,18	4,25	5,83

Razlike između 3 skupine	Kruskal-Wallisov H	df	P
e-GST 1 (U/g_{Hb})	59,575	2	< 0,001

Razlike samo pacijenti HSP	Mann-Whitneyjev Z	df	P
e-GST 1 (U/g_{Hb})	47,930	1	< 0,001
e-GST 2 (U/g_{Hb})	35,411	1	< 0,001
e-GST 3 (U/g_{Hb})	13,638	1	< 0,001

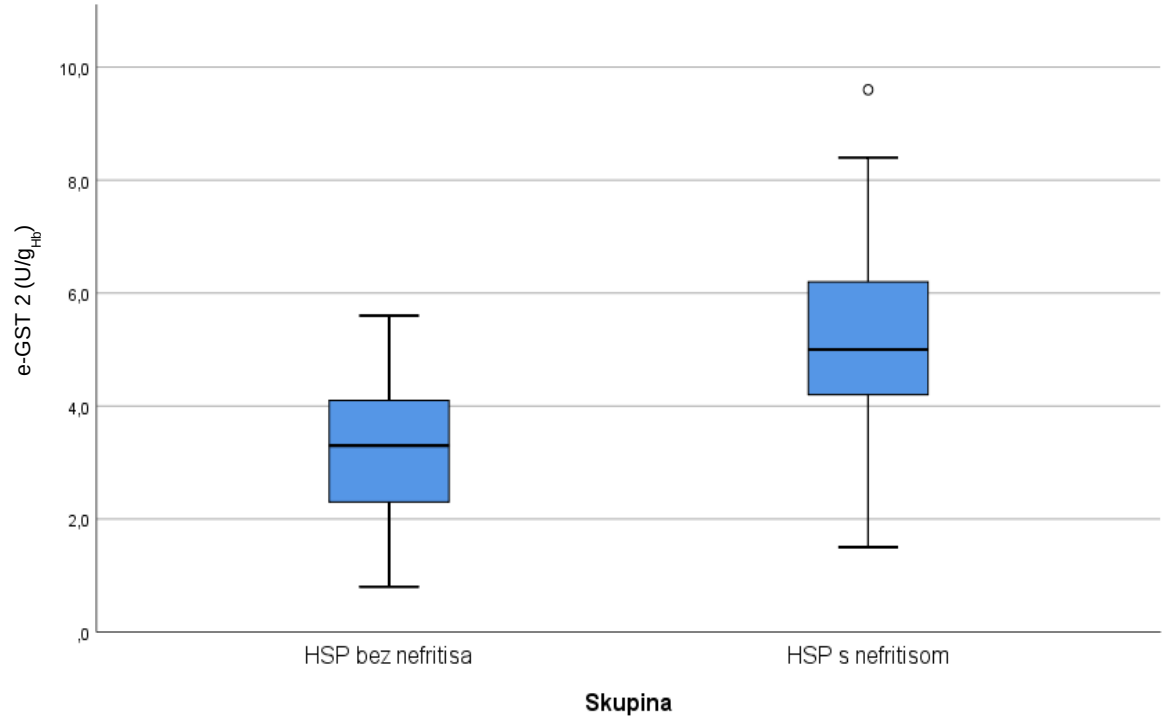
e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza, HSP – Henoch-Schönleinova purpura

Aktivnost e-GST u skupini HSP bolesnika s nefritisom bila je na početku istraživanja statistički značajno veća u odnosu na skupinu HSP bolesnika bez nefritisa: medijan (interkvartilni raspon) 5,70 U/g_{Hb} (4,38 − 7,50 U/g_{Hb}) prema 3,10 U/g_{Hb} (2,20 − 4,20 U/g_{Hb}); P < 0,001, kao i u odnosu na kontrolu: 5,70 U/g_{Hb} (4,38 − 7,50 U/g_{Hb}) prema 3,13 U/g_{Hb} (1,91 − 4,20 U/g_{Hb}); P < 0,001. Razlike između skupine HSP bolesnika bez nefritisa u odnosu na kontrolnu skupinu djece nisu bile statistički značajne (P = 0,837) (Slika 10).

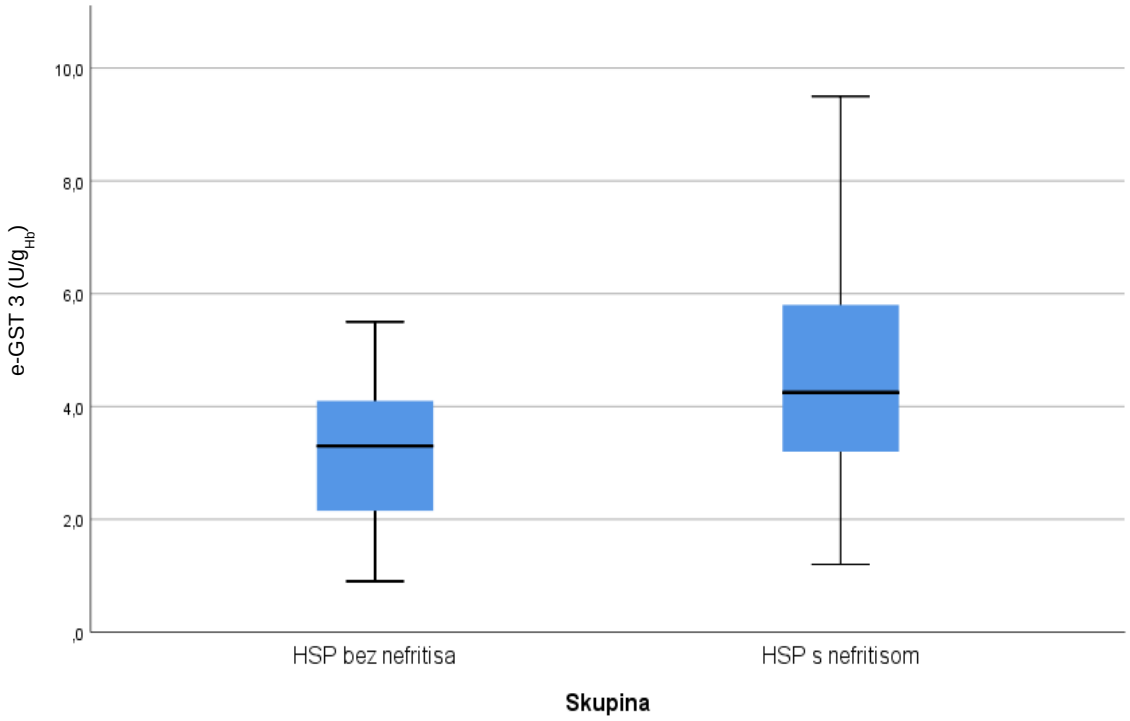


Slika 10. Razlike u aktivnosti eritrocitne glutation S-transferaze između skupina djece oboljele od HSP i kontrolne skupine na početku istraživanja: P < 0,001 (Kruskal-Wallisov test)

Vrijednosti aktivnosti e-GST u skupini HSP bolesnika s nefritisom bile su nakon tri i šest mjeseci od početka istraživanja statistički značajno veće u odnosu na skupinu HSP bolesnika bez nefritisa (slika 11 i 12).



Slika 11. Razlike u aktivnosti eritrocitne glutation S-transferaze između skupina djece oboljele od HSP nakon tri mjeseca od početka istraživanja: P < 0,001 (Mann-Whitneyjev test)



Slika 12. Razlike u aktivnosti eritrocitne glutation S-transferaze između skupina djece oboljele od HSP nakon šest mjeseci od početka istraživanja: P < 0,001 (Mann-Whitneyjev test)

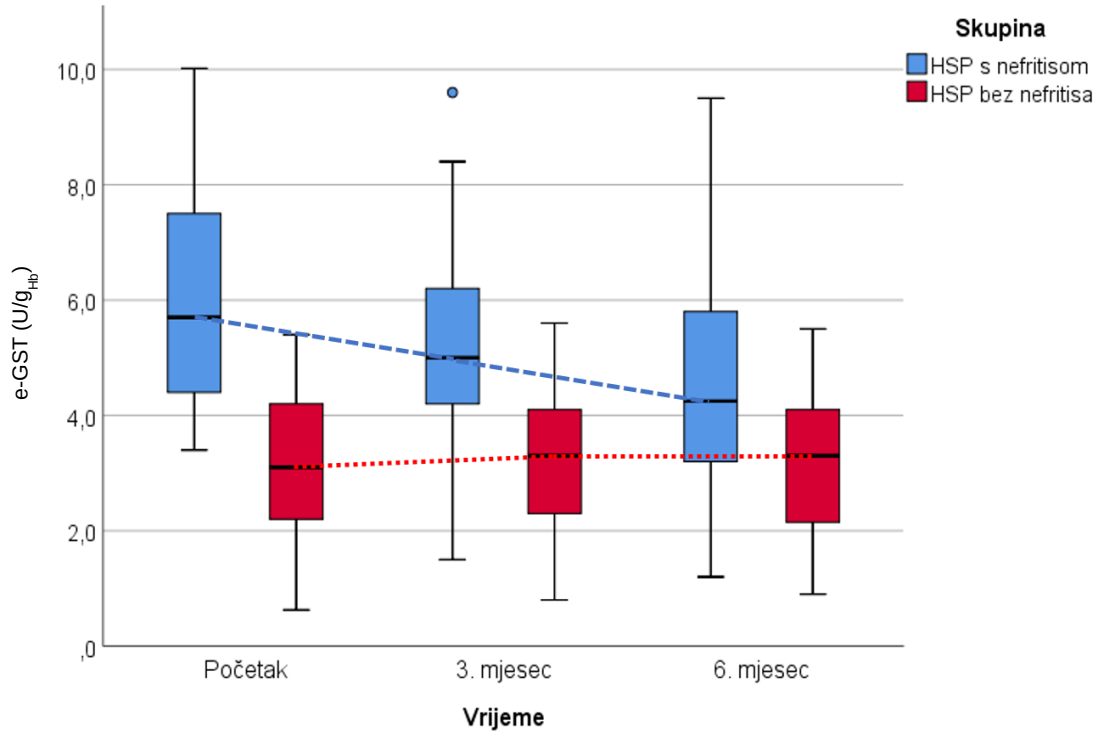
Zavisne promjene aktivnosti e-GST u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze prikazane su u tablici 22 i na slici 13. U skupini pacijenata s nefritisom tijekom promatranog razdoblja došlo je do značajnog pada aktivnosti e-GST (P = 0,018), dok je u skupini HSP pacijenata bez nefritisa aktivnost e-GST ostala podjednaka (P = 0,109).

Tablica 22. Zavisne promjene aktivnosti eritrocitne glutation S-transferaze u djece s HSP u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze (Friedmanov test)

Skupina		N	Centile		
			25.	Medijan	75.
HSP bez nefritisa	e-GST 1 (U/g_{Hb})	55	2,20	3,10	4,20
	e-GST 2 (U/g_{Hb})	55	2,30	3,30	4,10
	e-GST 3 (U/g_{Hb})	55	2,10	3,30	4,10
HSP s nefritisom	e-GST 1 (U/g_{Hb})	42	4,38	5,70	7,50
	e-GST 2 (U/g_{Hb})	42	4,18	5,00	6,23
	e-GST 3 (U/g_{Hb})	42	3,18	4,25	5,83

HSP bez nefritisa	N	55
	X2 test (Friedmanov)	4,426
	df	2
	P	0,109
HSP s nefritisom	N	42
	X2 test (Friedmanov)	8,048
	df	2
	P	0,018

e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza, HSP – Henoch-Schönleinova purpura



Slika 13. Zavisne promjene aktivnosti eritrocitne glutation S-transferaze u djece s HSP nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze

5.4. Korelacije aktivnosti e-GST s osnovnim podacima i rutinskim laboratorijskim nalazima ispitanika

Korelacije aktivnosti e-GST s dobi oboljele djece, vremenom proteklim od prethodne infekcije do pojave purpure te trajanjem terapije glukokortikoidima i nesteroidnim protuupalnim lijekovima prikazane su u tablici 23. Registrirane su značajne pozitivne korelacije dobi oboljele djece s vrijednostima e-GST nakon tri i šest mjeseci. Pri korelaciji aktivnosti e-GST s ostalim navedenim varijablama nije nađena statistički značajna povezanost.

Tablica 23. Korelacije aktivnosti e-GST na početku te nakon tri i šest mjeseci od početka istraživanja s dobi oboljele djece, vremenom proteklim od prethodne infekcije do pojave purpure te trajanjem terapije glukokortikoidima i NSAID (Spearmanov koeficijent korelacije)

		e-GST 1 (U/g_{Hb})	**e-GST 2 (U/g_{Hb})**	**e-GST 3 (U/g_{Hb})**
DOB (mjeseci)	Korelacijski koeficijent	0,154	0,296	0,242
	P	0,132	0,003	0,017
Broj dana prije pojave purpure	Korelacijski koeficijent	0,243	0,182	0,064
	P	0,053	0,150	0,616
Terapija GK (broj dana)	Korelacijski koeficijent	0,096	0,051	-0,035
	P	0,347	0,617	0,732
Terapija NSAID (broj dana)	Korelacijski koeficijent	−0,038	−0,089	0,004
	P	0,711	0,388	0,971

e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza, GK – glukokortikoidi, NSAID – nesteroidni protuupalni lijekovi

Korelacije aktivnosti e-GST s karakteristikama purpure (relaps kožnih promjena, proširenost kožnih promjena iznad razine pojasa, promjer eflorescencija ≥ 10 mm) te prethodnom infekcijom u anamnezi prikazane su u tablici 24. Pri korelaciji aktivnosti e-GST s navedenim varijablama nisu nađene statistički značajne povezanosti.

Tablica 24. Povezanost (korelacija) aktivnosti e-GST na početku, nakon tri i nakon šest mjeseci od početka istraživanja s karakteristikama purpure te prethodnom infekcijom u anamnezi (Kendallov tau_b koeficijent korelacije)

		HSP bez nefritisa			HSP s nefritisom		
		e-GST 1 (U/g_{Hb})	**e-GST 2 (U/g_{Hb})**	**e-GST 3 (U/g_{Hb})**	**e-GST 1 (U/g_{Hb})**	**e-GST 2 (U/g_{Hb})**	**e-GST 3 (U/g_{Hb})**
Relaps kožnih promjena	Korelacijski koeficijent	0,007	0,034	0,012	0,036	0,197	0,237
	P	0,950	0,767	0,914	0,781	0,129	0,069
	N	55	55	55	42	42	42
Kožne promjene iznad razine pojasa	Korelacijski koeficijent	−0,054	−0,046	−0,066	0,007	−0,058	0,084
	P	0,630	0,683	0,559	0,957	0,653	0,517
	N	55	55	55	42	42	42
Eflorescencije promjera ≥ 10 mm	Korelacijski koeficijent	0,093	0,123	0,134	−0,007	0,020	−0,083
	P	0,410	0,280	0,235	0,959	0,876	0,525
	N	55	55	55	42	42	42
Prethodna infekcija u anamnezi	Korelacijski koeficijent	−0,018	0,020	0,006	0,067	−0,216	−0,164
	P	0,877	0,863	0,956	0,604	0,097	0,209
	N	55	55	55	42	42	42

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza

Korelacije aktivnosti e-GST s praćenim laboratorijskim parametrima (SE, CRP, hemoglobin, leukociti, trombociti, ureja, kreatinin, feritin, d-dimeri, ukupni proteini, IgG, IgA, IgM, AST-O, broj E/mm^3 urina, proteini u 24-satnom urinu, cCR i eGFR), prikazane su u tablicama 25, 26 i 27. Konzistentna značajno pozitivna korelacija tijekom šestomjesečnog istraživanja registrirana je samo između aktivnosti e-GST i broja E/mm^3 urina.

Tablica 25. Korelacije aktivnosti e-GST s praćenim laboratorijskim parametrima (sedimentacija eritrocita, C-reaktivni protein, hemoglobin, leukociti, trombociti) (Spearmanov koeficijent korelacije)

		e-GST 1 (U/g_{Hb})	**e-GST 2 (U/g_{Hb})**	**e-GST 3 (U/g_{Hb})**
SE 1 (mm/h)	Korelacijski koeficijent	−0,091		
	P	0,376		
SE 2 (mm/h)	Korelacijski koeficijent		0,041	
	P		0,687	
SE 3 (mm/h)	Korelacijski koeficijent			0,053
	P			0,605
CRP 1 (mg/L)	Korelacijski koeficijent	−0,052		
	P	0,614		
CRP 2 (mg/L)	Korelacijski koeficijent		−0,186	
	P		0,069	
CRP 3 (mg/L)	Korelacijski koeficijent			0,027
	P			0,797
Hb 1 (g/L)	Korelacijski koeficijent	0,099		
	P	0,336		
Hb 2 (g/L)	Korelacijski koeficijent		0,065	
	P		0,529	
Hb 3 (g/L)	Korelacijski koeficijent			−0,036
	P			0,727
L 1 (x 10^9/L)	Korelacijski koeficijent	0,059		
	P	0,564		
L 2 (x 10^9/L)	Korelacijski koeficijent		0,048	
	P		0,641	
L 3 (x 10^9/L)	Korelacijski koeficijent			0,119
	P			0,247
Trc 1 (x 10^9/L)	Korelacijski koeficijent	0,131		
	P	0,201		
Trc 2 (x 10^9/L)	Korelacijski koeficijent		0,158	
	P		0,122	
Trc 3 (x 10^9/L)	Korelacijski koeficijent			0,070
	P			0,497

e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza, SE – sedimentacija eritrocita, CRP – C-reaktivni protein, Hb – hemoglobin, L – leukociti, Trc – trombociti

Tablica 26. Korelacije aktivnosti e-GST s praćenim laboratorijskim parametrima (ureja, kreatinin, feritin, d-dimeri, ukupni proteini) (Spearmanov koeficijent korelacije)

		e-GST 1 (U/g_{Hb})	**e-GST 2 (U/g_{Hb})**	**e-GST 3 (U/g_{Hb})**
Ureja 1 (mmol/L)	Korelacijski koeficijent	0,067		
	P	0,517		
Ureja 2 (mmol/L)	Korelacijski koeficijent		0,085	
	P		0,406	
Ureja 3 (mmol/L)	Korelacijski koeficijent			0,052
	P			0,614
Kreatinin 1 (µmol/L)	Korelacijski koeficijent	0,183		
	P	0,073		
Kreatinin 2 (µmol/L)	Korelacijski koeficijent		0,328	
	P		0,001	
Kreatinin 3 (µmol/L)	Korelacijski koeficijent			0,275
	P			0,006
Feritin 1 (µg/L)	Korelacijski koeficijent	−0,068		
	P	0,509		
Feritin 2 (µg/L)	Korelacijski koeficijent		0,024	
	P		0,819	
Feritin 3 (µg/L)	Korelacijski koeficijent			0,107
	P			0,298
d-dimeri 1 (mg/L)	Korelacijski koeficijent	−0,036		
	P	0,726		
d-dimeri 2 (mg/L)	Korelacijski koeficijent		0,038	
	P		0,709	
d-dimeri 3 (mg/L)	Korelacijski koeficijent			−0,032
	P			0,756
Uk. proteini 1 (g/L)	Korelacijski koeficijent	0,082		
	P	0,424		
Uk. proteini 2 (g/L)	Korelacijski koeficijent		−0,050	
	P		0,625	
Uk. proteini 3 (g/L)	Korelacijski koeficijent			−0,129
	P			0,207

e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza

Tablica 27. Korelacije aktivnosti e-GST i praćenih laboratorijskih parametara (imunoglobulini G, A i M, AST-O, nalaz urina (hematurija > 5 E/mm³), 24-satna proteinurija (≥ 0,15 g/dU), klirens kreatinina (Spearmanov koeficijent korelacije)

		e-GST 1 (U/g_{Hb})	e-GST 2 (U/g_{Hb})	e-GST 3 (U/g_{Hb})
IgG 1 (g/L)	Korelacijski koeficijent	0,208		
	P	0,041		
IgG 2 (g/L)	Korelacijski koeficijent		0,152	
	P		0,137	
IgG 3 (g/L)	Korelacijski koeficijent			0,077
	P			0,453
IgA 1 (g/L)	Korelacijski koeficijent	0,223		
	P	0,028		
IgA 2 (g/L)	Korelacijski koeficijent		0,236	
	P		0,020	
IgA 3 (g/L)	Korelacijski koeficijent			0,129
	P			0,207
IgM 1 (g/L)	Korelacijski koeficijent	0,095		
	P	0,352		
IgM 2 (g/L)	Korelacijski koeficijent		0,127	
	P		0,217	
IgM 3 (g/L)	Korelacijski koeficijent			0,083
	P			0,416
AST-O ((IU/mL)	Korelacijski koeficijent	0,102		
	P	0,319		
E u urinu 1 (/mm³)	Korelacijski koeficijent	0,398		
	P	< 0,001		
E u urinu 2 (/mm³)	Korelacijski koeficijent		0,610	
	P		< 0,001	
E u urinu 3 (/mm³)	Korelacijski koeficijent			0,514
	P			< 0,001
Proteini u 24-satnom urinu 1 (g/dU)	Korelacijski koeficijent	0,386		
	P	< 0,001		
Proteini u 24-satnom urinu 2 (g/dU)	Korelacijski koeficijent		0,138	
	P		0,177	
Proteini u 24-satnom urinu 3 (g/dU)	Korelacijski koeficijent			0,272
	P			0,007
cCR 1 (ml/min/1,73m^2)	Korelacijski koeficijent	−0,201		
	P	0,048		
cCR 2 (ml/min/1,73m^2)	Korelacijski koeficijent		−0,212	
	P		0,037	
cCR 3 (ml/min/1,73m^2)	Korelacijski koeficijent			−0,074
	P			0,473
eGFR 1 (ml/min/1,73m^2)	Korelacijski koeficijent	−0,133		
	P	0,196		
eGFR 2 (ml/min/1,73m^2)	Korelacijski koeficijent		−0,189	
	P		0,064	
eGFR 3 (ml/min/1,73m^2)	Korelacijski koeficijent			−0,134
	P			0,189

e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza, IgG – imunoglobulin G, IgA – imunoglobulin A, IgM – imunoglobulin M, AST-O – antistreptolizinski titar, E – eritrociti, cCR − korigirani klirens kreatinina, eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije

Korelacija aktivnosti e-GST na početku istraživanja te nakon tri i šest mjeseci od početka istraživanja s inicijalnim nalazima AST-O, C3, C4 i testom stolice na okultno krvarenje prikazana je u tablici 28. Pri korelaciji aktivnosti e-GST s navedenim varijablama nije nađena statistički značajna povezanost.

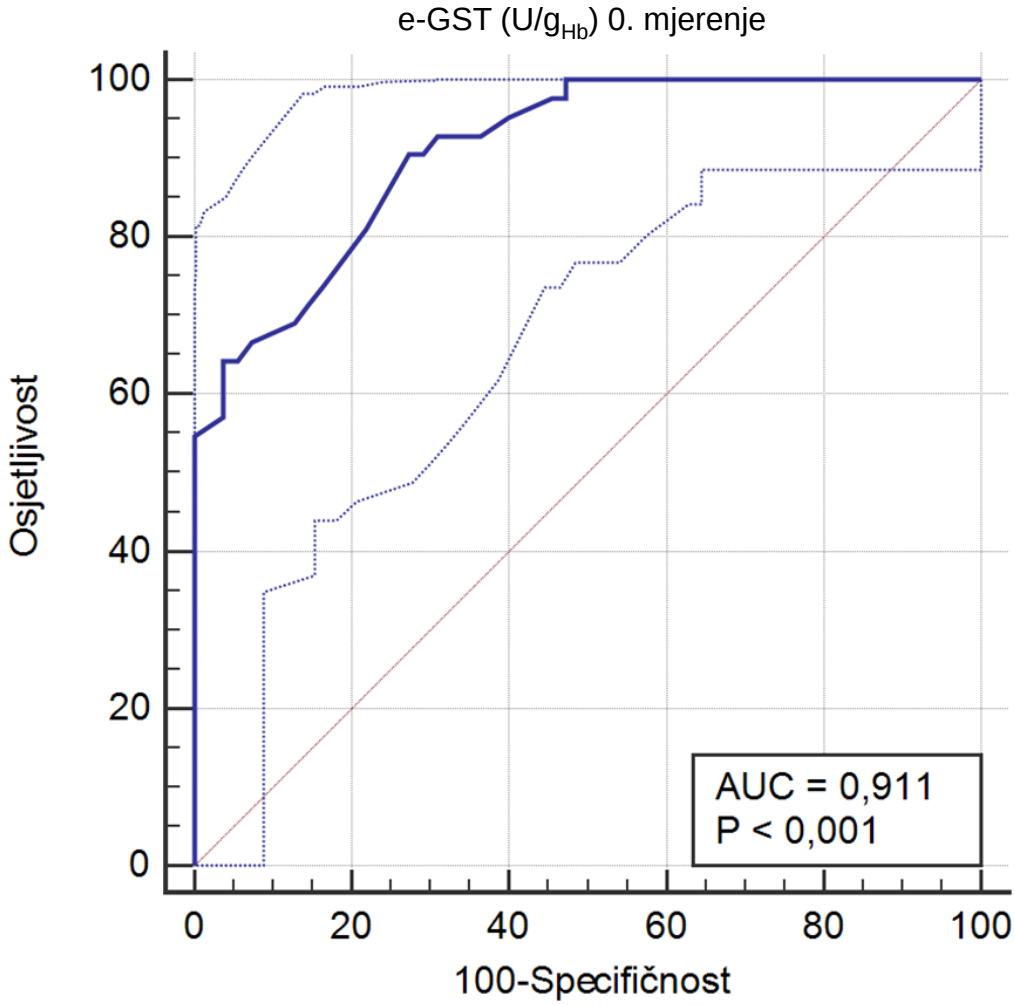
Tablica 28. Povezanost aktivnosti e-GST na početku istraživanja te nakon tri i šest mjeseci od početka istraživanja s inicijalnim nalazima AST-O, C3, C4 i testom stolice na okultno krvarenje (Kendallov tau_b koeficijent korelacije)

		HSP bez nefritisa			**HSP s nefritisom**		
		e-GST 1 (U/g_{Hb})	**e-GST 2 (U/g_{Hb})**	**e-GST 3 (U/g_{Hb})**	**e-GST 1 (U/g_{Hb})**	**e-GST 2 (U/g_{Hb})**	**e-GST 3 (U/g_{Hb})**
AST-O (IU/ml)	Korelacijski koeficijent	0,115	0,095	0,113	0,138	0,170	0,022
	P	0,238	0,330	0,247	0,217	0,128	0,843
	N	55	55	55	42	42	42
C3 (g/L)	Korelacijski koeficijent	0,026	−0,042	−0,017	0,077	0,029	−0,071
	P	0,782	0,657	0,861	0,480	0,786	0,515
	N	55	55	55	42	42	42
C4 (g/L)	Korelacijski koeficijent	0,001	−0,054	−0,047	0,052	−0,070	−0,162
	P	0,994	0,570	0,620	0,639	0,527	0,144
	N	55	55	55	42	42	42
Pozitivan test stolice na okultno krvarenje	Korelacijski koeficijent	−0,049	−0,023	−0,039	0,068	0,090	0,012
	P	0,668	0,840	0,733	0,602	0,490	0,927
	N	55	55	55	42	42	42

HSP – Henoch-Schönleinova purpura, e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza, AST-O antistreptolizinski titar, C3 – komponenta komplementa C3, C4 – komponenta komplementa C4

5.5. ROC analiza vrijednosti određivanja e-GST

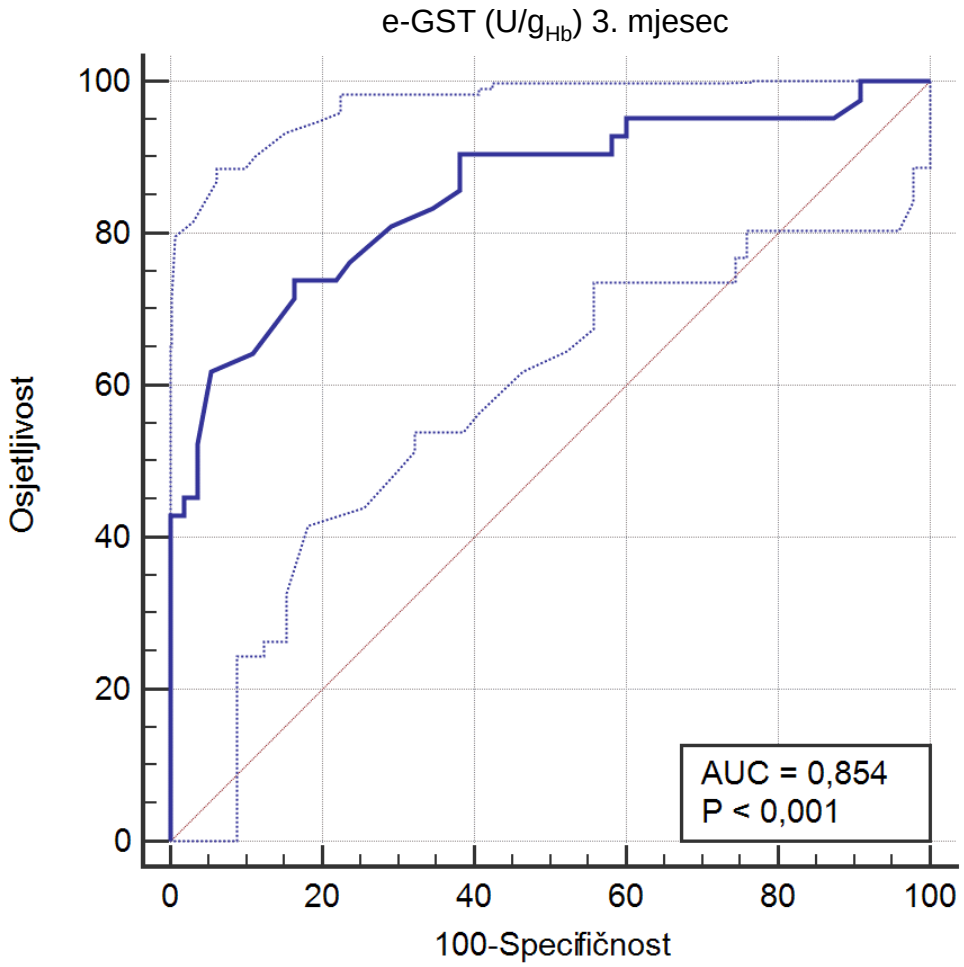
Pri ROC analizi vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji nastanka nefritisa, na početku istraživanja kod vrijednosti e-GST > 4,1 U/g_{Hb} nađena je značajna površina ispod krivulje (AUC) od 91,1 % (P < 0,001) te osjetljivost od 90,5 % i specifičnost od 72,7 % (Slika 14).



Površina pod krivuljom (AUC)	0,911
Standardna pogreška	0,0271
95 % interval pouzdanosti	0,836 − 0,960
z statistika	15,171
Razina značajnosti (P)	< 0,001
Youdenov index J	0,632
Povezani kriterij	**> 4,1**
Osjetljivost	90,48
Specifičnost	72,73

Slika 14. ROC analiza vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji nastanka nefritisa na početku istraživanja

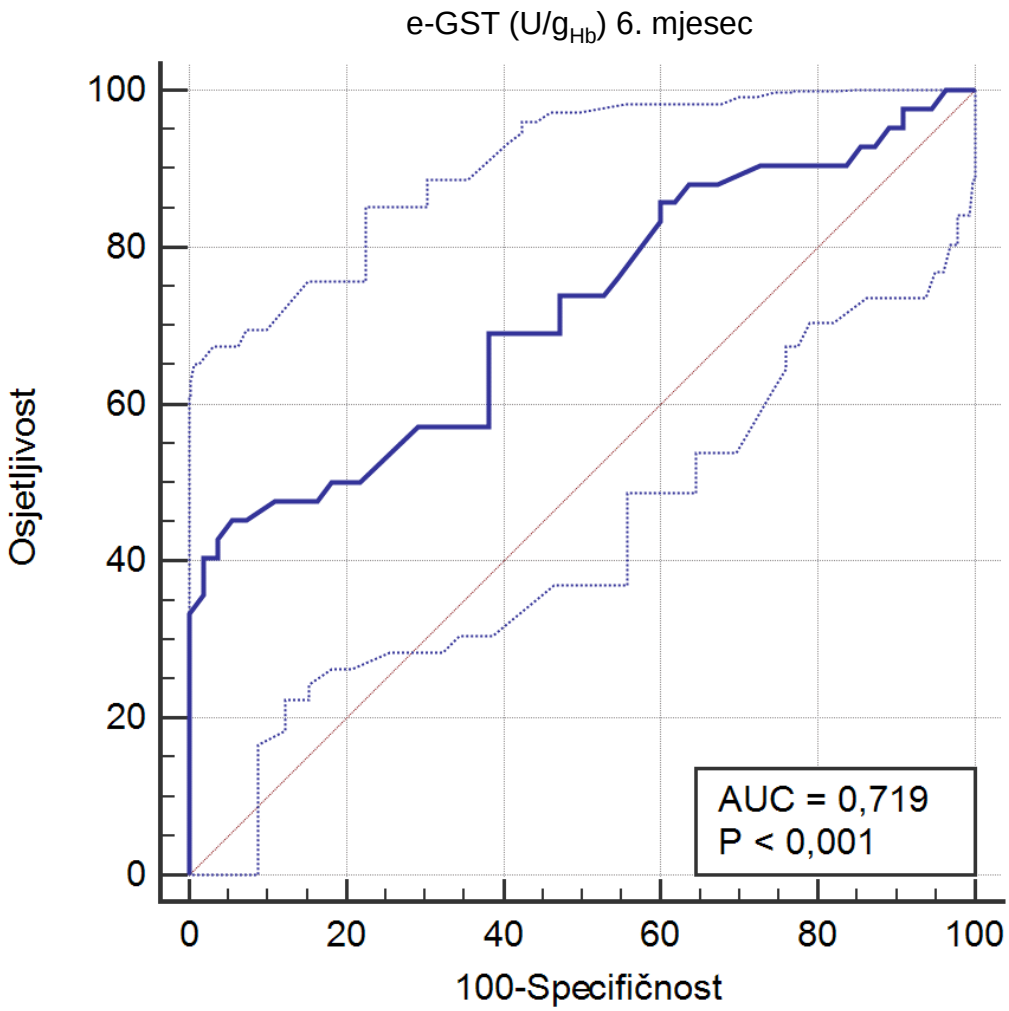
Pri ROC analizi vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji nastanka nefritisa nakon tri mjeseca kod vrijednosti e-GST > 4,3 U/g_{Hb} nađena je značajna površina ispod krivulje (AUC) od 85,4 % (P < 0,001) te osjetljivost od 73,8 % i specifičnost od 83,6 % (Slika 15).



Površina pod krivuljom (AUC)	0,854
Standardna pogreška	0,0406
95 % interval pouzdanosti	0,767 − 0,910
z statistika	8,706
Razina značajnosti (P)	< 0,001
Youdenov index J	0,5745
Povezani kriterij	**> 4,3**
Osjetljivost	73,81
Specifičnost	83,64

Slika 15. ROC analiza vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji nastanka nefritisa nakon tri mjeseca

Pri ROC analizi vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji nastanka nefritisa nakon šest mjeseci kod vrijednosti e-GST > 4,7 U/g_{Hb} nađena je značajna površina ispod krivulje (AUC) od 71,9 % (P < 0,001) te osjetljivost od 45,2 % i specifičnost od 94,5 % (Slika 16).



Površina pod krivuljom (AUC)	0,719
Standardna pogreška	0,0541
95 % interval pouzdanosti	0,619 − 0,806
z statistika	4,056
Razina značajnosti (P)	< 0,001
Youdenov index J	0,3978
Povezani kriterij	**> 4,7**
Osjetljivost	45,24
Specifičnost	94,55

Slika 16. ROC analiza vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji nastanka nefritisa nakon šest mjeseci

ROC analizom vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji nastanka nefritisa razvidno je da s vremenom pada osjetljivost, a raste specifičnost testova u otkrivanju nefritisa. Značajno najbolje vrijednosti AUC dobivene su na početnom mjerenju.

Binarni logistički regresijski model predikcije nefritisa s obzirom na izmjerene vrijednosti e-GST tijekom promatranog razdoblja kontrolirane na dob i spol ispitanika ukazuje da za jedinično povećanje početne vrijednosti e-GST vjerojatnost nastanka nefritisa raste 5,9 puta (95 % interval pouzdanosti 2,20 do 15,81, P < 0,001), kontrolirano na dob i spol pacijenata (tablica 29).

Tablica 29. Binarni logistički regresijski model predikcije nefritisa s obzirom na izmjerene vrijednosti e-GST tijekom promatranog razdoblja kontrolirane na dob i spol ispitanika

	OR	95 % CI		P
		Donji	Gornji	
Dob (skupine) >120 mjeseci	0,99	0,24	3,99	0,984
Ženski spol	0,27	0,06	1,11	0,070
e-GST 1 (U/g_{Hb})	5,90	2,20	15,81	< 0,001
e-GST 2 (U/g_{Hb})	1,11	0,47	2,65	0,809
e-GST 3 (U/g_{Hb})	1,44	0,69	3,02	0,331

e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza

6. RASPRAVA

Henoch-Schönleinova purpura (HSP) najčešći je vaskulitis dječje dobi (1-14), s incidencijom od 3 do 30 na 100 000 osoba mlađih od 18 godina (1,4,7,9,11-13,15,16,19,20,22,23,28,32-39). Nefritis u sklopu HSP, koji se ovisno o strogosti kriterija i učestalosti uzorkovanja urina registrira u 20 − 100 % oboljelih (1,2,4,11,15,16,19,22,23,27,28,33,35,40,59,63,69,83,88,97-101), a u 1 – 25 % slučajeva poprima kronični tijek i kroz nekoliko godina rezultira trajnim oštećenjem bubrežne funkcije različitog stupnja (2,5,8,10,11,15,29,22,28,33,37,83,98), glavni je uzrok morbiditeta/mortaliteta u oboljele djece (6,12-14,22,99,100). Iako su za postavljanje dijagnoze HSP utvrđeni relativno jasni klinički kriteriji, pitanja etiopatogeneze, ranog utvrđivanja težine bolesti i trajanja autoimunog procesa te, najvažnije − rane detekcije razvoja i prognoze nefritisa (posebno kroničnog nefritisa), ostaju još uvijek nedovoljno razjašnjena.

Dijagnoza nefritisa u sklopu HSP danas se postavlja temeljem laboratorijske analize urina (nalaz eritrociturije i/ili proteinurije) i biopsijom bubrega (nalaz glomerulonefritisa s IgA depozitima). Uobičajeni urinarni testovi nisu dovoljno osjetljivi niti specifični u smislu predikcije razvoja nefritisa, a prema nekim autorima čak i dio bolesnika s normalnim nalazima urina također razvija nefritis u sklopu HSP (3,24,35,37,82). Biopsija bubrega invazivna je pretraga koja može rezultirati komplikacijama same procedure, a osim toga, dobivenim patohistološkim nalazom detektiraju se promjene u sklopu HSP s nefritisom u fazi kad su one već evidentne, odnosno ne pretkazuje se njihova pojava. Nepostojanje osjetljivih i specifičnih nalaza/markera otvara mogućnost pogrešne procjene rizika od razvoja i težine nefritisa u sklopu HSP te njegove dugoročne prognoze, što može dovesti do ključnih pogrešaka u liječenju. Oboljeli u kojih nije počelo vremenski i medikamentozno adekvatno liječenje navedene komplikacije mogu razviti kroničnu renalnu insuficijenciju. Nasuprot tomu, nepotrebna primjena invazivnih dijagnostičkih procedura i intenzivnih terapijskih protokola može dovesti do ozbiljnih komplikacija i nuspojava, odnosno ugrožavanja života bolesnika (168).

Stoga su danas napori brojnih istraživačkih skupina usmjereni na potragu za adekvatnim biomarkerima u krvi i urinu, koji će omogućiti rano otkrivanje HSP

bolesnika ugroženih mogućim razvojem kroničnog nefritisa (8,15,36,69,81,114, 141,168-170,175-177,179,181,183-185).

Kao dokazan biomarker ranog oštećenja bubrega kod šećerne bolesti tipa II (198,204,205,228) i sistemske sklerodermije (203), stupnja oštećenja bubrega kod kronične bubrežne bolesti (196,197) te efikasnosti dijalize (193,194,196,197,227, 205), e-GST pretpostavljeni je kandidat i za rano otkrivanje mogućeg poremećaja bubrežne funkcije u HSP.

Osnovni demografski podaci o 97 oboljele djece uključene u ovo istraživanje najbliži su, s obzirom na medijan dobi oboljele djece od 82 mjeseca (58,0 − 118,0), istraživanju Ghrahanija i suradnika (4). U studijama Wanga i suradnika te Johnsona i suradnika (29,40) medijan dobi oboljele djece nešto je viši, a u studijama González-Gaya i suradnika, Gardner-Medwin i suradnika te Da Dalt i suradnika (8,28,32) nešto niži od skupine oboljele djece u ovom istraživanju. U ovom istraživanju nije zabilježena statistički značajna razlika u dobi među skupinama oboljele djece te dob stoga nije detektirana kao rizični faktor za pojavnost nefritisa u sklopu bolesti. Navedeno odgovara rezultatima istraživanja Fenga i suradnika (31), ali u suprotnosti je s rezultatima istraživanja prema kojima se nefritis češće javlja u starije djece (10,11,13,48,99,128,139), posebno one starije od deset godina (4,8,27,30). Statistički značajno viša dob uz medijan 115 mjeseci (76,3 − 138,5), registrirana u ovom istraživanju u kontrolnoj skupini koju je činilo 52 zdrave djece, nije smatrana preprekom za utvrđivanje vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji razvoja nefritisa kod oboljelih s HSP s obzirom na to da se aktivnost navedenog enzima u zdravih osoba smatra stabilnom tijekom većeg dijela života (od rane dojenačke dobi do starije odrasle dobi) (197,224).

S obzirom na distribuciju HSP bolesnika po spolu, prema kojoj među oboljelom djecom dominiraju dječaci u odnosu na djevojčice u omjeru 1,8 : 1, rezultati ovog istraživanja najsličniji su istraživanjima Ghrahanija i suradnika te Chena i suradnika (4,17). U većini ostalih istraživanja, bolest se također češće javlja u dječaka u odnosu na djevojčice, ali u nižem omjeru (5,9,18,22,28,29,30,31). Postoje i istraživanja u kojima je navedeni omjer približno jednak (16), ili je bolest češća u djevojčica (229). Ovo, kao i većina uspoređivanih

istraživanja, svrstava HSP u skupinu malobrojnih autoimunih bolesti koje se češće javljaju u osoba muškog spola. Rizik od razvoja nefritisa u sklopu HSP s obzirom na spol u ovom je istraživanju također veći u dječaka u odnosu na djevojčice (1,6 : 1), što odgovara rezultatima većine uspoređivanih istraživanja, a najbliže je rezultatima istraživanja Fenga i suradnika (31). U dostupnoj literaturi nije nađeno objašnjenje za ovaj fenomen, osim pretpostavke da je barem dijelom uvjetovan hormonskim statusom tipičnim za muški spol (13). Nasuprot navedenom, postoje i rijetka istraživanja u kojima je veći rizik od razvoja nefritisa vezan uz ženski spol, što pak odgovara generalno češćoj pojavnosti većine autoimunih bolesti u osoba ženskog spola i također se primarno pripisuje hormonskom statusu, u ovom slučaju tipičnom za ženski spol (230). Osim toga, za razliku od uspoređivanih istraživanja, koja su bila retrospektivna i analizirala podatke retrogradno kroz višegodišnje razdoblje, ovo istraživanje bilo je prospektivno i trajalo je tri godine. Relativno kratko razdoblje obuhvaćeno ovim istraživanjem, s obzirom na zabilježene oscilacije u distribuciji oboljelih prema broju i spolu tijekom pojedinih godina, može biti jedan od razloga registriranih razlika u dobnoj i spolnoj raspodjeli bolesnika u odnosu na druga istraživanja.

S obzirom na sezonske oscilacije u pojavnosti bolesti, u nešto manjeg broja oboljelih u ovom istraživanju bolest je počela u ljetnim mjesecima. U ostalim je godišnjim dobima distribucija broja oboljelih s obzirom na početak bolesti bila podjednaka. Rezultati su i u ovom slučaju najsličniji istraživanju Chena i suradnika (17), odnosno nešto drugačiji u odnosu na većinu istraživanja, prema kojima se bolest dva puta češće javlja tijekom jeseni i zime u odnosu na proljeće i ljeto (3,5,20,29,38,59). U svim istraživanjima u kojima postoje sezonske razlike u pojavnosti HSP, one se pripisuju razlikama u sezonskoj učestalosti primarno respiratornih infekcija kao jednom od glavnih faktora okoliša / okidača razvoja HSP (3,7,16,17,22,60-64).

Infekcija je u ovom istraživanju prethodila razvoju prvih simptoma HSP u više od 60 % bolesnika. Kao i u većini uspoređivanih istraživanja, najčešće je bila riječ o infekciji gornjeg dijela respiratornog trakta (3,5,8,9,15,20,38,59), a najčešće izolirani uzročnici infekcije bili su beta hemolitički streptokok grupe A i zlatni stafilokok (3,7,16,17,22,60-64). Pritom s obzirom na prethodnu infekciju u anamnezi, tip infekcije te detektirane bakterijske uzročnike, nisu nađene statistički

značajne razlike među skupinama oboljele djece. Kao jedini parametar distinkcije među skupinama oboljele djece, a s obzirom na prethodnu infekciju u anamnezi, registrirano je vrijeme proteklo od prethodne infekcije do pojave purpure, koje je bilo statistički značajno duže u oboljele djece s nefritisom. Dobiveni rezultati, prema kojima glavnina parametara vezanih uz prethodnu infekciju nije povezana s povećanim rizikom od razvoja nefritisa u oboljelih od HSP, u skladu su s rezultatima većine uspoređivanih istraživanja (3,16,17,22,63,64). Nasuprot navedenom, u istraživanju Calvo-Rio i suradnika (110) te Batu i suradnika (9) prethodna infekcija u anamnezi zaštitni je faktor u odnosu na relaps bolesti − parametar koji se u nekim istraživanjima povezuje s povećanim rizikom od razvoja nefritisa (12,13,15,48,139). Kako je kasnije u raspravi navedeno, isto nije potvrđeno u ovom istraživanju. U otprilike trećine oboljele djece u ovom istraživanju nije detektiran infektivni, ali niti drugi potencijalni okidač početka bolesti. To se dijelom može pripisati činjenici da s jedne strane u ispitanika nije učinjena detekcija respiratornih virusa u aspiratima dišnih puteva niti su indicirani serološki testovi s ciljem otkrivanja uzročnika virusnih infekcija, iako su oni također navedeni u literaturi kao mogući okidači patogenetskog zbivanja (3,16). S druge strane, cjepiva, lijekovi, hrana, ubodi insekata ili udar električne struje, koji se kao okidači patogenetskog slijeda u HSP opisuju samo u rijetkim, pojedinačnim slučajevima (3-5,16,17,66-68), nisu registrirani u oboljele djece u ovom istraživanju.

Rezultati ovog istraživanja sukladni su s općeprihvaćenom hipotezom o razvoju HSP u genetski predisponiranih osoba pod djelovanjem faktora okoliša, najčešće infektivnih uzročnika (3,42). Smatra se da respiratorna ili rjeđe gastrointestinalna infekcija (ili neka druga, ne nužno prepoznata noksa), koja bi u osoba bez genetski uvjetovane sklonosti razvoju HSP pokrenula pojačanu produkciju IgA, u dijela osoba s genetski uvjetovanim poremećajem glikozilacije IgA1 rezultira prekomjernom produkcijom Gd-IgA1, koji se smatra jednim od ključnih elemenata u patogenezi HSP, posebno HSP s nefritisom. Ostaje pritom otvoreno pitanje zašto sve osobe koje imaju poremećaj glikozilacije IgA1 (približno 5 % populacije (36,71)), u nekom trenutku ne obole od HSP, odnosno što određuje trenutak u kojem će određena osoba s defektom glikozilacije IgA1 razviti kliničku sliku HSP. Isto ukazuje na kompleksnu i multifaktorsku etiopatogenezu bolesti u

kojoj je navedeni nasljedni poremećaj, iako se smatra ključnim u razvoju bolesti, ipak samo jedan od (zasad samo dijelom poznatih) elemenata patogeneze (2,16,19,36,69,76). Nasuprot tomu, u barem dijela oboljele djece u koje i u ovom istraživanju nije detektiran infektivni niti drugi potencijalni okidač početka bolesti, ulogu u razvoju bolesti mogla bi imati i drugačija patogeneza bolesti. U prilog navedene mogućnosti govore i podaci iz literature o 5 − 10 % HSP bolesnika u kojih se ne može dokazati nasljedni defekt glikozilacije IgA1 niti pojačana produkcija Gd-IgA1 kao osnova patogenetskog zbivanja (2,19,22).

Iako podaci o prethodnoj infekciji, tipu infekcije te detektiranim bakterijskim uzročnicima ukazuju na važnost faktora okoliša kao jedan od nužnih elemenata u pretpostavljenoj patogenezi HSP, oni ni u ovom istraživanju ne pridonose razumijevanju i predikciji rizika od razvoja nefritisa u dijela bolesnika.

Dio autora diskriminaciju bolesnika s obzirom na rizik od razvoja nefritisa patogenetski veže uz djelovanje AECA, križno reaktivnih protutijela koja se smatraju posebno važnim u patogenezi ekstrarenalnih elemenata HSP, a koja nastaju prilikom infekcije pojedinim mikroorganizmima (7). Ona preko molekula β2-GPI aktiviraju endotelne stanice uz posljedičnu neutrofilnu kemotaksiju, a dodatno mehanizmima komplementom posredovane citotoksičnosti i sama dovode do oštećenja endotelnih stanica. Kao jedini parametar vezan uz infekcije, koji u ovom istraživanju govori u prilog povećanom riziku od razvoja nefritisa, ali diskretno sugerira i postojanje razlika u patogenezi bolesti kod oboljelih s nefritisom, ističe se statistički značajno duže razdoblje između prethodne infekcije i pojave kožnih eflorescencija u bolesnika s nefritisom u odnosu na bolesnike bez nefritisa. Utječe li uopće na pretpostavljenu dominaciju patogenetskog mehanizma putem AECA kod HSP bez nefritisa, odnosno putem Gd-IgA1 kompleksa u HSP s nefritisom prethodna infekcija (vrsta mikroorganizma, kombinacija njihovih antigena, količina infektivnog uzročnika, razlike u patogenom potencijalu uzročnika i sl.), ili je riječ o djelovanju drugih faktora okoliša, ili još vjerojatnije, genetskih faktora (npr. genetski uvjetovane varijacije intenziteta/brzine imunološkog odgovora domaćina, posebni autoantigeni eksprimirani samo u mezangiju bubrega i sl.), jedan je od ciljeva budućih istraživanja.

Purpura, kao obligatan simptom za postavljanje dijagnoze HSP, registrirana je u ovom istraživanju u sve oboljele djece. Bila je proširena iznad razine pojasa u otprilike petine djece, dok su eflorescencije promjera ≥ 10 mm kao i relaps kožnih promjena unutar šest mjeseci registrirani u nešto više od trećine ukupno oboljele djece, s podjednakom učestalošću među djecom s nefritisom i bez njega, odnosno bez statistički značajnih razlika u navedenim obilježjima purpure. Za razliku od istraživanja koja izraženost pojedinih karakteristika purpure povezuju s težinom sistemskog vaskulitisa i rizikom od razvoja nefritisa u sklopu HSP (12,13,15,48,116,139), rezultati ovog istraživanja ne otkrivaju navedenu povezanost.

Znakovi afekcije GI sustava, bolovi u trbuhu i pozitivan nalaz stolice na okultno krvarenje u ovom su istraživanju registrirani bez statistički značajne razlike u pojavnosti među objema skupinama oboljele djece, što je suprotno rezultatima istraživanja koja navedeni simptom, odnosno nalaz, također povezuju s težinom sistemskog vaskulitisa i povećanim rizikom od razvoja nefritisa (8,12,13,29,31,48,116,128,139). U vezi s navedenim pitanjem, rezultati ovog istraživanja bliži su istraživanju Zhaoa i suradnika, prema kojem abdominalni bolovi nisu povezani s povećanim rizikom od razvoja nefritisa (137).

Iako su artralgije/artritis u ovom istraživanju registrirani u gotovo tri četvrtine oboljele djece, nije nađena statistički značajna razlika u njihovoj pojavosti među skupinama oboljele djece, odnosno povezanost s rizikom od razvoja nefritisa. Navedeno odgovara rezultatima istraživanja Chana i suradnika, prema kojima pojava artralgija/artritisa u oboljelih također nije rizik za razvoj nefitisa (13).

S obzirom na iznimno rijetko registriranje drugih simptoma (povraćanje, melena, orhitis, glavobolja), u ovom istraživanju nije detektirana niti njihova povezanost s rizikom od razvoja nefritisa u skupini oboljele djece.

Zaključno: osim razdoblja od prethodne infekcije do pojave kožnih promjena, koje je statistički značajno duže u HSP bolesnika s nefritisom, prethodna infekcija u anamnezi i njezine karakteristike te elementi kliničke slike HSP, prema rezultatima ovog istraživanja nisu faktor diskriminacije među oboljelom djecom s HSP bez nefritisa i s nefritisom, odnosno faktor rizika od razvoja nefritisa. Navedeno dodatno naglašava potrebu traganja za osjetljivim i specifičnim markerima rizika od razvoja nefritisa u sklopu HSP.

Tijekom ovog istraživanja je 42 (43,3 %) djece s HSP prema postavljenim kriterijima (hematurija > 5 E/mm³ i/ili proteinurija ≥ 0,15 g/dU) razvilo znakove nefritisa. Udio djece s HSP koja su tijekom šest mjeseci razvila nefritis najbliži je rezultatima istraživanja Saulsburyja i suradnika, Kiryluka i suradnika, Sandersa i suradnika te Laua i suradnika (1,2,69,83), dok u drugim istraživanjima raspon udjela djece s nefritisom seže od 20 do 100 % (4,11,15,16,22,23,35,88,97,99, 101). Na početku bolesti nefritis je registriran u 34 navedene djece (81 %), a u preostalih osam (19 %) nakon tri mjeseca. Nakon tri mjeseca praćenja nefritis je registriran u ukupno 25 (59,5 %), a nakon šest mjeseci u 18 (42,9 %) HSPN bolesnika. U ovom je istraživanju najveći udio oboljelih sa znakovima nefritisa registriran na početku bolesti, što je najbliže podacima navedenim u istraživanju Zhanga i suradnika, prema kojem se u 85 % bolesnika nefritis registrira unutar četiri tjedna od početka bolesti (170). U većini uspoređivanih studija nefritis je ipak najčešće registriran nekoliko tjedana kasnije, kao posljednji simptom ili nakon jenjavanja ostalih simptoma HSP (1,10,12,16,18,69,98). Razlika u navedenim rezultatima ovog istraživanja u odnosu na većinu drugih vjerojatno je prouzročena neujednačenošću, odnosno strogošću kriterija, posebno u smislu detekcije proteinurije (≥ 0,15 g/dU), za koju su u nekim radovima kao granične navedene vrijednosti ≥ 0,5 (114,183) ili čak ≥ 1 g/dU (14,168), dok s druge strane, u nekim istraživanjima hematurija (> 5 E/mm^3) nije niti razmatrana kao parametar nefritisa (14). Suprotno tomu, podatak o smanjenju broja djece s nefritisom tijekom šestomjesečnog praćenja u ovom je istraživanju u skladu s većinom dostupnih podataka iz literature, prema kojima je nefritis u većini slučajeva blag i ograničenog trajanja te nakon nekoliko tjedana završava kompletnom rezolucijom uz normalizaciju nalaza urina (1,10,12,16,18,69,98). Dio autora ipak upozorava da kod dijela HSP bolesnika s nefritisom može biti riječ samo o prolaznoj normalizaciji nalaza urina (3,24,35,37,82) te predlaže znatno duža razdoblja kontrolnih pregleda oboljelih (3,12,24,37,82), od prema SHARE smjernicama preporučenih 6 − 12 mjeseci od pojave kožnih promjena (23). Tijekom ovog istraživanja najveći broj oboljelih u kojih se razvio nefritis imao je samo hematuriju, manji broj proteinuriju i hematuriju, a isključivo proteinuriju najmanji broj oboljelih s nefritisom. U odnosu na rad Jelušić i suradnika (37), prema kojem dominiraju bolesnici s istodobnom hematurijom i proteinurijom (50 %), u ovom je istraživanju najčešće registrirana

izolirana hematurija kao znak blaže afekcije bubrega, što je slično rezultatima u istraživanju Trnke i suradnika (16).

Znakovi oslabljene bubrežne funkcije (eGFR ≤80 ml/min/1,73m² (SHARE preporuke (23)) inicijalno su registrirani u samo dvoje djece (granično niže vrijednosti), a nakon tri i šest mjeseci praćenja u samo po jednog (ne iste / ne istog) djeteta s nefritisom. Kako je navedeno, nefritis u sklopu HSP u pravilu je blag i tranzitoran, a ukoliko progredira prema kroničnom obliku dovest će najčešće do polaganog gubitka bubrežne funkcije tijekom višegodišnjeg razdoblja (2,5,8,10,11,15,19,22,28,33,27,83,98).

Među inicijalno učinjenim nalazima u skupini djece s HSP s nefritisom u odnosu na skupinu djece s HSP bez nefritisa, statistički značajno više vrijednosti zabilježene su u serumskim koncentracijama kreatinina, IgA i IgM, a statistički značajno niže vrijednosti u serumskoj koncentraciji C4 te vrijednostima korigiranog klirensa kreatinina i iz njega izvedenog eGFR. Vezano uz pretrage urina, u oboljele djece zabilježene su statistički više vrijednosti broja E u mm^3 urina i koncentracije proteina u 24-satnom urinu u odnosu na oboljelu djecu bez nefritisa. Uspoređujući rutinske laboratorijske nalaze u svim trima skupinama djece u istraživanju, oboljela djeca s nefritisom, osim prema patološkim nalazima urina (što je razumljivo s obzirom na razvoj nefritisa), u odnosu na oboljelu djecu bez nefritisa i zdravu djecu u kontrolnoj skupini, istaknula su se samo statistički značajno višim serumskim koncentracijama IgA i statistički značajno nižim vrijednostima C4 pri inicijalnom određivanju nalaza, dok u preostalim nalazima nije nađena značajna razlika među ispitivanim skupinama. Navedeni rezultati u skladu su s istraživanjima koja navode IgA i C4 kao parametre moguće distinkcije bolesnika s nefritisom u odnosu na bolesnike bez nefritisa i zdravu djecu (8,13,92). Povišene koncentracije IgA i snižene koncentracije C4 u skladu su s uobičajenom pretpostavkom o patogenezi HSP, ali i nefritisa u sklopu nje, prema kojoj bolest i njezinu glavnu komplikaciju obilježava stvaranje imunokompleksa koji sadrže IgA te njihovo deponiranje u stijenci krvnih žila (12,36,39), a u slučaju razvoja nefritisa i u mezangiju bubrega uz naglašenu aktivaciju sustava komplementa (3,7,35,36,69,83) te potrošnju komponenti, prema ovom istraživanju posebno C4 komponente komplementa.

Analizom zavisnih promjena vrijednosti rutinskih nalaza u podskupinama oboljele djece (HSP bez nefritisa + HSP s nefritisom) u razdoblju od početka ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze najznačajnije razlike u smislu pada vrijednosti / normalizacije nalaza registrirane su kod: SE, CRP, broja leukocita, feritina, d-dimera i IgA (sve $P < 0,001$ / $P < 0,001$). Inicijalno više vrijednosti navedenih nalaza u svih oboljelih ukazuju na sistemsko upalno zbivanje / imunološku reakciju kao osnovu razvoja simptoma HSP, a njihova normalizacija u daljnjem tijeku istraživanja (nakon tri mjeseca) u svih oboljelih korelira s regresijom ekstrarenalnih simptoma odnosno ukazuje na smirivanje sistemskih imunoloških zbivanja. Dinamika promjene navedenih nalaza pritom ne diskriminira bolesnike s nefritisom u odnosu na one bez nefritisa pa prema ovom istraživanju njezino praćenje nije primjereno za predikciju rizika od razvoja nefritisa. S jedne je strane navedeno u skladu s otprije poznatom, ali patogenetski još uvijek nejasnom samoograničavajućom naravi osnovne bolesti (1,5,17), dok s druge strane normalizacija navedenih nalaza i u bolesnika s nefritisom ukazuje da on, kao komplikacija osnovne bolesti, nastaje kao posljedica protrahiranog/nastavljenog, ali dominantno lokalnog imunološkog zbivanja bez reperkusija za navedene nalaze. Ovi rezultati također ističu potrebu za otkrivanjem adekvatnog markera koji će omogućiti ranu detekciju HSP bolesnika ugroženih razvojem kroničnog nefritisa.

Sva provedena istraživanja potencijalnih biomarkera rane detekcije nefritisa − rizika od razvoja kroničnog nefritisa u HSP, nisu dosad validirana niti je njihovo određivanje uvedeno u svakodnevnu kliničku praksu prilikom obrade i liječenja oboljele djece. Validacija predloženih i traganje za novim biomarkerima nužni su radi rasvjetljavanja etiopatogeneze nefritisa u sklopu HSP, ali i ranog otkrivanja bolesnika ugroženih razvojem kroničnog nefritisa i trajnim oštećenjem bubrežne funkcije (8,15,36,69,81,114,141,168-171,174-177,179,181-185). Jedna je od opcija istraživanja traganje za sistemskim neimunološkim biomarkerima poremećaja bubrežne funkcije u djece oboljele od HSP.

Eritrocitna glutation S-transferaza (e-GST) enzim je iz skupine tkivno specifičnih glutation S-transferaza (o glutationu ovisnih enzima faze 2

detoksikacije), s dominantnom funkcijom konjugacije glutationa na širok spektar toksičnih hidrofobnih molekula uz njihovu posljedičnu inaktivaciju i eliminaciju iz organizma putem urina te manjim dijelom putem žuči. Aktivnost e-GST čini 95 % ukupne aktivnosti GST u eritrocitima (193,196,197,198,205,222) i smatra se stabilnom tijekom cijelog života pojedinca osim u slučajevima uremije ili izrazite hiperbilirubinemije (194,196-198,204,205,224), kad se aktivnost enzima povećava. Određivanje aktivnosti e-GST danas je automatizirana spektrometrijska metoda koja se izvodi na pripremljenom uzorku pune krvi s obzirom na to da rezultate ne remeti prisutnost ekstraeritrocitne GST (čije su količine zanemarive), niti lizirane eritrocitne membrane u uzorku (192,196). Jednostavnosti navedene pretrage pridonosi i stabilnost aktivnosti enzima, koja se ne mijenja pri čuvanju uzoraka pune krvi na temperaturi od +4 ºC tijekom 14 dana (192,196). Prilikom interpretacije nalaza nužno je imati u vidu da je određena aktivnost e-GST prosječna aktivnost u razdoblju od jednog do dva mjeseca (194,197,198). Budući se pretraga u dosadašnjim istraživanjima pokazala kao visokoosjetljiva i reproducibilna (192,196), može se koristiti kao test ekspozicije eritroidnih stanica uremijskim toksinima − endobioticima s elektrofilnim karakteristikama koji nastaju zbog poremećaja detoksikacijske bubrežne funkcije (194,196,197).

U sve djece uključene u istraživanje analizirana je aktivnost e-GST u serumu u trenutku uključivanja, a u sve djece s HSP i nakon tri i šest mjeseci od trenutka uključivanja u istraživanje. Navedeno razdoblje ovog istraživanja određeno je prema razdoblju od šest mjeseci u kojem se, prema većini uspoređivanih istraživanja, razvija nefritis u dijela bolesnika s HSP (1,12,15,37,98). Uzorci pune krvi ispitanika, sukladno naprijed navedenim preporukama i spoznajama, čuvani su nakon venepunkcije na +4 ºC i spektrometrijski analizirani unutar 72 sata.

Medijan aktivnosti e-GST u kontrolnoj skupini djece iznosio je 3,13 U/g_{Hb} (1,91 − 4,20 U/g_{Hb}), što je između vrijednosti u istraživanjima Anastasova i suradnika (2,0 +/− 0,53 U/g_{Hb}) (225) i Orhana i suradnika (4,3 +/− 0,2 U/g_{Hb}) (222), odnosno niže od vrijednosti utvrđenih u istraživanjima Dessì i suradnika (5,8 +/− 0,4 U/g_{Hb}) (196) te Fabrinija i suradnika i Noce i suradnika (5,6 +/− 0,4 U/g_{Hb}) (192,197). Smatra se da je aktivnost e-GST stabilna tijekom većeg dijela života (197,224), a da razlike u aktivnosti između zdravih pojedinaca, uočene i u ovom

istraživanju, primarno nastaju zbog polimorfizama gena za e-GST (87,193,211,212), o kojima ovisi i aktivnost enzima. Razlike u aktivnosti enzima ovisno o spolu u ovom istraživanju nisu analizirane s obzirom na to da prema ranijim istraživanjima ne postoje ili su manje od 10 % (192,224,225). Stupanj zagađenja okoliša, koji prema Fabriniju i suradnicima može utjecati na aktivnost e-GST (192), također nije razmatran kao parametar relevantan za tumačenje rezultata s obzirom na to da su svi ispitanici u ovom istraživanju s istog geografskog područja, odnosno pretpostavlja se da su izloženi jednakom stupnju zagađenja okoliša.

U skupini djece u koje tijekom šestomjesečnog praćenja nije klasičnim pretragama registriran razvoj nefritisa niti poremećaj bubrežne funkcije, inicijalno određena aktivnost e-GST (medijan 3,10 U/g_{Hb}, interkvartilni raspon 2,20 − 4,20 U/g_{Hb}), statistički se nije značajno razlikovala u odnosu na aktivnost e-GST u skupini zdrave djece niti se statistički značajno mijenjala tijekom navedenog razdoblja. Kako povišena aktivnost e-GST, prema istraživanju u bolesnika s DM tipa II bez znakova nefropatije (205), odnosno prema istraživanju u sSC bolesnika bez znakova ili samo s blažim znakovima afekcije bubrega (CKD 0-I) (203), ukazuje na visoku senzitivnost e-GST u ranoj detekciji oštećenja eliminacijske bubrežne funkcije u odnosu na druge, standardne biomarkere, navedeni rezultati ovog istraživanja ukazuju na očuvanje eliminacijske bubrežne funkcije u djece s HSP bez razvoja klasičnih znakova nefritisa u praćenom razdoblju. Usto, navedeni rezultati ukazuju i na spomenutu stabilnost aktivnosti e-GST tijekom većeg dijela života (197,224).

U skupini djece s HSP u koje je klasičnim laboratorijskim metodama registriran nefritis tijekom šestomjesečnog praćenja, inicijalno je nađena statistički značajno veća aktivnost e-GST (medijan 5,70 U/g_{Hb}, interkvartilni raspon 4,38 − 7,50 U/g_{Hb}) u odnosu na skupinu bez nefritisa i kontrolnu skupinu djece. Ista se u navedenoj skupini oboljele djece prilikom ponovnih određivanja nakon tri (medijan 5,00 U/g_{Hb}, interkvartilni raspon 4,18 − 6,23 U/g_{Hb}) i šest mjeseci (medijan 4,25 U/g_{Hb}, interkvartilni raspon 3,18 − 5,83 U/g_{Hb}) postupno smanjivala, ali je i dalje ostala statistički značajno viša u odnosu na paralelno određivanu aktivnost e-GST u djece s HSP bez nefritisa. Navedeno je u skladu s rezultatima spomenutih, ali i drugih istraživanja prema kojima porast aktivnosti e-GST s visokom osjetljivošću

detektira poremećaje bubrežne funkcije (192,196,198,204,228), a koje se u slučaju HSP s nefritisom u 97 % oboljelih registriraju klasično u formi eritrociturije i/ili hematurije unutar šest mjeseci od pojave prvih purpuričnih promjena (1,12,15,37,98). Na visoku senzitivnost aktivnosti e-GST ukazuje i istraživanje Dessì i suradnika, u kojem je, osim pozitivne korelacije aktivnosti e-GST i stupnja oštećenja bubrežne funkcije prema K/DOQI klasifikaciji, statistički značajno viša aktivnost e-GST u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih osoba registrirana već i u bolesnika s početnim, prvim stupnjem kronične bubrežne bolesti (eGFR ≥ 90 ml/min) prema navedenoj klasifikaciji (196). Osim toga, u bolesnika na dijalizi aktivnost e-GST bila je statistički značajno viša od aktivnosti u bolesnika s CKD I. i II. stupnja, što pak ukazuje na velik broj od više od 90 do danas identificiranih uremijskih toksina (197) koji aktiviraju e-GST u eritroidnim prekursorima, a samo djelomično podliježu eliminaciji putem dijalize (samo toksini mase < 500 Da (197)). U prilog visokoj osjetljivosti aktivnosti e-GST u detekciji poremećaja eliminacijske bubrežne funkcije u ovom istraživanju govori strogost primijenjenih kriterija pri definiranju nefritisa (proteinurija ≥ 0,15 g/dU), ali i činjenica da se u najvećeg broja bolesnika s nefritisom isti prezentirao hematurijom, koja se smatra znakom blaže afekcije bubrega u odnosu na proteinuriju ili nalaz istodobne hematurije i proteinurije.

Korelacija aktivnosti e-GST i stupnja poremećaja bubrežne funkcije, temeljem koje je i pretpostavljena vrijednost određivanja aktivnosti e-GST kao biomarkera stupnja oštećenja bubrega, u većini istraživanja određivana je u kroničnim bolestima: kroničnoj bubrežnoj bolesti (194,196,197,205,226), šećernoj bolesti tipa II (198,204,205,228) i sistemskoj sklerodermiji (203). U ovom je istraživanju, prema dostupnim podacima iz literature, prvi put istraživana vrijednost određivanja e-GTS u akutnoj bolesti – HSP, tijekom koje nefritis, kao moguća akutna komplikacija, može poprimiti kronični oblik te dovesti do trajnog poremećaja bubrežne funkcije i ESRD. Prema ovom istraživanju, aktivnost e-GST ≥ 4,1 U/g_{Hb} određena na početku bolesti, s osjetljivošću od 90,5 % i specifičnošću od 72,7 %, detektira HSP bolesnike s rizikom za razvoj nefritisa. Osjetljivost se prilikom određivanja aktivnosti e-GST nakon tri i šest mjeseci smanjuje, a specifičnost povećava, što ukazuje na najveću vrijednost određivanja aktivnosti e-

GST u predikciji razvoja nefritisa prilikom razvoja prvih simptoma HSP, odnosno na početku bolesti.

U određenom trenutku izmjerena aktivnost e-GST odražava prosječnu aktivnost navedenog enzima u zadnjih nekoliko tjedana, inače ovisnu o djelovanju indukcijskih molekula na aktivnost e-GST gena u eritroidnim prekursorima (194,197,198). Slijedom navedenog, statistički značajno veća aktivnost e-GST na početku bolesti u skupini djece s nefritisom, s obzirom na relativno kratko vrijeme od prethodne infekcije do pojave prvih kožnih eflorescencija (medijan 17,00 dana, interkvartilni raspon 11,75 − 24,25 dana), ukazuje da intenzivne promjene u bubregu navedenih bolesnika počinju u vrlo ranoj fazi sistemskog imunološkog zbivanja koje čini podlogu za HSP te brzo dovode do narušavanja detoksikacijskih kompetencija bubrega. S druge strane, vrijeme od prethodne infekcije, koja je kao pretpostavljeni okidač sistemske imunološke reakcije registrirana u gotovo dvije trećine oboljele djece, u ovom je istraživanju statistički značajno duže u oboljelih s nefritisom u odnosu na oboljele bez nefritisa, odnosno očigledno dovoljno dugo za navedene promjene aktivnosti e-GST.

U ovom istraživanju nije nađena značajna korelacija aktivnosti e-GST s opisanim varijablama prethodne infekcije niti purpure. Kako one prema ovom istraživanju ne osiguravaju distinkciju među skupinama oboljele djece, izostanak navedene korelacije naglašava podobnost e-GST kao neovisnog parametra za procjenu rizika od razvoja nefritisa.

Nadalje, nije uočena niti značajna korelacija aktivnosti e-GST s terapijom primijenjenom u liječenju oboljelih od HSP niti njezinim trajanjem. Navedeni rezultat isključuje eventualni utjecaj primijenjenih lijekova na registriranu statistički značajnu razliku u aktivnosti e-GST među skupinama oboljele djece.

S obzirom na korelaciju aktivnosti e-GTS s učinjenim rutinskim laboratorijskim nalazima, jedina je značajna, konzistentna, pozitivna korelacija tijekom šestomjesečnog istraživanja registrirana samo između aktivnosti e-GST i broja E/mm³ urina. U navedenom razdoblju nisu nađene konzistentne korelacije između aktivnosti e-GST i drugih parametara procjene bubrežne funkcije, kao niti upalnih parametara, koncentracije hemoglobina, broja leukocita i trombocita, koncentracije ukupnih proteina i određivanih imunoglobulina.

Pozitivna korelacija aktivnosti e-GST i broja E/mm³ urina naglašava senzitivnost e-GST u detekciji poremećaja bubrežne funkcije s obzirom na to da se hematurija u slučaju nefritisa smatra puno blažom reperkusijom imunološkog zbivanja u odnosu na proteinuriju. Ostali dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem Dessì i suradnika u kojem nije nađena korelacija aktivnosti e-GST s vrijednostima hemoglobina, serumskog željeza, transferina, alfa 1 kiselog glikoproteina, hsCRP-a i beta-2 mikroglobulina (markerima sistemske upale i bubrežne funkcije) (196), te istraživanjem Noce i suradnika, u kojem nije nađena korelacija aktivnosti e-GST s koncentracijom albumina, hsCRP ili ureje (197). Autori navedenih istraživanja objašnjavaju dobivene rezultate pretpostavkom da svi uremijski toksini nemaju jednak potencijal u pokretanju sistemskih upalnih zbivanja, ali i da e-GST ima sposobnost inaktivacije velikog broja uremijskih toksina, neovisno o njihovu upalnom potencijalu. Prema autorima navedenih radova, povišena aktivnost e-GST rezultat je povišene razine cirkulirajućih uremijskih toksina i njihova djelovanja na eritroidne prekursore u koštanoj srži te je dobar marker toksičnosti uremije koji korelira sa stupnjem oštećenja bubrežne funkcije (196,197). Pritom dodatno naglašavaju spomenutu činjenicu da trenutačno određena aktivnost e-GST ne predstavlja akutnu toksičnost (poput albumina, ureje i hsCRP), nego prosječnu ekspoziciju uremijskim toksinima unatrag nekoliko tjedana (197) do dva mjeseca (192) (analogno hemoglobinu A1c kao markeru hiperglikemije (197)), s obzirom na to da je stupanj ekspresije e-GST određen tijekom dozrijevanja eritrocita, odnosno enzimatski sadržaj zrelih eritrocita nakon dovršenog dozrijevanja ostaje nepromijenjen tijekom njihova cijelog životnog vijeka (192,194,197).

U ovom istraživanju nije nađena korelacija e-GST s eGFR, odnosno gotovo sva djeca s HSP s nefritisom u ovom su istraživanju imala uredne vrijednosti eGFR. Navedeni rezultati sukladni su s rezultatima spomenutih istraživanja: Fabrinija i suradnika, u kojem je povišena aktivnost e-GTS u oboljelih od sSC registrirana već u vrlo ranim fazama oštećenja bubrega bez reperkusija za e-GFR (203), te Bocedija i suradnika, Noce i suradnika te Tesauroa i suradnika u kojim je povišena aktivnost e-GST u odnosu na zdrave osobe nađena u oboljelih od DM tipa II bez uobičajenim markerima detektiranih elemenata razvoja nefropatije (198,204,205,228).

Konačno, prema podacima ovog istraživanja, ROC analizom vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji nastanka nefritisa, najbolje vrijednosti AUC dobivene su za utvrđene aktivnosti na početku istraživanja. Aktivnost e-GST od > 4,1 U/g_{Hb} utvrđena u trenutku po stavljanja dijagnoze HSP, uz osjetljivost od 90,5 % i specifičnost od 72,7 %, ukazuje na povećan rizik od razvoja nefritisa u djece oboljele od navedene bolesti.

Sve navedeno ukazuje da je e-GST vrlo osjetljiv biomarker koristan u detekciji bolesnika s povećanim rizikom od razvoja nefritisa u sklopu HSP. S obzirom na svoju osjetljivost, osim u detekciji navedenih bolesnika, prema rezultatima ovog istraživanja mogao bi se koristiti u praćenju HSP bolesnika s minimalnim, ali perzistentnim abnormalnostima urina, koje mogu rezultirati progresijom oštećenja bubrega prema ESRD nakon višegodišnjeg razdoblja.

7. ZAKLJUČCI

1. U djece oboljele od HSP, u koje se od trenutka postavljanja dijagnoze kroz sljedećih šest mjeseci rutinskim laboratorijskim pretragama registrira razvoj nefritisa ili poremećaj bubrežne funkcije odnosno HSPN, inicijalno određena aktivnost e-GST statistički je značajno veća u odnosu na aktivnost e-GST u oboljele djece bez nefritisa i u zdrave djece. Osim na visoku senzitivnost e-GST u ranoj detekciji oštećenja eliminacijske bubrežne funkcije, navedeni rezultat ukazuje i na brze, intenzivne promjene u bubregu bolesnika s nefritisom u vrlo ranoj fazi sistemskog imunološkog zbivanja.

2. U djece oboljele od HSPN, aktivnost e-GST se prilikom ponovnih određivanja nakon tri i šest mjeseci od postavljanja dijagnoze postupno smanjuje, ali i dalje ostaje statistički značajno viša u odnosu na paralelno određenu aktivnost e-GST u djece s HSP bez nefritisa.

3. U djece oboljele od HSP, u koje se od trenutka postavljanja dijagnoze kroz sljedećih šest mjeseci rutinskim laboratorijskim pretragama ne registrira razvoj nefritisa niti poremećaj bubrežne funkcije, inicijalno određena aktivnost e-GST nije statistički značajno različita u odnosu na aktivnost e-GST u zdrave djece, niti se statistički značajno mijenja tijekom navedenog razdoblja. S obzirom na visoku osjetljivost e-GST u detekciji oštećenja eliminacijske bubrežne funkcije, navedeni rezultat ukazuje na njezino očuvanje u skupini oboljele djece bez nefritisa.

4. Aktivnost e-GST ≥ 4,1 U/g_{Hb} određena na početku bolesti, s osjetljivošću od 90,5 % i specifičnošću od 72,7 %, detektira HSP bolesnike s rizikom od razvoja nefritisa. Osjetljivost se prilikom određivanja aktivnosti e-GST nakon tri i šest mjeseci smanjuje, a specifičnost povećava, što ukazuje na najveću vrijednost određivanja aktivnosti e-GST u predikciji razvoja nefritisa prilikom razvoja prvih simptoma HSP, odnosno na početku bolesti.

5. Aktivnost e-GST u trenutku postavljanja dijagnoze HSP te tijekom idućih šest mjeseci konzistentno, statistički pozitivno korelira samo s brojem E/mm^3 urina. Budući da se hematurija u slučaju nefritisa smatra puno blažom reperkusijom imunološkog zbivanja u odnosu na proteinuriju, rezultat ponovno naglašava senzitivnost e-GST u detekciji poremećaja bubrežne funkcije. Ukazuje usto i na vrijednost određivanja aktivnosti e-GST kao neovisnog parametra praćenja bubrežne funkcije u djece s HSP.

6. Binarni logistički regresijski model predikcije nefritisa s obzirom na izmjerene vrijednosti e-GST tijekom promatranog razdoblja, kontrolirane na dob i spol ispitanika, ukazuje da za jedinično povećanje početne vrijednosti e-GST vjerojatnost nastanka nefritisa raste 5,9 puta.

7. Aktivnost e-GST pouzdan je biomarker rane procjene rizika od razvoja nefritisa u djece oboljele od HSP. Određivanje aktivnosti navedenog enzima u serumu, kao osjetljiva i specifična, minimalno invazivna, jednostavno izvediva i jeftina laboratorijska pretraga, ima potencijalnu praktičnu primjenu u dijagnostičkom algoritmu obrade i praćenja bolesnika s HSP.

8. SAŽETAK

Aktivnost eritrocitne glutation S-transferaze u djece oboljele od Henoch-Schönleinove purpure

Uvod: Henoch-Schönleinova purpura (HSP) najčešći je vaskulitis dječje dobi. Nefritis koji se može razviti u sklopu bolesti (HSPN), glavni je i gotovo jedini uzrok morbiditeta i mortaliteta oboljele djece. Cilj rada bio je istražiti vrijednost određivanja aktivnosti eritrocitne glutation S-transferaze (e-GST) kao ranog prediktora razvoja nefritisa u sklopu navedene bolesti.

Ispitanici i metode: U istraživanje je uključeno 97 djece s dijagnozom HSP (55 djece bez nefritisa i 42 djece s nefritisom) i 52 djece kontrolne skupine. U svih je bolesnika aktivnost e-GST određena na početku bolesti te nakon tri i šest mjeseci, a u kontrolnoj skupini jednokratno. Aktivnost e-GST određena je spektrometrijski u pripremljenom uzorku pune krvi, nakon inkubacije s komercijalnim GST testom.

Rezultati: Aktivnost e-GST u skupini djece s HSPN bila je na početku bolesti statistički značajno veća u odnosu na skupinu djece s HSP bez nefritisa: medijan (interkvartilni raspon) 5,70 U/g_{Hb} (4,38 − 7,50 U/g_{Hb}) prema 3,10 U/g_{Hb} (2,20 − 4,20 U/g_{Hb}); P < 0,001 (Mann-Whitneyjev test), kao i u odnosu na kontrolu: 5,70 U/g_{Hb} (4,38 − 7,50 U/g_{Hb}) prema 3,13 U/g_{Hb} (1,91 − 4,20 U/g_{Hb}); P < 0,001 (Kruskal-Wallisov test). Razlike između skupine HSP bolesnika bez nefritisa u odnosu na kontrolnu skupinu djece nisu bile statistički značajne (P = 0,837, Kruskal-Wallisov test). U skupini bolesnika s HSPN tijekom šestomjesečnog praćenja došlo je do značajnog pada aktivnosti e-GST (P = 0,018), ali ona je i dalje bila statistički značajno veća u odnosu na skupinu HSP bolesnika bez nefritisa (P < 0,001 / P < 0,001 (Mann-Whitneyjev test)). Pri ROC analizi vrijednosti određivanja aktivnosti e-GST u predikciji nastanka nefritisa, na početku istraživanja kod vrijednosti e-GST > 4,1 U/g_{Hb} nađena je značajna površina ispod krivulje (AUC) od 91,1 % (P < 0,001) te osjetljivost od 90,5 % i specifičnost od 72,7 %. Nakon tri, odnosno šest mjeseci, pala je osjetljivost, a povećana specifičnost testova u otkrivanju nefritisa. U oboljelih nije nađena korelacija aktivosti e-GST s izraženošću kožnih promjena,

primijenjenom terapijom niti njezinim trajanjem. Među praćenim laboratorijskim nalazima, konzistentna, statistički značajna, pozitivna korelacija utvrđena je samo između aktivnosti e-GST i broja E/mm^3 urina ($P < 0,001$ (Spearmanov koeficijent korelacije)).

Zaključak: Rezultati istraživanja ukazuju da je aktivnost e-GST pouzdan, neovisan marker rane procjene rizika od razvoja nefritisa u djece oboljele od HSP. Određivanje aktivnosti navedenog enzima u serumu, kao osjetljiva i specifična, jednostavno izvediva i jeftina laboratorijska pretraga, ima potencijalnu praktičnu primjenu u dijagnostičkom algoritmu obrade i praćenja bolesnika s HSP.

9. SUMMARY

Erythrocyte glutathione S-transferase activity in children with Henoch-Schönlein purpura

Marijan Frković

PhD Thesis 2020

Introduction: Henoch-Schönlein purpura (HSP) is the most common vasculitis of the childhood. Among all possible symptoms / complications, nephritis (HSPN) is the main and almost only cause of morbidity and mortality in HSP. The aim of this study was to investigate the value of erythrocyte glutathione S-transferase (e-GST) activity as an early predictor of nephritis in HSP.

Subjects and methods: Ninety-seven children with HSP were enrolled into the study. The control group consisted of 52 children without clinical and laboratory signs of inflammation. In all patients e-GST activity was determined spectrometrically from the whole blood samples, after incubation with a commercial GST assay at the time of enrolment and twice more in regular intervals during follow up period of six months. In children from the control group e-GST activity was determined at the time of enrolment.

Results: At the beginning of the disease the e-GST activity values were significantly higher in the group of patients with HSPN compared to the group of HSP patients without nephritis: median (interquartile range) 5,70 U/g_{Hb} (4,38-7,50 U/g_{Hb}) compared to 3,10 U/g_{Hb} (2,20-4,20 U/g_{Hb}); P<0,001. Similar results were obtained after the comparison of the patients with HSPN and control group: 5,70 U/g_{Hb} (4,38-7,50 U/g_{Hb}) vs. 3,13 U/g_{Hb} (1,91-4,20 U/g_{Hb}); P<0,001. There were no statistically significant differences between the group of HSP patients without nephritis and a control group (P=0,837). During the follow up period of six months, a significant decrease of e-GST activity was observed in the HSPN patients, but it

was still significantly higher compared to the group of HSP patients without nephritis (P<0,001 / P<0,001).

In the ROC analysis of the e-GST activity determination value in the prediction of HSP nephritis, at the e-GST values >4,1 U/g_{Hb} a significant area under the curve (AUC) of 91.1% (P < 0.001) and sensitivity of 90.5% and specificity of 72.7% was found at the beginning of the study. The sensitivity of the nephritis detection tests decreased, and the specificity increased during the follow up period. No significant correlation between e-GST activity and severity of skin changes, or used therapy was found. Among the routine laboratory tests, a consistent, statistically significant, positive correlation was found only between e-GST activity and the number of erythrocytes per mm^3 in urine samples.

Conclusion: e-GST activity is a reliable, independent marker of early nephritis risk assessment in children with HSP. As a sensitive and specific, feasible and inexpensive laboratory test, it has potential practical utility in the diagnostic algorithm and monitoring of the children with HSP.

10. LITERATURA

1. Saulsbury FT. Henoch-Schönlein purpura. Curr Opin Rheumatol. 2010;22(5):598-602. doi: 10.1097/BOR.0b013e32833af608.
2. Kiryluk K, Moldoveanu Z, John T. Sanders JT i sur. Aberrant Glycosylation of IgA1 is Inherited in Pediatric IgA Nephropathy and Henoch-Schönlein Purpura Nephritis. Kidney Int. 2011;80(1):79–87. doi: 10.1038/ki.2011.16
3. Park SJ, Suh JS, Lee JH i sur. Advances in our understanding of the patogenesis of Henoch-Schönlein purpura and the implications for improving its diagnosis. Expert Rev Clin Immunol. 2013;9(12):1223-38. doi: 10.1586/1744666X.2013.850028
4. Ghrahani R, Ledika MA, Sapartini G, Setiabudiawan B. Age of onset as a risk factor of renal involvement in Henoch-Schönlein purpura. Asia Pac Allergy. 2014;4(1):42-7. doi: 10.5415/apallergy.2014.4.1.42.
5. Barut K, Şahin S, Adroviç A, Kasapçopur Ö. Diagnostic approach and current treatment options in childhood vasculitis. Turk Pediatri Ars. 2015;50(4):194-205. doi: 10.5152/TurkPediatriArs.2015.2363.
6. Mohebbi MR, Bilauca FF. Henoch-Schönlein Purpura: Pressure-Dependent or Gravity-Dependent? J Pediatr. 2016;176:213. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.05.079.
7. 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. doi: 10.1016/j.autrev.2017.10.009
8. González-Gay MA, López-Mejías R, Pina T, Blanco R, Castañeda S. IgA Vasculitis: Genetics and Clinical and Therapeutic Management. Curr Rheumatol Rep. 2018;20(5):24. doi: 10.1007/s11926-018-0735-3
9. Batu ED, Sari A, Erden A 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):481-86. doi: 10.1080/03009742.2018.1448111

10. Altugan FS, Ozen S, Aktay-Ayaz N i sur. Treatment of severe Henoch-Schönlein nephritis: justifying more immunosuppression. Turk J Pediatr. 2009;51(6):551-5.
11. Edström Halling S, Söderberg MP, Berg UB. Predictors of outcome in Henoch-Schönlein nephritis. Pediatr Nephrol. 2010;25(6):1101-8. doi: 10.1007/s00467-010-1444-y.
12. Davin JC, Coppo R. Henoch-Schönlein purpura nephritis in children. Nat Rev Nephrol. 2014;10(10):563-73. doi: 10.1038/nrneph.2014.126
13. Chan H, Tang YL, Lv XH i sur. Risk Factors Associated with Renal Involvement in Childhood Henoch-Schönlein Purpura: A Meta-Analysis. PLoS One. 2016;11(11):e0167346. doi: 10.1371/journal.pone.0167346
14. Delbet JD, Hogan J, Aoun B i sur. Clinical outcomes in children with Henoch-Schönlein purpura nephritis without crescents. Pediatr Nephrol. 2017;32(7):1193-9. doi: 10.1007/s00467-017-3604-9
15. Kawasaki Y, Ono A, Ohara S i sur. Henoch-Schönlein purpura nephritis in childhood: pathogenesis, prognostic factors and treatment. Fukushima J Med Sci. 2013;59(1):15-26. doi: 10.5387/fms.59.15
16. Trnka P. Henoch-Schönlein purpura in children. J Paediatr Child Health. 2013;49(12):995-1003. doi: 10.1111/jpc.12403.
17. Chen O, Zhu XB, Ren P, Wang YB, Sun RP, Wei DE. Henoch Schonlein Purpura in children: clinical analysis of 120 cases. Afr Health Sci. 2013;13(1):94-9. doi: 10.4314/ahs.v13i1.26.
18. Dalpiaz A, Schwamb R, Miao Y, Gonka J, Walzter W, Khan SA. Urological Manifestations of Henoch-Schonlein Purpura: A Review. Curr Urol. 2015;8(2):66-73. doi: 10.1159/000365692.
19. Chen JY, Mao JH. Henoch-Schönlein purpura nephritis in children: incidence, pathogenesis and management. World J Pediatr. 2015;11(1)29-34. doi: 10.1007/s12519-014-0534-5
20. Yang YH, Yu HH, Chiang BL. The diagnosis and classification of Henoch-Schönlein purpura: an updated review. Autoimmun Rev. 2014;13(4-5):355-8. doi: 10.1016/j.autrev.2014.01.031.

21. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA i sur. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. Arthritis Rheum. 2013;65(1):1-11. doi: 10.1002/art.37715.
22. Pohl M. Henoch-Schönlein purpura nephritis. Pediatr Nephrol. 2015;30(2):245-52. doi: 10.1007/s00467-014-2815-6
23. Ozen S, Marks SD, Brogan P i sur. European consensus-based recommendations for diagnosis and treatment of immunoglobulin A vasculitis—the SHARE initiative. Rheumatology (Oxford). 2019;58(9):1607-16. doi: 10.1093/rheumatology/kez041.
24. Ozen S, Pistorio A, Iusan SM 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. doi: 10.1136/ard.2009.116657.
25. Mills JA, Michael BA, Bloch DA i sur. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Henoch-Schönlein purpura. Arthritis Rheum. 1990;33(8):1114-21. doi: 10.1002/art.1780330809
26. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA i sur. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. Arthritis Rheum. 2013;65(1):1-11. doi: 10.1002/art.37715.
27. Komatsu H, Fujimoto S, Yoshikawa N, Kitamura H, Sugiyama H, Yokoyama H. Clinical manifestations of Henoch-Schönlein purpura nephritis and IgA nephropathy: comparative analysis of data from the Japan Renal Biopsy Registry (J-RBR). Clin Exp Nephrol. 2016;20(4):552-60. doi: 10.1007/s10157-015-1177-0
28. Gardner-Medwin JM, Dolezalova P, Cummins C, Southwood TR. Incidence of Henoch-Schönlein purpura, Kawasaki disease, and rare vasculitides in children of different ethnic origins. Lancet. 2002;360(9341):1197-202. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11279-7
29. Wang X, Zhu Y, Gao L, Wei S, Zhen Y, Ma Q. Henoch- Schönlein purpura with joint involvement: Analysis of 71 cases. Pediatr Rheumatol Online J. 2016;14(1):20. doi:10.1186/s12969-016-0080-x

30. Ghrahani R, Ledika MA, Sapartini G, Setiabudiawan B. Age of onset as a risk factor of renal involvement in Henoch-Schönlein purpura. Asia Pac Allergy. 2014;4(1):42-7. doi: 10.5415/apallergy.2014.4.1.42
31. Feng D, Huang WY, Hao S i sur. A single-center analysis of Henoch-Schonlein purpura nephritis with nephrotic proteinuria in children. Pediatr Rheumatol Online J. 2017;15(1):15. doi: 10.1186/s12969-017-0146-4
32. Da Dalt L, Zerbinati C, Strafella MS i sur. Henoch-Schönlein purpura and drug and vaccine use in childhood: a case-control study. Ital J Pediatr. 2016:42(1):60. doi: 10.1186/s13052-016-0267-2
33. Guo D, Lam JM. Henoch-Schönlein purpura. CMAJ. 2016;188(15):E393. doi: 10.1503/cmaj.151072
34. López-Mejías R, Castañeda S, Genre F i sur. Genetics of immunoglobulin-A vasculitis (Henoch-Schönlein purpura): An updated review. Autoimmun Rev. 2018;17(3):301-315. doi: 10.1016/j.autrev.2017.11.024
35. Davin JC. Henoch-Schonlein purpura nephritis: pathophysiology, treatment, and future strategy. Clin J Am Soc Nephrol. 2011;6(3):679-89. doi: 10.2215/CJN.06710810
36. Knoppova B, Reily C, Maillard N i sur. The Origin and Activities of IgA1-Containing Immune Complexes in IgA Nephropathy. Front Immunol. 2016;7:117. doi: 10.3389/fimmu.2016.00117
37. Jelusic M, Sestan M, Cimaz R, Ozen S. Different histological classifications for Henoch-Schönlein purpura nephritis: which one should be used? Pediatr Rheumatol Online J. 2019;17(1):10. doi: 10.1186/s12969-019-0311-z.
38. Piram M, Mahr A. Epidemiology of immunoglobulin A vasculitis (Henoch-Schönlein): current state of knowledge. Curr Opin Rheumatol. 2013;25(2):171-8. doi: 10.1097/BOR.0b013e32835d8e2a.
39. Mizerska-Wasiak M, Gajewski Ł, Cichoń-Kawa K i sur. Serum GDIgA1 levels in children with IgA nephropathy and Henoch-Schönlein nephritis. Cent Eur J Immunol. 2018;43(2):162-7. doi: 10.5114/ceji.2018.77386
40. 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.

doi: 10.1111/bjd.13472.

41. Albaramki J. Henoch-Schonlein purpura in childhood: a fifteen year expirience at a tertiary hospital. J Med Liban. 2016;64(1):13-7. doi: 10.12816/0023826
42. Rigante D, Castellazzi L, Bosco A, Esposito S. Is there a crossroad between infections, genetics, and Henoch-Schönlein purpura? Autoimmun Rev. 2013;12(10):1016-21. doi: 10.1016/j.autrev.2013.04.003.
43. Ostini A, Simonetti GD, Pellanda G, Bianchetti MG, Ferrarini A, Milani GP. Familial Henoch-Schönlein Syndrome. J Clin Rheumatol. 2016;22(2):80-1. doi: 10.1097/RHU.0000000000000360
44. Sun Q, Zhang Z, Zhang H, Liu X. Aberrant IgA1 Glycosylation in IgA Nephropathy: A Systematic Review. PLoS One. 2016;11(11):e0166700. doi: 10.1371/journal.pone.0166700.
45. Ren SM, Yang GL, Liu CZ i sur. Association between HLA-A and-B polymorphisms and susceptibility to Henoch-Schönlein purpura in Han and Mongolian children from Inner Mongolia. Genet Mol Res. 2012;11(1):221-8. doi: 10.4238/2012.February.3.2
46. He X, Yu C, Zhao P i sur. The genetics of Henoch-Schönlein purpura: a systematic review and meta-analysis. Rheumatol Int. 2013;33(6):1387-95. doi: 10.1007/s00296-012-2661-4.
47. Soylemezoglu O, Peru H, Gonen S, Cetinyurek A, Buyan N. HLA-DRB1 alleles and Henoch-Schönlein purpura: susceptibility and severity of disease. J Rheumatol. 2008;35(6):1165-8.
48. Bogdanović R. Henoch-Schönlein purpura nephritis in children: risk factors, prevention and treatment. Acta Paediatr. 2009;98(12):1882-9. doi: 10.1111/j.1651-2227.2009.01445.x.
49. An J, Lü Q, Zhao H, 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. doi: 10.1007/s00296-013-2761-9.
50. Altug U, Ensari C, Sayin DB, Ensari A. MEFV gene mutations in Henoch-Schönlein purpura. Int J Rheum Dis. 2013;16(3):347-51. doi: 10.1111/1756-185X.12072.

51. Amoli MM, Calviño MC, Garcia-Porrua C, Llorca J, Ollier WE, Gonzalez-Gay MA. Interleukin 1beta gene polymorphism association with severe renal manifestations and renal sequelae in Henoch-Schönlein purpura. J Rheumatol. 2004;31(2):295-8.
52. He X, Zhao P, Kang S i sur. C1GALT1 polymorphisms are associated with Henoch-Schönlein purpura nephritis. Pediatr Nephrol. 2012;27(9):1505-9. doi: 10.1007/s00467-012-2178-9
53. Wang JJ, Shi YP, Yue H, Chun W, Zou LP. CTLA-4 exon 1 +49A/G polymorphism is associated with renal involvement in pediatric Henoch-Schönlein purpura. Pediatr Nephrol. 2012;27(11):2059-2064. doi: 10.1007/s00467-012-2216-7
54. López-Mejías R, Genre F, Remuzgo-Martínez S i sur. Interleukin 1 beta (IL1ß) rs16944 genetic variant as a genetic marker of severe renal manifestations and renal sequelae in Henoch-Schönlein purpura. Clin Exp Rheumatol. 2016;34(3):84-8.
55. Jiang J, Duan W, Shang X i sur. Inducible nitric oxide synthase gene polymorphisms are associated with a risk of nephritis in Henoch-Schönlein purpura children. Eur J Pediatr. 2017;176(8):1035-45. doi: 10.1007/s00431-017-2945-5
56. Monach PA, Merkel PA. Genetics of vasculitis. Curr Opin Rheumatol. 2010;22(2):157-63. doi: 10.1097/BOR.0b013e32833654a8.
57. López-Mejías R, Carmona FD, Castañeda S 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. doi: 10.1038/s41598-017-03915-2.
58. López-Mejías R, Carmona FD, Castañeda S 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. doi: 10.1038/s41598-017-03915-2.
59. Piram M, Maldini C, Biscardi S i sur. Incidence of IgA vasculitis in children estimated by four-source capture-recapture analysis: a population-based study. Rheumatology (Oxford). 2017;56(8):1358-1366. doi: 10.1093/rheumatology/kex158.

60. 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. doi: 10.1007/s12519-012-0373-1
61. Xiong LJ, Mao M. Current views of the relationship between Helicobacter pylori and Henoch-Schonlein purpura in children. World J Clin Pediatr. 2016;5(1):82-8. doi: 10.5409/wjcp.v5.i1.82
62. Janković S, Nikolić M, Simović A, Vujić A. Henoch-Schönlein purpura associated with Strongyloides stercoralis infection. Vojnosanit Pregl. 2016;73(5):491-5. doi: 10.2298/vsp140821028j
63. Yan M, Wang Z, Niu N, Zhao J, Peng J. Relationship between chronic tonsillitis and Henoch-Schonlein purpura. Int J Clin Exp Med. 2015;8(8):14060-4.
64. Kuźma-Mroczkowska E, Pańczyk-Tomaszewska M, Szmigielska A, Szymanik-Grzelak H, Roszkowska-Blaim M. Mycoplasma pneumoniae as a trigger for Henoch-Schönlein purpura in children. Cent Eur J Immunol. 2015;40(4):489-92. doi: 10.5114/ceji.2015.56976.
65. Donadio ME, Loiacono E, Peruzzi L 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. doi: 10.1007/s00467-014-2807-6.
66. Bataille S, Daumas A, Tasei AM i sur. Vancomycin-induced Henoch-Schönlein purpura: a case report. J Med Case Rep. 2012;6:106. doi: 10.1186/1752-1947-6-106.
67. Gálvez-Olortegui J, Álvarez-Vargas M, Durand-Vergara J i sur. Henoch Schonlein purpura associated with bee sting: case report. Medwave. 2015;15(9):e6297. doi: 10.5867/medwave.2015.09.6297.
68. Duan X, Yu D, Yu C, Wang B, Guo Y. Henoch-Schönlein purpura following high-voltage electric burn injury: A case report and review of the literature. Exp Ther Med. 2016;11(2):540-2. doi: 10.3892/etm.2015.2905
69. Lau KK, Suzuki H, Novak J, Wyatt RJ. Pathogenesis of Henoch-Schönlein purpura nephritis. Pediatr Nephrol. 2010;25(1):19-26. doi: 10.1007/s00467-009-1230-x

70. McCarthy DD, Kujawa J, Wilson C i sur. Mice overexpressing BAFF develop a commensal flora-dependent, IgA-associated nephropathy. J Clin Invest. 2011;121(10):3991-4002. doi: 10.1172/JCI45563
71. Reily C, Ueda H, Huang ZQ i sur. Cellular signaling and production of galactose-deficient IgA1 in IgA nephropathy, an autoimmune disease. J Immunol Res. 2014;2014:197548. doi: 10.1155/2014/197548.
72. Han L, Fang X, He Y, Ruan XZ. IgA Nephropathy, the Gut Microbiota, and Gut-Kidney Crosstalk. Kidney Int Rep. 2016;1(3):189–196. doi: 10.1016/j.ekir.2016.08.002
73. Novak J, Moldoveanu Z, Renfrow MB. IgA nephropathy and Henoch-Schoenlein purpura nephritis: aberrant glycosylation of IgA1, formation of IgA1-containing immune complexes, and activation of mesangial cells. Contrib Nephrol. 2007;157:134-8. doi: 10.1159/000102455
74. Kawasaki Y. The pathogenesis and treatment of pediatric Henoch-Schönlein purpura nephritis. Clin Exp Nephrol. 2011;15(5):648-57. doi: 10.1007/s10157-011-0478-1
75. Qian Li1, Xi Lin, Zhongbiao Wu i sur. Immuno-Histochemistry Analysis of Helicobacter pylori Antigen in Renal Biopsy Specimens from Patients with Glomerulonephritis. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2013;24(4):751-58. doi: 10.4103/1319-2442.113871
76. Suzuki H, Yasutake J, Makita Y i sur. IgA nephropathy and IgA vasculitis have a shared feature involving galactose-deficient IgA1-oriented pathogenesis. Kidney Int. 2018;93(3):700-5. doi: 10.1016/j.kint.2017.10.019
77. Chen O, Zhu XB, Ren H, Wang YB, Sun R. The imbalance of Th17/Treg in Chinese children with Henoch-Schonlein purpura. Int Immunopharmacol. 2013;16(1):67-71. doi: 10.1016/j.intimp.2013.03.027.
78. Donadio ME, Loiacono E, Peruzzi L 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. doi: 10.1007/s00467-014-2807-6
79. Li YY, Li CR, Wang GB, Yang J, Zu Y. Investigation of the change in $CD4^+$ T cell subset in children with Henoch-Schonlein purpura. Rheumatol Int. 2012;32(12):3785-92. doi: 10.1007/s00296-011-2266-3

80. Xie J, Liu Y, Wang L i sur. Expansion of Circulating T Follicular Helper Cells in Children with Acute Henoch-Schönlein Purpura. J Immunol Res. 2015;2015:742535. doi: 10.1155/2015/742535.
81. Wada Y, Matsumoto K, Suzuki T i sur. Clinical significance of serum and mesangial galactose-deficient IgA1 in patients with IgA nephropathy. PLoS One. 2018;13(11):e0206865. doi: 10.1371/journal.pone.0206865.
82. Novak J, Moldoveanu Z, Renfrow MB i sur. IgA nephropathy and Henoch-Schoenlein purpura nephritis: aberrant glycosylation of IgA1, formation of IgA1-containing immune complexes, and activation of mesangial cells. Contrib Nephrol. 2007;157:134-8. doi: 10.1159/000102455
83. Sanders JT, Wyatt RJ. IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura nephritis. Curr Opin Pediatr. 2008;20(2):163-70. doi: 10.1097/MOP.0b013e3282f4308b
84. Kimura S, Takeuchi S, Soma Y, Kawakami T. Raised serum levels of interleukins 6 and 8 and antiphospholipid antibodies in an adult patient with Henoch-Schönlein purpura. Clin Exp Dermatol. 2013;38(7):730-6. doi: 10.1111/ced.12089.
85. Wang J, Li Y, Chen Y i sur. Urinary Macrophage Migration Inhibitory Factor as a Noninvasive Biomarker in Pediatric Henoch-Schönlein Purpura Nephritis. J Clin Rheumatol. 2017;23(5):258-61. doi: 10.1097/RHU.0000000000000570.
86. Meng-Yu Wu, Chien-Sheng Chen, Giou-Teng Yiang i sur. The Emerging Role of Pathogenesis of IgA Nephropathy. J Clin Med. 2018;7(8):225. doi: 10.3390/jcm7080225
87. Tesch GH. Review: Serum and urine biomarkers of kidney disease: A pathophysiological perspective. Nephrology (Carlton). 2010;15(6):609-16. doi: 10.1111/j.1440-1797.2010.01361.x.
88. Wang F, Huang L, Tang H, Li X, Zhu X, Wang X. Significance of glomerular fibrinogen deposition in children with Henoch-Schönlein purpura nephritis. Ital J Pediatr. 2018;16;44(1):97. doi: 10.1186/s13052-018-0538-1
89. Chen T, Jia RZ, Guo ZP, Cao N, Li MM, Jiao XY. Elevated serum interleukin-33 levels in patients with Henoch-Schönlein purpura. Arch Dermatol Res. 2013;305(2):173-7. doi: 10.1007/s00403-012-1268-7.

90. Kawakami T, Yamazaki M, Mizoguchi M, Soma Y. High titer of serum antiphospholipid antibody levels in adult Henoch-Schönlein purpura and cutaneous leukocytoclastic angiitis. Arthritis Rheum. 2008;59(4):561-7. doi: 10.1002/art.23528.
91. Cao N, Chen T, Guo ZP, Li MM, Jiao XY. Elevated serum levels of visfatin in patients with henoch-schönlein purpura. Ann Dermatol. 2014;26(3):303-7. doi: 10.5021/ad.2014.26.3.303.
92. Poterucha TJ, Wetter DA, Grande JP, Gibson LE, Camilleri MJ, Lohse CM. A retrospective comparison of skin and renal direct immunofluorescence findings in patients with glomerulonephritis in adult Henoch-Schönlein purpura. J Cutan Pathol. 2014;41(7):582-7. doi: 10.1111/cup.12295
93. Chen CB, Garlapati S, Lancaster JD, Zinn Z, Bacaj P, Patra KP. Bullous Henoch-Schönlein purpura in children. Cutis. 2015;96(4):248-52.
94. Lerkvaleekul B, Treepongkaruna S, Saisawat P i sur. Henoch-Schönlein purpura from vasculitis to intestinal perforation: A case report and literature review. World J Gastroenterol. 2016;22(26):6089-94. doi: 10.3748/wjg.v22.i26.6089
95. Helbling R, Lava SA, Simonetti GD, Camozzi P, Bianchetti MG, Milani GP. Gallbladder and Pancreas in Henoch-Schönlein Purpura: Review of the Literature. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2016;62(3):457-61. doi: 10.1097/MPG.0000000000000955
96. Özkaya AK, Güler E, Çetinkaya A i sur. Henoch-Schönlein purpura complicated by acalculous cholecystitis and intussusception, and following recurrence with appendicitis. Paediatr Int Child Health. 2016;36(2):157-9. doi: 10.1080/20469047.2015.1109250
97. Foster BJ, Bernard C, Drummond KN, Sharma AK. Effective therapy for severe Henoch-Schonlein purpura nephritis with prednisone and azathioprine: A clinical and histopathologic study. J Pediatr. 2000;136(3):370-5. doi: 10.1067/mpd.2000.103448
98. Zaffanello M, Brugnara M, Franchini M. Therapy for children with henoch-schonlein purpura nephritis: a systematic review. ScientificWorldJournal. 2007;7:20-30. doi: 10.1100/tsw.2007.23

99. Nikibakhsh AA, Mahmoodzadeh H, Karamyyar M, Hejazi S, Noroozi M, Macooie AA. Treatment of severe henoch-schonlein purpura nephritis with mycophenolate mofetil. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2014;25(4):858-63. doi: 10.4103/1319-2442.135182
100. Koskela M, Ylinen E, Ukonmaanaho EM 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. doi: 10.1007/s00467-017-3608-5.
101. Kawashima N, Kawada JI, Nishikado Y i sur. Abnormal urinalysis on day 7 in patients with IgA vasculitis (Henoch-Schönlein purpura). Nagoya J Med Sci. 2016;78(4):359-68. doi: 10.18999/nagjms.78.4.359.
102. Modi S, Mohan M, Jennings A. Acute Scrotal Swelling in Henoch-Schonlein Purpura: Case Report and Review of the Literature. Urol Case Rep. 2016;6:9–11. doi: 10.1016/j.eucr.2016.01.004
103. Hewett KM, Titus MO. Acute Genitourinary Swelling and Erythema as Presenting Symptoms of Henoch-Schonlein Purpura. Pediatr Emerg Care. 2016;32(6):384-5. doi:10.1097/PEC.0000000000000822
104. Oral A, Ahiskalioglu EO, Yigiter M, Sipal S, Kantarci M, Salman BA. An Unusual Complication of Henoch-schönlein Vasculitis in an 11-year-old Boy: Global Testicular Necrosis Mimicking Testicular Torsion. West Indian Med J. 2017;66(2):372-5. doi: 10.7727/wimj.2014.3704p.
105. Oomens P, Derix M, Fossion L. Rare urological manifestation of Henoch-Schönlein purpura: testicular torsion. BMJ Case Rep. 2016;2016.pii: bcr2016217531. doi: 10.1136/bcr-2016-217531
106. Bérubé MD, Blais N, Lanthier S. Neurologic manifestations of Henoch-Schönlein purpura. Handb Clin Neurol. 2014;120:1101-11. doi: 10.1016/B978-0-7020-4087-0.00074-7.
107. Stefek B, Beck M, Ioffreda M, Gardner L, Stefanski M. Henoch-Schönlein Purpura with Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome. J Pediatr. 2015;167(5):1152-4. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.07.066.
108. Dos Santos D, Langer FW, Dos Santos T, Rafael Tronco Alves G, Feiten M, Teixeira de Paula Neto W. Posterior reversible encephalopathy syndrome

as a complication of Henoch-Schönlein purpura in a seven-year-old girl. Scott Med J. 2017;62(1):34-37. doi: 10.1177/0036933017690467

109. Bérubé MD, Blais N, Lanthier S. Neurologic manifestations of Henoch-Schönlein purpura. Handb Clin Neurol. 2014;120:1101-11. doi: 10.1016/B978-0-7020-4087-0.00074-7
110. Calvo-Río V, Hernández JL, Ortiz-Sanjuán F i sur. Relapses in patients with Henoch-Schönlein purpura: Analysis of 417 patients from a single center. Medicine (Baltimore). 2016;95(28):e4217. doi: 10.1097/MD.0000000000004217
111. Fan Z, Tian X, Pan J, Li Y, Zhang Y, Jing H. Terminal ileitis induced by Henoch-Schonlein purpura that presented as acute appendicitis: a case report. Medicine (Baltimore). 2015;94(5):e492. doi: 10.1097/MD.0000000000000492
112. Wei CC, Lin CL, Shen TC, Li TC, Chen AC. Atopic Dermatitis and Association of Risk for Henoch-Schönlein Purpura (IgA Vasculitis) and Renal Involvement Among Children: Results From a Population-Based Cohort Study in Taiwan. Medicine (Baltimore). 2016;95(3):e2586. doi: 10.1097/MD.0000000000002586
113. Sampat HN, McAllister BP, Gaines DD, Ostrov B. Terminal Ileitis as a Feature of Henoch-Schönlein Purpura Masquerading as Crohn Disease in Adults. J Clin Rheumatol. doi: 10.1097/RHU.0000000000000361
114. Pillebout E, Jamin A, Ayari H i sur. Biomarkers of IgA vasculitis nephritis in children. PLoS One. 2017;12(11):e0188718. doi: 10.1371/journal.pone.0188718
115. Lin Q, Min Y, Li Y i sur. Henoch-Schönlein purpura with hypocomplementemia. Pediatr Nephrol. 2012;27(5):801-6. doi: 10.1007/s00467-011-2070-z.
116. Mao Y, Yin L, Huang H, Zhou Z, Chen T, Zhou W. Henoch-Schönlein purpura in 535 Chinese children: clinical features and risk factors for renal involvement. J Int Med Res. 2014;42(4):1043-9. doi: 10.1177/0300060514530879.
117. Linskey KR, Kroshinsky D, Mihm MC Jr, Hoang MP. Immunoglobulin-A-associated small-vessel vasculitis: a 10-year experience at the

Massachusetts General Hospital. J Am Acad Dermatol. 2012;66(5):813-22. doi: 10.1016/j.jaad.2011.06.012.

118. Fu H, Mao J, Xu Y, Gu W, Zhu X, Liu A. Clinical features and outcomes of diffuse endocapillary proliferation Henoch-Schönlein purpura nephritis in children. Clinics (Sao Paulo). 2016;71(9):550-4. doi: 10.6061/clinics/2016(09)11
119. Narchi H. Risk of long term renal impairment and duration of follow up recommended for Henoch-Schönlein purpura with normal or minimal urinary findings: a systematic review. Arch Dis Child. 2005;90:916–20. doi: 10.1136/adc.2005.074641
120. Tudorache E, Azema C, Hogan J i sur. Even mild cases of paediatric Henoch-Schönlein purpura nephritis show significant long-term proteinuria. Acta Paediatr. 2015;104(8):843-8. doi: 10.1111/apa.12723
121. Pirojsakul K, Tangnararatchakit K, Chalermsanyakorn P, Tapaneya-Olarn W. Clinical outcome of children with Henoch-Schönlein purpura nephritis. J Med Assoc Thai. 2012;95(7):878-83.
122. Pindi Sala T, Michot JM, Snanoudj R i sur. Successful outcome of a corticodependent henoch-schönlein purpura adult with rituximab. Case Rep Med. 2014;2014:619218. doi: 10.1155/2014/619218.
123. Fenoglio R, Naretto C, Basolo B i sur. Rituximab therapy for IgA-vasculitis with nephritis: a case series and review of the literature. Immunol Res. 2017;65(1):186-192. doi: 10.1007/s12026-016-8827-5
124. Cherqaoui B, Chausset A, Stephan JL, Merlin E. Intravenous immunoglobulins for severe gastrointestinal involvement in pediatric Henoch-Schönlein purpura: A French retrospective study. Arch Pediatr. 2016;23(6):584-90. doi: 10.1016/j.arcped.2016.03.018
125. Shin JI, Park JM, Shin YH i sur. Can azathioprine and steroids alter the progression of severe Henoch-Schönlein nephritis in children? Pediatr Nephrol. 2005;20(8):1087-92. doi: 10.1007/s00467-005-1869-x
126. Zaffanello M, Fanos V. Treatment-based literature of Henoch-Schönlein purpura nephritis in childhood. Pediatr Nephrol. 2009;24(10):1901-11. doi: 10.1007/s00467-008-1066-9

127. Mizerska-Wasiak M, Małdyk J, Demkow U, Roszkowska-Blaim M, Pańczyk-Tomaszewska M. Treatment Outcomes in Children with Henoch-Schönlein Nephritis. Adv Exp Med Biol. 2016;912:65-72. doi: 10.1007/5584_2016_231
128. Bogdanović R. Henoch-Schönlein purpura nephritis in children: risk factors, prevention and treatment. Acta Paediatr. 2009;98(12):1882-9. doi: 10.1111/j.1651-2227.2009.01445.x
129. Dudley J, Smith G, Llewelyn-Edwards A, Bayliss K, Pike K, Tizard J. 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. doi: 10.1136/archdischild-2013-303642
130. Hahn D, Hodson EM, Willis NS, Craig JC. Interventions for preventing and treating kidney disease in Henoch-Schönlein Purpura (HSP). Cochrane Database Syst Rev. 2015;(8):CD005128. doi: 10.1002/14651858.CD005128.pub3
131. Vergano L, Loiacono E, Albera R i sur. Can tonsillectomy modify the innate and adaptive immunity pathways involved in IgA nephropathy? J Nephrol. 2015;28(1):51-8. doi: 10.1007/s40620-014-0086-8.
132. Iwazu Y, Akimoto T, Muto S, Kusano E. Clinical remission of Henoch-Schönlein purpura nephritis after a monotherapeutic tonsillectomy. Clin Exp Nephrol. 2011;15(1):132-5. doi: 10.1007/s10157-010-0345-5.
133. Ohara S, Kawasaki Y, Matsuura H, Oikawa T, Suyama K, Hosoya M. Successful therapy with tonsillectomy for severe ISKDC grade VI Henoch-Schönlein purpura nephritis and persistent nephrotic syndrome. Clin Exp Nephrol. 2011;15(5):749-753. doi: 10.1007/s10157-011-0463-8.
134. Yamakawa T, Yamamoto I, Komatsuzaki Y i sur. Successful treatment of recurrent Henoch-Schönlein purpura nephritis in a renal allograft with tonsillectomy and steroid pulse therapy. Nephrology (Carlton). 2016;21(1):53-6. doi: 10.1111/nep.12770
135. Ohara S, Kawasaki Y, Matsuura H, Oikawa T, Suyama K, Hosoya M. Successful therapy with tonsillectomy for severe ISKDC grade VI Henoch-Schönlein purpura nephritis and persistent nephrotic syndrome. Clin Exp Nephrol. 2011;15(5):749-53. doi: 10.1007/s10157-011-0463-8

136. Inoue CN, Chiba Y, Morimoto T, Nishio T, Kondo Y, Adachi M, Matsutani S. Tonsillectomy in the treatment of pediatric Henoch–Schönlein nephritis. Clin Nephrol. 2007;67:298–305. doi: 10.5414/cnp67298
137. 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. doi: 10.1007/s00431-015-2547-z
138. Rigante D, Candelli M, Federico G, Bartolozzi F, Porri MG, Stabile A. Predictive factors of renal involvement or relapsing disease in children with Henoch-Schönlein purpura. Rheumatol Int. 2005;25(1):45-8. doi: 10.1007/s00296-004-0452-2
139. 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. doi: 10.1080/03009740510026841
140. Elmas AT, Tabel Y. Platelet Counts in Children With Henoch–Schonlein Purpura—Relationship to Renal Involvement. J Clin Lab Anal. 2016;30(1):71-4. doi: 10.1002/jcla.21817
141. Sun L, Xie B, Zhang Q i sur. Biomarkers identification by a combined clinical and metabonomics analysis in Henoch-Schonlein purpura nephritis children. Oncotarget. 2017;8(69):114239–50. doi: 10.18632/oncotarget.23207
142. Coppo R, Mazzucco G, Cagnoli L, Lupo A, Schena FP. Long-term prognosis of Henoch–Schönlein nephritis in adults and children. Nephrol Dial Transplant. 1997;12(11):2277-83. doi: 10.1093/ndt/12.11.2277
143. Kim CH, Lim BJ, Bae YS 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. doi: 10.1038/modpathol.2013.222.
144. Counahan R, Winterborn MH, White RH i sur. Prognosis of Henoch-Schönlein nephritis in children. Br Med J. 1977;2(6078):11-4. doi:10.1136/bmj.2.6078.11
145. Kim J, Choi SE, Lee KH, Jeong HJ, Shin JI, Lim BJ. Tubulointerstitial Infiltration of M2 Macrophages in Henoch-Schönlein Purpura Nephritis

Indicates the Presence of Glomerular Crescents and Bad Clinical Parameters. Biomed Res Int. 2019;8579619. doi:10.1155/2019/8579619

146. Pohl M. Henoch-Schönlein purpura nephritis. Pediatr Nephrol. 2015;30(2):245-52. doi: 10.1007/s00467-014-2815-6.
147. Goldstein AR, White RH, Akuse R, Chantler C. Long-term follow-up of childhood Henoch-Schönlein nephritis. Lancet. 1992;339(8788):280-2. doi: 10.1016/0140-6736(92)91341-5
148. Tarshish P, Bernstein J, Edelmann CM Jr. Henoch-Schönlein purpura nephritis: course of disease and efficacy of cyclophosphamide. Pediatr Nephrol. 2004;19(1):51-6.
doi: 10.1007/s00467-003-1315-x
149. Rai A, Nast C, Adler S. Henoch-Schönlein purpura nephritis. J Am Soc Nephrol. 1999;10(12):2637-44.
150. Nasri H. Oxford classification of IgA nephropathy is applicable to predict long-term outcomes of Henoch-Schönlein purpura nephritis. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2014;13(6):456-8.
151. Fabiano RCG, Araújo SA, Bambirra EA, Oliveira EA, Simões E Silva AC, Pinheiro SVB. The Oxford Classification predictors of chronic kidney disease in pediatric patients with IgA nephropathy. J Pediatr (Rio J). 2017;93(4):389-97., doi: 10.1016/j.jped.2016.09.003.
152. 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. doi: 10.1016/S0140-6736(02)09835-5
153. Coppo R, Andrulli S, Amore A i sur. Predictors of outcome in Henoch-Schönlein nephritis in children and adults. Am J Kidney Dis. 2006;47(6):993-1003. doi: 10.1053/j.ajkd.2006.02.178
154. Soylemezoglu O, Ozkaya O, Ozen S i sur. Henoch-Schonlein nephritis: a nationwide study. Nephron Clin Pract. 2009;112(3):199-204.
doi: 10.1159/000218109.
155. Xu K, Zhang L, Ding J i sur. Value of the Oxford classification of IgA nephropathy in children with Henoch-Schönlein purpura nephritis. J Nephrol. 2018;31(2):279-86. doi: 10.1007/s40620-017-0457-z.

156. Davin JC, Coppo R. Pitfalls in recommending evidence-based guidelines for a protean disease like Henoch–Schönlein purpura nephritis. Pediatr Nephrol. 2013; 28:1897–1903. doi: 10.1007/s00467-013-2550-4
157. Cook HT. Focal segmental glomerulosclerosis in IgA nephropathy: a result of primary podocyte injury? Kidney Int. 2011;79(6):581-3. doi: 10.1038/ki.2010.521
158. Shima Y, Nakanishi K, Hama T i sur. Validity of the Oxford classification of IgA nephropathy in children. Pediatr Nephrol. 2012;27(5):783-92. doi: 10.1007/s00467-011-2061-0
159. Trimarchi H, Barratt J, Cattran DC i sur. Oxford Classification of IgA nephropathy 2016: an update from the IgA Nephropathy Classification Working Group. Kidney Int. 2017;91(5):1014-1021. doi: 10.1016/j.kint.2017.02.003.
160. Roberts IS, Cook HT, Troyanov S i sur. The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility. Kidney Int. 2009;76(5):546-56. doi: 10.1038/ki.2009.
161. Yoon CY, Chang TI, Kang EW i sur. Clinical usefulness of the Oxford classification in determining immunosuppressive treatment in IgA nephropathy. Ann Med. 2017;49(3):217-29. doi: 10.1080/07853890.2016.1252058.
162. Cattran DC, Coppo R, Cook HT i sur. The Oxford classification of IgA nephropathy: rationale, clinicopathological correlations, andclassification. Kidney Int. 2009;76(5):534-45. doi: 10.1038/ki.2009.243
163. Edström Halling S, Söderberg MP, Berg UB. Predictors of outcome in paediatric IgA nephropathy with regard to clinical and histopathological variables (Oxford classification). Nephrol Dial Transplant. 2012;27(2):715-22. doi: 10.1093/ndt/gfr339
164. Coppo R, Troyanov S, Camilla R i sur. The Oxford IgA nephropathy clinicopathological classification is valid for children as well as adults. Kidney Int. 2010;77(10):921-7. doi: 10.1038/ki.2010.43.
165. Haas M. IgA Nephropathy: Does Histologic Grading Really Matter? Acta Nephr. 2008;2(22):83-8.

166. Park KS, Han SH, Kie JH i sur. Comparison of the Haas and the Oxford classifications for prediction of renal outcome in patients with IgA nephropathy. Hum Pathol. 2014;45(2):236-43. doi: 10.1016/j.humpath.2013.08.019.
167. Lu S, Liu D, Xiao J i sur. Comparision between adults and children with Henoch-Schönlein purpura nephritis. Pediatr Nephrol. 2015;30(5):791-6. doi: 10.1007/s00467-014-3016-z.
168. Berthelot L, Jamin A, Viglietti D 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. doi: 10.1093/ndt/gfx300.
169. Bieniaś B, Zajączkowska M, Borzęcka H, Sikora P, Wieczorkiewicz-Płaza A, Wilczyńska B. Early Markers of Tubulointerstitial Fibrosis in Children With Idiopathic Nephrotic Syndrome: Preliminary Report. Medicine (Baltimore). 2015;94(42):e1746. doi: 10.1097/MD.0000000000001746.
170. Zhang J, Zeng H, Wang N, Tian X, Dou W, Shi P. Beneficial effects of creatine phosphate sodium for the treatment of Henoch-Schönlein purpura in patients with early renal damage detected using urinary kidney injury molecule-1 levels. Eur J Pediatr. 2016;175(1):49-55. doi: 10.1007/s00431-015-2601-x.
171. DU Y, Hou L, Guo J, Sun T, Wang X, Wu Y. Renal neutrophil gelatinase-associated lipocalin and kidney injury molecule-1 expression in children with acute kidney injury and Henoch-Schönlein purpura nephritis. Exp Ther Med. 2014;7(5):1130-4. PMID: doi: 10.3892/etm.2014.1595
172. Dagna L, Salvo F, Tiraboschi M i sur. Pentraxin-3 as a marker of disease activity in Takayasu arteritis. Ann Intern Med. 2011;155(7):425-33. doi: 10.7326/0003-4819-155-7-201110040-00005.
173. van Rossum AP, Pas HH, Fazzini F i sur. Abundance of the long pentraxin PTX3 at sites of leukocytoclastic lesions in patients with small-vessel vasculitis. Arthritis Rheum. 2006;54(3):986-91. doi: 10.1002/art.21669
174. 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. doi: 10.1007/s00431-013-2150-0.

175. Delanghe SE, Speeckaert MM, Segers H i sur. Soluble transferrin receptor in urine, a new biomarker for IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura nephritis. Clin Biochem. 2013;46(7-8):591-7. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.01.017.
176. 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. doi: 10.3109/0886022X.2012.757826.
177. Mao YN, Liu W, Li YG i sur. Urinary angiotensinogen levels in relation to renal involvement of Henoch-Schonlein purpura in children. Nephrology (Carlton). 2012;17(1):53-7. doi: 10.1111/j.1440-1797.2011.01515.x.
178. He X, Yin W, Ding Y i sur. Higher Serum Angiotensinogen Is an Indicator of IgA Vasculitis with Nephritis Revealed by Comparative Proteomes Analysis. PloS One. 2015;10(6):e0130536. doi: 10.1371/journal.pone.0130536.
179. Zhang L, Han C, Sun C 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. doi: 10.1016/j.trsl.2012.09.001.
180. Kimura S, Takeuchi S, Soma Y, Kawakami T. Raised serum levels of interleukins 6 and 8 and antiphospholipid antibodies in an adult patient with Henoch-Schönlein purpura. Clin Exp Dermatol. 2013;38(7):730-6. doi: 10.1111/ced.12089.
181. Huang D, Wu X, Zheng W, Peng X, He X, Mo S. Podocalyxin expression in renal tissues and correlation with the number of urinary podocytes in children with Henoch-Schonlein purpura nephritis. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2012;37(2):161-7. doi: 10.3969/j.issn.1672-7347.2012.02.009
182. Fuentes Y, Hernández AM, García-Roca P i sur. Urinary MCP-1/creatinine in Henoch-Schönlein purpura and its relationship with nephritis. Pediatr Nephrol. 2014;29(6):1047-52. doi: 10.1007/s00467-013-2740-0.
183. Turnier JL, Fall N, Thornton S i sur. Urine S100 proteins as potential biomarkers of lupus nephritis activity. Arthritis Res Ther. 2017;19(1):242. doi: 10.1186/s13075-017-1444-4.

184. Tydén H, Lood C, Gullstrand B i sur. Pro-inflammatory S100 proteins are associated with glomerulonephritis and anti-dsDNA antibodies in systemic lupus erythematosus. Lupus. 2017;26(2):139-49. doi: 10.1177/0961203316655208.
185. D'Agati V, Schmidt AM. RAGE and the pathogenesis of chronic kidney disease. Nat Rev Nephrol. 2010;6(6):352-60. doi: 10.1038/nrneph.2010.54.
186. Sheehan D, Meade G, Foley VM, Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. Biochem J. 2001;360(1):1-16. doi: 10.1042/0264-6021:3600001
187. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2005;45:51-88. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857
188. Allocati N, Masulli M, Di Ilio C, Federici L. Glutathione transferases: substrates, inihibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. Oncogenesis. 2018;7(1):8. doi: 10.1038/s41389-017-0025-3.
189. Udomsinprasert R, Pongjaroenkit S, Wongsantichon J i sur. Identification, characterization and structure of a new Delta class glutathione transferase isoenzyme. Biochem J. 2005;388(3):763-71. doi: 10.1042/BJ20042015.
190. Sheehan D, Meade G, Foley VM, Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily". Biochem J. 2001;360(1):1–16. doi: 10.1042/0264-6021:3600001.
191. Allocati N, Federici L, Masulli M, Di Ilio C. Glutathione transferases in bacteria. FEBS J. 2009;276(1):58–75. doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06743.x.
192. Fabrini R, Bocedi A, Del Grosso E i sur. Erythrocyte glutathione transferase: a novel biomarker to check environmental pollution hazardous for humans. Biochem Biophys Res Commun. 2012;426(1):71-5. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.08.037.

193. Chikezie PC. Glutathione S-transferase Activity in Diagnostic Pathology. Metabolomics. 2015;5(4):153. doi: 10.4172/2153-0769.1000153
194. Bocedi A, Fabrini R, Lai O i sur. Erythrocyte glutathione transferase: a general probe for chemical contaminations in mammals. Cell Death Discov. 2016;2:16029. doi: 10.1038/cddiscovery.2016.29.
195. Fabrini R, Bocedi A, Massoud R, Federici G, Ricci G. Spectrophotometric assay for serum glutathione transferase: a re-examination. Clin Biochem. 2012;45(9):668-71. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2012.02.017.
196. Dessì M, Noce A, Dawood KF i sur. Erythrocyte glutathione transferase: a potential new biomarker in chronic kidney diseases which correlates with plasma homocysteine. Amino Acids. 2012;43(1):347-54. doi: 10.1007/s00726-011-1085-x.
197. Noce A, Ferrannini M, Fabrini R i sur. Erythrocyte glutathione transferase: a new biomarker for hemodialysis adequacy, overcoming the Kt/V(urea) dogma? Cell Death Dis. 2012;3:e377. doi: 10.1038/cddis.2012.112.
198. Bocedi A, Noce A, Rovella V i sur. Erythrocyte glutathione transferase in kidney transplantation: a probe for kidney detoxification efficiency. Cell Death Dis. 2018;9(3):288. doi: 10.1038/s41419-018-0289-3.
199. Mannervik B, Board PG, Hayes JD, Listowsky I, Pearson WR. Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases. Methods Enzymol. 2005;401:1-8. doi: 10.1016/S0076-6879(05)01001-3
200. Eaton DL, Bammler TK. Concise review of the glutathione S-transferasese and their significance to toxicology. Toxicol. Sci. 1999;49(2):156–64. doi: 10.1093/toxsci/49.2.156.
201. Josephy PD. Genetic variations in human glutathione transferase enzymes: significance for pharmacology and toxicology". Hum Genomics Proteomics. 2010: 876940. doi: 10.4061/2010/876940.
202. Jancova P, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Phase II drug metabolizing enzymes. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2010;154(2):103-16. doi: 10.5507/bp.2010.017

203. Fabrini R, Rosato E, Gigante A i sur. Erythrocyte glutathione transferase: a non-antibody biomarker for systemic sclerosis, which correlates with severity and activity of the disease. Cell Death Dis. 2013;4:e736. doi: 10.1038/cddis.2013.255.
204. Noce A, Fabrini R, Dessì M i sur. Erythrocyte glutathione transferase activity: a possible early biomarker for blood toxicity in uremic diabetic patients. Acta Diabetol. 2014;51(2):219-24. doi: 10.1007/s00592-013-0497-3.
205. Tesauro M, Nisticò S, Noce A i sur. The possible role of glutathione-S-transferase activity in diabetic nephropathy. Int J Immunopathol Pharmacol. 2015;28(1):129-33. doi: 10.1177/0394632015572564.
206. Velladath SU, Das A, Kumar R. Erythrocyte Glutathione-S-Transferase Activity in Diabetics and its Association with HBA1c . WebmedCentral CLINICAL BIOCHEMISTRY. 2011;2(7):WMC002004. doi: 10.9754/journal.wmc.2011.002004
207. Laborde E. Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death. Cell Death Differ. 2010;17(9):1373–80. doi: 10.1038/cdd.2010.80.
208. Leaver MJ, George SG. A piscine glutathione S-transferase which efficiently conjugates the end-products of lipid peroxidation. Mar. Environ. Res. 1998;46(1–5):71–4. doi: 10.1016/S0141-1136(97)00071-8.
209. Litwack G, Ketterer B, Arias IM. Ligandin: a hepatic protein which binds steroids, bilirubin, carcinogens and a number of exogenous organic anion. Nature. 1971;234 (5330):466–7. doi: 10.1038/234466a0.
210. Mikstacki A, Zakerska-Banaszak O, Skrzypczak-Zielinska M, Tamowicz B, Szalata M, Slomski R. Glutathione S-transferase as a toxicity indicator in general anesthesia: genetics and biochemical function. J Clin Anesth. 2015;27(1):73-9. doi: 10.1016/j.jclinane.2014.07.002.
211. Suvakov S, Damjanovic T, Stefanovic A i sur. Glutathione S-transferase A1, M1, P1 and T1 null or low-activity genotypes are associated with enhanced oxidative damage among haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 2013;28(1):202-12. doi: 10.1093/ndt/gfs369.

212. Whalen R, Boyer TD. Human glutathione S-transferases. Semin Liver Dis. 1998;18(4):345-58. doi: 10.1055/s-2007-1007169
213. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2005;45:51–88. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857.
214. Beutler E, Gelbart T, Pegelow C. Erythrocyte glutathione synthetase deficiency deficiency leads not only to glutathione but also toglutathione-S-transferase deficiency. J Clin Invest. 1986;77(1):38-41. doi: 10.1172/JCI112298
215. Beckett GJ, Hayes JD. Glutathione S-transferase measurements and liver disease in man. J Clin Biochem Nutr. 1987;2:1–24. doi: 10.3164/jcbn.2.1.
216. Beckett GJ, Chapman BJ, Dyson EH, Hayes JD. Plasma glutathione S-transferase measurements after paracetamol overdose: evidence for early hepatocellular damage. Gut. 1985;26(1):26-31. doi: 10.1136/gut.26.1.26.PMC 1432412.
217. Hughes VF, Trull AK, Gimson A i sur. Randomized trial to evaluate the clinical benefits of serum alpha-glutathione S-transferase concentration monitoring after liver transplantation. Transplantation. 1997;64(10):1446-52. doi: 10.1097/00007890-199711270-00013.
218. Loguercio C, Caporaso N, Tuccillo C, Morisco F, Del Vecchio Blanco G, Del Vecchio Blanco C. Alpha-glutathione transferases in HCV-related chronic hepatitis: a new predictive index of response to interferon therapy? J Hepatol. 1998;28(3):390–5. doi: 10.1016/s0168-8278(98)80311-5.
219. Harrison DJ, Kharbanda R, Cunningham DS, McLellan LI, Hayes JD. Distribution of glutathione S-transferase isoenzymes in human kidney: basis for possible markers of renal injury. J. Clin. Pathol. 1989;42(6):624–8. doi: 10.1136/jcp.42.6.624.
220. Sundberg AG, Appelkvist EL, Bäckman L, Dallner G. Urinary pi-class glutathione transferase as an indicator of tubular damage in the human kidney.Nephron. 1994;67(3):308–16. doi: 10.1159/000187985.
221. Yajuan Li, Mei Yan, Jichen Yang i sur. Glutathione S-transferase Mu 2-transduced mesenchymal stem cells ameliorated anti-glomerular basement

membrane antibody-induced glomerulonephritis by inhibiting oxidation and inflammation. Stem Cell Res Ther. 2014;5(1):19. doi: 10.1186/scrt408

222. Orhan H, Sahin G. Erythrocyte Glutathione-S-Transferase Activity In Diabetics And Its Association With HBA1c. J. Pharm. Sci. 1999;24:127-31. doi: 10.9754/journal.wmc.2011.002004
223. Adler V, Yin Z, Fuchs SY i sur. Regulation of JNK signaling by GSTp". EMBO J. 1999;18(5):1321-34. doi: 10.1093/emboj/18.5.1321.
224. Carmagnol F, Sinet PM, Rapin J, Jerome H. Glutathione-S-transferase of human red blood cells; assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: hyperbilirubinemia and impaired renal function. Clin Chim Acta. 1981;117(2):209-17. doi: 10.1016/0009-8981(81)90040-1
225. Anastasov A, Tacheva T, Dincheva V i sur. Preliminary study of Erythrocyte glutathione-s-transferase activity in patients with skin melanoma. Trakia J. Sci. 2012;10(1)88-94.
226. El-Rashidy FH, Al-Turk WA, Stohs SJ. Glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in erythrocytes and lymphocytes in chronic renal disease. Res Commun Chem Pathol Pharmacol. 1984;44(3):423-30.
227. Galli F, Piroddi M, Bartolini D i sur. Blood thiol status and erythrocyte glutathione-S-transferase in chronic kidney disease patients on treatment with frequent (daily) hemodialysis. Free Radic Res. 2014;48(3):273-81. doi: 10.3109/10715762.2013.861901.
228. Noce A, Fabrini R, Bocedi A, Di Daniele N. Erythrocyte glutathione transferase in uremic diabetic patients: additional data. Acta Diabetol. 2015;52(4):813-5. doi: 10.1007/s00592-014-0683-y
229. 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. doi: 10.1053/sarh.2002.33980
230. Calviño MC, Llorca J, García-Porrúa C, Fernández-Iglesias JL, Rodriguez-Ledo P, González-Gay MA. Henoch-Schönlein purpura in children from northwestern Spain: a 20-year epidemiologic and clinical study. Medicine (Baltimore). 2001;80(5):279-90. doi: 10.1097/00005792-200109000-00001

11. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 24. svibnja 1973. u Ogulinu. Diplomirao sam 1999. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Specijalistički ispit iz pedijatrije položio sam 2006. godine. Subspecijalistički ispit iz pedijatrijske alergologije i kliničke imunologije položio sam 2016., a iz pedijatrijske reumatologije 2018. godine. Završio sam stručni poslijediplomski studij „Klinička pedijatrija“ te znanstveni poslijediplomski studij „Biomedicina i zdravstvo“.

Od 2011. zaposlen sam u Zavodu za imunologiju i reumatologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb. Od 2018. zaposlen sam kao asistent na Katedri za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Koautor sam nekoliko poglavlja u knjizi „Pedijatrijska reumatologija“ autora Marije Jelušić i Ivana Malčića iz 2013. godine, koautor nekoliko izvornih znanstvenih članka indeksiranih u CC te većeg broja izvornih znanstvenih članaka indeksiranih u drugim bazama, nastavnih tekstova te međunarodnih i domaćih znanstvenih sažetaka. Od 2012. godine suradnik sam na nekoliko domaćih i međunarodnih znanstvenih projekata.

Dugogodišnji sam aktivni član Europskog pedijatrijskog reumatološkog društva, Hrvatskog društva za pedijatrijsku kardiologiju i reumatologiju, Hrvatskog reumatološkog društva, Hrvatskog pedijatrijskog društva te Hrvatskog društva za dječju ortopediju.