SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

SAŠA SRŠEN

ULOGA S100A8/A9 KAO POKAZATELJA AKTIVNOSTI BOLESTI KOD DJECE S IgA VASKULITISOM

Doktorski rad

Split, 2026.

Rad je izrađen na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Split, u suradnji s Klinikama za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Klinike za dječje bolesti Zagreb, kao i Odjelom za laboratorijsku imunologiju Zavoda za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Zavodom za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Split.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Marija Jelušić

Eksperimentalni postupci i analize u ovom istraživanju financirani su sredstvima Hrvatske zaklade za znanost u okviru istraživačkih projekata IP-2019-04-8822: „Histološki, klinički, laboratorijski i genski prediktori ishoda bolesnika s Henoch-Schönleinovom purpurom i nefritisom" i IP-2024-05-6848: „Genski, laboratorijski, histološki i klinički prediktori ishoda bolesnika s IgA vaskulitisom". Voditeljica oba projekta, koji se provode na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, jest prof. dr. sc. Marija Jelušić.



ZAHVALE

Od srca se zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Mariji Jelušić koja je ustrajala i kada je svjetlo bilo još jako daleko na kraju tunela na beskrajnom strpljenju, potpori i neiscrpnom izvoru motivacije.

Također zahvale idu kolegama pedijatrijskim kardiolozima i reumatolozima u KBC Split koji su mi uvijek pružali potporu i poticaj.

Posebna zahvala izv. prof. dr. sc. Danieli Šupe Domić na velikoj pomoći oko čuvanja i analize uzoraka.

Zahvaljujem svim medicinskim sestrama Klinike za pedijatriju KBC Split, prije svega Dnevne bolnice i Zavoda za pulmologiju s alergologijom i kardiologiju s reumatologijom koje su pomagale u prikupljanju uzoraka.

Veliko hvala kolegama u Zavodu za pedijatrijsku reumatologiju KBC Zagreb bez kojih bi bilo nemoguće napraviti ovo istraživanje, a posebno dr. sc. Marijanu Frkoviću, dr. sc. Mariju Šestanu i dr. sc. Martini Held, kao i glavnoj medicinskoj sestri Danici Grgurić, a isto tako i doc. dr. sc. Alenki Gagro iz Klinike za pedijatriju KDB Zagreb koja je značajno pomogla u prikupljanju potrebnih uzoraka i bila potpora u svakom trenutku. Hvala ujedno i svim kolegama iz dviju zagrebačkih bolnica koji su na bilo koji način bili uključeni u provedbu ovog istraživanja.

Zahvaljujem i svim kolegama, kao i medicinskim sestrama s Klinike koji su me uvijek podržavali i poticali, pri čemu moram posebno izdvojiti sestru Mariju Prgomet koja je uvijek imala riječi potpore kada je bilo potrebno, kao i riječi konstruktivne kritike kada je to bilo još potrebnije, te dr. Danielu Veljačić Visković koja me motivirala i povukla u dovršavanju ovog rada kada mi je to bilo najpotrebnije.

I na kraju najveća zahvala mojoj obitelji bez koje ništa od ovoga ne bi bilo moguće niti bi imalo previše smisla.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Imunoglobulin A vaskulitis 2
1.1.1. Definicija, nomenklatura i povijesni razvoj naziva bolesti 2
1.1.2. Epidemiologija 3
1.1.3. Etiologija 4
1.1.4. Imunopatogeneza 6
1.1.5. Klinička slika 8
1.1.6. Dijagnostički pristup 9
1.1.7. Liječenje 11
1.1.8. Prognoza i ishod 12
1.2. Biomarkeri u imunoglobulin A vaskulitisu 13
1.2.1. Hematološki i koagulacijski pokazatelji 16
1.2.2. Imunološki i upalni pokazatelji 16
1.2.3. Urinarni i bubrežno specifični biomarkeri 17
1.2.4. Gastrointestinalni biomarkeri 19
1.2.5. Ograničenja dosadašnjih istraživanja i preostale spoznajne praznine 20
1.3. S100A8/A9 protein (kalprotektin, MRP8/14) 20
1.3.1. Nomenklatura, struktura i stanična ekspresija 20
1.3.2. Unutarstanična funkcija S100A8/A9 21
1.3.3. Izvanstanična funkcija S100A8/A9 - uloga alarmina 22
1.3.4. S100A8/A9 kao biomarker aktivnosti bolesti u reumatskim i autoimunim bolestima 23
1.3.5. S100A8/A9 u sistemskim vaskulitisima 26
1.3.6. S100A8/A9 u imunoglobulin A vaskulitisu - dosadašnje spoznaje 27
1.4. Obrazloženje teme istraživanja 28
2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA 31
3. ISPITANICI I POSTUPCI 34
3.1. Ispitanici 35
3.2. Postupci 35
3.2.1. Statistička raščlamba 39
4. REZULTATI 41
4.1. Demografske karakteristike ispitanika 42
4.2. Kliničke značajke bolesnika 43
4.2.1. Kožne manifestacije 43
4.2.2. Zglobne manifestacije 44

4.2.3. Gastrointestinalno zahvaćanje 45
4.2.4. Bubrežno zahvaćanje 48
4.3. Prethodne infekcije i mikrobiološki nalazi 52
4.4. Aktivnost bolesti procijenjena PVAS-om 53
4.4.1. PVAS i gastrointestinalno zahvaćanje 53
4.4.2. PVAS i bubrežno zahvaćanje 54
4.4.3. PVAS i zglobni sindrom 55
4.4.4. Povezanost PVAS-a i koncentracije S100A8/A9 56
4.5. Koncentracije S100A8/A9 tijekom aktivne bolesti, remisije i praćenja bolesnika 57
4.5.1. Aktivna bolest i kontrolna skupina 57
4.5.2. Aktivna bolest i remisija 58
4.5.3. Koncentracije S100A8/A9 nakon 3 mjeseca praćenja 59
4.5.4. Koncentracije S100A8/A9 nakon 6 mjeseci praćenja 59
4.5.5. Dinamika koncentracija S100A8/A9 tijekom praćenja 60
4.6. Povezanost koncentracija S100A8/A9 s kliničkim manifestacijama bolesti 61
4.6.1. Povezanost koncentracija S100A8/A9 s kožnim manifestacijama 61
4.6.2. Povezanost koncentracija S100A8/A9 i zglobnih manifestacija 62
4.6.3. Povezanost koncentracija S100A8/A9 i gastrointestinalnog zahvaćanja 64
4.6.4. Povezanost koncentracija S100A8/A9 i nefritisa 65
4.7. Terapijske karakteristike bolesnika 66
4.7.1. Primijenjena terapija 66
4.7.2. Terapija prije i tijekom hospitalizacije 67
4.7.3. Koncentracije S100A8/A9 prema terapijskim skupinama 68
4.8. Korelacije biomarkera S100A8/A9 s laboratorijskim parametrima 68
4.8.1. Ukupna korelacijska analiza 69
4.8.2. Albumini i globulinske frakcije 70
4.8.3. Komponente komplementa 74
4.8.4. Pokazatelji upalne aktivnosti 76
4.8.5. Čimbenici zgrušavanja krvi 78
4.8.6. Feritin i trombociti 80
4.9. Dijagnostička i prediktivna vrijednost biomarkera S100A8/A9 81
4.9.1. Dijagnostička vrijednost biomarkera S100A8/A9 za IgA vaskulitis 81
4.9.2. Prediktivna vrijednost biomarkera za određivanje remisije bolesti 82
4.9.3. Prediktivna vrijednost biomarkera za nefritis 83
4.9.4. Prediktivna vrijednost biomarkera za gastrointestinalno zahvaćanje 84
4.9.5. Prediktivna vrijednost biomarkera za zglobni sindrom 85
4.9.6. Usporedba ROC analiza 86

5. RASPRAVA 87
5.1. S100A8/A9 kao pokazatelj aktivnosti IgA vaskulitisa 88
5.2. Povezanost S100A8/A9 s PVAS-om 89
5.3. Dinamika S100A8/A9 tijekom praćenja 90
5.4. S100A8/A9 i kožne manifestacije 91
5.5. S100A8/A9 i zglobno, gastrointestinalno te bubrežno zahvaćanje 91
5.6. S100A8/A9 i laboratorijski pokazatelji upale 93
5.7. Serumski i fekalni kalprotektin: različite biološke informacije 94
5.8. Dijagnostička vrijednost S100A8/A9 95
5.9. Prediktivna vrijednost za organsko zahvaćanje 95
5.10. Terapija i interpretacija koncentracija S100A8/A9 96
5.11. Kliničko značenje rezultata i moguća buduća primjena 97
5.12. Ograničenja istraživanja 97
5.13. Zaključno razmatranje 98
6. ZAKLJUČAK 99
7. SAŽETAK 102
8. LAIČKI SAŽETAK 105
9. SUMMARY 107
10. LAY SUMMARY 110
11. LITERATURA 112
12. ŽIVOTOPIS 120

POPIS KRATICA

4-PL – četveroparametarska logistička regresija (engl. *four-parameter logistic*)

AAV – vaskulitis povezan s antineutrofilnim citoplazmatskim protutijelima (engl. *ANCA-associated vasculitis*)

ACR – Američko reumatološko društvo (engl. *American College of Rheumatology*)

AECA – antiendotelna stanična protutijela (engl. *anti-endothelial cell antibodies*)

AGT – angiotenzinogen (engl. *angiotensinogen*)

ALT – alanin-aminotransferaza (engl. *alanine aminotransferase*)

ANA – antinuklearna protutijela (engl. *antinuclear antibodies*)

ANCA – antineutrofilna citoplazmatska protutijela (engl. *antineutrophil cytoplasmic antibodies*)

ANOVA – analiza varijance (engl. *analysis of variance*)

AOSD – adultni oblik Stillove bolesti (engl. *adult-onset Still's disease*)

APRIL – ligand koji inducira proliferaciju (engl. *a proliferation-inducing ligand*)

APTV – aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

AST – aspartat-aminotransferaza (engl. *aspartate aminotransferase*)

AST-O – antistreptolizin O (titar) (engl. *antistreptolysin O*)

AUC – površina ispod krivulje (engl. *area under the curve*)

BAFF – čimbenik aktivacije limfocita B (engl. *B-cell activating factor*)

BHSA – beta-hemolitički streptokok skupine A

C1GalT1 – jezgrin tip I galaktoziltransferaze (engl. *core 1 β1,3-galactosyltransferase*)

C1GalT1C1 – molekula pratitelj C1GalT1 (Cosmc) (engl. *C1GalT1-specific chaperone 1*)

C3, C4, C5, C5a – komponente sustava komplementa

CAR – omjer C-reaktivnog proteina i albumina (engl. *CRP-to-albumin ratio*)

CD – diferencijacijski antigen (engl. *cluster of differentiation*)

CEC – cirkulirajuće endotelne stanice (engl. *circulating endothelial cells*)

CH50 – ukupna hemolitička aktivnost komplementa (klasični put) (engl. *total haemolytic complement activity*)

CHCC – konsenzusna konferencija u Chapel Hillu (engl. *Chapel Hill Consensus Conference*)

CI – interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*)

CRP – C-reaktivni protein (engl. *C-reactive protein*)

CV – koeficijent varijacije (engl. *coefficient of variation*)

CXCL13 – kemokin CXCL13 (engl. *C-X-C motif chemokine ligand 13*)

DAMP – molekulski obrazac povezan s oštećenjem (engl. *damage-associated molecular pattern*)

DAS28 – indeks aktivnosti bolesti u 28 zglobova (engl. *Disease Activity Score 28*)

DNI – delta indeks neutrofila (engl. *delta neutrophil index*)

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

dsDNA – dvolančana DNK (engl. *double-stranded DNA*)

e-GST – eritrocitna glutation S-transferaza (engl. *erythrocyte glutathione S-transferase*)

EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina (engl. *ethylenediaminetetraacetic acid*)

eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije (engl. *estimated glomerular filtration rate*)

ELISA – enzimski imunotest (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*)

EndMT – endotelno-mezenhimalna tranzicija (engl. *endothelial-to-mesenchymal transition*)

EPC – endotelne progenitorske stanice (engl. *endothelial progenitor cells*)

ERK – kinaza regulirana izvanstaničnim signalom (engl. *extracellular signal-regulated kinase*)

EULAR – Europski savez društava za reumatologiju (engl. *European Alliance of Associations for Rheumatology*)

FOBT – test na okultno krvarenje u stolici (engl. *faecal occult blood test*)

Gd-IgA1 – imunoglobulin A1 bez galaktoze (engl. *galactose-deficient IgA1*)

GGT – gama-glutamiltransferaza

GI – gastrointestinalni, probavni (engl. *gastrointestinal*)

GWAS – cjelogenomsko istraživanje povezanosti (engl. *genome-wide association study*)

Hb – hemoglobin

HLA – humani leukocitni antigeni (engl. *human leukocyte antigens*)

HMGB1 – protein visoke pokretljivosti iz skupine 1 (engl. *high mobility group box 1*)

HSP – Henoch-Schönleinova purpura (engl. *Henoch-Schönlein purpura*)

Ht – hematokrit

ICAM-1 – međustanična adhezijska molekula 1 (engl. *intercellular adhesion molecule 1*)

IgA – imunoglobulin A

IgA1 – imunoglobulin A1 (engl. *immunoglobulin A1*)

IgAV – imunoglobulin A vaskulitis (engl. *immunoglobulin A vasculitis*)

IgAVN – imunoglobulin A vaskulitisni nefritis (engl. *IgA vasculitis nephritis*)

IgE – imunoglobulin E

IgG – imunoglobulin G

IgM – imunoglobulin M

IL – interleukin (engl. *interleukin*)

IPNA – Međunarodno udruženje za dječju nefrologiju (engl. *International Pediatric Nephrology Association*)

IQR – interkvartilni raspon (engl. *interquartile range*)

ISKDC – Međunarodna studija bubrežnih bolesti u djece (engl. *International Study of Kidney Disease in Children*)

JAK – Janus kinaza (engl. *Janus kinase*)

JIA – juvenilni idiopatski artritis (engl. *juvenile idiopathic arthritis*)

JNK – c-Jun N-terminalna kinaza (engl. *c-Jun N-terminal kinase*)

KBC – Klinički bolnički centar

KDB – Klinika za dječje bolesti Zagreb

KDIGO – naziv organizacije i smjernica KDIGO (engl. *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*)

KIM-1 – molekula oštećenja bubrega tip 1 (engl. *kidney injury molecule-1*)

KKS – kompletna krvna slika

LIF – leukemijski inhibicijski čimbenik (engl. *leukemia inhibitory factor*)

LIGHT – sinonim za TNFSF-14 (engl. *lymphotoxin-like, exhibits inducible expression and competes with HSV glycoprotein D for HVEM*)

MAPK – mitogenom aktivirana proteinska kinaza (engl. *mitogen-activated protein kinase*)

MASP-1, MASP-2 – serinske proteaze 1 i 2 povezane s manozom (engl. *mannose-associated serine protease 1 and 2*)

MCP-1 – protein kemotaksije monocita 1 (engl. *monocyte chemoattractant protein-1*)

miRNA – mikroribonukleinska kiselina (engl. *microRNA*)

MMP-9 – matriks metaloproteinaza 9 (engl. *matrix metalloproteinase-9*)

MPO – mijeloperoksidaza (engl. *myeloperoxidase*)

MPV – srednji volumen trombocita (engl. *mean platelet volume*)

MRP8/14 – mijeloid vezani protein 8/14 (engl. *myeloid-related protein 8/14*)

MWU – Mann-Whitneyjev U test (engl. *Mann-Whitney U test*)

MyD88 – protein primarnog odgovora mijeloidne diferencijacije 88 (engl. *myeloid differentiation primary response 88*)

NAG – N-acetil-beta-D-glukozaminidaza (engl. *N-acetyl-β-D-glucosaminidase*)

NET – neutrofilna izvanstanična zamka (engl. *neutrophil extracellular traps*)

NF-κB – jezgrin čimbenik kapa B (engl. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*)

NGAL – lipokalin povezan sa želatinazom neutrofila (engl. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*)

NLR – omjer neutrofila i limfocita (engl. *neutrophil-to-lymphocyte ratio*)

NPV – negativna prediktivna vrijednost (engl. *negative predictive value*)

NSAIL – nesteroidni protuupalni lijekovi

NT-proBNP – N-terminalni fragment moždanog natriuretskog propeptida tipa B (engl. *N-terminal pro-B-type natriuretic peptide*)

OSM – onkostatin M (engl. *oncostatin M*)

PLR – omjer trombocita i limfocita (engl. *platelet-to-lymphocyte ratio*)

PPV – pozitivna prediktivna vrijednost (engl. *positive predictive value*)

PR3 – proteinaza 3 (engl. *proteinase 3*)

PRES – Europsko društvo za pedijatrijsku reumatologiju (engl. *Paediatric Rheumatology European Society*)

PRINTO – Međunarodna organizacija za istraživanja u pedijatrijskoj reumatologiji (engl. *Paediatric Rheumatology International Trials Organisation*)

PTX3 – pentraksin 3 (engl. *pentraxin 3*)

PV – protrombinsko vrijeme

PVAS – Pedijatrijski indeks aktivnosti vaskulitisa (engl. *Pediatric Vasculitis Activity Score*)

RAGE – receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije (engl. *receptor for advanced glycation end products*)

RNK – ribonukleinska kiselina

ROC – operativna karakteristika promatrača (engl. *receiver operating characteristic*)

ROS – reaktivni kisikovi spojevi (engl. *reactive oxygen species*)

S100 – obitelj proteina koji vežu kalcij (engl. *soluble in 100 % saturated ammonium sulfate*)

S100A8/A9 – kalprotektin (engl. *S100 calcium-binding protein A8/A9*)

SAA – serumski amiloid A (engl. *serum amyloid A*)

SD – standardna devijacija (engl. *standard deviation*)

SE – sedimentacija eritrocita

SHARE – inicijativa SHARE (engl. *Single Hub and Access point for paediatric Rheumatology in Europe*)

sICAM-1 – topljiva međustanična adhezijska molekula 1 (engl. *soluble intercellular adhesion molecule-1*)

sRAGE – topljivi receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije (engl. *soluble receptor for advanced glycation end products*)

STAT – prenositelj signala i aktivator transkripcije (engl. *signal transducer and activator of transcription*)

TARC – kemokin reguliran timusom i aktivacijom (engl. *thymus and activation-regulated chemokine*)

Th – pomoćnički limfociti T (npr. Th2, Th17) (engl. *T helper*)

TIMP-1 – tkivni inhibitor metaloproteinaza 1 (engl. *tissue inhibitor of metalloproteinases-1*)

TLR4 – Toll-u sličan receptor 4 (engl. *Toll-like receptor 4*)

TNF-α – čimbenik tumorske nekroze alfa (engl. *tumor necrosis factor alpha*)

TNFSF-14 – član 14 nadobitelji čimbenika tumorske nekroze (engl. *tumor necrosis factor superfamily member 14 (LIGHT)*)

VCAM-1 – adhezijska molekula vaskularnih stanica 1 (engl. *vascular cell adhesion molecule 1*)

VEGF – vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*)

vWF – von Willebrandov faktor (engl. *von Willebrand factor*)

1. UVOD

1.1. Imunoglobulin A vaskulitis

1.1.1. Definicija, nomenklatura i povijesni razvoj naziva bolesti

Imunoglobulin A vaskulitis (IgAV) predstavlja sistemski vaskulitis malih krvnih žila - arteriola, kapilara i postkapilarnih venula - u čijoj se podlozi nalazi odlaganje imunokompleksa koji sadrže imunoglobulin A1 (IgA1) unutar stijenke zahvaćenih žila kože, zglobova, probavnog sustava te, u kliničkom smislu najvažnije, bubrega (1). Riječ je o entitetu koji patohistološki odgovara leukocitoklastičnom vaskulitisu: u stijenci žile prevladava upalni infiltrat sastavljen od djelomično raspadnutih neutrofilnih granulocita, uz pridruženu fibrinoidnu nekrozu (2).

Za postavljanje dijagnoze bolesti danas se najčešće primjenjuju klasifikacijski kriteriji koje su 2008. godine zajednički oblikovale tri europske stručne organizacije - Europski savez društava za reumatologiju (EULAR, engl. *European Alliance of Associations for Rheumatology*), Međunarodna organizacija za istraživanja u pedijatrijskoj reumatologiji (PRINTO, engl. *Paediatric Rheumatology International Trials Organisation*) i Europsko društvo za pedijatrijsku reumatologiju (PRES, engl. *Paediatric Rheumatology European Society*). Prema tim kriterijima, obvezan preduvjet za dijagnozu jest postojanje palpabilne purpure ili petehija koje ne blijede na pritisak i nisu posljedica trombocitopenije, uz istodobnu prisutnost barem jednog od sljedeća četiri obilježja: difuzna bol u trbuhu, artritis ili artralgija, zahvaćenost bubrega, odnosno patohistološki nalaz leukocitoklastičnog vaskulitisa s dominantnim depozitima IgA (3).

Iako se bolest danas prepoznaje pod nazivom IgAV, njezin klinički opis seže daleko u prošlost. Engleski liječnik William Heberden opisao je 1801. godine u djelu ‘’O kožnim bolestima’’ (engl. *On Cutaneous Diseases*) dvojicu dječaka s purpurom donjih udova, bolnim potkožnim oteklinama, oteklinom zglobova, bolovima u trbuhu, krvarenjem iz probavnog sustava i hematurijom (4). Nekoliko desetljeća poslije, njemački internist Johann Lukas Schönlein povezao je 1837. godine purpurični osip s artritisom (naziv peliosis rheumatica), dok je njegov učenik Eduard Heinrich Henoch 1874. godine tom opisu pridodao zahvaćenost probavnog sustava i bubrega, čime je zaokružen klinički entitet koji je gotovo stoljeće i pol nosio naziv Henoch-Schönleinova purpura (HSP) (4). Nomenklatura je promijenjena tek 2012. godine, kada je na Međunarodnoj konsenzusnoj konferenciji u Chapel Hillu (CHCC, engl. *Chapel Hill Consensus Conference*) usvojena revidirana klasifikacija sistemskih vaskulitisa prema veličini pretežno zahvaćenih krvnih žila; u sklopu te klasifikacije naziv

HSP zamijenjen je nazivom imunoglobulin A vaskulitis, čime je naglašena ključna uloga IgA1 u nastanku bolesti (5). Prema navedenoj nomenklaturi IgAV se svrstava u skupinu vaskulitisa malih krvnih žila posredovanih imunokompleksima, zajedno s krioglobulinemijskim vaskulitisom, hipokomplementemijskim urtikarijskim vaskulitisom i vaskulitisom uzrokovanim protutijelima usmjerenima protiv bazalne membrane glomerula (5).

1.1.2. Epidemiologija

IgAV predstavlja najčešći sistemski vaskulitis dječje dobi. Objavljene procjene godišnje incidencije znatno variraju - od otprilike 3 do gotovo 56 slučajeva na 100 000 djece (6, 7) - što je dobrim dijelom posljedica različitih metodoloških pristupa: istraživanja koja koriste metodu ponovljenog obuhvata (engl. *capture-recapture*) sustavno bilježe veće stope incidencije od retrospektivnih analiza ograničenih na bolnički zaprimljene bolesnike, budući da dio djece s blažom kliničkom slikom uopće ne dospije do tercijarne zdravstvene ustanove (7). Geografska raspodjela bolesti nije nasumična: najveća pojavnost bilježi se u istočnoazijskim populacijama, srednja u europskoj populaciji, dok je bolest najrjeđa u osoba afričkog podrijetla, što posredno upućuje na doprinos etničke, odnosno genetske podloge uz utjecaj okolišnih čimbenika (8).

Podaci iz hrvatske populacije osobito su zanimljivi zbog primjene suvremenih geostatističkih metoda. Skupina hrvatskih autora analizirala je 596 djece liječene u pet tercijarnih pedijatrijskih reumatoloških centara u Republici Hrvatskoj tijekom razdoblja 2009.-2019. godine te pokazala da IgAV, kao ni s njim povezan nefritis (IgAVN), nisu ravnomjerno raspoređeni u prostoru, nego se grupiraju oko većih urbanih središta (Zagreb, Rijeka, Split), dok je za IgAVN dodatno opisan izdvojen, linearan obrazac klasteriranja duž tokova rijeka Drave i Dunava u istočnoj Hrvatskoj (9). Statistički značajna prostorna autokorelacija (Moranov I indeks 0,468 za IgAV, odnosno 0,439 za IgAVN) potvrdila je postojanje tzv. vrućih točaka povišene incidencije (9). Prosječna godišnja incidencija IgAV-a u Hrvatskoj procijenjena je na 6,79 na 100 000 djece (95 % CI 6,26-7,36), što je usporedivo s vrijednostima objavljenim za pojedine zapadnoeuropske zemlje, dok je udio djece koja tijekom bolesti razviju IgAVN iznosio gotovo petinu oboljelih (19,6 %; 95 % CI 16,49-23,01 %) (9). Autori pritom naglašavaju da uočeno prostorno grupiranje samo po sebi ne dopušta izravne etiološke zaključke, već prije svega otvara nove istraživačke hipoteze o preklapanju genetskih i okolišnih čimbenika rizika (9).

Bolest se javlja nešto učestalije u dječaka nego u djevojčica, u omjeru koji se prema različitim izvorima kreće između 0,9:1 i 1,5:1, s medijanom dobi pri postavljanju dijagnoze oko 6 godina; više od 90 % oboljele djece mlađe je od 10 godina, dok je bolest u dojenačkoj dobi izuzetno rijetka (6, 8). Izražena je sezonska varijacija s vrhuncem tijekom jeseni i zime, u skladu s pretpostavljenom ulogom prethodnih respiratornih infekcija kao pokretača bolesti (8). U odrasloj dobi bolest je znatno rjeđa, no njezin klinički tijek u pravilu je teži, s većom učestalošću zahvaćenosti bubrega i povišenim rizikom progresije u kroničnu bubrežnu bolest, čime se dodatno naglašava vrijednost dobno specifičnog pristupa razumijevanju bolesti (8).

1.1.3. Etiologija

1.1.3.1. Genska predispozicija

Nastanak IgAV-a objašnjava se multifaktorijalnim modelom prema kojemu genetski predisponirani pojedinci pod utjecajem okolišnih čimbenika razvijaju abnormalan imunosni odgovor koji rezultira stvaranjem i odlaganjem imunokompleksa IgA1 u stijenke malih krvnih žila (10). U prilog postojanju genske sastavnice govore etničke i geografske razlike u incidenciji, obiteljsko grupiranje bolesti, kao i rezultati cjelogenomskih istraživanja povezanosti (GWAS, engl. *genome-wide association study*), koja IgAV dosljedno prepoznaju kao prototip bolesti vezane uz lokuse humanog leukocitnog antigena (HLA, engl. *human leukocyte antigens*) razreda II (11, 12).

Prva takva studija, provedena na španjolskoj populaciji, ukazala je na značaj polimorfizama u intergenskoj regiji između gena HLA-DQA1 i HLA-DQB1, kao i na alele HLA-DRB111 i HLA-DRB113 (11). Naknadno provedena finska studija pokazala je da je haplotip DQA101:01~DQB105:01~DRB101:01 povezan sa sklonošću razvoju IgAV-a, ali, zanimljivo, ne i s rizikom obolijevanja od drugih autoimunih bolesti, čime je dodatno potkrijepljena teza o IgAV-u kao specifičnom prototipu bolesti razreda II HLA sustava (13, 14). Rezultati velike kineske kohorte, obuhvativši više od 7600 ispitanika, potvrdili su izraženu povezanost lokusa HLA-DRB1 s osjetljivošću na IgAV, dodatno precizirajući fino mapiranje unutar sustava tkivne podudarnosti (12). U hrvatskoj pedijatrijskoj populaciji, istraživanje provedeno na 130 bolesnika s IgAV-om i 202 zdrava ispitanika pokazalo je značajno češću zastupljenost alela HLA-A03, HLA-B37 i HLA-DRB112 u oboljele djece u odnosu na kontrolnu skupinu, dok je alel HLA-DRB114:01 bio značajno učestaliji upravo u podskupini bolesnika koji su tijekom bolesti razvili nefritis, a alel HLA-DRB110 u podskupini s gastrointestinalnom zahvaćenošću (15). Ovakvi nalazi upućuju na to da genska

podloga ne određuje samo sklonost obolijevanju u užem smislu, nego može oblikovati i klinički fenotip bolesti, odnosno vjerojatnost razvoja pojedinih organskih manifestacija (15).

Osim gena HLA sustava, istraživanja su usmjerena i na polimorfizme unutar signalnih puteva upale i imunosnog odgovora - gena za citokinske i kemokinske receptore, komponente sustava komplementa, adhezijske molekule te sastavnice renin-angiotenzinskog i koagulacijskog sustava - premda doprinos tih varijanti pojedinačno ostaje znatno skromniji u odnosu na HLA regiju (14). Vrijedno je istaknuti i da dosadašnji GWAS-ovi, unatoč jasnoj potvrdi uloge HLA razreda II, nisu uspjeli razlučiti zasebne genske podloge za pojedine kliničke fenotipove bolesti (primjerice IgAVN naspram gastrointestinalne zahvaćenosti) na razini cijelog genoma, što ostavlja prostor za daljnja istraživanja temeljena na većim, multicentričnim kohortama i suradnji reumatologa i nefrologa (14).

1.1.3.2. Epigenetski mehanizmi

Uz genske varijante u užem smislu, sve više pozornosti privlače epigenetski mehanizmi - metilacija deoksiribonukleinske kiseline (DNK), modifikacije histona i djelovanje nekodirajućih molekula ribonukleinske kiseline (RNK) - koji reguliraju izražaj gena uključenih u patogenezu bolesti, a mogu dijelom objasniti i onu fenotipsku raznolikost IgAV-a koja se ne može pripisati isključivo nasljeđenim genskim varijantama (16). Primjerice, u perifernim mononuklearima bolesnika s IgAV-om opisana je pojačana acetilacija histona H3 i metilacija H3K4, uz pozitivnu korelaciju s aktivnošću bolesti, dok je u CD4+ limfocitima T zabilježeno pojačanje tih istih modifikacija unutar promotorske i pojačivačke regije gena za interleukin 4 (IL-4), citokin karakterističan za Th2 tip imunosnog odgovora, što posredno upućuje na moguću ulogu Th2 limfocita u patogenezi bolesti (17). Ovi nalazi zajedno sugeriraju da bi buduća istraživanja etiopatogeneze IgAV-a trebala počivati na integriranom pristupu koji objedinjuje genomiku, epigenetiku, transkriptomiku i proteomiku, umjesto oslanjanja isključivo na klasične genetske analize (14).

1.1.3.3. Okolišni čimbenici

Od okolišnih čimbenika najveći značaj u pokretanju bolesti u genetski predisponiranih pojedinaca pripisuje se prethodnim infekcijama, ponajprije onima gornjeg dišnog sustava. Prema literaturnim podacima, otprilike 70-90 % bolesnika ima prodromalnu infekciju u razdoblju od jednog do tri tjedna prije pojave prvih simptoma, a među izoliranim uzročnicima najčešće se navodi beta-hemolitički streptokok skupine A, uz brojne druge bakterijske i virusne uzročnike (Streptococcus pneumoniae, *Staphylococcus aureus*, Mycoplasma

pneumoniae, Helicobacter pylori, viruse influence i parainfluence, koronaviruse, Epstein-Barr virus, citomegalovirus, parvovirus B19) (1). Rjeđe se bolest dovodi u vezu s primjenom pojedinih lijekova (antibiotici, nesteroidni protuupalni lijekovi, inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima, pojedini biološki lijekovi poput inhibitora čimbenika tumorske nekroze alfa i inhibitora interleukina 17), cijepljenjem, alergenima iz hrane te ubodima kukaca, dok se u odraslih bolesnika opisuje i kao dio paraneoplastičnog sindroma (1).

Izražena sezonska varijacija u pojavnosti bolesti, s vrhuncem tijekom jesensko-zimskog razdoblja, dodatno podupire pretpostavku o infektivnom okidaču koji prati epidemiološki obrazac respiratornih infekcija (8). Prema takozvanoj hipotezi ‘’višestrukog udarca’’ (engl. *multiple-hit hypothesis*), nasljedna sklonost stvaranju strukturno izmijenjenog IgA1 predstavlja tek prvi, nužan, ali sam po sebi nedostatan preduvjet za razvoj bolesti; za konačnu kliničku manifestaciju IgAV-a potreban je i drugi okidač, najčešće posredovan virusnom ili bakterijskom infekcijom koja dodatno narušava glikozilaciju IgA1 ili potiče stvaranje protutijela usmjerenih protiv vlastitog endotela (2, 10, 18). Ovaj koncept objašnjava zašto, unatoč postojanju genetske predispozicije u općoj populaciji, bolest razvija samo manji dio nositelja rizičnih alela, odnosno zašto se bolest tipično javlja u vremenskoj blizini infekcije, no ne nužno u svih izloženih pojedinaca (2).

1.1.4. Imunopatogeneza

Ključni korak u razvoju IgAV-a predstavlja poremećena glikozilacija imunoglobulina A1. Zglobna regija teškog lanca IgA1 fiziološki nosi O-vezane oligosaharide čije nastajanje zahtijeva usklađeno djelovanje niza enzima - N-acetilgalaktozaminiltransferaze, core 1 β1,3-galaktoziltransferaze (C1GalT1) uz molekulu pratitelja C1GalT1C1 (poznatiju kao Cosmc) te sijaliltransferaze (19). Nasljedne i/ili stečene promjene aktivnosti navedenih enzima - uključujući i učinak proupalnih citokina poput interleukina 6 - dovode do stvaranja molekule IgA1 kojoj nedostaje galaktoza (Gd-IgA1, engl. *galactose-deficient IgA1*) (10).

Nastanak Gd-IgA1 dodatno je uvjetovan složenom mrežom citokinskih i receptorskih signalnih puteva koji reguliraju aktivnost enzima uključenih u O-glikozilaciju IgA1. Interleukin 6, djelujući putem signalnog puta Janus kinaza-prenositelj signala i aktivator transkripcije 3 (JAK/STAT3, engl. *Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3*), te leukemijski inhibicijski čimbenik (LIF, engl. *leukemia inhibitory factor*) putem signalnog puta STAT1, smanjuju izražaj gena za C1GalT1 i njegovu molekulu pratitelja Cosmc u limfocitima B, čime narušavaju galaktozilaciju IgA1. Dodatno, čimbenik aktivacije limfocita B (BAFF, engl. *B-cell activating factor*) i ligand koji inducira

proliferaciju (APRIL, engl. *a proliferation-inducing ligand*) - citokini iz obitelji čimbenika tumorske nekroze koji potiču preživljenje i diferencijaciju limfocita B - pokazuju povišenu serumsku koncentraciju u bolesnika s IgAV-om te se dovode u vezu s prekomjernim stvaranjem Gd-IgA1, dok aktivacija Toll-u sličnih receptora 7 i 9 na limfocitima B, potaknuta virusnim ili bakterijskim nukleinskim kiselinama, dodatno pojačava ovaj proces. Opisane su i epigenetske promjene, poput smanjenog izražaja mikroribonukleinske kiseline (miRNA, engl. *microRNA*) miR-148b, koja fiziološki suprimira translaciju enzima uključenog u početni korak O-glikozilacije, čime njezino sniženje dodatno pridonosi prekomjernom stvaranju Gd-IgA1 (18).

Gd-IgA1 u organizmu djeluje kao neoepitop, odnosno antigen prema kojemu se stvaraju specifična protutijela klase IgG i IgA; dio tih protutijela vjerojatno čine prirodno postojeća, ubikvitarna antiglikanska protutijela, dok su druga novonastala, potaknuta upravo onom infekcijom koja je djelovala kao okidač bolesti (18). Nastali imunokompleksi Gd-IgA1 dodatno vežu topljivi oblik receptora CD89 (CD, engl. *cluster of differentiation - diferencijacijski antigen; CD89, engl. cluster of differentiation 89*), pri čemu formiraju veće, cirkulirajuće imunokomplekse koji se, zahvaljujući svojoj veličini i afinitetu prema mezangijskim stanicama bubrega - posredovanom povećanom ekspresijom transferinskog receptora CD71 - odlažu u stijenke malih krvnih žila kože, sinovije, probavnog trakta i, osobito, mezangija bubrega (2, 10). Suzuki i suradnici pokazali su pritom da IgAV nefritis i IgA nefropatija dijele zajedničku patogenetsku okosnicu upravo posredovanu Gd-IgA1, što dodatno objašnjava zašto se ta dva entiteta klinički i histološki znatno preklapaju (20). U mjestu odlaganja imunokompleksa aktivira se lektinski put - posredovan serinskim proteazama povezanim s manozom (MASP-1, engl. *mannose-associated serine protease 1; MASP-2, engl. mannose-associated serine protease 2*) - i alternativni put sustava komplementa, što uzrokuje aktivaciju endotela, kemotaksiju neutrofila i posljedično oštećenje stijenke krvne žile (2).

Usporedno s ovim, tzv. imunokompleksnim modelom patogeneze, opisuje se i uloga antiendotelnih staničnih protutijela (AECA, engl. *anti-endothelial cell antibodies*) - heterogene skupine protutijela usmjerenih protiv citoskeletnih proteina i drugih sastavnica endotelnih stanica. Nakon prethodne infekcije čiji se epitopi podudaraju s vlastitim antigenima malih krvnih žila, nastala AECA protutijela križno reagiraju s endotelom, doprinose njegovoj aktivaciji i otpuštanju adhezijskih molekula - ICAM-1 (engl. *intercellular adhesion molecule 1*), VCAM-1 (engl. *vascular cell adhesion molecule 1*) i E-selektina na endotelu, odnosno L-selektina na leukocitima - te u konačnici potiču privlačenje i aktivaciju

neutrofila putem interleukina 8 i P-selektina koji se oslobađaju iz Weibel-Paladeovih tjelešaca aktiviranog endotela (10).

Oba predložena patogenetska modela - onaj posredovan imunokompleksima Gd-IgA1 i onaj posredovan AECA protutijelima - konvergiraju u završnoj, zajedničkoj fazi u kojoj aktivirani neutrofili, mehanizmima stanične citotoksičnosti ovisne o protutijelima, stvaranjem neutrofilnih izvanstaničnih zamki (NET, engl. *neutrophil extracellular traps*) te otpuštanjem proteolitičkih enzima (mijeloperoksidaza, elastaza, katepsin G) i reaktivnih kisikovih spojeva, oštećuju stijenku malih krvnih žila. Posljedica je raspad neutrofilnih jezgara (leukocitoklazija), ekstravazacija eritrocita, nakupljanje fibrina i edem stijenke žile - morfološka slika koja definira leukocitoklastični vaskulitis karakterističan za IgAV (2, 10).

Upravo je taj završni korak - aktivacija i degranulacija neutrofila i monocita - biološki najizravnije povezan s otpuštanjem proteina S100A8/A9 iz citoplazme tih stanica u izvanstanični prostor. Budući da S100A8/A9 čini i do 40 % ukupnih citosolnih proteina neutrofila, njegova serumska koncentracija izravno i osjetljivo odražava stupanj aktivacije mijeloidne loze leukocita, što je zajednički završni korak oba opisana modela vaskularnog oštećenja u IgAV-u. Ovom se biologijom, detaljno opisanom u poglavlju 1.3 ovog uvoda, otvara jasna patofiziološka osnova za istraživanje ovog proteina kao mogućeg odraza trenutne upalne aktivnosti bolesti.

1.1.5. Klinička slika

IgAV se najčešće akutno prezentira kožnim promjenama, uz moguću prisutnost blage vrućice i općih simptoma poput umora i malaksalosti. Palpabilna purpura ili petehije koje ne blijede na pritisak prisutne su u gotovo svih bolesnika u nekom trenutku bolesti, tipično simetrično raspoređene po ekstenzornim stranama donjih udova i stražnjici, no mogu zahvatiti i gornje udove, trup te lice (21). U manjeg broja bolesnika, osobito odraslih, opisuju se teže kožne promjene poput nekroza, ulceracija ili hemoragijskih bula, povezane s izraženijim sistemskim zahvaćanjem (21).

Koštano-mišićni sustav zahvaćen je u 70-90 % bolesnika, u pravilu u vidu nemigratornog, oligoartikularnog artritisa s predilekcijskim zahvaćanjem gležnjeva i koljena, bez razvoja kroničnih deformiteta ili erozivnih promjena karakterističnih za juvenilni idiopatski artritis (21). Gastrointestinalni sustav zahvaćen je u 45-75 % djece, najčešće u obliku kolika i periumbilikalne boli uzrokovane submukoznim krvarenjem i edemom stijenke tankog crijeva, dok se u 20-50 % bolesnika opisuje asimptomatsko okultno krvarenje bez drugih pratećih znakova (22). U manjeg dijela bolesnika (oko 5 %) razvijaju se ozbiljne

komplikacije poput intususcepcije, perforacije crijeva ili masivnog krvarenja, pri čemu je intususcepcija najčešća kirurška komplikacija bolesti (22). Prošireni purpurični osip i nefritis prepoznati su kao neovisni čimbenici rizika za teže gastrointestinalne komplikacije, a gastrointestinalni simptomi mogu u dijela bolesnika i prethoditi pojavi kožnih promjena, predstavljajući u tom razdoblju značajan diferencijalno-dijagnostički izazov (22).

Zahvaćenost bubrega, odnosno IgA vaskulitisni nefritis (IgAVN), klinički je najvažnija manifestacija bolesti, budući da njezina prisutnost predstavlja glavni prognostički čimbenik dugoročnog ishoda (23). Prema literaturi, IgAVN se razvija u otprilike 20-50 % oboljele djece, s kliničkom slikom u rasponu od izolirane mikroskopske hematurije, preko hematurije udružene s proteinurijom, do nefrotskog sindroma i, u najtežim slučajevima, brzoprogresivnog glomerulonefritisa (23). Rizični čimbenici za razvoj nefritisa uključuju stariju dob pri postavljanju dijagnoze, perzistentnu i proširenu purpuru, teže gastrointestinalne manifestacije te pretilost (23). Rjeđe zahvaćene strukture uključuju skrotum i testise, središnji živčani sustav te, iznimno rijetko, pluća i srce (21).

1.1.6. Dijagnostički pristup

Dijagnoza IgAV-a prvenstveno je klinička i oslanja se na već spomenute EULAR/PRINTO/PRES klasifikacijske kriterije, koji u odnosu na druge vaskulitise dječje dobi imaju visoku osjetljivost (100 %) i zadovoljavajuću specifičnost (87 %) (3) (Tablica 1). Ne postoji laboratorijski nalaz specifičan za IgAV, no u akutnoj fazi bolesti često se bilježe blaga leukocitoza sa skretanjem ulijevo, ubrzana sedimentacija eritrocita, povišen C-reaktivni protein (CRP), a ponekad i povišen feritin, fibrinogen te d-dimeri kao odraz reakcije akutne faze, dok prisutnost trombocitopenije ili poremećaja koagulacije s velikom sigurnošću upućuje na drugu dijagnozu (21). Razine komplementa C3 i C4, kao i nalazi antinuklearnih protutijela (ANA, engl. *antinuclear antibodies*) i antineutrofilnih citoplazmatskih protutijela (ANCA, engl. *antineutrophil cytoplasmic antibodies*), u pravilu su uredni, odnosno negativni, što dodatno pomaže u razlikovanju IgAV-a od drugih sistemskih vaskulitisa i bolesti vezivnog tkiva (21).

Tablica 1. Klasifikacijski kriteriji Europskog saveza društava za reumatologiju / Međunarodne organizacije za istraživanja u pedijatrijskoj reumatologiji / Europskog društva za pedijatrijsku reumatologiju (EULAR/PRINTO/PRES) za imunoglobulin A vaskulitis.*

Kriterij	Definicija	Osjetljivost	Specifičnost
Purpura (obvezni kriterij)	Palpabilna purpura ili petehije bez trombocitopenije, dominantno na donjim udovima	89 %	86 %
UZ BAREM JEDAN OD SLJEDEĆIH KRITERIJA:			
Bolovi u trbuhu	Difuzna, akutna, grčevita bol koja može uključivati intususcepciju ili gastrointestinalno krvarenje	61 %	64 %
Histopatologija	Leukocitoklastični vaskulitis s predominantnim IgA depozitima ili proliferativni glomerulonefritis	93 %	89 %
Artritis ili artralgije	Artritis akutnog početka uz oteklinu, bol i ograničenu pokretljivost zgloba; artralgije akutnog početka bez otekline i ograničenja pokreta	78 %	42 %
Zahvaćanje bubrega	Proteinurija > 0,3 g/24 h ili omjer albumin/kreatinin > 30 mg/mmol ili ≥ 2+ na test-traci; hematurija > 5 eritrocita u vidnom polju ili ≥ 2+ na test-traci	33 %	70 %
UKUPNO		100 %	87 %

* Izvor podataka: Ozen S *et al*, 2010 (3).

Prema preporukama europske inicijative SHARE (engl. *Single Hub and Access point for paediatric Rheumatology in Europe*) iz 2019. godine, dijagnostička obrada uključuje procjenu bubrežne funkcije, kvantitativni pregled urina radi probira na nefritis, a u slučaju atipične kliničke slike i dodatnu imunološku obradu radi isključenja drugih sistemskih bolesti (24). Biopsija bubrega indicirana je u definiranim slučajevima perzistentne ili teže proteinurije, brzoprogresivnog glomerulonefritisa, odnosno nefrotskog ili nefritičkog sindroma, dok se biopsija kože rijetko izvodi, isključivo kod atipične prezentacije (24).

Novije, međunarodno usklađene smjernice dodatno preciziraju i ažuriraju indikacije za biopsiju bubrega. Kliničke preporuke Međunarodnog udruženja za dječju nefrologiju (IPNA, engl. *International Pediatric Nephrology Association*) iz 2024./2025. godine po prvi put na jedinstven način objedinjuju dijagnostički pristup IgA nefropatiji i IgAVN-u u dječjoj dobi, pri čemu se indikacije za biopsiju bubrega u bitnome podudaraju s već navedenim SHARE kriterijima, uz dodatnu preporuku ponovljene provjere nalaza urina prije konačne odluke o biopsiji (25). Smjernice organizacije Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO, engl. *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*) iz 2025. godine, koje po prvi put objedinjuju IgA nefropatiju i IgAV u jedinstvenom dokumentu, za odrasle bolesnike navode

da biopsiju bubrega treba učiniti u prisutnosti znakova značajnog oštećenja bubrežnog tkiva - perzistentne proteinurije ≥ 0,5 g/dan u trajanju duljem od četiri tjedna, poremećaja bubrežne funkcije ili brzoprogresivnog glomerulonefritisa - budući da za IgAV u odrasloj dobi, za razliku od dječje, ne postoje međunarodno usuglašeni klasifikacijski kriteriji (26).

Za objektivnu procjenu aktivnosti bolesti u kliničkim istraživanjima koristi se Pedijatrijski indeks aktivnosti vaskulitisa (PVAS, engl. *Pediatric Vasculitis Activity Score*), validirani upitnik koji obuhvaća 64 klinička obilježja raspoređena unutar devet organskih sustava; boduje se je li pojedino obilježje novonastalo, pogoršano u posljednja četiri tjedna ili je perzistiralo unutar posljednja tri mjeseca (27). Zbroj bodova daje ukupni PVAS rezultat pri čemu vrijednost 0 upućuje na remisiju, a svaka vrijednost jednaka ili viša od 1 na aktivnu bolest (27). PVAS na taj način omogućuje standardiziranu i reproducibilnu kvantifikaciju aktivnosti bolesti u različitim vremenskim točkama te predstavlja referentni klinički instrument za korelaciju s potencijalnim laboratorijskim biomarkerima aktivnosti bolesti, uključujući i S100A8/A9, čime se omogućuje objektivna provjera njihove kliničke valjanosti.

1.1.7. Liječenje

Budući da je tijek bolesti u većine djece samoograničavajući, liječenje je uglavnom potporno i simptomatsko - odgovarajuća hidracija, održavanje elektrolitne ravnoteže te ublažavanje boli, uz primjenu analgetika ili nesteroidnih protuupalnih lijekova kod artralgije, koji se, zbog utjecaja na agregaciju trombocita i bubrežnu perfuziju, izbjegavaju u bolesnika s gastrointestinalnim krvarenjem i nefritisom (1). Sistemski glukokortikoidi primjenjuju se kod rijetkih, teških kožnih manifestacija, teže zahvaćenosti probavnog sustava, orhitisa, cerebralnog vaskulitisa i plućne hemoragije (24). Randomizirana kontrolirana istraživanja pritom dosljedno pokazuju da profilaktička primjena glukokortikoida u ranoj fazi bolesti ne smanjuje rizik naknadnog razvoja nefritisa, zbog čega se ne preporučuje u svrhu prevencije bubrežne bolesti (24).

Preporuku o neopravdanosti profilaktičke primjene glukokortikoida dodatno je potkrijepila i najnovija smjernica KDIGO iz 2025. godine, koja izričito savjetuje da se u bolesnika s izoliranim izvanbubrežnim IgAV ne primjenjuju sistemski glukokortikoidi u svrhu prevencije nefritisa (preporuka razine 1B), pozivajući se na metaanalizu pet randomiziranih kontroliranih istraživanja koja je obuhvatila ukupno 789 djece i pritom nije utvrdila značajno smanjenje rizika razvoja bubrežne bolesti uz takvo liječenje (26). Slično tomu, najnovije smjernice IPNA iz 2024./2025. godine, potvrđuju da dokazi za pojedine imunosupresivne sheme u liječenju IgAVN-a ostaju ograničeni te da primjena

glukokortikoida zbog izvanbubrežnih manifestacija bolesti ne sprječava razvoj bubrežne bolesti. Iste smjernice preporučuju uvođenje blokade renin-angiotenzinskog sustava u djece s IgAVN-om i proteinurijom, dodavanje drugih imunosupresivnih lijekova (kalcineurinskih inhibitora, ciklofosfamida, mizoribina ili mikofenolat mofetila) uz glukokortikoide u slučaju nedostatnog odgovora na liječenje ili izraženije proteinurije, te ponavljanje biopsije bubrega radi histološke procjene ukoliko proteinurija perzistira dulje od četiri tjedna unatoč liječenju (25).

Liječenje IgAVN-a stupnjuje se prema težini proteinurije, bubrežne funkcije i histološkog nalaza biopsije bubrega. Prema preporukama SHARE inicijative, u svih se bolesnika s IgAVN-om preporučuje uvođenje inhibitora angiotenzin konvertirajućeg enzima radi nefroprotektivnog učinka, dok se u bolesnika s blažom proteinurijom i urednom bubrežnom funkcijom kao prva linija liječenja primjenjuju peroralni glukokortikoidi (24). U bolesnika s perzistentnom, umjereno teškom do teškom proteinurijom ili nalazom polumjeseca u biopsiji bubrega, terapija se proširuje pulsnim dozama glukokortikoida uz dodatak imunosupresivnih lijekova - azatioprina, mikofenolat mofetila ili, u refraktornim slučajevima, ciklofosfamida - dok se u najtežim, na standardnu terapiju neodgovarajućim slučajevima opisuje primjena plazmafereze, intravenskih imunoglobulina i rituksimaba, premda dokazi za te modalitete liječenja uglavnom proizlaze iz serija slučajeva, a ne randomiziranih kliničkih istraživanja (1).

1.1.8. Prognoza i ishod

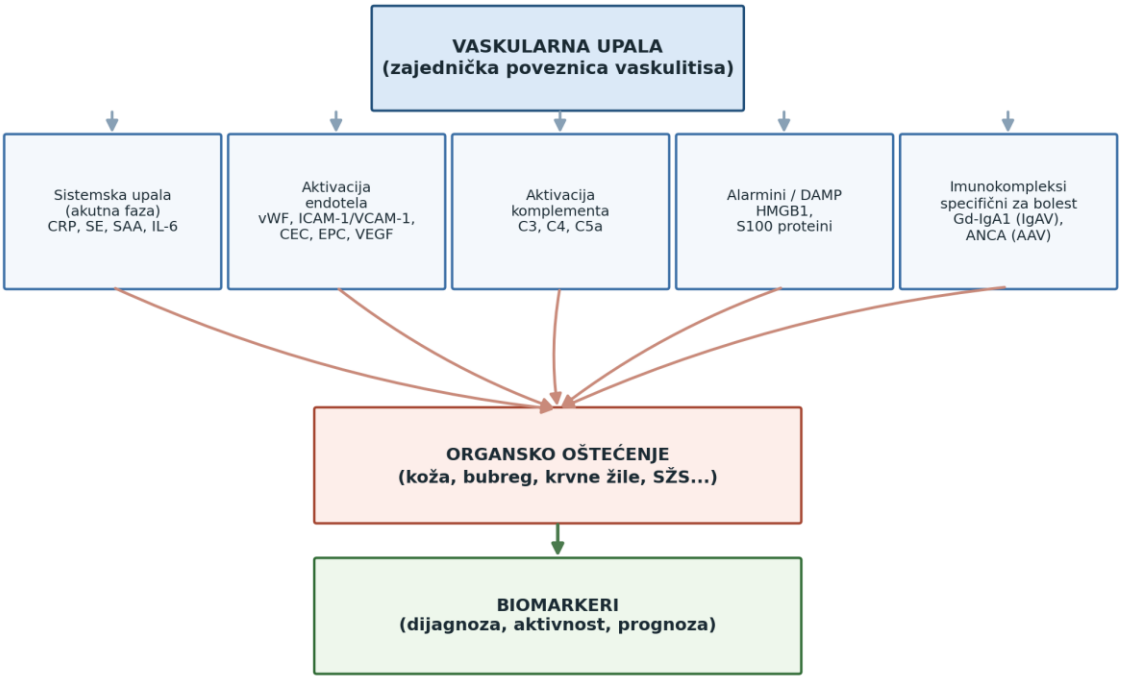
Većina djece s IgAV-om ima izvrsnu prognozu s potpunim oporavkom unutar nekoliko tjedana bez trajnih posljedica. Unatoč tomu, u 15-40 % bolesnika dolazi do recidiva bolesti, najčešće u vidu ponovne pojave purpuričnog osipa i bolova u trbuhu unutar prvih šest mjeseci od inicijalne prezentacije, pri čemu su recidivi u pravilu blaži i kraćeg trajanja od primarne epizode (21). Dugoročni ishod bolesti gotovo je isključivo određen prisutnošću i težinom nefritisa: rizik razvoja završnog stadija kronične bubrežne bolesti u pedijatrijskoj populaciji procjenjuje se na 1-5 %, dok je taj rizik osobito visok u bolesnika koji se inicijalno prezentiraju nefrotskim, a osobito nefritičkim sindromom (28).

Zbog mogućnosti kasnog razvoja bubrežnih komplikacija, čak i u bolesnika koji su naizgled postigli kliničku remisiju, preporučuje se dugotrajno praćenje bubrežne funkcije, krvnog tlaka i nalaza urina, uključujući i razdoblje nakon prelaska u odraslu dob (28). Za patohistološku analizu bubrežnih bioptata danas se u kliničkoj praksi i istraživačkom radu najčešće primjenjuje revidirana Oxfordska klasifikacija, koja dobro predviđa ishod bolesti i u

pedijatrijskoj populaciji s IgAVN-om, dok usporedbe s drugim, starijim klasifikacijskim sustavima (ISKDC, engl. *International Study of Kidney Disease in Children; Haasova; semikvantitativna klasifikacija*) pokazuju da upravo Oxfordska i semikvantitativna klasifikacija najbolje predviđaju nepovoljan bubrežni ishod (29). Upravo ta nepredvidivost tijeka bolesti - od potpunog, samoograničavajućeg oblika bez ikakvih posljedica do teškog, na liječenje rezistentnog nefritisa s progresijom u kroničnu bubrežnu bolest - predstavlja ključni klinički problem u skrbi za djecu s IgAV-om i glavni je razlog za intenzivno traženje pouzdanih, lako dostupnih biomarkera aktivnosti bolesti koji bi omogućili raniju identifikaciju bolesnika s rizikom nepovoljnog tijeka.

1.2. Biomarkeri u imunoglobulin A vaskulitisu

Prema općeprihvaćenoj definiciji, biomarker je endogena molekula koja se objektivno mjeri kao pokazatelj fiziološkog ili patološkog procesa, odnosno odgovora na terapijsku intervenciju, a može se odrediti iz tkivnih uzoraka, tjelesnih tekućina (krv, urin, slina) ili razgradnih produkata poput stolice (30). U kontekstu IgAV-a, biomarkeri mogu poslužiti nekolicini svrha koje se međusobno ne isključuju: procjeni sklonosti obolijevanju, boljem razumijevanju imunopatogeneze, procjeni aktivnosti bolesti, prognostičkoj stratifikaciji bolesnika te praćenju odgovora na liječenje (31, 32). Određivanje biomarkera iz tjelesnih tekućina i razgradnih produkata ima brojne praktične prednosti u odnosu na tkivne biomarkere, budući da se uzorak relativno lako i neinvazivno dobiva, što je osobito važno u pedijatrijskoj populaciji (31). (Slika 1)



Slika 1. Patogenetski putevi i podrijetlo biomarkera u sistemskim vaskulitisima. Izvor podataka: Sestan M *et al*, 2026 (33).

Tablica 2. Odabrani biomarkeri prema vaskulitisu i kliničkoj namjeni (dijagnoza/klasifikacija, aktivnost/praćenje, prognoza/komplikacije, organski specifični biljezi).*

Vaskulitis	Dijagnoza / klasifikacija	Aktivnost / praćenje	Prognoza / komplikacije	Organski specifično / ostalo
Gigantocelularni arteritis	SE, CRP, SAA; PTX3	SE, CRP, SAA; PTX3; IL-6; os IL-17/IL-23; MCP-1; MMP-9; S100A8/A9, S100A12	Početni SE/CRP/SAA; PTX3; VEGF	MMP-9; VEGF
Takayasuov arteritis	SE, CRP; PTX3	SE, CRP; PTX3; IL-6; os IL-17/IL-23; MCP-1; IL-18; VEGF; EPC; CEC	PTX3; MMP-9; VEGF	VEGF; EPC; CEC; leptin/adiponektin
Kawasakijeva bolest	CRP, SE; promjene KKS-a (neutrofili, trombociti, NLR, MPV); NT-proBNP	CRP, SE; IL-1β; IL-6; TNF-α; IL-17A/IL-18/IL-23; S100A8/A9 i S100A12; biljezi aktivacije endotela (VEGF/adhezijske molekule/CEC); MMP-9	Hipoalbuminemija; NT-proBNP; S100A8/A9 i S100A12; MMP-9; galektin-3; feritin; D-dimer; % neutrofila/NLR	NT-proBNP; MMP-9; panel biljega oštećenja endotela
IgA vaskulitis (IgAV/IgAVN)	Broj leukocita; CRP; IL-6; SAA; kombinirani indeksi (SAA, IgA, IgM, CRP)	Th17 citokini (IL-17A/IL-18/IL-23); TNF-α; kalprotektin (S100A8/A9); serumski HMGB1	Bubreg: Gd-IgA1; PTX3; AGT; urinarni C3/C4/C5/C5a; urinarni HMGB1; urinarni KIM-1/MCP-1/NAG/NGAL/e-GST; MMP-9. GI: fekalni kalprotektin	Panel urinarnih biljega (bubreg); fekalni kalprotektin
Vaskulitis povezan s ANCA protutijelima (AAV)	ANCA (MPO, PR3); SE, CRP	SE, CRP; titar ANCA; vWF; DNI; TIMP-1; PTX3; HMGB1; S100A8/A9; S100A12; IL-8; IL-15; TARC; osteopontin; sICAM-1; CXCL13; sRAGE	Omjer CRP/albumini (CAR); nizak C3; S100A8/A9 i S100A12; PTX3	Urinarni PTX3; urinarni HMGB1; urinarni KIM-1

* Izvor podataka: Sestan M *et al*, 2026 (33). Prikazan je odabir pet vaskulitisa relevantnih za temu ovog rada; izvorna tablica sadrži i dodatne skupine vaskulitisa (krioglobulinemijski vaskulitis, hipokomplementemijski urtikarijski vaskulitis, Behçetova bolest, Coganov sindrom, primarni angiitis središnjeg živčanog sustava).

Unatoč desetljećima istraživanja i doslovno stotinjak ispitivanih molekula, do danas nijedan biomarker nije uveden u rutinsku kliničku praksu niti je prošao potpunu kliničku validaciju. To zorno pokazuje i najopsežnija dosad objavljena sustavna analiza literature, u kojoj je skupina mađarsko-rumunjskih autora sustavno pretražila tri velike baze podataka i u kvalitativnu sintezu uključila 129 studija sa 121 različitim kliničkim i pretkliničkim biomarkerom, obuhvativši ukupno više od 23 000 pedijatrijskih bolesnika s IgAV-om (34). Iz ove meta-analize proizlazi nekoliko važnih spoznaja koje oblikuju suvremeno razumijevanje biomarkerskog polja u IgAV-u.

1.2.1. Hematološki i koagulacijski pokazatelji

Omjer neutrofila i limfocita (NLR, engl. *neutrophil-to-lymphocyte ratio*) te omjer trombocita i limfocita (PLR, engl. *platelet-to-lymphocyte ratio*) - jeftini i lako dostupni pokazatelji izvedeni iz kompletne krvne slike - u posljednjem su desetljeću sve češće istraživani kao potencijalni pokazatelji sistemske upale u brojnim kroničnim upalnim i autoimunim bolestima (34). Meta-analiza Beldie i suradnika pokazala je da su vrijednosti NLR-a bile značajno više u djece s IgAVN-om u odnosu na djecu bez zahvaćenosti bubrega, no taj je učinak bio izražen prvenstveno u turskoj populaciji, dok u kineskoj kohorti razlika nije dosegnula statističku značajnost (34). Sličan, geografski ovisan obrazac zabilježen je i za PLR, koji je bio značajno viši u korejskoj i turskoj podskupini, dok je u kineskoj podskupini bio, suprotno očekivanom, niži u bolesnika s nefritisom (34). Ovakva nekonzistentnost između populacija upućuje na to da genetska i okolišna pozadina bolesnika značajno modulira izražaj sistemske upale mjerene ovim indeksima, čime se ograničava njihova samostalna, univerzalna primjenjivost kao prediktora nefritisa (34).

Pojedinačne kohortne studije uglavnom potvrđuju korisnost NLR-a i PLR-a u trijaži bolesnika s povećanim rizikom sistemske, osobito bubrežne i gastrointestinalne zahvaćenosti (35-37). Ipak, dijagnostička meta-analiza koja je objedinila podatke o osjetljivosti i specifičnosti nije za NLR, PLR niti za bilo koji drugi od dvanaest analiziranih standardnih laboratorijskih pokazatelja (hemoglobin, leukociti, trombociti, titar antistreptolizina O, C3, C4, CRP, sedimentacija eritrocita, IgA, IgG, albumini) utvrdila zadovoljavajuću dijagnostičku točnost kao samostalnog prediktora IgAVN-a (34). Ovaj nalaz dodatno naglašava da hematološki indeksi, iako korisni kao orijentacijski pokazatelj sistemske upale, ne mogu zamijeniti potrebu za specifičnijim, patogenetski utemeljenim biomarkerima.

1.2.2. Imunološki i upalni pokazatelji

Najviše je istraživan galaktoza-deficijentni IgA1 (Gd-IgA1), čije povišene serumske vrijednosti dosljedno koreliraju s razvojem nefritisa u djece i odraslih s IgAV-om, no njegovo određivanje zahtijeva specijalizirane laboratorijske metode koje nisu široko dostupne u rutinskoj kliničkoj praksi (20). Osim Gd-IgA1, u novije se vrijeme sve intenzivnije istražuje šira paleta imunoloških i upalnih biomarkera - imunoglobulinske podklase (IgA, IgG, IgM), interleukini - interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) i interleukin 10 (IL-10) -, komponente komplementa (C3, C4) i čimbenik tumorske nekroze alfa (TNF-α), uz klasične pokazatelje poput CRP-a i sedimentacije eritrocita (34). Zanimljivo, u kineskoj podskupini bolesnika

zabilježene su niže vrijednosti IgG u djece s nefritisom u odnosu na djecu bez zahvaćenosti bubrega, dok ta razlika nije potvrđena u europskim kohortama; kao moguće objašnjenje predlaže se da imunokompleksi u bolesnika bez nefritisa sadrže samo IgA, dok u bolesnika s IgAVN-om i srodnom IgA nefropatijom uz IgA sadrže i IgG, koji se posljedično troši u stvaranju i odlaganju imunokompleksa u bubrežnom tkivu (34). Ni CRP ni sedimentacija eritrocita, unatoč široko rasprostranjenoj kliničkoj primjeni, nisu u navedenoj meta-analizi pokazali klinički ili statistički značajnu razliku između bolesnika s nefritisom i bez njega (34), čime se potvrđuje ranije spomenuto ograničenje klasičnih upalnih parametara u ovoj bolesti.

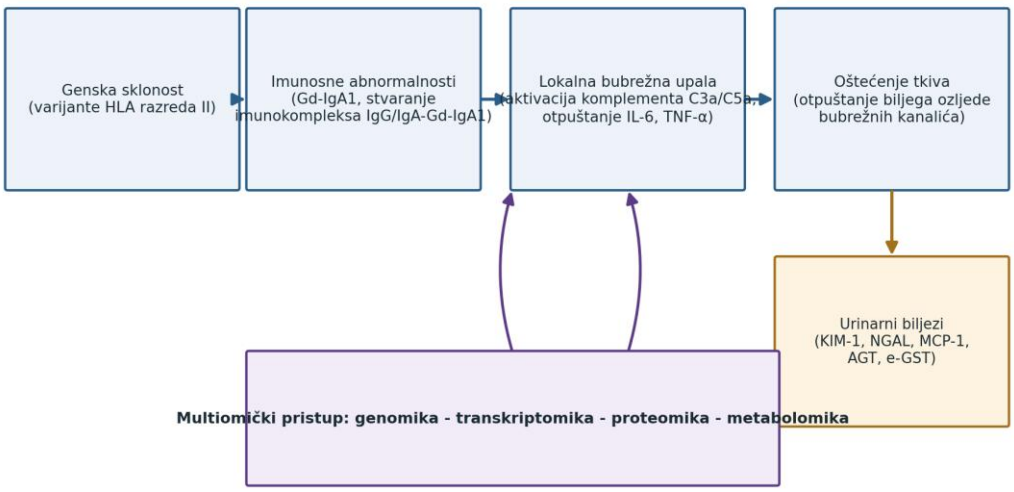
Osobitu je vrijednost pokazao pristup temeljen na visokoprotočnoj proteomici. Primjenom Olink tehnologije (metoda proksimalne ekstenzije, engl. *proximity extension assay*) skupina kineskih autora usporedila je koncentracije 92 upalna proteina u plazmi djece s abdominalnim oblikom IgAV-a i zdrave djece te je nakon validacije u tri neovisne kohorte identificirala interleukin 8 (IL-8), onkostatin M (OSM) te član nadobitelji čimbenika tumorske nekroze TNFSF-14 (poznat i pod nazivom LIGHT) kao dosljedno povišene biljege s izraženim dijagnostičkim potencijalom (38). Kombinacija ove tri molekule postigla je površinu ispod krivulje operativne karakteristike promatrača (ROC, engl. *receiver operating characteristic*) od 0,922, uz osjetljivost od 83,3 % i specifičnost od 90,0 %, znatno nadmašivši dijagnostičku vrijednost bilo kojeg pojedinačnog biljega (38). Autori predlažu da IL-8 kao primarni kemoatraktant neutrofila pokreće ranu upalnu kaskadu u crijevnoj mikrovaskulaturi, da TNFSF-14 potom modulira aktivaciju i infiltraciju limfocita T te da OSM posreduje razgradnju izvanstaničnog matriksa i remodeliranje tkiva, čime se oblikuje slijed događaja koji objašnjava tipičnu kliničku sliku abdominalnog IgAV-a (38). Funkcionalna analiza obogaćenja dodatno je pokazala da su otkriveni biljezi usko povezani sa signalnim putem jezgrinog čimbenika kapa B (NF-κB, engl. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) te interakcijom citokina i njihovih receptora, čime se otvara mogućnost ciljanog terapijskog djelovanja na te putove u budućnosti (38).

1.2.3. Urinarni i bubrežno specifični biomarkeri

Budući da klasični, rutinski dostupni laboratorijski parametri upale nisu specifični niti dovoljno osjetljivi za praćenje suptilnih promjena bubrežne aktivnosti bolesti, znatan istraživački napor usmjeren je prema pronalaženju urinarnih biomarkera koji bi izravno odražavali zbivanja unutar bubrežnog parenhima (39). Sustavni pregled koji je obuhvatio urinarne biomarkere u pedijatrijskom IgAVN-u kao najperspektivniju kombinaciju izdvojio je molekulu oštećenja bubrega tip 1 (KIM-1, engl. *kidney injury molecule-1*), protein za

kemotaksiju monocita 1 (MCP-1, engl. *monocyte chemoattractant protein-1*), N-acetil-β-D-glukozaminidazu (NAG, engl. *N-acetyl-β-D-glucosaminidase*) te urinarni angiotenzinogen (AGT, engl. *angiotensinogen*) (39). Urinarni AGT posebno je zanimljiv jer njegova povišena koncentracija odražava aktivaciju intrarenalnog renin-angiotenzinskog sustava, paralelno prati težinu proteinurije i, prema pojedinim istraživanjima, ostaje povišen i u fazi prividne kliničke rekonvalescencije (39).

Komponente sustava komplementa mjerene u urinu (C3, C4, C5, C5a) također su značajno povišene u djece s IgAVN-om, odražavajući lokalnu, intrarenalnu aktivaciju alternativnog i lektinskog puta komplementa, neovisno o sistemskim, serumski mjerenim vrijednostima koje ostaju unutar referentnog raspona (40). Kombinirano određivanje više komplementnih proteina u urinu pokazalo je izrazito visoku dijagnostičku točnost (površina ispod krivulje operativne karakteristike promatrača, ROC, engl. *receiver operating characteristic* - *0,92*) u razlikovanju bolesnika s nefritisom i bez njega (40). Osim komplementa, sve se više pozornosti pridaje i proteinu visoke pokretljivosti iz skupine 1 (HMGB1, engl. *high mobility group box 1*), čije povišene urinarne i serumske koncentracije koreliraju s aktivnošću bolesti te - prema novijim spoznajama - stupaju u izravnu molekularnu interakciju s Gd-IgA1 i njegovim receptorom za krajnje produkte uznapredovale glikacije (RAGE, engl. *receptor for advanced glycation end products*), otvarajući dodatan patogenetski put prema oštećenju bubrežnog tkiva u IgAV-u (39). (Slika 2)



Slika 2. Shematski prikaz patogenetske mreže i biomarkera imunoglobulin A vaskulitisnog nefritisa (IgAVN). Izvor podataka: Xu S *et al*, 2026 (39).

1.2.4. Gastrointestinalni biomarkeri

Poseban je izazov procjena zahvaćenosti probavnog sustava, budući da abdominalna bol može biti prvi, a katkad i jedini simptom bolesti, što je klinički lako zamijeniti s kirurškim akutnim abdomenom. Pozitivan test na okultno krvarenje u stolici (FOBT, engl. *faecal occult blood test*) u spomenutoj se meta-analizi pokazao značajno povezanim s povećanom vjerojatnošću istodobne bubrežne zahvaćenosti (omjer izgleda 2,04; 95 % CI 1,05-3,96), no dijagnostička analiza pokazala je tek umjerenu specifičnost (79 %) uz nisku osjetljivost (36 %), zbog čega FOBT sam za sebe nije prikladan kao samostalni probirni alat, premda može pomoći u isključivanju bubrežne zahvaćenosti kada je nalaz uredan (34). Fekalni kalprotektin - istoimeni protein S100A8/A9 mjeren u stolici - pokazao se dosljedno najbolje validiranim biomarkerom gastrointestinalne upale u djece s IgAV-om, nadmašivši u tom smislu i CRP i standardnu krvnu sliku (41, 42). Vrijedi napomenuti da fekalni i serumski oblik istog proteina ne moraju nužno međusobno korelirati, što upućuje na to da oni odražavaju upalnu aktivnost u različitim, prostorno odvojenim odjeljcima organizma - lokalnu crijevnu upalu nasuprot sistemskoj, vaskularnoj upali - a ne nužno isti patofiziološki proces, o čemu će biti više riječi u poglavlju 1.3.

1.2.5. Ograničenja dosadašnjih istraživanja i preostale spoznajne praznine

Unatoč obilju objavljenih istraživanja, njihova kritička analiza otkriva niz sustavnih ograničenja. Velika većina dosadašnjih studija provedena je na malim kohortama iz samo jednog centra, bez usklađene definicije nefritisa, bez standardiziranih pragova pozitivnosti i uz znatnu metodološku heterogenost u vremenu uzorkovanja u odnosu na početak bolesti (34). Rijetko se izvještava o mjerama dijagnostičke točnosti poput osjetljivosti, specifičnosti ili površine ispod ROC krivulje, čime se onemogućuje pouzdana usporedba biomarkera među studijama (34). Nadalje, geografska i vjerojatno etnička varijabilnost u učinku pojedinih biomarkera - jasno demonstrirana za NLR i PLR - upućuje na to da bi buduća istraživanja trebala uzeti u obzir populacijski specifične genetske i okolišne čimbenike, umjesto oslanjanja na univerzalne granične vrijednosti (34).

Uvođenjem visokopropusnih ‘’omičkih’’ tehnologija - genomike, transkriptomike, proteomike i metabolomike - istraživanje biomarkera IgAVN-a ulazi u novo, sustavno razdoblje, u kojemu se molekularna slika bolesti rekonstruira istodobno na nekoliko razina, od genske osjetljivosti, preko transkripcijske regulacije i proteinskih izvršitelja, do metaboličkih krajnjih točaka (39). Jednostanična transkriptomika (engl. *single-cell RNA sequencing*)

omogućila je, primjerice, uvid u to da su citotoksični efektorski podskupovi limfocita T obogaćeni u kožnom i bubrežnom obliku bolesti, dok su plazma stanice, limfociti B i folikularni pomagački limfociti T obogaćeni u zglobnom i abdominalnom obliku, što odražava dinamičku prirodu imunosnog odgovora tijekom različitih kliničkih manifestacija IgAV-a (39). Ipak, prema jedinstvenom zaključku svih navedenih pregleda literature, nijedan dosad ispitivani biomarker - unatoč statistički značajnim povezanostima - nije dosegnuo razinu klinički primjenjive, samostalno dostatne dijagnostičke ili prognostičke vrijednosti, što opravdava nastavak sustavnog istraživanja novih, patogenetski utemeljenih kandidata poput proteina S100A8/A9 (34, 39).

1.3. S100A8/A9 protein (kalprotektin, MRP8/14)

1.3.1. Nomenklatura, struktura i stanična ekspresija

S100A8/A9 heterodimer je proteina S100A8 i S100A9, članova obitelji S100 proteina koji vežu kalcij, a u literaturi je poznat i pod nizom drugih naziva: kalprotektin, MRP8/MRP14 (mijeloid vezani protein 8/14, engl. *myeloid-related protein 8/14*), kalgranulin A/B, L1 protein te antigen cistične fibroze (43). Ovi brojni nazivi odražavaju povijest njegova otkrića i karakterizacije u različitim istraživačkim kontekstima - imunokemijskom, biokemijskom i kliničkom - počevši od njegove izvorne identifikacije kao proteina citosola neutrofila krajem 1980-ih godina (44).

Obitelj S100 proteina broji više od dvadeset strukturno srodnih, no funkcionalno različitih niskomolekularnih proteina, obilježenih prisutnošću dviju domena koje vežu kalcij tipa EF-hand, a gotovo svi geni ove obitelji smješteni su unutar kromosomske regije 1q21, područja koje ima središnju ulogu u regulaciji tkivnog razvoja (45). S100A8 (molekulske mase oko 10,8 kDa) i S100A9 (molekulske mase oko 13 kDa) fiziološki postoje pretežno u obliku heterodimera stabiliziranog vezanjem kalcija i cinka, pri čemu se u uvjetima veće koncentracije kalcija heterodimeri mogu dodatno udruživati u heterotetramere, što povećava njihovu biološku aktivnost (43, 46).

S100A8/A9 pretežno je izražen u stanicama mijeloidne loze - neutrofilnim granulocitima, monocitima i rano diferenciranim makrofazima - u kojima može činiti i do 40-45 % ukupnih citosolnih proteina neutrofila, odnosno oko 1 % ukupnih staničnih proteina monocita (43, 46). Njegova ekspresija znatno je niža ili odsutna u zrelim, tkivnim makrofazima, a ponovno se inducira u stanjima aktivacije, primjerice tijekom diferencijacije monocita u upalnim uvjetima, kao i u pojedinim epitelnim stanicama (keratinociti, epitel

dišnih puteva) izloženim upalnom ili mehaničkom stresu (46, 47). Zbog te karakteristične, gotovo isključive ekspresije u stanicama urođene imunosti, S100A8/A9 se smatra pouzdanim, relativno specifičnim pokazateljem njihove aktivacije, za razliku od mnogih drugih upalnih biljega koji odražavaju širi, manje specifičan raspon staničnih i sustavnih procesa.

1.3.2. Unutarstanična funkcija S100A8/A9

Unutar stanice, kompleks S100A8/A9 na način ovisan o kalciju stupa u interakciju s elementima citoskeleta - mikrotubulima, vimentinom, keratinom i aktinskim filamentima - čime sudjeluje u regulaciji staničnog oblika, polimerizacije aktina, migracije te osobito transendotelne migracije fagocita na mjesto upale (46). Ova je funkcija ključna za učinkovito napuštanje krvožilnog sustava i usmjereno kretanje neutrofila i monocita prema mjestu tkivnog oštećenja ili infekcije, čime S100A8/A9 djeluje kao svojevrstan unutarstanični senzor kalcija koji koordinira odgovor fagocita na promjene u njihovoj okolini. Osim uloge u citoskeletnoj dinamici, S100A8/A9 sudjeluje u regulaciji stanične proliferacije i diferencijacije, homeostazi kalcija, metabolizmu arahidonske kiseline te u fosforilaciji proteina uključenih u signalne puteve stanične aktivacije, poput ranije opisanog p14 proteina (44, 46).

Kompleks također ima izraženo antimikrobno djelovanje, koje se pripisuje njegovoj sposobnosti kelacije dvovalentnih kationa cinka i mangana, esencijalnih elemenata za rast i metabolizam brojnih mikroorganizama - mehanizam poznat kao ‘’nutricijska imunost’’ (engl. *nutritional immunity*) - čime S100A8/A9 pridonosi urođenoj obrani od bakterijskih i gljivičnih patogena neovisno o svojoj proupalnoj, izvanstaničnoj funkciji (43, 46). Ova dvojna, unutarstanična i izvanstanična uloga čini S100A8/A9 izrazito svestranim molekularnim sudionikom urođenog imunosnog odgovora, čije otpuštanje iz stanice predstavlja prekretnicu između njegove regulatorne, unutarstanične i signalizacijske, izvanstanične funkcije.

1.3.3. Izvanstanična funkcija S100A8/A9 - uloga alarmina

Nakon otpuštanja iz aktiviranih ili oštećenih stanica - bilo aktivnom sekrecijom neovisnom o klasičnom putu endoplazmatski retikulum-Golgijevo tijelo, bilo pasivnim otpuštanjem tijekom stanične nekroze ili stvaranja neutrofilnih izvanstaničnih zamki - S100A8/A9 u izvanstaničnom prostoru djeluje kao alarmin: endogena molekula povezana s oštećenjem (DAMP, engl. *damage-associated molecular pattern*) koja imunosnom sustavu signalizira prisutnost staničnog stresa ili oštećenja tkiva, neovisno o prisutnosti patogena (45).

Zajedno s drugim alarminima poput proteina visoke pokretljivosti iz skupine 1 (HMGB1, engl. *high mobility group box 1*) i interleukina 1α (IL-1α) i 33 (IL-33), S100A8/A9 pripada skupini molekula s dvojnom, unutarstaničnom regulatornom i izvanstaničnom signalizacijskom funkcijom, koje predstavljaju rano, brzo dostupno oruđe urođene imunosti u odgovoru na tkivni stres, prethodeći po vremenu aktivacije sporijem odgovoru posredovanom klasičnim citokinima (45).

Svoje proupalno djelovanje S100A8/A9 ostvaruje prvenstveno vezanjem za receptor za konačne produkte uznapredovale glikacije (RAGE, engl. *receptor for advanced glycation end products*) te Toll-u slične receptore 4 (TLR4, engl. *Toll-like receptor 4*), izražene na površini monocita, makrofaga i endotelnih stanica, čime aktivira unutarstanične signalne puteve posredovane jezgrinim čimbenikom kapa B (NF-κB) (45). Aktivacija tog signalnog puta preko molekula MyD88 rezultira sintezom i otpuštanjem proupalnih citokina - čimbenika tumorske nekroze alfa (TNF-α), interleukina 1β (IL-1β) te interleukina 6 (IL-6), 8 (IL-8) i 23 (IL-23) - koji dodatno potiču kemotaksiju i regrutiranje leukocita na mjesto upale, stvarajući svojevrsnu pozitivnu povratnu spregu koja pojačava i produljuje lokalni upalni odgovor (45). Vrijedno je istaknuti da istodobna blokada TLR4 i RAGE receptora u eksperimentalnim uvjetima potpuno poništava proupalne učinke S100A8/A9, čime se potvrđuje da su ova dva receptora nezaobilazna sastavnica njegove signalizacije (45). Usporedno, RAGE-ovisna aktivacija MAPK signalnih puteva (p38, JNK, ERK1/2) pojačava stvaranje kemokina, uključujući protein za kemotaksiju monocita 1, te izražaj endotelnih adhezijskih molekula ICAM-1 i VCAM-1, čime se dodatno potiče privlačenje i prijelaz leukocita kroz stijenku upaljene krvne žile - mehanizam koji izravno odgovara obrascu vaskularnog oštećenja karakterističnom za IgAV (45).

Osim citokinske signalizacije, S100A8/A9 izravno djeluje na endotelne stanice, potičući njihovu aktivaciju, narušavanje integriteta endotelnog monosloja te apoptozu i nekrozu endotelnih stanica, čime izravno pridonosi vaskularnom oštećenju karakterističnom za vaskulitise (45). Osim toga, kompleks produljuje preživljenje neutrofila inhibicijom apoptoze, olakšavajući njihovo nakupljanje na mjestu upale, a sudjeluje i u aktivaciji stečene imunosti - sudjeluje u pripremanju (primingu) CD8+ limfocita T od strane antigen-prezentirajućih stanica te djeluje kao ko-stimulacijski medijator zajedno sa signalnim putem CD40/CD40L, potencijalno potičući slom imunosne tolerancije (45). Zanimljivo je da S100A8/A9, unutar stanice, može djelovati i suprotno - suprimirajući aktivaciju jezgrinog čimbenika kapa B i time snižavajući izražaj IL-1β, IL-6 i TNF-α - te da ograničava stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva potaknuto mijeloperoksidaza-ANCA protutijelima u

neutrofilima, čime pokazuje dvojaku, kontekstno ovisnu ulogu u regulaciji homeostaze imunosnog odgovora (45, 48). Ova dvojnost djelovanja objašnjava zašto razina S100A8/A9 osjetljivo, gotovo u realnom vremenu, prati intenzitet upalnog procesa - rastući s porastom upalne aktivnosti i opadajući s njezinim smirivanjem - što ga čini biološki izrazito prihvatljivim kandidatom za dinamički biomarker aktivnosti bolesti u širokom rasponu upalnih, autoimunih i autoinflamatornih stanja, uključujući i rijetke bolesti dječje dobi poput IgAV-a.

1.3.4. S100A8/A9 kao biomarker aktivnosti bolesti u reumatskim i autoimunim bolestima

Zahvaljujući svojoj brzoj i osjetljivoj reakciji na aktivaciju neutrofila i monocita, S100A8/A9 opsežno je istraživan kao biomarker aktivnosti bolesti u nizu reumatskih i autoimunih bolesti, s posebno bogatom literaturom u pedijatrijskoj reumatologiji. U juvenilnom idiopatskom artritisu (JIA, engl. *juvenile idiopathic arthritis*), povišene serumske vrijednosti S100A8/A9 korelirale su s kliničkom aktivnošću bolesti, a u sistemskom obliku JIA i s prisutnošću kožnog osipa, dok se pokazalo da razina proteina ostaje povišena i u bolesnika u prividnoj kliničkoj remisiji, upućujući na postojanje subkliničke, ‘’tinjajuće’’ upale koja prethodi kliničkom recidivu bolesti (49, 50). Berntzen i suradnici jedni su od prvih koji su opisali korelaciju S100A8/A9 (tada nazivanog L1 proteinom) s drugim laboratorijskim pokazateljima upale, poput CRP-a i sedimentacije eritrocita, uz opažanje da S100A8/A9 pokazuje i jaču povezanost s kliničkom aktivnošću bolesti od navedenih klasičnih parametara (51). Gerss i suradnici dodatno su pokazali da kombinacija fagocit-specifičnih S100 proteina i visokoosjetljivog CRP-a može poslužiti kao pouzdan alat za individualiziranu, riziku prilagođenu odluku o postupnom smanjivanju terapije u bolesnika s JIA-om u remisiji, čime je otvoren put prema praktičnoj kliničkoj primjeni ovog biomarkera u vođenju liječenja (52). La i suradnici potvrdili su vrijednost serumskog kalprotektina i u dijagnostičkom smislu, opisujući njegovu korisnost u razlikovanju podskupina JIA-e i praćenju odgovora na terapiju (53).

Slični nalazi opisani su i u reumatoidnom artritisu, sistemskom eritemskom lupusu, adultnom obliku Stillove bolesti, psorijatičnom artritisu te u vaskulitisima povezanim s antineutrofilnim citoplazmatskim protutijelima. U adultnom obliku Stillove bolesti, Kim i suradnici pokazali su da serumski S100A8/A9, za razliku od folistatinu sličnog proteina 1 i interleukina 18, predstavlja koristan biomarker aktivnosti bolesti, dosljedno korelirajući s brojem zahvaćenih organskih sustava i kliničkim parametrima aktivnosti (54). Sustavni

pregledi kalprotektina u autoimunim bolestima naglašavaju njegovu prednost pred klasičnim upalnim parametrima upravo u kontekstu praćenja dinamike bolesti tijekom vremena u istog bolesnika, dok njegova ograničena specifičnost za pojedinu bolest ograničava njegovu samostalnu, dijagnostičku, odnosno diferencijalno-dijagnostičku vrijednost (55, 56).

Klinička zrelost ovih nalaza dodatno je potvrđena uvrštavanjem S100A8/A9 u recentne međunarodne kliničke smjernice. Prema preporukama Europskog saveza društava za reumatologiju i Europskog društva za pedijatrijsku reumatologiju (EULAR/PRES) iz 2024. godine za dijagnozu i liječenje Stillove bolesti - zajedničkog naziva za sistemski oblik juvenilnog idiopatskog artritisa i adultni oblik Stillove bolesti - izražena povišenost serumskog interleukina 18 i/ili S100 proteina, uključujući kalprotektin, snažno podupire dijagnozu bolesti te ih se preporučuje odrediti kad god je to moguće (57). Slično tomu, smjernice EULAR-a i Američkog reumatološkog društva (ACR, engl. *American College of Rheumatology*) iz 2022. godine za dijagnostiku, liječenje i praćenje autoinflamatornih bolesti posredovanih interleukinom 1 - krioporinom udruženih periodičkih sindroma, periodičkog sindroma udruženog s receptorom za čimbenik tumorske nekroze, deficita mevalonat kinaze i deficita antagonista receptora interleukina 1 - navode S100 proteine, uz C-reaktivni protein, sedimentaciju eritrocita i serumski amiloid A, kao jedne od biljega sistemske upale koji koreliraju s aktivnošću bolesti i mogu se koristiti u kliničkoj obradi i praćenju ovih bolesnika (58). Uvrštavanje S100A8/A9 u formalne kliničke smjernice dviju velikih skupina reumatskih bolesti dodatno potvrđuje njegovu kliničku zrelost kao biomarkera te predstavlja poticajan presedan za njegovu moguću buduću primjenu i u drugim reumatskim bolestima, poput IgAV-a.

U bolesnika s vaskulitisom povezanim s antineutrofilnim citoplazmatskim protutijelima (AAV, engl. *ANCA-associated vasculitis*) pokazano je da su tijekom aktivne faze bolesti aktivirani i neutrofili i monociti, s povišenom ekspresijom S100A8/A9 na njihovoj staničnoj površini u odnosu na zdrave kontrole; serumske razine S100A8/A9 vjerno su odražavale ove stanične nalaze, uz značajno više vrijednosti u aktivnoj bolesti u odnosu na remisiju i zdrave ispitanike (59). U prospektivnoj kohorti bolesnika s proteinaza 3-ANCA udruženim vaskulitisom, viša serumska razina kalprotektina bila je neovisno povezana s povećanim rizikom relapsa bolesti tijekom praćenja, sugerirajući njegovu moguću prognostičku, a ne samo deskriptivnu vrijednost (60). Istraživanje uloge S100A8/A9 i srodnog proteina S100A12 u vaskulitisu povezanom s mijeloperoksidaza-ANCA protutijelima potvrdilo je njihovu potencijalnu patogenetsku ulogu, uz koreliranje serumskih vrijednosti s aktivnošću bolesti mjerenom standardiziranim indeksima (48). Opsežan pregledni rad koji je

objedinio biomarkere u primarnim sistemskim vaskulitisima nedavno je potvrdio da se S100A8/A9, zajedno s proteinom visoke pokretljivosti iz skupine 1, komponentama komplementa i tkivnim inhibitorom metaloproteinaze 1, ubraja među najperspektivnije biljege upalne aktivnosti upravo u AAV-u, gdje odražava kaskadu posredovanu molekulskim obrascima povezanim s oštećenjem (33).

U bolesnika s Kawasakijevom bolešću, drugim čestim vaskulitisom dječje dobi koji zahvaća srednje i male krvne žile, povišene serumske razine S100A8/A9 u aktivnoj fazi bolesti u odnosu na remisiju pokazale su se dobrim pokazateljem aktivnosti bolesti, a perzistentno povišene vrijednosti nakon liječenja bile su povezane s većim rizikom razvoja koronarnih arterijskih aneurizmi - najozbiljnije komplikacije te bolesti - iako protein nije imao prediktivnu vrijednost za inicijalni odgovor na terapiju intravenskim imunoglobulinima (61, 62). Ovi nalazi u različitim vaskulitisima dječje dobi, od kojih neki dijele zajedničke patogenetske mehanizme s IgAV-om (aktivacija neutrofila, oštećenje endotela), dodatno podupiru biološku osnovu za istraživanje S100A8/A9 kao biomarkera upravo u IgAV-u, najčešćem sistemskom vaskulitisu pedijatrijske populacije.

Vrijedno je napomenuti da se S100A8/A9 u kliničkoj praksi već dulje vrijeme rutinski koristi kao biomarker upalne aktivnosti u upalnim bolestima crijeva, gdje njegova koncentracija u stolici pouzdano odražava stupanj upale sluznice i dobro korelira s endoskopskim nalazom, čime predstavlja jedan od rijetkih primjera S100 proteina koji je već u potpunosti integriran u rutinsku kliničku praksu (56). Ovo iskustvo iz gastroenterologije dodatno podupire biološku prihvatljivost i praktičnu izvedivost korištenja istog proteina, mjerenog u serumu, kao biomarkera sistemske upalne aktivnosti u reumatološkim bolestima poput IgAV-a.

1.3.5. S100A8/A9 u sistemskim vaskulitisima

Zajednička patofiziološka poveznica S100A8/A9 i sistemskih vaskulitisa jest neutrofilna i monocitna aktivacija kao pokretačka snaga vaskularnog oštećenja. U bolesnika s AAV-om opisano je da glomerularna ekspresija S100A8/A9 na makrofazima korelira s težinom glomerulonefritisa, dok je akumulacija makrofaga u zahvaćenim bubrezima povezana s intenzitetom upalne aktivnosti bolesti (63). Ovaj je nalaz posebno relevantan za razumijevanje moguće uloge S100A8/A9 u nefritisu udruženom s IgAV-om, budući da je akumulacija makrofaga u bubregu prepoznata i kao dio patogeneze IgA vaskulitis nefritisa.

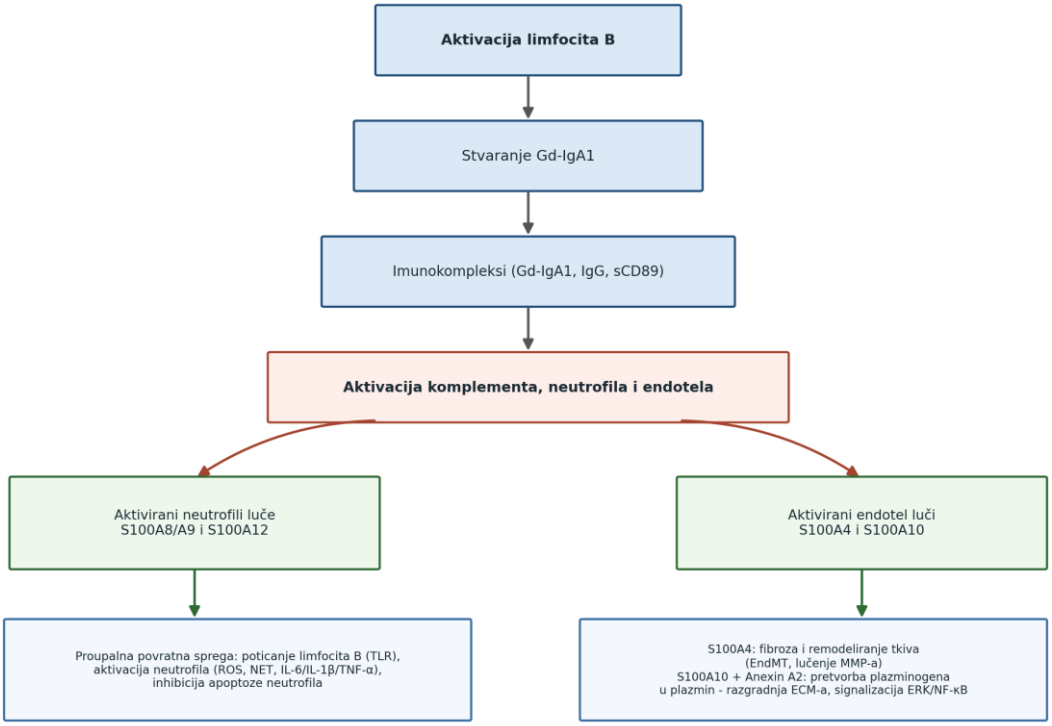
Osim u AAV-u, biomarkerska vrijednost S100A8/A9 i srodnih S100 proteina opisana je i u vaskulitisima velikih krvnih žila, uključujući gigantocelularni arteritis i Takayasuov

arteritis, gdje kombinirano određivanje ovih proteina uz CRP ili sedimentaciju eritrocita pomaže u razlikovanju aktivne od neaktivne bolesti (33). Slična je biomarkerska vrijednost opisana i u drugim vaskulitisu srodnim stanjima, uključujući sistemsku sklerozu i pridruženu plućnu vaskularnu bolest te u kontekstu ateroskleroze kao kroničnog vaskularnog upalnog procesa, gdje je razina S100A8/A9 bila neovisno povezana sa sistemskom upalom u bolesnika sa stabilnom koronarnom bolešću (46, 64). Ovakvi nalazi u bolestima krvnih žila koje nisu klasični autoimuni vaskulitisi dodatno potvrđuju da S100A8/A9 prvenstveno odražava opći stupanj aktivacije urođene imunosti i endotelne upale, neovisno o specifičnoj etiologiji osnovne bolesti.

Zajednička je značajka svih navedenih vaskulitičkih stanja da je S100A8/A9 dosljedno povišen u fazi aktivne bolesti u odnosu na remisiju i zdrave kontrole, uz opadanje vrijednosti usporedno sa smirivanjem upalne aktivnosti. Sustavni pregled koji je obuhvatio ulogu S100 proteina u sistemskim vaskulitisima to je zorno sažeo, zaključivši da S100A8/A9 i srodni S100A12 djeluju kao pouzdani, iako nespecifični pokazatelji neutrofilne aktivacije te da njihova primjena leži prvenstveno u longitudinalnom praćenju dinamike aktivnosti bolesti u pojedinog bolesnika tijekom vremena, a manje u diferencijalnoj dijagnostici među različitim vaskulitisima (45). Ovo je ograničenje - vrijedno naglasiti i pri tumačenju rezultata u kontekstu IgAV-a - dodatan poticaj za potragu za kombinacijama biomarkera, odnosno multimarkerskim pristupom, umjesto oslanjanja na pojedinačnu molekulu.

1.3.6. S100A8/A9 u imunoglobulin A vaskulitisu - dosadašnje spoznaje

Uloga S100A8/A9 u IgAV-u dosad je istraživana u razmjerno ograničenom broju izvornih studija, no dostupni nalazi - premda djelomično nekonzistentni - ukupno gledano podupiru biološku prihvatljivost ovog proteina kao kandidata za biomarker bolesti. Kawasaki i suradnici među prvima su pokazali da bolesnici s IgAV-om koji imaju više serumske vrijednosti S100A8/A9 (tada određivanog kao kompleks MRP8/14) ujedno imaju i teži oblik bubrežne bolesti, sugerirajući da bi serumske vrijednosti ovog proteina mogle biti povezane s težinom nefritisa udruženog s IgAV-om, uz napomenu autora da su za potvrdu ovog nalaza potrebna dodatna istraživanja na većim kohortama bolesnika (65). (Slika 3)



Slika 3. Predloženi patogenetski mehanizmi S100 proteina u imunoglobulin A vaskulitisu. Izvor podataka: Podraza Z *et al*, 2026 (45).

Nešto je opsežnija literatura o fekalnom obliku istog proteina kao pokazatelju zahvaćenosti probavnog sustava. Kanik i suradnici opisali su značajno više vrijednosti fekalnog kalprotektina u djece s IgAV-om koja su imala gastrointestinalne simptome u odnosu na onu bez njih, predlažući ga kao mogući novi biljeg rizika za istodobnu gastropatiju i nefropatiju (41). Teng i suradnici potvrdili su njegovu kliničku korisnost specifično za ranu dijagnozu abdominalnog tipa bolesti u djece, dok su Paek i suradnici pokazali da su vrijednosti fekalnog kalprotektina bile značajno više u bolesnika s nižom gastrointestinalnom zahvaćenošću u odnosu na one bez nje (42, 66).

Zanimljiv, naizgled paradoksalan nalaz proizlazi iz istraživanja tkivnog izražaja proteina. Kung i suradnici, koristeći ciljanu transkripcijsku analizu kožnih bioptata, opisali su pojačanu ekspresiju gena za S100A8/A9 u kožnim promjenama bolesnika s IgAV-om ograničenim isključivo na kožu, u usporedbi s onima koji su tijekom bolesti razvili nefropatiju, što upućuje na to da lokalna, tkivna ekspresija ovog proteina u koži možda odražava drugačiji, prostorno ograničen obrazac upalne aktivnosti u odnosu na sistemsku, serumski mjerenu koncentraciju, a razlike u ekspresiji potencijalno bi mogle poslužiti kao pomoć u razlikovanju kožno ograničenog od sistemskog oblika bolesti (45, 67).

Nedavno objavljen sustavni pregled koji je posebno analizirao ulogu cijele obitelji S100 proteina (S100A8/A9, S100A12, S100A4 i S100A10) u IgAV-u i drugim sistemskim vaskulitisima zaključio je da, iako S100A8/A9 pokazuje najviše obećavajuće nalaze unutar cijele skupine, dosadašnja klinička evidencija u IgAV-u ostaje ograničena manjim, heterogenim kohortama i necjelovito definiranim ishodima, zbog čega su nužna standardizirana, prospektivna istraživanja prije negoli se ovaj biomarker može uzeti u obzir za stratifikaciju rizika u svakodnevnoj kliničkoj praksi (45). Isti su autori istaknuli da S100A12, unatoč čvrsto dokazanoj ulozi u drugim vaskulitisima poput AAV-a i Kawasakijeve bolesti, dosad uopće nije izravno ispitivan u bolesnika s IgAV-om, dok su podaci o S100A4 i S100A10 u ovom kontekstu isključivo posredni i hipotetski, izvedeni analogijom iz istraživanja ateroskleroze i sistemskog eritemskog lupusa, a ne iz izravnih opažanja u IgAV-u (45). Ova opažanja zajedno ocrtavaju jasnu, još uvijek nedovoljno popunjenu spoznajnu prazninu: unatoč snažnoj patofiziološkoj poveznici sa završnim, zajedničkim korakom patogeneze IgAV-a - aktivacijom neutrofila i monocita - te unatoč dosljedno potvrđenoj vrijednosti u srodnim vaskulitisima dječje i odrasle dobi, serumski S100A8/A9 kao potencijalni biomarker aktivnosti bolesti i prediktor nefritisa u IgAV-u dosad nije bio predmetom sustavnog, prospektivnog istraživanja na dovoljno velikoj kohorti bolesnika praćenih kroz duže razdoblje.

1.4. Obrazloženje teme istraživanja

IgA vaskulitis, unatoč statusu najčešćeg sistemskog vaskulitisa dječje dobi, ostaje bolest čiji je klinički tijek teško predvidjeti na temelju inicijalne prezentacije, a čija dugoročna prognoza u najvećoj mjeri ovisi o razvoju i težini bubrežne zahvaćenosti (23, 28). Kako je razvidno iz najopsežnije dosad objavljene sustavne analize biomarkera u pedijatrijskom IgAVN-u, obuhvativši više od 23 000 bolesnika iz 129 studija, čak ni pomno ispitani hematološki indeksi poput omjera neutrofila i limfocita, klasični upalni parametri poput CRP-a i sedimentacije eritrocita, niti brojni imunološki i biomarkeri bubrežne ozljede nisu dosad dosegnuli razinu klinički primjenjivog, samostalno dostatnog prediktora nefritisa (34). Ova opsežna, metodološki rigorozna sinteza literature time potvrđuje ono što je klinička praksa dugo nagovještavala: rutinski dostupni laboratorijski parametri upale u ovoj su bolesti nedovoljno specifični i osjetljivi za pouzdano praćenje suptilnih promjena aktivnosti bolesti, osobito u fazama kada klinička slika prestaje biti jednoznačna - primjerice pri procjeni je li bolesnik doista postigao remisiju ili je riječ o subkliničkoj, tinjajućoj upali koja bi mogla prethoditi kliničkom recidivu bolesti.

S100A8/A9, kao dobro okarakteriziran biomarker aktivacije urođene imunosti čija je vrijednost već potvrđena u nizu drugih reumatskih bolesti dječje i odrasle dobi - uključujući juvenilni idiopatski artritis, ANCA-udružene vaskulitise, adultni oblik Stillove bolesti i Kawasakijevu bolest - predstavlja biološki prihvatljivog kandidata za popunjavanje ove dijagnostičke praznine u IgAV-u (49, 54, 59, 61). Njegova biologija, opisana u poglavlju 1.3 ovog uvoda, izravno se nadovezuje na ključni, zajednički korak oba predložena patogenetska modela IgAV-a - aktivaciju neutrofila i monocita - što mu, za razliku od mnogih drugih ispitivanih molekula, daje jasnu fiziološku, a ne samo statističku poveznicu s osnovnom bolešću (45).

Dosadašnja izravna istraživanja S100A8/A9 specifično u IgAV-u, iako malobrojna, dosljedno upućuju na njegovu potencijalnu vrijednost u dvjema odvojenim, ali klinički komplementarnim domenama: kao odraz sistemske, vaskularne upalne aktivnosti mjeren u serumu, s naznakama povezanosti s težinom bubrežne bolesti (65), te kao odraz lokalne, crijevne upale mjeren u obliku fekalnog kalprotektina, dosljedno povezan s gastrointestinalnom simptomatologijom (41, 42, 66). Ipak, kako naglašava i najnoviji sustavni pregled posvećen cijeloj obitelji S100 proteina u vaskulitisima, dosadašnja evidencija specifično za IgAV ostaje ograničena, temeljena na malim, metodološki heterogenim kohortama bez usklađene definicije aktivnosti bolesti i bez longitudinalnog praćenja dinamike proteina od akutne faze do rekonvalescencije (45). Nedostaje, drugim riječima, upravo ono što bi omogućilo procjenu kliničke, a ne samo biološke vrijednosti ovog biomarkera - sustavna usporedba njegovih serumskih vrijednosti s validiranim indeksom aktivnosti bolesti poput PVAS-a, s dinamikom promjene tijekom vremena od postavljanja dijagnoze, te s već etabliranim laboratorijskim i kliničkim obilježjima, uključujući zahvaćenost pojedinih organskih sustava.

Imajući u vidu navedeno, cilj ovog istraživanja jest dodatno rasvijetliti ulogu serumskog S100A8/A9 kao biomarkera aktivnosti bolesti u djece s IgA vaskulitisom, s posebnim naglaskom na njegovu povezanost s kliničkim tijekom bolesti, dinamikom njegovih vrijednosti tijekom vremena od postavljanja dijagnoze, te njegovim odnosom prema drugim, već etabliranim laboratorijskim pokazateljima upale i kliničkim obilježjima bolesti, uključujući zahvaćenost pojedinih organskih sustava. Krajnji je cilj ovog istraživanja doprinijeti razvoju pouzdanijih, praktično primjenjivih alata za praćenje aktivnosti ove klinički heterogene, a po dugoročnom ishodu nepredvidive bolesti, čime bi se u budućnosti moglo unaprijediti individualizirano vođenje liječenja i praćenja djece oboljele od IgA vaskulitisa.

2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

S100A8/A9 je heterodimer sastavljen od proteina S100A8 i S100A9 koji ima važnu ulogu u upalnom odgovoru organizma, pri čemu prvenstveno djeluje proupalno, iako u stanjima u kojima postoji rizik od oštećenja tkiva zbog prejakog upalnog odgovora može imati i protuupalnu ulogu, održavajući na taj način homeostazu imunosnog sustava (43, 44, 68). Različita upalna stanja - od infekcije, traume i stresa do toplinskog udara - mogu dovesti do porasta stvaranja i izlučivanja S100A8/A9, a dosadašnja istraživanja pokazala su njegovu vrijednost kao biomarkera aktivnosti bolesti u nizu autoimunih bolesti dječje i odrasle dobi. Tako je u Kawasakijevoj bolesti, drugom najčešćem vaskulitisu dječje dobi, razina S100A8/A9 bila viša u aktivnoj fazi bolesti nego u remisiji, a slično je opisano i u bolesnika s juvenilnim idiopatskim artritisom (50, 51, 61, 62). U bolesnika s vaskulitisom povezanim s antineutrofilnim citoplazmatskim protutijelima razina S100A8/A9 povezana je s aktivnošću bolesti i rizikom relapsa (48, 59, 60). Nasuprot ovako opsežnoj literaturi u srodnim bolestima, do pokretanja ovog istraživanja nije bilo objavljeno mnogo radova koji bi izravno ispitivali ulogu S100A8/A9 kao biomarkera aktivnosti bolesti upravo u imunoglobulin A vaskulitisu (IgAV).

Ukoliko bi se dokazala povezanost vrijednosti S100A8/A9 sa stupnjem aktivnosti upale u ovih bolesnika, takav bi nalaz mogao pridonijeti kvalitetnijem praćenju bolesnika te donošenju pravovremenih i utemeljenih odluka u nadzoru i liječenju djece oboljele od IgAV-a. Polazeći od ove pretpostavke, u istraživanju čiji su rezultati objedinjeni u ovoj disertaciji ispitana je razlika u razini S100A8/A9 između bolesnika s aktivnim IgAV-om i kontrolne skupine, korelacija razine S100A8/A9 s kliničkim pokazateljem aktivnosti bolesti, kao i povezanost S100A8/A9 s drugim biomarkerima upale.

Hipoteze istraživanja

1. Vrijednosti S100A8/A9 više su u bolesnika s aktivnom bolešću nego u kontrolnoj skupini, odnosno u bolesnika u remisiji;
2. Vrijednosti S100A8/A9 koreliraju sa stupnjem aktivnosti bolesti izraženim Pedijatrijskim indeksom aktivnosti vaskulitisa (PVAS);
3. Vrijednosti S100A8/A9 koreliraju s drugim biomarkerima upale, kao što su C-reaktivni protein, brzina sedimentacije eritrocita, feritin, komponente sustava komplementa i fibrinogen.

Ciljevi istraživanja

Opći cilj ovog istraživanja bio je odrediti razinu S100A8/A9 u serumu djece oboljele od IgAV-a te ispitati njegovu vrijednost kao biomarkera aktivnosti bolesti.

Specifični ciljevi istraživanja bili su:

1. Utvrditi razinu S100A8/A9 u serumu djece oboljele od IgAV-a na početku bolesti, tri mjeseca nakon početka bolesti i šest mjeseci nakon početka bolesti;
2. Usporediti vrijednosti S100A8/A9 u serumu djece oboljele od IgAV-a s vrijednostima u serumu djece koja ne boluju od upalne bolesti bilo koje etiologije;
3. Ispitati povezanost vrijednosti S100A8/A9 u serumu djece oboljele od IgAV-a sa stupnjem aktivnosti bolesti izraženim kao PVAS;
4. Ispitati međuodnos S100A8/A9 u serumu djece oboljele od IgAV-a s drugim biomarkerima upale u djece oboljele od IgAV-a.

3. ISPITANICI I POSTUPCI

Provedeno je opažajno prospektivno istraživanje u tri tercijarna centra u Republici Hrvatskoj: Klinici za pedijatriju i Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra (KBC) Split, Klinici za pedijatriju Klinike za dječje bolesti (KDB) Zagreb te Klinici za pedijatriju i Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra (KBC) Zagreb. Istraživanje je provedeno u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost ‘’Histološki, klinički, laboratorijski i genski prediktori ishoda bolesnika s Henoch-Schönleinovom purpurom i nefritisom’’ (IP-2019-04-8822), a nastavljeno je u sklopu projekta ‘’Genski, laboratorijski, histološki i klinički prediktori ishoda bolesnika s IgA vaskulitisom’’ (akronim IGAPREDICTORS, IP-2024-05-6848), pod vodstvom prof. dr. sc. Marije Jelušić. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (18. 9. 2019., ur. br. 641-01/19-02/01), Etičko povjerenstvo KBC-a Zagreb (25. 3. 2019., ur. br. 02/21 AG) i Etičko povjerenstvo KBC-a Split (31. 5. 2019., ur. br. 500-03/19-01/48), a provedeno je u skladu s načelima dobre kliničke prakse i Helsinškom deklaracijom. Roditelji, odnosno zakonski skrbnici sve djece uključene u istraživanje, kao i djeca starija od navršenih osam godina, potpisali su pisani informirani pristanak prije uključivanja u istraživanje.

3.1. Ispitanici

U istraživanje su bila uključena sva djeca oboljela od IgAV-a liječena u klinikama za pedijatriju KBC-a Split, KDB-a Zagreb i KBC-a Zagreb tijekom razdoblja provođenja istraživanja. Dijagnoza IgAV-a postavljena je prema klasifikacijskim kriterijima Europskog saveza društava za reumatologiju (EULAR, engl. *European Alliance of Associations for Rheumatology*), Međunarodne organizacije za istraživanja u pedijatrijskoj reumatologiji (PRINTO, engl. *Paediatric Rheumatology International Trials Organisation*) i Europskog društva za pedijatrijsku reumatologiju (PRES, engl. *Paediatric Rheumatology European Society*) iz 2008. godine (3). Kontrolnu skupinu činila su djeca hospitalizirana u istim ustanovama iz drugih razloga, koja nisu bolovala ni od kakve akutne ili kronične upalne bolesti, odnosno infekcije, u vrijeme uključivanja u istraživanje. Konkretno, u našem istraživanju, radilo se o djeci obrađivanoj zbog niskog rasta, glavobolje ili sinkope.

U skupini ispitanika bilo je ukupno 69 djece oboljele od IgAV, dok je kontrolnu skupinu činilo 33 djece.

3.2. Postupci

Ispitanici su pregledavani na početku bolesti, 3 mjeseca nakon početka bolesti i 6 mjeseci nakon početka bolesti. Svaki ispitanik je klinički pregledan, prikupljeni su opći

demografski podaci - spol, dob i mjesto stanovanja - te klinički podaci koji uključuju opseg kože prekrivene osipom i vrstu promjena (purpurični osip, eventualne bule, nekroze), prisutnost zglobnih manifestacija bolesti, zahvaćenost probavnog sustava, bubrega i drugih organa bolešću, kao i podaci o lijekovima primijenjenima u liječenju bolesnika (lijekovi, doze, vrijeme početka liječenja i trajanje liječenja).

Aktivnost bolesti procijenjena je pomoću kliničkih podataka i Pedijatrijskog indeksa aktivnosti vaskulitisa (PVAS, engl. *Pediatric Vasculitis Activity Score*) - kliničkog upitnika koji se sastoji od 64 varijable, odnosno simptoma i znakova bolesti, podijeljenih unutar devet organskih sustava: opći (konstitucionalni) simptomi, zahvaćenost kože, sluznica ili očiju, sluha, nosne sluznice i/ili prisutnost subglotične stenoze, kliničke manifestacije na plućima i/ili smetnje disanja u vidu dispneje, zahvaćenost kardiovaskularnog sustava, zahvaćenost probavnog sustava, nefritis te zahvaćenost središnjeg i/ili perifernog živčanog sustava (27). Za svaku se varijablu procjenjuje je li novonastala, pogoršana u posljednja četiri tjedna ili perzistira najmanje tri mjeseca, pri čemu se svakoj varijabli dodjeljuje određen broj bodova čijim se zbrajanjem dobiva ukupan PVAS rezultat (27). Bolesnicima s aktivnom bolešću smatrani su oni koji su u trenutku pregleda imali barem jedan klinički znak bolesti (osip, artralgiju ili artritis, bubrežnu bolest, zahvaćanje probavnog sustava ili drugih organa), odnosno PVAS jednak 1 ili veći.

Uzorci krvi, urina i stolice uzimani su od svakog bolesnika na početku bolesti, tri mjeseca nakon početka bolesti i šest mjeseci nakon početka bolesti, dok su u kontrolnoj skupini uzorci uzimani samo jednom. Uzimani su parametri koji se standardno koriste u praćenju djece oboljele od IgAV-a: SE, CRP, eritrociti, hemoglobin, hematokrit, leukociti, trombociti, ureja, kreatinin, feritin, fibrinogen, d-dimeri, protrombinsko vrijeme, aktivirano parcijalno protrombinsko vrijeme, ukupni proteini, albumini, imunoglobulini G, A, M i E, aktivnost klasičnog puta komplementa (CH50), C3, C4, AST-O titar, kvalitativna analiza urina (test-traka i sediment), 24-satna proteinurija, omjer albumin/kreatinin u urinu, eGFR, stolica na okultno krvarenje i fekalni kalprotektin.

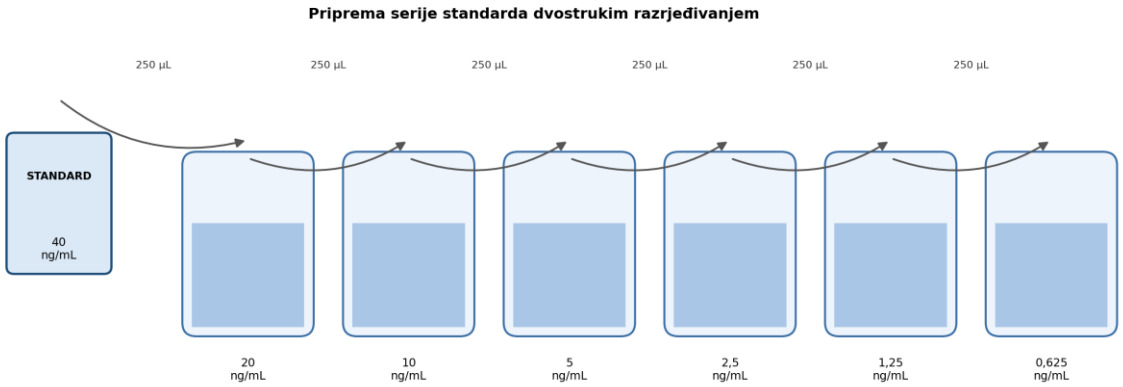
Svi uzorci testirani su neposredno po uzorkovanju standardnim metodama u laboratorijima sudjelujućih ustanova, dok su uzorci namijenjeni određivanju razine S100A8/A9 u serumu pohranjeni na -80 °C do prikupljanja dostatnog broja uzoraka za analizu, koja je provedena u Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split i Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb.

Razina S100A8/A9 u serumu određena je enzimskim imunotestom (ELISA, engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*) prema uputama proizvođača, korištenjem komercijalno

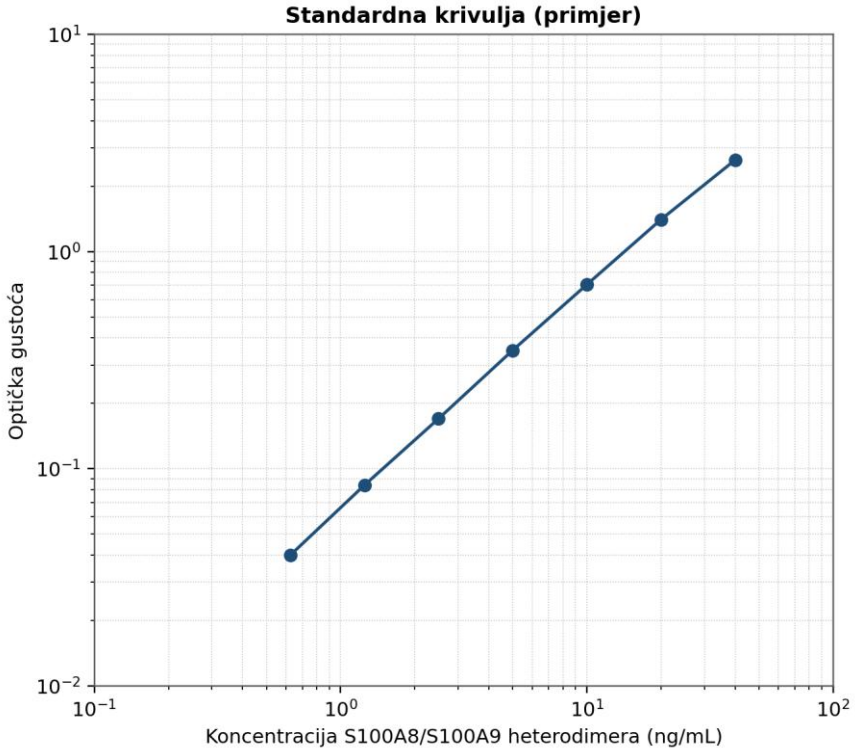
dostupnog kompleta Human S100A8/S100A9 Heterodimer Quantikine ELISA Kit (kataloški broj DS8900; R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, SAD) (69).

Analiza se temelji na principu kvantitativnog sendvič enzimskog imunotesta (69). Bunarići mikrotitarske pločice unaprijed su obloženi monoklonskim protutijelom specifičnim za humani heterodimer S100A8/S100A9. U svaki je bunarić najprije dodano 50 µL pufera za razrjeđivanje uzorka (Assay Diluent RD1-34), a potom 50 µL standarda ili razrijeđenog uzorka, nakon čega je uslijedila inkubacija u trajanju od 2 sata na sobnoj temperaturi uz mješanje na orbitalnoj tresilici (500 ± 50 okretaja u minuti); tijekom tog koraka S100A8/A9 prisutan u uzorku vezao se za protutijelo imobilizirano na dnu bunarića. Nakon ispiranja nevezanih sastojaka puferom za ispiranje dodano je 200 µL konjugata - monoklonskog protutijela specifičnog za S100A8/A9 obilježenog peroksidazom iz hrena - te je uslijedila druga, dvosatna inkubacija na sobnoj temperaturi. Nakon ponovnog ispiranja dodano je 200 µL supstratne otopine (jednakih volumena stabiliziranog vodikovog peroksida i kromogena tetrametilbenzidina), a bunarići su inkubirani 30 minuta na sobnoj temperaturi zaštićene od svjetlosti, tijekom čega je razvijeno obojenje bilo proporcionalno koncentraciji vezanog S100A8/A9. Reakcija je zaustavljena dodatkom 50 µL otopine za zaustavljanje (2 N sumporne kiseline), pri čemu je boja u bunarićima prešla iz plave u žutu, a apsorbancija je očitana unutar 30 minuta na valnoj duljini od 450 nm, uz korekciju očitanja na 540, odnosno 570 nm radi ispravka optičkih nepravilnosti mikrotitarske pločice.

Standard S100A8/A9 rekonstituiran je puferom za razrjeđivanje kalibratora (Calibrator Diluent RD5-10) u matičnu otopinu koncentracije 40 ng/mL, iz koje je pripremljena serija dvostrukih razrjeđenja (20, 10, 5, 2,5, 1,25 i 0,625 ng/mL) (Slika 4), dok je sam pufer za razrjeđivanje kalibratora poslužio kao nulti standard (0 ng/mL); svi su standardi i uzorci analizirani u duplikatu. Budući da serumski uzorci zbog visokih endogenih koncentracija S100A8/A9 zahtijevaju razrjeđivanje, uzorci seruma razrijeđeni su 200 puta prije analize prema uputi proizvođača (dvostupanjsko razrjeđenje puferom za razrjeđivanje kalibratora), a dobivena koncentracija naknadno je pomnožena s faktorom razrjeđenja kako bi se izračunala stvarna koncentracija u nerazrjeđenom uzorku (69). Standardna krivulja izrađena je metodom četveroparametarske logističke regresije (4-PL) na temelju prosječnih vrijednosti apsorbancije za svaki standard, iz koje su potom očitane koncentracije S100A8/A9 u ispitivanim uzorcima (Slika 5).



Slika 4. Priprema serije standarda dvostrukim razrjeđivanjem matične otopine Human S100A8/S100A9 Heterodimer Standard (40 ng/mL) puferom za razrjeđivanje kalibratora (Calibrator Diluent RD5-10). Izvor podataka: R&D Systems, 2020 (69).



Slika 5. Primjer standardne krivulje ovisnosti optičke gustoće o koncentraciji S100A8/S100A9 heterodimera (log-log prikaz). Izvor podataka: R&D Systems, 2020 (69).

Prema podacima proizvođača, granica osjetljivosti testa (najniža mjerljiva doza, engl. *minimum detectable dose*) kreće se u rasponu 0,005-0,215 ng/mL, sa srednjom vrijednošću od 0,086 ng/mL, dok je unutartestna preciznost (koeficijent varijacije) iznosila 2,7-4,5 %, a međutestna 3,2-5,8 % (69) (Tablica 3). Test prepoznaje prirodni i rekombinantni humani S100A8/A9 heterodimer, dok unakrsna reaktivnost s drugim srodnim proteinima S100 obitelji (S100A1, S100A2, S100A4, S100A6, S100A7, S100A10, S100A11, S100A13, S100A16,

S100B, S100P) te s receptorima RAGE i TLR4 nije zabilježena, čime je potvrđena specifičnost testa za ciljanu molekulu (69).

Tablica 3. Unutartestna i međutestna preciznost određivanja S100A8/A9 (n = 20 za svaki uzorak).*

	Unutartestna preciznost			Međutestna preciznost		
	Uzorak 1	**Uzorak 2**	**Uzorak 3**	**Uzorak 1**	**Uzorak 2**	**Uzorak 3**
n	20	20	20	20	20	20
Srednja vrijednost (ng/mL)	5,64	12,1	25,3	6,09	12,6	24,6
SD	0,155	0,370	1,14	0,352	0,606	0,792
CV (%)	2,7	3,1	4,5	5,8	4,8	3,2

* Izvor podataka: R&D Systems, 2020 (69).

n – broj ponovljenih mjerenja; SD – standardna devijacija; CV – koeficijent varijacije

Prema podacima proizvođača, orijentacijske koncentracije S100A8/A9 izmjerene u različitim biološkim uzorcima prikupljenim od naizgled zdravih dobrovoljaca prikazane su u Tablici 4 (69).

Tablica 4. Orijentacijske koncentracije S100A8/S100A9 heterodimera u različitim biološkim uzorcima naizgled zdravih dobrovoljaca.*

Vrsta uzorka	**Srednja vrijednost (ng/mL)**	**Raspon (ng/mL)**	**SD (ng/mL)**
Serum (n = 72)	2015	481-6540	1219
EDTA plazma (n = 40)	473	127-1395	295
Heparinizirana plazma (n = 40)	830	298-1640	314
Slina (n = 10)	7271	2137-18 960	5336
Urin (n = 10)	102	0,858-359	99,7
Majčino mlijeko (n = 10)	1308	34,0-5720	1876

* Izvor podataka: R&D Systems, 2020 (69).

SD – standardna devijacija; EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina

3.2.1. Statistička raščlamba

Veličina uzorka izračunata je unaprijed pomoću mrežnog kalkulatora veličine uzorka (70). Za prvu je hipotezu proračun pokazao da je za detekciju pretpostavljene veličine učinka d = 0,7 uz razinu značajnosti $\alpha = 0,05$ i statističku snagu od 80 % potrebno uključiti 33 ispitanika po skupini; u istraživanje je uključeno 69 bolesnika i 33 kontrolna ispitanika, čime je osigurana veća statistička snaga i pouzdanija procjena razlika u vrijednostima S100A8/A9 između skupina. Pretpostavljena veličina učinka (Cohenov d = 0,7), koja označava umjeren do velik učinak, odabrana je na temelju literaturnih podataka i rezultata prethodnih

istraživanja koja upućuju na umjerenu do izraženu razliku u koncentraciji biomarkera poput S100A8/A9 između bolesnika s aktivnom bolešću i kontrolnih skupina. Za drugu i treću hipotezu minimalna veličina uzorka potrebna za detekciju umjerene korelacije r = 0,35 uz α = 0,05, snagu od 80 % i predviđenih 10 % odustajanja iznosila je 68 bolesnika, što je uključena kohorta bolesnika u potpunosti zadovoljila. Pretpostavljena vrijednost korelacije (r = 0,35), koja odgovara umjerenoj povezanosti, odabrana je kao uobičajena pretpostavka u istraživanjima koja ispituju odnos između biomarkera i kliničkih parametara, primijenjena kako za korelaciju S100A8/A9 s PVAS-om, tako i za korelaciju S100A8/A9 s drugim biomarkerima upale.

Statistička raščlamba provedena je pomoću programske podrške GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Boston, MA, SAD) i programskog paketa PAST 4.16c (besplatno dostupnog softvera). Statistička obrada podataka provedena je korištenjem odgovarajućih parametrijskih i neparametrijskih metoda. Numeričke varijable opisane su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom ili medijanom i interkvartilnim rasponom. Kategorijske varijable prikazane su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Normalnost distribucije procijenjena je Shapiro-Wilkovim testom. Za usporedbu dviju nezavisnih skupina korišten je Mann-Whitneyjev U test, a za usporedbu uparenih mjerenja Wilcoxonov test. Razlike između više skupina analizirane su Kruskal-Wallisovim testom i analizom varijance (ANOVA). Povezanost kontinuiranih varijabli procijenjena je Spearmanovim i Pearsonovim koeficijentom korelacije. Dijagnostička i prediktivna vrijednost biomarkera procijenjena je ROC analizom uz izračun površine ispod krivulje (AUC), osjetljivosti, specifičnosti i optimalnih graničnih vrijednosti prema Youdenovu indeksu. Za analizu kategorijskih varijabli korišteni su hi-kvadrat test i Fisherov egzaktni test. Sve *P* vrijednosti bile su dvosmjerne, a statistička značajnost definirana je pri $P < 0,05$.

4. REZULTATI

4.1. Demografske karakteristike ispitanika

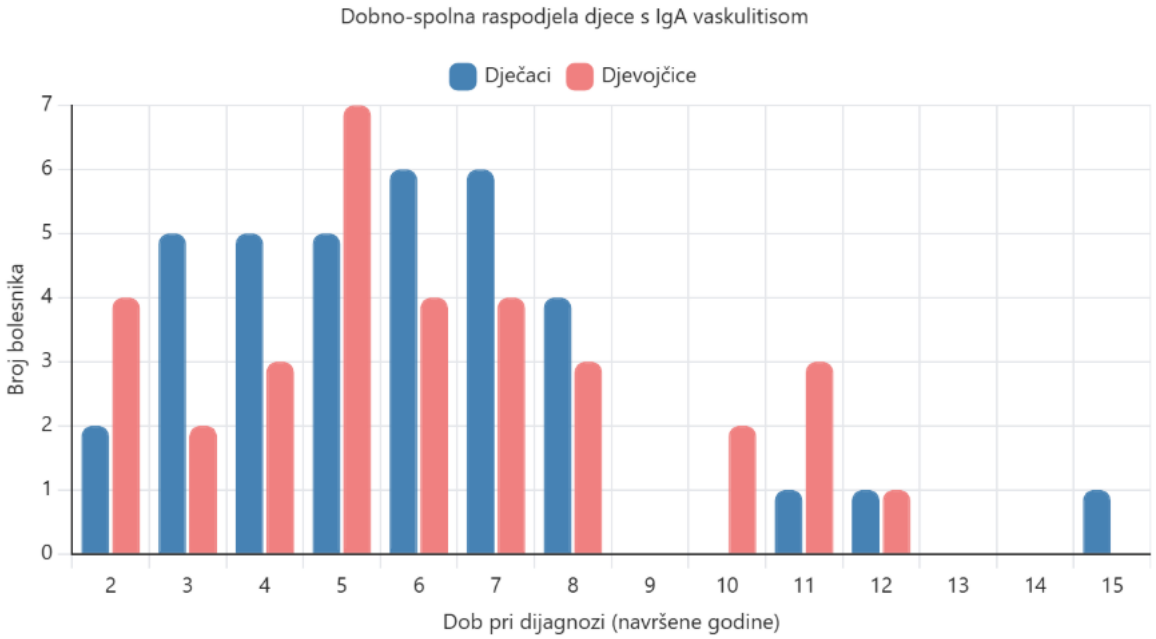
U istraživanje je uključeno ukupno 102 ispitanika, od čega 69 bolesnika s IgA vaskulitisom i 33 ispitanika kontrolne skupine. U skupini bolesnika bilo je 36 dječaka (52,2 %) i 33 djevojčice (47,8 %), dok je kontrolnu skupinu činilo 19 dječaka (57,6 %) i 14 djevojčica (42,4 %). Srednja dob pri dijagnozi u skupini bolesnika iznosila je 6,43 ± 2,71 godina, dok je u kontrolnoj skupini iznosila 11,81 ± 3,39 godina. Medijan dobi bolesnika bio je 6,00 godina, a raspon dobi 2,25–15,00 godina. U kontrolnoj skupini medijan dobi iznosio je 12,25 godina uz raspon 3,25–17,50 godina.

Demografske karakteristike ispitanika prikazane su u Tablici 5.

Tablica 5. Demografske karakteristike ispitanika.

Karakteristika	IgA vaskulitis (n=69)	Kontrolna skupina (n=33)
Dob pri dijagnozi, srednja ± SD (god.)	6,43 ± 2,71	11,81 ± 3,39
Medijan dobi (god.)	6,00	12,25
Raspon dobi (god.)	2,25–15,00	3,25–17,50
Muški spol, n (%)	36 (52,2 %)	19 (57,6 %)
Ženski spol, n (%)	33 (47,8 %)	14 (42,4 %)

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija, medijan, raspon ili broj (postotak) ispitanika
SD – standardna devijacija



Slika 6. Raspodjela djece s IgA vaskulitisom prema dobi i spolu.

Dobna i spolna raspodjela bolesnika prikazana je na Slici 6. Najveći broj bolesnika dijagnosticiran je u predškolskoj i mlađoj školskoj dobi, pri čemu su oba spola bila zastupljena kroz većinu dobnih skupina.

4.2. Kliničke značajke bolesnika

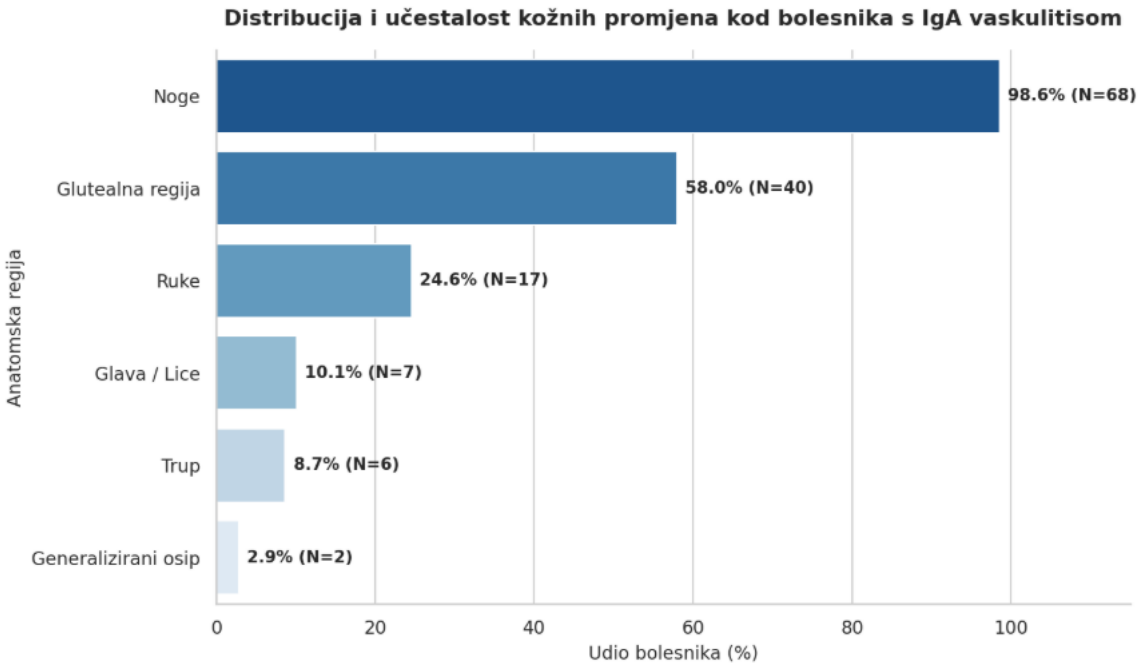
Kliničke značajke bolesnika s IgA vaskulitisom prikazane su u Tablici 6. Kožne manifestacije bile su prisutne u svih 69 bolesnika (100 %), dok su zglobne manifestacije zabilježene u 56 bolesnika (81,2 %). Gastrointestinalno zahvaćanje bilo je prisutno u 26 bolesnika (37,7 %), a bubrežno zahvaćanje u 18 bolesnika (26,1 %).

Tablica 6. Kliničke značajke bolesnika s IgA vaskulitisom.

Klinička značajka	n (%)
Kožno zahvaćanje	69 (100,0)
Osip na nogama	68 (98,6)
Glutealni osip	40 (58,0)
Osip na rukama	17 (24,6)
Osip na trupu	6 (8,7)
Osip na glavi/licu	7 (10,1)
Generalizirani osip	2 (2,9)
Zglobne manifestacije	56 (81,2)
Gležnjevi i stopala	48 (69,6)
Koljena	12 (17,4)
Šake i ručni zglobovi	6 (8,7)
Laktovi	4 (5,8)
Kukovi	2 (2,9)
Bubrežno zahvaćanje (nefritis)	18 (26,1)
Učinjena biopsija bubrega	8 (11,6)
Gastrointestinalno zahvaćanje	26 (37,7)
Pozitivno okultno krvarenje u stolici	18 (26,1)
Zahvaćenost drugih organskih sustava	4 (5,8)

4.2.1. Kožne manifestacije

Kožne promjene bile su prisutne kod svih bolesnika. Najčešća lokalizacija osipa bile su noge (98,6 %), zatim glutealna regija (58,0 %), ruke (24,6 %), glava/lice (10,1 %) i trup (8,7 %). Generalizirani osip zabilježen je u 2,9 % bolesnika.

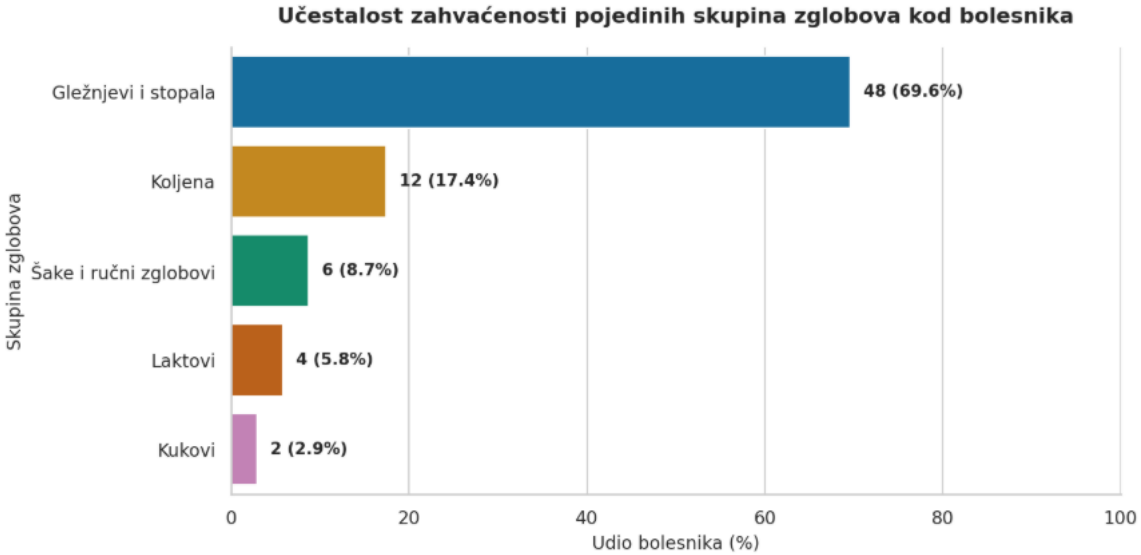


Slika 7. Lokalizacija kožnih manifestacija u bolesnika s IgA vaskulitisom.

Raspodjela kožnih promjena prema anatomskim regijama prikazana je na Slici 7.

4.2.2. Zglobne manifestacije

Zglobni sindrom bio je prisutan kod 56 bolesnika (81,2 %), kako je prikazano u Tablici 6. Najčešće su bili zahvaćeni gležnjevi i stopala (68,6 %), zatim koljena (17,1 %), šake i ručni zglobovi (8,6 %), laktovi (5,7 %) i kukovi (2,9 %).



Slika 8. Učestalost zahvaćenosti pojedinih skupina zglobova kod bolesnika sa zglobnim manifestacijama.

Raspodjela zahvaćenosti pojedinih skupina zglobova prikazana je na Slici 8.

4.2.3. Gastrointestinalno zahvaćanje

Gastrointestinalno zahvaćanje bilo je prisutno kod 26 bolesnika (37,7 %). Pozitivno okultno krvarenje u stolici zabilježeno je kod 18 bolesnika (26,1 %), što je vidljivo u Tablici 6.

Tablica 7. Usporedba bolesnika s gastrointestinalnim manifestacija i bolesnika koji nisuimali gastrointestinalne manifestacije.

Karakteristika	GI+ (n=26)	GI− (n=43)	*P*
Dob pri dijagnozi, medijan (IQR), godine	6,21 (4,62-7,81)	5,92 (4,63-7,71)	0,696
Broj zahvaćenih anatomskih regija osipom, medijan (IQR)	2 (2-3)	2 (1-2)	**0,006**
Osip iznad donjih ekstremiteta[a], n (%)	16 (61,5)	10 (23,3)	**<0,001**
Zglobne manifestacije, n (%)	21 (80,8)	35 (81,4)	1,000
Relaps bolesti, n (%)	3 (11,5)	5 (11,6)	1,000
PVAS pri dijagnozi, medijan (IQR)	6,5 (5,0-8,0)	3,0 (2,0-3,75)	**<0,001**
S100A8/A9 pri dijagnozi, medijan (IQR)	4797 (3054-8258)	6202 (3344-8000)	0,823
Liječenje glukokortikoidima, n (%)	23 (88,5)	12 (27,9)	**<0,001**
Liječenje NSAIL, n (%)	13 (50,0)	29 (67,4)	0,204
Liječenje antibioticima, n (%)	4 (15,4)	5 (11,6)	0,720
Liječenje imunosupresivima, n (%)	3 (11,5)	3 (7,0)	0,665

Podaci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon, IQR) ili broj (postotak) bolesnika

P – razina statističke značajnosti; Mann-Whitneyjev U test za numeričke, a hi-kvadrat ili Fisherov egzaktni test za kategorijske varijable

[a] Trup, ruke, glava ili generalizirani osip

GI+ – bolesnici s gastrointestinalnim zahvaćanjem; GI− – bolesnici bez gastrointestinalnog zahvaćanja; NSAIL – nesteroidni protuupalni lijekovi; PVAS – pedijatrijski indeks aktivnosti vaskulitisa

Bolesnici s gastrointestinalnim zahvaćanjem imali su veći broj zahvaćenih anatomskih regija kože te češće osip iznad razine donjih ekstremiteta u odnosu na bolesnike bez gastrointestinalnih manifestacija (Tablica 7).

U laboratorijskoj analizi (Tablica 8) bolesnici s gastrointestinalnim zahvaćanjem imali su niže vrijednosti ukupnih proteina (P = 0,001) i albumina (P = 0,038) te više vrijednosti D-dimera (P = 0,010), C-reaktivnog proteina (P = 0,025) i fekalnog kalprotektina (P = 0,011). Također su bolesnici s gastrointestinalnim zahvaćanjem imali češće pozitivan nalaz okultnog kravrenja u stolici (Tablica 9, P < 0,001). Koncentracije S100A8/A9 nisu se razlikovale

između bolesnika sa i bez gastrointestinalnog zahvaćanja (medijan 4797 prema 6202 ng/mL; $P = 0,823$).

Tablica 8. Razlika vrijednosti laboratorijskih parametara kod bolesnika s gastrointestinalnim manifestacijama i bolesnika koji nisu imali gastrointestinalne manifestacije.

Laboratorijski parametar	N (DA)	DA: Medijan (IQR)	N (NE)	NE: Medijan (IQR)	*P**
Ukupni proteini (g/L)	26	66,0 (61,2-68,8)	42	70,0 (67,0-73,0)	**0,001**
D-dimeri (mg/L)	26	4,21 (2,21-5,75)	42	1,84 (0,96-3,09)	**0,010**
Kalprotektin u stolici (mg/kg)	23	50,0 (23,0-161,5)	40	27,5 (20,0-48,2)	**0,011**
C-reaktivni protein / CRP (mg/L)	26	12,7 (3,3-23,2)	42	4,05 (1,60-8,55)	**0,025**
Serumski albumin (g/L)	26	37,9 (34,5-38,7)	42	39,4 (37,2-42,8)	**0,038**
Imunoglobulin M / IgM (g/L)	26	0,82 (0,65-1,04)	42	1,00 (0,79-1,26)	**0,044**
Gama globulini (g/L)	20	8,60 (7,70-10,57)	33	9,73 (8,24-12,00)	0,065
Imunoglobulin G / IgG (g/L)	26	9,52 (7,55-10,46)	42	10,4 (8,3-12,6)	0,087
Sedimentacija eritrocita (mm/h)	26	12,5 (7,5-20,0)	41	17,0 (10,0-27,0)	0,106
Alfa-1 globulini (g/L)	20	4,05 (3,51-4,62)	33	3,60 (3,22-4,20)	0,135
Beta globulini (g/L)	20	7,62 (7,17-7,96)	33	7,80 (7,56-8,27)	0,251
Alfa-2 globulini (g/L)	20	8,69 (8,07-10,12)	33	9,00 (8,70-9,83)	0,313
Fibrinogen (g/L)	24	3,25 (2,48-3,73)	42	3,40 (2,83-3,77)	0,340
Feritin (µg/L)	23	71,3 (48,6-106,2)	38	60,6 (44,8-85,6)	0,368
Hemoglobin (g/L)	26	131,0 (116,8-134,5)	41	126,0 (118,0-132,0)	0,374
Kreatinin (µmol/L)	26	32,5 (30,0-38,0)	42	36,0 (29,5-39,0)	0,376
Hematokrit	24	0,38 (0,35-0,39)	38	0,36 (0,34-0,38)	0,398
24-satna proteinurija (mg/24h)	23	62,0 (50,0-150,0)	38	65,0 (41,5-97,5)	0,439
Urea (mmol/L)	26	3,95 (3,20-4,83)	42	4,15 (3,60-4,78)	0,636
Imunoglobulin A / IgA (g/L)	26	1,87 (1,50-2,38)	42	1,93 (1,41-2,18)	0,654
Eritrociti ($\times 10^{12}$/L)	26	4,71 (4,38-4,99)	41	4,75 (4,53-4,97)	0,733
Komponenta komplementa C4 (g/L)	24	0,27 (0,22-0,32)	32	0,26 (0,20-0,34)	0,823
S100A8/A9 u serumu (ng/mL)	26	4797 (3054-8258)	43	6202 (3344-8000)	0,823

Laboratorijski parametar	N (DA)	DA: Medijan (IQR)	N (NE)	NE: Medijan (IQR)	*P**
Trombociti ($\times 10^9$/L)	26	341,0 (289,0-430,8)	41	353,0 (278,0-424,0)	0,867
Komponenta komplementa C3 (g/L)	24	1,35 (1,22-1,48)	32	1,33 (1,20-1,49)	0,974
Leukociti ($\times 10^9$/L)	26	10,0 (8,1-13,4)	41	10,3 (8,9-11,3)	0,974

Podaci su prikazani kao broj ispitanika (N) te medijan (interkvartilni raspon, IQR)

* Mann-Whitneyjev U test

DA – bolesnici s gastrointestinalnim zahvaćanjem; NE – bolesnici bez gastrointestinalnog zahvaćanja; CRP – C-reaktivni protein; IgA, IgG, IgM – imunoglobulini A, G i M

Tablica 9. Usporedba zahvaćenosti probavnog sustava i nalaza okultnog krvarenja u stolici.

Zahvaćenost probavnog sustava	Okultno krvarenje: NEGATIVNO	Okultno krvarenje: POZITIVNO
Aktivna (da)	9 bolesnika (34,6 %)	17 bolesnika (65,4 %)
Bez zahvaćenosti (ne)	42 bolesnika (97,7 %)	1 bolesnika (2,3 %)

4.2.4. Bubrežno zahvaćanje

Nefritis je zabilježen kod 18 bolesnika (26,1 %), dok je biopsija bubrega učinjena kod 8 bolesnika (11,6 %), kako se vidi iz Tablice 6.

Tablica 10. Usporedba bolesnika s nefritisom i bolesnika koji nisu imali bubrežne manifestacije.

Karakteristika	Nefritis+ (n=18)	Nefritis− (n=51)	*P*
Dob pri dijagnozi, medijan (IQR), godine	7,75 (5,42-10,67)	5,92 (4,46-7,21)	**0,026**
Broj zahvaćenih anatomskih regija osipom, medijan (IQR)	2 (1-2,75)	2 (1,5-2)	0,918
Osip iznad donjih ekstremiteta[a], n (%)	7 (38,9)	16 (31,4)	0,573
Zglobne manifestacije, n (%)	13 (72,2)	43 (84,3)	0,301
Relaps bolesti, n (%)	6 (33,3)	2 (3,9)	**0,003**
PVAS pri dijagnozi, medijan (IQR)	7,5 (5,25-12,0)	3,0 (2,0-5,0)	**<0,001**
S100A8/A9 pri dijagnozi, medijan (IQR)	5471 (3370-7929)	4758 (3344-8000)	0,816
Liječenje glukokortikoidima, n (%)	12 (66,7)	23 (45,1)	0,171
Liječenje NSAIL, n (%)	10 (55,6)	32 (62,7)	0,589
Liječenje antibioticima, n (%)	1 (5,6)	8 (15,7)	0,428
Liječenje imunosupresivima, n (%)	6 (33,3)	0 (0,0)	**<0,001**

Podaci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon, IQR) ili broj (postotak) bolesnika

P – razina statističke značajnosti; Mann-Whitneyjev U test za numeričke, a hi-kvadrat ili Fisherov egzaktni test za kategorijske varijable

[a] Trup, ruke, glava ili generalizirani osip

Nefritis+ – bolesnici s nefritisom; Nefritis− – bolesnici bez nefritisa; NSAIL – nesteroidni protuupalni lijekovi; PVAS – pedijatrijski indeks aktivnosti vaskulitisa

Bolesnici s nefritisom bili su stariji pri postavljanju dijagnoze te su imali veću učestalost relapsa bolesti. Također su imali više vrijednosti PVAS skora, što je vidljivo iz Tablice 10. Imunosupresivna terapija primijenjena je kod šest bolesnika, pri čemu su svi liječeni bolesnici imali nefritis.

Tablica 11. Razlika vrijednosti laboratorijskih parametara kod bolesnika s bubrežnom bolesti i bolesnika koji nisu imali bubrežne manifestacije bolesti.

Laboratorijski nalaz / Parametar	Bubrežna bolest - DA (N i Deskriptivna stat.)	Bez bubrežne bolesti - NE (N i Deskriptivna stat.)	*P**
Sedimentacija eritrocita (SE)	N = 17 11,82 ± 5,80 Med: 12,00 (7,00-17,00)	N = 50 21,14 ± 16,46 Med: 17,00 (10,00-26,50)	**0,031**
C-reaktivni protein (CRP)	N = 18 11,92 ± 14,35 Med: 4,05 (2,30-22,32)	N = 50 11,64 ± 14,70 Med: 6,15 (2,80-14,35)	0,651
Leukociti (L)	N = 18 12,12 ± 5,18 Med: 11,60 (8,85-12,90)	N = 49 10,59 ± 3,33 Med: 10,10 (8,28-11,30)	0,333
Eritrociti (E)	N = 18 4,72 ± 0,51 Med: 4,83 (4,60-4,99)	N = 49 4,71 ± 0,39 Med: 4,68 (4,45-4,97)	0,347
Hemoglobin (Hb)	N = 18 128,06 ± 16,05 Med: 131,50 (126,25-136,00)	N = 49 124,53 ± 10,37 Med: 125,00 (117,00-132,00)	0,102
Hematokrit (Ht)	N = 16 0,38 ± 0,04 Med: 0,39 (0,37-0,40)	N = 46 0,36 ± 0,03 Med: 0,36 (0,34-0,38)	**0,016**
Trombociti (Tr)	N = 18 369,39 ± 136,28 Med: 338,00 (280,25-426,00)	N = 49 359,94 ± 98,17 Med: 355,00 (293,00-424,00)	0,783
Urea	N = 18 4,28 ± 1,23 Med: 4,00 (3,40-4,75)	N = 50 4,20 ± 1,08 Med: 4,20 (3,42-4,85)	0,983
Kreatinin	N = 18 37,83 ± 8,51 Med: 37,00 (32,25-43,25)	N = 50 33,62 ± 8,75 Med: 34,50 (27,25-38,75)	0,113
Feritin	N = 14 89,93 ± 66,49 Med: 64,15 (49,60-109,67)	N = 47 72,42 ± 40,58 Med: 64,00 (45,50-86,25)	0,589
Komplement C3	N = 15 1,23 ± 0,27 Med: 1,29 (1,06-1,37)	N = 41 1,37 ± 0,23 Med: 1,37 (1,24-1,54)	0,073
Komplement C4	N = 15 0,23 ± 0,08 Med: 0,19 (0,18-0,27)	N = 41 0,29 ± 0,10 Med: 0,27 (0,23-0,35)	**0,023**
Fibrinogen	N = 17 2,91 ± 0,81 Med: 2,80 (2,10-3,70)	N = 49 3,54 ± 0,97 Med: 3,40 (2,80-4,00)	**0,025**
D-dimeri	N = 18 3,90 ± 5,77 Med: 1,90 (0,57-4,51)	N = 50 4,49 ± 5,09 Med: 2,92 (1,21-5,32)	0,345
Ukupni proteini	N = 18 66,47 ± 6,39 Med: 66,50 (62,45-69,50)	N = 50 68,58 ± 6,44 Med: 69,00 (66,00-72,00)	0,172

Laboratorijski nalaz / Parametar	Bubrežna bolest - DA (N i Deskriptivna stat.)	Bez bubrežne bolesti - NE (N i Deskriptivna stat.)	*P*[*]
Imunoglobulin M (IgM)	N = 18 1,02 ± 0,40 Med: 0,89 (0,78-1,10)	N = 50 1,02 ± 0,46 Med: 0,94 (0,69-1,23)	0,846
Imunoglobulin A (IgA)	N = 18 2,56 ± 2,27 Med: 1,90 (1,51-2,64)	N = 50 1,87 ± 0,67 Med: 1,91 (1,33-2,16)	0,359
Imunoglobulin G (IgG)	N = 18 8,64 ± 2,94 Med: 8,60 (7,55-9,55)	N = 50 10,36 ± 3,12 Med: 10,43 (8,14-12,60)	**0,020**
Albumin	N = 18 41,01 ± 7,60 Med: 39,70 (36,50-44,73)	N = 50 38,53 ± 4,66 Med: 38,55 (35,62-40,83)	0,150
Alfa 1 globulini	N = 14 3,56 ± 0,74 Med: 3,48 (3,12-3,98)	N = 39 3,98 ± 0,73 Med: 3,90 (3,43-4,37)	0,063
Alfa 2 globulini	N = 14 8,42 ± 1,33 Med: 8,55 (8,22-9,00)	N = 39 9,33 ± 1,60 Med: 9,10 (8,70-10,13)	**0,032**
Beta globulini	N = 14 8,04 ± 1,12 Med: 7,83 (7,60-8,65)	N = 39 7,56 ± 0,78 Med: 7,70 (7,30-7,91)	0,149
Gama globulini	N = 14 8,49 ± 1,36 Med: 8,02 (7,70-9,01)	N = 39 10,32 ± 2,97 Med: 10,10 (8,20-11,95)	**0,017**
S100A8/A9	N = 18 5854,68 ± 3432,54 Med: 5470,80 (3369,80-7929,30)	N = 51 5699,98 ± 3088,96 Med: 4758,00 (3343,50-8000,00)	0,816
Kalprotektin u stolici	N = 16 103,25 ± 166,17 Med: 20,00 (20,00-70,50)	N = 47 89,81 ± 161,76 Med: 37,00 (20,00-89,00)	0,424
24-satna proteinurija	N = 16 805,19 ± 1503,90 Med: 140,00 (61,50-795,00)	N = 45 67,87 ± 37,89 Med: 58,00 (40,00-90,00)	**<0,001**

Podaci su prikazani kao broj ispitanika (N), aritmetička sredina ± standardna devijacija (SD) i medijan (Med) s interkvartilnim rasponom (IQR)

[*] Mann-Whitneyjev U test

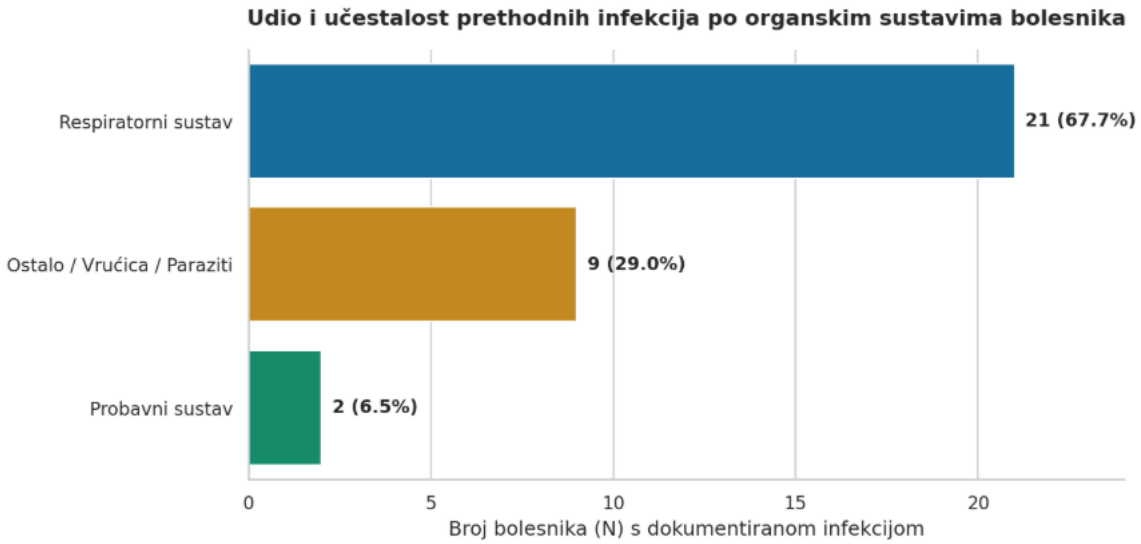
DA – bolesnici s bubrežnom bolešću (nefritisom); NE – bolesnici bez bubrežne bolesti; SE – sedimentacija eritrocita; CRP – C-reaktivni protein; L – leukociti; E – eritrociti; Hb – hemoglobin; Ht – hematokrit; Tr – trombociti; C3, C4 – komponente komplementa; IgA, IgG, IgM – imunoglobulini A, G i M

U laboratorijskim nalazima (Tablica 11) utvrđene su više vrijednosti 24-satne proteinurije ($P < 0,001$) te niže koncentracije C4 ($P = 0,023$), IgG ($P = 0,020$), gama-globulina ($P = 0,017$) i alfa-2 globulina ($P = 0,032$) kod bolesnika s nefritisom. Također su utvrđene razlike u vrijednostima hematokrita ($P = 0,016$), fibrinogena ($P = 0,025$) i sedimentacije eritrocita ($P = 0,031$).

Koncentracije S100A8/A9 nisu se razlikovale između bolesnika s nefritisom i bez nefritisa (5470,8 prema 4758,0 ng/mL; *P* = 0,816).

4.3. Prethodne infekcije i mikrobiološki nalazi

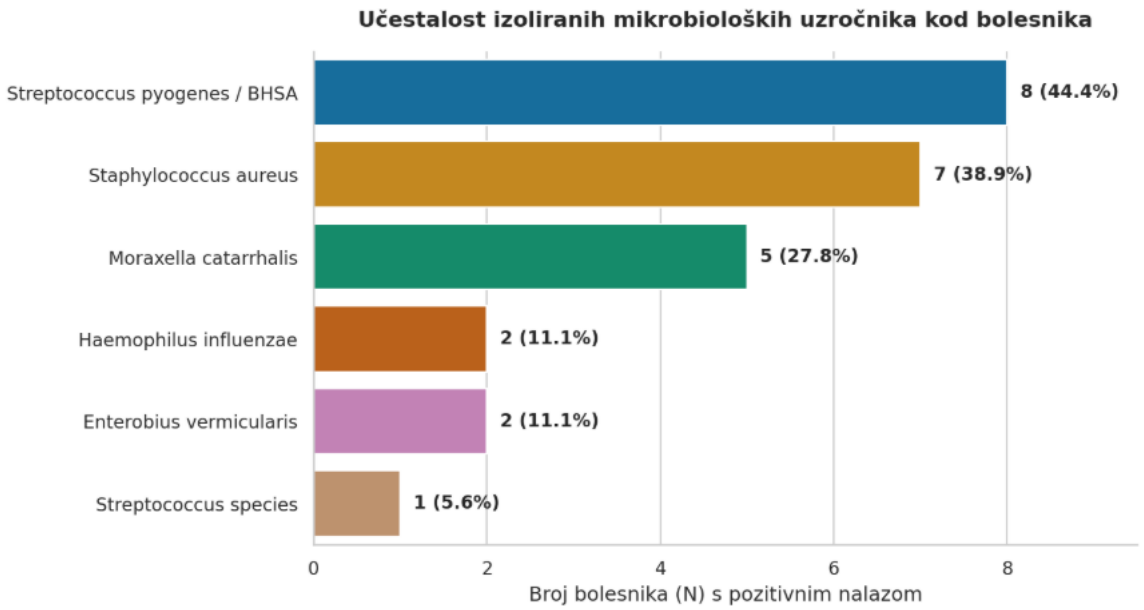
Podaci o prethodnim infekcijama bili su dostupni za većinu ispitanika. Prethodna infekcija zabilježena je kod 31 bolesnika (44,9 %), dok kod 25 bolesnika (36,2 %) nije evidentirana. Za 13 bolesnika (18,8 %) podaci o prethodnoj infekciji nisu bili dostupni.



Slika 9. Raspodjela prethodnih infekcija prema zahvaćenom organskom sustavu.

Najčešće su bile infekcije respiratornog sustava (Slika 9), koje su zabilježene kod 21 bolesnika (67,7 % svih bolesnika s dokumentiranom prethodnom infekcijom). Ostale infekcije, febrilna stanja i parazitarne infestacije bile su prisutne kod 9 bolesnika (29,0 %), dok su infekcije probavnog sustava zabilježene kod 2 bolesnika (6,5 %).

Mikrobiološki uzročnik identificiran je kod 18 bolesnika (26,1 %), što je prikazano na slici 10.



Slika 10. Učestalost izoliranih mikrobioloških uzročnika.

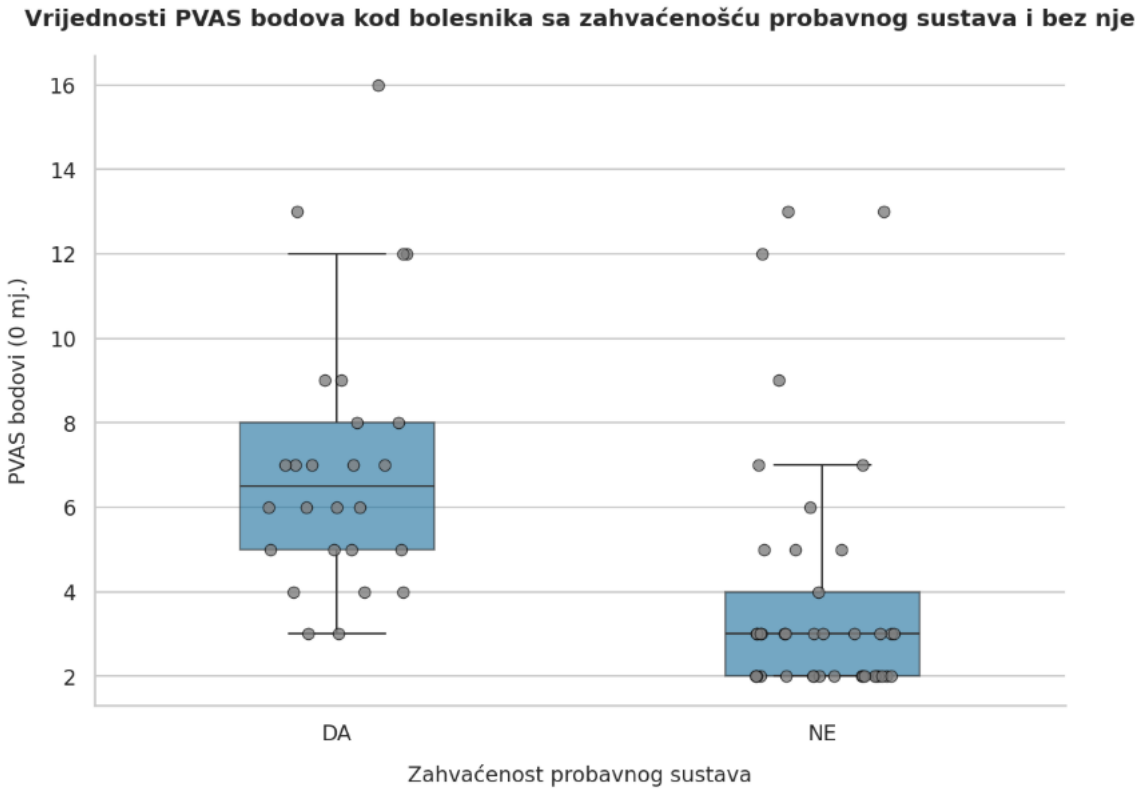
Najčešće je izoliran *Streptococcus pyogenes*/BHSA kod 8 bolesnika (44,4 %), zatim *Staphylococcus aureus* kod 7 bolesnika (38,9 %) i *Moraxella catarrhalis* kod 5 bolesnika (27,8 %). Rjeđe su izolirani *Haemophilus influenzae* i *Enterobius vermicularis*, svaki kod 2 bolesnika (11,1 %), te ostali streptokoki kod jednog bolesnika (5,6 %). Pozitivan mikrobiološki nalaz zabilježen je u približno četvrtine bolesnika uključenih u istraživanje.

4.4. Aktivnost bolesti procijenjena PVAS-om

Aktivnost bolesti procijenjena je primjenom pedijatrijskog indeksa aktivnosti vaskulitisa (PVAS). Analiza PVAS vrijednosti provedena je s obzirom na prisutnost bubrežnog zahvaćanja, gastrointestinalnog zahvaćanja i zglobnog sindroma te u odnosu na koncentracije biomarkera S100A8/A9.

4.4.1. PVAS i gastrointestinalno zahvaćanje

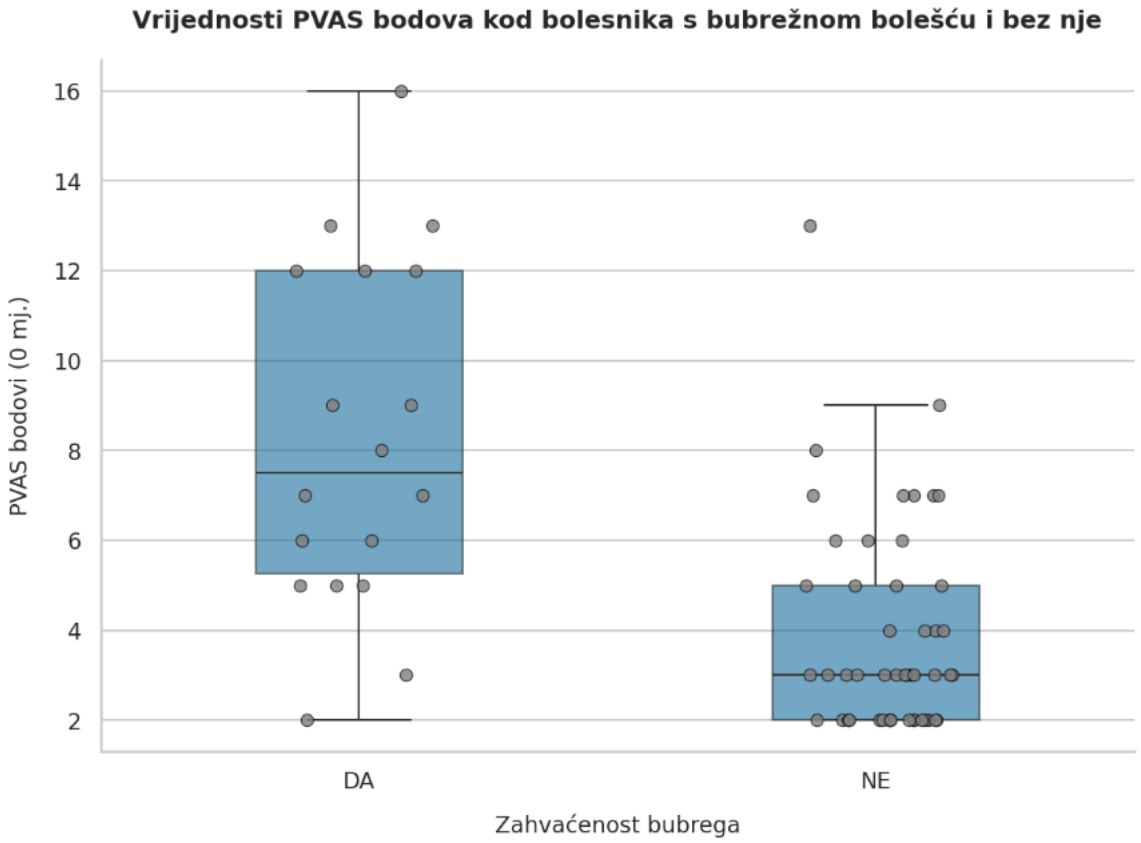
Bolesnici s gastrointestinalnim zahvaćanjem imali su više vrijednosti aktivnosti bolesti u odnosu na bolesnike bez gastrointestinalnih manifestacija (Slika 11). Medijan PVAS-a iznosio je 6,5 bodova (IQR 4,2-9,0) naspram 3,0 boda (IQR 2,0-5,0), uz statistički značajnu razliku ($P < 0,001$).



Slika 11. Usporedba PVAS vrijednosti kod bolesnika s gastrointestinalnim manifestacijama i bolesnika bez gastrointestinalnih manifestacija.

4.4.2. PVAS i bubrežno zahvaćanje

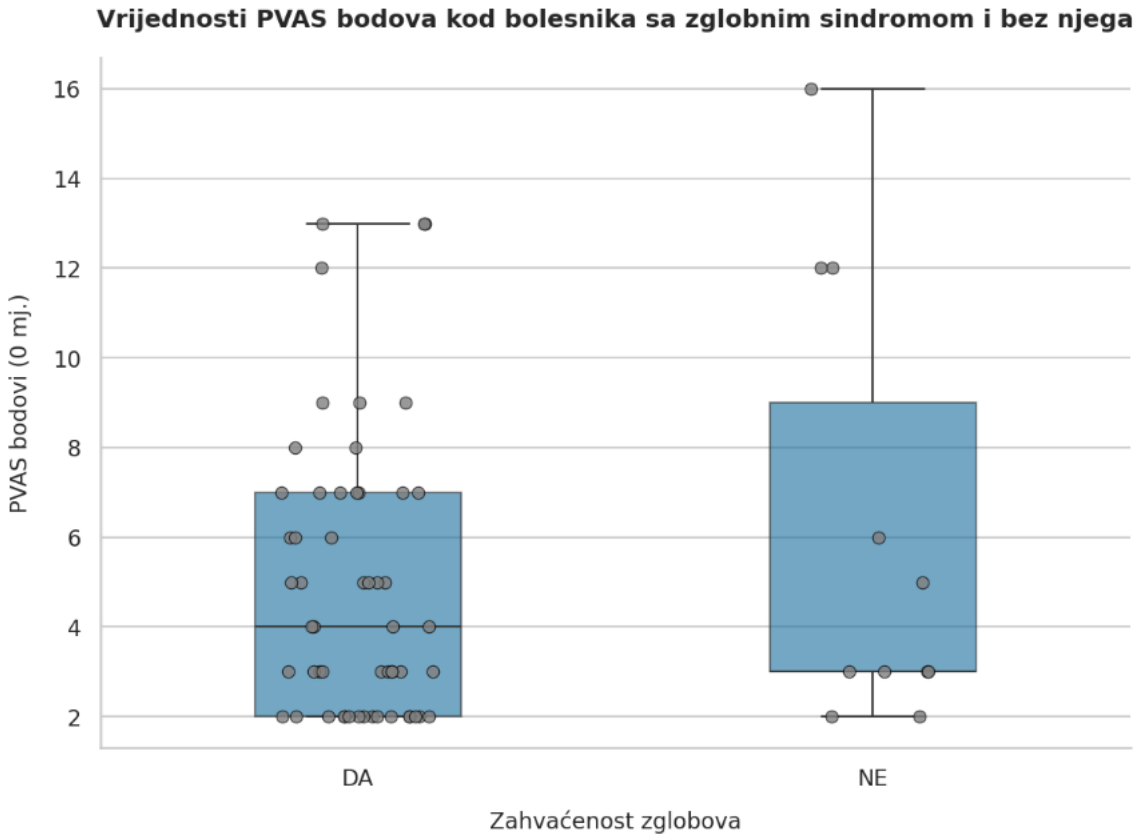
Bolesnici s nefritisom imali su više vrijednosti PVAS-a od bolesnika bez bubrežnog zahvaćanja (Slika 12). Medijan PVAS-a iznosio je 7,5 bodova (IQR 5,0-12,0) naspram 3,0 boda (IQR 2,0-5,0), uz statistički značajnu razliku ($P < 0,001$).



Slika 12. Usporedba PVAS vrijednosti kod bolesnika s nefitisom i bolesnika bez bubrežnih manifestacija.

4.4.3. PVAS i zglobni sindrom

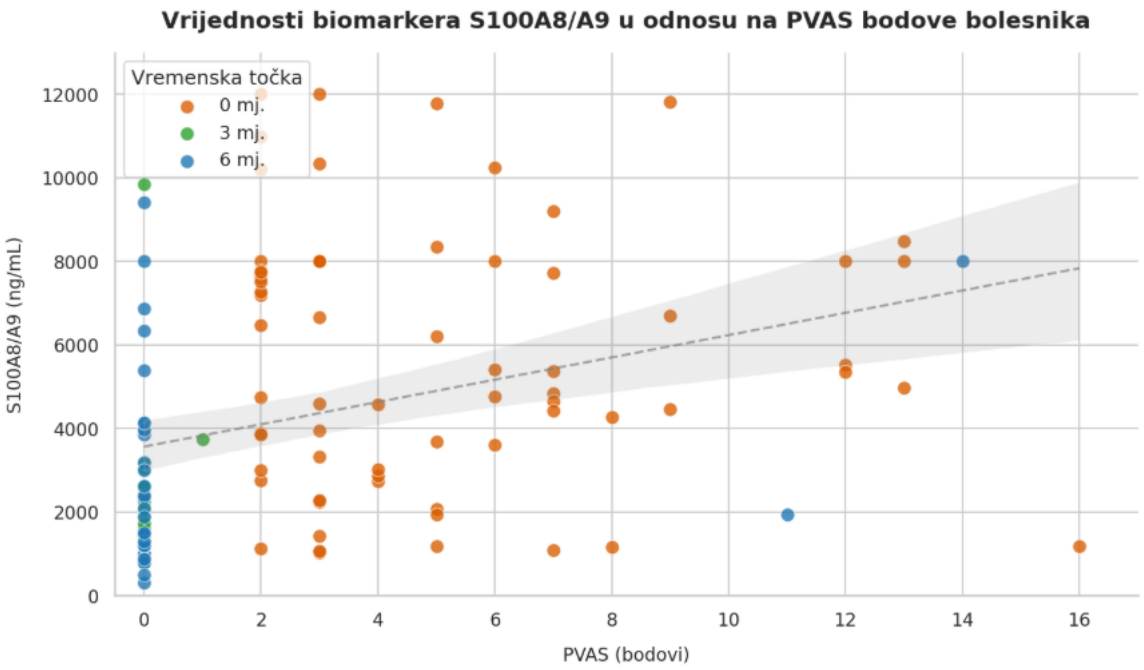
Nije utvrđena statistički značajna razlika PVAS vrijednosti između bolesnika sa i bez zglobnih manifestacija (Slika 13). Medijan PVAS-a iznosio je 4,0 boda (IQR 2,8-6,2) naspram 3,0 boda (IQR 3,0-8,0) (P = 0,642).



Slika 13. Usporedba PVAS vrijednosti kod bolesnika sa zglobnim maniefstacjama i bolesnika koji nisu imali zglobne manifestacije.

4.4.4. Povezanost PVAS-a i koncentracije S100A8/A9

Na ukupno 125 mjerenja utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija između PVAS-a i koncentracije S100A8/A9 (Spearman rs = 0,451; $P < 0,001$; Pearson r = 0,317; $P < 0,001$), što je prikazano na slici 14.



Slika 14. Povezanost koncentracije S100A8/A9 i PVAS-a tijekom praćenja bolesnika.

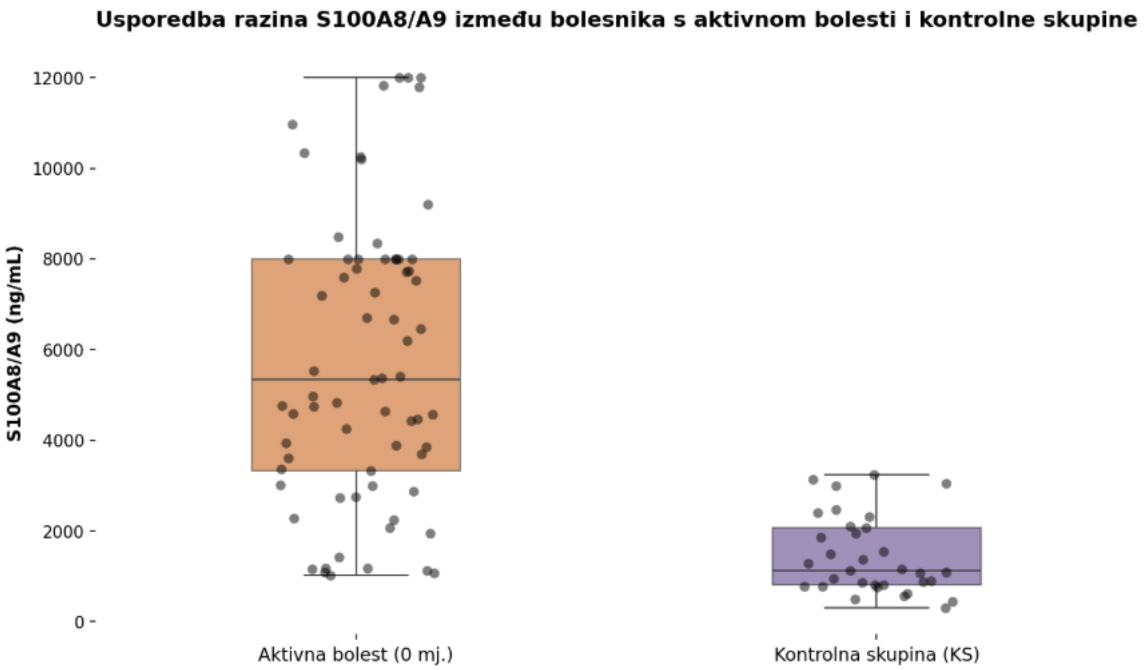
Kada su vremenske točke analizirane zasebno, statistički značajna korelacija nije utvrđena pri dijagnozi, nakon 3 mjeseca niti nakon 6 mjeseci praćenja.

4.5. Koncentracije S100A8/A9 tijekom aktivne bolesti, remisije i praćenja bolesnika

Koncentracije proteina S100A8/A9 određivane su tijekom aktivne bolesti, tijekom remisije te tijekom praćenja bolesnika nakon 3 i 6 mjeseci. Dodatno je provedena usporedba s kontrolnom skupinom zdravih ispitanika.

4.5.1. Aktivna bolest i kontrolna skupina

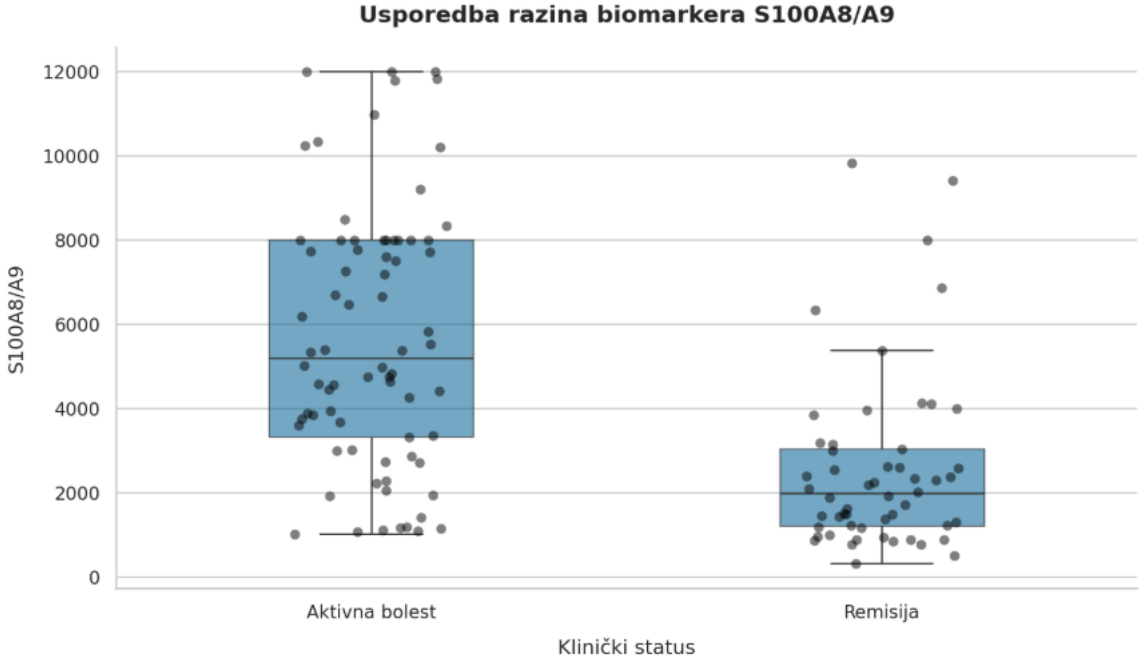
Koncentracije S100A8/A9 bile su značajno više u bolesnika s aktivnom bolešću nego u kontrolnoj skupini (Slika 15). Medijan koncentracije iznosio je 5348 ng/mL u skupini bolesnika i 1132 ng/mL u kontrolnoj skupini ($P < 0{,}001$).



Slika 15. Usporedba koncentracija S100A8/A9 između bolesnika s aktivnom bolesti i kontrolne skupine.

4.5.2. Aktivna bolest i remisija

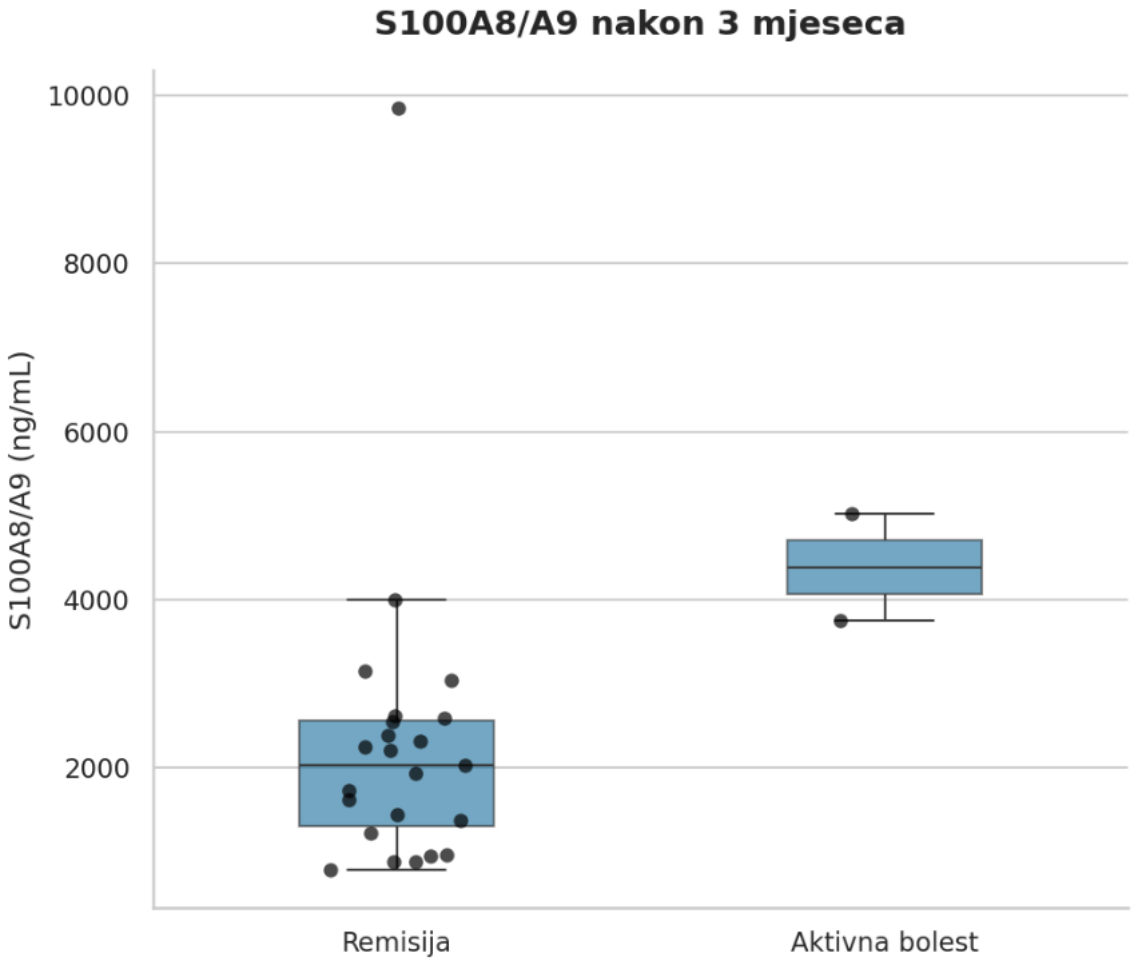
Ukupno su analizirana 74 mjerenja tijekom aktivne bolesti i 54 mjerenja tijekom remisije (Slika 16). Medijan koncentracije tijekom aktivne bolesti bio je 5185 ng/mL, a tijekom remisije 1978,5 ng/mL. Razlika je bila statistički značajna ($P < 0,001$).



Slika 16. Usporedba koncentracija S100A8/A9 tijekom aktivne bolesti i remisije.

4.5.3. Koncentracije S100A8/A9 nakon 3 mjeseca praćenja

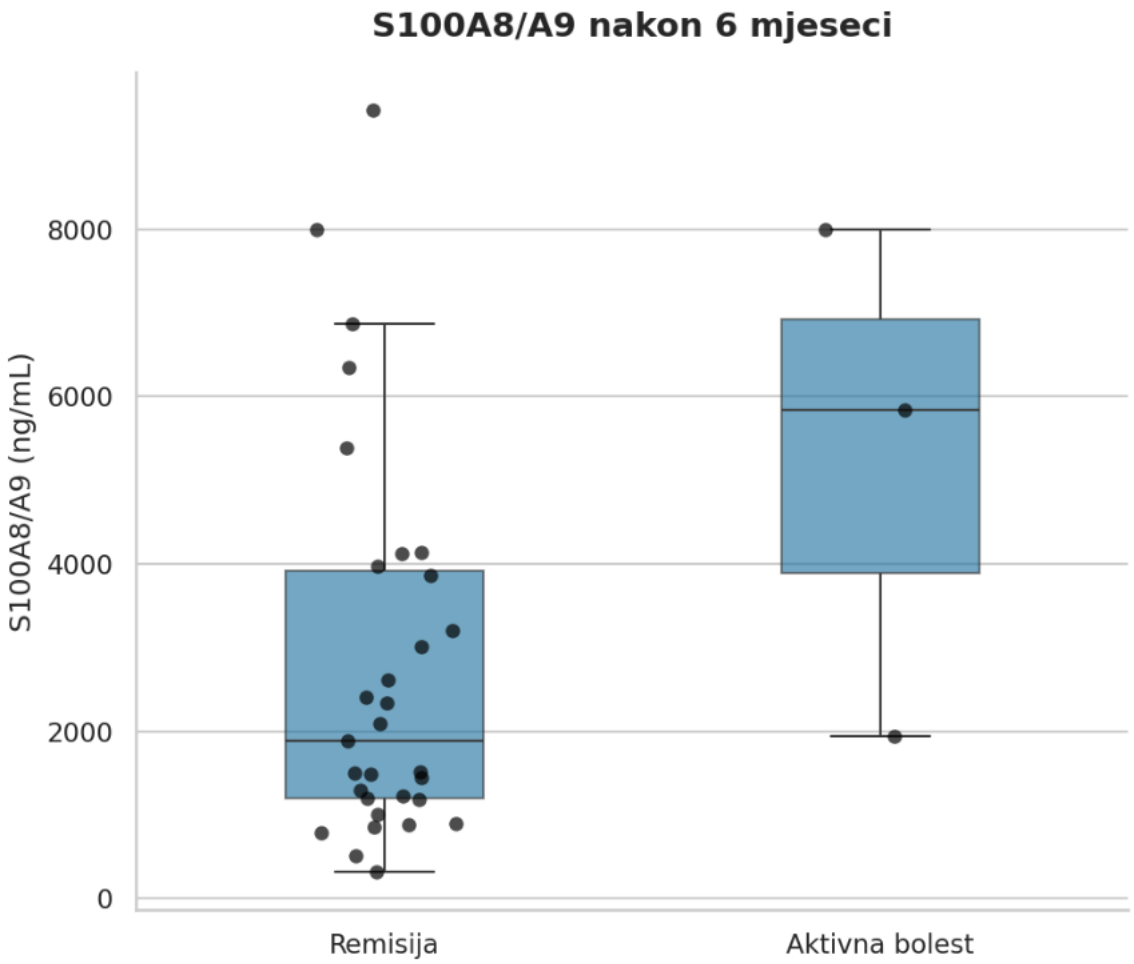
Nakon 3 mjeseca praćenja medijan koncentracije iznosio je 4386 ng/mL u aktivnoj bolesti i 2028 ng/mL u remisiji (P = 0,040), što je prikazano na slici 17.



Slika 17. Koncentracije S100A8/A9 nakon 3 mjeseca praćenja.

4.5.4. Koncentracije S100A8/A9 nakon 6 mjeseci praćenja

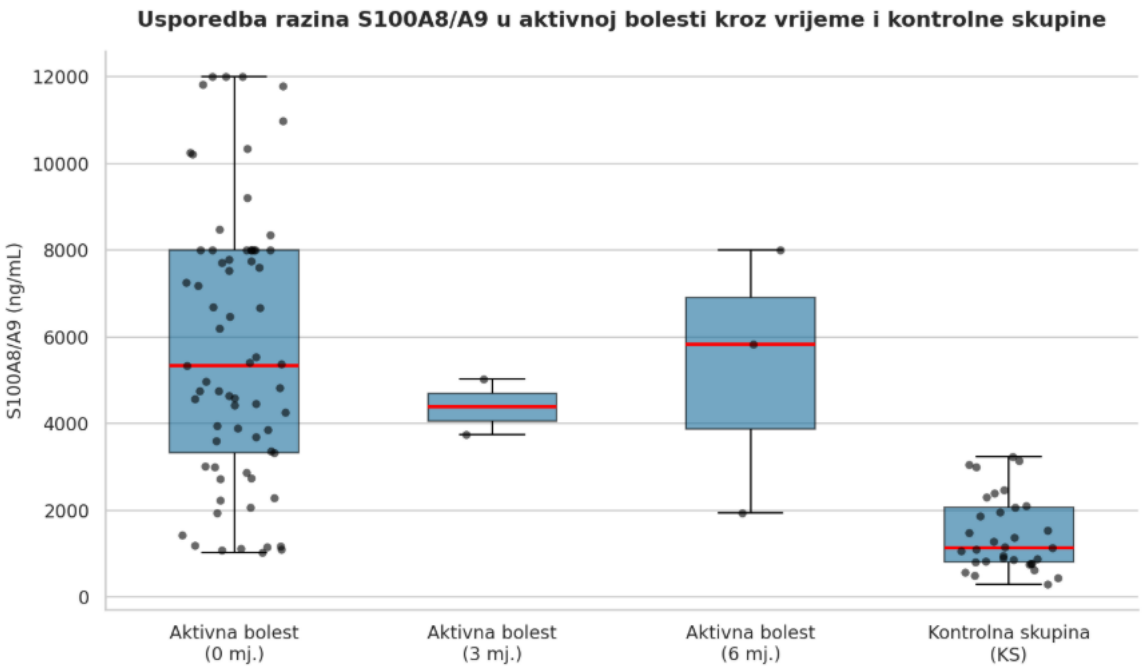
Nakon 6 mjeseci praćenja medijan koncentracije iznosio je 5837 ng/mL u aktivnoj bolesti i 1887,4 ng/mL u remisiji. Razlika nije bila statistički značajna (P = 0,122), što je vidljivo iz Slike 18.



Slika 18. Koncentracije S100A8/A9 nakon 6 mjeseci praćenja.

4.5.5. Dinamika koncentracija S100A8/A9 tijekom praćenja

Medijan koncentracije iznosio je 5348 ng/mL pri dijagnozi, 4386 ng/mL nakon 3 mjeseca te 5837 ng/mL nakon 6 mjeseci. U kontrolnoj skupini medijan je iznosio 1132 ng/mL. U svim vremenskim točkama aktivne bolesti vrijednosti su bile više nego u kontrolnoj skupini (Slika 19).

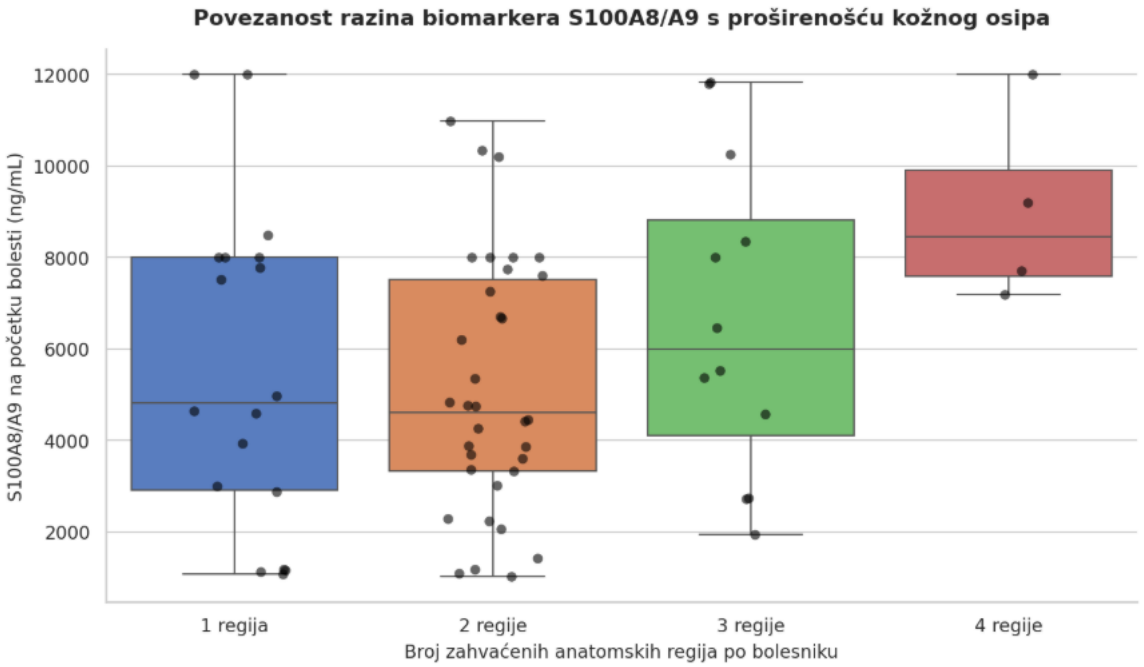


Slika 19. Usporedba koncentracija S100A8/A9 tijekom aktivne bolesti pri dijagnozi, nakon 3 i 6 mjeseci te u kontrolnoj skupini.

4.6. Povezanost koncentracija S100A8/A9 s kliničkim manifestacijama bolesti

4.6.1. Povezanost koncentracija S100A8/A9 s kožnim manifestacijama

Medijan koncentracije S100A8/A9 iznosio je 4813,5 ng/mL kod zahvaćenosti jedne regije, 4606,6 ng/mL kod zahvaćenosti dviju regija, 6000,2 ng/mL kod zahvaćenosti triju regija te 8460,6 ng/mL kod zahvaćenosti četiriju regija (Slika 20).



Slika 20. Povezanost razine S100A8/A9 s proširenošću kožnog osipa.

Pearsonov koeficijent korelacije između broja zahvaćenih regija i koncentracije S100A8/A9 iznosio je r = 0,226 (*P* = 0,064), dok je Spearmanov koeficijent iznosio rs = 0,171 (*P* = 0,164). Kruskal-Wallisov test nije pokazao statistički značajnu razliku između skupina (H = 5,691; *P* = 0,128).

Kod bolesnika s generaliziranim osipom utvrđene su više koncentracije S100A8/A9 u odnosu na bolesnike s lokaliziranim osipom (10 602,0 prema 4906,5 ng/mL; *P* = 0,040), kako je prikazano u Tablici 12.

Tablica 12. Koncentracije S100A8/A9 prema obilježjima kožnog osipa

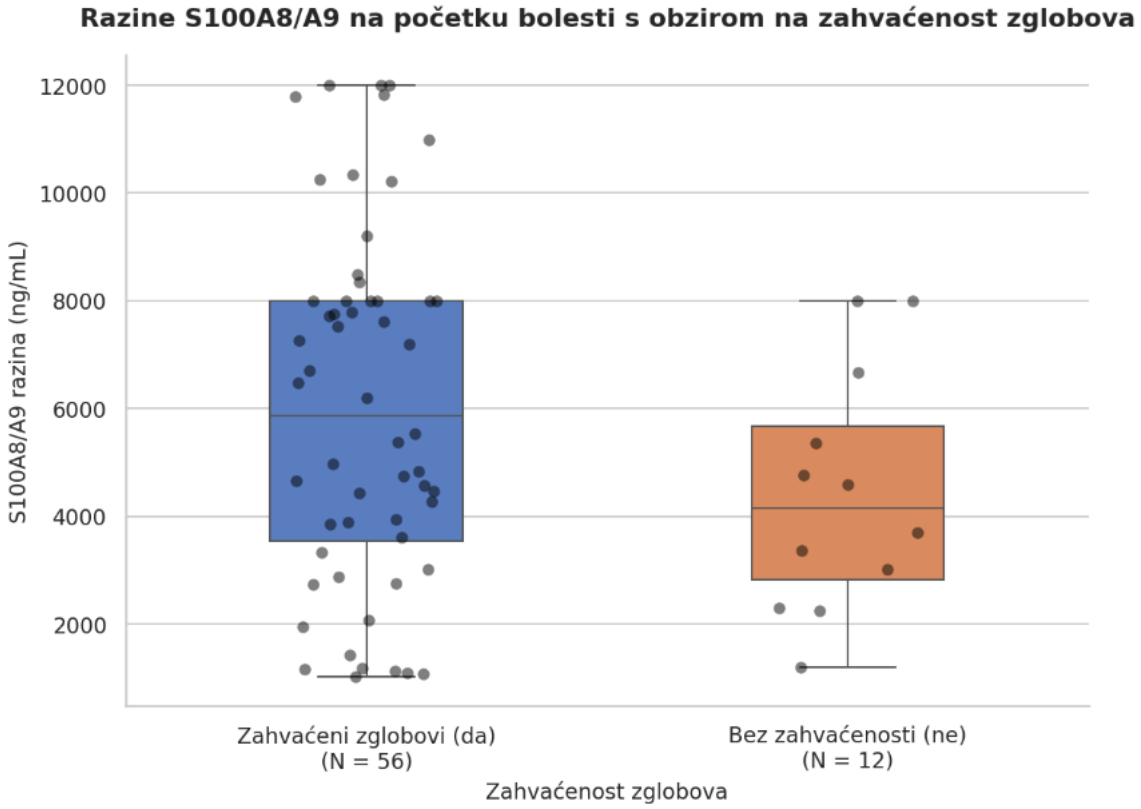
Karakteristika osipa	Skupina	Medijan S100A8/A9 (ng/mL)	*P*
Glutealni osip	DA	6567,0	
	NE	4497,8	0,058
Generalizirani osip	DA	10 602,0	
	NE (lokalizirani osip)	4906,5	**0,040**

Podaci su prikazani kao medijan koncentracije S100A8/A9 (ng/mL)
P – razina statističke značajnosti
DA – osip prisutan; NE – osip nije prisutan

4.6.2. Povezanost koncentracija S100A8/A9 i zglobnih manifestacija

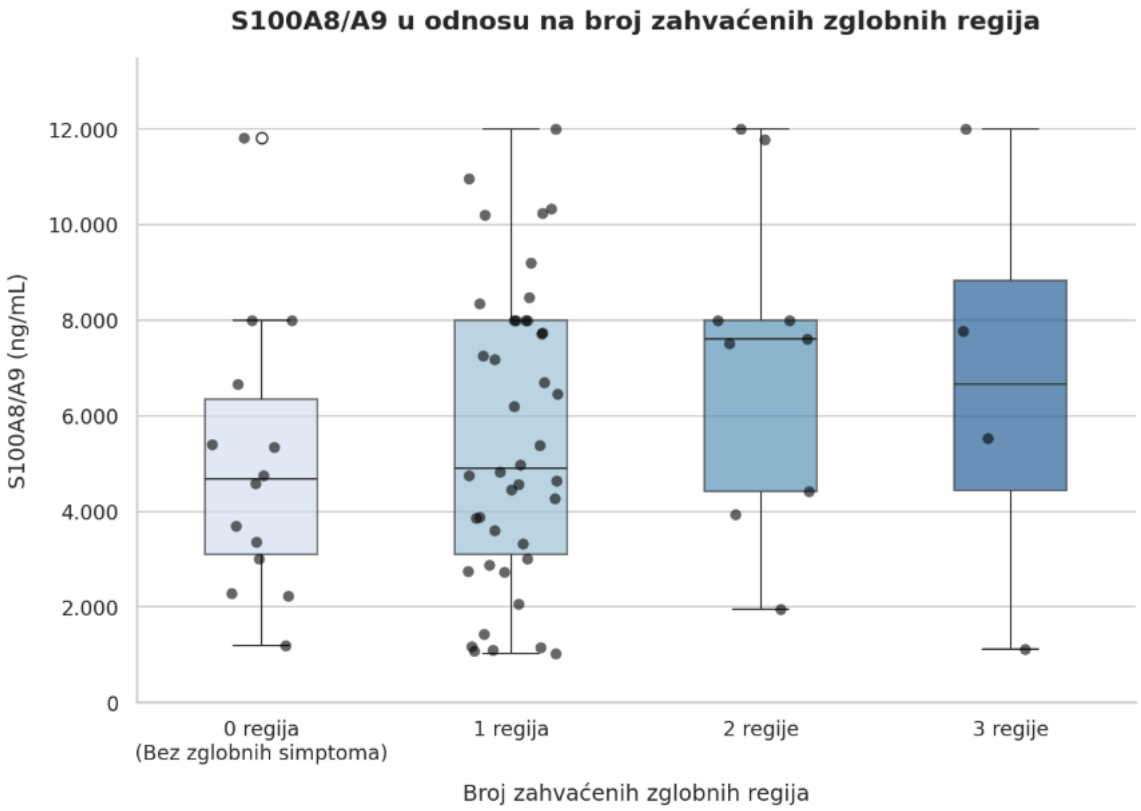
Medijan koncentracije S100A8/A9 u bolesnika sa zglobnim manifestacijama iznosio je 5867 ng/mL, dok je u bolesnika bez zahvaćenosti zglobova iznosio 4141,8 ng/mL (Slika

21). Razlika nije bila statistički značajna (Mann-Whitney P = 0,164; Welchov t-test P = 0,053).



Slika 21. Usporedba vrijednosti S100A8/A9 kod bolesnika sa zglobnim simptomima u odnosu na bolesnike koji nisu imali zglobne simptome.

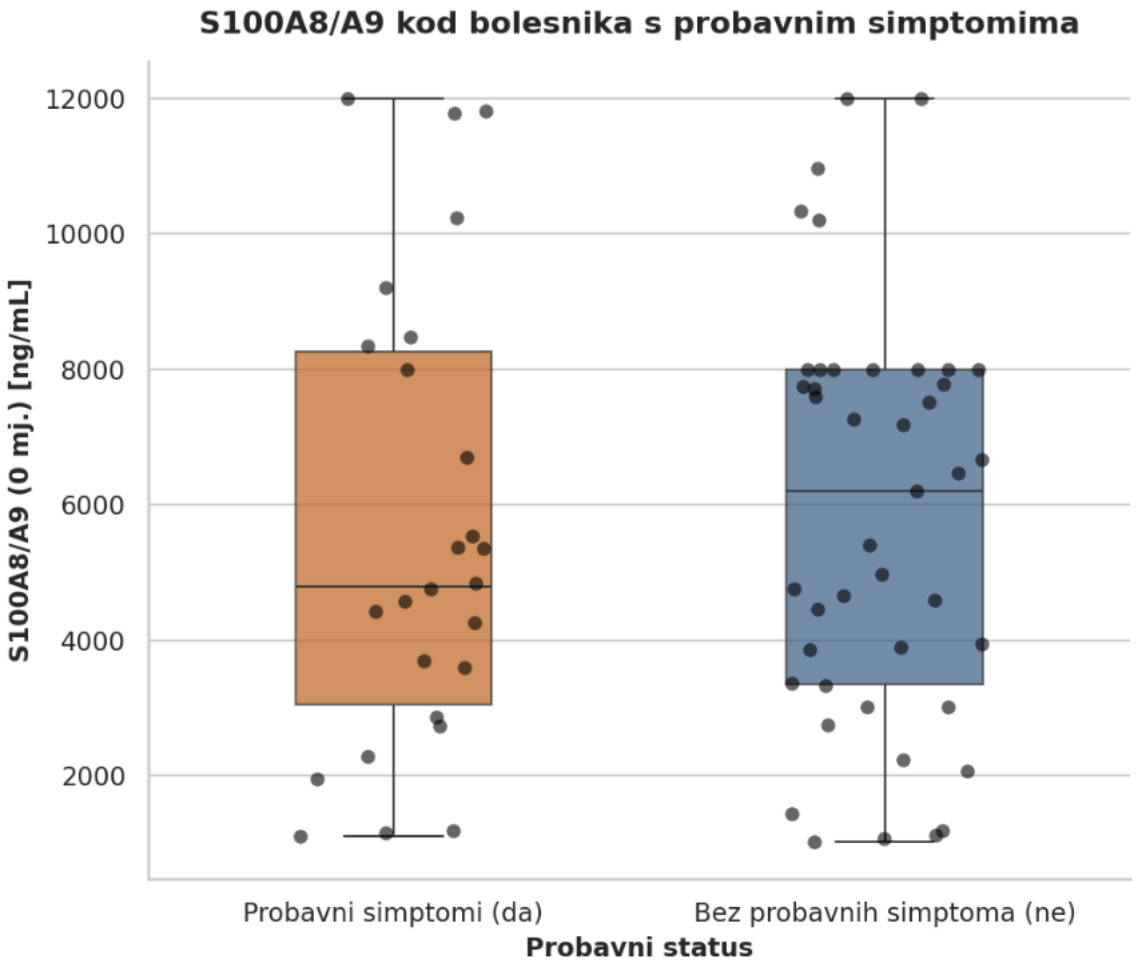
Nije utvrđena statistički značajna povezanost između broja zahvaćenih zglobnih regija i koncentracije biomarkera (Pearson r = 0,188; P = 0,122), što je prikazano na slici 22.



Slika 22. Usporedba vrijednosti S100A8/A9 u odnosu na broj zahvaćenih zglobova

4.6.3. Povezanost koncentracija S100A8/A9 i gastrointestinalnog zahvaćanja

Medijan koncentracije S100A8/A9 u skupini s gastrointestinalnim zahvaćanjem iznosio je 4797 ng/mL, dok je u skupini bez gastrointestinalnog zahvaćanja iznosio 6202 ng/mL (Slika 23).

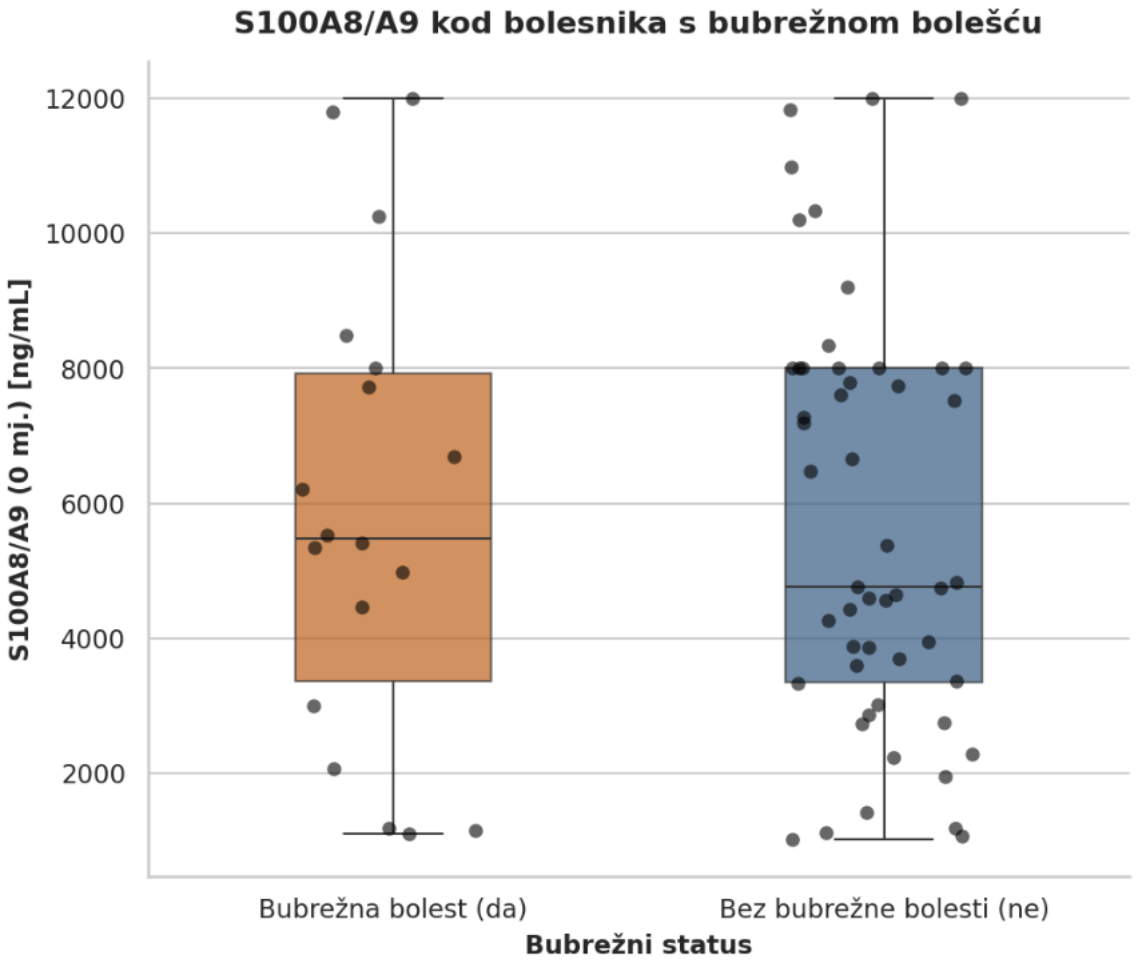


Slika 23. Usporedba vrijednosti S100A8/A9 kod bolesnika sa zahvaćenim probavnim sustavom i bolenika koji nisu imali zahvaćen probavni sustav bolešću.

Razlika između skupina nije bila statistički značajna (Mann-Whitney U test P = 0,823).

4.6.4. Povezanost koncentracija S100A8/A9 i nefritisa

Medijan koncentracije S100A8/A9 u bolesnika s nefritisom iznosio je 5470,8 ng/mL, dok je u bolesnika bez nefritisa iznosio 4758,0 ng/mL (Slika 24).



Slika 24. Usporedba vrijednosti S100A8/A9 kod bolesnika s bubrežnom bolešću i bolesnika koji nisu imali bubrežnu bolest.

Razlika između skupina nije bila statistički značajna (Mann-Whitney U test P = 0,816).

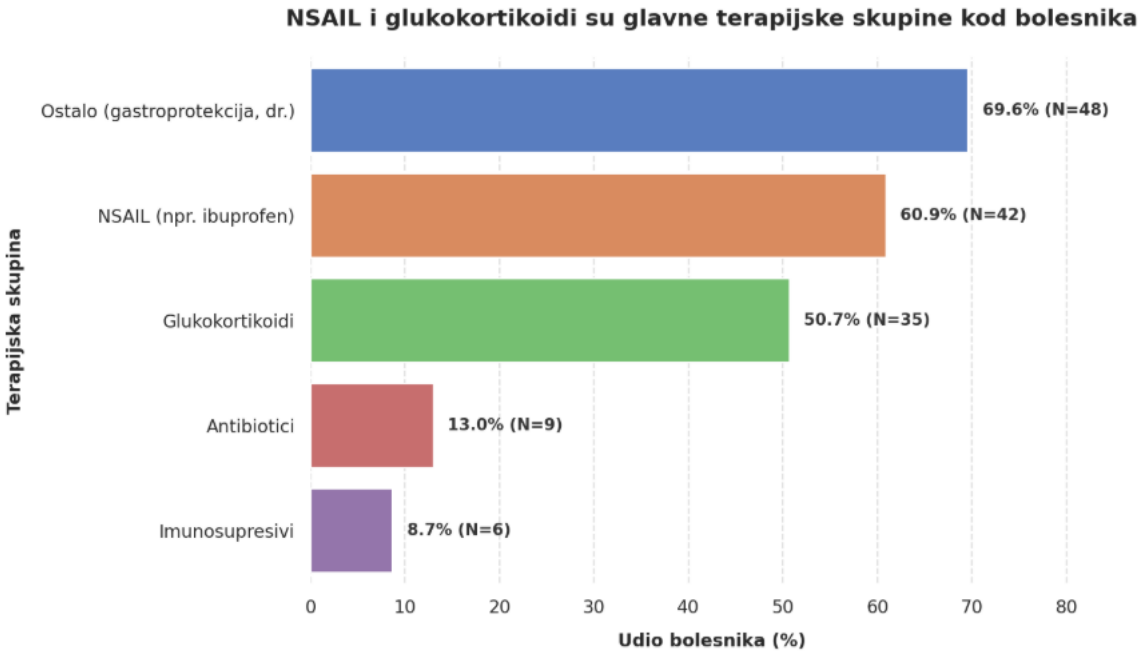
4.7. Terapijske karakteristike bolesnika

Terapijske karakteristike bolesnika analizirane su s obzirom na učestalost primjene pojedinih terapijskih skupina, promjene terapije tijekom liječenja te povezanost početnih koncentracija S100A8/A9 s primijenjenom terapijom. Rezultati su prikazani na Slikama 25 do 27.

4.7.1. Primijenjena terapija

Tijekom liječenja najčešće je primjenjivana potporna terapija, koja je uključivala gastroprotekciju i druge suportivne postupke te je zabilježena kod 48 bolesnika (69,6 %). Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAIL) primijenjeni su kod 42 bolesnika (60,9 %),

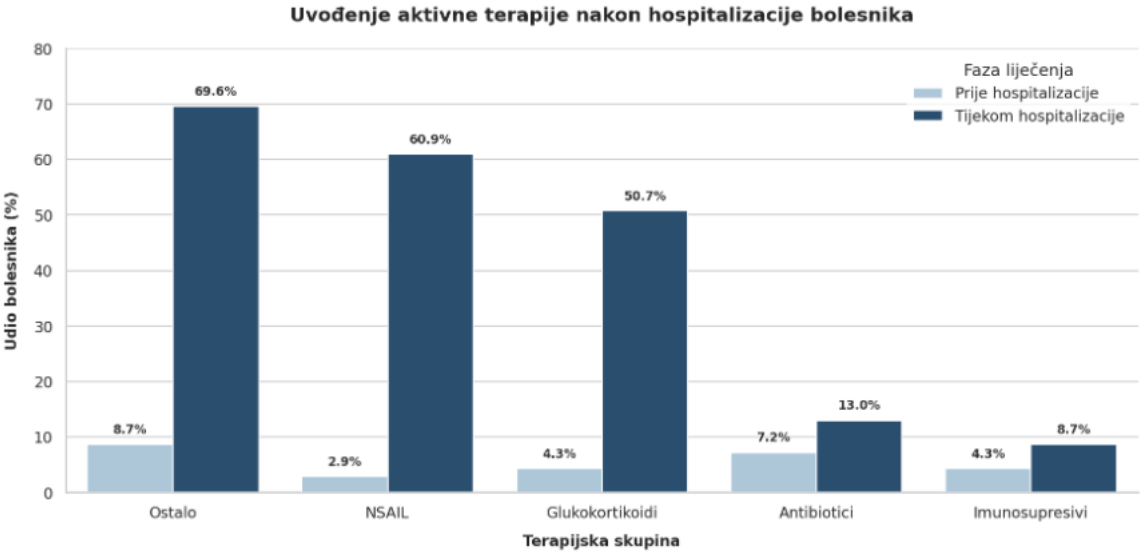
glukokortikoidi kod 35 bolesnika (50,7 %), antibiotici kod 9 bolesnika (13,0 %), a imunosupresivi kod 6 bolesnika (8,7 %).



Slika 25. Učestalost primjene pojedinih terapijskih skupina u bolesnika s IgA vaskulitisom.

4.7.2. Terapija prije i tijekom hospitalizacije

Prije hospitalizacije terapija je primijenjena kod manjeg broja bolesnika. Najčešće su korišteni antibiotici kod 5 bolesnika (7,2 %), dok su glukokortikoidi i imunosupresivi bili primijenjeni kod po 3 bolesnika (4,3 %). NSAIL su primijenjeni kod 2 bolesnika (2,9 %), dok je druga potporna terapija bila prisutna kod 6 bolesnika (8,7 %). Tijekom hospitalizacije zabilježen je porast primjene svih glavnih terapijskih skupina.

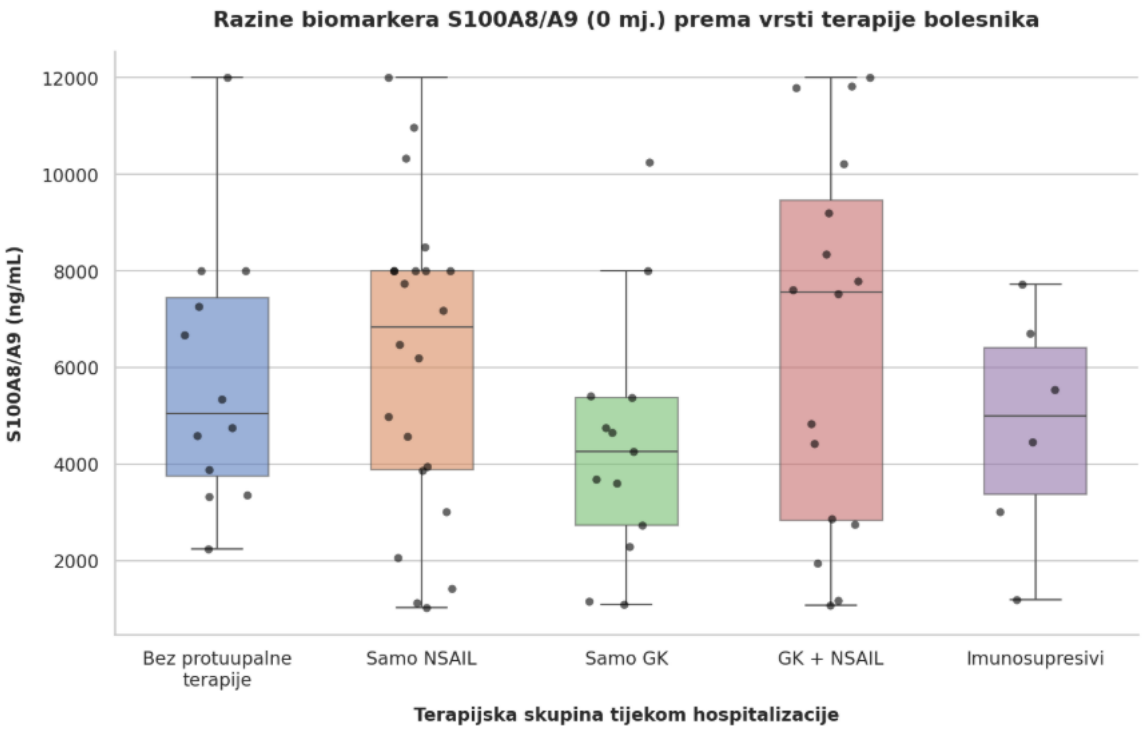


Slika 26. Usporedba primjene terapije prije hospitalizacije i tijekom hospitalizacije.

Najizraženiji porast odnosio se na NSAIL (2,9 % na 60,9 %) i glukokortikoide (4,3 % na 50,7 %). Primjena potporne terapije povećala se s 8,7 % na 69,6 %. Svi bolesnici liječeni imunosupresivima imali su bubrežno zahvaćanje bolesti.

4.7.3. Koncentracije S100A8/A9 prema terapijskim skupinama

Medijan koncentracije iznosio je 5050 ng/mL u bolesnika bez protuupalne terapije, 6827,9 ng/mL u skupini liječenoj samo NSAIL-om, 4264 ng/mL u skupini liječenoj samo glukokortikoidima, 7563 ng/mL u skupini liječenoj kombinacijom glukokortikoida i NSAIL-a te 4996,8 ng/mL u skupini liječenoj imunosupresivima.



Slika 27. Početne koncentracije S100A8/A9 prema terapijskim skupinama.

Kruskal-Wallisov test nije pokazao statistički značajnu razliku između terapijskih skupina (H = 3,753; *P* = 0,440).

4.8. Korelacije biomarkera S100A8/A9 s laboratorijskim parametrima

Kako bi se procijenila povezanost biomarkera S100A8/A9 s laboratorijskim pokazateljima upalne aktivnosti i težine bolesti, provedena je korelacijska analiza. Rezultati su prikazani u Tablici 13 i na Slikama 28 do 39.

4.8.1. Ukupna korelacijska analiza

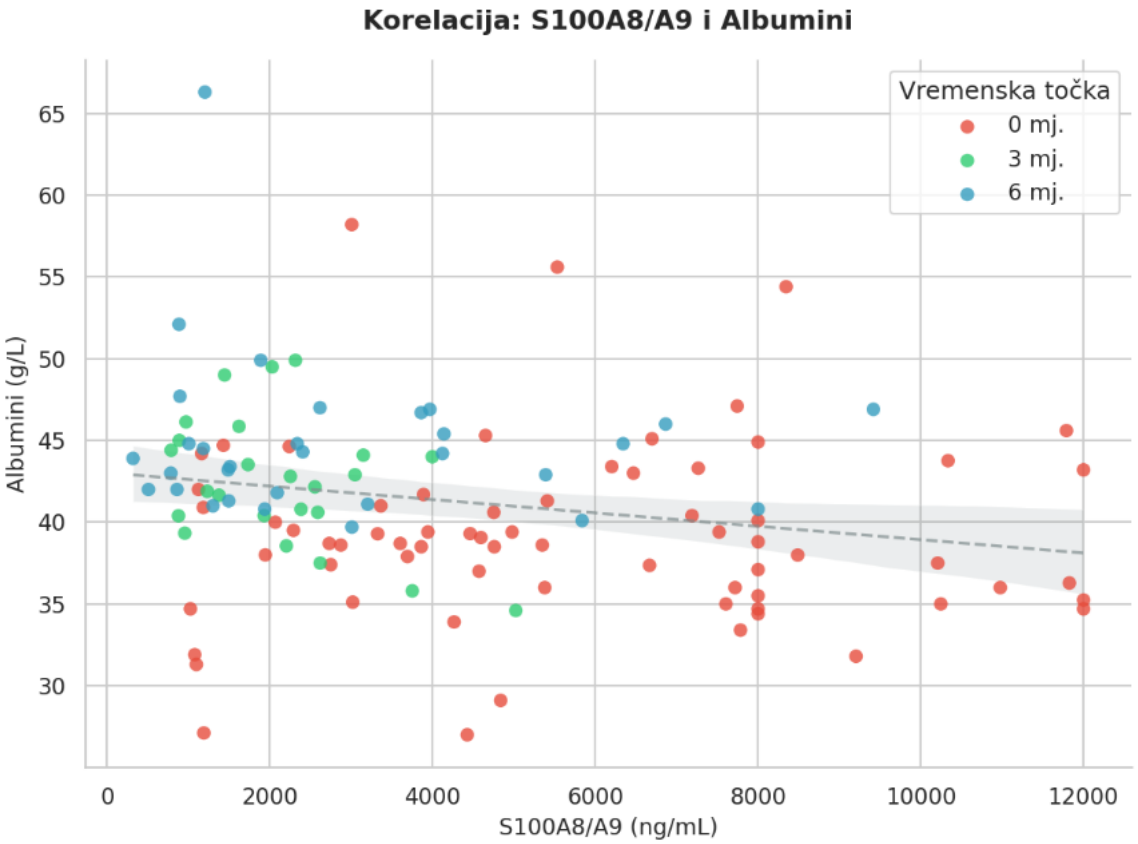
Tablica 13. Korelacija S100A8/A9 s laboratorijskim parametrima.

Parametar	N	Spearman ρ	*P*
SE	123	0,437	**<0,001**
CRP	127	0,375	**<0,001**
L	126	0,425	**<0,001**
E	125	-0,029	0,744
Hb	125	-0,031	0,732
Ht	117	-0,028	0,765
Tr	125	0,234	**0,009**
urea	126	-0,146	0,103
kreatinin	127	0,121	0,176
feritin	111	0,493	**<0,001**
C3	90	0,428	**<0,001**
C4	90	0,288	**0,006**
fibrinogen	123	0,419	**<0,001**
D-dimeri	124	0,421	**<0,001**
ukupni proteini	123	0,005	0,959
IgM	123	0,132	0,145
IgA	123	0,174	0,054
IgG	123	0,088	0,335
albumin	123	-0,277	**0,002**
alfa 1 globulini	95	0,517	**<0,001**
alfa 2 globulini	95	0,468	**<0,001**
beta globulini	95	0,210	**0,041**
gama globulini	95	0,153	0,138
kalprotektin u stolici	96	0,104	0,311

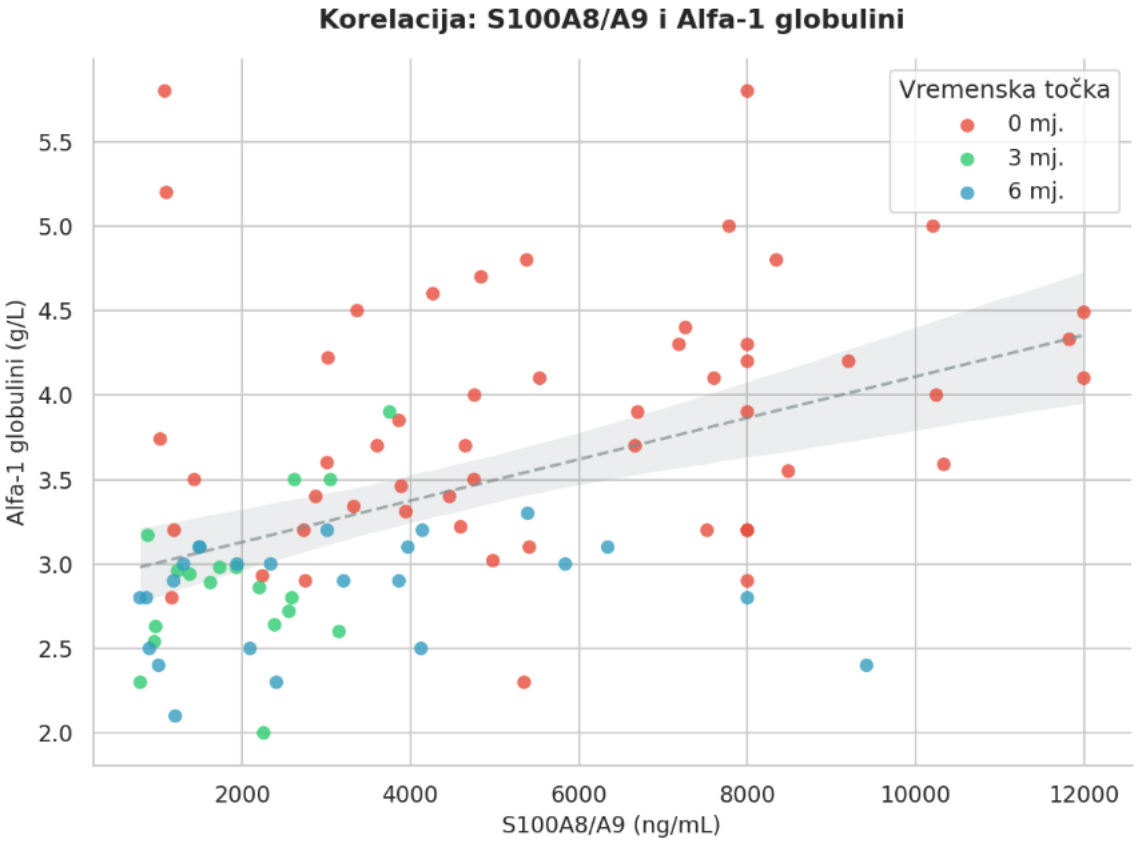
N – broj mjerenja; Spearman ρ – Spearmanov koeficijent korelacije između koncentracije S100A8/A9 i pojedinog parametra
SE – sedimentacija eritrocita; CRP – C-reaktivni protein; L – leukociti; E – eritrociti; Hb – hemoglobin; Ht – hematokrit; Tr – trombociti; C3, C4 – komponente komplementa; IgA, IgG, IgM – imunoglobulini A, G i M

Vrijednosti S100A8/A9 pokazale su statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa SE ($\rho = 0,437$; $P < 0,001$), CRP-om ($\rho = 0,375$; $P < 0,001$), trombocitima ($\rho = 0,234$; $P = 0,009$), feritinom ($\rho = 0,493$; $P < 0,001$), C3 ($\rho = 0,428$; $P < 0,001$), C4 ($\rho = 0,288$; $P = 0,006$), fibrinogenom ($\rho = 0,419$; $P < 0,001$), D-dimerima ($\rho = 0,421$; $P < 0,001$), alfa 1 globulinima ($\rho = 0,517$; $P < 0,001$), alfa 2 globulinima ($\rho = 0,468$; $P < 0,001$) te beta globulinima ($\rho = 0,210$; $P = 0,041$). Zabilježena je značajna negativna korelacija s albuminom ($\rho = -0,277$; $P = 0,002$). Nije utvrđena značajna povezanost s kalprotektinom u stolici, IgM, IgG, ukupnim proteinima, ureom, kreatininom, hemoglobinom ili hematokritom.

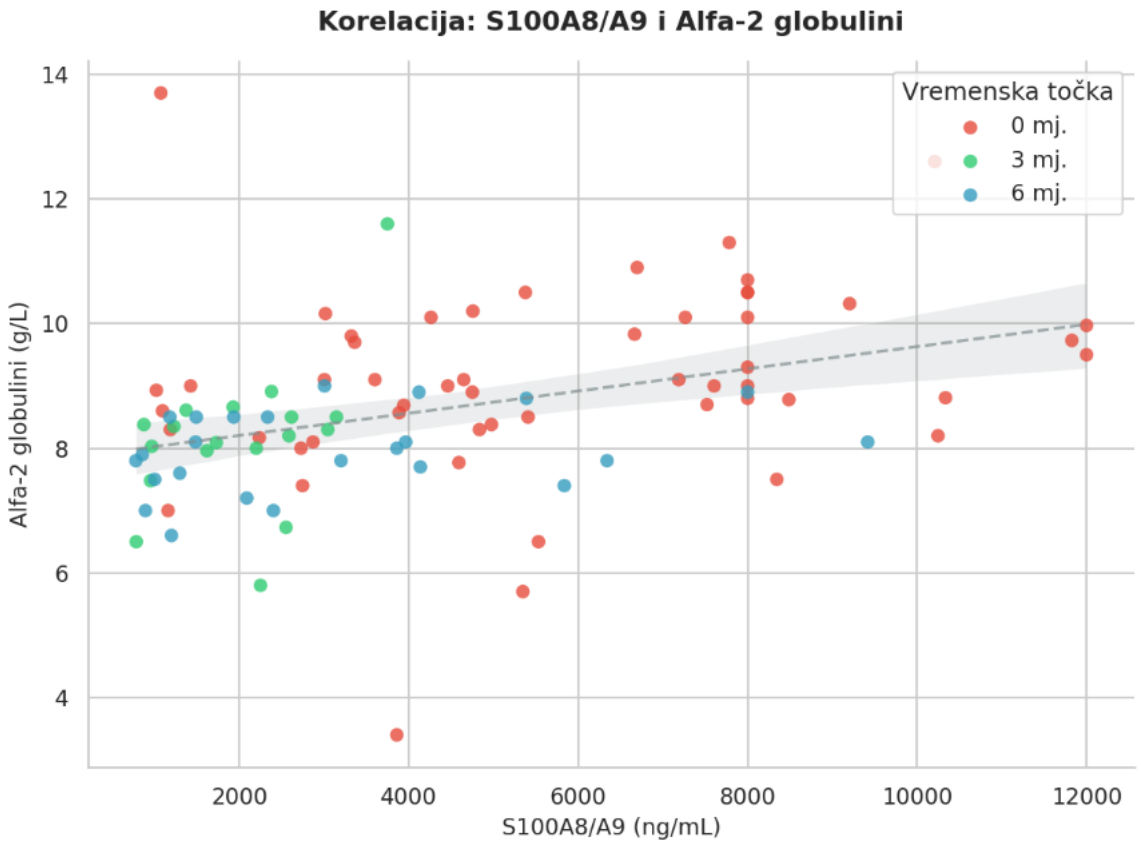
4.8.2. Albumini i globulinske frakcije



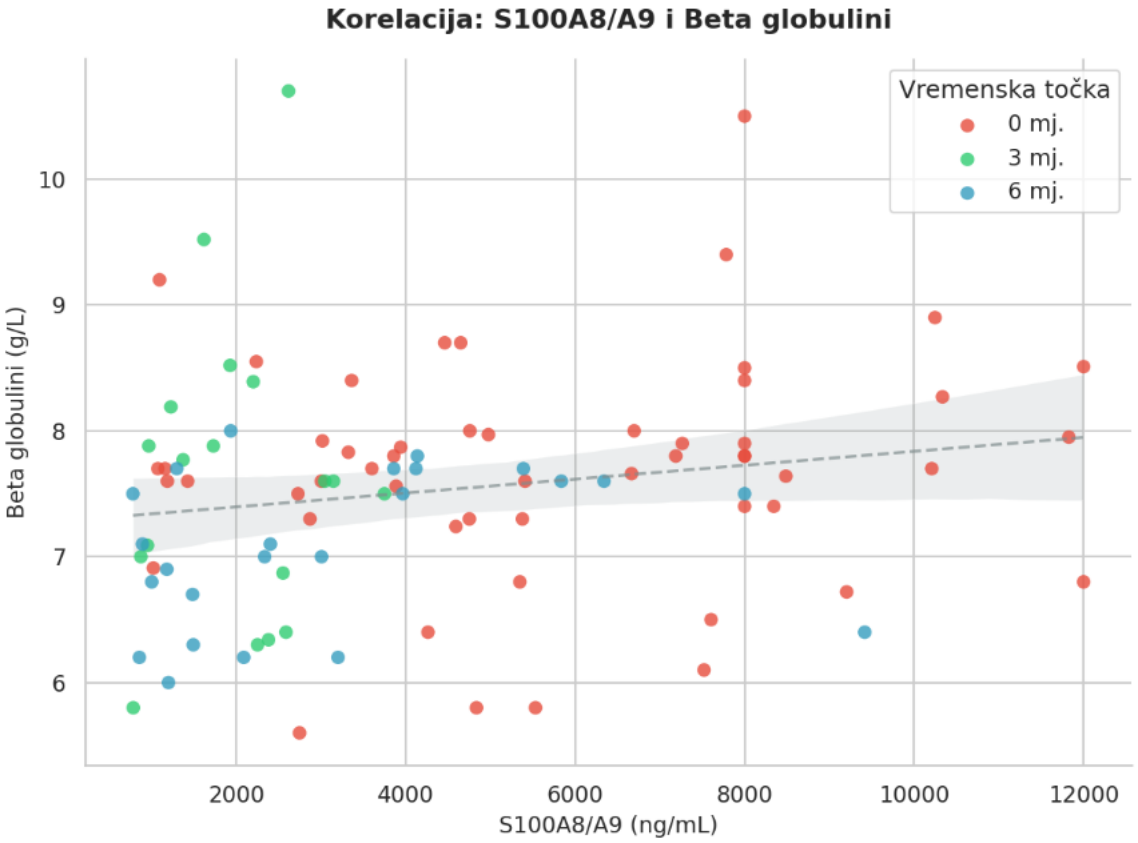
Slika 28. Korelacija vrijednosti S100A8/A9 i albumina (ρ = -0,277; *P* = 0,002).



Slika 29. Korelacija S100A8/A9 i α1-globulina (ρ = 0,518; *P* < 0,001; Pearson r = 0,463; *P* < 0,001).

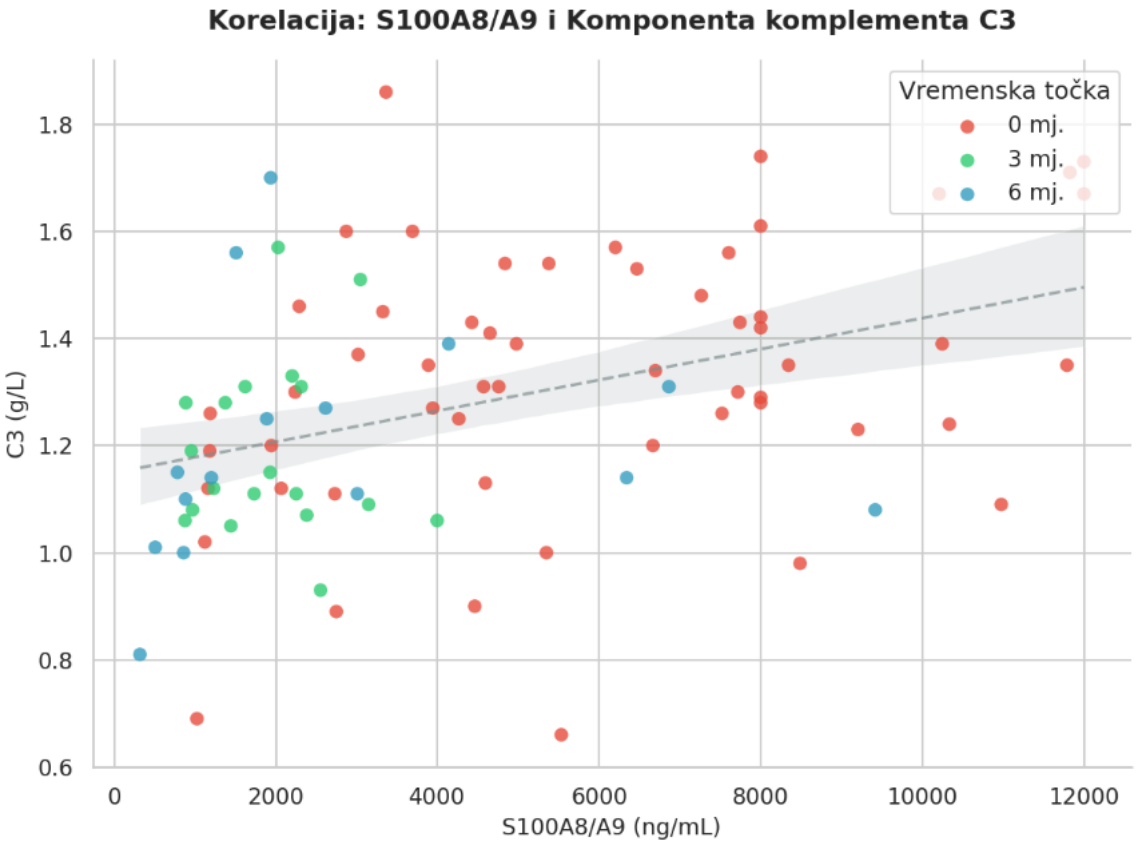


Slika 30. Korelacija S100A8/A9 i α2-globulina (ρ = 0,469; *P* < 0,001; Pearson r = 0,377; *P* < 0,001.)

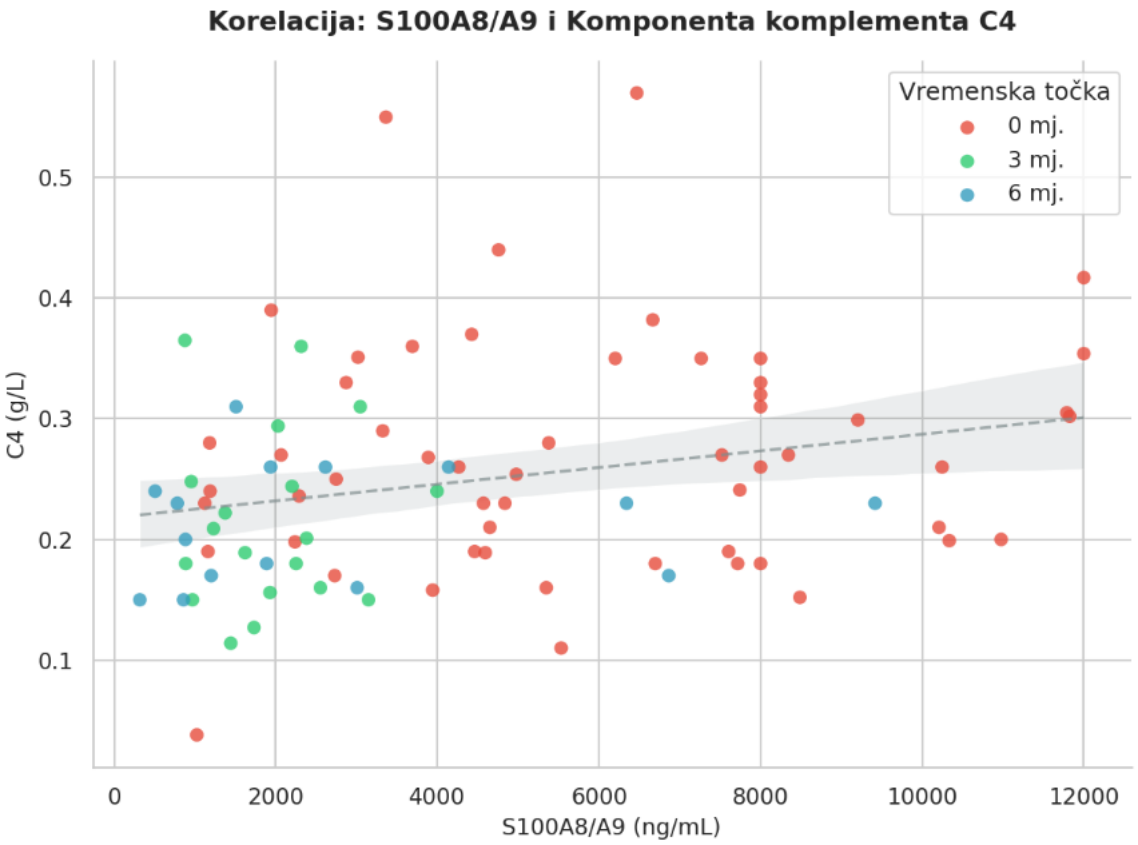


Slika 31. Korelacija S100A8/A9 i β-globulina (ρ = 0,210; *P* = 0,041).

4.8.3. Komponente komplementa

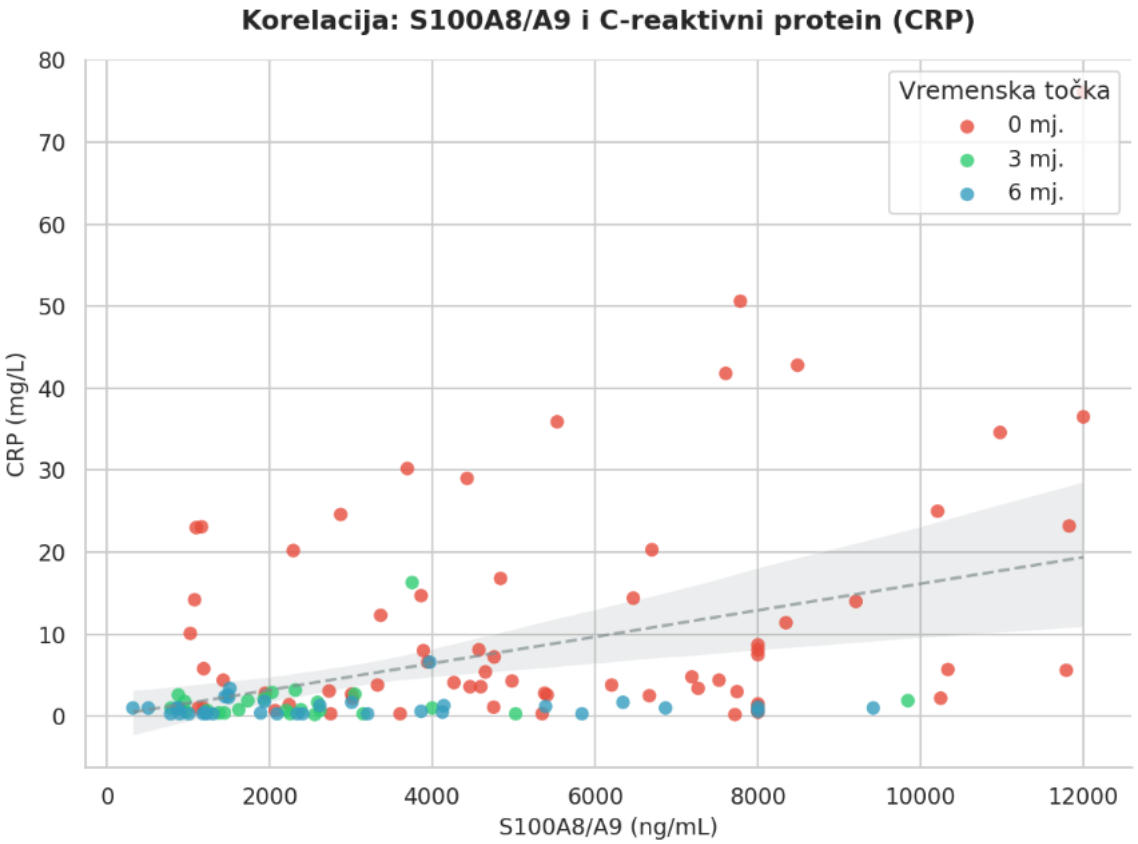


Slika 32. Korelacija S100A8/A9 i C3 komponente komplementa (ρ = 0,428; *P* < 0,001; Pearson r = 0,392; *P* < 0,001).

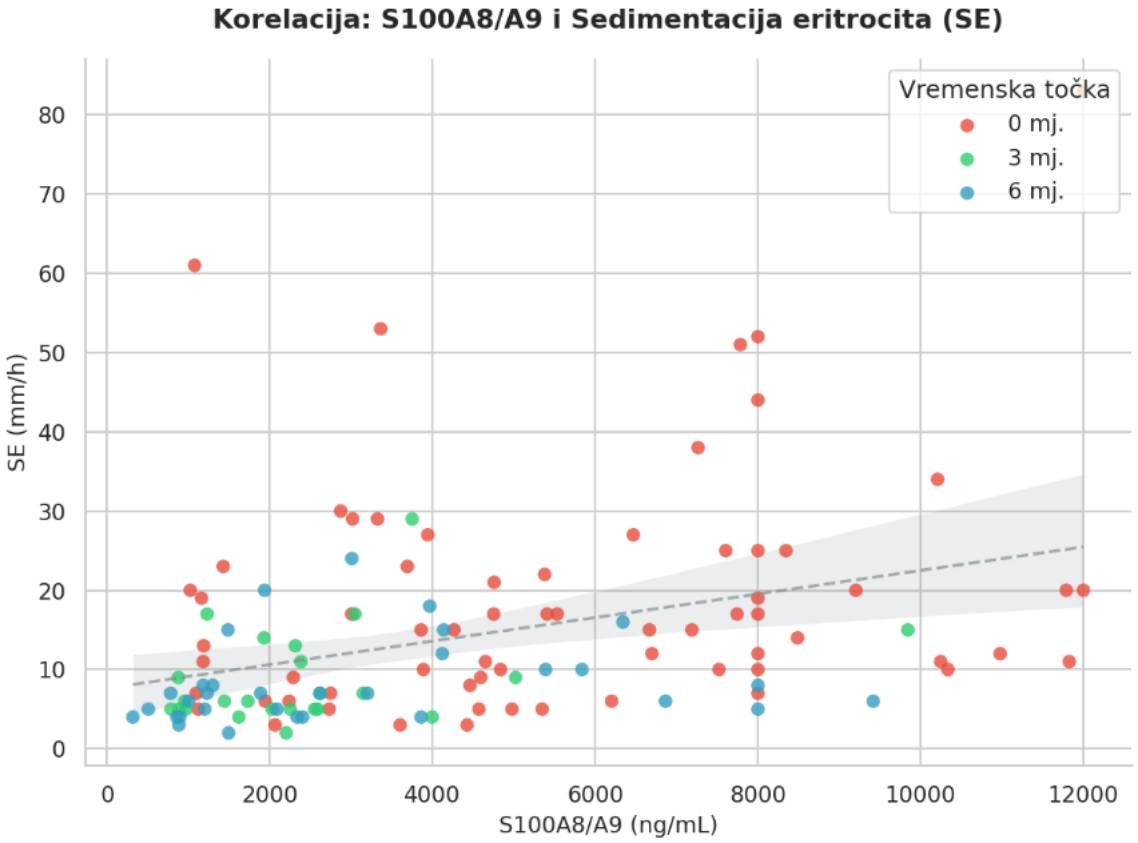


Slika 33. Korelacija S100A8/A9 i C4 komponente komplementa (ρ = 0,288; *P* = 0,006; Pearson r = 0,249; *P* = 0,018).

4.8.4. Pokazatelji upalne aktivnosti

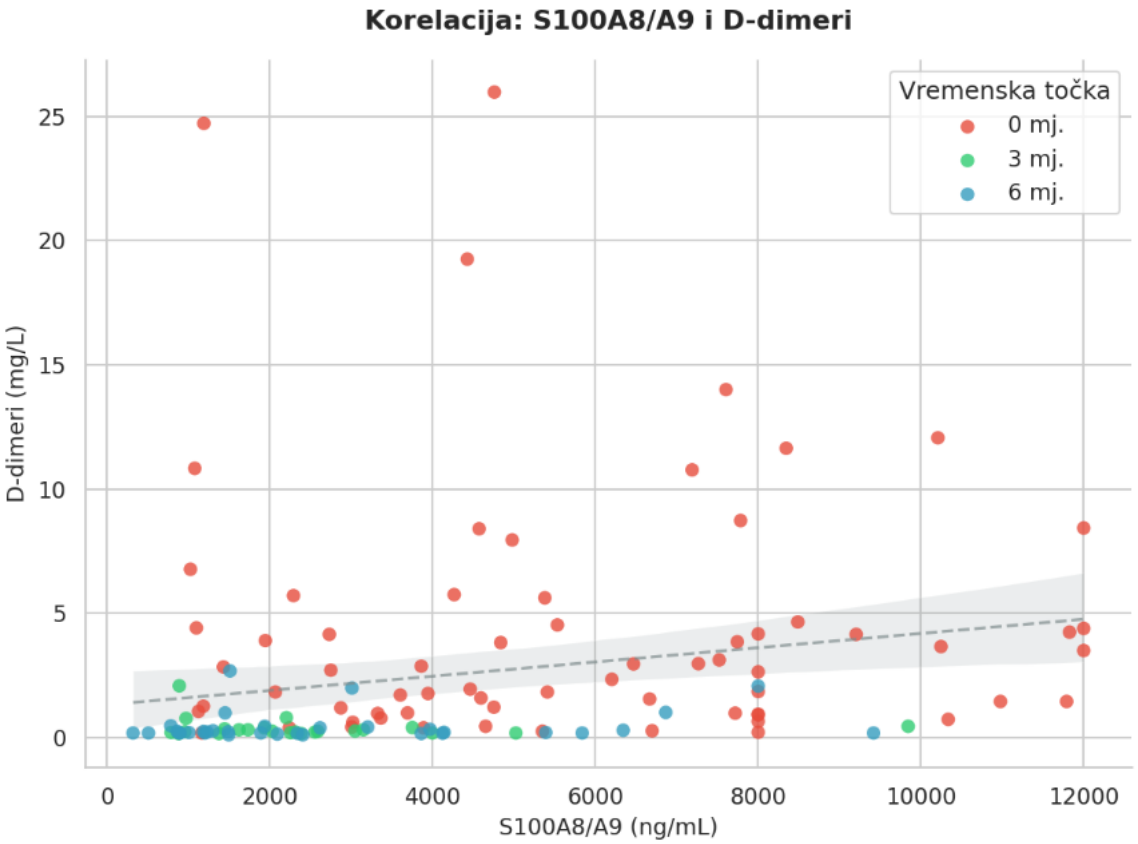


Slika 34. Korelacija S100A8/A9 i C-reaktivnog proteina (ρ = 0,375; *P* < 0,001; Pearson r = 0,419; *P* < 0,001).

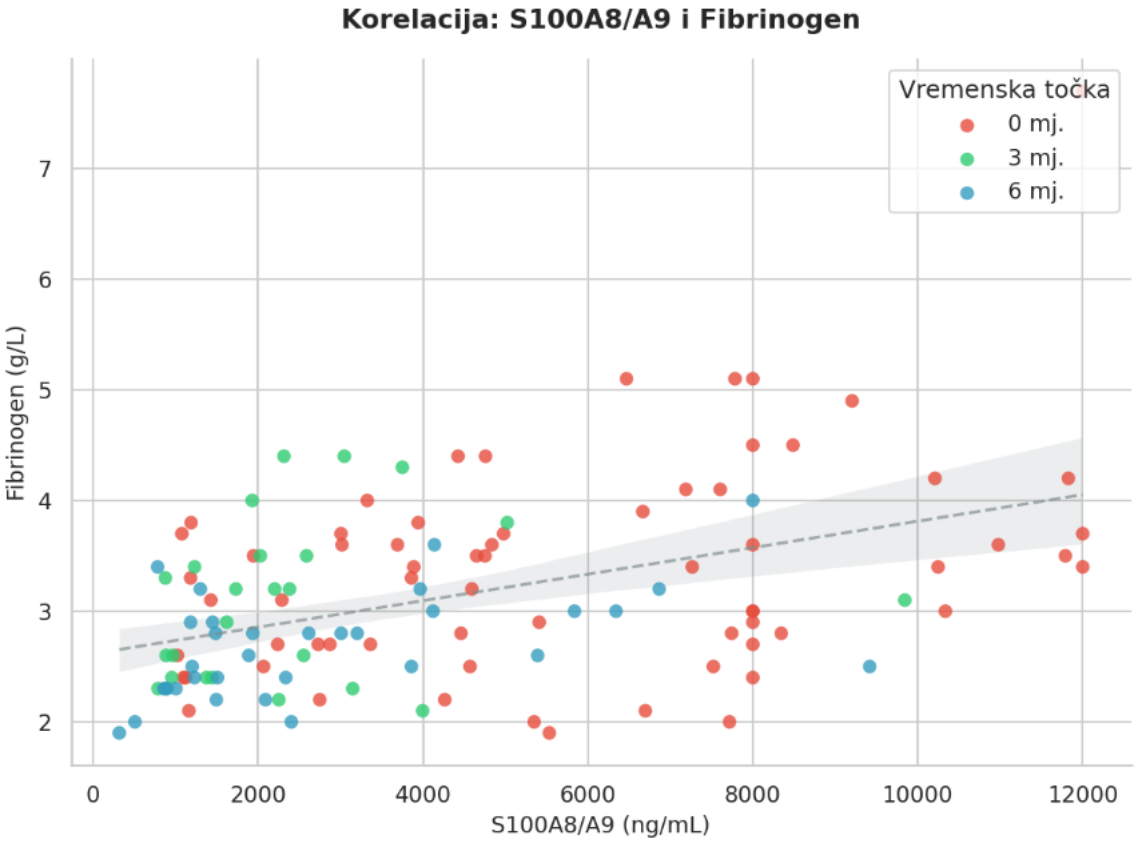


Slika 35. Korelacija S100A8/A9 i brzine sedimentacije eritrocita (ρ = 0,438; *P* < 0,001; Pearson r = 0,358; *P* < 0,001).

4.8.5. Čimbenici zgrušavanja krvi

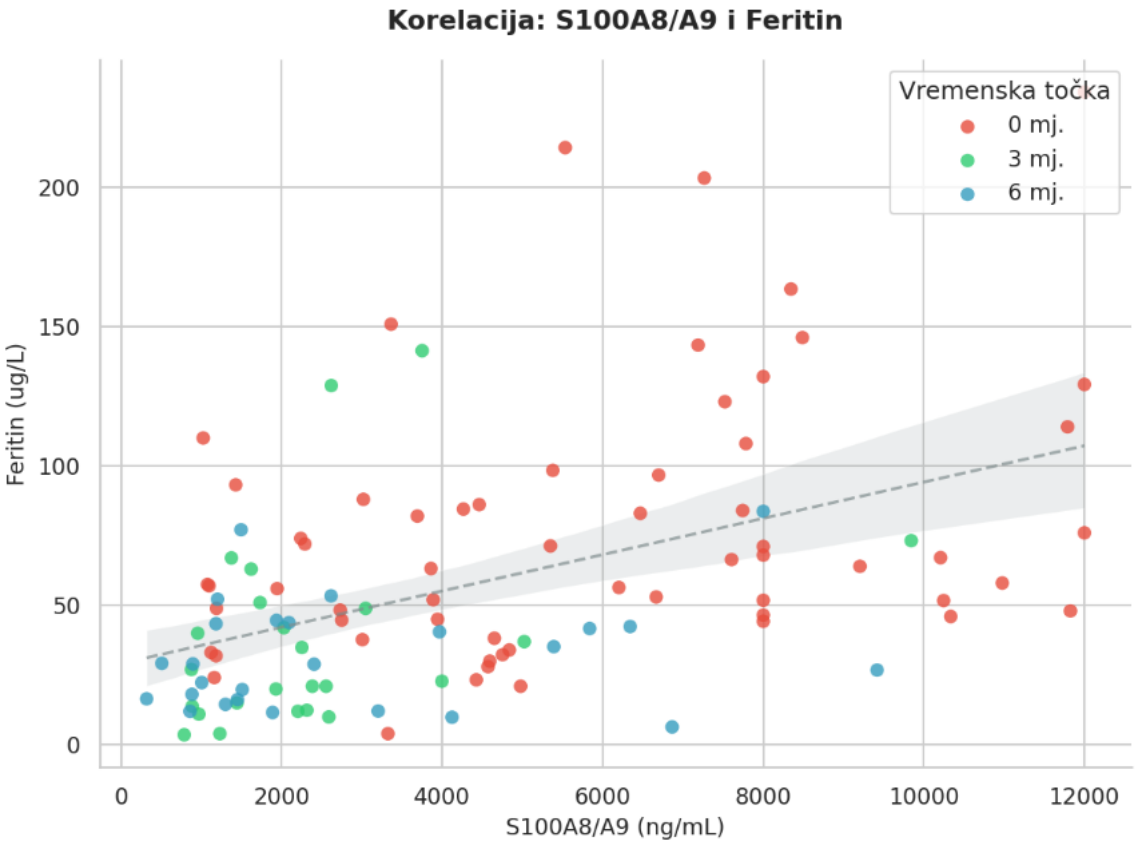


Slika 36. Korelacija S100A8/A9 i D-dimera (ρ = 0,421; *P* < 0,001; Pearson r = 0,206; *P* = 0,021).

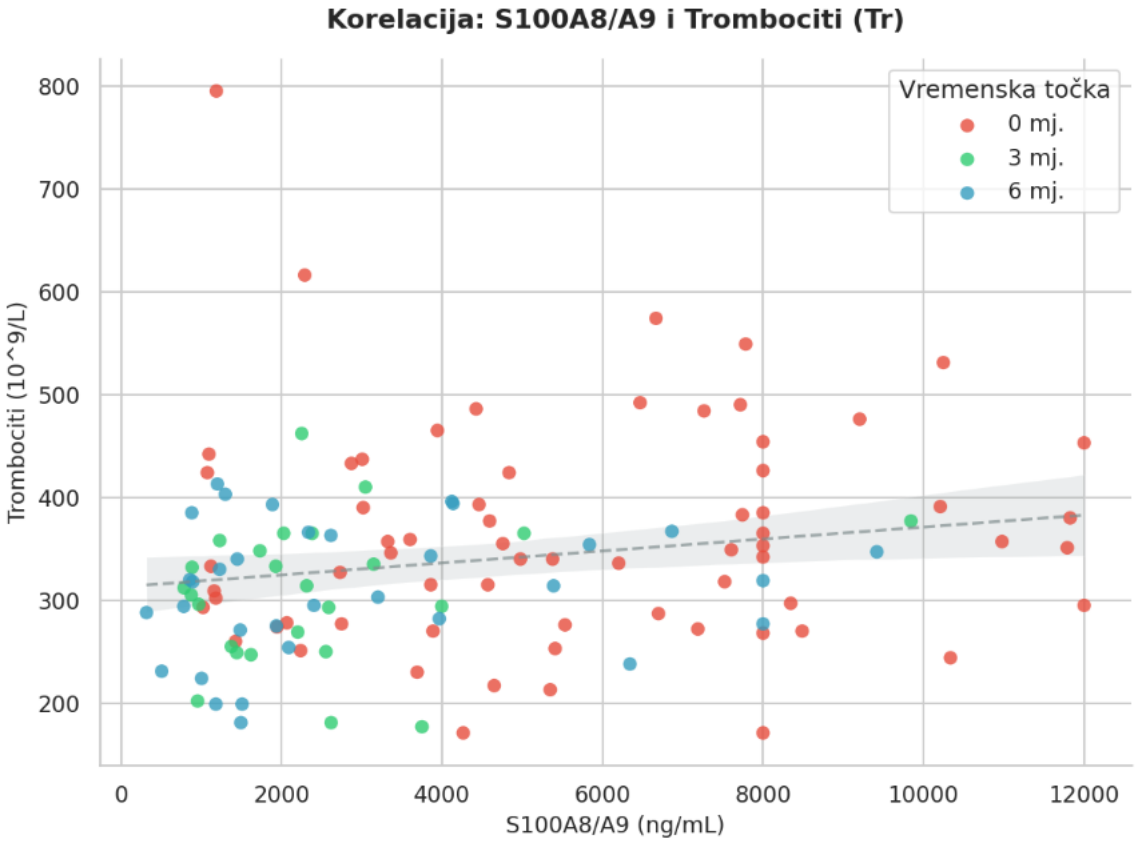


Slika 37. Korelacija S100A8/A9 i fibrinogena (ρ = 0,419; *P* < 0,001; Pearson r = 0,440; *P* < 0,001).

4.8.6. Feritin i trombociti



Slika 38. Korelacija S100A8/A9 i feritina (ρ = 0,493; *P* < 0,001; Pearson r = 0,466; *P* < 0,001).



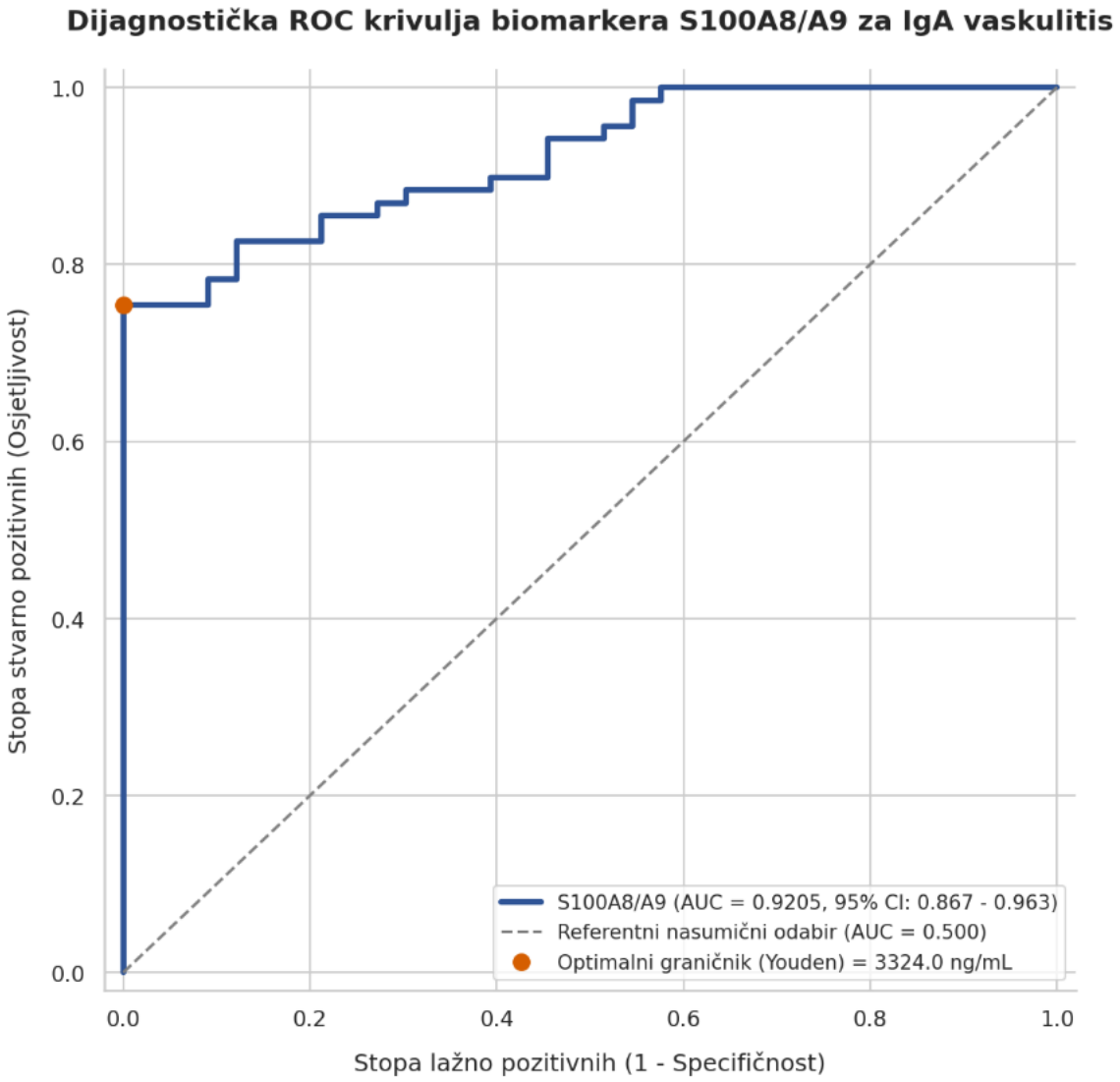
Slika 39. Korelacija S100A8/A9 i trombocita (ρ = 0,234; *P* = 0,009; Pearson r = 0,190; *P* = 0,034).

4.9. Dijagnostička i prediktivna vrijednost biomarkera S100A8/A9

Kako bi se procijenila dijagnostička i prediktivna vrijednost biomarkera S100A8/A9, provedena je analiza ROC krivulja. Rezultati su prikazani na Slikama 40 do 44 i u Tablici 14.

4.9.1. Dijagnostička vrijednost biomarkera S100A8/A9 za IgA vaskulitis

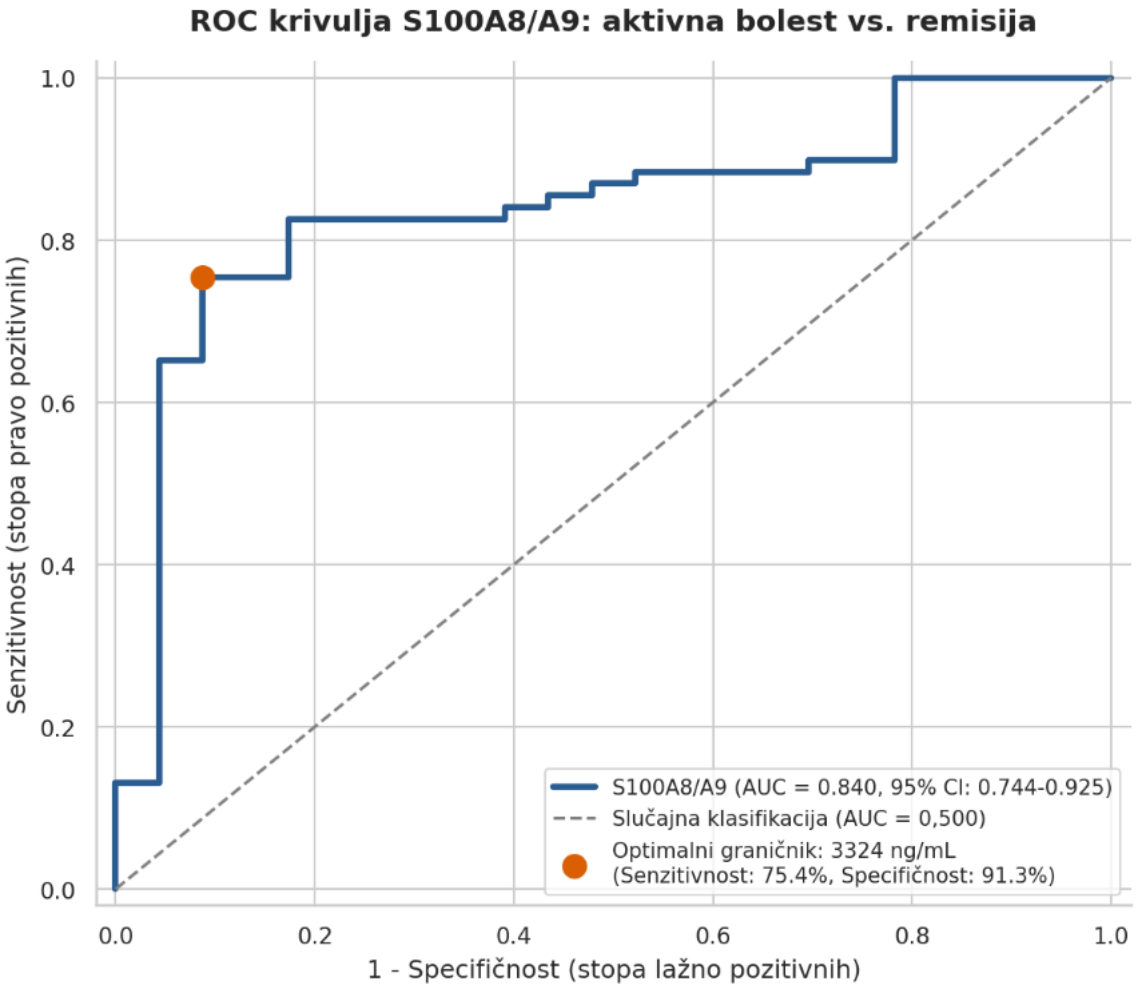
ROC analizom za razlikovanje bolesnika s IgA vaskulitisom i kontrolne skupine dobivena je AUC vrijednost od 0,9205 (95 %-tni interval pouzdanosti 0,8668-0,9631). Optimalna granična vrijednost biomarkera iznosila je 3324 ng/mL. Pri toj vrijednosti osjetljivost biomarkera iznosila je 75,36 %, specifičnost 100,0 %, pozitivna prediktivna vrijednost 100,0 %, negativna prediktivna vrijednost 66,0 %, a ukupna dijagnostička točnost 83,33 %.



Slika 40. ROC analiza za razlikovanje bolesnika s IgA vaskulitisom i kontrolne skupine.

4.9.2. Prediktivna vrijednost biomarkera za određivanje remisije bolesti

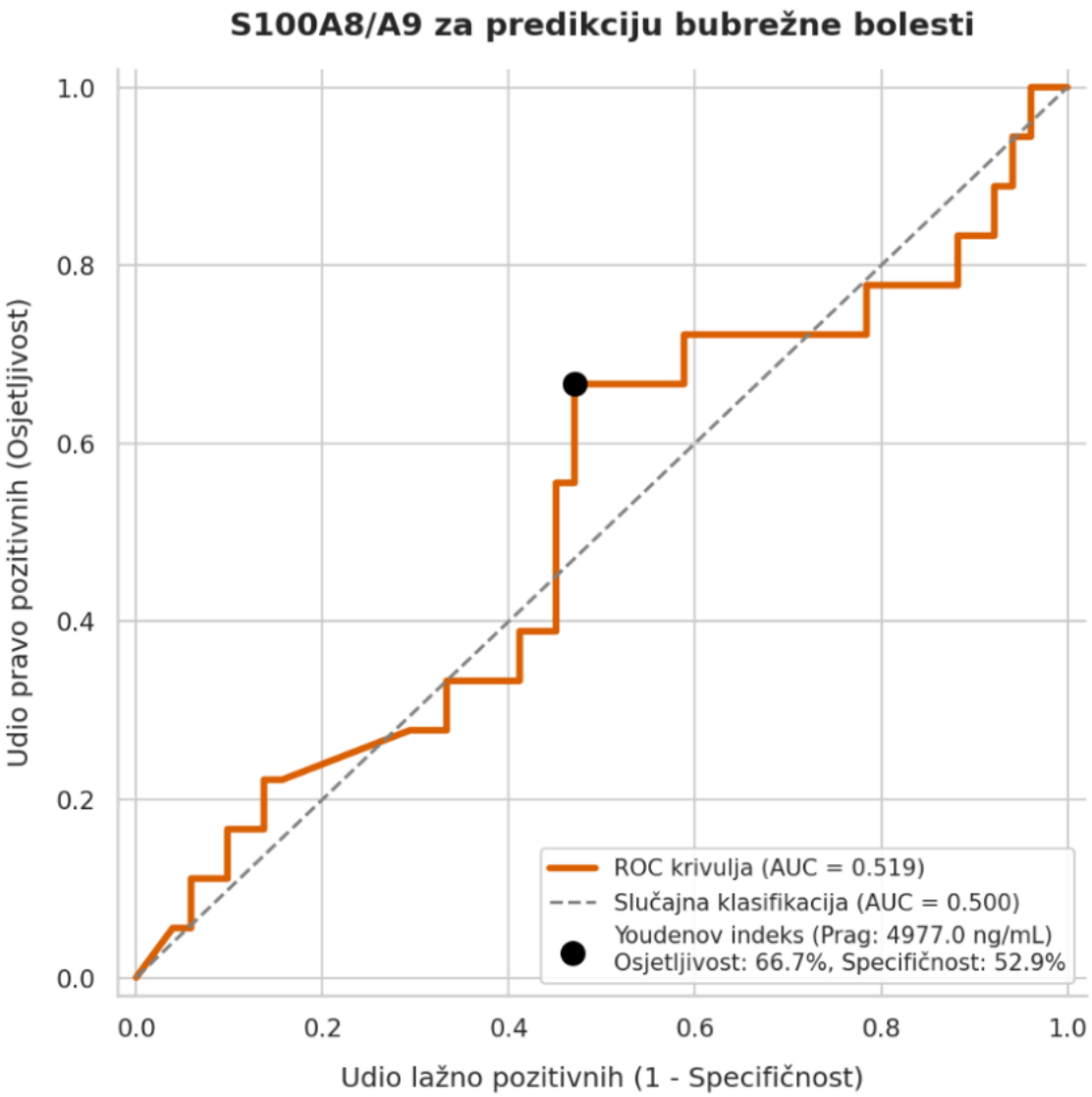
ROC analizom za određivanje remisije bolesti dobivena je AUC vrijednost od 0,840 (95 %-tni interval pouzdanosti 0,744-0,925). Optimalna granična vrijednost biomarkera iznosila je 3324 ng/mL. Pri toj vrijednosti osjetljivost testa iznosila je 75,4 %, a specifičnost 91,3 %. Pozitivna prediktivna vrijednost bila je 96,3 %, negativna prediktivna vrijednost 55,3 %, a ukupna dijagnostička točnost 79,4 %.



Slika 41. ROC analiza za razlikovanje bolesnika s aktivnim IgA vaskulitisom i bolesnika u remisiji.

4.9.3. Prediktivna vrijednost biomarkera za nefritis

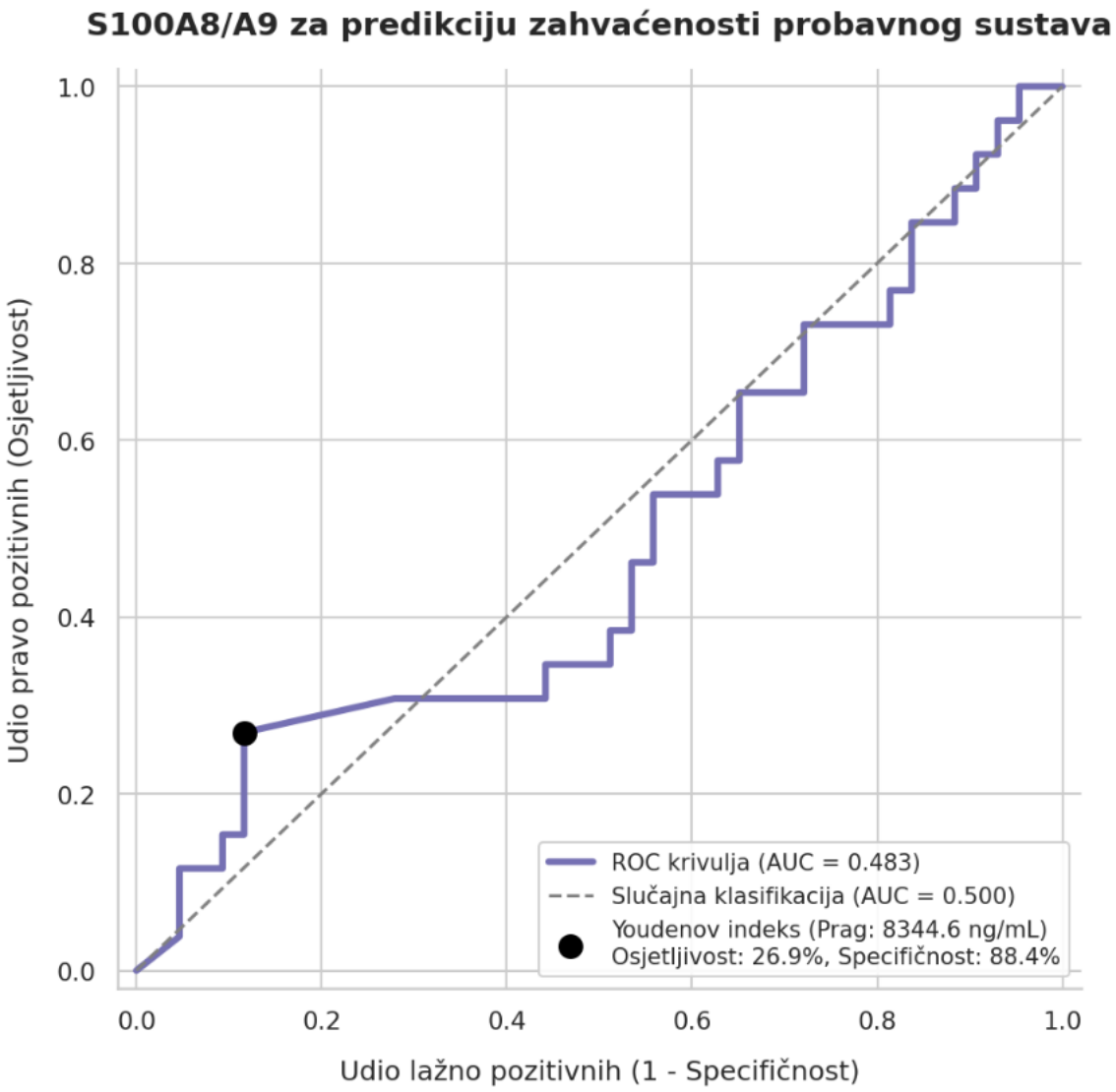
ROC analizom za nefritis dobivena je AUC vrijednost od 0,519 (95 %-tni interval pouzdanosti 0,375-0,668). Optimalna granična vrijednost biomarkera iznosila je 4977 ng/mL. Pri toj vrijednosti osjetljivost testa iznosila je 66,7 %, a specifičnost 52,9 %.



Slika 42. ROC analiza za nefritis

4.9.4. Prediktivna vrijednost biomarkera za gastrointestinalno zahvaćanje

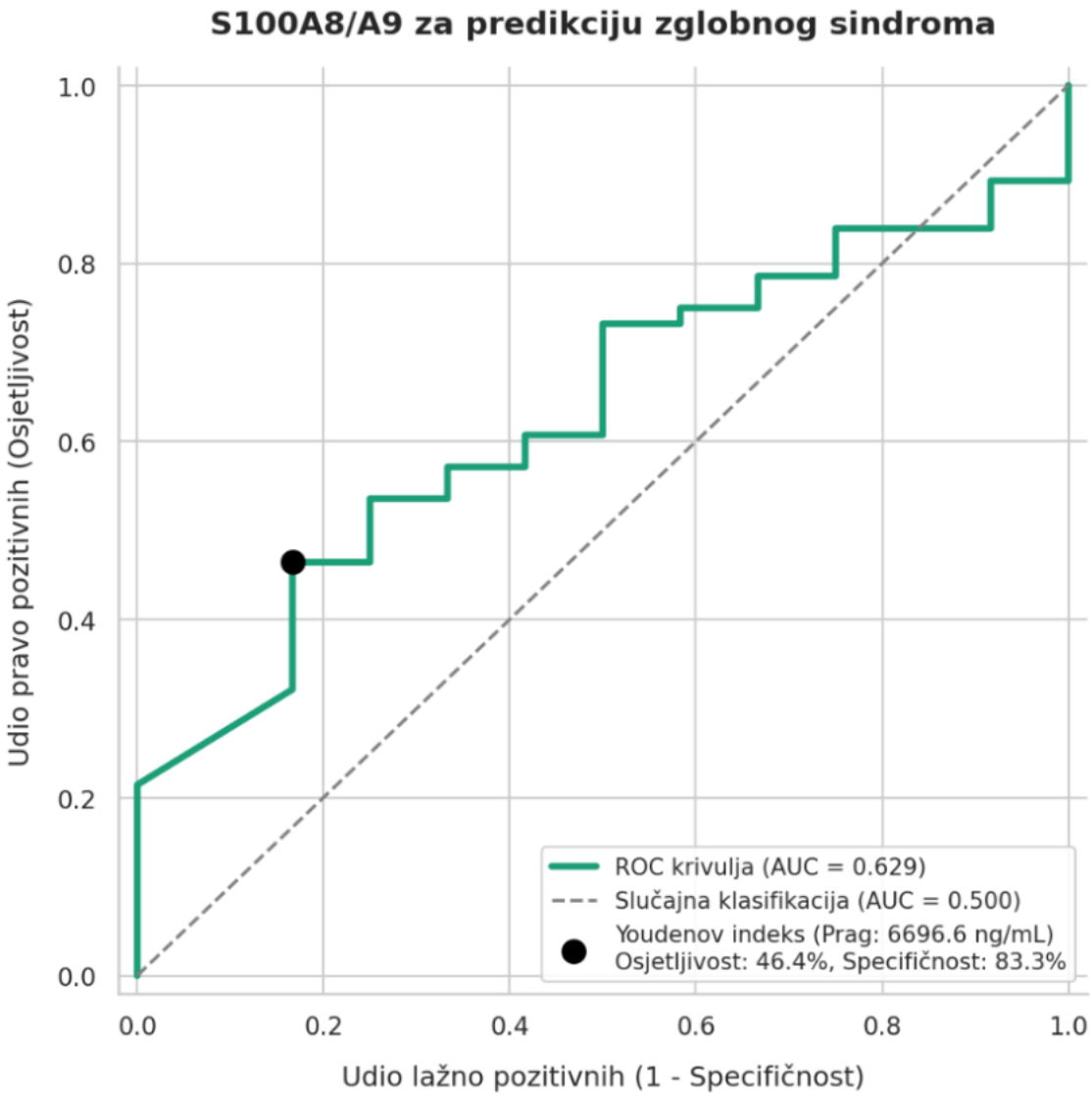
ROC analizom za gastrointestinalno zahvaćanje dobivena je AUC vrijednost od 0,484 (95 %-tni interval pouzdanosti 0,334-0,643). Optimalna granična vrijednost biomarkera iznosila je 8344,6 ng/mL. Pri toj vrijednosti osjetljivost testa iznosila je 26,9 %, a specifičnost 88,4 %.



Slika 43. ROC analiza za gastrointestinalno zahvaćanje.

4.9.5. Prediktivna vrijednost biomarkera za zglobni sindrom

ROC analizom za zglobni sindrom dobivena je AUC vrijednost od 0,629 (95 %-tni interval pouzdanosti 0,474-0,778). Optimalna granična vrijednost biomarkera iznosila je 6696,6 ng/mL. Pri toj vrijednosti osjetljivost testa iznosila je 46,4 %, a specifičnost 83,3 %.



Slika 44. ROC analiza za zglobni sindrom.

4.9.6. Usporedba ROC analiza

Sažetak rezultata ROC analiza prikazan je u Tablici 14.

Tablica 14. Parametri ROC analiza biomarkera S100A8/A9.

Ishod	AUC	95 % CI	Cut-off (ng/mL)	Osjetljivost (%)	Specifičnost (%)
IgA vaskulitis	0,9205	0,8668-0,9631	3324	75,36	100,0
Remisija	0,840	0,744-0,925	3324	75,4	91,3
Nefritis	0,519	0,375-0,668	4977	66,7	52,9
Gastrointestinalno zahvaćanje	0,484	0,334-0,643	8344,6	26,9	88,4
Zglobni sindrom	0,629	0,474-0,778	6696,6	46,4	83,3

AUC – površina ispod krivulje; CI – interval pouzdanosti; Cut-off – granična vrijednost

5. RASPRAVA

U ovom prospektivnom istraživanju djece s IgA vaskulitisom analizirana je vrijednost serumskog S100A8/A9 kao mogućeg biomarkera aktivnosti bolesti, njegova povezanost s PVAS-om i drugim laboratorijskim pokazateljima upale te njegova povezanost s pojedinim kliničkim fenotipovima. Glavni nalazi istraživanja mogu se sažeti u nekoliko cjelina. Koncentracije S100A8/A9 bile su značajno više u bolesnika s aktivnim IgAV-om nego u kontrolnoj skupini, a više vrijednosti zabilježene su i u aktivnoj bolesti nego u remisiji. Koncentracija biomarkera pozitivno je korelirala s PVAS-om kada su u analizu uključena sva dostupna mjerenja, kao i s većim brojem klasičnih laboratorijskih pokazatelja upalne aktivnosti. Nasuprot tome, S100A8/A9 nije pokazao značajnu povezanost s nefritisom, gastrointestinalnim ili zglobnim zahvaćanjem kada su se te manifestacije promatrale zasebno. ROC analiza pokazala je visoku diskriminacijsku sposobnost za razlikovanje bolesnika s IgAV-om od kontrolne skupine, ali ne i za predviđanje pojedinih organskih manifestacija. Ovakav obrazac nalaza važan je za razumijevanje stvarne kliničke vrijednosti S100A8/A9 u IgAV-u.

Dobiveni rezultati u velikoj se mjeri podudaraju s prethodno objavljenim istraživanjima, ali istodobno proširuju dosadašnje spoznaje longitudinalnim praćenjem i opsežnijom analizom odnosa biomarkera prema kliničkim i laboratorijskim obilježjima bolesti. Posebno je važno da se u interpretaciji S100A8/A9 razlikuju tri potencijalno različite namjene biomarkera: dijagnostičko razlikovanje bolesnika s IgAV-om od zdravih ili neupalnih kontrola, procjena trenutne aktivnosti sistemske upale te predviđanje razvoja ili prisutnosti specifičnog organskog zahvaćanja. Rezultati ovog istraživanja daju različit stupanj potpore za svaku od tih primjena.

5.1. S100A8/A9 kao pokazatelj aktivnosti IgA vaskulitisa

Najizraženiji nalaz ovog istraživanja bila je značajno viša koncentracija S100A8/A9 u djece s aktivnim IgAV-om u odnosu na kontrolnu skupinu. Medijan koncentracije pri dijagnozi bio je značajno viši u odnosu na kontrolnu skupinu, a k tome, kada su sva dostupna mjerenja razvrstana prema kliničkom statusu, medijan koncentracije S100A8/A9 bio je značajno viši tijekom aktivne bolesti nego u remisiji. Ovi nalazi podupiru pretpostavku da serumski S100A8/A9 odražava stupanj sistemske upalne aktivnosti u IgAV-u.

Biološka podloga takvog nalaza je uvjerljiva. S100A8/A9 je pretežno izražen u neutrofilima i monocitima te se oslobađa pri njihovoj aktivaciji. U izvanstaničnom prostoru djeluje kao DAMP/alarmin i preko TLR4 i RAGE signalnih putova može pojačavati upalni odgovor (43, 45, 46). Budući da su aktivacija neutrofila, endotelna aktivacija i leukocitno

oštećenje krvnih žila sastavni dijelovi završne faze patogeneze IgAV-a, povećanje serumskog S100A8/A9 predstavlja biološki očekivan događaj (2, 10, 45).

Naši rezultati pokazuju da je S100A8/A9 značajno povezan s kliničkom aktivnošću bolesti i nizom laboratorijskih pokazatelja upale. Sadašnja analiza dodatno razrađuje taj odnos detaljnijom analizom korelacija, organskih fenotipova i ROC karakteristika.

Važno je pritom naglasiti da S100A8/A9 nije specifičan za IgAV. Njegova vrijednost kao biomarkera aktivnosti već je opisana u juvenilnom idiopatskom artritisu, Stillovoj bolesti, Kawasakijevoj bolesti i AAV-u (49-57, 59-62). Sustavni pregled objavljen 2026. godine također zaključuje da S100A8/A9 ima najviše dokaza kao pokazatelj neutrofilno posredovane upale i aktivnosti u sistemskim vaskulitisima, ali da su IgAV-specifični podaci još uvijek fragmentirani te da su potrebna standardizirana prospektivna istraživanja (45). Stoga povišena koncentracija S100A8/A9 u našoj kohorti ne treba tumačiti kao specifičan dokaz IgAV-a, nego kao pokazatelj intenziteta upalnog procesa koji se u odgovarajućem kliničkom kontekstu javlja uz IgAV.

Sličan odnos između serumskog kalprotektina i aktivnosti bolesti opisan je i u drugim pedijatrijskim reumatskim bolestima. U juvenilnom idiopatskom artritisu, uključujući sistemski oblik bolesti, više koncentracije S100A8/A9 povezane su s aktivnom bolešću, a vrijednosti su se u pojedinim kohortama mijenjale usporedno s kliničkim pokazateljima aktivnosti i tradicionalnim biljezima upale (53, 71). Meta-analiza dostupnih studija također je pokazala da su koncentracije serumskog kalprotektina više u aktivnoj nego u neaktivnoj JIA, pri čemu je razlika bila osobito izražena u sistemskom obliku bolesti (72). Ovi podaci podupiru tumačenje da S100A8/A9 prije svega odražava aktivaciju mijeloidne komponente upalnog odgovora, a ne specifičnu etiologiju pojedine reumatske bolesti.

5.2. Povezanost S100A8/A9 s PVAS-om

U ovom istraživanju utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija između S100A8/A9 i PVAS-a kada su analizirana sva dostupna mjerenja. Ovaj nalaz izravno podupire drugu hipotezu istraživanja. Međutim, pri zasebnoj analizi pojedinih vremenskih točaka korelacija nije dosegnula statističku značajnost. Takav rezultat treba interpretirati oprezno.

Jedno od mogućih objašnjenja jest da združena analiza svih vremenskih točaka povećava raspon vrijednosti i time omogućuje jasnije uočavanje odnosa između biomarkera i kliničke aktivnosti, dok se unutar pojedine vremenske točke raspon PVAS-a i S100A8/A9 može suziti. Dodatno, PVAS je kompozitni klinički instrument koji različitim organskim

manifestacijama dodjeljuje različitu težinu (27). S100A8/A9, s druge strane, biološki prvenstveno odražava aktivaciju mijeloidnih stanica i sistemsku upalu (43, 45, 46). Stoga se ne očekuje nužno savršena linearna podudarnost između ukupnog kliničkog zbroja i koncentracije jednog biomarkera.

Nalaz pozitivne povezanosti S100A8/A9 s PVAS-om podupire mogućnost da biomarker odražava intenzitet kliničke aktivnosti bolesti. PVAS je standardizirani instrument razvijen za procjenu aktivnosti dječjih vaskulitisa (27). Ipak, sadašnji rezultati pokazuju da korelacija nije dovoljna da bi se S100A8/A9 promatrao kao zamjena za kliničku procjenu. Vjerojatnije je da bi biomarker mogao predstavljati komplementaran laboratorijski pokazatelj aktivnosti.

5.3. Dinamika S100A8/A9 tijekom praćenja

Longitudinalni rezultati pokazuju da je S100A8/A9 ostao viši u aktivnoj bolesti nego u kontrolnoj skupini tijekom svih promatranih vremenskih točaka. Pri tome je nakon tri mjeseca koncentracija bila značajno viša u aktivnoj bolesti nego u remisiji , dok nakon šest mjeseci razlika između aktivne bolesti i remisije više nije bila statistički značajna.

Longitudinalna priroda ovog odnosa također je opisana u drugim bolestima. U JIA serumski kalprotektin razlikovao je aktivnu od neaktivne bolesti te je bio povezan s tijekom kliničke aktivnosti, dok su u odrasloj Stillovoj bolesti vrijednosti S100A8/A9 bile više tijekom aktivne bolesti i smanjivale se nakon smirivanja aktivnosti (53, 54). Takva dinamika podupire mogućnost da S100A8/A9 može biti osjetljiv na promjenu intenziteta sistemske upale, ali istodobno upozorava da se pojedinačna vrijednost biomarkera mora interpretirati u kontekstu kliničkog stanja i vremena uzorkovanja.

Ovaj obrazac ne podupire jednostavan model prema kojem bi se koncentracija S100A8/A9 progresivno smanjivala tijekom prvih šest mjeseci nakon dijagnoze. Umjesto toga, rezultati upućuju na dinamičko ponašanje biomarkera koje je povezano s trenutačnim statusom bolesti, pri čemu pojedinačne vrijednosti ovise o tome je li bolest u trenutku uzorkovanja aktivna ili u remisiji. Sličan koncept opisan je i u drugim upalnim bolestima u kojima S100A8/A9 može ostati povišen tijekom klinički mirnijih razdoblja (49-56).

Pri interpretaciji šestomjesečnih rezultata potrebno je uzeti u obzir i broj dostupnih mjerenja te činjenicu da se klinički status bolesnika tijekom praćenja mijenja. Dodatno, koncentracija biomarkera može biti pod utjecajem liječenja, trajanja bolesti i heterogenosti organskih manifestacija. Stoga bi za potvrdu longitudinalne uporabljivosti bilo potrebno veće

istraživanje s unaprijed definiranim vremenskim točkama, standardiziranim uzorkovanjem i ponovljenim mjerenjima unutar istog bolesnika.

5.4. S100A8/A9 i kožne manifestacije

Analiza kožnog fenotipa pokazala je zanimljiv, ali ne potpuno linearan odnos između proširenosti osipa i S100A8/A9. Medijan koncentracije povećavao se od 4813,5 ng/mL pri zahvaćenosti jedne regije do 8460,6 ng/mL pri zahvaćenosti četiri regije, ali ukupna korelacija nije bila statistički značajna. Istodobno je u bolesnika s generaliziranim osipom medijan S100A8/A9 bio značajno viši nego u bolesnika s lokaliziranim osipom.

Ovaj nalaz je u skladu s biološkom pretpostavkom da veći opseg kožnog vaskularnog upalnog procesa može biti praćen izraženijom aktivacijom mijeloidnih stanica. Međutim, činjenica da korelacija s brojem regija nije bila statistički značajna upozorava da se S100A8/A9 ne može jednostavno koristiti za kvantifikaciju opsega kožnog zahvaćanja. Generalizirani osip predstavlja kvalitativno različitu kliničku kategoriju od pukog povećanja broja zahvaćenih regija, pa bi upravo ta razlika mogla objasniti zašto se statistički signal pojavljuje u usporedbi generaliziranog i lokaliziranog osipa, ali ne i u kontinuiranoj korelacijskoj analizi.

Slična povezanost S100A8/A9 s izraženim sistemskim upalnim fenotipom opisana je i u Stillovoj bolesti. U bolesnika s odraslom Stillovom bolešću serumske koncentracije S100A8/A9 bile su više nego u bolesnika s reumatoidnim artritisom i zdravih kontrola te su se smanjivale nakon smirivanja aktivnosti bolesti (54). Iako se taj nalaz ne može izravno preslikati na morfologiju osipa u IgAV-u, podupire hipotezu da visoke vrijednosti S100A8/A9 mogu pratiti izraženiji sustavni neutrofilno-monocitni odgovor. Stoga nalaz značajno viših vrijednosti u bolesnika s generaliziranim osipom treba promatrati kao signal povezanosti s intenzitetom upalnog fenotipa, a ne kao dokaz specifičnosti biomarkera za kožno zahvaćanje.

5.5. S100A8/A9 i zglobno, gastrointestinalno te bubrežno zahvaćanje

Za razliku od povezanosti s općom aktivnošću bolesti, koncentracija S100A8/A9 nije se značajno razlikovala između bolesnika sa i bez zglobnih manifestacija, a nije nađena ni značajna povezanost s brojem zahvaćenih zglobnih regija. Ovaj rezultat govori u prilog tome da serumskim S100A8/A9 nije moguće jednostavno odrediti postoji li zglobni fenotip bolesti.

Sličan problem razdvajanja sistemske aktivnosti od organske lokalizacije vidljiv je i u drugim bolestima. U juvenilnom sistemskom eritemskom lupusu serum S100A8/A9 bio je povišen, a u nekim analizama bio je povezan s aktivnim bubrežnim zahvaćanjem (73). U

sistemskom eritemskom lupusu odraslih također su više razine S100A8/A9 bile povezane s većom aktivnosti bolesti, a osobito s glomerulonefritisom i prisutnošću anti-dsDNA protutijela (74). Ovi nalazi pokazuju da S100A8/A9 može biti povezan s određenim organskim manifestacijama u drugim autoimunim bolestima, ali istodobno potvrđuju da njegova klinička vrijednost ovisi o bolesti, načinu mjerenja i odnosu prema lokalnim biljezima oštećenja.

Sličan obrazac dobiven je za gastrointestinalno zahvaćanje. Medijan S100A8/A9 čak je bio numerički niži u bolesnika s gastrointestinalnim zahvaćanjem nego u bolesnika bez njega (4797 prema 6202 ng/mL), ali razlika nije bila statistički značajna. Ovaj nalaz je posebno zanimljiv u kontekstu činjenice da je fekalni kalprotektin, koji predstavlja isti S100A8/A9 protein mjeren u stolici, dobro istražen kao biljeg crijevne upale u IgAV-u (41, 42, 66).

Nepostojanje povezanosti serumskog i fekalnog S100A8/A9 dodatno podupire koncept da serumski i fekalni kalprotektin mogu predstavljati različite prostorne komponente upalnog odgovora. Serumski S100A8/A9 vjerojatnije odražava sistemsku aktivaciju mijeloidnih stanica, dok fekalni oblik izravnije odražava lokalnu intestinalnu upalu. Stoga negativan rezultat serumske analize u odnosu na gastrointestinalno zahvaćanje ne proturječi literaturi o korisnosti fekalnog kalprotektina (66).

Najvažniji negativan nalaz odnosi se na nefritis. Medijan S100A8/A9 nije pokazao statistički značajnu razliku između bolesnika s nefritisom i onih bez nefritisa. ROC analiza dodatno je pokazala AUC od samo 0,519, uz 95 %-tni interval pouzdanosti 0,375–0,668. To je praktično vrijednost bliska slučajnoj klasifikaciji.

U vaskulitisima s dominantnim bubrežnim zahvaćanjem nalazi su nešto drukčiji. U ANCA-povezanom vaskulitisu serumski S100A8/A9 bio je povišen tijekom aktivne bolesti, smanjivao se tijekom remisije, ali je u dijela bolesnika ostajao povišen i u remisiji; više vrijednosti bile su povezane i s relapsom nakon povlačenja terapije (59). To sugerira da je S100A8/A9 sposoban odražavati aktivaciju neutrofila i monocita povezanu s vaskularnom i glomerularnom upalom, ali ne znači da će isti biomarker imati jednaku dijagnostičku ili prediktivnu vrijednost u različitim vaskulitičnim sindromima.

Ovaj rezultat važan je jer je bubrežno zahvaćanje klinički najvažnija komplikacija IgAV-a, a potraga za ranim biomarkerima IgAVN-a i dalje je jedno od središnjih područja istraživanja (23, 34, 39). Dosadašnja literatura pokazuje da nijedan pojedinačni rutinski laboratorijski pokazatelj nije dovoljno pouzdan za samostalno predviđanje nefritisa (34).

Noviji pregledi također zaključuju da, unatoč velikom broju istraživanih serumskih i urinarnih biljega, klinički primjenjiv samostalni prediktor IgAVN-a još nije potvrđen (34, 39, 75).

Moguće je da S100A8/A9 odražava zajedničku sistemsku upalnu komponentu IgAV-a, ali ne i lokalizaciju upalnog procesa u glomerulu. Takvo tumačenje u skladu je s činjenicom da je S100A8/A9 povezan s aktivacijom neutrofila i monocita, dok nastanak IgAVN-a uključuje dodatne lokalne mehanizme, uključujući odlaganje Gd-IgA1-imunokompleksa, aktivaciju komplementa i intrarenalne procese (10, 20, 39). Stoga visok S100A8/A9 ne mora nužno značiti da će se upalni proces manifestirati upravo u bubregu.

5.6. S100A8/A9 i laboratorijski pokazatelji upale

Najširu i najkonzistentniju povezanost S100A8/A9 pokazao je s laboratorijskim pokazateljima sistemske upale. Pozitivne korelacije utvrđene su sa SE, CRP-om, leukocitima, fibrinogenom, D-dimerima, trombocitima, komponentama komplementa, β-globulinima, a najjače korelacije zabilježene su s α1-globulinima, feritinom i α2-globulinima. Istovremeno, utvrđena je i negativna korelacija s vrijednostima albumina.

Takav obrazac nije specifičan za IgAV. U reumatoidnom artritisu serumski i sinovijalni S100A8/A9 povezani su s kliničkim i laboratorijskim pokazateljima aktivnosti, uključujući CRP, sedimentaciju i DAS28, a opisane su i povezanosti s ultrazvučno procijenjenom sinovijalnom upalom (76). U longitudinalnim istraživanjima kalprotektin se mijenjao tijekom liječenja i bio povezan s mjerama aktivnosti bolesti (76). Širi pregled cirkulirajućeg kalprotektina u autoimunim reumatskim bolestima zaključio je da njegove serumske koncentracije uglavnom odražavaju lokalnu ili sistemsku neutrofilnu upalu, pri čemu su klinička svojstva najdosljednija u kroničnim upalnim reumatskim bolestima (55). Naši nalazi, uključujući korelacije s CRP-om, SE, fibrinogenom, feritinom i globulinskim frakcijama, stoga se uklapaju u širi koncept S100A8/A9 kao pokazatelja aktivnosti urođenog upalnog odgovora.

Ovaj obrazac pruža snažniju potporu ulozi S100A8/A9 kao pokazatelja sistemskog upalnog opterećenja nego kao organskog specifičnog biomarkera. CRP i SE predstavljaju klasične pokazatelje odgovora akutne faze, dok feritin, fibrinogen, D-dimeri i promjene proteinskih frakcija odražavaju različite sastavnice upalnog i hemostatskog odgovora. Pozitivna povezanost S100A8/A9 s više međusobno različitih parametara stoga povećava biološku koherentnost rezultata.

Posebno je zanimljiva povezanost s α1- i α2-globulinima. Te proteinske frakcije uključuju više proteina akutne faze, pa njihov odnos sa S100A8/A9 dodatno govori u prilog

tome da biomarker prati intenzitet sistemskog upalnog odgovora. Negativna korelacija s albuminom također je kompatibilna s promjenama proteinske raspodjele tijekom upale, pri čemu albumin kao negativni protein akutne faze može biti snižen.

Povezanost s C3 i C4 bila je pozitivna, ali slabija za C4. Ovaj nalaz treba interpretirati u kontekstu IgAV patogeneze, u kojoj aktivacija komplementa sudjeluje u vaskularnom oštećenju (2, 10, 20). Međutim, budući da su serumske vrijednosti komplementa u IgAV-u često unutar referentnog raspona, sama korelacija ne znači da je S100A8/A9 specifičan pokazatelj aktivacije komplementa.

Važno je i to da S100A8/A9 nije pokazao značajnu korelaciju s kreatininom ili ureom. To je očekivano s obzirom na to da su ti parametri prvenstveno pokazatelji funkcije bubrega, a ne sistemske upalne aktivnosti. Njihova odsutna povezanost dodatno podupire razliku između biomarkera sistemske upale i biljega specifičnog organskog oštećenja.

5.7. Serumski i fekalni kalprotektin: različite biološke informacije

U ovom istraživanju nije utvrđena značajna korelacija serumskog S100A8/A9 s fekalnim kalprotektinom. Taj nalaz može se činiti neočekivanim jer oba testa mjere isti protein, ali biološka interpretacija je različita. Fekalni kalprotektin nastaje pretežno iz neutrofila u crijevnom lumenu i neposrednije odražava lokalnu intestinalnu upalu, dok serumski S100A8/A9 odražava sustavnu aktivaciju mijeloidnih stanica.

Ovu biološku razliku između lokalnog i sistemskog odjeljka dodatno potkrepljuju nalazi longitudinalnog istraživanja koje su proveli Kato i suradnici (77). Oni su pokazali da u pedijatrijskih bolesnika s gastrointestinalnim oblikom IgAV-a fekalni kalprotektin ostaje značajno povišen i nakon smirivanja kliničke trbušne boli te nakon potpunog normaliziranja konvencionalnih pokazatelja krvarenja i gubitka bjelančevina u stolici (poput fekalnog alfa-1-antitripsina i imunokemijskog testa na okultno krvarenje). Takav nalaz nedvosmisleno potvrđuje da fekalni kalprotektin nastaje izravnom transmigracijom aktiviranih neutrofila kroz upaljenu sluznicu u lumen crijeva, dok serumski S100A8/A9 mjeri cirkulirajuće mijeloidno upalno opterećenje u krvožilnom sustavu. Time se patofiziološki objašnjava zašto serumski kalprotektin ne korelira izravno s fekalnim kalprotektinom niti s prisutnošću gastrointestinalnih simptoma.

Literatura o IgAV-u podupire korisnost fekalnog kalprotektina u procjeni gastrointestinalnog zahvaćanja (41, 42, 66), dok naši rezultati pokazuju da serumski oblik nije imao istu povezanost. To je važna praktična razlika: izbor biološkog uzorka može biti jednako važan kao i izbor samog biomarkera. U budućim istraživanjima stoga bi bilo korisno

istodobno analizirati serumski i fekalni S100A8/A9 te ih povezati s objektivnim pokazateljima gastrointestinalne aktivnosti.

5.8. Dijagnostička vrijednost S100A8/A9

ROC analiza pokazala je AUC od 0,9205 za razlikovanje djece s IgAV-om od kontrolne skupine, uz 95 %-tni interval pouzdanosti 0,8668–0,9631. Pri optimalnoj graničnoj vrijednosti od 3324 ng/mL osjetljivost je iznosila 75,36 %, a specifičnost 100 %. Ovaj rezultat pokazuje vrlo dobru diskriminacijsku sposobnost u promatranoj kohorti.

Međutim, visoku AUC vrijednost treba tumačiti u kontekstu dizajna istraživanja. Kontrolnu skupinu činila su djeca bez akutne ili kronične upalne bolesti i bez infekcije u trenutku uključivanja, a ne djeca s drugim vaskulitisima ili drugim upalnim bolestima koje bi u stvarnoj kliničkoj diferencijalnoj dijagnozi mogle imati povišene vrijednosti S100A8/A9. Budući da je S100A8/A9 nespecifičan biljeg mijeloidne aktivacije (43, 45, 55, 56), specifičnost od 100 % dobivena u ovoj kontrolnoj skupini ne može se automatski prenijeti na populaciju djece s drugim upalnim stanjima.

Dodatno, PPV i NPV ovise o prevalenciji bolesti u populaciji te ih nije primjereno izravno generalizirati iz ove kohorte. Stoga bi se rezultat AUC = 0,9205 prije svega trebao promatrati kao dokaz izražene diskriminacijske sposobnosti u istraživačkoj populaciji, a ne kao dovoljan dokaz spremnosti testa za rutinsku kliničku primjenu.

Ovo je osobito važno u svjetlu suvremenih sustavnih analiza biomarkera IgAV-a. Najnoviji pregled obuhvatio je 129 studija i više od 23 000 djece te zaključio da, unatoč statistički značajnim razlikama za brojne biomarkere, nijedan pojedinačni marker još nije dosegnuo razinu klinički primjenjivog samostalnog prediktora IgAVN-a (34). S100A8/A9 stoga treba promatrati kao obećavajući kandidat koji zahtijeva vanjsku validaciju, a ne kao već validirani dijagnostički test.

5.9. Prediktivna vrijednost za organsko zahvaćanje

Najvažniji rezultat ROC analiza jest jasna razlika između diskriminacije IgAV-a i predviđanja pojedinih kliničkih fenotipova. Za nefritis je AUC iznosio 0,519, za gastrointestinalno zahvaćanje 0,484, a za zglobni sindrom 0,629. U sva tri slučaja 95 %-tni intervali pouzdanosti uključivali su vrijednost 0,50. Stoga rezultati ne podupiru uporabu početne koncentracije S100A8/A9 kao samostalnog prediktora razvoja nefritisa, gastrointestinalnog ili zglobnog zahvaćanja.

Suvremeni pregledi prediktivnih modela za IgAVN također naglašavaju da dosadašnji biomarkeri rijetko pokazuju dovoljnu diskriminacijsku sposobnost kada se promatraju izolirano te da je razvoj kombiniranih modela vjerojatno prikladniji smjer budućih istraživanja (75, 78).

Posebno je značajan rezultat za nefritis, jer je upravo predviđanje IgAVN-a jedan od najvažnijih neriješenih problema u ovoj bolesti. Suvremeni pregledi pokazuju da su brojni biomarkeri istraživani, uključujući urinarni KIM-1, MCP-1, NAG, angiotenzinogen, komponente komplementa i različite serumske proteine, ali da je potrebno više prospektivnih i longitudinalnih studija prije njihove kliničke primjene (39, 78).

Rezultati za gastrointestinalno zahvaćanje također pokazuju da visoka sistemska upalna aktivnost nije istoznačna s lokalizacijom upale. AUC od 0,484 praktično ne pokazuje diskriminacijsku sposobnost, unatoč tome što su bolesnici s gastrointestinalnim zahvaćanjem imali viši PVAS i neke laboratorijske pokazatelje veće aktivnosti bolesti. To je u skladu s konceptom heterogenosti IgAV-a, u kojem različiti organski fenotipovi mogu imati djelomično različite imunološke mehanizme (39, 45).

Zglobni sindrom pokazao je nešto višu AUC vrijednost od ostalih organskih ishoda, ali interval pouzdanosti bio je širok i uključivao 0,50, a osjetljivost pri optimalnom pragu iznosila je samo 46,4 %. Taj rezultat stoga nije dovoljan za zaključak o kliničkoj prediktivnoj vrijednosti.

5.10. Terapija i interpretacija koncentracija S100A8/A9

U istraživanju nije utvrđena statistički značajna razlika početnih koncentracija S100A8/A9 među terapijskim skupinama. Medijan je bio najviši u skupini koja je primala kombinaciju glukokortikoida i NSAIL-a, a najniži u skupini liječenoj samo glukokortikoidima, ali razlika nije bila značajna. Ovaj nalaz treba interpretirati prvenstveno opisno.

Terapijske skupine nisu bile randomizirane, nego su određene kliničkim fenotipom i težinom bolesti. Stoga se iz njihove usporedbe ne može zaključiti da određena terapija povećava ili smanjuje koncentraciju S100A8/A9. Činjenica da su svi bolesnici liječeni imunosupresivima imali nefritis upravo pokazuje mogući problem greške uzrokovane indikacijom: terapija je posljedica kliničke težine bolesti, a ne nezavisna varijabla.

Ipak, longitudinalna razlika između aktivne bolesti i remisije ostaje važna jer sugerira da biomarker ima odnos s kliničkim stanjem koji nije jednostavno objašnjiv samo vrstom terapije. Za procjenu farmakodinamičke vrijednosti S100A8/A9 potrebna su buduća

istraživanja s preciznim podacima o vremenu početka terapije, dozama, kumulativnoj izloženosti glukokortikoidima i vremenu uzorkovanja.

5.11. Kliničko značenje rezultata i moguća buduća primjena

Na temelju dobivenih rezultata S100A8/A9 se u ovoj kohorti može promatrati prvenstveno kao potencijalni komplementarni biomarker sistemske aktivnosti IgAV-a. Njegova najveća potencijalna vrijednost nije u zamjeni kliničkog pregleda ili PVAS-a, nego u pružanju dodatne, objektivne laboratorijske informacije o intenzitetu mijeloidne upalne aktivnosti.

Takav pristup posebno bi mogao biti koristan u longitudinalnom praćenju bolesnika kod kojih klinička slika nije jednoznačna. Međutim, rezultat nakon šest mjeseci, kada razlika između aktivne bolesti i remisije više nije bila statistički značajna, upozorava da pojedinačna granična vrijednost ne bi trebala biti dovoljna za definiranje remisije. U budućnosti bi korisniji mogao biti individualni trend vrijednosti kroz vrijeme, zajedno s PVAS-om i standardnim laboratorijskim pokazateljima.

Potencijalna klinička primjena zahtijevala bi nekoliko dodatnih koraka. Prije svega, potrebno je potvrditi nalaze u neovisnim multicentričnim kohortama različitih populacija. Zatim je potrebno usporediti S100A8/A9 s drugim kandidatima, uključujući Gd-IgA1, urinarne biomarkere bubrežnog oštećenja, fekalni kalprotektin i kombinirane kliničko-laboratorijske modele (34, 39). Konačno, potrebno je utvrditi dodaje li S100A8/A9 prognostičku informaciju povrh već dostupnih kliničkih varijabli.

Suvremena istraživanja biomarkera IgAVN-a sve se više usmjeravaju prema kombiniranim modelima, umjesto prema jednom biomarkeru (75, 78). U tom bi kontekstu S100A8/A9 mogao biti posebno zanimljiv kao pokazatelj sistemske mijeloidne aktivnosti, dok bi organ-specifični biljezi mogli pružiti informaciju o lokalizaciji oštećenja. Takav multimodalni pristup bolje odgovara heterogenoj patogenezi IgAV-a nego očekivanje da jedan serumski protein istodobno predviđa ukupnu aktivnost i točno određeni organski ishod.

5.12. Ograničenja istraživanja

Pri interpretaciji rezultata potrebno je uzeti u obzir nekoliko ograničenja. Prvo, istraživanje je provedeno u tri tercijarna centra u Hrvatskoj, što omogućuje prospektivno prikupljanje podataka, ali ograničava mogućnost generalizacije rezultata na druge populacije. Razlike u epidemiologiji i biomarkerima među geografskim skupinama već su opisane za IgAV (6-9, 34).

Drugo, broj ispitanika, osobito u podskupinama prema pojedinim organskim manifestacijama, ograničava statističku snagu analiza prediktivne vrijednosti. To je osobito relevantno za nefritis, koji je bio prisutan u 18 bolesnika, te za analize pojedinih vremenskih točaka. Široki intervali pouzdanosti ROC analiza za organske ishode odražavaju tu nesigurnost.

Treće, kontrolna skupina nije predstavljala skupinu djece s drugim upalnim ili vaskulitičnim bolestima. Zbog toga se visoka specifičnost dobivena ROC analizom ne može tumačiti kao dokaz sposobnosti razlikovanja IgAV-a od svih relevantnih diferencijalno-dijagnostičkih stanja.

Četvrto, broj mjerenja u korelacijskoj analizi bio je veći od broja ispitanika jer su uključena ponovljena mjerenja tijekom praćenja. Takav pristup omogućuje procjenu odnosa biomarkera i laboratorijskih parametara kroz vrijeme, ali zahtijeva oprez u interpretaciji jer ponovljena mjerenja unutar istog ispitanika nisu međusobno potpuno nezavisna.

Konačno, terapija nije bila standardizirana prema protokolu nego je određivana kliničkim potrebama. Zbog toga se ne može pouzdano odvojiti učinak same bolesti od učinka liječenja na dinamiku S100A8/A9. Buduća istraživanja trebala bi unaprijed definirati vrijeme uzorkovanja u odnosu na početak terapije i uključiti multivarijatne modele koji bi istodobno uzeli u obzir dob, spol, organsko zahvaćanje, PVAS, terapiju i standardne upalne pokazatelje.

5.13. Zaključno razmatranje

Rezultati pokazuju da je S100A8/A9 u djece s IgA vaskulitisom prvenstveno povezan sa sistemskom upalnom aktivnošću. Značajno više vrijednosti u aktivnoj bolesti, pozitivna povezanost s PVAS-om i širok spektar korelacija s klasičnim upalnim i pokazateljima akutne faze upale podupiru njegovu biološku i kliničku relevantnost kao potencijalnog biomarkera aktivnosti bolesti. Istodobno, izostanak značajne povezanosti s nefritisom, gastrointestinalnim i zglobnim zahvaćanjem te slaba ROC izvedba za te ishode pokazuju da serumski S100A8/A9 nije organ-specifični biomarker. Njegova potencijalna klinička uloga stoga vjerojatnije leži u praćenju sistemske upalne aktivnosti nego u samostalnom predviđanju kliničkog fenotipa ili bubrežnog ishoda. Ovi nalazi podupiru potrebu za daljnjim prospektivnim, multicentričnim istraživanjima koja bi S100A8/A9 procijenila unutar kombiniranih biomarkera i kliničkih modela rizika.

6. ZAKLJUČAK

U ovom istraživanju analizirana je povezanost serumskog S100A8/A9 (kalprotektina) s aktivnošću bolesti, kliničkim manifestacijama i laboratorijskim pokazateljima u djece s IgA vaskulitisom. Rezultati upućuju na to da je S100A8/A9 potencijalno koristan pokazatelj sistemske upalne aktivnosti, ali da njegova vrijednost za samostalno predviđanje pojedinih organskih manifestacija ostaje ograničena.

Koncentracije S100A8/A9 bile su značajno više u djece s aktivnim IgA vaskulitisom nego u kontrolnoj skupini. ROC analiza pokazala je vrlo dobru sposobnost razlikovanja bolesnika od zdravih kontrola (AUC = 0,9205; 95 %-tni interval pouzdanosti 0,8668–0,9631). Pri graničnoj vrijednosti od 3324 ng/mL specifičnost je iznosila 100 %, a osjetljivost 75,36 %. Taj nalaz predstavlja dokaz dobre diskriminacijske sposobnosti u ispitivanoj populaciji, ali ne potvrđuje specifičnost biomarkera za IgA vaskulitis u odnosu na druge upalne bolesti.

Vrijednosti S100A8/A9 bile su značajno više tijekom aktivne bolesti nego tijekom remisije. Utvrđena je i pozitivna povezanost koncentracije biomarkera s PVAS-om kada su objedinjena mjerenja tijekom praćenja (Spearmanov $\rho = 0,451$; $P < 0,001$). Ovi rezultati podupiru povezanost S100A8/A9 s ukupnim upalnim opterećenjem i mogućnost njegove primjene kao dopunskog pokazatelja aktivnosti bolesti. Ipak, razlike između aktivne bolesti i remisije nisu bile statistički značajne u svim pojedinačnim vremenskim točkama, pa se pojedinačna vrijednost biomarkera ne može smatrati dovoljnim kriterijem za određivanje remisije.

S100A8/A9 pokazao je statistički značajne pozitivne korelacije s više laboratorijskih pokazatelja upale i akutne faze, uključujući brzinu sedimentacije eritrocita, CRP, fibrinogen, D-dimere, feritin, trombocite, C3 i C4 te α1-, α2- i β-globulinske frakcije. Zabilježena je negativna korelacija s albuminom. Ovakav obrazac podupire tumačenje da serumski S100A8/A9 prvenstveno odražava aktivaciju mijeloidnih stanica i sistemski upalni odgovor.

Nasuprot tome, nije utvrđena statistički značajna povezanost koncentracije S100A8/A9 s prisutnošću nefritisa, gastrointestinalnog zahvaćanja ili zglobnih manifestacija. ROC analiza nije pokazala zadovoljavajuću sposobnost predviđanja tih ishoda: AUC je iznosio 0,519 za nefritis, 0,484 za gastrointestinalno zahvaćanje i 0,629 za zglobni sindrom, uz intervale pouzdanosti koji su uključivali vrijednost 0,50. Stoga se serumski S100A8/A9 na temelju ovih rezultata ne može preporučiti kao samostalni prediktor određenog organskog fenotipa ili bubrežnog ishoda.

Nije utvrđena značajna korelacija između serumskog S100A8/A9 i fekalnog kalprotektina. To upućuje na to da ova dva mjerenja, premda se odnose na isti protein, mogu

odražavati različite prostorne sastavnice upalnog procesa: sistemsku mijeloidnu aktivaciju u krvi i lokalnu upalu crijevne sluznice u stolici.

Usporedba terapijskih skupina nije pokazala statistički značajne razlike početnih koncentracija S100A8/A9. Budući da terapija nije bila randomizirana ni standardizirana, iz tih se nalaza ne može zaključivati o uzročnom učinku pojedinih lijekova na koncentraciju biomarkera.

Zaključno, S100A8/A9 pokazuje potencijal kao dopunski biomarker sistemske upalne aktivnosti u djece s IgA vaskulitisom, osobito kada se interpretira zajedno s kliničkom procjenom, PVAS-om i konvencionalnim laboratorijskim pokazateljima. Međutim, rezultati ne podupiru njegovu samostalnu primjenu za predviđanje nefritisa ili drugih organskih manifestacija. Potrebna su veća prospektivna multicentrična istraživanja, s odgovarajućim kontrolnim skupinama i standardiziranim vremenom uzorkovanja, kako bi se potvrdila njegova klinička vrijednost i utvrdilo doprinosi li kombiniranim kliničko-laboratorijskim modelima.

7. SAŽETAK

Ciljevi: IgA vaskulitis (IgAV) najčešći je sistemski vaskulitis dječje dobi. Većina djece ima samoograničavajući tijek, no u dijela se razvije teže zahvaćanje probavnog sustava ili bubrega (nefritis), a pouzdan laboratorijski pokazatelj aktivnosti bolesti još ne postoji. S100A8/A9 (kalprotektin) protein je koji otpuštaju aktivirani neutrofili i monociti te ima ulogu alarmina u upalnom odgovoru. Cilj istraživanja bio je odrediti koncentraciju S100A8/A9 u serumu djece s IgAV-om, ispitati njezinu povezanost s aktivnošću bolesti izraženom pedijatrijskim indeksom aktivnosti vaskulitisa (PVAS, engl. *Paediatric Vasculitis Activity Score*) i s drugim laboratorijskim pokazateljima upale te procijeniti njezinu dijagnostičku i prediktivnu vrijednost za pojedina organska zahvaćanja.

Ispitanici i postupci: U opažajno prospektivno istraživanje u tri tercijarna centra u Republici Hrvatskoj uključeno je 69 djece s IgAV-om i 33 kontrolna ispitanika bez upalne bolesti. Bolesnici su pregledani i uzorkovani na početku bolesti te nakon tri i šest mjeseci, a kontrolni ispitanici jednom. Koncentracija S100A8/A9 u serumu određena je enzimskim imunotestom (ELISA, engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*), a aktivnost bolesti procijenjena je PVAS-om. Uz S100A8/A9 određeni su standardni laboratorijski pokazatelji upale. Podaci su analizirani parametrijskim i neparametrijskim testovima, korelacijskom analizom te analizom ROC krivulje (engl. *receiver operating characteristic*), uz razinu značajnosti $P < 0,05$.

Rezultati: Medijan dobi bolesnika iznosio je 6,0 godina, a dječaka je bilo 52,2 %. Prethodna infekcija, najčešće dišnog sustava, zabilježena je u 44,9 % bolesnika. Kožne promjene imalo je svih 69 bolesnika, zglobne manifestacije njih 56 (81,2 %), gastrointestinalno zahvaćanje 26 (37,7 %), a nefritis 18 (26,1 %). Medijan koncentracije S100A8/A9 iznosio je 5348 ng/mL u bolesnika pri dijagnozi i 1132 ng/mL u kontrolnoj skupini ($P < 0,001$). Tijekom aktivne bolesti medijan je bio 5185 ng/mL, a u remisiji 1978,5 ng/mL ($P < 0,001$). Razlika je bila značajna i nakon tri mjeseca ($P = 0,040$), ali ne i nakon šest mjeseci ($P = 0,122$). U 125 mjerenja koncentracija je pozitivno korelirala s PVAS-om (Spearmanov $r_s = 0,451$; $P < 0,001$), no ne i u pojedinačnim vremenskim točkama. Bolesnici s nefritisom (medijan 7,5 prema 3,0 boda) i gastrointestinalnim zahvaćanjem (6,5 prema 3,0 boda) imali su viši PVAS (u oba slučaja $P < 0,001$). Utvrđene su značajne pozitivne korelacije sa sedimentacijom eritrocita, C-reaktivnim proteinom, feritinom, fibrinogenom, D-dimerima, trombocitima te komponentama komplementa C3 i C4, a negativna korelacija s albuminom. Koncentracije su bile više u bolesnika s generaliziranim osipom (10 602,0 prema 4906,5 ng/mL; $P = 0,040$), ali se nisu razlikovale između bolesnika s nefritisom i bez nefritisa ($P = 0,816$), s gastrointestinalnim zahvaćanjem i bez zahvaćanja probavnog sustava ($P = 0,823$), sa zglobnim manifestacijama i bez njih ($P = 0,164$), niti među terapijskim skupinama ($P =$

0,440). Za razlikovanje bolesnika od kontrolne skupine površina ispod krivulje (AUC, engl. *area under the curve*) iznosila je 0,9205 (95 % interval pouzdanosti 0,8668–0,9631); pri graničnoj vrijednosti od 3324 ng/mL osjetljivost je bila 75,36 %, a specifičnost 100 %. Prediktivna vrijednost bila je slaba za nefritis (AUC 0,519), gastrointestinalno zahvaćanje (AUC 0,484) i zglobni sindrom (AUC 0,629).

Zaključci: Serumski S100A8/A9 viši je u djece s aktivnim IgAV-om nego u kontrolnoj skupini i u remisiji te je povezan s PVAS-om i pokazateljima sistemske upale, što upućuje na to da odražava sistemsku upalnu aktivnost i aktivaciju mijeloidnih stanica. Nije se pokazao pouzdanim pokazateljem pojedinih organskih zahvaćanja, osobito nefritisa, pa se ne može preporučiti kao samostalni prediktor. Mogao bi poslužiti kao dopunski biomarker uz kliničku procjenu i uobičajene laboratorijske pokazatelje, no za potvrdu su potrebna veća prospektivna multicentrična istraživanja s vanjskom validacijom. Ograničenja su mali broj bolesnika u podskupinama, kontrolna skupina bez drugih upalnih bolesti i nestandardizirana terapija.

8. LAIČKI SAŽETAK

Ciljevi: IgA vaskulitis je upalna bolest krvnih žila. Najčešće pogađa djecu, a vidi se kao crvenkaste ili ljubičaste točkice na koži, najčešće na nogama, često uz bolove u zglobovima i trbuhu. Većina djece ozdravi bez posljedica, no u nekih bolest zahvati bubrege, što može ostaviti trajno oštećenje. Liječnicima je teško pouzdano procijeniti koliko je bolest u određenom trenutku aktivna. Željeli smo istražiti može li se aktivnost bolesti pratiti mjerenjem proteina S100A8/A9 u krvi. Taj protein oslobađaju neke bijele krvne stanice kada su aktivirane i kada u tijelu postoji upala.

Ispitanici i postupci: U istraživanje je uključeno 69 djece s IgA vaskulitisom liječene u bolnicama u Splitu i Zagrebu te 33 djece bez upalne bolesti za usporedbu. Djeci s IgA vaskulitisom krv je vađena na početku bolesti te nakon tri i šest mjeseci, a djeci iz usporedne skupine jednom. Uz protein S100A8/A9 određivane su uobičajene krvne pretrage upale, a aktivnost bolesti liječnici su ocjenjivali posebnom bodovnom ljestvicom.

Rezultati: Djeca s aktivnom bolešću imala su gotovo pet puta više S100A8/A9 u krvi nego djeca bez upalne bolesti. Vrijednosti su bile više dok je bolest bila aktivna nego nakon što se smirila. Više vrijednosti bile su povezane s većom aktivnošću bolesti i s drugim pokazateljima upale u krvi, primjerice sedimentacijom eritrocita, C-reaktivnim proteinom, feritinom i fibrinogenom. Međutim, protein nije pokazao koja će djeca razviti upalu bubrega, probavnog sustava ili zglobova.

Zaključci: Mjerenje S100A8/A9 u krvi moglo bi liječnicima pomoći u praćenju koliko je upala izražena u djeteta s IgA vaskulitisom, uz pregled i uobičajene pretrage. Samo na temelju tog nalaza ne može se predvidjeti zahvaćanje bubrega ili drugih organa. Za potvrdu su potrebna veća istraživanja.

9. SUMMARY

Title: The role of S100A8/A9 as an indicator of disease activity in children with IgA vasculitis

Objectives: IgA vasculitis (IgAV) is the most common systemic vasculitis in childhood. Most children have a self-limited course, but some develop more severe gastrointestinal or renal involvement (nephritis), and a reliable laboratory marker of disease activity is still lacking. S100A8/A9 (calprotectin) is a protein released by activated neutrophils and monocytes and acts as an alarmin in the inflammatory response. The aim of this study was to determine serum S100A8/A9 concentrations in children with IgAV, to examine their association with disease activity measured by the Paediatric Vasculitis Activity Score (PVAS) and with other laboratory markers of inflammation, and to assess their diagnostic and predictive value for individual organ manifestations.

Subjects and methods: This prospective observational study at three tertiary centres in Croatia included 69 children with IgAV and 33 controls without inflammatory disease. Patients were examined and sampled at disease onset and after three and six months, and controls once. Serum S100A8/A9 was measured with an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and disease activity was assessed with the PVAS. Standard laboratory markers of inflammation were measured alongside S100A8/A9. Data were analysed using parametric and non-parametric tests, correlation analysis and receiver operating characteristic (ROC) analysis, with the level of significance set at $P < 0.05$.

Results: The median age of patients was 6.0 years and 52.2 % were boys. A preceding infection, most often of the respiratory tract, was recorded in 44.9 % of patients. All 69 patients had skin involvement, 56 (81.2 %) had joint manifestations, 26 (37.7 %) had gastrointestinal involvement, and 18 (26.1 %) had nephritis. The median S100A8/A9 concentration was 5348 ng/mL in patients at diagnosis and 1132 ng/mL in controls ($P < 0.001$). The median was 5185 ng/mL during active disease and 1978.5 ng/mL in remission ($P < 0.001$). The difference remained significant at three months ($P = 0.040$) but not at six months ($P = 0.122$). Across 125 measurements, the concentration correlated positively with PVAS (Spearman's $r_s = 0.451$; $P < 0.001$), but not within individual time points. Patients with nephritis (median 7.5 vs. 3.0 points) and gastrointestinal involvement (6.5 vs. 3.0 points) had higher PVAS (both $P < 0.001$). Significant positive correlations were found with erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, ferritin, fibrinogen, D-dimers, platelets, and complement components C3 and C4, and a negative correlation with albumin. Concentrations were higher in patients with generalised rash (10,602.0 vs. 4906.5 ng/mL; $P = 0.040$), but did not differ between patients with and without nephritis ($P = 0.816$), gastrointestinal

involvement (P = 0.823) or joint manifestations (P = 0.164), or among treatment groups (P = 0.440). For distinguishing patients from controls, the area under the curve (AUC) was 0.9205 (95 % confidence interval 0.8668–0.9631); at a cut-off of 3324 ng/mL, sensitivity was 75.36 % and specificity 100 %. Predictive value was poor for nephritis (AUC 0.519), gastrointestinal involvement (AUC 0.484) and joint involvement (AUC 0.629).

Conclusions: Serum S100A8/A9 is higher in children with active IgAV than in controls and in remission, and it is associated with PVAS and markers of systemic inflammation, suggesting that it reflects systemic inflammatory activity and myeloid cell activation. It was not a reliable indicator of individual organ involvement, particularly nephritis, and cannot be recommended as a stand-alone predictor. It could serve as a complementary biomarker alongside clinical assessment and routine laboratory markers, but larger prospective multicentre studies with external validation are needed for confirmation. Limitations include small subgroups, a control group without other inflammatory diseases, and non-standardised treatment.

10. LAY SUMMARY

Objectives: IgA vasculitis is a disease in which blood vessels become inflamed. It most often affects children and appears as purple spots on the skin, usually on the legs, often with joint and abdominal pain. Most children recover without lasting effects, but in some the disease affects the kidneys, which can cause permanent damage. It is difficult for doctors to reliably judge how active the disease is at a given moment. We wanted to find out whether disease activity can be followed by measuring a protein called S100A8/A9 in the blood. Some white blood cells release this protein when they are activated during inflammation.

Subjects and methods: The study included 69 children with IgA vasculitis treated in hospitals in Split and Zagreb and 33 children without inflammatory disease for comparison. Blood was taken from children with IgA vasculitis at the start of the disease and after three and six months, and once from the comparison group. Usual blood tests of inflammation were also measured, and doctors rated disease activity on a special scoring scale.

Results: Children with active disease had almost five times more S100A8/A9 in the blood than children without inflammatory disease. Values were higher during active disease than after it settled. Higher values were linked to greater disease activity and to other blood signs of inflammation, such as sedimentation rate, C-reactive protein and ferritin. However, the protein did not show which children would develop inflammation of the kidneys, digestive system or joints.

Conclusions: Measuring S100A8/A9 in the blood could help doctors follow how strong the inflammation is in a child with IgA vasculitis, together with the examination and usual tests. This finding alone cannot predict involvement of the kidneys or other organs. Larger studies are needed for confirmation.

11. LITERATURA

1. Pillebout E, Sunderkötter C. IgA vasculitis. Semin Immunopathol. 2021;43(5):729-38.
2. Song Y, Huang X, Yu G, Qiao J, Cheng J, Wu J i sur. Pathogenesis of IgA vasculitis: an up-to-date review. Front Immunol. 2021;12:771619.
3. Ozen S, Pistorio A, Iusan SM, Bakkaloglu A, Herlin T, Brik R i sur. EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schönlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener granulomatosis and childhood Takayasu arteritis: Ankara 2008. Part II: Final classification criteria. Ann Rheum Dis. 2010;69(5):798-806.
4. Rook A. William Heberden's cases of anaphylactoid purpura. Arch Dis Child. 1958;33(169):271-6.
5. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F i sur. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference nomenclature of vasculitides. Arthritis Rheum. 2013;65(1):1-11.
6. Gardner-Medwin JM, Dolezalova P, Cummins C, Southwood TR. Incidence of Henoch-Schonlein purpura, Kawasaki disease, and rare vasculitides in children of different ethnic origins. Lancet. 2002;360(9341):1197-202.
7. Piram M, Maldini C, Biscardi S, De Suremain N, Orzechowski C, Georget E i sur. Incidence of IgA vasculitis in children estimated by four-source capture-recapture analysis: a population-based study. Rheumatology (Oxford). 2017;56(8):1358-66.
8. Piram M, Mahr A. Epidemiology of immunoglobulin A vasculitis (Henoch-Schönlein): current state of knowledge. Curr Opin Rheumatol. 2013;25(2):171-8.
9. Sapina M, Frkovic M, Sestan M, Srsen S, Ovuka A, Batnozic Varga M i sur. Geospatial clustering of childhood IgA vasculitis and IgA vasculitis-associated nephritis. Ann Rheum Dis. 2021;80(5):610-6.
10. 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.
11. López-Mejías R, Carmona FD, Castañeda S, Genre F, Remuzgo-Martínez S, Sevilla-Perez B i sur. A genome-wide association study suggests the HLA class II region as the major susceptibility locus for IgA vasculitis. Sci Rep. 2017;7:5088.
12. Xia L, Chen M, Zhang H, Zheng X, Bao J, Gao J i sur. Genome-wide association study of 7661 Chinese Han individuals and fine-mapping major histocompatibility complex identifies HLA-DRB1 as associated with IgA vasculitis. J Clin Lab Anal. 2022;36(6):e24457.

13. Koskela M, Nihtilä J, Ylinen E, Kolho KL, Nuutinen M, Ritari J i sur. HLA-DQ and HLA-DRB1 alleles associated with Henoch-Schönlein purpura nephritis in Finnish pediatric population: a genome-wide association study. Pediatr Nephrol. 2021;36:2311-8.
14. Jelusic M, Sestan M. IgA vasculitis or Henoch-Schönlein purpura: genetics and beyond. Pediatr Nephrol. 2021;36(8):2149-53.
15. Held M, Stingl Jankovic K, Sestan M, Sapina M, Kifer N, Srsen S i sur. HLA polymorphisms and clinical manifestations in IgA vasculitis. Int J Mol Sci. 2024;25(2):882.
16. Sugino H, Sawada Y, Nakamura M. IgA vasculitis: etiology, treatment, biomarkers and epigenetic changes. Int J Mol Sci. 2021;22(14):7538.
17. Luo S, Liang G, Zhang P, Zhao M, Lu Q. Aberrant histone modifications in peripheral blood mononuclear cells from patients with Henoch-Schönlein purpura. Clin Immunol. 2013;146(3):165-75.
18. Xu L, Li Y, Wu X. IgA vasculitis update: epidemiology, pathogenesis, and biomarkers. Front Immunol. 2022;13:921864.
19. Woof JM, Russell MW. Structure and function relationships in IgA. Mucosal Immunol. 2011;4(6):590-7.
20. Suzuki H, Yasutake J, Makita Y, Tanbo Y, Yamasaki K, Sofue T i sur. IgA nephropathy and IgA vasculitis with nephritis have a shared feature involving galactose-deficient IgA1-oriented pathogenesis. Kidney Int. 2018;93(3):700-5.
21. Du L, Wang P, Liu C, Li S, Yue S, Yang Y. Multisystemic manifestations of IgA vasculitis. Clin Rheumatol. 2021;40(1):43-52.
22. Sestan M, Kifer N, Frkovic M, Sapina M, Srsen S, Batnozic Varga M i sur. Gastrointestinal involvement and its association with the risk for nephritis in IgA vasculitis. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2021;13:1759720X211024828.
23. Sano H, Izumida M, Shimizu H, Ogawa Y. Risk factors of renal involvement and significant proteinuria in Henoch-Schönlein purpura. Eur J Pediatr. 2002;161(4):196-201.
24. Ozen S, Marks SD, Brogan P, Groot N, de Graeff N, Avcin T i sur. European consensus-based recommendations for diagnosis and treatment of immunoglobulin A vasculitis-the SHARE initiative. Rheumatology (Oxford). 2019;58(9):1607-16.
25. Vivarelli M, Samuel S, Coppo R, Barratt J, Bonilla-Felix M, Haffner D i sur. IPNA clinical practice recommendations for the diagnosis and management of children with IgA nephropathy and IgA vasculitis nephritis. Pediatr Nephrol. 2025;40(2):533-69.

26. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) IgAN/IgAV Work Group. KDIGO 2025 clinical practice guideline for the management of immunoglobulin A nephropathy (IgAN) and immunoglobulin A vasculitis (IgAV). Kidney Int. 2025;108(4 Suppl):S1-S71.
27. Dolezalova P, Price-Kuehne FE, Özen S, Benseler SM, Cabral DA, Anton J i sur. Disease activity assessment in childhood vasculitis: development and preliminary validation of the Paediatric Vasculitis Activity Score (PVAS). Ann Rheum Dis. 2013;72(10):1628-33.
28. Narchi H. Risk of long term renal impairment and duration of follow up recommended for Henoch-Schonlein purpura with normal or minimal urinary findings: a systematic review. Arch Dis Child. 2005;90(9):916-20.
29. Kifer N, Bulimbasic S, Sestan M, Held M, Kifer D, Srsen S i sur. Semiquantitative classification (SQC) and Oxford classifications predict poor renal outcome better than the International Study of Kidney Disease in Children (ISKDC) and Haas in patients with IgAV nephritis: a multicenter study. J Nephrol. 2023;36(2):441-9.
30. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. Exp Biol Med. 2018;243(3):213-21.
31. Brogan P, Eleftheriou D. Vasculitis update: pathogenesis and biomarkers. Pediatr Nephrol. 2018;33(2):187-98.
32. Hatemi G, Esatoglu SN, Yazici Y. Biomarkers in vasculitis. Curr Opin Rheumatol. 2018;30(1):30-5.
33. Sestan M, Held M, Jelusic M. Biomarkers in primary systemic vasculitides: narrative review. Int J Mol Sci. 2026;27(2):730.
34. Beldie MA, Hernádfői MV, Fazekas KK, Bodócs DL, Hegyi P, Lódi C i sur. Biomarkers of kidney involvement in paediatric IgA vasculitis: a systematic review and meta-analysis. Pediatr Nephrol. 2026. doi:10.1007/s00467-026-07382-8.
35. Jaszczura M, Mizgała-Izworska E, Świętochowska E, Machura E. Serum levels of selected cytokines [interleukin (IL)-17A, IL-18, IL-23] and chemokines (RANTES, IP10) in the acute phase of immunoglobulin A vasculitis in children. Rheumatol Int. 2019;39(11):1945-53.
36. Ekinci RMK, Balci S, Sari Gokay S, Yilmaz HL, Dogruel D, Altintas DU i sur. Do practical laboratory indices predict the outcomes of children with Henoch-Schönlein purpura? Postgrad Med. 2019;131(4):295-8.

37. Karadağ ŞG, Çakmak F, Çil B, Tanatar A, Sönmez HE, Kıyak A i sur. The relevance of practical laboratory markers in predicting gastrointestinal and renal involvement in children with Henoch-Schönlein purpura. Postgrad Med. 2021;133(3):272-7.
38. Huang JY, Zhang ZB, Wang N, Ma H, Liu L. Diagnostic value of inflammatory biomarkers of IgA vasculitis based on Olink technology. Front Immunol. 2026;17:1810681.
39. Xu S, Xu Y, Bi Y, Ding Y, Zhang X, Zhang J i sur. Research progress on biomarkers of immunoglobulin A vasculitis nephritis: from classical molecules to multi-omics system analysis. Front Immunol. 2026;17:1794528.
40. Wright RD, Marro J, Northey SJ, Corkhill R, Beresford MW, Oni L. Urinary complement proteins are increased in children with IgA vasculitis (Henoch-Schönlein purpura) nephritis. Pediatr Nephrol. 2023;38(5):1491-8.
41. Kanik A, Baran M, Ince FD, Cebeci O, Bozkurt M, Cavusoglu D i sur. Faecal calprotectin levels in children with Henoch-Schönlein purpura: is this a new marker for gastrointestinal involvement? Eur J Gastroenterol Hepatol. 2015;27(3):254-8.
42. Teng X, Gao C, Sun M, Wu J. Clinical significance of fecal calprotectin for the early diagnosis of abdominal type of Henoch-Schonlein purpura in children. Clin Rheumatol. 2018;37(6):1667-73.
43. Nacken W, Roth J, Sorg C, Kerkhoff C. S100A9/S100A8: myeloid representatives of the S100 protein family as prominent players in innate immunity. Microsc Res Tech. 2003;60(6):569-80.
44. Edgeworth J, Freemont P, Hogg N. Ionomycin-regulated phosphorylation of the myeloid calcium-binding protein p14. Nature. 1989;342(6246):189-92.
45. Podraza Z, Złotnik-Szwech E, Mizerska-Wasiak M. S100 proteins in IgA vasculitis and other systemic vasculitides - from pathogenic mechanisms to clinical biomarkers: a systematic review. Front Immunol. 2026;17:1802262.
46. Wang S, Song R, Wang Z, Jing Z, Wang S, Ma J. S100A8/A9 in Inflammation. Front Immunol. 2018;9:1298.
47. Marionnet C, Bernerd F, Dumas A, Verrecchia F, Mollier K, Compan D i sur. Modulation of gene expression induced in human epidermis by environmental stress in vivo. J Investig Dermatol. 2003;121(6):1447-58.
48. Bai X, Xu PC, Chen T, Zhang HM, Wu SJ, Yang X i sur. The potential pathogenic roles of S100A8/A9 and S100A12 in patients with MPO-ANCA-positive vasculitis. BMC Immunol. 2022;23:42.

49. Frosch M, Vogl T, Seeliger S, Wulffraat N, Kuis W, Viemann D i sur. Expression of myeloid-related proteins 8 and 14 in systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2003;48(9):2622-6.
50. Frosch M, Strey A, Vogl T, Wulffraat NM, Kuis W, Sunderkötter C i sur. Myeloid-related proteins 8 and 14 are specifically secreted during interaction of phagocytes and activated endothelium and are useful markers for monitoring disease activity in pauciarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2000;43(3):628-37.
51. Berntzen HB, Fagerhol MK, Ostensen M, Mowinckel P, Høyeraal HM. The L1 protein as a new indicator of inflammatory activity in patients with juvenile rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 1991;18(1):133-8.
52. Gerss J, Roth J, Holzinger D, Ruperto N, Wittkowski H, Frosch M i sur. Phagocyte-specific S100 proteins and high-sensitivity C reactive protein as biomarkers for a risk-adapted treatment to maintain remission in juvenile idiopathic arthritis: a comparative study. Ann Rheum Dis. 2012;71(12):1991-7.
53. La C, Lê PQ, Ferster A, Goffin L, Spruyt D, Lauwerys B i sur. Serum calprotectin (S100A8/A9): a promising biomarker in diagnosis and follow-up in different subgroups of juvenile idiopathic arthritis. RMD Open. 2021;7(1):e001646.
54. Kim HA, An JM, Nam JY, Jeon JY, Suh CH. Serum S100A8/A9, but not follistatin-like protein 1 and interleukin 18, may be a useful biomarker of disease activity in adult-onset Still’s disease. J Rheumatol. 2012;39(7):1399-406.
55. Manfredi M, Van Hoovels L, Benucci M, De Luca R, Coccia C, Bernardini P i sur. Circulating calprotectin (cCLP) in autoimmune diseases. Autoimmun Rev. 2023;22(10):103295.
56. Kopeć-Mędrek M, Widuchowska M, Kucharz EJ. Calprotectin in rheumatic diseases: a review. Reumatologia. 2016;54(6):306-9.
57. Fautrel B, Mitrovic S, De Matteis A, Bindoli S, Antón J, Belot A i sur. EULAR/PReS recommendations for the diagnosis and management of Still's disease, comprising systemic juvenile idiopathic arthritis and adult-onset Still's disease. Ann Rheum Dis. 2024;83(12):1614-27.
58. Romano M, Arici ZS, Piskin D, Alehashemi S, Aletaha D, Barron KS i sur. The 2021 EULAR/American College of Rheumatology points to consider for diagnosis, management and monitoring of the interleukin-1 mediated autoinflammatory diseases: cryopyrin-associated periodic syndromes, tumour necrosis factor receptor-associated

periodic syndrome, mevalonate kinase deficiency, and deficiency of the interleukin-1 receptor antagonist. Ann Rheum Dis. 2022;81(7):907-21.

59. Pepper RJ, Hamour S, Chavele KM, Todd SK, Rasmussen N, Flint S i sur. Leukocyte and serum S100A8/S100A9 expression reflects disease activity in ANCA-associated vasculitis and glomerulonephritis. Kidney Int. 2013;83(6):1150-8.
60. Pepper RJ, Draibe JB, Caplin B, Fervenza FC, Hoffman GS, Kallenberg CG i sur. Association of serum calprotectin (S100A8/A9) level with disease relapse in proteinase 3-antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. Arthritis Rheumatol. 2017;69(1):185-93.
61. Hirono K, Foell D, Xing Y, Miyagawa-Tomita S, Ye F, Ahlmann M i sur. Expression of myeloid-related protein-8 and -14 in patients with acute Kawasaki disease. J Am Coll Cardiol. 2006;48(6):1257-64.
62. Abe J, Jibiki T, Noma S, Nakajima T, Saito H, Terai M. Gene expression profiling of the effect of high-dose intravenous Ig in patients with Kawasaki disease. J Immunol. 2005;174(9):5837-45.
63. Frosch M, Vogl T, Waldherr R, Sorg C, Sunderkötter C, Roth J. Expression of MRP8 and MRP14 by macrophages is a marker for severe forms of glomerulonephritis. J Leukoc Biol. 2004;75(2):198-206.
64. Baumann M, Schmaderer C, Burkhardt K, Haller B, Heemann U, Dugi K i sur. MRP8/14 is associated with systemic inflammation in stable coronary atherosclerosis in men. Eur J Clin Investig. 2011;41(12):1261-7.
65. Kawasaki Y, Ohara S, Abe Y, Watanabe M, Suyama K, Sato M i sur. The role of serum myeloid-related protein 8/14 complex in Henoch-Schönlein purpura nephritis. Pediatr Nephrol. 2012;27(1):65-71.
66. Paek EY, Yi DY, Kang B, Choe BH. Fecal calprotectin as a marker of gastrointestinal involvement in pediatric Henoch-Schönlein purpura patients: a retrospective analysis. BMC Pediatr. 2020;20(1):374.
67. Kung VL, Avasare R, Friedman MA, Koon SM, Neff TL, Protzek S i sur. Targeted transcriptional analysis of IgA vasculitis, IgA nephropathy, and IgA-dominant infection-related glomerulonephritis reveals both distinct and overlapping immune signatures. Kidney360. 2023;4(6):e759-68.
68. Mariani A, Marsili M, Nozzi M, Faricelli R, Chiarelli F, Breda L. Serum calprotectin: review of its usefulness and validity in paediatric rheumatic diseases. Clin Exp Rheumatol. 2015;33(1):109-14.

69. R&D Systems. Human S100A8/S100A9 Heterodimer Quantikine ELISA Kit [Internet]. Minneapolis: R&D Systems; 2020 [citirano 6. siječnja 2024.]. Dostupno na: https://www.rndsystems.com/products/human-s100a8-s100a9-heterodimer-quantikine-elisa-kit_ds8900
70. Arifin WN. Sample size calculator (web) [Internet]. 2026 [citirano 1. ožujka 2026.]. Dostupno na: http://wnarifin.github.iohttp://wnarifin.github.io
71. Bojko J. Measurement of blood calprotectin (MRP8/MRP14) levels in patients with juvenile idiopathic arthritis. Reumatologia. 2017;55(1):10-14. doi:10.5114/reum.2017.66682.
72. Altobelli E, Angeletti PM, Petrocelli R, Lapergola G, Farello G, Cannataro G i sur. Serum calprotectin a potential biomarker in juvenile idiopathic arthritis: a meta-analysis. J Clin Med. 2021;10(21):4861. doi:10.3390/jcm10214861.
73. Donohue SJ, Midgley A, Davies JC, Wright RD, Bruce I, Beresford MW i sur. Differential analysis of serum and urine S100 proteins in juvenile-onset systemic lupus erythematosus (jSLE). Clin Immunol. 2020;214:108375. doi:10.1016/j.clim.2020.108375.
74. Tydén H, Lood C, Gullstrand B, Jönsen A, Ivars F, Leanderson T i sur. Pro-inflammatory S100 proteins are associated with glomerulonephritis and anti-dsDNA antibodies in systemic lupus erythematosus. Lupus. 2017;26(2):139-149. doi:10.1177/0961203316655208.
75. Williams CE, Ging H, Skoutelis N, Marro J, Roberts L, Chetwynd AJ i sur. Biomarkers to predict kidney outcomes in children with IgA vasculitis. Minerva Pediatr (Torino). 2025;77(3):256-271. doi:10.23736/S2724-5276.24.07715-2.
76. Kang KY, Woo JW, Park SH. S100A8/A9 as a biomarker for synovial inflammation and joint damage in patients with rheumatoid arthritis. Korean J Intern Med. 2014;29(1):12-19. doi:10.3904/kjim.2014.29.1.12.
77. Kato R, Oguri M, Tsubata S, Adachi Y. Clinical significance of fecal calprotectin for evaluating mucosal inflammation with IgA vasculitis. JMA J. 2022;5(2):277-9. doi: 10.31662/jmaj.2021-0187.
78. Liao J, Tan X, Jiang F, Zhu L, Zhou P. Risk prediction models for renal injury in children with IgA vasculitis: a systematic review and meta-analysis. Pediatr Rheumatol Online J. 2025;23(1):80. doi:10.1186/s12969-025-01120-4.

12. ŽIVOTOPIS

Saša Sršen, dr. med.

Datum i mjesto rođenja: 18. prosinca 1978., Split.

Adresa: Vukovarska 111, 21000 Split.

Tel.: 021/475-365. **Mob.:** 091/588-8201.

E-mail: sasa.srsen@kbsplit.hr

Obrazovanje i posao:

1985. - 1993. Osnovna škola "Sućidar" u Splitu, sve razrede završio odličnim uspjehom.

1993. - 1997. III. (matematička) gimnazija Split, sve razrede završio odličnim uspjehom.

1997. - 2003. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, srednja ocjena 4,32.

2004. liječnički pripravnički staž u KB Split.

2005. položen državni ispit.

2005. - 2007. rad u PZZ (zamjene).

2007. - 2011. na specijalizaciji iz pedijatrije, u listopadu 2011. položio specijalistički ispit.

2011. - 2012. pedijatar u DZ splitsko – dalmatinske županije.

Od rujna 2012. pedijatar u KBC Split.

Od travnja 2014. - 2016. na užoj specijalizaciji iz pedijatrijske alergologije i imunologije, u lipnju 2016. godine položio subspecijalistički ispit

2017. godine upisao poslijediplomiski studij „Medicina utemeljena na dokazima" Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Nagrade:

1998. i 2000. Rektorova nagrada za najbolje studente.

Članstvo u strukovnim organizacijama:

od 2005. Hrvatska liječnička komora

od 2007. Hrvatsko pedijatrijsko društvo

od 2012. Hrvatski liječnički zbor

od 2014. Sekcija za pedijatrijsku kardiologiju i reumatologiju Hrvatskog pedijatrijskog društva

od 2014. Paediatric Rheumatology International Trials Organisation (PRINTO)

od 2017. Hrvatsko reumatološko društvo.

Ostale aktivnosti:

1998. - 2001. demonstrator anatomije i histologije pri katedrama Građa i razvoj ljudskog tijela I i II Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.
2009. položen tečaj naprednog održavanja života djece – Advanced Paediatric Life Support.
2015. tečaj muskuloskeletnog ultrazvuka za reumatologe – Basic pediatric level
Od 2013. godine sudjelujem u nastavi Katedre za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Ostala znanja:
aktivno poznavanje engleskog jezika
poznavanje rada na računalu (ECDL start paket)