

# Povezanost koncentracija IL-6 u slini i serumu s kliničkim pokazateljima bolesti u bolesnika s kroničnom spontanom urtikarijom

---

**Kuna, Matea**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2024**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:675871>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-26**



*Repository / Repozitorij:*

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





**Sveučilište u Zagrebu**

Stomatološki fakultet

Matea Kuna

**POVEZANOST KONCENTRACIJA IL-6  
U SLINI I SERUMU S KLINIČKIM  
POKAZATELJIMA BOLESTI U BOLESNIKA  
S KRONIČNOM SPONTANOM  
URTIKARIJOM**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023.



**Sveučilište u Zagrebu**

Stomatološki fakultet

Matea Kuna

**POVEZANOST KONCENTRACIJA IL-6  
U SLINI I SERUMU S KLINIČKIM  
POKAZATELJIMA BOLESTI U BOLESNIKA  
S KRONIČNOM SPONTANOM  
URTIKARIJOM**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

prof. dr. sc. Liborija Lugović Mihić, dr. med.

doc. dr. sc. Mario Štefanović, mag. med. biochem.

Zagreb, 2023.



**University of Zagreb**

School of Dental Medicine

Matea Kuna

**THE ASSOCIATION BETWEEN IL-6  
CONCENTRATIONS IN SALIVA AND  
SERUM WITH CLINICAL INDICATORS  
OF THE DISEASE IN PATIENTS WITH  
CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisors:

Full Professor Liborija Lugović Mihić DM, PhD

Assistant Professor Mario Štefanović EuSpLM, PhD

Zagreb, 2023



Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autorice poslijediplomskog doktorskog rada. Autorica je odgovorna za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njezin izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

## *Zahvala*

*Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Liboriji Lugović Mihić koja mi je bila velika podrška, pomoć i utjeha na putu do uspjeha, nesebično izdvajajući svoje dragocjeno vrijeme, gorljivo potičući na rad te dajući savjete koji su uvelike doprinijeli kvaliteti i stručnosti kao i ostvarenju mog doktorskog rada.*

*Zahvaljujem svom komentoru doc. dr. sc. Mariju Štefanoviću koji je svojim stručnim i konciznim savjetima obogatio ovaj doktorski rad, izdvajajući svoje dragocjeno vrijeme, uvijek spreman za pomoć i suradnju.*

*Zahvaljujem dr. sc. Blaženki Ladiki Davidović, mag. mol. bio. sa Klinike za onkologiju i nuklearnu medicinu KBC-a Sestre milosrdnice koja je analizirala dio mojih uzoraka te uvijek bila na raspolaganju.*

*Posebice zahvaljujem mag. med. biochem. Mileni Hanžek koja mi je uvijek bila na raspolaganju, analizirala moje uzorke i rješavala nedoumice svojim stručnim i prijateljskim savjetima.*

*Također veliko hvala doc. Andrei Tešiji Kuna i mag. med. biochem. Tamari Sušić koje su me drage volje primile u prostore Kliničkog zavoda za kemiju KBC-a Sestre milosrdnice pod čijim je budnim i preciznim okom provedena analiza mojih uzoraka.*

*Zahvaljujem dr. sc. Ivani Škrinjar, oralnoj patologici sa Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu koja je pregledala moje ispitanike i pružila savjete i stručnu pomoć kada je trebalo.*

*Zahvaljujem prof. Stjepanu Špalju koji je proveo statističku analizu svih podataka te u svakom trenutku bio spreman pomoći.*

*Zahvaljujem svim djelatnicima Kliničkog Zavoda za kemiju KBC-a Sestre milosrdnice koji su doprinijeli izradi mog doktorskog rada svojim svakodnevnim radom u laboratoriju.*

*Zahvaljujem svim medicinskim sestrama Klinike za kožne i spolne bolesti KBC-a Sestre milosrdnice koje su izdvojile svoje dragocjeno vrijeme, stručnost i preciznost tijekom prikupljanja uzoraka za izradu mog doktorskog rada.*

*Zahvaljujem svojim roditeljima, sestri, nećacima i prijateljima na bezuvjetnoj ljubavi i podršci tijekom cijelog života, a posebice na podršci tijekom izrade mog doktorskog rada.*

*Na kraju zahvaljujem Bogu što mi je poslao sve ove drage ljude u život.*

## Sažetak

### POVEZANOST KONCENTRACIJA IL-6 U SLINI I SERUMU S KLINIČKIM POKAZATELJIMA BOLESTI U BOLESNIKA S KRONIČNOM SPONTANOM URTIKARIJOM

**Uvod:** Kronična spontana urtikarija (KSU) upalna je bolest kože nepoznatog uzroka, obilježena urtikama, svrbežom i mogućim pridruženim angioedemom, u trajanju dužem od 6 tjedana.

**Ispitanici i metode:** U ovom prospektivnom istraživanju u 41 bolesnika sa KSU-om određivane su salivarne vrijednosti IL-6 i amilaze (kontrola) i serumski biomarkeri KSU-a (IL-6, KKS, SE, CRP, TSH, T3, T4, anti-TPO, anti-TG, D-dimeri i vitamin D) koji su uspoređivani s aktivnosti KSU-a [procijenjenom upitnikom aktivnosti urtikarije (dnevni UAS i UAS7)] i kontrolom KSU-a (upitnik UCT) te kvalitetom života bolesnika [upitnik dermatološke kvalitete života (DLQI) i upitnik kvalitete života specifične za KU (CU-Q2oL)]. Bolesnici su prospektivno praćeni i liječeni antihistaminicima tijekom 3 mjeseca, a uzorci sline i krvi te upitnici uzeti su i procijenjeni u inicijalnom (T1) i u kontrolnom (T2) mjerenju.

**Rezultati:** Iako vrijednosti serumskog i salivarnog IL-6 nisu ovisile o težini KSU-a, nešto viši serumski IL-6 uočen je u bolesnika s težim oblikom bolesti. Viši salivarni IL-6 uočen je u bolesnika s blagim KSU-om, iako bez statističke značajnosti. Serumski IL-6 statistički je značajno korelirao s CRP-om, SE-om, D-dimerima, T3 i T4 ( $p < 0,001$ ), dok je salivarni IL-6 statistički značajno korelirao samo s CRP-om ( $p = 0,044$ ). Koncentracija bazofila statistički je značajno povezana s aktualnom težinom KSU-a (dnevni UAS,  $p = 0,017$ ). Vrijednosti SE-a bile su statistički značajan prediktor aktivnosti KSU-a (UAS7,  $p = 0,038$ ). Vrijednosti T4 statistički su značajno negativno korelirale s trajanjem KSU-a ( $p = 0,036$ ). Nakon 3 mjeseca praćenja, aktivnost KSU-a (dnevni UAS i UAS7) statistički se značajno smanjila ( $p = 0,014$  i  $p = 0,015$ ), a kvaliteta života (DLQI) i kontrola KSU-a (UCT) značajno su se povećale ( $p = 0,006$  i  $p = 0,005$ ).

**Zaključak:** Viši serumski IL-6, bazopenija i viši SE uočeni su kod težeg i slabije kontroliranog KSU-a te lošije kvalitete života bolesnika, a viši T4 kod duljeg trajanja KSU-a. Standardnim liječenjem KSU-a smanjuje se aktivnost te povećava kontrola bolesti i kvaliteta života bolesnika, a navedeni serumski/salivarni parametri mogli bi biti dobri biomarkeri i pokazatelji KSU-a pri praćenju i liječenju.

**Ključne riječi:** KSU, IL-6, slina, serum, biomarkeri KSU, bazopenija, kvaliteta života



## Summary

### THE ASSOCIATION BETWEEN IL-6 CONCENTRATIONS IN SALIVA AND SERUM WITH CLINICAL INDICATORS OF THE DISEASE IN PATIENTS WITH CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA

**Introduction:** Chronic spontaneous urticaria (CSU) is an inflammatory skin disease of a not known cause characterized by hives, itching and possible associated angioedema, lasting for at least 6 weeks.

**Subjects and Methods:** This prospective study included 41 patients with CSU. Values for salivary IL-6, amylase (control) and serum CSU biomarkers (IL-6, KKS, ESR, CRP, TSH, T3, T4, anti-TPO, anti-TG, D-dimers and vitamin D) were measured and compared with CSU activity as measured by the Urticaria Activity Score (once-daily UAS and UAS7), CSU control as measured by the Urticaria Control Test (UCT), and patients' quality of life as measured by the Dermatology Life Quality Index (DLQI) and Chronic Urticaria Quality of Life Questionnaire (CU-Q2oL). Patients were prospectively monitored and treated with antihistamines for 3 months. Saliva and blood samples were taken, and the questionnaires were filled out and evaluated, at an initial timepoint (T1) and control (T2) follow-up time.

**Results:** Although serum and salivary IL-6 values did not correlate with CSU severity, slightly higher serum IL-6 values were observed in patients with more severe forms of the disease. Higher salivary IL-6 values were observed in patients with mild CSU, although without statistical significance. Serum IL-6 values statistically significantly correlated with CRP, ESR, D-dimers, T3 and T4 ( $p < 0.001$ ), while salivary IL-6 values were only statistically significantly correlated with CRP ( $p = 0.044$ ). Basophil concentration statistically significantly correlated with CSU severity (once-daily UAS,  $p = 0.017$ ). ESR values were a statistically significant predictor of CSU activity (UAS7,  $p = 0.038$ ), and T4 values had a statistically significant negative correlation with CSU duration ( $p = 0.036$ ). At the 3-month follow-up timepoint, CSU activity (once-daily UAS and UAS7) had significantly decreased ( $p = 0.014$  and  $p = 0.015$ ), while quality of life (DLQI) and CSU control (UCT) had significantly increased ( $p = 0.006$  and  $p = 0.005$ ).

**Conclusion:** Higher serum IL-6, basopenia and higher ESR were observed in more severe and poorly controlled cases of CSU, while poorer patient quality of life and higher T4 values were seen in CSU cases of longer duration. Standard CSU treatment reduced disease activity and increased disease control and patient's quality of life. The serum and salivary parameters

mentioned above could potentially be reliable biomarkers and indicators of CSU during treatment and follow-up.

**Keywords:** CSU, salivary IL-6, serum IL-6, biomarkers of CSU, basopenia, quality of life

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Epidemiologija .....	3
1.2. Etiopatogeneza .....	3
1.3. Čimbenici rizika .....	6
1.4. Dijagnostika.....	7
1.4.1. Anamneza i klinička dijagnoza .....	7
1.4.2. Laboratorijska dijagnostika .....	8
1.5. Bolesti pridružene KSU-u (komorbiditeti).....	12
1.5.1. Autoimunost u bolesnika sa KSU-om .....	12
1.5.2. Infekcije u pacijenata sa KSU-om.....	13
1.5.3. Ostali čimbenici pridruženi KSU-u .....	13
1.6. Aktivnost bolesti i kontrola .....	14
1.6.1. Ocjena aktivnosti urtikarije (UAS7).....	14
1.6.2. Kontrolni test urtikarije (UCT).....	14
1.6.3. Upitnik kvalitete života bolesnika s kroničnom urtikarijom (CU-Q2oL) .....	14
1.6.4. Dermatološki indeks kvalitete života .....	15
1.7. Liječenje .....	15
<b>2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	2
2.1. Hipoteze.....	19
2.2. Ciljevi.....	19
2.3. Svrha istraživanja .....	19
<b>3. MATERIJALI I POSTUPCI</b> .....	19
3.1. Ispitanici .....	21
3.1.1. Uključni kriteriji:.....	21
3.1.2. Isključni kriteriji:.....	21
3.2. Parametri iz krvi i sline .....	22
3.3. Upitnici.....	22
3.3.1. Upitnik aktivnosti urtikarije (dnevni UAS i UAS7).....	22
3.3.2. Kontrolni test urtikarije (UCT).....	23
3.3.3. Upitnik kvalitete života bolesnika specifičan za kroničnu urtikariju (CU-Q2oL).....	23
3.3.4. Dermatološki indeks kvalitete života (DLQI) .....	23
3.4. Pregled oralne sluznice.....	24
3.5. Tijek provođenja studije.....	24
3.6. Postupak uzorkovanja sline .....	24
3.6.1. Interindividualna i intraindividualna varijabilnost IL-6 u slini .....	25

3.6.2. Određivanje salivarnih biomarkera .....	26
3.7. Postupak uzorkovanja krvi .....	28
3.7.1. Određivanje parametara iz krvi .....	29
3.8. Statističke metode.....	31
3.9. Etička pitanja.....	31
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>21</b>
4.1. Opis uzorka.....	34
4.2. Analiza varijabilnosti salivarnog IL-6.....	38
4.3. Povezanost između težine kliničke slike KSU-a i koncentracije IL-6 u slini i serumu bolesnika sa KSU-om .....	38
4.4. Povezanost između trajanja KSU-a, težine bolesti, kvalitete života i kontrole bolesti .....	44
4.5. Povezanost serumskih biomarkera s trajanjem, težinom i kontrolom KSU-a te kvalitetom života bolesnika sa KSU-om .....	49
4.6. Povezanost vrijednosti salivarnog i serumskog IL-6 s ostalim serumskim biomarkerima u bolesnika sa KSU-om.....	61
4.7. Analiza povezanosti salivarnog i serumskog IL-6 i trajanja KSU-a .....	64
4.8. Analiza promjene kliničke slike bolesti, kvalitete života i biomarkera tijekom vremena u bolesnika sa KSU-om.....	66
4.9. Povezanost promjene kliničke slike KSU-a i promjene razine biomarkera u slini i serumu bolesnika sa KSU-om (promjena inicijalnog (T1) i kontrolnog (T2) mjerenja) .....	71
4.10. Povezanost težine KSU-a i vrijednosti biomarkera nakon provedene tromjesečne standardne terapije u bolesnika sa KSU-om.....	75
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>34</b>
5.1. Serumski parametri.....	78
5.1.1. Vrijednosti IL-6, CRP i SE u bolesnika sa KSU-om.....	78
5.1.2. Vrijednosti bazofila u bolesnika sa KSU-om .....	88
5.1.3. Vrijednosti hormona/protutijela štitnjače i ukupnog IgE-a u bolesnika sa KSU-om ....	91
5.1.4. Vrijednosti D-dimera u bolesnika sa KSU-om.....	96
5.1.5. Vrijednosti ANA u bolesnika sa KSU-om .....	97
5.1.6. Vrijednosti vitamina D u bolesnika sa KSU-om .....	98
5.2. Vrijednosti biomarkera KSU-a u slini bolesnika sa KSU-om.....	100
5.3. Značenje upitnika težine KSU-a, kontrole bolesti i kvalitete života bolesnika sa KSU-om	102
<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>78</b>
<b>7. LITERATURA .....</b>	<b>105</b>
<b>8. ŽIVOTOPIS AUTORICE S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA.....</b>	<b>123</b>

## **PRILOZI**

## Popis kratica

ACE inhibitori	inhibitori enzima koji konvertira angiotenzin (engl. <i>angiotensin-converting-enzyme inhibitors</i> )
aiKSU	autoimunosna kronična spontana urtikarija (engl. <i>autoimmune chronic spontaneous urticaria</i> )
ANA	antinuklearna antitijela (engl. <i>anti-nuclear antibodies</i> )
Anti-IgE	antitijelo na imunoglobulin E (engl. <i>immunoglobulin E antibody</i> )
Anti-TG	antitijelo na tireoglobulin (engl. <i>antithyroglobulin antibody</i> )
Anti-TPO	antitijela na tireoidnu peroksidazu (engl. <i>thyroid peroxidase antibodies</i> )
ASK	acetilsalicilna kiselina (engl. <i>acetylsalicylic acid</i> )
ASST	autologni serumski kožni test (engl. <i>Autologous serum skin test</i> )
AUC	površina ispod ROC krivulje (engl. <i>area under ROC curve</i> )
BAT	test aktivacije bazofila (engl. <i>Basophil activation test</i> )
C5a	komponenta komplementa anafilatoksin 5 (engl. <i>complement and anaphylatoxin 5</i> )
C5aR	receptor komponente komplementa anafilatoksin 5 (engl. <i>complement component and anaphylatoxin receptor 5</i> )
CD	klaster diferencijacije (engl. <i>cluster of differentiation</i> )
CI	interval pouzdanosti (engl. <i>confidence interval</i> )
ColdU	urtikarija na hladnoću (engl. <i>cold urticaria</i> )
COX	ciklooksigenaza (engl. <i>cyclooxygenase</i> )
CRP	C-reaktivni protein (engl. <i>C-reactive protein</i> )
CU-Q2oL	upitnik o kvaliteti života bolesnika s kroničnom urtikarijom (engl. <i>Chronic Urticaria – Quality of Life Questionnaire</i> )
CXCL1/2	kemokinski ligand ½ motiva C-X-C (engl. <i>chemokine C-X-C motif ligand ½</i> )
DHEAS	dehidroepiandrosteron-sulfat (engl. <i>dehydroepiandrosterone-sulfate</i> )
DKS	diferencijalna krvna slika
DLQI	dermatološki indeks kvalitete života (engl. <i>Dermatology Life Quality Indeks</i> )
Dnevni UAS	dnevna ocjena aktivnosti urtikarije (engl. <i>Once-daily Urticaria Activity drugs</i> )
dsDNA	dvolančana deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>double-stranded deoxyribonucleic acid</i> )

ECLIA	<i>elektrokemiluminiscencija (eng. Electrochemiluminescence immunoassay)</i>
EDTA	etilendiamintetraoctena kiselina (engl. <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i> )
ELISA	enzimski povezani imunosorbentni test (eng. <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> )
FcεRI	IgE receptor visokog afiniteta (engl. <i>high-affinity IgE receptor</i> )
FEV1	volumen forsiranog izdisaja u prvoj sekundi (engl. <i>forced expiratory volume in the first second</i> )
GM-CSF	čimbenik koji stimulira kolonije granulocita i makrofaga (engl. <i>granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> )
H1-antagonisti	antagonisti histaminskih H1 receptora (engl. <i>H<sub>1</sub> blockers</i> )
H2-antagonisti	antagonisti histaminskih H2 receptora (engl. <i>H<sub>2</sub> blockers</i> )
HEp-2	ljudske epitelne stanice-2 (engl. <i>human epithelial cells-2</i> )
HRP	peroksidaza hrena (engl. <i>horseradish peroxidase</i> )
HRQoL	kvaliteta života povezana sa zdravljem (engl. <i>Health-related Quality of Life</i> )
hs-CRP	visokoosjetljivi C-reaktivni protein (engl. <i>high-sensitivity C-reactive protein</i> )
IFN-μ	interferon-gama
Ig	imunoglobulin (engl. <i>immunoglobulin</i> )
IgG-anti-TPO	autoantitijelo subklase G prema tireoidnoj peroksidazi (engl. <i>immunoglobulin G subclasses of anti-thyroid peroxidase antibody</i> )
IIF	indirektna imunofluorescencija (engl. <i>indirect immunofluorescence Assay</i> )
IKR	interkvartilni raspon (engl. <i>interquartile range, IQR</i> )
IL	interleukin
KIndU	kronična inducirana urtikarija (engl. <i>chronic inducible urticaria</i> )
KIT	transmembranska tirozin kinaza (engl. <i>transmembrane tyrosine kinase</i> )
KSU	kronična spontana urtikarija (engl. <i>chronic spontaneous urticaria</i> )
KU	kronična urtikarija (engl. <i>chronic urticaria</i> )
LILRB4	receptor sličan leukocitnom imunoglobulinu, potporodice B, član 4 (engl. <i>leukocyte immunoglobulin-like receptor B4</i> )

LTC4	leukotrien C4
MCTC	mastociti pozitivni na triptazu i kimazu (engl. mast cell tryptase and chymase positive)
MDA	metilendioksiamfetamin (engl. <i>methylenedioxyamphetamine</i> )
MMP-9	matriksne metaloproteinaze 9 (engl. <i>matrix metalloproteinases-9</i> )
MRGPRX2	X2 receptor povezanog s G-proteinom (engl. <i>mas-related G protein-coupled receptor X2</i> )
NSAID	nesteroidni protuupalni lijekovi (eng. <i>Nonsteroidal anti inflammatory Drugs</i> )
OR	omjer izgleda (engl. <i>odds ratio</i> )
PAF	faktor aktivacije trombocita (engl. <i>platelet-activating factor</i> )
PDG2	prostaglandin D2
PF1f2	protrombinski fragment 1 fl 2 (engl. <i>prothrombin fragment 1 fl 2</i> )
PFT	testovi plućne funkcije (engl. <i>pulmonary function tests</i> )
PRO	ishod koji je prijavio pacijent (engl. <i>Patient-reported outcome</i> )
PSR	parodontološki skrining i snimanje (engl. <i>Periodontal screening and recording</i> )
ROC	krivulja odnosa specifičnosti i osjetljivosti klasifikatora (engl. <i>Receiver operating characteristic curve</i> )
SCF	faktor matičnih stanica (engl. <i>stem cell factor</i> )
SD	standardna devijacija (engl. <i>standard deviation</i> )
SE	sedimentacija eritrocita (engl. <i>erythrocyte sedimentation rate, ESR</i> )
SOD	superoksid dismutaza (engl. <i>superoxide dismutase</i> )
SPT	kožni ubodni test (engl. <i>Skin prick test</i> )
SYK	stanična tirozin kinaza slezene (engl. <i>spleen tyrosine kinase</i> )
T3	trijodtironin
T4	tiroksin
TF	tkivni faktor (engl. <i>Tissue factor</i> )
Th	pomagački T-limfociti 2 (engl. <i>T helper cells, Th2</i> )
tIgE	ukupni IgE (engl. <i>total IgE</i> )
TLR	Toll-like receptor (engl. <i>Toll-like receptor</i> )
TMB	tetrametilbenzidin (engl. <i>tetramethylbenzidine</i> )
TNF- $\alpha$	faktor tumorske nekroze-alfa (eng. <i>tumor necrosis factor alpha</i> )

TSH	hormon koji stimulira štitnjaču (engl. <i>thyroid stimulating hormone</i> )
TSS	ukupna ocjena simptoma (engl. <i>Total Symptom Score</i> )
UAS	ocjena aktivnosti urtikarije (engl. <i>Urticaria activity Score</i> )
UCT	kontrolni test urtikarije (engl. <i>Urticaria control Test</i> ) <i>volume in the first second</i> )





Kronična urtikarija (KU) upalna je bolest kože obilježena urtikama koje su često praćene angioedemom, u trajanju od najmanje 6 tjedana, uz koje je često prisutan i osjećaj svrbeža (1). Prema etiologiji, KU se klasificira u kroničnu spontanu urtikariju (KSU) i kroničnu induciranu urtikariju (KIndU). Pritom kod KSU-a nema poznatog uzroka, dok je KIndU potaknut različitim fizikalnim ili nefizikalnim (okolišnim) podražajima. Po učestalosti je KSU češći od KIndU-a, ali se ponekad oboje može javiti u istog bolesnika (2). Prevalencija KU-a u općoj populaciji iznosi od 0,5 do 5 %, dok je njegova incidencija 1,4 % godišnje (3). Prosječna dob odraslih bolesnika sa KSU-om je 30 – 70 godina, a bolest najčešće počinje između 30. i 50. godine, s većom prevalencijom u žena (2). Prevalencija KSU-a u pedijatrijskoj populaciji je 0,1 % do 0,3 %, a pretpostavlja se i više s obzirom na to da je KSU najčešći oblik KU-a u djece (4). U većini je slučajeva KU samoograničavajuća bolest koja traje dvije do pet godina, a u 20 % pacijenata traje i dulje od 5 godina (5). Najčešće uzrok KSU-a ostaje nepoznat (u 80 % slučajeva). Klinički simptomi su nepredvidivi, iznenadni, urtike se obično ponovno javljaju, a česta je i rezistencija na liječenje (6).

Većina bolesnika sa KSU-om u kliničkoj slici ima samo urtike (57 %), dok je rjeđa pojava urtika i angioedema zajedno (37 %) ili samo angioedema (6 %). Znakovi i simptomi KSU-a mogu se pojaviti spontano u bilo koje doba dana, iako se obično javljaju u večernjim satima, što može odražavati cirkadijane varijacije u aktivaciji mastocita i razlike u podležućoj patogenezi (7). Na primjer, zapaženo je da je prisutnost noćnih simptoma (urtike, svrbež) povezana s autoimunim KU-om. Urtike se prema lokalizaciji mogu pojaviti bilo gdje na tijelu, ali češće se javljaju na udovima. Angioedem se najčešće pojavljuje na licu, primjerice usnicama i kopcima, ali ponekad i na rukama i nogama. U većine bolesnika s umjerenim ili teškim KSU-om angioedem i urtike javljaju se svakodnevno ili gotovo svakodnevno, najčešće uz povremeni recidivirajući tijek (2).

U pristupu bolesnicima sa KSU-om vrlo je važno praćenje putem odgovarajućih biomarkera. Prema najnovijim smjernicama za liječenje i dijagnostiku KSU-a, rutinski se u krvi određuje diferencijalna krvna slika (DKS), sedimentacija eritrocita (SE) [(i/ili C-reaktivni protein (CRP)], IgG protutijela na tiroidnu peroksidazu (IgG anti-TPO) i ukupni IgE, a proširena obrada uključuje test na antigen *Helicobacter pylori*, test aktivacije bazofila (BAT) i nalaze hormona štitnjače (1). U ostale važne laboratorijske parametre, čije su vrijednosti znatnije praćene u odnosu na težinu KSU-a, ubrajaju se citokin interleukin 6 (IL-6), D-dimeri i vitamin D.

Vrlo je malo prospektivnih studija koje ispituju povezanost serumskih biomarkera KSU-a s težinom bolesti i kvalitetom života bolesnika sa KSU-om. Također, uvidom u dosad objavljene

radove nema studija koje uključuju biomarkere KSU-a određivane u slini, već se proučavaju serumski biomarkeri. S obzirom na to da je salivarna dijagnostika brza, jednostavna, neinvazivna, a slina kao uzorak jednostavnija za rukovanje i analizu od seruma, navedeno upućuje na potrebu za više spoznaja o parametrima određivanima u slini te mogućnost uvođenja salivarne dijagnostike u rutinsku obradu, a ne samo za potrebe znanstvenog istraživanja.

### 1.1. Epidemiologija

Geografski je KU rašireniji u Aziji nego u Europi i Sjevernoj Americi. Čini se da žene češće obolijevaju od muškaraca, iako u djece mlađe od 15 godina nije bilo spolno specifične razlike u prevalenciji KU-a. Postoji sve veća prevalencija KU-a tijekom vremena. Procjenjuje se da je ukupna životna prevalencija KU-a u prosjeku 4,4 %. Gledajući podatke po spolu, prevalencija KU-a u žena je nešto viša nego u muškaraca na temelju metaanalize nasumičnog učinka: 1,3 % (95 % CI 0,1 – 2,2) naspram 0,8 % (95 % CI 0,2 – 3,2) (8). Prema geografskim regijama, Fricke i sur. pokazali su 2020. da je spolna razlika bila statistički važna samo u Europi i Sjevernoj Americi, dok u azijskim studijama nije uočena takva spolno specifična razlika u prevalenciji KU-a. Gledajući spolno specifične razlike kod djece do 15 godina, prevalencija KU-a za djevojčice iznosi od 1,0 % (95 % CI 0,0 – 3,4), a za dječake i 1,1 % (95 % CI 0,0 – 3,9) (8). U svim fenotipovima KSU-a zabilježena je veća prevalencija u žena, osim kod pacijenata s isključivo KIndU-om. Veća prevalencija KSU-a u žena objašnjena je uključenošću autoimunskih mehanizama u otprilike polovici svih slučajeva KSU-a (9). Weller i sur. istražili su 2022. bazu podataka zdravstvenog osiguranja pacijenata u Berlinu (od ukupno 4 693 772 osobe svih dobi, njih 3 538 540 bilo je vidljivo u registru tijekom 2017.). Sveukupno, među zdravstvenim je osiguranicima u 17 524 (0,5 %) bolesnika utvrđena dijagnoza KU-a; među kojima KSU 71,2 %; KIndU 19,7 %; KSU + KIndU 9,1 %. Pritom su žene (naspram muškaraca) imale veću dijagnosticiranu prevalenciju KU-a (0,62 % naspram 0,37 %) i dijagnosticiranu incidenciju KU-a (0,18 % naspram 0,11 %) među svim bolesnicima (10).

### 1.2. Etiopatogeneza

Mastociti su glavne stanice u patogenezi KU-a važne za razumijevanje nastanka urtikarije, koje na svojoj površini imaju puno različitih stimulacijskih i inhibitornih receptora, a ravnoteža signala (koji proizlaze iz ovih receptora) određuje konačan odgovor stanice. Važni stimulacijski receptori mastocita uključuju visokoafinitetne receptore za IgE, receptore za IgG, MRGPRX2, *Toll-like* receptore (TLRs), receptore komponente komplementa i receptore za faktor matičnih

stanica [engl. *stem cell factor* (SCF)]. Inhibicijski receptori djeluju tako da reguliraju i moduliraju funkciju mastocita, a uključuju receptor sličan leukocitnom imunoglobulinu, potporodica B, član 4 (LILRB4) i CD200R1. Putovi prijenosa signala uključuju složene i precizno kontrolirane mreže molekula, preko kojih se informacije prenose s površine stanice u unutrašnjost stanice kako bi inducirale specifičan učinak (11).

Djelovanje mastocita često je povezano s alergijom, ali i drugim čimbenicima. Alergija podrazumijeva odgovor organizma na egzogene antigene (alergene). Povezana je najčešće s ranom (trenutačnom) ili neposrednom reakcijom preosjetljivosti (tip I) putem IgE-a, za koje su potrebni pomoćni T-limfociti 2 (engl. *T helper cells*, Th2) koji sintetiziraju citokin interleukin 4 (IL-4), ali i druge citokine. Mastociti su glavne stanice uključene u alergijsku reakciju, koje u ranoj fazi otpuštaju medijatore odgovorne za kliničku sliku urtikarije. To uključuje i IgE vezan na mastocitni receptor, tj. izvanstaničnu  $\alpha$  podjedinicu IgE receptora visokog afiniteta (Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ ) koji se nalazi na površini mastocita umrežen alergenom (12). U patogenezu KSU-a uključeni su (uz mastocite) i bazofili u kojima se degranulacija potiče s pomoću IgE protutijela vezanih na njegov receptor visokog afiniteta (Fc $\epsilon$ RI) ili IgG protutijela vezanih na IgE/Fc $\epsilon$ RI. Degranulacijom se oslobađa nekoliko medijatora [tj. histamin, triptaza, leukotrien C4 (LTC4), prostaglandin D2 (PGD2), čimbenik aktivacije trombocita (PAF), čimbenik stimulacije kolonija granulocita i makrofaga (GM-CSF), matriks metaloproteinaza-9 (MMP-9), kemokinski ligand 1/2 motiva C-X-C (CXCL1/2), faktor nekroze tumora  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-2, IL-12, IL-17, IL-23, IL-13, IL-18 itd.] (13). Otpuštanje ovih medijatora dovodi u koži do vazodilatacije i ekstravazacije plazme i aktivacije osjetnih živaca, što potiče pojavu urtika i svrbeža (14-17).

Temeljem brojnih dokaza i spoznaja, Kaplan i sur. pokazali su 2023. jasno identificirane dermalne mastocite kao glavne pokretače KSU-a, koji su također važne mete za klinički razvoj novih terapija (18). Budući da mastociti sazrijevaju u tkivu u koje su migrirali, dermalni mastociti razlikuju se od mastocita drugih organa (kao što su pluća). Tako su triptaza i kimaza pozitivni mastociti (MCTC) podtip mastocita koji je u velikoj mjeri ograničen na kožu i gastrointestinalnu sluznicu. Degranulacija dermalnih mastocita može biti ovisna ili neovisna o IgE-u jer dermalni mastociti također izražavaju receptore za C5a (C5aR), neuropeptide (MRGPRX2), kao i one za citokine (KIT). Takvi različiti signalni putovi čine dermalne mastocite osjetljivima na aktivaciju (18). Oslobođenje histamina i drugih posrednika iz aktiviranih mastocita kože rezultira aktivacijom osjetnih živaca, vazodilatacijom i ekstravazacijom plazme (14-15).

Osim mastocita, važni su i eozinofili. Osim doprinosa (imunskoj) homeostazi, eozinofili su poznati po svojoj ulozi efektorskih stanica koje sudjeluju u alergijama (osobito kod astme i alergijskog rinitisa), gdje potiču kroničnu upalu i oštećenje tkiva. Zajedno s mastocitima, eozinofili predstavljaju ključne efektorske stanice u alergijskoj upali pa se stoga nazivaju alergijskom efektornom jedinicom. Eozinofili doprinose brojnim autoimunskim poremećajima (npr. bulozni pemfigoid, upalna bolest crijeva, eozinofilna granulomatoza s poliangiitismom, eozinofilni miokarditis, optički neuromijelitis, primarna bilijarna ciroza), kardiovaskularnim bolestima i karcinomima. U bolesnika sa KSU-om u pojedinim se kožnim promjenama nalaze eozinofili u velikom broju (zajedno s mastocitima), a prisutni su i u nepromijenjenoj koži. Grattan i sur. dokazali su još 1980-ih prisutnost infiltrata eozinofila u urtikarijalnim promjenama bolesnika sa KSU-om kojima su prethodno ubrizgani autologni serum (19). Rekrutiranje eozinofila na mjestu alergijske upale obično uključuje Th2-limfocite koji proizvode IL-5 (20). Povišene vrijednosti IL-6 i IFN- $\gamma$  u serumu pacijenata sa KSU-om upućuju na to da su oba tipa pomagačkih T-limfocita (tip Th1 i Th2) imunskog odgovora uključena u patogenezu KSU-a (21). Spominju se i druge stanice i citokini uključeni u alergijske i autoimunosne bolesti. Tako limfociti Th1, Th2 i Th17, keratinociti i mastociti mogu i kod alergijskih i kod autoimunskih bolesti inducirati proizvodnju ključnog citokina IL-24 (12). Primarna funkcija limfocita Th1, Th2 i Th17 jest obrana domaćina. Ipak, Th1-limfociti i pripadajući citokini mogu djelovati kao proupalni efektori u autoimunskim poremećajima. Važan je i IL-6 koji uglavnom proizvode urođene imunosne stanice (makrofagi, dendritične stanice i mastociti), B-limfociti, a u manjoj mjeri i Th17-limfociti i eozinofili. Pritom se može naglasiti da je IL-6 uključen u mnoge kronične upalne i autoimunosne bolesti.

Kod KU-a treba naglasiti ulogu Th2-limfocita, ali i brojnih drugih citokina. Th2-limfociti proizvode mnoge citokine, ponajprije IL-4, IL-5 i IL-13, ali također i IL-9, IL-24, IL-31 i IL-33 (22-23). Th2-limfociti uglavnom su uključeni u alergijske bolesti, gdje stimuliraju proizvodnju IgE-a i aktivaciju mastocita, bazofila i eozinofila. Važan je i IL-4 koji proizvode Th2-limfociti, a također i bazofili i mastociti. Dokazano je da je pri usporedbi sa zdravom kožom IL-4 bio povišen u urtikarijalnim kožnim promjenama (24). Također postoji korelacija IL-4 i aktivnosti bolesti u bolesnika sa KSU-om, za razliku od npr. serumske vrijednosti IL-13 u bolesnika sa KSU-om koje ne koreliraju s aktivnošću bolesti (25). Zanimljivo je zapažanje Schmetzera i sur. koji su 2018. otkrili IgE protutijela usmjerena prema IL-24 u serumu pacijenata sa KSU-om, što su izravno povezali s aktivnošću KSU-a (26). Također su pokazali, *in vitro*, da je u pacijenata sa KSU-om egzogeni IL-24 inducirao oslobađanje histamina iz

mastocita senzibiliziranih IgE-om usmjerenih protiv IL-24, ali ne i u zdravih kontrola (26). Ta IgE autoantitijela usmjerena protiv nekoliko molekula kao što su dsDNA, tkivni faktor (TF), IL-24 i tiroidna peroksidaza (TPO), također su otkrivena u određenim populacijama bolesnika sa KSU-om (27). Prema istraživanjima Sheflera i sur. 2014. IL-24 oslobađa se iz ljudskih mastocita kao odgovor na mikrovezikule izvedene iz aktiviranih T-limfocita. To upućuje na to da aktivaciji mastocita i bazofila u KSU-u doprinose i IL-24 i IgE anti-IL-24 (28). Oni također induciraju proizvodnju i otpuštanje lipidnih medijatora, kao što su leukotrieni i citokini otpušteni iz mastocita i/ili bazofila, koji mogu pridonijeti patogenezi KSU-a (27).

Poznavanje ovih mehanizama i autoimunskih procesa bitno je i za terapijske mogućnosti. Tako se učinkovitost omalizumaba, anti-IgE monoklonskog antitijela, objašnjava ulogom IgG autoantitijela usmjerenih protiv IgE i IgE autoantitijela usmjerenih protiv vlastitih molekula u bolesnika sa KSU-om (29).

### **1.3. Čimbenici rizika**

Praćenjem utjecaja različitih čimbenika i pridruženih bolesti na KSU, uočena je povezanost s nekim stanjima. Confino-Cohen i sur. pokazali su 2012. da žene sa KSU-om imaju 23 puta veću vjerojatnost da će bolovati od hipotireoze, odnosno 20 puta veću vjerojatnost oboljenja od reumatoidnog artritisa u usporedbi s kontrolnom zdravom skupinom (30). Dijagnoza KSU-a postavljena je u 80 % pacijenata prije potvrđene autoimunosne bolesti, odnosno u 20 % pacijenata nakon potvrđivanja autoimunosne bolesti, uključujući reumatoidni artritis, sustavni eritemski lupus, dijabetes melitus tipa I i celijakiju (30). Bolesnici s autoimunskim bolestima štitnjače, osobito bolesnice, imali su znatno veći rizik od razvoja KSU-a. Također, do 25 % bolesnika sa KSU-om, osobito onih s pozitivnim biljezima autoimunosne urtikarije, imalo je KSU u obiteljskoj anamnezi (2). Chen i sur. također su 2021. pokazali da bolesnice s peptičkim ulkusom i metroragijom imaju veći rizik od KU-a (31).

U nekih bolesnika sa KSU-om do pogoršanja mogu dovesti psihički stres, hrana, lijekovi (uglavnom nesteroidnih protuupalnih lijekova, NSAID) ili infekcije. Čini se da je stres važan okidač i čimbenik pogoršanja za bolesnike sa KSU-om. Iako nema dokazanih literaturnih podataka o toj povezanosti, poznato je da je uzimanje askorbinske kiseline (ASK) i NSAID-a povezano s tendencijom egzacerbacije urtikarije. Zapravo, egzacerbacija nakon primjene NSAID-a smatra se posebnim fenotipom, koji treba razmatrati kao zasebni entitet (9). Preosjetljivost na NSAID uočena je u do 30 % bolesnika sa KSU-om i klasificirana je kao kožna bolest pogoršana NSAID-om. Pritom se egzacerbacija KSU-a javlja unutar nekoliko minuta ili

sati nakon uzimanja COX1 inhibitora (selektivni COX2 inhibitori obično se toleriraju) i može se potvrditi oralnim provokacijskim testiranjem lijeka (2).

Prema podacima, glavne skupine lijekova prijavljene kao uzroci urtikarije uključuju NSAID, antibiotike (osobito beta-laktame), cjepiva, bupropion, antidepresive, antihipertenzive, H2 antihistaminike, antimikotike i H1 antihistaminike (32). Lijekovi koji usporavaju metabolizam bradikinina ili tvari P (uključujući inhibitore angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE), inhibitore neutralne endopeptidaze i dipeptidil peptidaze 4 i blokatore neprilizin-receptora), potiču nakupljanje bradikinina, što rezultira lokaliziranom vazodilatacijom i pojavom angioedema. Mnogi od štetnih učinaka opioidnih analgetika posredovani su degranulacijom mastocita te se pokazalo da kodein uzrokuje njihovu degranulaciju neovisno o njemu srodnim receptorima što može uključivati izravnu aktivaciju G proteina (33).

Infekcije mikroorganizmima, poput bakterija i/ili virusa, također mogu biti čimbenici pogoršanja KSU-a, ali njihova uloga u patogenezi KSU-a još nije razjašnjena (27). Ipak, postoje dokazi o povezanosti infekcije, promjeni mikrobioma probavnog trakta i KU-a te raste broj istraživanja te povezanosti (34-35).

#### **1.4. Dijagnostika**

Postavljanje dijagnoze KSU temelji se na kliničkom pregledu, detaljnoj anamnezi te laboratorijskoj dijagnostici.

##### **1.4.1. Anamneza i klinička dijagnoza**

KSU se dijagnosticira klinički na temelju kliničke slike te epizodne i prolazne pojave karakterističnih urtikarijalnih lezija, s angioedemom ili bez njega, u razdoblju od šest tjedana ili duže. U pristupu bolesniku temelj inicijalne procjene stanja čine detaljna anamneza i fizikalni pregled. Anamneza je važan element evaluacije, a trebala bi uključivati kliničke znakove i simptome povezane s promjenama kože, trajanje pojedinačnih urtika i popratni svrbež ili podatak o angioedemu. Ako klinički znakovi i simptomi odgovaraju KSU-u, tada bi se anamneza trebala usredotočiti na prepoznavanje mogućeg temeljnog uzroka bolesti. Također treba ispitati ima li bolesnik simptome ozbiljnije sustavne bolesti (36).

Iako nisu jedini uzrok simptoma, određeni čimbenici pogoršavaju KSU, osobito fizikalni čimbenici, vrućina (vrući tuševi, ekstremna vlažnost); uska odjeća. Nasuprot tomu, bolesnicima u kojih su fizikalni čimbenici glavni okidač za simptome potrebno je dijagnosticirati induciranu urtikariju (KIndU), kao što je kolinergijska urtikarija ili odgođena urtikarija na pritisak. U anamnezi treba uzeti u obzir i druge čimbenike jer npr. protuupalni lijekovi (NSAID-i)

pogoršavaju simptome u 25 do 50 % bolesnika sa KSU-om (37). Stres je također jedan od važnih čimbenika pogoršanja KSU-a, bolesnici često prijavljuju ozbiljnije simptome tijekom razdoblja fizičkog ili psihičkog stresa, međutim, nedostaju jasni dokazi da su psihosocijalni čimbenici na neki način uzročnici KSU-a. Varijacije u prehranbenim navikama i alkoholu važan su čimbenik pogoršanja i treba ih ispitati u anamnezi. Iako je alergija na hranu rijedak uzrok KSU-a, neki bolesnici navode da će varijacije u prehrani, osobito obilni obroci ili začinjena hrana, pogoršati simptome KSU-a. Alkohol također pogoršava simptome u nekih bolesnika sa KSU-om (36).

#### **1.4.2. Laboratorijska dijagnostika**

Aktualne međunarodne smjernice za urtikariju Zuberbiera i sur. 2022. navode osnovne i dodatne pretrage za KSU. Prema tomu osnovne pretrage u svih bolesnika sa KSU-om uključuju DKS i SE i/ili CRP te mjerenje IgG anti-TPO i ukupnih serumskih IgE-a (1). Iste smjernice navode koncept 7C, odnosno sedam ciljeva dijagnostičke obrade u bolesnika sa KSU-om (1). Koncept 7C uključuje isključivanje diferencijalne dijagnoze (potvrda bolesti); traženje markera autoimunosne urtikarije (uzrok); identificiranje potencijalnih okidača (kofaktori); provjeru autoimunosti, provjeru poremećaja mentalnog zdravlja i drugih komorbiditeta; prepoznavanje problema sa spavanjem, stresom, seksualnim zdravljem i društvenim životom (posljedice); procjenu potencijalnih biomarkera ili prediktora odgovora na liječenje (komponente); i praćenje aktivnosti, utjecaja i kontrole KSU-a (1).

Nekoliko biomarkera praćeno je zbog njihove moguće povezanosti s aktivnošću KSU-a. Tako je u bolesnika s aktivnim KSU-om utvrđena povišena vrijednost upalnih parametara poput CRP, SE i citokina IL-6, dok su njihove vrijednosti znatno niže tijekom faze remisije bolesti (38-41). Uočeno je i da serumski upalni biomarkeri IL-6 i CRP (i parametri oksidativnog stresa trombocita) uvelike koreliraju s težinom KSU-a (42). U bolesnika sa KSU-om utvrđena je i sustavna upala s povišenim upalnim markerima kao što su CRP, IL-6, IL-10 i TNF-alfa. Osim toga, utvrđena je i neravnoteža u proupalnim i protuupalnim adipokinima koje luče adipociti, a mogu biti čimbenici koji uzrokuju ili pogoršavaju KSU i angioedem (33). Proučavajući trajanje bolesti u odnosu na biomarkere, uočeno je da povišeni CRP, IL-6, protrombinski fragment 1 $\beta$ 2, D-dimeri i srednji volumen trombocita mogu upućivati na duže trajanje bolesti (43).

Utvrđena je i povezanost broja bazofila i manifestacija KU-a. Bazofili čine oko 1 % cirkulirajućih granulocita u ljudi. Čini se da je urtikarija jedini klinički poremećaj gdje broj bazofila može biti neposredno klinički važan. Tako je Rorsman (1961.) utvrdio (s pomoću metakromatske granule mrlja na perifernoj krvi) da su bazofili periferne krvi smanjeni u



bolesnika s KU-om (prosjeak 5 po ml) u usporedbi sa zdravim ispitanicima (45 po ml), ali nisu smanjeni u induciranoj urtikariji (44). Također je primijetio bazopeniju u urtikariji samo tijekom aktivnosti bolesti. Njegove rezultate kasnije su potvrdili Grattan i sur. (1997.) koji su dodatno otkrili da je broj bazofila u krvi bolesnika sa KSU-om povezan s djelovanjem njihova seruma na otpuštanje histamina. Oni sa serumskom aktivnošću koja oslobađa histamin (iz bazofila zdravih donora) imali su mali broj bazofila ili ih nije bilo u cirkulaciji (45). Sabroe i suradnici (1998.) proučavali su bolesnike pogođene KU-om s dokazanim funkcionalnim antitijelima ili bez njih (određenih aktivnošću otpuštanja histamina) te utvrdili smanjene bazofile u bolesnika bez antitijela (iako manje nego bolesnici s dokazanim protutijelima) u usporedbi s kontrolama (46). Veliko smanjenje broja bazofila uočeno je u zdravih kontrola nakon uzimanja oralnih kortikosteroida (od oko 45 po ml do 10 po ml pune krvi). Nasuprot tomu, u bolesnika sa KSU-om povećao se broj bazofila (od oko 5 po ml do 10 po ml). Ti rezultati upućuju na to da postoji dvosmjerni promet cirkulirajućih bazofila između krvi i tkiva u zdravih i u oboljelih (46). Uz inhibiciju lučenja IL-4 (kako su pokazali Schroeder i sur. 1997. god.) (47) te oslobađanje histamina ovisnog o IgE-u iz bazofila (kako su utvrdili Schleimer i sur. 1982. god.) (48), čini se da kortikosteroidi mogu utjecati i na endotelne mehanizme (kao što je vlastita ekspresija adhezijskih molekula) koji reguliraju povratak migriranja bazofila u cirkulaciju kada nisu aktivno uključeni kod upale tkiva (49).

Bazopenija u perifernoj krvi proporcionalna je jačini simptoma urtikarije (50-51), a infiltracija bazofila u kožu doprinosi jačini kožnih simptoma (52). Stoga je u rutinskoj dijagnostici KSU-a propisano određivanje DKS-a. Bazofili, kao granulociti, dijele zajednički prekursor s eozinofilima čiji završni stadiji diferencijacije ovise o IL-3 i IL-5. Prekursor mastocita nastao iz fetalnog tkiva (mastociti vezivnog tkiva uključujući kožu) i unutar koštane srži (inducirani mastociti sluznice) kao zasebne loze, blisko je povezan s monocitom. U bolesnika sa KSU-om promijenjen je broj bazofila kao i njihova funkcionalna svojstva. U bolesnika sa KSU-om smanjen je broj bazofila unutar cirkulacije (u najmanje 50 % bolesnika) i može biti povezan s težinom bolesti. Najvjerojatnije objašnjenje za bazopeniju jest migracija bazofila iz cirkulacije u kožu, gdje su bazofili vjerojatno aktivni jer su pod djelovanjem kemotaktičkih čimbenika, a degranulirani bazofili lako prolaze stijenke krvnih žila iz cirkulacije u kožu (25).

IL-6 je faktor diferencijacije B-limfocita i povezan je s Th2-limfocitnim odgovorom. Luče ga uglavnom mastociti i T-limfociti (Th2-limfociti), a uključen je u etiopatogenezu upale, hematopoezu, imunosnu regulaciju i druge funkcije. Istraživanja su pokazala da su u bolesnika

sa KSU-om serumske vrijednosti IL-6 povišene, što je povezano s aktivnošću bolesti (41). IL-6 je glavni predstavnik upale u kroničnim upalnim bolestima, autoimunskim bolestima, karcinomima i citokinskoj oluji (53). Kod KU-a je serumska razina IL-6 snažno povezana s pokazateljima težine bolesti i kvalitete života izražena rezultatom upitnika aktivnosti urtikarije (UAS7) i rezultatom upitnika o dermatološkoj kvaliteti života (DLQI) (54). U svojoj prospektivnoj studiji Grieco i sur. pokazali su 2020. da se u bolesnika sa KSU-om koji su liječeni omalizumabom znatno smanjila koncentracija IL-6 (54). Značajna su istraživanja koja su ispitivala IL-6 u serumu i slini, pa su tako Zhang i sur. 2008. utvrdili statistički važnu korelaciju između razina IL-6 u slini i serumu odraslih pacijenata (Kineza) s kroničnom upalnom bolešću usne šupljine (55). Granger i sur. te Pfaffe i sur. pokazali su 2011. da je povezanost IL-6 u slini i serumu umjerena i znatna, što upućuje na to da se slina može upotrebljavati za procjenu IL-6 (56-57).

U literaturi se uočavaju korisne spoznaje o dijagnostičkim pokazateljima KSU-a. Kolkhir i sur. pokazali su da je nalaz povišenih autoantitijela prema TPO-u i sniženih IgE vrijednosti (aTPO↑, IgE↓) koristan dijagnostički marker za autoimunosni KSU (aiKSU) u svakodnevnoj kliničkoj praksi (58). Ukupni IgE parametar je koji je dio rutinske dijagnostičke obrade u pacijenata sa KSU-om (1,26). Gledajući sklonost recidivima kod KSU-a, dokazano je da je prevalencija recidiva KSU-a nakon potpune remisije znatno veća u bolesnika s postojećom bronhalnom astmom, povišenim razinama ukupnog IgE-a i autoimunosti (59). Usporedbom podataka od 13 000 bolesnika s KU-om u odnosu na 10 000 kontrolnih ispitanika, zabilježena je veća incidencija autoimunskih bolesti kao što su: poremećaji štitnjače, ali i celijakija, Sjögrenov sindrom, sustavni eritemski lupus (SLE), reumatoidni artritis i dijabetes tipa I (30,60). To upućuje na potrebu proširenja dijagnostičke obrade za KSU te potrebe ispitivanja autoimunskih laboratorijskih parametara u dijagnostici, kao što su ANA, anti-TPO i anti-TG. Bolesnici s autoimunskim KSU-om imali su znatno teži oblik bolesti (UAS7 21 naspram 9), ali nisu pokazali druge kliničke ili demografske razlike u odnosu na bolesnike bez autoimunskog KSU-a. Bolesnici s autoimunskim KSU-om također su imali znatno niže razine ukupnog IgE-a i znatno više razine IgG anti-TPO u odnosu na bolesnike bez autoimunskog KSU-a. Od biomarkera uočeni su pozitivni test aktivacije bazofila (BAT) i analiza oslobađanja histamina bazofila (BHRA) koji su 69 %, odnosno 88 % bili prediktivni za autoimunosni KSU (61).

Važno je istaknuti ulogu promijenjenih nalaza štitnjače u bolesnika sa KSU-om. Bolesnici sa KSU-om imaju pet do gotovo sedam puta veću vjerojatnost da će imati pozitivan anti-TPO.

Klinički gledano, neovisno o patogenezi autoimunskog KSU-a koji je u podlozi takve povezanosti, to otkriće upućuje na moguće provođenje probira na autoimunost štitnjače pri pojavi KU-a. Taj pristup može omogućiti identifikaciju bolesnika s kroničnim autoimunim tireoiditisom koji su još uvijek u eutireozu i kojima bi moglo koristiti praćenje razine TSH-a tijekom vremena (62). Uočeno je i da su povišeni IgG anti-TPO i viša aktivnost KSU-a povezani s duljim trajanjem KSU-a (43). Ističe se i istraživanje nalaza štitnjače u odnosu na KSU koje su proveli Herrera-Sánchez i sur. 2020. god. Oni su analizirali 60 bolesnika sa KSU-om – 30 ih je bilo eutireoidno, a 30 hipotireoidno (prevladavao je ženski spol sa 76 %, a prosječna dob bila je 49,1 godina). Prema rezultatima, aktivnost KSU-a bila je umjerena u 40 % bolesnika, jaka u njih 25 %, a blaga u 23 %, dok je bolest bila kontrolirana samo u njih 12 %. U onih u skupini s hipotireozom, medijan TSH bio je 6,8  $\mu$ UI/mL (blago povišene vrijednosti). Nisu pronađene statistički značajne razlike u pogledu dobi, indeksa tjelesne mase, komorbiditeta ili u UAS7 u skupini bolesnika sa KSU-om s patološkim nalazom štitnjače i bez njega (63). U drugoj studiji, O'Farrill-Romanillos i sur. određivali su 2019. TSH i slobodni T4 u 127 bolesnika sa KSU-om, od čega 78 % žena (prosječne dobi 44,5  $\pm$  15,1 godina). Poremećaj funkcije štitnjače utvrđen je u 50 bolesnika (39 %), a subklinička hipotireoza u 41 bolesnika (82 %), dok nije zabilježen nijedan bolesnik s hipertireozom (64). Među bolesnicima s hipotireozom, u njih 14 (28 %) uočena su pozitivna protutijela i sve su bile žene. Više od trećine uključenih bolesnika sa KSU-om imalo je poremećaje funkcije štitnjače, osobito subkliničku hipotireozu. Važnost identifikacije ovog entiteta leži u mogućnosti multidisciplinarnog istodobnog liječenja KSU-a i subkliničke hipotireoze zajedno s endokrinolozima (64).

Od ostalih laboratorijskih parametara, kod KSU-a se ističu i čimbenici zgrušavanja krvi. Nekoliko je studija pokazalo da je kaskada zgrušavanja krvi aktivna u KSU-u i može odražavati aktivnost bolesti, a postoje i dokazi za aktivaciju koagulacijske kaskade u ispitanika sa KSU-om (5). Asero i sur. pokazali su 2017. u bolesnika s aktivnim KSU-om veću serumsku razinu protrombinskog fragmenta 1 fl 2 (PF1fl2) (polipeptida od oko 34 kD) i D-dimera od one zdravih osoba i njihovu korelaciju s težinom bolesti i odgovorom na terapiju, što je potvrđeno u većem broju studija (27,65-67).

Grzanka i sur. utvrdili su 2014. povezanost KSU-a s nižom koncentracijom vitamina D u serumu, pri čemu je u bolesnika sa KSU-om uočena veća prevalencija njegova nedostatka u odnosu na zdrave osobe (68). Mohamed i sur. također su 2020. zaključili da je nedostatak vitamina D u serumu češći u bolesnika sa KSU-om u usporedbi sa zdravim osobama (69). U studiji Lugović-Mihić i sur. iz 2022. rezultati su pokazali da je u bolesnika s KU-om (kao i

atopijskim dermatitisom i kontaktnim dermatitisom) česta niska razina vitamina D (70). Kod bolesnika koji su nadomjesno primali vitamin D znatno su se povećale vrijednosti vitamina D u serumu i uočeno je poboljšanje kliničkog stanja koje je bilo češće nego u skupini koja nije primala nadomjesnu terapiju (69,8 prema 58,1;  $p = 0,428$ ), iako nije bilo statistički značajno (70). Osim navedenih biomarkera, važni su i upitnici za bolesnike koji se upotrebljavaju pri praćenju težine KU-a. Uočeno je da njihovi pokazatelji obično koreliraju s laboratorijskim nalazima pa je radi boljeg uvida u stanje bolesti najbolje kombinirati biomarkere i upitnike.

### **1.5. Bolesti pridružene KSU-u (komorbiditeti)**

Bolesnici sa KSU-om često imaju pridružene bolesti, što je izraženije s većom dobi. Curto-Barredo i sur. pokazali su 2019. (9) češće komorbiditete u bolesnika sa KSU-om starijih od 45 godina (bolesti štitnjače, hiperkolesterolemiju i dijabetes melitus) od bolesnika s prvom epizodom KSU-a u dobi do 45 godina. Također su mlađi bolesnici znatno češće imali pridružen KIndU (27,3 % prema 14,7 %) (9). KIndU je čest komorbiditet kod bolesnika sa KSU-om, a većina studija navodi stope  $>10\%$ . Među bolesnicima s KU-om njih 29 – 93 % imalo je samo KSU, 6 – 35 % imalo je samo KIndU, a 1 – 43 % imalo je i KSU i KIndU (2). Skander i sur. pokazali su 2021. da je KIndU čest komorbiditet u bolesnika sa KSU-om (na uzorku od 245 bolesnika sa KSU-om), njih 36 % imalo je KIndU potvrđen pozitivnim provokacijskim testom, uglavnom simptomatski dermografizam (25 %) i urtikariju na hladnoću (engl. *cold urticaria*, ColdU) (13 %) (71). Važan je i podatak da više tipova KIndU-a može koegzistirati u istog bolesnika sa KSU-om (71).

#### **1.5.1. Autoimunost u bolesnika sa KSU-om**

Autoimunosne bolesti uočene su u 28 % bolesnika sa KSU-om, ponajprije autoimunosne bolesti štitnjače (25 %, uglavnom Hashimotov tireoiditis s hipotireozom ili bez), ali i vitiligo, reumatoidni artritis, autoimunosni gastritis i dijabetes melitus (1 – 2 %) (66). U bolesnika sa KSU-om utvrđena je veća prevalencija antitireoidnih protutijela, neovisno o funkciji štitnjače (eutireoza, hipotireoza i hipertireoza) (72). Također, brojne autoimunosne bolesti kao što su sustavni eritemski lupus, polimiozitis, dermatomiozitis i reumatoidni artritis povezane su s KU-om (72). KSU se genetski preklapa s autoimunosnim bolestima, a genetski čimbenici koji predisponiraju za KSU uglavnom se manifestiraju kroz povezanost s autoimunosnim osobinama (73).

### 1.5.2. Infekcije u pacijenata sa KSU-om

Bakterijske infekcije, uključujući *Helicobacter pylori* i žarišne bakterijske infekcije, ili na primjer zubne infekcije prijavljene su u do 77 % bolesnika sa KSU-om (74-75). Gledajući moguću povezanost s COVID-19 infekcijom, prema jednoj studiji, KU nije utjecao na tijek bolesti COVID-19, ali je COVID-19 izazvao egzacerbaciju KU-a kod jedne trećine pacijenata, osobito pacijenata s teškim oblikom bolesti COVID-19 (76). U istraživanju Lugović-Mihić i sur. iz 2019. pokazalo se da su česte i urogenitalne bolesti (75). U tih je bolesnika važno da se KSU nakon liječenja potvrđene infekcije helmintima ili protozoima (antiparazitskim lijekovima) poboljšala u jedne trećine pacijenata, iako je veza između KSU-a i parazita nedovoljno upoznata (74).

### 1.5.3. Ostali čimbenici pridruženi KSU-u

Dokazi o povećanoj prevalenciji alergijskih bolesti u bolesnika sa KSU-om nisu jednoznačni. Preosjetljivost tipa I na alergene može biti uzrok KSU-a u bolesnika s povremenim simptomima, vremenskom vezom s određenim alergenom i mogućim simptomima zbog drugih alergijskih bolesti (primjerice astme) (2).

Postoje i podatci o malignim bolestima u bolesnika sa KSU-om pa je tako zloćudni tumor, uglavnom nehematološki (npr. prostate ili dojke), prijavljen u 0 – 9 % takvih bolesnika (77-78). Uočeno je i da se KSU povukao u nekim slučajevima nakon što su bolesnici sa KSU-om bili u remisiji maligne bolesti. Razvoj KSU-a u bolesnika sa zloćudnom bolesti mogao bi biti povezan s imunološkom disregulacijom izazvanom zloćudnom bolesti, uključujući aktivaciju komplementa i koagulacijske kaskade (79), a i povratak u normalne homeostatske uvjete može biti paralelan s poboljšanjem KSU-a nakon liječenja malignoma.

Poremećaji mentalnog zdravlja i psihički poremećaji također su uočeni u bolesnika sa KSU-om. Prema podacima, osobito su učestale depresija i anksioznost, koje su prisutne u do 60 % bolesnika sa KSU-om i povezane su sa znatno narušenom kvalitetom života (74).

Također je prevalencija jedne ili više komponenata metaboličkog sindroma (odnosno centralne pretilosti, dislipidemije, hiperglikemije i hipertenzije) znatno povećana u bolesnika s KU-om (uključujući KSU) u usporedbi s kontrolnom skupinom bez KU-a/KSU-a (2). Nedavna otkrića sugeriraju da se KSU smatra sustavnim stanjem povezanim s metaboličkim bolestima. Uočena je veća prevalencija pretilosti, dijabetesa, hipertenzije i metaboličkog sindroma, osobito u bolesnika s teškim i slabo kontroliranim KSU-om (33). Najčešće prijavljeni komorbiditeti u bolesnika sa KSU-om (navedeni od posebnog interesa u Berlinu 2017. god.) bile su hipertenzivne bolesti (43,5 %), poremećaji metabolizma lipoproteina (32,1 %) i afektivni

poremećaji (26,0 %). Učestalost većine komorbiditeta od posebnog interesa kod KU-a (ili KSU-a) bila je slična onoj kod pacijenata s atopijskim dermatitisom i psorijazom, a svi komorbiditeti bili su učestaliji u bolesnika s KU-om (ili atopijskim dermatitisom ili psorijazom) u odnosu na ukupnu populaciju (10). Također, Tagka i sur. pokazali su 2020. da bolesnici s komorbiditetima imaju veću sklonost prekidanju liječenja (80).

### **1.6. Aktivnost bolesti i kontrola**

Za procjenu aktivnosti i kontrole KU-a, razvijeno je nekoliko metoda za mjerenje ishoda bolesti koje se primjenjuju i u kliničkoj praksi, ali i u kliničkim ispitivanjima. Ocjena aktivnosti urtikarije (UAS) zlatni je standard za procjenu aktivnosti bolesti (broj urtika i intenzitet svrbeža) u KSU-u i obično se pritom upotrebljava prospektivni upitnik koji obuhvaća praćenje stanja tijekom sedam uzastopnih dana (UAS7) (1). Test kontrole urtikarije (UCT) retrospektivni je upitnik, s razdobljem prisjećanja od 4 tjedna, koji se upotrebljava za procjenu kontrole bolesti u svim oblicima KU-a (1-2). Stoga, za bolje definiranje utjecaja KU-a na bolesnike korisna je upotreba upitnika poput ocjene aktivnosti urtikarije (UAS7), upitnika o kvaliteti života bolesnika s KU-om (CU-Q2oL) (1), dermatološkog indeksa kvalitete života (DLQI) (81) i kontrolnog testa urtikarije (UCT) (82) koji se upotrebljavaju u studijama i kliničkoj praksi. Najčešće se primjenjuje UAS7 koji je pokazatelj težine bolesti i zbroja koji se temelji na ocjenjivanju broja urtika i svrbeža tijekom proteklih 7 dana.

#### **1.6.1. Ocjena aktivnosti urtikarije (UAS7)**

UAS7 primjenjuje se u rutinskoj kliničkoj praksi za određivanje aktivnosti bolesti i odgovora na liječenje pacijenata sa KSU-om (1). Pritom se zbrojem stanja urtika i svrbeža dobiva broj koji može biti od 0 do 16, pri čemu je za dobro kontroliranu bolest potrebno najmanje 12 bodova.

#### **1.6.2. Kontrolni test urtikarije (UCT)**

UCT je vrijedan alat u procjeni težine bolesti pacijenata koji utvrđuje razinu kontrole bolesti u svim oblicima KU-a. Za dobro kontroliranu bolest ukupni zbroj bodova trebao bi biti 12 od 16 bodova, što pomaže pri donošenju odluke o liječenju (82).

#### **1.6.3. Upitnik kvalitete života bolesnika s kroničnom urtikarijom (CU-Q2oL)**

Za procjenu oštećenja kvalitete života bolesnika sa KSU-om Zuberbier i sur. u aktualnim smjernicama iz 2022. (1) predlažu upotrebu upitnika kvalitete života bolesnika s KU-om (CU-Q2oL) koji sadržava 23 pitanja (1).

#### 1.6.4. Dermatološki indeks kvalitete života

Može se primijeniti dermatološki indeks kvalitete života (DLQI) koji je manje specifičan za KSU (specifičniji je CU-Q2oL), ali daje mogućnost usporedbe kvalitete života pacijenata sa KSU-om i ostalih kroničnih bolesti kože (81).

Iz svega navedenog proizlazi potreba za pronalaskom što preciznijih serumskih biomarkera KSU-a koji bi služili za procjenu težine bolesti i praćenje kliničkog odgovora tijekom liječenja, što se i navodi u zadnjim smjernicama za dijagnostiku i liječenje urtikarije kao poticaj istraživačima u budućim studijama (1). Ostvareni ciljevi liječenja koje su prijavili bolesnici (engl. *Patient-reported outcome*, PRO) igraju ključnu ulogu u cijelom procesu skrbi za bolesnike sa KSU-om. Trenutačne smjernice za KSU preporučuju procjenu kvalitete života povezanu sa zdravljem (engl. *Health-related Quality of Life*, HRQoL), aktivnosti bolesti i kontrolu bolesti na početku i tijekom svakog naknadnog posjeta. Dobiveni rezultati HRQoL procjene, aktivnosti bolesti i kontrole bolesti ključni su za bilo koji izbor liječenja te omogućuju procjenu učinkovitosti liječenja, kao i praćenje napretka liječenja pacijenata tijekom vremena (6). Tako je npr. znatan porast CRP-a uočen u bolesnika sa KSU-om i povezan je s većom aktivnošću bolesti te učinkom i lošijim odgovorom na liječenje (9). Tagka i sur. u svojoj su studiji 2020. analizirali rezultate aktivnosti KSU-a u bolesnika s pomoću UAS-a tijekom liječenja omalizumabom kako bi otkrili moguće uzročne veze za vrijeme trajanja bolesti. Tako su dokazali relativni imunosni obrazac u rezultatima bolesnika sa KSU-om koji se mijenjao iz viših u niže vrijednosti, ovisno o aktivnosti KSU-a (oscilatorni obrazac) (80).

#### 1.7. Liječenje

Približno 50 % bolesnika sa KSU-om reagira na nesesdirajuće oralne H1 antagoniste druge generacije (83). To je u skladu s najnovijim međunarodnim smjernicama za KSU koje preporučuju upotrebu oralnih nesesdirajućih antihistaminika u dozi do četiri puta većoj od doze koju je odobrila Američka agencija za hranu i lijekove (FDA), kao opciju prve linije liječenja KSU-a (83). Prema metaanalizi koju su proveli Guillén-Aguinaga i sur. 2016. liječenje KSU-a standardnim dozama antihistaminika ne dovodi do izlječenja simptoma u 61,4 % bolesnika, a 36,8 % bolesnika ne reagira na povećanje doze (84). Zanimljiva je usporedba liječenja KSU-a i KIndU-a koju su proveli Curto-Barredo i sur. 2019. po kojoj je korištenjem prve linije liječenja (dopuštene doze H1 antihistaminika druge generacije), postignuta kontrola u samo 50 % bolesnika sa KSU-om, za razliku od 66 % bolesnika s KIndU-om (9). Međutim, unatoč četverostrukoj dozi antihistaminika otprilike 50 % pacijenata i dalje ima urtikariju i svrbež.

Takvo stanje zahtijeva liječenje biološkim lijekom omalizumabom, o čemu govore dokazi proizašli iz nasumičnih kontroliranih ispitivanja (83).

Tagka i sur. su 2020. pokazali da monoterapija omalizumabom ima povoljnije rezultate u usporedbi s primjenom paralelnih terapija antihistaminicima i terapija održavanja (80). Cassano i sur. proučavali su 2022. pristup liječenja KSU-a dviju skupina liječnika, skupine A specijalizirane za KSU (iskusni liječnici) i skupine B koja u praksi tek povremeno viđa bolesnike sa KSU-om (neiskusni liječnici) (85). Pokazali su da u slučaju neučinkovitosti antihistaminika druge generacije u standardnim dozama, većina liječnika (obiju skupina) uvijek ili često propisuje veće doze istog lijeka, a 64 % iz skupine B (neiskusni) te jedna trećina iz skupine A (iskusni) obično povećavaju dozu do dva puta. Antihistaminike stare generacije nikada u kliničkoj praksi nije upotrebljavalo 14 % liječnika iz skupine A i 24 % liječnika iz skupine B, dok su ostali liječnici naveli njihovu rijetku ili povremenu primjenu. Propisivanje sustavnih kortikosteroida češće je uočeno među liječnicima u skupini B. Pitanje o upotrebi alternativnih lijekova za rezistentni KSU dalo je različite odgovore između dviju skupina, a kao najvažnije prepreke za upotrebu lijekova umjesto antihistaminika navedeni su troškovi i pristup specijalističkim referentnim centrima (85).

Xue i sur. proveli su 2023. metaanalizu koja je uključivala 7 studija, s ukupno 975 pacijenata. Rezultati metaanalize pokazali su da je bilastin u bolesnika sa KSU-om u usporedbi s kontrolnom skupinom statistički značajno poboljšao DLQI, ukupna ocjena simptoma (engl. *Total Symptom Score*, TSS) i UAS7, a razlike su bile statistički značajne (86). Mauer i sur. proveli su 2020. studiju AWARE (svjetska procjena bolesnika sa KSU-om rezistentnim na antihistaminike) u koju su uključili 2727 bolesnika, koji su uspješno praćeni ponajprije putem UCT-a (bolesnici s potpunom remisijom (14,1 %) bili su isključeni iz analiza) (87). Udio pacijenata s nekontroliranim KSU-om (UCT rezultat < 12) pao je od početnih 78 % (1641/2104) na 28,7 % (269/936) nakon dvije godine sudjelovanja u studiji AWARE. Uočen je i porast broja pacijenata bez negativnog utjecaja KSU-a na njihovu kvalitetu života (procijenjeno s pomoću vrijednosti DLQI) koji se povećao na 57 % (od početnih 18,7 %). Posjeti hitnoj službi smanjeni su na 2,4 % (od početnih 33,5 %), a boravci u bolnici smanjeni su na 1,7 % (od početnih 24,2 %) u 24. mjesecu provođenja studije. Sveukupno, na kraju studije (u 24. mjesecu studije) 23,2 % bolesnika na nesedirajućim H1 antihistaminicima (nsAH) i 41,9 % bolesnika na povećanoj dozi nsAH-a imalo je nekontrolirani KSU (UCT < 12), dok je u bolesnika liječenih omalizumabom 27,1 % imalo nekontrolirani KSU (87). Još uvijek nema odgovora na pitanje kako primjenjivati nsAH kada je KSU pod kontrolom uz terapiju omalizumaba. Ipak, Türk i



sur. predložili su 2021. da se početne razine ukupnog IgE-a mogu upotrebljavati kao potencijalni biomarker za učinkovitost nsAH-a kao i omalizumaba u ovih bolesnika (88). Naime, pokazalo se u studiji Wellera i sur. iz 2022. da u više od polovice (54,1 %) svih bolesnika s KU-om (zabilježenih u Berlinu 2017. god.) nije propisano nikakvo liječenje (10). U liječenju su H1 antihistaminici druge generacije bili najčešće propisivani lijekovi za odrasle bolesnike (17,9 %) i djecu (27,9 %). Uočeno je i da su bolesnici s KIndU-om (pedijatrijski 15,5 %, odrasli 7,8 %) bili češće hospitalizirani u odnosu na bolesnike sa KSU-om (pedijatrijski 9,9 %, odrasli 4,6 %) (10).

Od alternativnih opcija liječenja važno je spomenuti sustavne (obično oralne) glukokortikoide koji su učinkoviti u kontroli simptoma većine bolesnika sa KSU-om. Međutim, njihova primjena dulja od nekoliko tjedana nije opravdana za bolest koja sama po sebi ima izvrsnu dugoročnu prognozu jer glukokortikoidi imaju predvidljive i znatne nuspojave. Nadalje, nema dokaza da glukokortikoidi imaju učinak modificiranja bolesti. Uz to, dodavanje glukokortikoida antihistaminicima tijekom prvih tjedana liječenja ne ubrzava vrijeme potrebno za postizanje kontrole simptoma, u usporedbi s liječenjem samo antihistaminicima. Stoga su glukokortikoidi kratkotrajna terapija spašavanja koju bi trebalo primjenjivati za postizanje privremene kontrole teških simptoma (89).

Ističe se i važnost registra za KU [engl. Chronic Urticaria Registry (CURE)] koji je aktualni, prospektivni, međunarodni, multicentrični, opservacijski, dobrovoljni registar pacijenata s KU-om. Sudjelovanje u registru CURE otvoreno je za sve liječnike koji liječe bolesnike s KU-om, bez obzira na lokaciju, medicinsku specijalnost ili vrstu ordinacije. Cilj je registra CURE prikupiti podatke o svim bolesnicima s KU-om, bez namjernog odabira ili kriterija za isključivanje. Registar prikuplja početne i naknadne podatke o bolesnikovoj demografiji, povijesti bolesti, simptomima, okidačima i čimbenicima rizika, terapijama i zdravstvenoj skrbi (90). Takvi podatci doprinose boljem uvidu u bolest i njezinu kvalitetnijem liječenju.

## **2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

## **2.1. Hipoteze**

- 1) Postoji povezanost između težine kliničke slike KSU-a i koncentracije IL-6 u slini i serumu.
- 2) U bolesnika s težom kliničkom slikom KSU-a povišena je koncentracija IL-6 u slini i serumu kao i serumske koncentracije CRP-a, SE-a i D-dimera, a snižena je koncentracija vitamina D.
- 3) Nakon 3 mjeseca liječenja bolesnika sa KSU-om uočena je znatna promjena razina biomarkera u slini i serumu s promjenom težine bolesti.

## **2.2. Ciljevi**

1. U bolesnika sa KSU-om usporediti odnos IL-6 u slini i serumu s težinom bolesti mjerenom upitnicima (UAS7, UCT, CU-Q2oL i DLQI).
2. Usporediti salivarni i serumski IL-6 s ostalim serumskim biomarkerima u bolesnika sa KSU-om (KKS, SE, CRP, ukupni IgE, TSH, T3, T4, anti-TPO, anti-TG, ANA, D-dimeri i vitamin D).
3. Ispitati povezanost težine bolesti s ostalim serumskim biomarkerima u bolesnika sa KSU-om.
4. Ispitati IL-6 u slini i serumu te ostale serumske biomarkere KSU-a u odnosu na težinu bolesti u bolesnika sa KSU-om nakon 3 mjeseca standardne terapije.
5. Usporediti salivarni i serumski IL-6 u bolesnika sa KSU-om.

## **2.3. Svrha istraživanja**

Doprinijeti proširenju rutinske dijagnostičke obrade pacijenata sa KSU-om te olakšati dijagnostičko-terapijski postupak utvrđivanjem novih spoznaja o serumskim i salivarnim biomarkerima KSU-a koji bi služili za procjenu težine KSU-a kao i za praćenje kliničkog odgovora tijekom liječenja.

### **3. MATERIJALI I POSTUPCI**

### **3.1. Ispitanici**

U ovoj prospektivnoj studiji sudjelovao je ukupno 41 bolesnik sa KSU-om od čega 32 žene (78 %) i 9 muškaraca (22 %); starosti od 23 do 79 godina kojima je bolest verificirana pri dermatološkom pregledu prema Zuberbier i sur., 2022. (1) tijekom posjete Klinici za kožne i spolne bolesti KBC-a *Sestre milosrdnice*. Tijekom pregleda dermatologa uz preporuke za obradu i liječenje, bolesnici su bili upoznati s istraživanjem i priupitani za sudjelovanje. Nakon usmenih uputa, ispitanike se zamolilo da pročitaju dobrovoljni pristanak i, ako su suglasni, potpišu ga. Sudionici istraživanja bili su punoljetni bolesnici sa KSU-om dijagnosticiranim prema smjernicama za dijagnozu KSU-a (1) koji su potpisali informirani pristanak te zadovoljili sve uključne i isključne kriterije.

#### **3.1.1. Uključni kriteriji:**

- 1) urtike s angioedemom ili bez njega u trajanju dužem od 6 tjedana
- 2) ispitanik/ispitanica ima 18 ili više godina
- 3) u podlozi nema poznate autoimunosne bolesti
- 4) urtike traju kraće od 24 h
- 5) urtike ne mogu povezati s provocirajućim čimbenicima.

#### **3.1.2. Isključni kriteriji:**

- 1) izolirani angioedem
- 2) izolirana kronična inducirana urtikarija
- 3) bolesnici koji su primali sustavnu kortikosteroidnu, imunosupresivnu, psihoaktivnu ili biološku terapiju 2 tjedna prije početka studije
- 4) primjena cjepiva od koje je prošlo manje od 28 dana od uključenja u studiju
- 5) trudnoća
- 6) pušenje (prema dosadašnjim istraživanjima u literaturi, pušenje utječe na salivarni IL-6)
- 7) oralne bolesti (kandidijaza, ostale infekcije usne šupljine, lihen planus, ozljede, parodontna bolest)
- 8) teže kronične bolesti (dijabetes tipa I i II, arterijska hipertenzija, autoimunosne bolesti, onkološke bolesti)
- 9) nošenje proteza i ortodontskih aparata
- 10) iz istraživanja su bili isključeni svi ispitanici koji ne razumiju narav i svrhu istraživanja te sadržaj informiranog pristanka.

### **3.2. Parametri iz krvi i sline**

Svim ispitanicima uzeo se uzorak krvi za analizu vrijednosti parametara iz krvi (IL-6, KKS, SE, CRP, ukupni IgE, anti-TPO, anti-TG, TSH, T3, T4, ANA, D-dimeri, vitamin D) te uzorak sline za određivanje vrijednosti salivarnog IL-6.

### **3.3. Upitnici**

Validiranim upitnicima u navedenih su bolesnika evaluirani težina KSU-a i utjecaj na kvalitetu života. Riječ je o upitniku o aktivnosti urtikarije (engl. Urticaria Activity Score – UAS7), dnevnom UAS-u, upitniku procjene kontrole bolesti (engl. Urticaria Control Test – UCT), dermatološkom indeksu kvalitete života (engl. Dermatology Life Quality Indeks – DLQI) i upitniku kvalitete života specifičnom za kroničnu urtikariju (engl. Chronic Urticaria Quality of Life Questionnaire – CU-Q2oL).

#### **3.3.1. Upitnik aktivnosti urtikarije (dnevni UAS i UAS7)**

Upitnik aktivnosti urtikarije pokazatelj je težine bolesti i zbroj je koji se temelji na pojavi urtika i svrbeža (odvojeno) na ljestvici bodovanja 0 – 3 boda (dnevni UAS) ili temeljem zbroja tijekom uzastopnih 7 dana (UAS7).

Urtike su se bodovale na sljedeći način: bez urtika (0 bodova), blage (manje od 20 urtika u 24 h, 1 bod), umjerene (od 20 do 50 urtika u 24 h, 2 boda), jako izražene (više od 50 urtika u 24 h, 3 boda).

Bodovanje svrbeža: bez svrbeža (0 bodova), blagi (prisutan svrbež, ali subjektivno ne predstavlja problem, 1 bod), umjeren (svrbež predstavlja problem, ali ne remeti uobičajene dnevne aktivnosti ili spavanje, 2 boda), intenzivan (jak svrbež, remeti uobičajene dnevne aktivnosti ili san, 3 boda).

Zbroj dnevnog UAS-a može iznositi 0 – 6 bodova [0 – nema bolesti; 1 – bolest je dobro kontrolirana; 2 – blaga bolest; 3 do 4 – umjerena bolest; 5 do 6 – jaka bolest (hrvatska verzija bodovanja dnevnog UAS-a) (91)].

Zbroj 7 uzastopnih dana (UAS7) iznosi 0 – 42 boda (1 – 6 bodova ukazuje na dobro kontroliranu bolest; 7 – 15 bodova označuje blagu bolest; 16 – 27 bodova predstavlja srednju težinu bolesti; 28 – 42 boda upućuje na tešku bolest). UAS7 se primjenjuje u rutinskoj kliničkoj praksi za određivanje aktivnosti bolesti i odgovora na liječenje pacijenata sa KSU-om (1).

### **3.3.2. Kontrolni test urtikarije (UCT)**

Kontrolni test urtikarije vrijedan je alat u procjeni stanja bolesti u bolesnika sa KSU-om. UCT utvrđuje razinu kontrole bolesti u svim oblicima KU-a. Upitnik sadržava samo 4 pitanja s jasno definiranom granicom za pacijente s „dobro kontroliranom” nasuprot onih sa „slabo kontroliranom” bolesti te je prikladan za liječenje pacijenata u rutinskoj kliničkoj praksi. Pacijenti odgovaraju na 4 pitanja koja se odnose na protekla 4 tjedna [postavljena su pitanja o tome koliko su česti bili fizički simptomi urtikarije (svrbež, urtike, oticanje), koliko je urtikarija utjecala na kvalitetu života, koliko često lijekovi za urtikariju nisu bili dovoljni za kontrolu simptoma te koliko je uspješno urtikarija bila pod kontrolom]. Na pitanja se može odgovoriti odgovorima: vrlo mnogo (4 boda), mnogo (3 boda), povremeno (2 boda), malo (1 bod), uopće se ne odnosi na mene (0 bodova). Zbroj bodova kreće se od 0 do 16 (pri čemu je granična vrijednost za dobro kontroliranu bolest 12, dok zbroj bodova ispod 12 upućuje na to da KSU nije dobro kontroliran, što pomaže pri donošenju odluka o liječenju (82).

### **3.3.3. Upitnik kvalitete života bolesnika specifičan za kroničnu urtikariju (CU-Q2oL)**

Za procjenu oštećenja/narušenosti kvalitete života u bolesnika sa KSU-om koristan je upitnik kvalitete života kronične urtikarije (CU-Q2oL) koji sadržava 23 pitanja podijeljena u 6 kategorija: (1.) spavanje i koncentracija, (2.) funkcija i mentalni status, (3.) neugodnost i ograničenja u odijevanju, (4.) svrbež, (5.) povezanost s prehranom i nuspojave lijekova te (6.) oteklina. Odgovori na pitanja bodovani su na sljedeći način: vrlo mnogo (4 boda), mnogo (3 boda), malo (2 bod), nimalo (1 bodova) i ne odnosi se na moj slučaj (0 bodova). Zbrajanjem svih odgovora dobiva se ukupni zbroj od 0 do 100 bodova: od 0 do 10 – nema utjecaj na život bolesnika, od 10 do 25 – mali učinak na život, od 25 do 70 – mali učinak na život, od 70 do 90 – vrlo velik učinak na život i od 90 do 100 – iznimno velik učinak na život (1,92).

### **3.3.4. Dermatološki indeks kvalitete života (DLQI)**

Dermatološki indeks kvalitete života nije specifičan za KSU, ali daje mogućnost usporedbe kvalitete života bolesnika sa KSU-om i ostalih kroničnih bolesti kože. DLQI sadržava 10 pitanja u 6 glavnih kategorija: simptomi i osjećaji (pitanja 1 i 2), dnevne aktivnosti (pitanja 3 i 4), slobodno vrijeme (pitanja 5 i 6), posao i škola (pitanje 7), osobni odnosi (pitanja 8 i 9) i liječenje (pitanje 10). Sva se pitanja odnose na tjedan prije testiranja, a uključuju sljedeće odgovore: vrlo mnogo (3 boda), mnogo (2 boda), malo (1 bod), nimalo (0 bodova) i ne odnosi se na moj slučaj (0 bodova). Zbrajanjem svih odgovora dobiva se ukupni zbroj koji ima sljedeće značenje: od 0

do 1 – nema utjecaj na život bolesnika, od 2 do 5 – mali učinak na život bolesnika, od 6 do 10 – umjereni učinak), od 11 do 20 – vrlo velik učinak i od 21 do 30 – iznimno veliki učinak na život bolesnika sa KSU-om (81).

### **3.4. Pregled oralne sluznice**

S obzirom na to da upalne promjene u usnoj šupljini mogu utjecati na varijabilnost promatranih upalnih biomarkera u slini, kod svakog bolesnika sa KSU-om učinjen je pregled oralne sluznice i parodonta koju je proveo spec. oralne medicine radi provjere i isključenja lezija oralne sluznice i parodontitisa. Parodontitis je isključen brzim parodontalnim testom (engl. Periodontal screening and recording – PSR indeks). Svi ispitanici imali su urednu oralnu sluznicu bez patoloških lezija te je isključen parodontitis.

### **3.5. Tijek provođenja studije**

Nakon 3 mjeseca provođenja standardne terapije antihistaminikom izvelo se kontrolno mjerenje (točka T2) i ponovilo se određivanje istih parametara (iz pune krvi: KKS i SE; iz seruma: IL-6, CRP, ukupni IgE, anti-TPO, anti-TG, TSH, T3, T4, ANA, vitamin D; iz plazme: D-dimeri i iz sline: salivarni IL-6) uz određivanje aktivnosti bolesti KSU i narušenosti kvalitete života bolesnika validiranim upitnicima (dnevni UAS, UAS7, DLQI, CU-Q2oL, UCT). Ova prospektivna studija nije imala kontrolnu zdravu skupinu jer su se uključeni pacijenti pratili u dvjema vremenskim točkama (T1 i T2) te su time bili sami sebi kontrola za prognostičku upotrebu ispitivanih biomarkera.

### **3.6. Postupak uzorkovanja sline**

Prema uputama proizvođača reagensa za određivanje IL-6 u slini (Salimetrics®, PA, SAD) provedeno je sakupljanje uzoraka sline. Svakom bolesniku sa KSU-om koji je pristao sudjelovati u ovoj studiji uručena je prilikom pregleda uputa kako da se pripremi za davanje uzorka sline prilikom idućeg posjeta dermatologu. Pri idućem posjetu dermatologu, u jutarnjim satima između 7:30 i 8:00, svakom bolesniku uzet je uzorak sline u dvjema graduiranim polipropilenskim epruvetama za centrifugu od 15 ml s čepom (Falcon®, Corning, NY, SAD) u razmaku od 5 min (intraindividualna varijabilnost).

Uputa za uzorkovanje sline sadržavala je sljedeće:

- 1) ne konzumirajte hranu i ne perite zube 60 minuta prije uzimanja uzorka sline



- 2) suzdržite se od konzumiranja alkohola, kave, pušenja i uzimanja bezreceptnih (OTC) lijekova 12 h prije uzorkovanja
- 3) izbjegavajte hranu s visokim udjelom šećera ili kiselošću ili visokim udjelom kofeina neposredno prije prikupljanja uzorka (mogu ugroziti ispitivanje snižavanjem pH-vrijednosti sline i povećanjem rasta bakterija)
- 4) suzdržite se od intenzivne tjelesne aktivnosti 12 h prije uzorkovanja
- 5) odgodite uzorkovanje u slučaju oštećenja sluznice i/ili infekcije usne šupljine
- 6) 10 minuta prije uzorkovanja sline temeljito isperite usta vodom kako biste uklonili ostatke hrane te kako biste izbjegli razrjeđivanje uzorka prije prikupljanja sline
- 7) uzorkovanje sline izvodi se u vertikalnom, tj. stajaćem položaju
- 8) sakupite cijelu slinu nestimuliranom pasivnom metodom slinjenja/pljuvanja (metoda pasivnog slinjenja: to znači da prilikom sakupljanja sline ispitanici ne upotrebljavaju nikakve materijale za stimulaciju sekrecije sline kako bi se održala konzistentnost prikupljenog uzorka)
- 9) 60 sekundi sakupljajte slinu unutar usne šupljine i zatim lagano nagnite glavu prema naprijed, dopuštajući da se slina slijeva na dno usne šupljine, te potom ispljunite slinu u graduiranu polipropilensku epruvetu za centrifugu od 15 ml s čepom (Falcon®, Corning, NY, SAD) i dobro zatvorite; postupak će se ponavljati daljnjih 5 minuta dok se približno ne sakupi 2 – 2,5 mL sline (pacijentima je vodootpornim crnim markerom na epruveti s čepom označeno do koje se razine očekuje uzorak sline), a potrebne su dvije epruvete s uzorkom sline.

Uzorci koji su vidljivo kontaminirani krvlju isključeni su iz daljnjeg istraživanja. Nakon prikupljanja sline, na obje epruvete zabilježeno je vrijeme i datum prikupljanja uzorka kao i šifra pacijenta.

### **3.6.1. Interindividualna i intraindividualna varijabilnost IL-6 u slini**

S obzirom na očekivanu interindividualnu i intraindividualnu varijabilnost IL-6 u slini (koncentracija IL-6 u slini nije konstantna), izabran je referentni analit amilaza (čija je aktivnost u slini konstantna bez obzira na njezinu koncentraciju) te je izražen relativni omjer salivarnog IL-6 prema salivarnoj amilazi. Na taj su se način tumačili rezultati.

Interindividualna varijabilnost kvantificirala se kao standardna devijacija (SD) salivarnog IL-6 svih ispitanika pri prvom mjerenju (T1).

Intraindividualna varijabilnost izražena je putem intraklasnog korelacijskog koeficijenta i t-testa tako da je ispitanicima tijekom T1 (vrijeme prvog uzorkovanja) dva puta uzet uzorak sline i određen im je IL-6.

### 3.6.2. Određivanje salivarnih biomarkera

Uzorci sline odmah su nakon uzorkovanja uskladišteni na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  u hladnjaku (prikupljeni u razdoblju od studenoga 2021. godine do sredine ožujka 2023. godine). Zatim su u Kliničkom zavodu za kemiju KBC-a *Sestre milosrdnice* krajem ožujka 2023. iz svih uzoraka sline ispitanika sa KSU-om prikupljenih u prvom uzorkovanju (T1) i drugom uzorkovanju (T2) analizirani salivarni biomarkeri (IL-6 i amilaza) 3 mjeseca nakon završetka T1. Klinički zavod za kemiju ima sve prostorne i tehničke uvjete za analizu salivarnih biomarkera (IL-6 i amilaza). Referentne vrijednosti salivarnog IL-6 iznosile su od 0 do 5,37 pg/mL. Prema uputama proizvođača reagensa za amilazu moguće je odrediti vrijednosti amilaze od 3,1 do 423,1 U/L (medijan 92,4 U/L), a za vrijednosti veće od 423,1 U/L predlaže se dilucija te su referentne vrijednosti amilaze preuzete iz studije koju su 2010. proveli Ashok i sur., a iznose od  $27 \pm 3,8$  do  $1440 \pm 160$  U/ml (mjerene u zdravih ispitanika nakon dilucije 1 : 10) (93).

#### 3.6.2.1. Određivanje salivarnog IL-6

Za određivanje salivarnog IL-6 uzorci sline bili su ostavljeni do 30 minuta na sobnoj temperaturi dok se potpuno ne otope. Otopljeni uzorci centrifugirali su se na 3500 okretaja u minuti tijekom 20 minuta u centrifugi (Rotixa 50 RS, Hettich, Njemačka), a dobiveni supernatant upotrebljavao se za određivanje salivarnog IL-6. Prisutnost krvi u slini testirala se vizualnim očitavanjem, no nije bilo kontaminiranih uzoraka koji bi se isključili iz studije. Postupak je izveden prema uputama Salivary Interleukin-6 ELISA Kit (Salimetrics®, PA, SAD) koji sadržava potrebne materijale [mikrotitarska ploča (ploča s jažicama), IL-6 standard, IL-6 kontrole, konjugat IL-6 protutitijela, Streptavidin-HRP, razrjeđivač uzorka IL-6, razrjeđivač za ispitivanje IL-6, otopina supstrata TMB, otopina za zaustavljanje reakcije (engl. *stopping solution*), ljepljivi poklopci za mikrotitarske pločice].

Pritom se učinilo sljedeće: pripremljeni su reagensi i označen je raspored u jažicama (standardi u duplikatu, kontrole, uzorci sline), uzorci sline razrijeđeni su 5 puta u razrjeđivaču za uzorke IL-6 upotrebom 60  $\mu\text{L}$  sline : 240  $\mu\text{L}$  razrjeđivača uz pripremu pufera (dilucija je učinjena u sekundarnim epruvetama volumena 1,5 mL (Eppendorf Research® plus, Hamburg, Njemačka). Zatim je pipetirano 100  $\mu\text{L}$  standarda, kontrole i razrijeđenih uzoraka sline u odgovarajuće jažice (bunariće) te 100  $\mu\text{L}$  razrjeđivača za analizu IL-6 u dvije jažice kao nulti standard te je preko ploče s jažicama postavljen ljepljivi poklopac. Potom se kontinuirano miješala mikrotitarska ploča na 500 okretaja u minuti na automatskom sustavu (VirClia® analizator, Vircell Microbiologists, Granada, Španjolska) tijekom 1 sata na sobnoj temperaturi.

Zatim se ploča s jažicama 4 puta isprala puferom za ispiranje (koji se prije analize pripremio tako da se 100 mL koncentriranog pufera pomiješalo s 900 mL vode, pritom pazeći da nema neotopljenih kristalića pufera) s pomoću automatskog ispiraća ELISA pločica (Hydro flex, Tecan EVA 33986, Euroimmun, Lübeck, Njemačka).

Nakon toga, razrijedio se konjugat protutijela 1 : 500 (dodavanjem 24  $\mu$ L konjugata protutijela u 12 mL razrjeđivača za analizu IL-6) te se po 100  $\mu$ L dobivene otopine dodalo u svaku jažicu s pomoću višekanalne pipete raspona volumena 20 – 200  $\mu$ L (Eppendorf Research<sup>®</sup> plus, Hamburg, Njemačka). Potom se kontinuirano miješala ploča s jažicama na 500 okretaja na automatskom sustavu (VirClia<sup>®</sup> analizator, Vircell Microbiologists, Granada, Španjolska) tijekom 2 sata na sobnoj temperaturi. Zatim se razrijedio Streptavidin-HRP 1 : 100 dodavanjem 120  $\mu$ L Streptavidin-HRP u 12 mL razrjeđivača za analizu IL-6 te se dobivena otopina od 100  $\mu$ L dodala u svaku jažicu s pomoću višekanalne pipete raspona volumena 20 – 200  $\mu$ L (Eppendorf Research<sup>®</sup> plus, Hamburg, Njemačka). Reakcijom biotina i streptavidina pojačava se osjetljivost reakcije. Zatim se kontinuirano miješala ploča s jažicama na 500 okretaja u minuti na automatskom sustavu (VirClia<sup>®</sup> analizator, Vircell Microbiologists, Granada, Španjolska) tijekom 20 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga, dodano je 100  $\mu$ L otopine TMB supstrata u svaku jažicu s pomoću višekanalne pipete raspona volumena 20 – 200  $\mu$ L (Eppendorf Research<sup>®</sup> plus, Hamburg, Njemačka) te se mikrotitarska ploča promiješala tijekom 5 minuta pri 500 okretaja u minuti na automatskom sustavu (VirClia<sup>®</sup> analizator, Vircell Microbiologists, Granada, Španjolska). Zatim je mikrotitarska ploča s jažicama ostavljena u mraku (poklopljena) na sobnoj temperaturi dodatnih 15 minuta.

Potom je dodano 50  $\mu$ L stop otopine višekanalnom pipetom raspona volumena 20 – 200  $\mu$ L (Eppendorf Research<sup>®</sup> plus, Hamburg, Njemačka) i provedeno je miješanje u trajanju od 3 minute pri 500 okretaja u minuti na automatskom sustavu (VirClia<sup>®</sup> analizator, Vircell Microbiologists, Granada, Španjolska). Reakcijom peroksidaze i otopine TMB supstrata stvara se otopljeni obojeni produkt plave boje. Nakon dodavanja stop otopine (zbog promjene pH-vrijednosti otopina) produkt dobiva žutu boju, a 10 minuta od dodavanja stop otopine očitana je apsorbancija pripravljene otopine u jažicama u čitaču ploča na 450 nm uz korekciju sekundarnog filtera (620 – 630 nm) na automatskom sustavu (VirClia<sup>®</sup> analizator, Vircell Microbiologists, Granada, Španjolska).

### 3.6.2.2. Određivanje amilaze u slini

U svrhu određivanja vrijednosti amilaze u slini uzorci sline bili su ostavljeni do 30 minuta na sobnoj temperaturi dok se potpuno ne otope. Otopljeni uzorci centrifugirali su se na 3500 okretaja u minuti tijekom 20 minuta u centrifugi (Rotixa 50 RS, Hettich, Njemačka), a dobiveni supernatant upotrebljavao se za određivanje amilaze u slini. Prisutnost krvi u slini testirala se vizualnim očitavanjem, no nije bilo kontaminiranih uzoraka koji bi se isključili iz studije. Potom su se izvršile sljedeće radnje prema uputama Salivary  $\alpha$ -amylase ELISA Kit (Salimetrics®, PA, SAD) koji sadržava potrebne materijale [supstrat  $\alpha$ -amilaze, kontrole  $\alpha$ -amilaze, razrjeđivač za uzorke  $\alpha$ -amilaze, mikrotitarska ploča]. Postavljen je automatski čitač ELISA pločica (VirClia® analizator, Vircell Microbiologists, Granada, Španjolska) na temperaturu od 37 °C i za očitavanje kinetike mjerenja odabran je filtar od 405 nm. Supstrat je tijekom 20 minuta zagrijavan pri 37 °C.

Uzorci sline razrijeđeni su razrjeđivačem za uzorke prema omjeru 1 : 10 razrjeđivanjem sline pipetiranjem 10  $\mu$ L sline u 90  $\mu$ L razrjeđivača za uzorke  $\alpha$ -amilaze. Potom su se uzorci dodatno razrijedili pipetiranjem 10  $\mu$ L razrjeđenja u omjeru 1 : 10 u 190  $\mu$ L razrjeđivača uzorka te je konačno razrjeđenje bilo u omjeru 1 : 200. Nakon toga, 8  $\mu$ L razrijeđenih uzoraka sline dodalo se u pojedinačne jažice s pomoću tehnike obrnutog pipetiranja (zbog izbjegavanja unošenja mjehurića u jažicu). Zatim se u svaku jažicu dodalo 320  $\mu$ L prethodno zagrijanog (37 °C) supstrata  $\alpha$ -amilaze, istodobno upotrebljavajući višekanalnu pipetu (Eppendorf Research® plus, Hamburg, Njemačka).

Potom se mikrotitarska ploča prenijela u automatski sustav za ELISA (VirClia® analizator, Vircell Microbiologists, Granada, Španjolska) uz miješanje (500 – 600 okretaja u minuti) na 37 °C. Mjerenje apsorpcije, odnosno očitavanje optičke gustoće (OD) provelo se nakon prve minute i nakon treće minute.

### 3.7. Postupak uzorkovanja krvi

Svim ispitanicima prikupljani su uzorci periferne krvi antekubitalnom venepunkcijom u razdoblju od 7:30 do 8:00, natašte. Krv je sakupljena u epruvete (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija). Potom je uslijedilo određivanje parametara. Serumski IL-6 analiziran je na Klinici za onkologiju i nuklearnu medicinu KBC-a *Sestre milosrdnice*, a biokemijska analiza ostalih parametara (iz pune krvi: KKS, SE; iz seruma: CRP, ukupni IgE, TSH, T3, T4, anti-TPO, anti-TG, ANA i vitamin D; iz plazme D-dimeri) provedena je u Kliničkom zavodu za kemiju.

### 3.7.1. Određivanje parametara iz krvi

Za određivanje serumskog citokina IL-6, uzorak krvi uzet je venepunkcijom u epruvetu bez aditiva (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija) te je nakon centrifugiranja dobiven serum. Koncentracija serumskih vrijednosti IL-6 određena je elektrokemiluminiscentnom metodom (ECLIA) na analizatoru Cobas e601 (Roche Diagnostics, Basel, Švicarska) upotrebom specifičnih reagensa (Elecsys: IL-6 100T v2, IL-6 CalSet, multi test s razrjeđivačem, i PreciControl Multimarker). Najprije je uzorak seruma podvrgnut prvoj inkubacijskoj smjesi s IL-6 specifičnim protutijelima, nakon čega je uslijedila druga inkubacija s IL-6 specifičnim protutijelom obilježenog rutenijevim kompleksom kako bi se formirao „sendvič-spoj“. Nakon toga, reakcijska smjesa aspirirala se u mjernu ćeliju gdje se mikročestice magnetski hvataju na površinu elektrode, a napon zatim inducira kemiluminiscentnu emisiju izravno proporcionalnu koncentraciji IL-6. Test ima navedeni mjerni raspon 1,5 – 5000 pg/ml. Za serumski IL-6, referentne vrijednosti koncentracije kreću se od 0 do 7 pg/mL.

Iz uzorka pune krvi koji je uzet venepunkcijom u epruvetu s etilendiamintetraoctenom kiselinom (EDTA) (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija) određivao se KKS, točnije koncentracija i udio bazofila u krvi. Vrijednosti bazofila izražene su kao apsolutni broj i kao postotak od ukupnog broja leukocita, na način da se bazopenija definirala ako je broj bazofila bio manji od  $0,1 \times 10^3$  na  $\text{mm}^3$ .

Iz uzorka pune krvi koji je uzet venepunkcijom u epruvetu s natrijevim citratom (antikoagulans) (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija) mjerene su vrijednosti SE-a s pomoću Westergrenove metode, koja mjeri koliko daleko (u milimetrima) padaju crvena krvna zrnca (zbog gravitacije) prema dnu standardizirane, uspravne, izdužene epruvete tijekom jednog sata. Za interpretaciju nalaza uzete su standardne referentne vrijednosti za SE od 5 do 28 mm/3,6 ks.

Za određivanje CRP-a iz seruma uzorak krvi uzet je venepunkcijom u epruvetu bez aditiva (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija) te je potom centrifugiran kako bi se dobio supernatant (serum) iz kojeg se određivala koncentracija CRP-a. Izmjerena je s pomoću reagensa originalnog proizvođača, uz kemijski analizator Architect c8000 (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, SAD), primjenom imunoturbidimetrijskog testa s lateks aglutinacijom (pritom se, nakon reakcije, prave aglutinanti između CRP-a u uzorku i anti-CRP protutijela adsorbiranih na lateks).

Za interpretaciju vrijednosti uzete su referentne vrijednosti za CRP od 0 do 5 mg/L.

Za određivanje D-dimera uzet je uzorak krvi u epruvetu s natrijevim citratom (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija), a vrijednosti su određene iz plazme s pomoću koagulacijskog analizatora Behring Coagulation System Xpand (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Njemačka). Za interpretaciju vrijednosti uzete su referentne vrijednosti za D-dimer od 0 do 0,5 mg/L.

Za određivanje vitamina D iz seruma uzet je uzorak krvi u epruvetu bez aditiva (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija) koji je potom centrifugiran te se iz seruma odredila vrijednost vitamina D putem komercijalno dostupnog Elecsys® Vitamin D testa s pomoću imunološkog analizatora Cobas e601 (Roche Diagnostics, Basel, Švicarska). Test je predviđen za kvantifikaciju vitamina D na temelju kompetitivne vežuće elektrokemoiluminiscentne tehnike. Raspon detekcije testa je 7,5 – 175 nmol/L 25(OH)D, a osjetljivost testa je 5 nmol 25(OH)D/L. Serumska razina vitamina D koja je manja ili jednaka 25 nmol/L upućuje na manjak vitamina D; od 25 do 49 nmol/L označuje nedovoljnu razinu vitamina D; od 49 do 74 nmol/L označuje dovoljnu razinu vitamina D; a od 75 do 175 nmol/L označuje optimalnu razinu vitamina D.

Za određivanje vrijednosti TSH, T3, T4, anti-TPO i anti-TG uzet je uzorak krvi u epruvete bez aditiva (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija) koji je potom centrifugiran, a iz seruma su izmjerene navedene vrijednosti s pomoću imunološkog analizatora Cobas e601 (Roche Diagnostics, Basel, Švicarska). Za interpretaciju vrijednosti uzete su referentne vrijednosti za TSH od 0,35 do 4,49 mIU/L, T3 od 0,98 do 2,33 nmol/L, T4 od 63 do 151 nmol/L, Anti-TPO do 5,6 kIU/L, Anti-TG do 4,1 kIU/L.

Za određivanje vrijednosti ukupnog IgE-a uzet je uzorak krvi u epruvete bez aditiva (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija) koji je potom centrifugiran, a iz seruma su izmjerene vrijednosti ukupnog IgE-a s pomoću kemiluminiscencije uređajem Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Njemačka). Za interpretaciju vrijednosti uzete su referentne vrijednosti za ukupni IgE do 114 kIU/L.

Za određivanje titra antinuklearnih antitijela (ANA), uzet je uzorak krvi u epruvete bez aditiva (Vaccuette®, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija) koji je potom centrifugiran. Za određivanje se upotrebljavala metoda indirektno imunofluorescencije na HEp-2 stanicama koje su zlatni standard za određivanje antinuklearnih antitijela. Fluorokromom (fluorescein izotiocijanat, FITC) – označeni antihumani Ig konjugat koji se upotrebljava u ANA IIF testu specifičan je za protutijela klase IgG. Za interpretaciju vrijednosti uzete su referentne vrijednosti titra ANA manje od 1 : 160, odnosno za bolesnike sa KSU-om koji su imali titar

ANA jednak ili veći od 1 : 160 smatrano je da imaju autoimunosnu bolest u podlozi kao jedan od mogućih etiopatogenetskih uzroka nastanka KSU-a.

### 3.8. Statističke metode

Normalnost razdiobe podataka provjerena je Kolmogorov-Smirnovljevim i Shapiro-Wilkovljevim testom. Za analizu povezanosti varijabli upotrijebljena je Spearmanova korelacija, uz Cohenove kriterije za interpretaciju:  $r = 0,25 - 0,3 =$  slaba korelacija;  $0,3 - 0,5 =$  umjerena;  $0,5 - 0,7 =$  velika i  $> 0,7 =$  vrlo velika. Za predikciju ovisnosti jedne varijable o drugoj upotrijebljena je linearna regresija. Usporedba serumskih i salivarnih biomarkera između kategorija bolesti provedena je s pomoću Kruskal-Wallisova i Mann-Whitneyjeva testa, a veličina učinka kvantificirana je formulom  $r = Z/\sqrt{N}$  za Mann-Whitneyjev test te formulom  $\varepsilon^2 = H/[(n^2-1)/(n+1)]$ . Fisherov i  $\chi^2$  test upotrijebljeni su za usporedbu frekvencija, a veličina učinka kvantificirana je s pomoću Cramerova  $V$  i  $\tau_b$ . Za interpretaciju veličine efekta upotrijebljeni su graničnici prethodno navedenih Cohenovih kriterija.

Univarijatna i multipla logistička regresija korištene su za analizu prediktora težine kliničke slike KSU-a na temelju biomarkera. Kvantificirani su omjeri izgleda (OR) s 95-postotnim intervalima pouzdanosti (CI). Zbog male veličine uzorka za multiplu regresiju upotrijebljene su samo varijable koje su univarijatnim analizama bile statistički značajne ili granične značajnosti. Testiranje osjetljivosti i specifičnosti svakog biomarkera značajnijeg za procjenu težine kliničke slike načinjeno je s pomoću ROC krivulje. Interindividualna varijabilnost salivarnog IL-6 procijenjena je s pomoću standardne devijacije svih ispitanika u uzorku u prvom očitavanju, a intraindividualna varijabilnost kao prosječna razlika od po dva uzorka od istih ispitanika u istom razdoblju koja je izražena uz standardnu devijaciju i 95 % CI. Kao mjera intraindividualne varijabilnosti upotrijebljen je i intraklasni korelacijski koeficijent te Wilcoxonov test. Usporedba inicijalnih nalaza (T1) i kontrolnih nalaza (T2) izvedena je s pomoću Wilcoxonova testa, a veličina učinka kvantificirana na isti način kao i kod Mann-Whitneyjeva testa.

Analize su napravljene u komercijalnom softveru IBM SPSS v.22.0 (IBM Corp., Armonk, SAD) s razinom značajnosti postavljenom na  $p < 0,05$ .

### 3.9. Etička pitanja

Svi ispitanici dobili su informirani pristanak koji su potpisali nakon čitanja. Istraživanje je odobrilo i Etičko povjerenstvo KBC-a *Sestre milosrdnice*, koje je pismeno izvijestilo da je istraživanje u skladu s principima dobre kliničke prakse. Tako je na 116. redovitoj sjednici,

održanoj 11. studenoga 2021., Etičko povjerenstvo dalo suglasnost za provođenje istraživanja (klasa: 003-06/21-03/036, ur. broj: 251-29-11-21-01-9). Etički odbor Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu je na V. redovitoj sjednici, održanoj 17. veljače 2022. (broj: 05-PA-30-V-2/2022.) također odobrilo provođenje istraživanja.



#### **4. RESULTATI**

#### 4.1. Opis uzorka

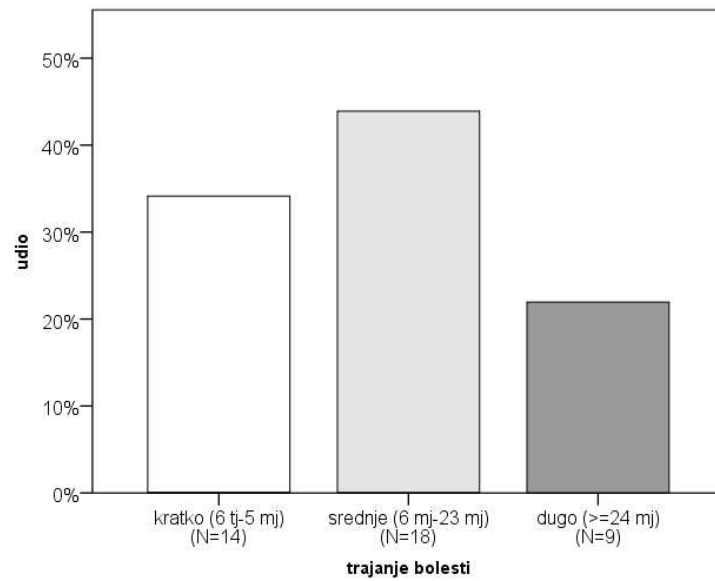
Inicijalni uzorak u inicijalnom mjerenju T1 (vrijeme prvog mjerenja) činio je 41 bolesnik sa KSU-om, od toga 32 žene (78 %) i 9 muškaraca (22 %); starosti od 23 do 79 godina. Karakteristike uzorka prikazane su u tablici 1. U većine bolesnika (44 %) bolest je trajala između 3 i 6 mjeseci (slika 1). Najviše bolesnika imalo je umjereni oblik bolesti (39 %) i mali učinak bolesti na dermatološku kvalitetu života (42 %) (slike 2 i 3). U inicijalnom mjerenju nekontroliranu bolest imalo je 90 % ispitanika, a umjereni učinak urtikarije na život imalo je 43 % bolesnika (slika 4). Samo 5 bolesnika imalo je težak oblik bolesti, a bez urtikarije (u remisiji) bio je jedan (prema skupinama težine UAS7). Samo jedan bolesnik imao je iznimno veliki učinak KSU-a na dermatološku kvalitetu života (temeljem skupina kvalitete života DLQI). Samo dva bolesnika imala su vrlo veliki učinak KSU-a na kvalitetu života specifičan za KU (temeljem skupina kvalitete života CU-Q2oL), a nijedan bolesnik nije imao potpuno kontroliranu bolest (UCT). Stoga su skupine (podijeljene na blagi, umjereni i teški KSU s blago, umjereno ili teško narušenom kvalitetom života bolesnika sa KSU-om) s premalim brojem bolesnika za potrebe statističke analize pridružene susjednim skupinama. U 22 % bolesnika utvrđena je autoimunosna podloga bolesti (određena titrom ANA-e jednakim ili većim od 1 : 160). Prospektivnim praćenjem bolesnika sa KSU-om, iz istraživanja je nakon 3 mjeseca praćenja otpalo 32 % bolesnika te je u vremenu T2 (vrijeme drugog mjerenja) bilo ukupno 28 bolesnika sa KSU-om.

Tablica 1. Opis uzorka bolesnika sa KSU-om

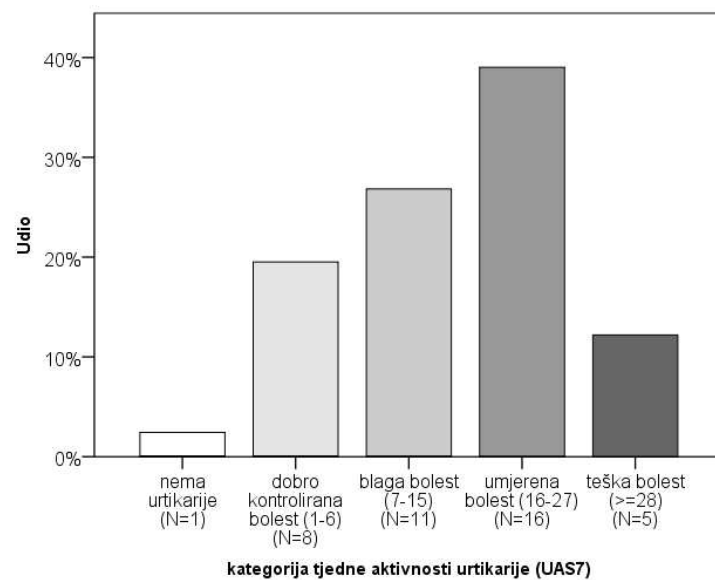
Varijabla	N	prosjeak ± SD	medijan	IKR	min	Max
trajanje bolesti (mj.)	41	12,2 ± 12,8	7	5 – 11,5	2	64
dnevni UAS	41	2,1 ± 1,9	2	0 – 3,5	0	6
UAS7	41	15,7 ± 10,0	16	7,5 – 23,5	0	39
DLQI	41	6,6 ± 5,5	5	2,5 – 9	0	24
CU-Q2O1	35	29,9 ± 20,3	23	15 – 47	0	85
UCT	41	8,2 ± 2,6	9	6 – 10	3	14
serumski IL-6 (pg/mL)	40	3,6 ± 2,9	2,6	1,8 – 4,4	1,5	12,8
salivarni IL-6 (pg/mL)	41	28,4 ± 28,7	16,4	10,1 – 35,2	0,4	104,7
omjer salivarnog IL-6 i amilaze	41	0,71 ± 1,07	0,35	0,15 – 0,80	0,02	6,08
CRP (mg/L)	41	3,0 ± 3,5	1,5	0,7 – 3,7	0,2	14,0

vitamin D (nmol/L )	41	60,3 ± 24,3	61,0	43,5 – 72,5	23,0	113,0
udio bazofila u krvi (%)	41	0,66 ± 0,36	0,50	0,35 – 0,80	0,0	1,7
koncentracija bazofila u krvi (x 10 <sup>9</sup> /L)	41	0,03 ± 0,4	0,00	0,00 – 0,09	0,00	0,10
SE (mm/3,6 ks)	41	8,9 ± 6,9	6,0	4,0 – 12,5	2,0	28,0
D-dimeri (mg/L)	39	0,48 ± 0,48	0,32	0,21 – 0,54	0,10	2,73
ukupni IgE (kIU/L)	41	203,1 ± 396,7	94,0	18,5 – 171,0	3,0	2292,0
TSH (mIU/L)	40	2,23 ± 1,42	1,69	1,19 – 2,93	0,65	5,85
T3 (nmol/L)	41	1,81 ± 0,72	1,68	1,42 – 1,88	1,21	5,20
T4 (nmol/L)	41	91,0 ± 27,4	95,0	81,5 – 106,0	11,1	139,7
anti-TPO (kIU/L)	40	32,9 ± 129,8	1,8	0,7 – 11,6	0,5	819,0
anti-TG (kIU/L)	41	24,3 ± 107,3	0,9	0,7 – 2,3	0,3	677,3

N – broj bolesnika sa KSU-om, SD – standardna devijacija, IKR – interkvartilni raspon (25 – 5 percentila), min – minimalna vrijednost, max – maksimalna vrijednost u uzorku, mj. – mjeseci  
 Skraćenice: dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana; DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, CU-Q2oL – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju, UCT – kontrolni test urtikarije, IL-6 – interleukin 6, CRP – C-reaktivni protein, SE – sedimentacija eritrocita, IgE – imunoglobulin E, TSH – hormon koji stimulira štitnjaču, T3 – trijodtironin, T4 – tiroksin, anti-TPO – antitijela na tireoidnu peroksidazu, anti-TG – antitijela na tireoglobulin.

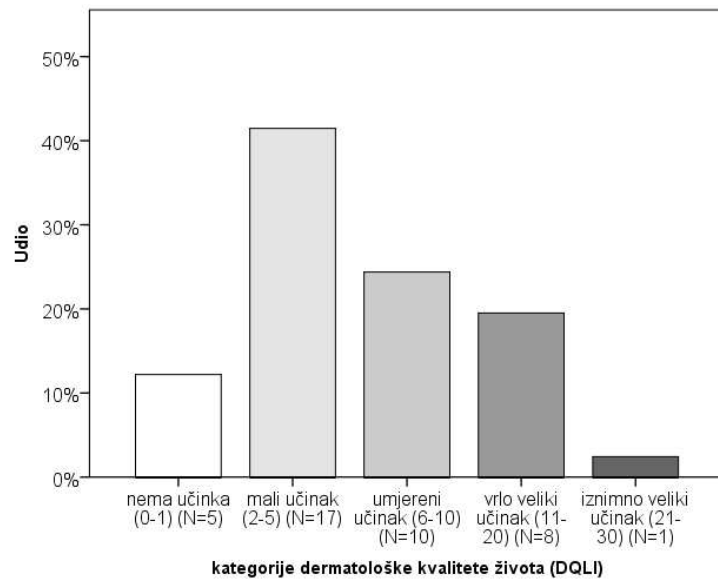


Slika 1. Raspodjela udjela bolesnika sa KSU-om (izražen postotkom) prema trajanju bolesti  
N – broj bolesnika sa KSU-om, tj. – tjedni, mj. – mjeseci



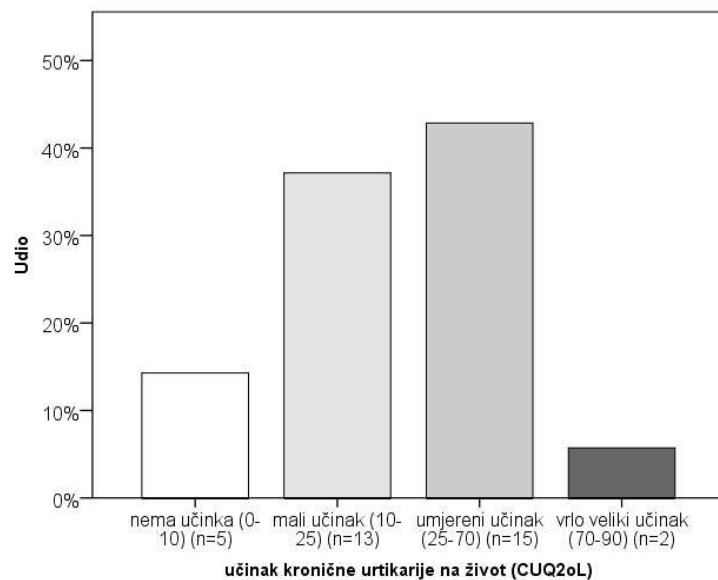
Slika 2. Raspodjela udjela skupina bolesnika sa KSU-om (izražen postotkom) prema tjednoj aktivnosti KSU-a (mjerenoj upitnikom UAS7)

N – broj bolesnika sa KSU-om



Slika 3. Raspodjela udjela bolesnika sa KSU-om (izražen postotkom) prema različitom utjecaju KSU-a na dermatološku kvalitetu života (mjerenu upitnikom DLQI)

N – broj bolesnika sa KSU-om



Slika 4. Raspodjela udjela skupina bolesnika sa KSU-om (izražen postotkom) prema stupnjevima učinka KSU-a na kvalitetu života kod kronične urtikarije (mjerenu upitnikom CUQ2oL)

N – broj bolesnika sa KSU-om

#### 4.2. Analiza varijabilnosti salivarnog IL-6

Interindividualna varijabilnost bila je velika [29,2 i 29,5 pg/mL za prvo (T1) i drugo mjerenje (T2)]. Prosječna intraindividualna varijabilnost bila je mala, ali je bilo prisutno nešto veće raspršenje (prosječna razlika dvaju očitavanja  $-1,3 \pm 11,9$  pg/mL; 95-postotni interval pouzdanosti (CI)  $-5,1 - 2,5$ ). Wilcoxonov test pokazao je da nema znatnih razlika između prvog i ponovljenog mjerenja (tablica 2). Intraklasni korelacijski koeficijent bio je visok i iznosio  $r = 0,918$  (95 % CI  $0,852 - 0,955$ ;  $p < 0,001$ ), što potvrđuje dobru ponovljivost.

Tablica 2. Rezultati procjene varijabilnosti koncentracije salivarnog IL-6 u bolesnika sa KSU-om

Varijabla	prosjek $\pm$ SD	medijan (IKR)	min – max	p*
salivarni IL-6 (pg/mL) uzorak 1	27,7 $\pm$ 29,2	17,4 (9,2 – 34,1)	0,4 – 106,1	
salivarni IL-6 (pg/mL) uzorak 2	29,0 $\pm$ 29,5	18,2 (10,7 – 35,0)	0,4 – 109,5	
razlika (uzorak 1 – uzorak 2)	1,3 $\pm$ 11,9	-1,0 (-6,1 – 5,3)	-42,5 – 21,0	0,633

\*Wilcoxonov test za parove, SD – standardna devijacija, IKR – interkvartilni raspon, min – minimalna vrijednost, max – maksimalna vrijednost u uzorku, uzorak 1 – salivarni IL-6 mjeren u prvom mjerenju (T1), uzorak 2 – salivarni IL-6 mjeren u kontrolnom mjerenju (T1)  
Skracenicna: IL-6 – interleukin 6.

#### 4.3. Povezanost između težine kliničke slike KSU-a i koncentracije IL-6 u slini i serumu bolesnika sa KSU-om

Vrijednosti serumskog i salivarnog IL-6 nisu linearno korelirale s težinom kliničke slike KSU-a (ni u jednom upitniku) (tablica 3). Razina serumskog i salivarnog IL-6 te omjer salivarnog IL-6 i salivarne amilaze nisu se znatno razlikovali među skupinama bolesti KSU-a (nema urtikarije; blaga, umjerena ili teška bolest), ni kada su skupine bile dihotomizirane (slike 5 – 9, tablica 4). Vrijednosti serumskog IL-6 uglavnom su bile u referentnom rasponu ( $\leq 7$  pg/mL),

tek 4 bolesnika imala su povećane vrijednosti serumskog IL-6. Salivarni IL-6 uglavnom je bio povećan ( $\geq 5,37$  pg/mL), a tek je kod 3 bolesnika bio u referentnom rasponu.

Kada su razine salivarnog i serumskog IL-6 dihotomizirane (uspoređen je referentni raspon te povećane vrijednosti s dihotomiziranim kategorijama bolesti), razlike također nisu bile statistički značajne. Ipak, serumski IL-6 češće je bio povećan kod umjerenog ili teškog KSU-a nego kod odsutnog ili blagog KSU-a [procijenjeno dnevnim UAS-om (23 % vs. 4 %) i upitnikom UAS7 (15 % vs. 5 %)]. Također je serumski IL-6 češće bio povećan u slučajevima umjerenog ili velikog učinka na narušenost dermatološke kvalitete života u odnosu na slučajeve bez učinka ili malog učinka procijenjenog upitnikom DLQI (16 % vs. 5 %). Serumске vrijednosti nikad nisu bile povećane kod dobro kontroliranog KSU-a u odnosu na nekontroliranu bolest mjerenu upitnikom UCT (0 vs. 11%). Pri mjerenju upitnikom CU-Q2oL također nije bilo razlike u vrijednosti IL-6 između kontroliranog i nekontroliranog KSU-a.

Tablica 3. Spearmanove korelacije između salivarnog i serumskog IL-6 i težine kliničke slike KSU-a u T1 (vrijeme prvog mjerenja)

Varijabla	dnevni UAS	UAS7	DLQI	CU-Q2oL	UCT	serumski IL-6	salivarni IL-6	omjer salivarnog IL-6 i amilaze
dnevni UAS	1	<b>0,620</b>	<b>0,493</b>	<b>0,518</b>	<b>-0,340</b>	0,114	-0,034	-0,049
r								
p	/	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,03</b>	0,483	0,832	0,763
N	41	41	41	35	41	40	41	41
UAS7	<b>0,620</b>	1	<b>0,776</b>	<b>0,608</b>	<b>-0,673</b>	0,087	-0,16	-0,112
r								
p	<b>&lt;0,001</b>	/	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,594	0,316	0,484
N	41	41	41	35	41	40	41	41
DLQI	<b>0,493</b>	<b>0,776</b>	1	<b>0,838</b>	<b>-0,669</b>	0,135	-0,166	-0,033
r								
p	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	/	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,405	0,3	0,84
N	41	41	41	35	41	40	41	41
CU-Q2oL	<b>0,518</b>	<b>0,608</b>	<b>0,838</b>	1	<b>-0,558</b>	0,16	-0,179	0,108
r								
p	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	/	<b>&lt;0,001</b>	0,366	0,304	0,538
N	35	35	35	35	35	34	35	35

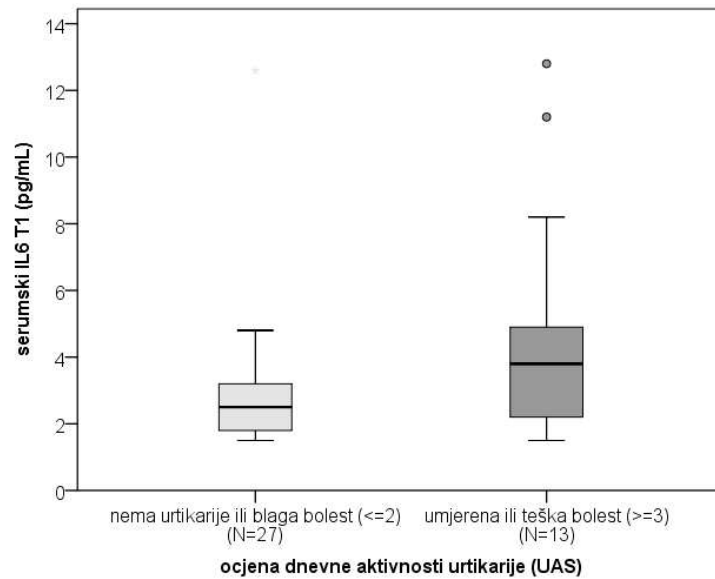
UCT	r	<b>-0,340</b>	<b>-0,673</b>	<b>-0,669</b>	<b>-0,558</b>	1	-0,068	0,068	-0,057
	p	<b>0,03</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	/	0,678	0,673	0,724
	N	41	41	41	35	41	40	41	41
serumski		0,114	0,087	0,135	0,16	-0,068	1	0,047	-0,022
IL-6	r								
	p	0,483	0,594	0,405	0,366	0,678	/	0,773	0,891
	N	40	40	40	34	40	40	40	40
salivarni		-0,034	-0,16	-0,166	-0,179	0,068	0,047	1	<b>0,597</b>
IL-6	r								
	p	0,832	0,316	0,3	0,304	0,673	0,773	/	<b>&lt;0,001</b>
	N	41	41	41	35	41	40	41	41
Omjer	r	-0,049	-0,112	-0,033	0,108	-0,057	-0,022	<b>0,597</b>	1
salivarnog	p	0,763	0,484	0,84	0,538	0,724	0,891	<b>&lt;0,001</b>	/
IL-6 i		41	41	41	35	41	40	41	41
amilaze	N								

p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om

Skraćenice: dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, CU-Q2ol – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju, UCT – kontrolni test urtikarije, IL-6 – interleukin 6.

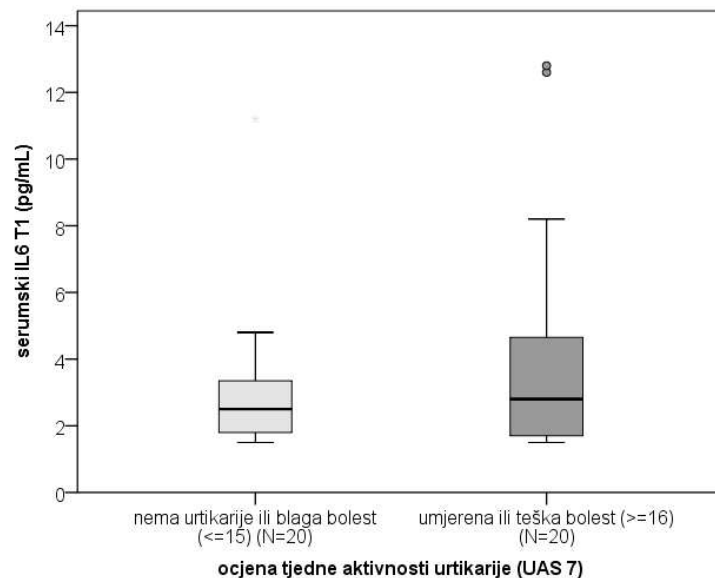
Vrijednosti salivarnog IL-6 (prosjeak rezultata mjerenja dvaju uzoraka sline) u inicijalnom mjerenju (T1) bile su nešto češće povećane kod blagog nego kod umjerenog ili teškog KSU-a (mjereno upitnikom UAS7) (95 % vs. 91 %), te nešto češće povećane u bolesnika s manjim učinkom na narušenost dermatološke kvalitete života nego u bolesnika s umjerenim ili velikim učinkom na narušenost dermatološke kvalitete života mjerenu upitnikom DLQI (96 % vs. 90 %). Vrijednosti salivarnog IL-6 u inicijalnom mjerenju (T1) češće su bile povećane u bolesnika s velikim učinkom na narušenost kvalitete života nego u onih s umjerenim učinkom na narušenost kvalitete života specifične za KU mjerene upitnikom CU-Q2oL (94 % vs. 88 %), te su veće vrijednosti izražene kod nekontroliranog nego kod dobro kontroliranog KSU-a mjereno upitnikom UCT (95 % vs. 75 %). Ipak, pritom nije bilo statistički značajne razlike između tih parametara i mali broj ispitanika imao je vrijednosti salivarnog IL-6 u referentnom rasponu (N = 3).





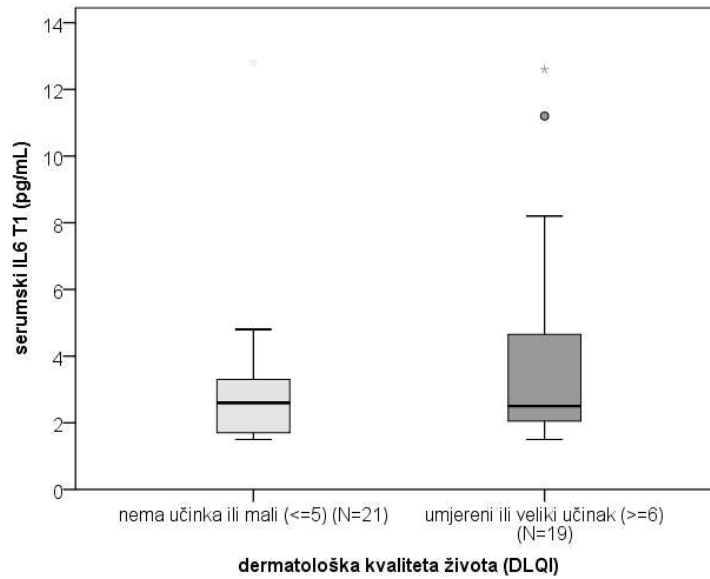
Slika 5. Usporedba koncentracije serumskog IL-6 (izražena mjernom jedinicom pg/mL) u skupini bolesnika sa KSU-om prema težini bolesti mjerene dnevnim UAS-om u T1 (vrijeme prvog mjerenja) ( $p = 0,191$ )

N – broj bolesnika sa KSU-om, p – razina statističke značajnosti



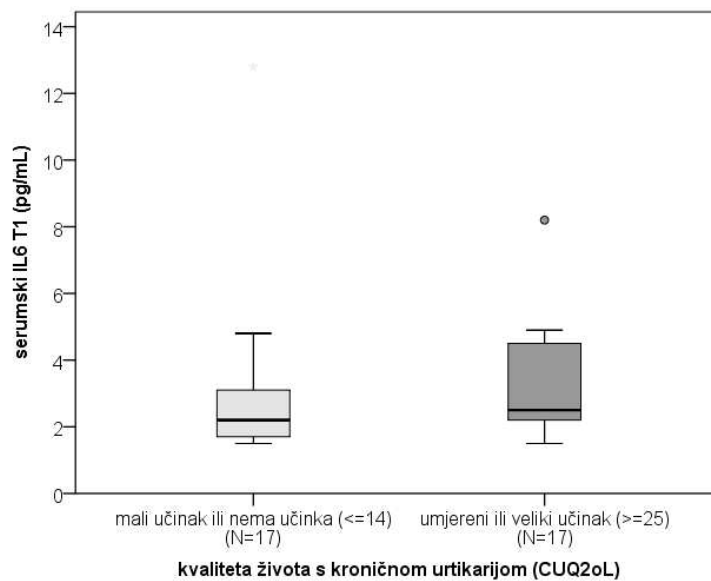
Slika 6. Usporedba koncentracije serumskog IL-6 (izražena mjernom jedinicom pg/mL) u skupini bolesnika sa KSU-om prema težini bolesti mjerene upitnikom UAS7 u T1 (vrijeme prvog mjerenja) ( $p = 0,414$ )

N – broj bolesnika sa KSU-om, p – razina statističke značajnosti



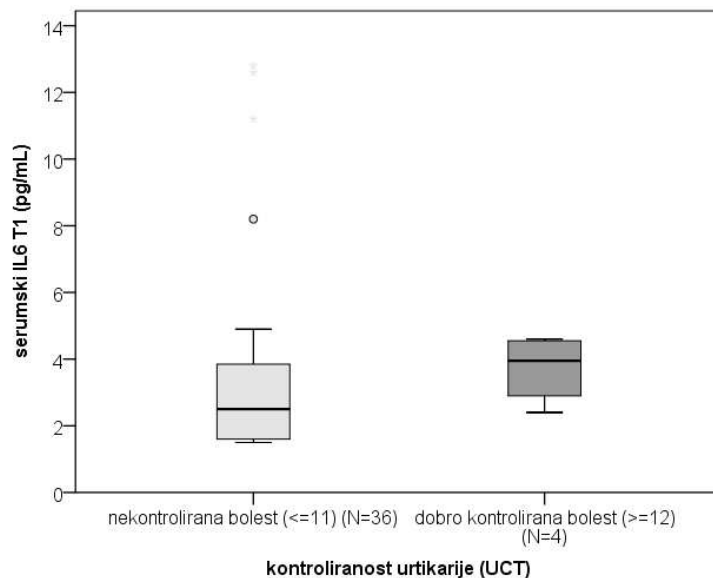
Slika 7. Usporedba koncentracije serumskog IL-6 (izražena mjernom jedinicom pg/mL) u skupini bolesnika sa KSU-om prema težini bolesti mjerene upitnikom DLQI u T1 (vrijeme prvog mjerenja) ( $p = 0,361$ )

N – broj bolesnika sa KSU-om, p – razina statističke značajnosti



Slika 8. Usporedba koncentracije serumskog IL-6 (izražena mjernom jedinicom pg/mL) u skupini bolesnika sa KSU-om prema težini bolesti mjerene upitnikom CU-Q2oL u T1 (vrijeme prvog mjerenja) ( $p = 0,445$ )

N – broj bolesnika sa KSU-om, p – razina statističke značajnosti



Slika 9. Usporedba koncentracije serumskog IL-6 (izražena mjernom jedinicom pg/mL) u skupini bolesnika sa KSU-om prema kontroli KSU-a mjereno UCT-om u T1 (vrijeme prvog mjerenja) ( $p = 0,191$ )

N – broj bolesnika sa KSU-om, p – razina statističke značajnosti

Tablica 4. Usporedba salivarnog IL-6 i omjera salivarnog IL-6 i amilaze u skupini bolesnika prema težini KSU-a

varijabla i kategorija	salivarni IL-6 medijan (IKR)	omjer salivarnog IL-6 i amilaze medijan (IKR)
<b>dnevni UAS</b>		
nema urtikarije ili blagi KSU ( $\leq 2$ )	21,4 (10,9 – 40,0)	0,35 (0,20 – 0,69)
umjereni ili teški KSU ( $\geq 3$ )	14,2 (9,7 – 32,3)	0,35 (0,10 – 1,28)
p (r)	0,458 (-0,116)	0,934 (-0,013)
<b>UAS7</b>		
nema urtikarije ili blagi KSU ( $\leq 15$ )	19,1 (9,3 – 94,5)	0,38 (0,23 – 0,83)
umjereni ili teški KSU ( $\geq 16$ )	15,0 (10,1 – 28,4)	0,32 (0,12 – 0,93)
p (r)	0,514 (0,080)	0,481 (0,075)

DLQI		
nema učinka ili je malen ( $\leq 5$ )	19,8 (11,4 – 40,2)	0,38 (0,23 – 0,67)
umjereni ili veliki učinak ( $\geq 6$ )	13,7 (10,0 – 26,3)	0,32 (0,10 – 1,17)
p (r)	0,296 (0,046)	0,403 (0,063)
UCT		
nekontrolirani KSU ( $\leq 11$ )	16,4 (10,5 – 35,2)	0,36 (0,15 – 0,80)
dobro kontrolirani KSU ( $\geq 12$ )	16,0 (5,6 – 58,5)	0,31 (0,13 – 1,46)
p (r)	0,568 (0,089)	0,860 (0,134)
CU-Q2oL		
nema učinka ili je malen ( $\leq 14$ )	19,8 (12,0 – 40,2)	0,36 (0,15 – 0,62)
umjereni ili veliki učinak ( $\geq 25$ )	13,4 (9,3 – 52,4)	0,45 (0,16 – 1,36)
p (r)	0,509 (0,086)	0,717 (0,121)

p – razina statističke značajnosti temeljem Mann-Whitneyjeva testa, r – veličina učinka, IKR – interkvartilni raspon

Skraćenice: IL-6 – interleukin 6, KSU – kronična spontana urtikarija, dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, UCT – kontrolni test urtikarije, CU-Q2oL – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju.

#### 4.4. Povezanost između trajanja KSU-a, težine bolesti, kvalitete života i kontrole bolesti

Trajanje KSU-a nije linearno koreliralo s težinom bolesti, kvalitetom života i kontrolom bolesti (tablica 5). Nije bilo značajnih razlika ni između triju skupina bolesnika prema trajanju bolesti (kratko  $\leq 5$  mj.; srednje 6 – 23 mj. te dugo  $\geq 4$  mj.; slike 10 – 14). Također među skupinama bolesnika nije bilo znatnih razlika prema trajanju bolesti ni pri usporedbi kategorija kvalitete života u bolesnika sa KSU-om te težine i kontrole KSU-a.

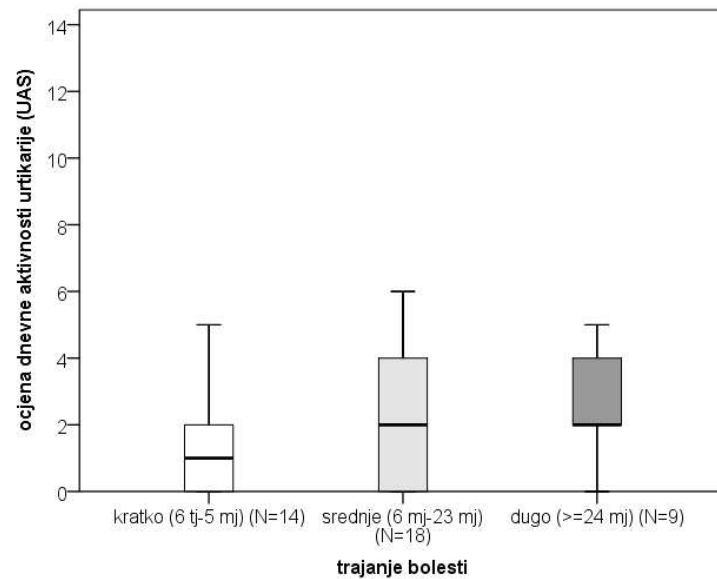
Tablica 5. Spearmanove korelacije trajanja bolesti do trenutka mjerenja salivarnih i serumskih biomarkera s težinom KSU-a, njegovom kontrolom i kvalitetom života bolesnika sa KSU-om

varijabla		trajanje bolesti (mj.)	dnevni		CU-		
			UAS	UAS7	DLQI	Q2oL	UCT
trajanje	r	1	0,259	0,073	-0,067	-0,088	0,191
bolesti (mj.)	p	/	0,101	0,649	0,679	0,616	0,231

	N	41	41	41	41	35	41
dnevni UAS	r	0,259	1	<b>0,620</b>	<b>0,493</b>	<b>0,518</b>	<b>-0,340</b>
	p	0,101	/	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,030</b>
	N	41	41	41	41	35	41
UAS7	r	0,073	<b>0,620</b>	1	<b>0,776</b>	<b>0,608</b>	<b>-0,673</b>
	p	0,649	<b>&lt; 0,001</b>	/	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
	N	41	41	41	41	35	41
DLQI	r	-0,067	<b>0,493</b>	<b>0,776</b>	1	<b>0,838</b>	<b>-0,669</b>
	p	0,679	<b>0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	/	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
	N	41	41	41	41	35	41
CU-Q2oL	r	-0,088	<b>0,518</b>	<b>0,608</b>	<b>0,838</b>	1	<b>-0,558</b>
	p	0,616	<b>0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	/	<b>&lt; 0,001</b>
	N	35	35	35	35	35	35
UCT	r	0,191	<b>-0,340</b>	<b>-0,673</b>	<b>-0,669</b>	<b>-0,558</b>	1
	p	0,231	<b>0,03</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	/
	N	41	41	41	41	35	41

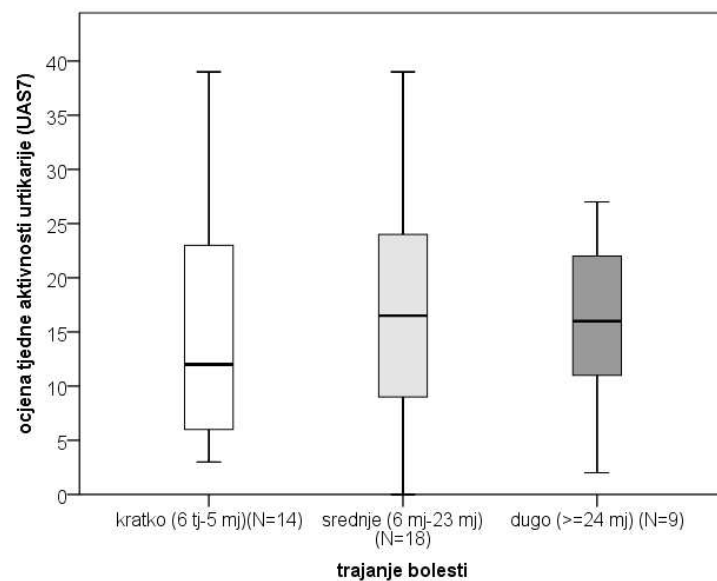
p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om, mj. – mjeseci

Skraćenice: dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, CU-Q2oL – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju, UCT – kontrolni test urtikarije.



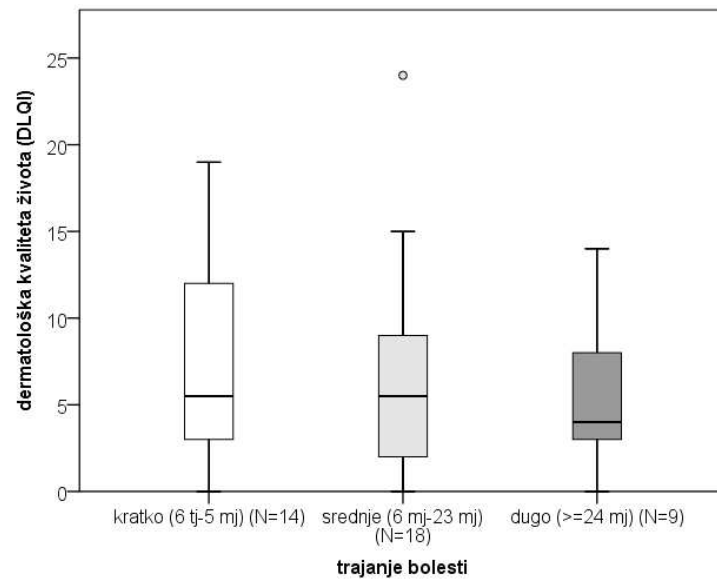
Slika 10. Usporedba dnevne aktivnosti KSU-a između skupina bolesnika sa KSU-om (mjerene upitnikom dnevni UAS) prema trajanju bolesti ( $p = 0,364$ )

N – broj bolesnika sa KSU-om, tj. – tjedni, mj. – mjeseci, p – razina statističke značajnosti



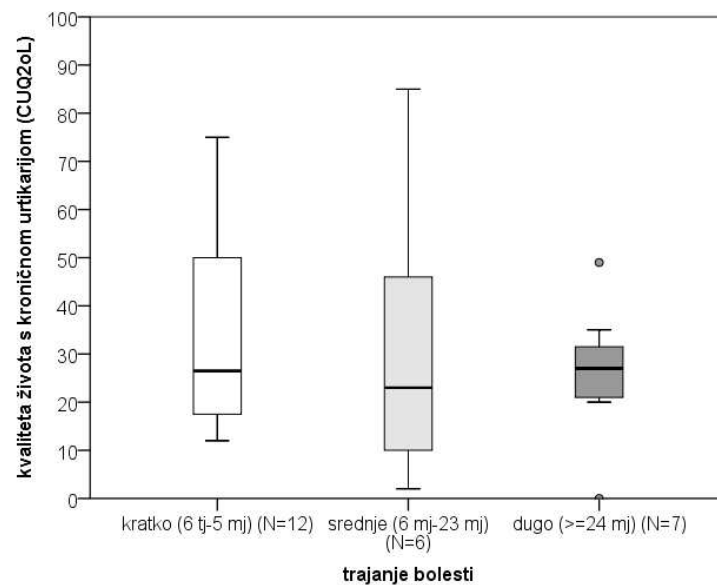
Slika 11. Usporedba tjedne aktivnosti KSU-a (mjerene upitnikom UAS7) između skupina bolesnika sa KSU-om prema trajanju bolesti ( $p = 0,874$ )

N – broj bolesnika sa KSU-om, tj. – tjedni, mj. – mjeseci, p – razina statističke značajnosti



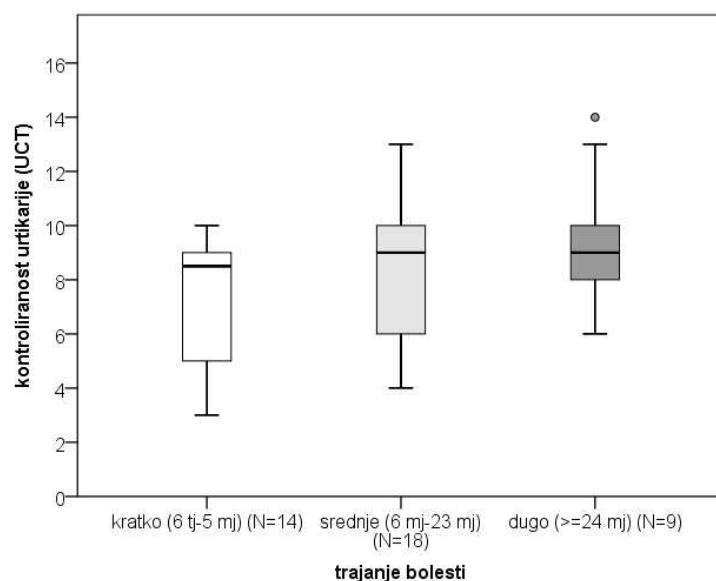
Slika 12. Usporedba narušenosti dermatološke kvalitete života (mjerene upitnikom DLQI) između skupina bolesnika sa KSU-om prema trajanju bolesti ( $p = 0,838$ )

N – broj bolesnika sa KSU-om, tj. – tjedni, mj. – mjeseci, p – razina statističke značajnosti



Slika 13. Usporedba narušenosti kvalitete života zbog kronične urtikarije između skupina bolesnika sa KSU-om (mjerene upitnikom CU-Q2oL ) prema trajanju bolesti ( $p = 0,753$ )

N – broj bolesnika sa KSU-om, tj. – tjedni, mj. – mjeseci, p – razina statističke značajnosti

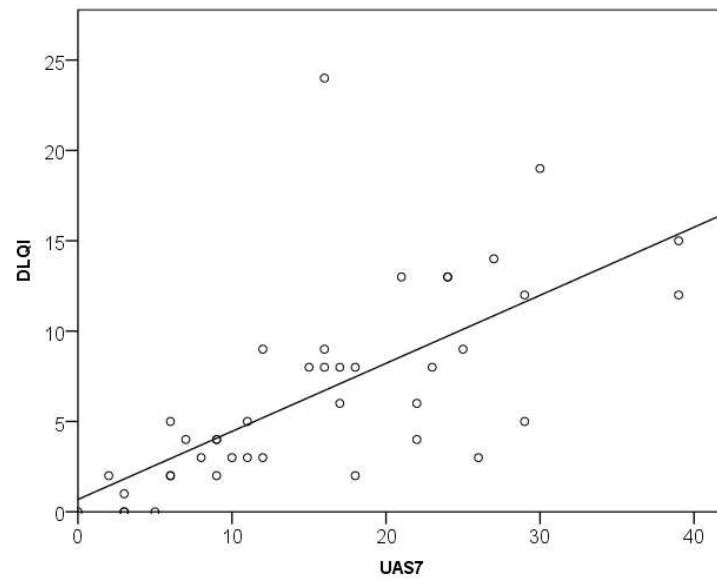


Slika 14. Usporedba kontrole KSU-a (mjerene upitnikom UCT) između skupina bolesnika sa KSU-om prema trajanju bolesti ( $p = 0,391$ )

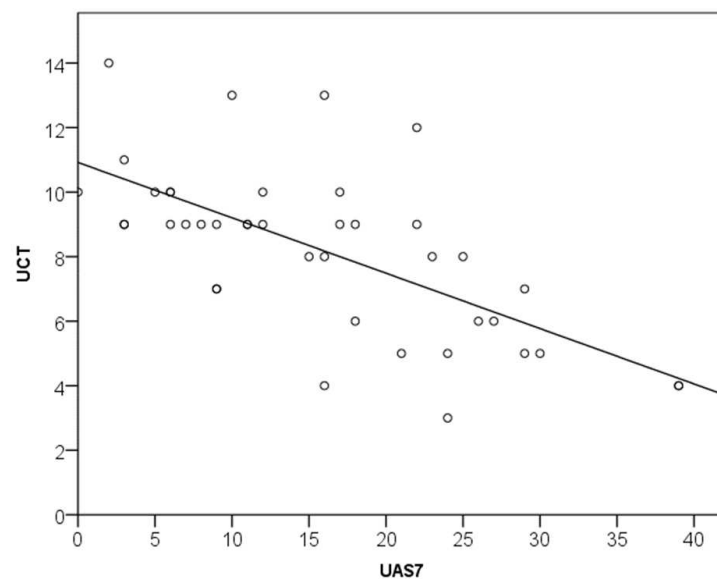
N – broj bolesnika sa KSU-om, tj. – tjedni, mj. – mjeseci, p – razina statističke značajnosti

Statistički značajna razlika uočena je pri međusobnoj korelaciji (u rasponu od umjerene do vrlo velike) kada se analizirala težina KSU-a, kontrola bolesti, dermatološka kvaliteta života i kvaliteta života specifična za kroničnu urtikariju ( $r = -0,340 - 0,838$ ;  $p \leq 0,030$ ; tablica 5). Najsnažnija korelacija utvrđena je između dermatološke kvalitete života i kvalitete života specifično za KU (pozitivna), a slabija korelacija između kontrole bolesti i dnevne aktivnosti bolesti (linearna negativna). Težina bolesti bolje je korelirala s narušenom dermatološkom kvalitetom života (DLQI) nego kontrolom bolesti, a kontrola bolesti bolje je korelirala s težinom bolesti nego s narušenom dermatološkom kvalitetom života (DLQI). Narušena dermatološka kvaliteta života (DLQI) bolje je korelirala s težinom bolesti nego s kontrolom bolesti. Prema regresijskoj jednadžbi  $y = 0,7 + 0,4x$ , za svaki skalarni bod povećanja težine bolesti raste njezin utjecaj na narušenu dermatološku kvalitetu života za 0,4 skalarna boda (slika 15). Prema regresijskoj jednadžbi  $y = 10,9 - 0,2x$ , za svaki skalarni bod povećanja aktivnosti bolesti smanjuje se njezina kontrola za 0,2 skalarna boda (slika 16).





Slika 15. Povezanost tjedne aktivnosti KSU-a (mjerene upitnikom UAS7) s utjecajem na narušenu dermatološku kvalitetu života bolesnika sa KSU-om (mjerenu upitnikom DLQI)

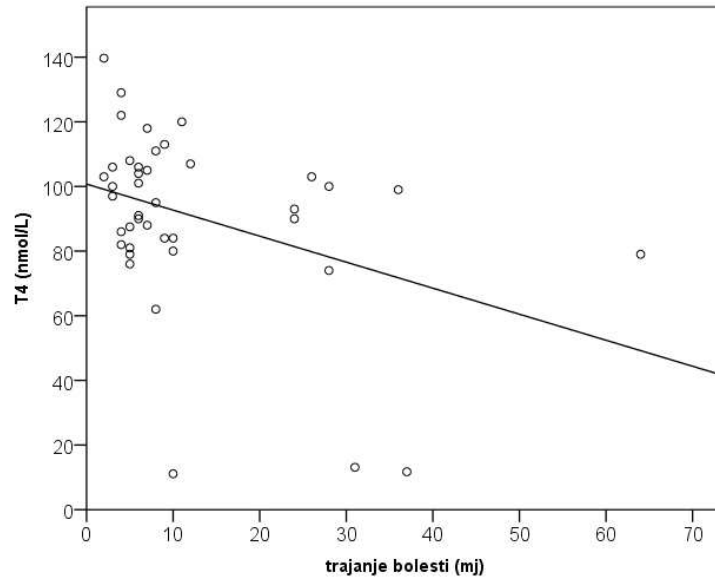


Slika 16. Povezanost tjedne aktivnosti KSU-a (mjerene upitnikom UAS7) s kontrolom KSU-a (mjerene upitnikom UCT)

#### **4.5. Povezanost serumskih biomarkera s trajanjem, težinom i kontrolom KSU-a te kvalitetom života bolesnika sa KSU-om**

Razine svih serumskih parametara (IL-6, KKS, SE, CRP, TSH, T3, T4, anti-TPO, anti-TG, D-dimeri, D-vitamin) nisu se razlikovale između kategorija trajanja bolesti. Od serumskih biomarkera samo je hormon štitnjače tiroksin 4 (T4) bio statistički značajno ovisan o trajanju

bolesti, a korelacija je bila linearna, negativna i slaba ( $r = -0,328$ ;  $p = 0,036$ ; tablica 6; slika 17). Tako se porastom dužine trajanja bolesti smanjivala vrijednost hormona T4. Prema regresijskoj jednadžbi  $y = 101 - 0,81x$ , porastom dužine trajanja bolesti za 1 mjesec smanjuje se razina T4 za 0,81 nmol/L.



Slika 17. Ovisnost koncentracije hormona štitnjače tiroksina T4 (izražene mjernom jedinicom nmol/L) o trajanju KSU-a (izraženo u mjesecima) ( $p = 0,036$ )

mj. – mjeseci, p – razina statističke značajnosti

Koncentracija bazofila bila je statistički značajno povezana s aktivnosti bolesti mjerenom dnevnim UAS-om ( $r = -0,475$ ;  $p = 0,002$ ; slika 18), korelacija je bila linearna i negativna, ali nije bila povezana s aktivnosti bolesti mjerenom upitnikom UAS7. Povećanjem koncentracije bazofila u krvi za  $1 \times 10^9/L$ , dnevna aktivnost urtikarije (mjerena dnevnim UAS-om) smanjuje se za 18,6 skalarnih bodova ( $y = 2,7 - 18,6x$ ; tablica 6; slika 18).

Također, koncentracija bazofila bila je statistički značajno povezana s narušenom dermatološkom kvalitetom života bolesnika sa KSU-om mjerenom upitnikom DLQI ( $r = -0,358 - (-0,359)$ , korelacija je bila linearna i negativna;  $p \leq 0,034$ ; tablica 6; slika 19), no nije bila povezana s kontrolom bolesti mjerenom upitnikom UCT.

Bazofili bi mogli biti biomarkeri za narušenost dermatološke kvalitete života (mjerene upitnikom DLQI) uz sljedeći izračun: povećanjem koncentracije bazofila u krvi za  $1 \times 10^9/L$ , narušenost dermatološke kvalitete života smanjuje se za 33,3 skalarna boda ( $y = 7,7 - 33,3x$ ; tablica 6; slika 19).

Povezanost koncentracije bazofila s narušenom kvalitetom života specifičnom za KU (mjerenom upitnikom CU-Q2oL) bila je veća nego povezanost udjela bazofila u krvi s narušenom kvalitetom života specifičnom za KU (mjerenom upitnikom CU-Q2oL) ( $r = -0,385$  i  $r = -0,359$ ;  $p \leq 0,023$ ; tablica 6; slika 20), a korelacija je bila statistički značajna, linearna, negativna i umjerena. S porastom aktivnosti bolesti i narušenosti kvalitete života specifične za KU (mjerene upitnikom CU-Q2oL), smanjuje se koncentracija bazofila u krvi.

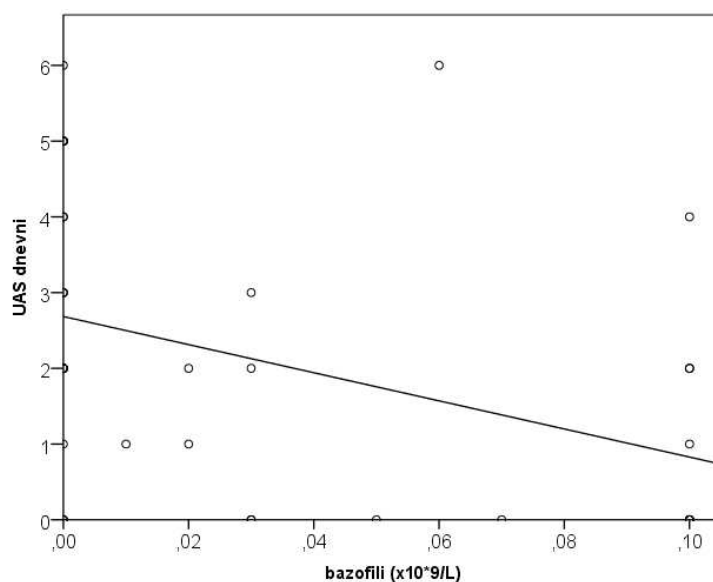
Tablica 6. Povezanost trajanja, težine i kontrole KSU-a te narušene kvalitete života sa serumskim biomarkerima u bolesnika sa KSU-om

Varijabla		trajanje bolesti (mj.)	dnevni UAS	UAS7	DLQI	CU-Q2oL	UCT
CRP (mg/L)	r	-0,022	-0,06	0,195	0,303	0,309	-0,198
	p	0,894	0,709	0,221	0,054	0,071	0,215
	N	41	41	41	41	35	41
vitamin D (nmol/L)	r	0,178	0,172	-0,024	-0,041	0,03	0,23
	p	0,265	0,282	0,883	0,798	0,865	0,147
	N	41	41	41	41	35	41
SE (mm/3,6 ks)	r	0,278	0,013	0,181	0,152	0,267	-0,011
	p	0,078	0,935	0,257	0,343	0,122	0,944
	N	41	41	41	41	35	41
udio bazofila u krvi (%)	r	0,18	-0,205	-0,284	-0,282	<b>-0,385</b>	0,104
	p	0,26	0,198	0,072	0,074	<b>0,023</b>	0,518
	N	41	41	41	41	35	41
koncentracija bazofila u krvi ( $\times 10^9/L$ )	r	-0,018	<b>-0,475</b>	-0,277	<b>-0,358</b>	<b>-0,359</b>	-0,015
	p	0,913	<b>0,002</b>	0,08	<b>0,021</b>	<b>0,034</b>	0,926
	N	41	41	41	41	35	41
D-dimeri (mg/L)	r	-0,004	0,116	0,193	0,128	0,16	0,079
	p	0,982	0,48	0,238	0,439	0,374	0,63
	N	39	39	39	39	33	39
ukupni IgE (kIU/L)	r	0,139	0,049	0,144	-0,019	-0,209	0,064
	p	0,384	0,759	0,369	0,907	0,228	0,692
	N	41	41	41	41	35	41
TSH (mIU/L)	r	-0,184	-0,048	-0,144	0,079	0,259	0,158
	p	0,255	0,77	0,375	0,628	0,139	0,329
	N	40	40	40	40	34	40
T3 (nmol/L)	r	-0,166	0,11	0,266	<b>0,371</b>	0,326	-0,28
	p	0,299	0,495	0,093	<b>0,017</b>	0,056	0,076
	N	41	41	41	41	35	41

T4 (nmol/L)	r	<b>-0,328</b>	-0,229	0,016	0,068	-0,079	0,056
	p	<b>0,036</b>	0,149	0,92	0,672	0,652	0,727
	N	41	41	41	41	35	41
anti-TPO (kIU/L)	r	0,031	-0,034	0,017	0,055	0,102	-0,067
	p	0,849	0,834	0,916	0,735	0,565	0,68
	N	40	40	40	40	34	40
anti-TG (kIU/L)	r	0,234	0,058	0,001	0,007	0,087	0,011
	p	0,141	0,721	0,997	0,965	0,619	0,945
	N	41	41	41	41	35	41

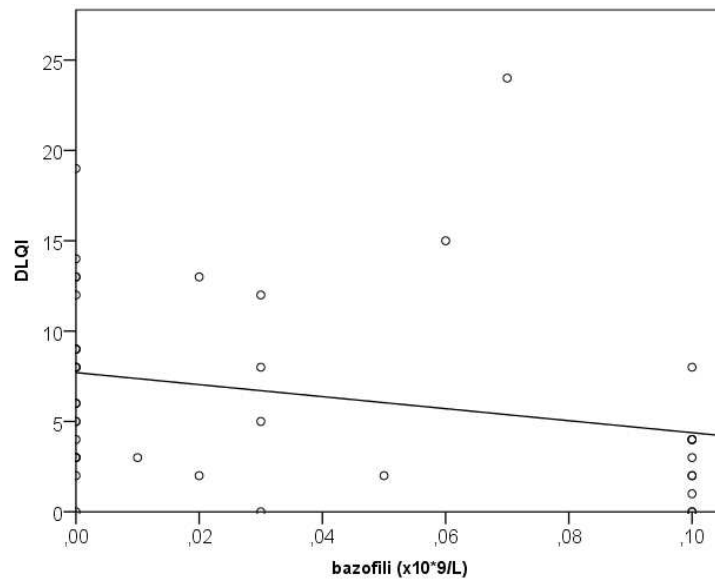
p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om, mj. – mjeseci

Skraćenice: dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, CU-Q2oL – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju, UCT – kontrolni test urtikarije, CRP – C-reaktivni protein, SE – sedimentacija eritrocita, IgE – imunoglobulin E, TSH – hormon koji stimulira štitnjaču, T3 – trijodtironin, T4 – tiroksin, anti-TPO – antitijela na tireoidnu peroksidazu, anti-TG – antitijela na tireoglobulin.



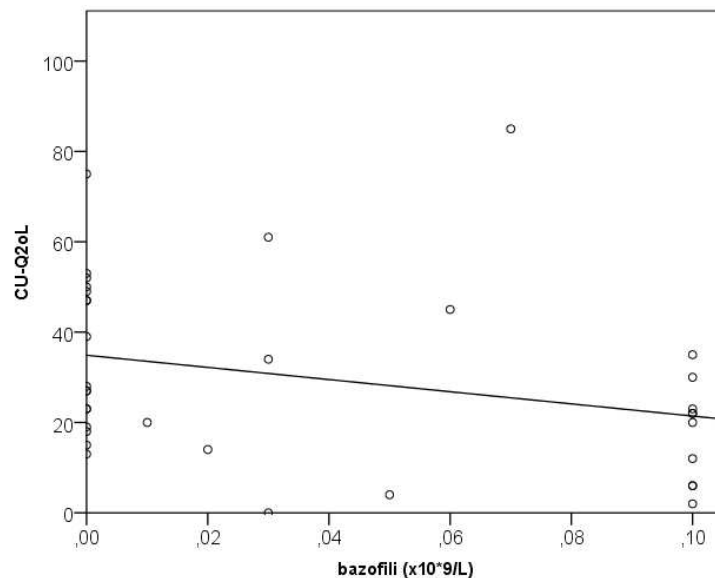
Slika 18. Odnos koncentracije bazofila u krvi bolesnika sa KSU-om (izražene mjernom jedinicom  $\times 10^9/L$ ) i aktivnosti bolesti mjerene upitnikom dnevni UAS ( $p = 0,002$ )

p – razina statističke značajnosti



Slika 19. Odnos koncentracije bazofila u krvi bolesnika sa KSU-om (izražene mjernom jedinicom  $\times 10^9/L$ ) i narušene dermatološke kvalitete života mjerene upitnikom DLQI ( $p \leq 0,034$ )

p – razina statističke značajnosti



Slika 20. Odnos koncentracije bazofila u krvi bolesnika sa KSU-om (izražene mjernom jedinicom  $\times 10^9/L$ ) i narušene kvalitete života zbog kronične urtikarije mjerene upitnikom CU-Q2oL ( $p \leq 0,023$ )

p – razina statističke značajnosti

Uspoređujući mali broj bazofila u krvi (bazopeniju) i težinu KSU-a, vidljivo je kada se vrijednost bazofila dihotomizira da je bazopenija češća kod umjerenog ili teškog KSU-a nego kada je bolest blaža ili je nema, procijenjeno dnevnim UAS-om (79 % vs. 37 %;  $p = 0,020$ ;  $V = 0,394$ ; tablica 7). Bazopenija nije bila znatno češća kad su se usporedile dihotomizirane skupine bolesnika mjerene ostalim upitnicima (tablice 7 i 8).

Tablica 7. Odnos bazopenije i aktivnosti i kontrole KSU-a te narušene dermatološke kvalitete života mjerene upitnikom DLQI

varijabla		prisutna bazopenija (N = 21) N (%)	odsutna bazopenija (N = 20) N (%)	Ukupno N (%)	p	V
dnevni UAS	nema	10 (37 %)	17 (63 %)	27 (100 %)		
	urtikarije ili blagi KSU ( $\leq 2$ ) umjereni ili teški KSU ( $\geq 3$ )	11 (78,6 %)	3 (21,4 %)	14 (100 %)	<b>0,020</b>	0,394
UAS7	nema	9 (45 %)	11 (55 %)	20 (100 %)		
	urtikarije ili blagi KSU ( $\leq 15$ ) umjereni ili teški KSU ( $\geq 16$ )	12 (57,1 %)	9 (42,9 %)	21 (100 %)	0,528	0,321
DLQI	nema učinka ili je mali ( $\leq 5$ ) umjereni ili veliki učinak ( $\geq 6$ )	8 (36,4 %)	14 (63,6 %)	22 (100 %)		
		13 (68,4 %)	6 (31,6 %)	19 (100 %)	0,062	0,320

UCT	nekontrolirani	18 (48,6 %)	19 (51,4 %)	37 (100 %)		
	KSU ( $\leq 11$ )					
	dobro	3 (75 %)	1 (25 %)	4 (100 %)	0,606	0,156
	kontrolirani					
	KSU ( $\geq 12$ )					

p – razina statističke značajnosti, V – veličina učinka (prema Crameru), N – broj bolesnika sa KSU-om

Skraćenice: KSU – kronična spontana urtikarija, dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, UCT – kontrolni test urtikarije.

Tablica 8. Odnos bazopenije i narušene kvalitete života specifične za kroničnu urtikariju u bolesnika sa KSU-om mjerene upitnikom CU-Q2oL

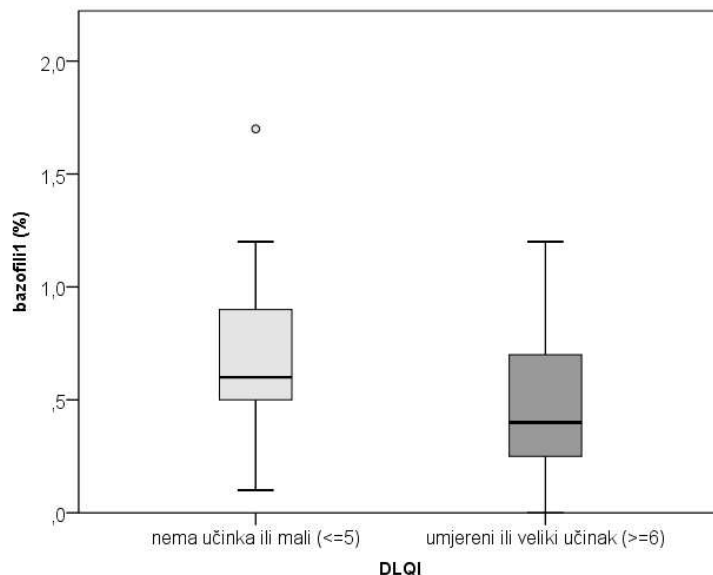
varijabla		prisutna bazopenija (N = 17) N (%)	odsutna bazopenija (N = 18) N (%)	ukupno N (%)	p	V
CU-Q2oL	mali učinak ili nema učinka ( $\leq 14$ )	6 (33,3 %)	12 (66,7 %)	18 (100 %)		
	umjereni ili veliki učinak ( $\geq 25$ )	11 (64,7 %)	6 (35,3 %)	17 (100 %)	0,094	0,314

p – razina statističke značajnosti, V – veličina učinka (prema Crameru), N – broj bolesnika sa KSU-om

Skraćenica: CU-Q2oL – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju.

Pri usporedbi razina serumskih biomarkera između skupina KSU-a (blagi, umjereni i veliki učinak na narušenost dermatološke kvalitete života), bazofili su bili niži kod osoba s umjerenim ili velikim učinkom bolesti (mjereno upitnikom DLQI). Veličina učinka bila je umjerenjena i nešto

veća za koncentraciju bazofila u krvi ( $p = 0,020$ ;  $r = -0,363$ ) nego za njihov udio izražen postotkom ( $p = 0,037$ ;  $r = -0,327$ ; slika 21).

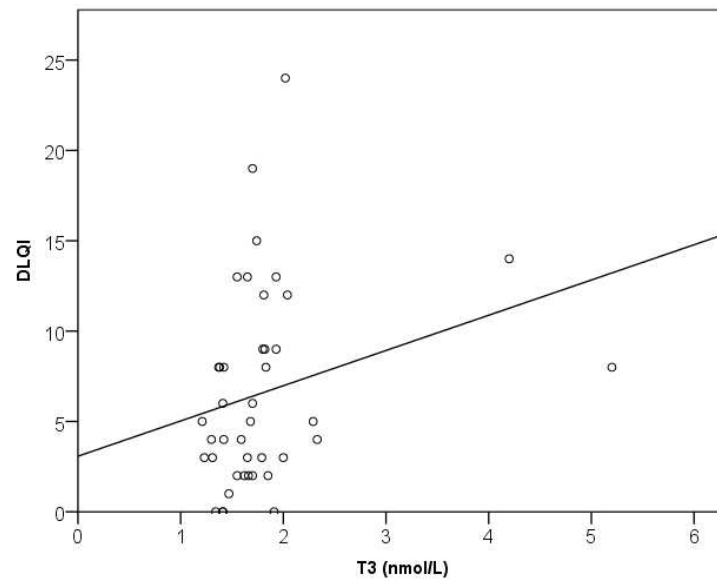


Slika 21. Usporedba udjela bazofila u krvi bolesnika sa KSU (izražen postotkom) između skupina narušene dermatološke kvalitete života mjerene upitnikom DLQI (nema učinka/mali učinak,  $N = 22$ ; umjereni/veliki učinak,  $N = 19$ ) ( $p = 0,037$ )

$N$  – broj bolesnika sa KSU-om,  $p$  – razina statističke značajnosti

Hormon štitnjače trijodtironin (T3) bio je linearno umjereno pozitivno povezan s narušenošću dermatološke kvalitete života (DLQI) tako da je porast koncentracije T3 za 1 nmol/L povećavao narušenošću dermatološke kvalitete života bolesnika sa KSU-om za 1 skalarni bod ( $y = 3,1 + 2,0y$ ;  $r = 0,371$ ;  $p = 0,017$ ; slika 22). No, kada se uspoređi razina hormona T3 između dihotomiziranih skupina narušenošću dermatološke kvalitete života (DLQI), razlika nije bila statistički značajna (medijan 1,6 vs. 1,7).





Slika 22. Odnos koncentracije serumskog hormona štitnjače trijodtironina T3 (izražene mjernom jedinicom nmol/L) i narušene dermatološke kvalitete života mjerene upitnikom DLQI u bolesnika sa KSU-om

Uočeno je da je vrijednost T4 snižena u 27 % bolesnika s umjerenim ili teškim KSU-om (mjerena upitnikom dnevni UAS), što nije uočeno ni kod jednog bolesnika u remisiji ili s blažom bolesti ( $p = 0,010$ ;  $V = 0,457$ ). No, nije dokazana značajna linearna povezanost između dnevnog UAS-a i razine T4.

Kada se kao pokazatelj težine bolesti uzme upitnik UAS7, a biomarkeri dihotomiziraju po graničnicima referentnih vrijednosti, jedina je statistički znatna razlika bila u vrijednosti SE-a. Odnos vrijednosti SE-a i težine KSU-a nije bio linearan, no SE je rjeđe bio snižen u bolesnika s umjerenim ili teškim KSU-om (mjereno upitnikom UAS7) nego u bolesnika koji su u remisiji ili imaju blaži oblik bolesti (14 % vs. 45 %;  $p = 0,043$ ;  $V = 0,337$ ; tablice 9 i 10).

Logistička regresija potvrdila je nalaz univarijantnih analiza za težinu KSU-a mjerenu upitnikom UAS7. Jedini značajni prediktor za UAS7 bio je SE, s omjerom izgleda (OR) 4,9 (95 % CI 1,1 – 22,2;  $p = 0,038$ ). Pritom je SE u referentnom rasponu bio povezan s 4,9 puta većim izgledom za umjereni ili teški KSU u odnosu na blažu bolest. Nijedan naš drugi biomarker nije bio prediktor umjerene ili teške bolesti.

Analizom aktivnosti KSU mjerene dnevnim UAS-om logistička regresija pokazala je da su bazofili bili prediktori dnevnog UAS-a, za razliku od T4 koji nije bio prediktor dnevnog UAS-a. Tako je bazopenija povezana sa 6,2 puta većim izgledom za umjereni ili teški KSU, procijenjeno dnevnim UAS-om (OR 6,2; 95 % CI 1,4.27,8;  $p = 0,017$ ) (tablica 11).

Tablica 9. Povezanost težine kliničke slike KSU-a (mjerene upitnikom UAS7) i serumskih i salivarnih biomarkera (N = 41)

varijabla		nema urtikarije ili blagi KSU (UAS7 ≤ 15) N = 20 N (%)	umjereni ili teški KSU (UAS7 ≥ 16) N = 21 N (%)	ukupno	p	V
SE	Snižen	9 (45 %)	3 (14,3%)	12 (29,3 %)	<b>0,043</b>	0,337
	u refer. rasponu	11 (55 %)	18 (85,7 %)	29 (70,7 %)		
CRP	u refer. rasponu	18 (90 %)	15 (71,4 %)	33 (80,5 %)	0,238	0,234
	Povišen	2 (10 %)	6 (28,6 %)	8 (19,5 %)		
vitamin D	manjak/nedovoljno	6 (30 %)	6 (28,6 %)	12 (29,3 %)	1	0,016
	dovoljno/optimalno	14 (70 %)	15 (71,4 %)	29 (70,7 %)		
krvni bazofili	Bazopenija	9 (45 %)	12 (57,1 %)	21 (51,2 %)	0,538	0,121
	u refer. rasponu	11 (55 %)	9 (42,9 %)	20 (48,8 %)		
ukupni IgE	u refer. rasponu	14 (70 %)	10 (47,6 %)	24 (58,5 %)	0,208	0,227
	Povišen	6 (30 %)	11 (52,4 %)	17 (41,5 %)		
T3	u refer. rasponu	20 (100 %)	19 (90,5 %)	39 (95,1 %)	0,488	0,221
	Povišen	0 (0 %)	2 (9,5 %)	2 (4,9 %)		
T4	Snižen	1 (5 %)	3 (14,3 %)	4 (9,8 %)	0,606	0,156
	u refer. rasponu	19 (95 %)	18 (85,7 %)	37 (90,2 %)		
ANA	bez autoimunosne podloge	16 (80 %)	16 (76,2 %)	32 (78 %)	1	0,046
	autoimunosna podloga	4 (20 %)	5 (23,8 %)	9 (22 %)		
anti-TG	u refer. rasponu	17 (85 %)	16 (76,2 %)	33 (80,5 %)	0,697	0,111
	Povišen	3 (15 %)	5 (23,8 %)	8 (19,5 %)		
salivarni IL-6	u refer. rasponu	1 (5 %)	2 (9,5 %)	3 (7,3 %)	1	0,087
	Povišen	19 (95 %)	19 (90,5 %)	38 (92,7 %)		

p – razina statističke značajnosti, V – veličina učinka (prema Crameru), N – broj bolesnika sa KSU-om

Skraćenice: UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, KSU – kronična spontana urtikarija, SE – sedimentacija eritrocita, CRP – C-reaktivni protein, IgE – imunoglobulin E, T3 – trijodtironin, T4 – tiroksin, ANA – antinuklearna antitijela, anti-TG – antitijelo na tireoglobulin, IL-6 – interleukin 6.

Tablica 10. Povezanost težine kliničke slike KSU-a (mjerene upitnikom UAS7) i preostalih mjenjenih serumskih biomarkera u bolesnika sa KSU-om\*

varijabla		nema urtikarije ili blagi KSU (UAS7 ≤ 15) N = 20 N (%)	umjereni ili teški KSU (UAS7 ≥ 16) N = 21 N(%)	ukupno	p	V
D-dimer	u refer. rasponu	16 (80 %)	13 (68,4 %)	29 (74,4 %)	0,48	0,133
	povišen	4 (20 %)	6 (31,6 %)	10 (25,6 %)		
anti-TPO	u refer. rasponu	14 (70 %)	15 (75 %)	29 (72,5 %)	1	0,056
	povišen	6 (30 %)	5 (25 %)	11 (27,5 %)		
TSH	u refer. rasponu	17 (85 %)	18 (90 %)	35 (87,5 %)	1	0,076
	povišen	3 (15 %)	2 (10 %)	5 (12,5 %)		
serumski IL-6	u refer. rasponu	19 (95 %)	17 (85 %)	36 (90 %)	0,605	0,167
	povišen	1 (5 %)	3 (15 %)	4 (10 %)		

p – razina statističke značajnosti, V – veličina učinka (prema Crameru), N – broj bolesnika sa KSU-om

\*nedostajao je barem jedan uzorak među bolesnicima u kojem je mjenjen neki od navedenih biomarkera u tablici

Skraćenice: KSU – kronična spontana urtikarija, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, anti-TPO – antitijela na tireoidnu peroksidazu, TSH – hormon koji stimulira štitnjaču, IL-6 – interleukin 6.

Tablica 11. Modeli logističke regresije

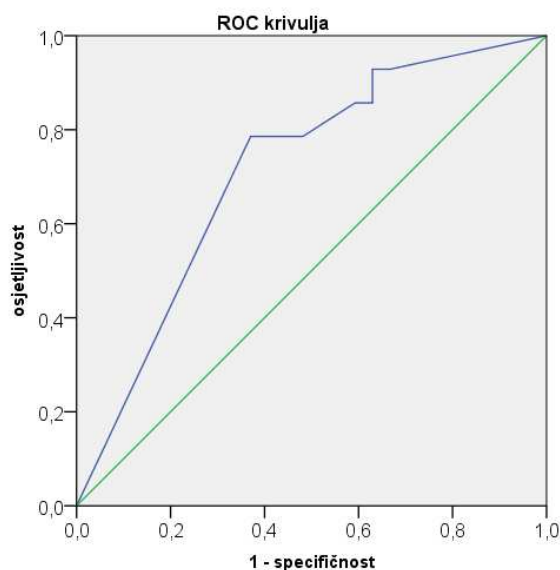
model	varijable	B	standardna pogreška	P	OR (95 % CI)
model 1	bazofili	1,8	0,8	0,017	6,2 (1,4 – 27,8)
	konstanta	-1,7	0,6		
model 2		-22,196	20.096,49	0,999	0

	T4 konstanta	21,203	20.096,49		
model 3	bazofili	1,378	0,797	0,084	4,0 (0,8 – 18,9)
	T4 konstanta	-21,56	20.096,49	0,999	0
model 4	SE	0,2	0,9	0,797	1,3 (0,2 – 6,9)
	CRP	1,2	1,0	0,238	3,4 (0,4 – 26,4)
	vitamin D	-1,5	1,0	0,132	0,2 (0 – 1,6)
	bazofili	2,0	0,8	0,015	7,6 (1,5 – 38,8)
	konstanta	-2,6	1,2	0,029	

B – logistički koeficijent, OR – omjer izgleda, P – veličina učinka, CI – interval pouzdanosti

Skraćenice: T4 – tiroksin, SE –sedimentacija eritrocita, CRP –C-reaktivni protein.

Koncentracija bazofila pokazala se kao jedini biomarker koji bi mogao biti koristan za procjenu težine kliničke slike KSU-a određene upitnikom dnevni UAS (osjetljivost 78,6 %, specifičnost 63 %, područje ispod krivulje 0,71;  $p = 0,028$ ; slika 23). Koncentracija bazofila ima umjerenu točnost i bolje otkriva postojanje težeg oblika bolesti KSU, a lošije slabiji oblik bolesti. Analizirajući potencijalne pokazatelje upitnika UAS7, nijedan naš parametar u analizama ROC krivulja nije zabilježen kao statistički značajan za procjenu tjednog UAS-a.



Slika 23. Krivulja osjetljivosti i specifičnosti bazofila u krvi bolesnika sa KSU-om za procjenu težine kliničke slike KSU mjerene upitnikom dnevni UAS ( $p = 0,028$ )

p – razina statističke značajnosti

#### 4.6. Povezanost vrijednosti salivarnog i serumskog IL-6 s ostalim serumskim biomarkerima u bolesnika sa KSU-om

Serumski IL-6 linearno je pozitivno korelirao s CRP-om ( $r = 0,379$ ;  $p = 0,016$ ), SE-om ( $r = 0,319$ ;  $p = 0,045$ ), D-dimerima ( $r = 0,606$ ;  $p < 0,001$ ), vrijednostima T3 ( $r = 0,370$ ;  $p = 0,019$ ) i T4 ( $r = 0,321$ ;  $p = 0,043$ ; tablice 12 i 13). Salivarni IL-6 linearno je korelirao s CRP-om ( $r = 0,316$ ;  $p = 0,044$ ). Ostali biomarkeri nisu bili povezani sa serumskim i salivarnim IL-6, a nijedan biomarker nije bio povezan s omjerom salivarnog IL-6 i salivarne amilaze.

Tablica 12. Povezanost vrijednosti salivarnog i serumskog IL-6 s ostalim serumskim biomarkerima u bolesnika sa KSU-om

Varijabla		serumski IL-6 (pg/mL)	salivarni IL-6 (pg/mL)	omjer salivarnog IL-6 i amilaze
CRP (mg/L)	r	<b>0,379</b>	<b>0,316</b>	0,25
	p	<b>0,016</b>	<b>0,044</b>	0,115
	N	40	41	41
vitamin D (nmol/L)	r	0,11	0,047	-0,093
	p	0,5	0,771	0,562
	N	40	41	41
udio bazofila u krvi (%)	r	-0,097	0,058	-0,005
	p	0,553	0,72	0,976
	N	40	41	41
koncentracija bazofila u krvi ( $\times 10^9/L$ )	r	-0,146	0,019	-0,11
	p	0,368	0,904	0,493
	N	40	41	41
SE (mm/3,6 ks)	r	<b>0,319</b>	0,226	0,142
	p	<b>0,045</b>	0,156	0,377
	N	40	41	41
D-dimeri (mg/L)	r	<b>0,606</b>	-0,218	-0,227
	p	<b>&lt; 0,001</b>	0,183	0,165

N	39	39	39
---	----	----	----

p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om

Skraćenice: IL-6 – interleukin 6, CRP – C-reaktivni protein, SE – sedimentacija eritrocita.

Tablica 13. Povezanost vrijednosti salivarnog i serumskog IL-6 s ostalim serumskim biomarkerima u bolesnika sa KSU-om

varijabla		serumski IL-6 (pg/mL)	salivarni IL-6 (pg/mL)	omjer salivarnog IL-6 i amilaze
ukupni IgE (kIU/L)	r	0,207	-0,246	-0,151
	p	0,199	0,121	0,345
	N	40	41	41
TSH (mIU/L)	r	0,275	0,011	-0,054
	p	0,09	0,949	0,739
	N	39	40	40
T3 (nmol/L)	r	<b>0,370</b>	0,195	0,182
	p	<b>0,019</b>	0,223	0,253
	N	40	41	41
T4 (nmol/L)	r	<b>0,321</b>	-0,132	-0,276
	p	<b>0,043</b>	0,411	0,08
	N	40	41	41
anti-TPO (kIU/L)	r	-0,143	-0,121	-0,112
	p	0,384	0,459	0,493
	N	39	40	40
anti-TG (kIU/L)	r	0,252	-0,193	-0,054
	p	0,117	0,227	0,736
	N	40	41	41

p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om

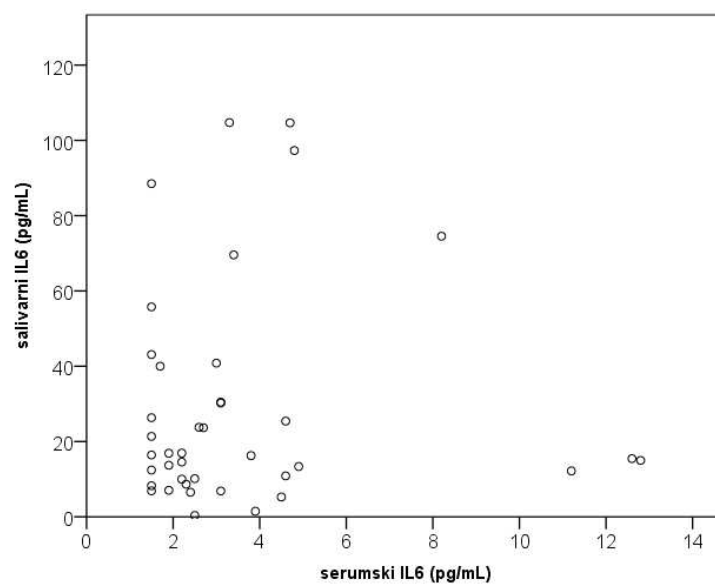
Skraćenice: IL-6 – interleukin 6, IgE – imunoglobulin E, TSH – hormon koji stimulira štitnjaču, T3 – trijodtironin, T4 – tiroksin, anti-TPO – antitijela na tireoidnu peroksidazu, anti-TG – antitijela na tireoglobulin.

Usporedbom utjecaja autoimunosne bolesti na biomarkere nije bilo razlike u razini serumskog IL-6 i salivarnog IL-6 kao ni u omjeru salivarnog IL-6 i amilaze, na temelju usporedbe osoba s autoimunosnom podlogom bolesti i bez nje (temeljem ANA titra jednakog ili većeg od 1 : 160 ili manjeg od 1 : 160). Nije bilo značajne razlike ni pri usporedbi titra ANA sa skupinama

bolesnika sa KSU-om prema IL-6. Autoimunosnu podlogu imalo je samo četvero bolesnika. Nijedan bolesnik u našoj studiji koji je imao povećane vrijednosti serumskog IL-6 nije imao autoimunosnu podlogu (titar ANA jednak ili veći od 1 : 160), dok ju je imalo 17 % ispitanika s normalnim vrijednostima serumskog IL-6. Također, 15 % bolesnika s povećanim salivarnim IL-6 imalo je autoimunosnu podlogu (titar ANA jednak ili veći od 1 : 160), dok u bolesnika s normalnim vrijednostima salivarnog IL-6 nitko nije imao autoimunosnu bolest (titar ANA jednak ili veći od 1 : 160).

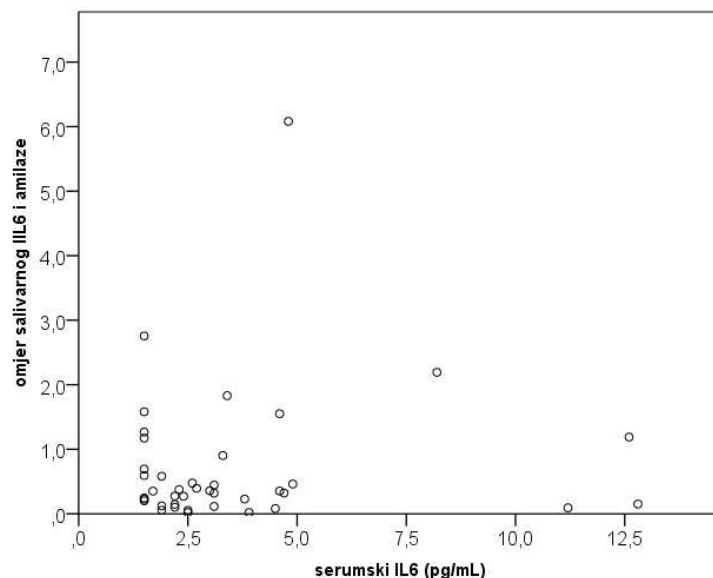
#### 4.7. Analiza povezanosti salivarnog i serumskog IL-6 i trajanja KSU-a

Nije bilo značajne linearne povezanosti između serumskog i salivarnog IL-6 kao ni serumskog IL-6 i salivarnog omjera IL-6 i amilaze, ni povezanosti navedenih IL-6 s trajanjem bolesti (slike 24 i 25, tablica 14). Većina bolesnika s normalnim vrijednostima serumskog IL-6 imala je povećan salivarni IL-6 (92 %).



Slika 24. Odnos između koncentracija serumskog i salivarnog IL-6 (izražene mjernom jedinicom pg/mL) u bolesnika sa KSU-om





Slika 25. Odnos između koncentracije serumskog IL-6 (izražene mjernom jedinicom pg/mL) i omjera salivarnog IL-6 i amilaze u bolesnika sa KSU-om

Tablica 14. Povezanost trajanja bolesti i serumskog i salivarnog IL-6 procijenjena Spearmanovom korelacijom

varijabla		trajanje bolesti (mj.)	serumski IL-6	salivarni IL-6	omjer salivarnog IL-6 i amilaze
trajanje bolesti (mj.)	r		-0,037	0,009	0,071
	p		0,82	0,957	0,659
	N		40	41	41
serumski IL-6 (pg/mL)	r	-0,037		0,047	-0,022
	p	0,82		0,773	0,891
	N	40		40	40
salivarni IL-6 (pg/mL)	r	0,009	0,047		<b>0,597</b>
	p	0,957	0,773		<b>&lt; 0,001</b>
	N	41	40		41
omjer salivarnog IL-6 i amilaze	r	0,071	-0,022	<b>0,597</b>	
	p	0,659	0,891	<b>&lt; 0,001</b>	
	N	41	40	41	

p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om, mj. – mjeseci

Skraćenica: IL-6 – interleukin 6.

#### **4.8. Analiza promjene kliničke slike bolesti, kvalitete života i biomarkera tijekom vremena u bolesnika sa KSU-om**

Liječenje KSU-a znatno je smanjilo njegovu aktivnost, odnosno dnevni UAS ( $p = 0,014$ ;  $r = -0,464$ ) i UAS7 ( $p = 0,015$ ;  $r = -0,462$ ), a povećalo kvalitetu života bolesnika sa KSU-om (tj. smanjilo njezinu narušenost) mjerenu upitnikom DLQI ( $p = 0,006$ ;  $r = -0,519$ ), ali ne i kvalitetu života specifičnu za KU mjerenu upitnikom CU-Q2oL. Liječenje KSU-a također je poboljšalo kontrolu bolesti mjerenu upitnikom UCT ( $p = 0,005$ ;  $r = -0,531$ ; tablica 15; slika 26). Veličina učinka bila je umjerena za aktivnost bolesti, a velika za kvalitetu života i kontrolu bolesti. Tijekom praćenja i liječenja KSU-a od biomarkera je jedino uočeno da se nakon liječenja (uz dodatak vitamina D) znatno povećala vrijednost vitamina D, uz umjerenu veličinu učinka ( $p = 0,020$ ;  $r = -0,446$ ; tablica 15; slike 27 – 30).

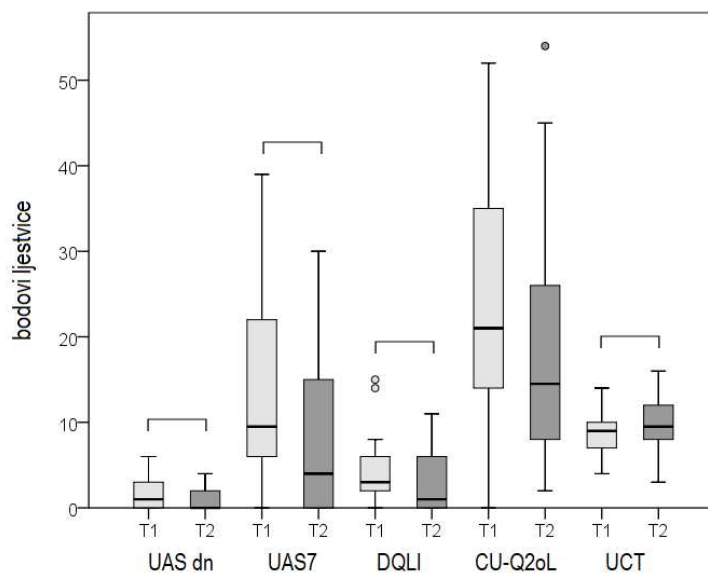
Tablica 15. Usporedba ispitivanih parametara u inicijalnoj (T1) i kontrolnoj točki (T2) u bolesnika sa KSU-om

varijabla	N	T1 (vrijeme prvog mjerenja) medijan (IKR)	T2 (vrijeme drugog mjerenja) medijan (IKR)	p*	r**
dnevni UAS	28	1,5 (0 – 4)	0,5 (0 – 2)	<b>0,014</b>	-0,464
UAS7	28	11 (6,3 – 22)	7 (1 – 15)	<b>0,020</b>	-0,500
DLQI	28	4 (2 – 8)	2 (1 – 6)	<b>0,006</b>	-0,529
CU-Q2oL	22	21 (13,5 – 36)	14,5 (8 – 26)	0,068	-0,389
UCT	28	9 (6,3 – 9,8)	9,5 (8 – 12)	<b>0,005</b>	0,841
serumski IL-6 (pg/mL)	26	2,5 (1,9 – 4,6)	3,4 (1,5 – 5,9)	0,841	-0,039
salivarni IL-6 (pg/mL)	28	15,2 (8,7 – 30,6)	15,0 (8,6 – 30,2)	0,682	-0,008
omjer salivarnog IL-6 i amilaze	28	0,27 (0,13 – 1,04)	0,29 (0,14 – 0,83)	0,412	-0,155
CRP (mg/L)	28	1,4 (0,5 – 3,4)	1,4 (0,6 – 2,9)	0	0
vitamin D (nmol/L)	27	59,0 (44,0 – 74,0)	75,0 (53,0 – 98,0)	<b>0,020</b>	-0,446
udio bazofila u krvi (%)	28	0,55 (0,33 – 0,90)	0,50 (0,33 – 0,78)	0,378	-0,167
Koncentracija bazofila u krvi (x 10 <sup>9</sup> /L)	28	0,02 (0,00 – 0,10)	0,03 (0,02 – 0,05)	0,889	-0,027
SE (mm/3,6 ks)	28	6,0 (4,0 – 9,5)	8,0 (4,0 – 12,0)	0,434	-0,148
D-dimeri (mg/L)	27	0,32 (0,21 – 0,58)	0,34 (0,23 – 0,51)	0,777	-0,055
ukupni IgE (kIU/L)	27	54,0 (18,0 – 149,0)	69 (24,0 – 161,0)	0,501	-0,130
TSH (mIU/L)	27	1,8 (1,1 – 3,0)	2,2 (1,2 – 3,1)	0,501	-0,130
T3 (nmol/L)	27	1,6 (1,4 – 1,8)	1,5 (1,4 – 1,8)	0,819	-0,044
T4 (nmol/L)	27	90,0 (81,0 – 106,0)	94,0 (84,0 – 103,0)	0,486	-0,134
anti-TPO (kIU/L)	28	1,8 (0,7 – 4,5)	1,7 (0,6 – 4,6)	0,269	-0,209

anti-TG (kIU/L)	27	0,9 (0,7 – 1,8)	1,0 (0,6 – 2,4)	0,850	-0,036
-----------------	----	-----------------	-----------------	-------	--------

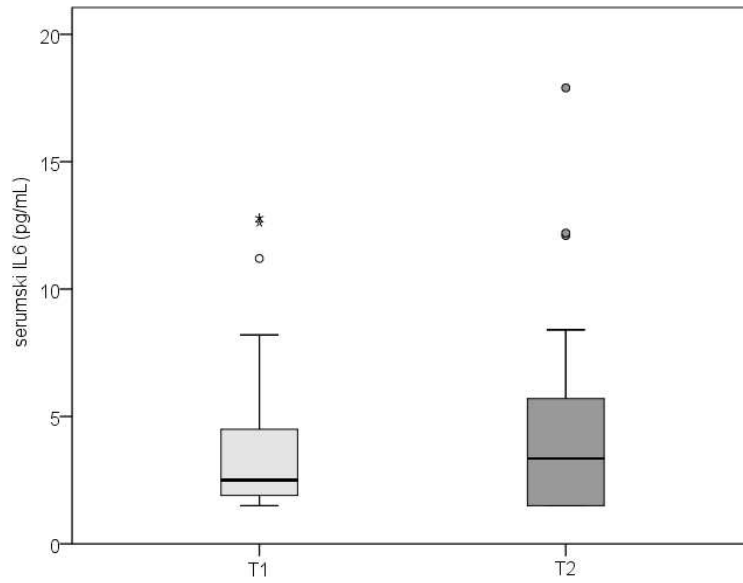
\*Wilcoxonov test, \*\*veličina efekta, IKR – interkvartilni raspon, N – broj bolesnika sa KSU-om

Skraćenice: dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana; DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, CU-Q2oL – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju, UCT – kontrolni test urtikarije, IL-6 – interleukin 6, CRP – C-reaktivni protein, SE – sedimentacija eritrocita, IgE – imunoglobulin E, TSH – hormon koji stimulira štitnjaču, T3 – trijodtironin, T4 – tiroksin, anti-TPO – antitijela na tireoidnu peroksidazu, anti-TG – antitijela na tireoglobulin.

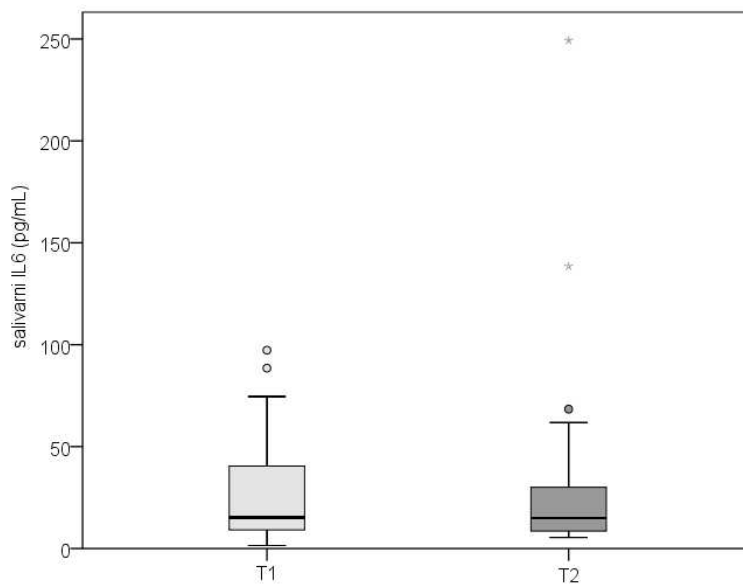


Slika 26. Usporedba aktivnosti KSU-a (mjerene dnevnim UAS-om i UAS7), kontrole bolesti (mjerene UCT-om) i narušenosti kvalitete života bolesnika sa KSU-om u inicijalnom (T1) i kontrolnom (T2) mjerenju (N = 28 mjereno upitnikom DLQI, a N = 22 mjereno upitnikom CU-Q2oL)

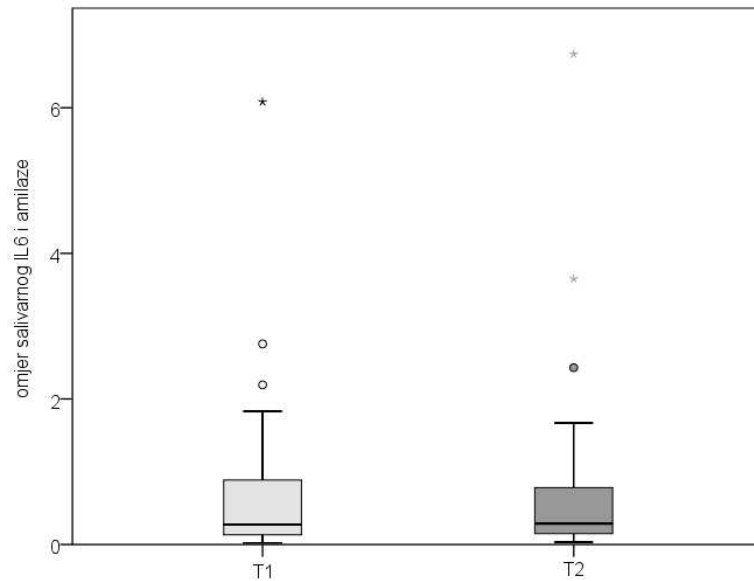
N – broj bolesnika sa KSU-om



Slika 27. Usporedba koncentracije serumskog IL-6 (izražene mjernom jedinicom pg/mL) u inicijalnom (T1) i kontrolnom (T2) mjerenju u bolesnika sa KSU-om (N = 26; p = 0,841)  
N – broj bolesnika sa KSU-om, p – razina statističke značajnosti

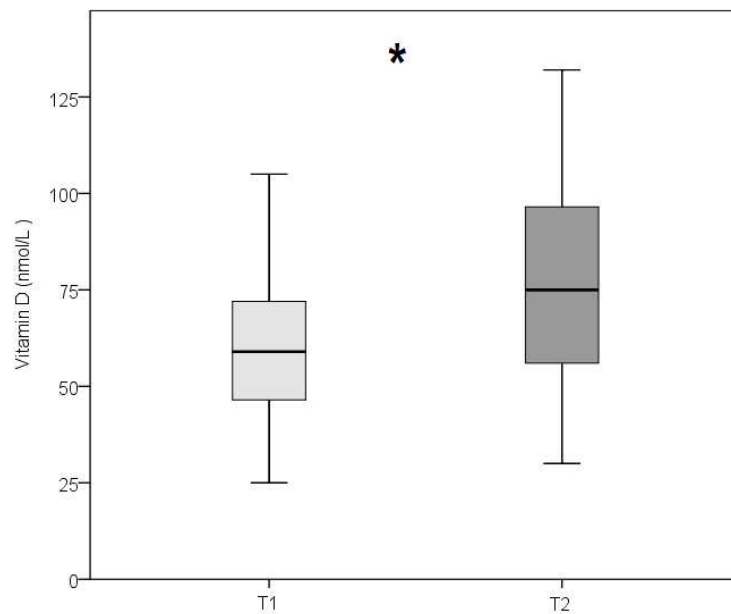


Slika 28. Usporedba koncentracije salivarnog IL-6 (izražene mjernom jedinicom pg/mL) u inicijalnom (T1) i kontrolnom (T2) mjerenju u bolesnika sa KSU-om (N = 28; p = 0,682)  
N – broj bolesnika sa KSU-om, p – razina statističke značajnosti



Slika 29. Usporedba omjera koncentracije salivarnog IL-6 i salivarne amilaze u inicijalnom (T1) i kontrolnom (T2) mjerenju u bolesnika sa KSU-om (N = 28; p = 0,412)

N – broj bolesnika sa KSU-om, p – razina statističke značajnosti



Slika 30. Usporedba koncentracije vitamina D (izražene u mjernoj jedinici nmol/L) u inicijalnom (T1) i kontrolnom (T2) mjerenju u bolesnika sa KSU-om (N = 27; p = 0,020)

\* statistički značajna razlika

N – broj bolesnika sa KSU-om, p – razina statističke značajnosti

#### 4.9. Povezanost promjene kliničke slike KSU-a i promjene razine biomarkera u slini i serumu bolesnika sa KSU-om (promjena inicijalnog (T1) i kontrolnog (T2) mjerenja)

Vrijednosti promjene težine KSU-a, kontrole bolesti i kvalitete života bolesnika sa KSU-om linearno su korelirale, pri čemu je korelacija bila najveća između dnevnog UAS-a i UAS7 te DLQI ( $r = 0,538 - 0,549$ ;  $p = 0,003$ ; tablica 16) što je bilo statistički značajno.

Tablica 16. Spearmanove korelacije za procjenu povezanosti promjene kliničke slike KSU-a, kontrole bolesti i kvalitete života u bolesnika sa KSU-om

Varijabla		$\Delta$ dnevni UAS T2 – T1	$\Delta$ UAS7 T2 – T1	$\Delta$ DLQI T2 – T1	$\Delta$ CU-Q2oL T2 – T1	$\Delta$ UCT T2 – T1
$\Delta$ dnevni UAS						
T2 – T1	r	1	0,368	<b>0,549</b>	<b>0,503</b>	-0,092
	p	.	0,054	<b>0,003</b>	<b>0,017</b>	0,641
	N	28	28	28	22	28
$\Delta$ UAS7 T2 – T1						
T2 – T1	r	0,368	1	<b>0,538</b>	0,41	<b>-0,410</b>
	p	0,054	.	<b>0,003</b>	0,058	<b>0,03</b>
	N	28	28	28	22	28
$\Delta$ DLQI T2 – T1						
T2 – T1	r	<b>0,549</b>	<b>0,538</b>	1	<b>0,510</b>	<b>-0,403</b>
	p	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	.	<b>0,015</b>	<b>0,034</b>
	N	28	28	28	22	28
$\Delta$ CU-Q2oL T2 – T1						
T2 – T1	r	<b>0,503</b>	0,41	<b>0,510</b>	1	-0,385
	p	<b>0,017</b>	0,058	<b>0,015</b>	.	0,076
	N	22	22	22	22	22
$\Delta$ UCT T2 – T1						
T2 – T1	r	-0,092	<b>-0,410</b>	<b>-0,403</b>	-0,385	1
	p	0,641	<b>0,03</b>	<b>0,034</b>	0,076	.
	N	28	28	28	22	28

p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om,  $\Delta$  – promjena vrijednosti T2 (vrijeme drugog mjerenja) i T1 (vrijeme prvog mjerenja)

Skraćenice: dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, CU-Q2oL – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju, UCT – kontrolni test urtikarije.

Promjena iznosa koncentracije bazofila statistički je značajno linearno korelirala samo s promjenom dnevne aktivnosti urtikarije (dnevni UAS) i narušene dermatološke kvalitete života (mjerene upitnikom DLQI) ( $r = -0,470$  i  $-0,385$ ;  $p \leq 0,043$ ; tablica 17). Veća koncentracija bazofila u krvi povezana je s većim smanjenjem aktivnosti KSU-a i s većim smanjenjem narušenosti kvalitete života bolesnika sa KSU-om.

Promjena vrijednosti TSH statistički je značajno linearno korelirala samo s promjenom kvalitete života specifične za KU (mjerene upitnikom CU-Q2oL) ( $r = 0,655$ ;  $p = 0,001$ ; tablica 18). Pritom je veće smanjenje vrijednosti TSH bilo povezano s većim smanjenjem narušenosti kvalitete života u bolesnika sa KSU-om.



Tablica 17. Spearmanove korelacije za procjenu povezanosti promjene kliničke slike KSU-a, kontrole bolesti i kvalitete života sa salivarnim i izabranim serumskim biomarkerima u bolesnika sa KSU-om

varijabla		$\Delta$ dnevni UAS T2 – T1	$\Delta$ UAS7 T2 – T1	$\Delta$ DLQI T2 – T1	$\Delta$ CU-Q2oL T2 – T1	$\Delta$ UCT T2 – T1
$\Delta$ salivarni IL-6 T2 – T1	r	-0,235	0,018	0	0,362	-0,169
	P	0,229	0,928	0,999	0,098	0,391
	N	28	28	28	22	28
$\Delta$ omjer salivarnog IL-6 i amilaze T2 – T1	r	-0,221	-0,16	-0,071	0,224	-0,149
	p	0,259	0,416	0,72	0,316	0,449
	N	28	28	28	22	28
$\Delta$ serumski IL-6 T2 – T1	r	0,23	-0,084	0,208	-0,134	-0,003
	p	0,259	0,683	0,307	0,573	0,99
	N	26	26	26	20	26
$\Delta$ vitamin D T2 – T1	r	0,025	0,257	-0,218	-0,297	0,137
	p	0,901	0,196	0,275	0,18	0,496
	N	27	27	27	22	27
$\Delta$ CRP T2 – T1	r	0,106	0,283	0,229	-0,05	-0,091
	p	0,593	0,145	0,242	0,825	0,645
	N	28	28	28	22	28
$\Delta$ udio bazofila u krvi (%) T2 – T1	r	-0,305	-0,323	-0,358	-0,413	0,184
	p	0,115	0,094	0,061	0,056	0,35
	N	28	28	28	22	28
$\Delta$ koncentracija bazofila u krvi T2 – T1	r	<b>-0,470</b>	0,002	<b>-0,385</b>	-0,276	0,112
	p	<b>0,012</b>	0,993	<b>0,043</b>	0,214	0,57
	N	28	28	28	22	28

p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om,  $\Delta$  – promjena vrijednosti T2 (vrijeme drugog mjerenja) i T1 (vrijeme prvog mjerenja)

Skraćenice: dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, CU-Q2oL – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju, UCT – kontrolni test urtikarije, IL – interleukin 6, CRP – C-reaktivni protein.

Tablica 18. Spearmanove korelacije za procjenu povezanosti promjene kliničke slike KSU-a, kontrole bolesti i kvalitete života s izabranim serumskim biomarkerima u bolesnika sa KSU-om

varijabla		$\Delta$ dnevni UAS T2 – T1	$\Delta$ UAS7 T2 – T1	$\Delta$ DLQI T2 – T1	$\Delta$ CU-Q2oL T2 – T1	$\Delta$ UCT T2 – T1
$\Delta$ SE	r	0,218	0,134	0,039	-0,151	-0,057
T2 – T1	p	0,266	0,498	0,845	0,502	0,773
	N	28	28	28	22	28
$\Delta$ D-dimeri	r	0,288	0,232	0,054	0,373	-0,183
T2 – T1	p	0,146	0,245	0,789	0,087	0,36
	N	27	27	27	22	27
$\Delta$ IgE	r	0,111	0,053	0,146	0,128	-0,227
T2 – T1	p	0,581	0,793	0,468	0,571	0,255
	N	27	27	27	22	27
$\Delta$ TSH	r	0	0,069	-0,132	<b>0,655</b>	-0,103
T2 – T1	p	0,999	0,732	0,511	<b>0,001</b>	0,61
	N	27	27	27	22	27
$\Delta$ T3	r	-0,031	-0,066	0,187	0,137	0,137
T2 – T1	p	0,876	0,742	0,349	0,542	0,496
	N	27	27	27	22	27
$\Delta$ T4	r	-0,27	-0,01	0,101	0,081	0,072
T2 – T1	p	0,174	0,959	0,615	0,72	0,721
	N	27	27	27	22	27
$\Delta$ anti-TPO	r	-0,048	0,178	0,285	-0,021	-0,113
T2 – T1	p	0,81	0,366	0,142	0,926	0,568
	N	28	28	28	22	28
$\Delta$ anti-TG	r	0,082	-0,072	0,084	0,001	-0,127
T2 – T1	p	0,684	0,721	0,678	0,998	0,529
	N	27	27	27	22	27

p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om,  $\Delta$  – promjena vrijednosti T2 (vrijeme drugog mjerenja) i T1 (vrijeme prvog mjerenja)

Skraćenice: dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, CU-Q2oL

– upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju, UCT – kontrolni test urtikarije, SE – sedimentacija eritrocita, IgE – imunoglobulin E, TSH – hormon koji stimulira štitnjaču, T3 – trijodtironin, T4 – tiroksin, anti-TPO – antitijela na tireoidnu peroksidazu, anti-TG – antitijela na tireoglobulin.

#### 4.10. Povezanost težine KSU-a i vrijednosti biomarkera nakon provedene tromjesečne standardne terapije u bolesnika sa KSU-om

Nakon tri mjeseca liječenja KSU-a jedino je vrijednost CRP korelirala s kontrolom KSU-a mjerenom upitnikom UCT ( $r = -0,459$ ;  $p = 0,014$ ; tablica 19). Pritom se porastom vrijednosti CRP snižavala kontrola KSU-a mjerena upitnikom UCT.

Tablica 19. Povezanost težine KSU-a i biomarkera nakon provedene tromjesečne standardne terapije (u kontrolnom mjerenju T2) u bolesnika sa KSU-om

Varijabla		dnevni UAS T2	UAS7 T2	DLQI T2	CU-Q2oL T2	UCT T2
salivarni IL-6 (pg/mL)	r	-0,052	0,061	-0,072	-0,32	0,021
	p	0,795	0,756	0,717	0,111	0,914
	N	28	28	28	26	28
omjer salivarnog IL-6 i amilaze	r	-0,032	0,16	0,136	0,034	-0,08
	p	0,87	0,415	0,492	0,868	0,685
	N	28	28	28	26	28
serumski IL-6 (pg/mL)	r	-0,087	-0,014	-0,183	-0,346	-0,022
	p	0,674	0,945	0,372	0,098	0,914
	N	26	26	26	24	26
CRP (mg/L)	r	0,059	0,28	0,119	-0,092	<b>-0,459</b>
	p	0,764	0,149	0,545	0,656	<b>0,014</b>
	N	28	28	28	26	28
vitamin D (nmol/L)	r	-0,221	-0,357	-0,084	-0,085	0,201
	p	0,268	0,068	0,676	0,686	0,315
	N	27	27	27	25	27
udio bazofila u krvi (%)	r	0,058	-0,105	-0,201	-0,176	0,336
	p	0,769	0,596	0,304	0,39	0,081
	N	28	28	28	26	28
koncentracija bazofila u krvi	r	0,008	-0,018	-0,084	-0,037	0,208

(x 10 <sup>9</sup> /L)						
	p	0,968	0,926	0,669	0,856	0,287
	N	28	28	28	26	28
SE (mm/3,6 ks)	r	-0,152	-0,041	-0,16	0,042	0,051
	p	0,441	0,836	0,415	0,839	0,796
	N	28	28	28	26	28
D-dimeri (mg/L)	r	-0,03	0,105	0,11	0,058	-0,166
	p	0,883	0,601	0,584	0,784	0,407
	N	27	27	27	25	27
ukupni IgE (kIU/L)	r	0,102	0,162	0,109	-0,051	-0,293
	p	0,614	0,418	0,587	0,808	0,137
	N	27	27	27	25	27
TSH (mIU/L)	r	-0,03	0,146	0,083	0,163	0,033
	p	0,88	0,468	0,679	0,435	0,872
	N	27	27	27	25	27
T3 (nmol/L)	r	0,191	0,173	0,008	-0,256	0,032
	p	0,339	0,388	0,968	0,216	0,872
	N	27	27	27	25	27
T4 (nmol/L)	r	-0,077	0,015	-0,218	-0,207	0,152
	p	0,703	0,942	0,274	0,322	0,449
	N	27	27	27	25	27
anti-TPO (kIU/L)	r	0,108	0,133	0,096	-0,133	-0,071
	p	0,585	0,499	0,626	0,517	0,72
	N	28	28	28	26	28
anti-TG (kIU/L)	r	-0,09	-0,085	-0,175	-0,156	0,123
	p	0,654	0,673	0,383	0,457	0,543
	N	27	27	27	25	27

p – razina statističke značajnosti, r – Spearmanov korelacijski koeficijent, N – broj bolesnika sa KSU-om, T2 – vrijeme kontrolnog mjerenja

Skraćenice: dnevni UAS – upitnik dnevne aktivnosti urtikarije, UAS7 – upitnik aktivnosti urtikarije tijekom uzastopnih 7 dana, DLQI – dermatološki indeks kvalitete života, CU-Q2oL – upitnik kvalitete života specifičan za kroničnu urtikariju, UCT – kontrolni test urtikarije, IL-6 – interleukin 6, CRP – C-reaktivni protein, SE – sedimentacija eritrocita, IgE – imunoglobulin E, TSH – hormon koji stimulira štitnjaču, T3 – trijodtironin, T4 – tiroksin, anti-TPO – antitijela na tireoidnu peroksidazu, anti-TG – antitijela na tireoglobulin.



Gledajući dosadašnja praćenja bolesnika sa KSU-om i proučavajući literaturne podatke o serumskim biomarkerima, zapaža se tek manji broj prospektivnih studija. Kada se proučavaju ispitivani parametri, najčešće su to serumski biomarkeri: KKS (bazofili), SE, CRP, anti-TPO, ukupni IgE, D-dimeri, vitamin D i IL-6, ali i upitnici koji ispituju težinu bolesti (UAS7, UCT, DLQI, CU-Q2oL). Radi boljeg uvida u dosadašnje spoznaje o biomarkerima i ostalim pokazateljima bolesti, osvrnut ćemo se na pojedine od njih u pojedinim cjelinama.

## **5.1. Serumski parametri**

### **5.1.1. Vrijednosti IL-6, CRP i SE u bolesnika sa KSU-om**

Studiju u kojoj se prvi put spominje serumski IL-6 proveli su 2007. Kasperska-Zajac i sur., koji su ispitivali koncentracije serumskog IL-6, CRP-a i dehidroepiandrosteron-sulfata (DHEA-S) u bolesnika sa KSU-om (94). Studija je uključila 18 žena negativnih na atopiju i negativnog ASST-a [prema Sabroe i sur. (46)]. U studiji Kasperske-Zajac i sur. 2007., antihistaminici su isključeni tjedan dana prije ispitivanja, a ostali lijekovi osam tjedana prije ulaska u studiju. U kontrolnoj skupini bilo je 20 zdravih ispitanica (negativnih na atopiju, negativnog ASST-a, bez lijekova najmanje dva tjedna prije ulaska u studiju). Nakon što je svim ispitanicama uzet uzorak krvi u razdoblju 8:00 – 9:00, u serumu su određivane koncentracija CRP-a upotrebom visokoosjetljivog imunoturbidimetrijskog testa s lateks aglutinacijom Cobas Integra CRP (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka), koncentracija hormona DHEA-S automatskim elektrokemiluminiscencijskim imunotestom (ECLIA) s pomoću imunološkog analizatora (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka) i koncentracija IL-6 s pomoću ELISA komercijalnog kompleta (ENDOGEN, Inc., Woburn, SAD). Rezultati studije pokazali su statistički značajno veću koncentraciju IL-6 u serumu (sve vrijednosti bile su u granicama normale) i statistički značajno nižu koncentraciju DHEA-S u bolesnika sa KSU-om ( $p = 0,033$ ;  $p = 0,023$ ). Koncentracija CRP-a nije se znatno razlikovala između bolesnika sa KSU-om i kontrolne skupine, a nije bilo ni statistički značajne korelacije između koncentracija DHEA-S u serumu i IL-6 ili CRP-a (94). Slični su se rezultati pokazali u našoj nedavno provedenoj pokusnoj studiji na 20 bolesnika sa KSU-om, gdje je serumski IL-6 najbolje korelirao s dnevnim UAS-om ( $r = 0,472$ ;  $p = 0,036$ ) i narušenom dermatološkom kvalitetom života (DLQI) ( $r = 0,504$ ;  $p = 0,023$ , pozitivna, linearna i umjerena korelacija), tj. kako se kvaliteta života bolesnika narušavala tako je rastao i serumski biomarker IL-6, dok koncentracija CRP-a nije korelirala s koncentracijom IL-6 ni s vrijednostima SE-a (91).

Ti su rezultati bili slični rezultatima prospektivne studije Kasperska-Zajac i sur. iz 2011. u kojoj je bolesnicima sa KSU-om mjerena koncentracija IL-6 u serumu, u aktivnom stadiju kao

i nakon kliničke remisije, s ciljem procjene povezanosti serumske koncentracije IL-6 s koncentracijom CRP-a (kao rezultata kliničke aktivnosti) (39). U studiji Kasperska-Zajac iz 2011. sudjelovalo je 58 bolesnika sa KSU-om – od toga 25 bolesnika s blagim KSU-om, 19 bolesnika s umjerenim KSU-om te 14 bolesnika s teškim KSU-om (prema upitniku UAS7). Najmanje 10 dana prije početka studije svi su pacijenti prestali uzimati H1 i H2 antihistaminike, a najmanje 6 tjedana prije početka studije izostavljeni su sustavni kortikosteroidi ili imunosupresivi. Svim ispitanicima uzeti su uzorci krvi između 7:00 i 9:00 antekubitalnom punkcijom uz EDTA (antikoagulans). Koncentracija IL-6 u serumu određena je ELISA metodom (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, SAD) (39), slično našoj pokusnoj studiji i ovoj prospektivnoj studiji gdje se upotrebljavala ELISA metoda za određivanje IL-6 s pomoću imunološkog analizatora drugog proizvođača (Roche Diagnostics, Basel, Švicarska) (91), a pritom su koeficijenti varijacije intratesta i intertesta iznosili 4,2 % i 3,3 % za IL-6, osjetljivost je bila 0,70 pg/mL. U gore navedenoj studiji Kasperska-Zajac i sur. iz 2011. koncentracija CRP-a u serumu mjerena je turbidimetrijskom metodom lateks aglutinacije (CRP-Latex, BioSystems SA, Barcelona, Španjolska) (39), istom metodom kao u našoj pokusnoj i prospektivnoj studiji, ali reagensom drugog proizvođača (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA) (91). Prema njihovim je rezultatima u serumu pacijenata sa KSU-om utvrđena statistički značajno viša koncentracija IL-6 nego u zdravih ispitanika ( $p < 0,001$ ). Uočene su i statistički značajne razlike u koncentraciji IL-6 (u serumu) među bolesnicima s blagim, umjerenim i teškim oblikom KSU-a ( $p < 0,05$  i  $p < 0,001$ ). Koncentracija serumskog IL-6 bila je u statistički značajnoj korelaciji s aktivnosti KSU-a procijenjenom upitnikom UAS7 ( $r = 0,638$ ,  $p < 0,0001$ ), dok se u slučajevima blagog KSU-a koncentracije IL-6 nisu značajno razlikovale između bolesnika sa KSU-om i zdravih ispitanika (39). To upućuje na to da se serumska koncentracija IL-6 može upotrebljavati kao biomarker aktivnosti KSU-a, kao što su i autori ranijih studija predložili.

U ovoj su našoj prospektivnoj studiji u inicijalnom mjerenju (T1) vrijednosti serumskog IL-6 bile povećane najčešće kod umjerenog ili teškog KSU-a (13/41 ispitanika), češće nego kod odsutnog ili blagog KSU-a (27/41 ispitanika), procijenjene dnevnim UAS-om (23 % vs. 4 %), iako bez statističke značajnosti ( $p = 0,191$ ). Mogući je razlog tomu činjenica da IL-6 pripada skupini proupalnih citokina koji se izlučuju u organizmu već u ranim fazama sustavne upalne bolesti pa su tako više vrijednosti serumskog IL-6 dokazane u težim oblicima KSU-a (mjereno dnevnim UAS-om istodobno i kada se uzimao uzorak seruma svim bolesnicima sa KSU-om). Statistička značajnost izostala je najvjerojatnije zbog manjeg broja bolesnika s teškim oblikom bolesti, a i zbog uzimanja antihistaminika koji nisu bili isključeni za vrijeme provođenja studije.

Također, vrijednosti serumskog IL-6 u inicijalnom (T1) mjerenju češće su bile povećane kod umjerenog ili teškog KSU-a (20/41 ispitanika), nego kod odsutnog ili blagog KSU-a (20/41 ispitanika) mjerene upitnikom UAS7 (15 % vs. 5 %), iako bez statističke značajnosti ( $p = 0,414$ ). Mjerenjem aktivnosti urtikarije uzastopno 7 dana također je pokazalo da su više vrijednosti serumskog IL-6 prisutne kod težih simptoma KSU-a u usporedbi s blagim simptomima, što je vjerojatno razlog izraženije sustavne upale kod težeg oblika KSU-a, ali i duljeg trajanja bolesti. Izostanak statističke značajnosti može se pripisati manjem broju bolesnika s težim oblikom KSU-a u odnosu na one s blagom bolesti. Također, kod umjerenosti ili velike narušenosti kvalitete života bolesnika sa KSU-om vrijednosti serumskog IL-6 bile su više nego u skupinama bez narušenosti ili s malom narušenosti kvalitete života (procijenjene upitnikom DLQI) (16 % vs. 5 %), iako bez statističke značajnosti ( $p = 0,361$ ). Ti rezultati govore u prilog biomarkeru IL-6 koji pokazuje aktivnost i kontroliranost KSU-a te narušenost kvalitete života bolesnika sa KSU-om, što je u skladu s drugim autorima. U našoj prospektivnoj studiji nije dokazana statistički značajna korelacija serumskog IL-6 s aktivnosti i kontroliranosti bolesti te narušenosti kvalitete života bolesnika sa KSU-om vjerojatno zbog manjeg udjela bolesnika s teškim oblikom KSU-a i manjim ukupnim brojem sudionika, ali i činjenici da antihistaminici nisu isključeni iz terapije za vrijeme provođenja studije. Ti su rezultati u skladu s drugim autorima, ali je zbog manjeg broja bolesnika s težim oblikom KSU-a izostala statistička značajnost.

Osim toga, gledajući kontrolu bolesti u naših bolesnika (temeljem upitnika UCT), kod dobro kontroliranog KSU-a vrijednosti serumskog IL-6 nisu bile povećane (u 4/41 ispitanika uočene su vrijednosti serumskog IL-6 unutar referentnih vrijednosti) u odnosu na nekontroliranu bolest gdje su vrijednosti serumskog IL-6 bile povećane (u 36/41 ispitanika uočene su povećane vrijednosti serumskog IL-6) gledajući podatke (0 vs. 11 %, bez statističke značajnosti,  $p = 0,191$ ). Gledajući njihovu narušenost kvalitete života specifičnu za KU (mjerenu upitnikom CU-Q2oL), nije bilo razlike u vrijednostima serumskog IL-6 između dobro kontroliranog (17/41 ispitanika) i nekontroliranog KSU-a (17/41 ispitanika) (bez statističke značajnosti,  $p = 0,445$ ). Mogući razlog izostanka statističke značajnosti (dokazane u nekoliko drugih studija koje su mjerile vrijednosti serumskog IL-6) u našoj studiji mogao bi biti nedostatak ispitanika s teškim KSU-om jer takvi potencijalni ispitanici nisu ispunili ključne kriterije studije (npr. izostanak terapije sustavnim kortikosteroidima najmanje dva tjedna prije ulaska u studiju), ili su bili pod biološkom terapijom (omalizumab), ili su dodatno imali druge kronične sustavne upalne ili autoimunosne bolesti (koje bi mogle prikriti uzrok povišenih serumskih vrijednosti IL-6 u takvih pacijenata) te naposljetku nisu uvedeni u ovu prospektivnu studiju). Također, za vrijeme



provođenja naše prospektivne studije nisu izostavljeni antihistaminici iz terapije pa bi razlogom izostanka statističke značajnosti moglo biti i uzimanje antihistaminika, kao i manji broj ispitanika (ukupno 41). Međutim, naše je istraživanje pokazalo statističku značajnost pri usporedbi serumskih vrijednosti IL-6 s ostalim serumskim biomarkerima KSU-a pa su tako vrijednosti serumskog IL-6 linearno pozitivno korelirale s CRP-om ( $r = 0,379$ ;  $p = 0,016$ ), SE ( $r = 0,319$ ;  $p = 0,045$ ), D-dimerima ( $r = 0,606$ ;  $p < 0,001$ ), T3 ( $r = 0,370$ ;  $p = 0,019$ ) i T4 ( $r = 0,321$ ;  $p = 0,043$ ). Takva povezanost može potvrditi važnost upotrebe navedenih serumskih biomarkera u bolesnika sa KSU-om jer pokazuju aktivnost i kontroliranost bolesti, kao i narušenost kvalitete života bolesnika, a njihova međusobna povezanost ide u prilog proširenju rutinske dijagnostičke obrade KSU-a.

Kasperska-Zajac i sur. u studiji iz 2011. utvrdili su statistički značajno višu koncentraciju CRP-a u serumu bolesnika sa KSU-om nego u zdravih ispitanika (medijan: 3,85 naspram 1,32 mg/L;  $p < 0,001$ ). Osim toga, postojale su statistički značajne razlike u koncentraciji CRP-a među bolesnicima s blagim, umjerenim i teškim KSU-om (medijan: 2,1 naspram 4,6 naspram 7,7 mg/L) (mjerene upitnikom UAS7). U usporedbi s bolesnicima s umjerenim ili teškim KSU-om, u onih s blagim oblikom bolesti koncentracija CRP nije se značajno razlikovala od kontrolne skupine. Koncentracija CRP-a bila je statistički značajno povezana s aktivnosti bolesti procijenjenom upitnikom UAS ( $r = 0,714$ ,  $p < 0,0001$ ). Također, u pacijenata sa KSU-om uočena je statistički značajna korelacija između koncentracija IL-6 i CRP ( $r = 0,859$ ,  $p < 0,0001$ ) (39). Slične je rezultate utvrdila i ova naša prospektivna studija. Uspoređujući serumske vrijednosti IL-6 s CRP-om, uočena je statistički značajna pozitivna linearna korelacija između tih vrijednosti ( $r = 0,379$ ;  $p = 0,016$ ), što podupire rezultate studije Kasperska-Zajac i sur. iz 2011. godine (39).

Gledajući vrijednosti biomarkera izmjerenih nakon 3 mjeseca liječenja KSU-a u naših bolesnika, jedino je CRP korelirao s UCT-om ( $r = -0,459$ ;  $p = 0,014$ ) pa se tako s porastom CRP-a snižavala kontroliranost KSU-a. Prema rezultatima studije Kasperska-Zajac i sur. iz 2011., koncentracije IL-6 i CRP-a u bolesnika nakon remisije KSU-a bile su znatno niže u usporedbi s aktivnim KSU-om i nisu se bitno razlikovale od zdravih ispitanika (39). Naša nedavna pokusna studija utvrdila je korelaciju između IL-6 i jednodnevnog UAS-a, iako IL-6 nije bio značajno povezan s upitnicima UAS7 i UCT, vjerojatno zbog malog broja uključenih sudionika i zbog uobičajenih čestih promjena aktivnosti urtikarije te činjenice da je većina pacijenata imala blagi oblik KSU-a i da su tijekom studije uzimali antihistaminike. Također, u našoj nedavnoj pokusnoj studiji nije se potvrdila korelacija između CRP-a i težine KSU-a ni

korelacija između parametara IL-6, CRP i SE (91). S druge strane, ranija istraživanja Kasperska-Zajac i sur. iz 2011. pokazala su značajnu korelaciju između koncentracije IL-6 u serumu i aktivnosti KU-a (prema upitniku UAS7).

Razlika između rezultata Kasperska-Zajac iz 2011. i naše ranije pokusne studije, kao i ove prospektivne studije, mogla bi biti posljedica razlika u uzorcima – studija koju je provela Kasperska-Zajac uključivala je 25/58 (43,1 %) bolesnika s blagim KU-om, 19/58 (32,8 %) bolesnika s umjerenim KU-om i 14/58 (24,1 %) bolesnika s teškim KU-om (na temelju 327 tjednih UAS-a), a H1 i H2 antihistaminici prekinuti su najmanje 10 dana prije uzorkovanja krvi (39), dok je u toj našoj pokusnoj studiji bilo ukupno 20 pacijenata, 11/20 (55 %) s blagim KU-om i 9/20 (45 %) s umjerenom bolešću, gdje je primjenjivana antihistaminska terapija dva puta dnevno (bilastin se primjenjivao oralno u obliku tableta u dozi od 20 mg dva puta dnevno, a u pogoršanju do 4 tbl dnevno) (91). U ovu našu prospektivnu studiju bio je uključen ukupno 41 ispitanik: 20/41 (49 %) ispitanika s umjerenim ili teškim KSU-om (uključujući 16/41 (39 %) ispitanika s umjerenim KSU-om i 5/41 (12 %) s teškim KSU-om) te 20/41 (49 %) ispitanika s blagim ili dobro kontroliranim KSU-om (uključujući 1/41 (2 %) ispitanika u remisiji, zatim 8/41 (20 %) ispitanika s dobro kontroliranim KSU-om te 11/41 (26 %) ispitanika s blagim KSU-om) mjerene upitnikom UAS7, što upućuje na to da je studija Kasperska-Zajec 2011. uključivala više ispitanika s težim i umjerenim oblikom bolesti, što je najvjerojatnije rezultiralo statistički značajnim rezultatima, za razliku od naše prospektivne studije.

Kasperska-Zajac i sur. u studiji iz 2013. također su zabilježili znatno više vrijednosti CRP-a u bolesnika sa KSU-om nego u zdravih ispitanika (medijan 9,2 naspram 0,74 mg/l), a uočen je i niži medijan serumskog CRP-a nego u našoj studiji (1,25 mg/L) (studija je istraživala moguću povezanost između imunosno-upalnih biomarkera CRP-a i prokalcitonina) (95). U studiju je bio uključen 21 bolesnik s aktivnim KSU-om (10 bolesnika s blagim oblikom i 11 bolesnika s umjerenom-teškim oblikom prema upitniku UAS4) i 14 zdravih ispitanika te je aktivnost urtikarije (UAS) procijenjena tijekom 4 dana (UAS4) i na dan uzorkovanja krvi. Koncentracija CRP-a u serumu mjerena je turbidimetrijskom metodom lateks aglutinacije (CRP-Latex, BioSystems SA, Barcelona, Španjolska) s granicom detekcije od 1,0 mg/l. Prema njihovim rezultatima koncentracija prokalcitonina u serumu bila je znatno viša u bolesnika sa KSU-om u usporedbi sa zdravim ispitanicima, kao i statistički značajno viša u bolesnika s umjerenim/teškim KSU-om nego u bolesnika s blagim KSU-om i zdravih ispitanika ( $p < 0,01$ ). U toj su studiji serumske koncentracije CRP-a bile statistički značajno više u bolesnika sa KSU-om nego u zdravih ispitanika [medijan i interkvartilni rasponi 9,2 (5,8 – 14,5) naspram 0,74 (0,3 – 1,0) mg/l,  $p <$

0,0001)]. Nađena je i statistički značajna pozitivna korelacija između serumskih koncentracija CRP-a i prokalcitonina u bolesnika sa KSU-om, koja nije uočena u kontrolnoj skupini ( $p = 0,008$  i  $p = 0,35$ ) (95). Gledajući vrijednosti serumskog CRP-a i drugih ispitivanih serumskih biomarkera KSU-a određivanih nakon liječenja bolesti u ovoj našoj prospektivnoj studiji (3 mjeseca od prvog mjerenja), jedino je CRP statistički značajno linearno negativno korelirao s UCT-om ( $r = -0,459$ ;  $p = 0,014$ ); odnosno s porastom CRP-a značajno se snižavala kontrola KSU-a. Uočena je i statistička značajnost pri usporedbi serumskih vrijednosti IL-6 s ostalim serumskim biomarkerima KSU-a pa su tako vrijednosti serumskog IL-6 linearno pozitivno korelirale s CRP-om ( $r = 0,379$ ;  $p = 0,016$ ), SE ( $r = 0,319$ ;  $p = 0,045$ ), D-dimerima ( $r = 0,606$ ;  $p < 0,001$ ), T3 ( $r = 0,370$ ;  $p = 0,019$ ) i T4 ( $r = 0,321$ ;  $p = 0,043$ ). Pritom je serumski IL-6 najbolje korelirao s vrijednostima D-dimera u krvi, što se objašnjava povezanošću KSU-a s koagulacijskim parametrima, na što upućuju i druga istraživanja.

Slična zapažanja iznijeli su Rajappa i sur. u studiji iz 2013. gdje su u bolesnika sa KSU-om uočene statistički značajno povišene vrijednosti CRP-a visoke osjetljivosti (engl. *high sensitive* CRP, hs-CRP) i serumskog IL-6, u usporedbi s kontrolama ( $p < 0,0001$ ) (42). Uočena je i statistički značajna pozitivna korelacija između ovih upalnih markera i oksidativnog stresa trombocita. Naime, Rajappa i sur. u toj su studiji u bolesnika sa KSU-om ispitivali sustavne upalne markere IL-6, hs-CRP, kao i oksidativni stres trombocita [trombocitni malondialdehid (MDA), trombocitnu superoksid dismutazu (SOD), trombocitnu glutacion peroksidazu (GPx)] i njihovu povezanost s težinom bolesti. Studija je provedena na 45 bolesnika sa KSU-om i 45 zdravih ispitanika (dobi između 18 i 40 godina), a ispitanici nisu upotrebljavali lijekove posljednja 3 mjeseca prije početka studije, dok su antihistaminici izostavljeni tjedan dana prije uzorkovanja krvi. U ispitanika su vrijednosti IL-6 (R&D Systems, Minneapolis, MN, SAD) i hs-CRP [Diagnostics Biochem Canada Inc. (DBC), Ontario, Kanada] određivane primjenom metode ELISA. Prema njihovim rezultatima, u bolesnika sa KSU-om utvrđene su statistički značajno više serumske vrijednosti hs-CRP i IL-6 nego u kontrolnoj skupini ( $p < 0,0001$ ). Postojala je značajna pozitivna korelacija između ovih upalnih markera i oksidativnog stresa trombocita. U bolesnika sa KSU-om ukupni broj trombocita bio je statistički značajno niži od kontrolne skupine ( $p < 0,0001$ ) i njihov broj nije korelirao s razinama trombocitnog malondialdehida, trombocitnom superoksid dismutazom, trombocitnom glutacion peroksidazom, hs-CRP, IL-6 i USS (42).

De Montjoyea i sur. proveli su 2021. prospektivnu studiju u bolesnika sa KSU-om ispitivanjem moguće korelacije između kliničkih i bioloških markera i njihove povezanosti sa

sljedećim parametrima: aktivnosti bolesti, otpornosti na H1 antihistaminike, autoimunosti i ASST-om. Također su u bolesnika sa KSU-om liječenih omalizumabom analizirali promjene bioloških parametara (96). Studija je obuhvaćala 95 odraslih osoba i adolescenata ( $\geq 12$  godina) s dijagnozom KSU-a (teški KSU/UAS7 = 28 – 42, umjereni KSU/UAS7 = 16 – 27, blagi KSU/UAS7 = 7 – 15, dobro kontrolirani KSU/UAS7 = 1 – 6 i bez svrbeža/UAS7 = 0). Pritom se ocjenjivao terapijski odgovor na H1 antihistaminike pa su pacijenti evaluirani i ocijenjeni putem upitnika UAS7 tijekom nekoliko mjeseci (oni koji su odgovorili na H1 antihistaminike/UAS7  $\leq 7$  s 1 – 4 tableta dnevno; oni koji ne reagiraju na H1 antihistaminike/UAS7  $> 7$  uz 4 tablete dnevno H1 antihistaminika). Analiza krvi uključivala je više parametara: KKS, DKS, trombocite, ukupni IgE u serumu, funkcionalne testove štitnjače, serumske razine IgG-a prema Tg i TPO, ANA, RF, CRP, komponente komplementa (C3, C4), C1-inhibitor, klasične putove komplementa, elektroforezu proteina i razine D-dimera u plazmi. U analizi su titri smatrani pozitivnima ako je IgG anti-Tg  $> 115$  U/ml, IgG anti-TPO  $> 34$  U/ml, ANA  $> 1 : 160$  i RF  $> 1 : 40$ , a referentni raspon za broj bazofila u krvi iznosio je od 0 do 200 ili  $300/\mu\text{L}$ . U 22 bolesnika liječena omalizumabom u početnoj preporučenoj dozi od 300 mg (svakih 4 do 5 tjedana), krvne pretrage obavljene su prije početka i tijekom liječenja. Pritom se gledao odgovor bolesnika na liječenje omalizumabom klasificiran kao: potpuni odgovor/UAS7 0, djelomični odgovor (pad UAS7 za najmanje 10 bodova) i bez odgovora (UAS7 je ostao nepromijenjen ili je porastao ili pao za manje od 10 bodova). Prema razdoblju/vremenu do terapijskog odgovora, pacijenti su bili klasificirani kao oni s ranim odgovorom (UAS7 pao za najmanje 10 bodova nakon mjesec dana liječenja) ili oni s kasnim odgovorom. Gledajući odgovore na antihistaminike, u nereaktora na H1 antihistaminike uočene su statistički značajno više serumske vrijednosti CRP-a ( $p < 0,0001$ ) i D-dimera ( $p = 0,009$ ) nego u onih koji reagiraju na H1 antihistaminike. Štoviše, uočena je statistički značajna pozitivna korelacija između vrijednosti CRP-a i D-dimera ( $p < 0,0001$ ). Aktivnost KSU-a (mjerena upitnikom UAS7) statistički je značajno pozitivno korelirala s vrijednostima CRP-a ( $p = 0,033$ ), a negativno s brojem bazofila u krvi ( $p = 0,023$ ) (96). Ipak, u rezultatima naše nedavne pokusne studije nije dokazana takva veza između CRP-a i težine KSU-a, kao ni korelacija između parametara IL-6, CRP i SE (91). Međutim, u ovoj našoj prospektivnoj studiji, gledajući sve serumske biomarkere KSU-a nakon liječenja (3 mjeseca od prvog mjerenja), jedino su vrijednosti CRP-a statistički značajno negativno korelirale s UCT-om ( $r = -0,459$ ;  $p = 0,014$ ), tj. s porastom vrijednosti CRP-a značajno se snižavala kontrola KSU-a.

U jednoj opsežnijoj studiji provedenoj u bolesnika sa KSU-om (iz 2018.), Kolkhir i sur. ispitivali su prevalenciju povišenih vrijednosti CRP-a, kao i razlog povišenih razina CRP-a i relevantnost tih nalaza (97). U studiji su retrospektivno uključeni podatci 1253 pacijenta sa KSU-om (manje od 10 % njih uzimalo je oralne kortikosteroide ili antidepresive unutar 4 tjedna prije početka studije). Serumske vrijednosti CRP-a mjerene su nefelometrijskom metodom te je procijenjena učinkovitost druge generacije antihistaminika na dan vađenja krvi. Prema rezultatima, povišene vrijednosti CRP-a uočene su u trećine bolesnika sa KSU-om, a bile su statistički značajno povezane s pozitivnim ASST-om ( $p = 0,009$ ) i arterijskom hipertenzijom ( $p = 0,005$ ), ali ne i s drugim mogućim uzrocima ili komorbiditetima. Vrijednosti CRP-a korelirale su statistički značajno s aktivnošću urtikarije ( $p < 0,001$ ), pogoršanjem kvalitete života ( $p = 0,026$ ), upalnim i koagulacijskim markerima ( $p < 0,001$ ). Vrijednosti CRP-a bile su statistički značajno više u pacijenata koji nisu odgovorili na antihistaminike nego u onih koji su odgovorili na njih ( $p < 0,001$ ). Uočena je i korelacija vrijednosti CRP-a i drugih upalnih markera kao što su SE, broj leukocita/neutrofila i vrijednosti IL-6 u serumu. Od ukupno 825 pacijenata sa KSU-om više od polovice njih imalo je normalne vrijednosti obaju parametara (CRP-, SE-); 19 % imalo je povišene vrijednosti SE-a (SE+), a 11 % (od 768 pacijenata) povišene vrijednosti CRP-a i SE-a (CRP+/SE+). Više od polovice bolesnika imalo je normalne vrijednosti obaju parametara (CRP-, SE -), 20 % imalo je povišene vrijednosti CRP-a u normalnom SE-u (CRP+/SE-), a samo jedan od 10 bolesnika imao je snižene vrijednosti CRP-a uz povišen SE (CRP-/SE+).

Pritom su vrijednosti CRP-a bile češće povišene od vrijednosti SE-a (35 %), a povišene vrijednosti SE-a (SE+) statistički su značajno češće uočene u skupini (trećini) bolesnika sa KSU-om koji su imali povišene vrijednosti CRP-a (CRP+) (57 %) ( $p < 0,001$ ) (97). U našoj nedavnoj pokusnoj studiji uočena je korelacija kod KSU-a između SE-a i upitnika UAS7 (pozitivna, linearna i umjerena korelacija), dok nije bilo korelacije između CRP-a i težine bolesti (91). Među drugim relevantnim podacima iz studije Kolkhir i sur. znatno su češće zabilježene povišene razine CRP-a nego razine SE-a, a povišen SE mogao se otkriti samo u trećine onih s povišenim CRP-om (97). Rezultati naše pokusne studije uglavnom podržavaju Kolkhirove rezultate, ali treba uzeti u obzir ograničenja naše studije kao što je manji broj uključenih pacijenata. Treba također spomenuti da u našoj pokusnoj studiji nije primijećena značajna korelacija između vrijednosti IL-6, CRP i SE (91). U ovoj našoj prospektivnoj studiji u kojoj je pokazatelj težine bolesti bio upitnik UAS7, a biomarkeri su dihotomizirani po graničnicima referentnih vrijednosti, jedina je statistički značajna razlika bila kod vrijednosti

SE-a. Odnos SE-a i težine KSU-a nije bio linearan, no SE je češće bio povišen u ispitanika s umjerenom ili teškom bolesti (mjerenih upitnikom UAS7), nego u onih bez urtikarije ili s blažom bolesti (45 % vs. 14 %;  $p = 0,043$ ;  $V = 0,337$ ). Također smo u ovoj prospektivnoj studiji logističkom regresijom potvrdili nalaz univarijantnih analiza za UAS7, a jedini statistički značajan prediktor za UAS7 bio je SE, s omjerom izgleda (OR) 4,9 (95 % CI 1,1 – 22,2;  $p = 0,038$ ). Pritom je normalan nalaz SE-a bio povezan višestruko većim izgledom (4,9 puta većim) za umjereni ili teški KSU, nego za blaži oblik bolesti. Nijedan drugi biomarker nije bio prediktor umjerene ili teške bolesti kao što je bio povišen SE.

U studiji koju su proveli Ucmak i sur. 2013. u bolesnika sa KSU-om određivane su razine IL-6 i procijenjen je njihov odnos s pokazateljima aktivnosti urtikarije i dermatološkim indeksom kvalitete života (DLQI) (40). U studiju je bilo uključeno 50 bolesnika sa KSU-om (19 muškaraca i 31 žena; medijan dobi 35 godina, raspon od 18 do 55 godina) i 33 zdrave osobe (kontrolna skupina) (medijan dobi 36 godina; od 20 do 60 godina). Bolesnici sa KSU-om podijeljeni su u dvije podskupine prema rezultatima ASST-a. Koncentracija IL-6 u serumu određena je ELISA kompletom (DYNEX Technologies, USA; Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo), a serumska koncentracija CRP-a visokoosjetljivim imunokemijskim sustavom, nefelometrijskom metodom (Beckman Coulter, SAD). Gledajući dermatološku narušenost kvalitete života (DLQI) bolesnika, najviše je bilo onih s teškom narušenosti (njih 26), zatim s umjerenom (njih 10) i vrlo teško narušenom kvalitetom života (njih 9), dok je bilo najmanje onih s blagom narušenosti (njih 5). U usporedbi sa zdravim kontrolama, u bolesnika sa KSU-om medijan koncentracije IL-6 u serumu bio je statistički značajno viši (46,57 pg/ml u odnosu na 20,34 pg/ml;  $p < 0,001$ ). Postojala je statistički značajna povezanost između težine bolesti (UAS) i koncentracije IL-6 u serumu ( $p = 0,004$ ). Medijan i koncentracije IL-6 u serumu bolesnika sa KSU-om s blagim, umjerenim i teškim simptomima iznosili su 39,45, 46,70 i 77,20 pg/ml. Postojala je statistički značajna povezanost između blagog, umjerenog i teškog UAS-a i razine IL-6 ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$  i  $p < 0,001$ ). Uočena je i statistički značajna povezanost između narušene dermatološke kvalitete života (DLQI rezultata) i razine IL-6 ( $p = 0,025$ ). Postojala je statistički značajna povezanost između blage, umjerene, teške i vrlo teško narušene dermatološke kvalitete života (DLQI rezultata) i razina IL-6 u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih ispitanika ( $p = 0,002$ ,  $p = 0,02$ ,  $p < 0,001$  odnosno  $p < 0,001$ ) (40).

Ucmak i sur. također su pokazali 2013. da je medijan koncentracije CRP-a bio statistički značajno viši u bolesnika sa KSU-om nego u zdravim kontrola (0,309 mg/dl u odnosu na 0,158 mg/dl,  $p = 0,026$ ). Postojala je i statistički značajna povezanost između težine bolesti (UAS) i

koncentracije CRP-a ( $p = 0,042$ ). Medijan i koncentracije CRP-a u serumu u bolesnika s blagim, umjerenim i teškim simptomima iznosili su 0,331, 0,216 i 0,641 pg/ml ( $p < 0,05$ ,  $p > 0,05$  odnosno  $p < 0,05$ ) uz statističku značajnost (odnosno, najveći je bio kod teških simptoma KSU-a, dok se kod blagih i umjerenih simptoma nije puno razlikovao). Medijan i koncentracije CRP-a u bolesnika s blagim, umjerenim, teškim i vrlo teškim DLQI-jem bile su 0,216, 0,392, 0,213 i 0,568 mg/dl. Ipak, gledajući dermatološku narušenost kvalitete života, nije bilo statističke povezanosti između DLQI rezultata i razine CRP-a ( $p = 0,492$ ) ni razlike između skupina onih s blagim, umjerenim i teškim KSU-om i kontrolne skupine s obzirom na DLQI rezultate ( $p = 0,589$ ,  $p = 0,111$ ,  $p = 0,314$ ). Postojala je samo statistički značajna razlika DLQI rezultata između skupine s teškim KSU-om i kontrolne skupine ( $p = 0,024$ ), tj. bolesnici s teškim KSU-om imali su znatno veću narušenost kvalitete života nego zdravi ispitanici (40).

Između ostalog, u studiji Ucmak i sur. (2013.) u bolesnika sa KSU-om nije utvrđena značajna korelacija između koncentracije IL-6 i CRP-a ( $r = -0,167$ ,  $p > 0,05$ ) (40), kao ni u našoj nedavnoj pokusnoj studiji u kojoj nije dokazana veza između CRP-a i težine KSU-a ni korelacija između IL-6, CRP i ESR vrijednosti (91). Međutim, u ovoj našoj prospektivnoj studiji, od ispitivanih serumskih biomarkera mjerenih nakon 3 mjeseca praćenja i liječenja KSU-a (3 mjeseca od prvog mjerenja), jedino su vrijednosti CRP-a statistički značajno negativno linearno korelirale s UCT-om ( $r = -0,459$ ;  $p = 0,014$ ), odnosno s porastom vrijednosti CRP-a snižavala se kontroliranost KSU-a. Također smo utvrdili i pozitivnu i linearnu korelaciju između vrijednosti serumskog IL-6 i CRP-a ( $r = 0,379$ ;  $p = 0,016$ ) [za razliku od naše pokusne studije (91) i studije Ucmak i sur. 2013. (40)], dok vrijednosti serumskog IL-6 nisu korelirale s težinom KSU-a u kontrolnom T2 mjerenju (3 mjeseca nakon 1. mjerenja).

U našoj prospektivnoj studiji mjerene su i vrijednosti serumskog IL-6 te uspoređivane s težinom KSU-a i kvalitetom života, pri čemu su inicijalne (T1) vrijednosti serumskog IL-6 bile češće povećane kod umjerenog/teškog KSU-a (13/41 ispitanika) nego kod odsutnog/blagog KSU-a (27/41 ispitanika) procijenjene dnevnim UAS-om (23 % vs. 4 %), iako bez statističke značajnosti ( $p = 0,191$ ). Također, inicijalno (T1) izmjerene vrijednosti serumskog IL-6 bile su češće povećane kod umjerenog ili teškog KSU-a (20/41 ispitanika: 16 s umjerenim KSU-om; 5 s teškim KSU-om) nego kod odsutnog (remisija) ili blagog KSU-a (20/41 ispitanika: 1 bez KSU-a, 8 s dobro kontroliranim KSU-om; 11 s blagim KSU-om) mjerene upitnikom UAS7 (15 % vs. 5 %) (bez statističke značajnosti,  $p = 0,414$ ). Također, više vrijednosti IL-6 bile su prisutne kod umjerene ili velike dermatološke narušenosti kvalitete života (19/41, tj. 10 s umjerenom narušenosti kvalitete života; 8 s vrlo velikom narušenosti kvalitete života; 1 s iznimno velikom

narušenosti kvalitete života) nego u onih bez te narušenosti ili s malom narušenosti dermatološke kvalitete života (21/4: 17 s malom narušenosti kvalitete života, 5 bez učinka na kvalitetu života) procijenjene upitnikom DLQI (16 % vs. 5 %) (što nije bilo statistički značajno,  $p = 0,361$ ).

Iako naši rezultati nisu bili statistički značajni, oni govore o povezanosti povišenih vrijednosti serumskog IL-6 i poremećenoj kvaliteti života bolesnika sa KSU-om. U literaturi se također raspravlja o IL-6 kao korisnom biomarkeru. Nakon što je ranija studija Ucmaka i sur. 2013. na pacijentima s KU-om pokazala značajnu korelaciju serumskih vrijednosti IL-6 i CRP s težinom KSU-a (40), novija studija Zhang i sur. 2021. te Rajappa i sur. 2013. je na pacijentima sa KSU-om utvrdila povezanost između povišenog serumskog IL-6 i visoko senzitivnog CRP-a (engl. *high sensitivity*, hs-CRP) i aktivnosti KSU-a (41-42). Također su Ucmak i sur. 2013. te Grzanka i sur. 2015. zabilježili statistički značajno viši medijan koncentracije IL-6 u serumu u bolesnika sa KSU-om nego u zdravih kontrola (46,57 pg/mL naspram 20,34 pg/mL;  $p < 0,001$ ) (40,98). Također, Ucmak i sur. 2013. pokazali su statistički značajnu povezanost između dnevnog UAS-a i koncentracije serumskog IL-6 u bolesnika sa KSU-om (40). Svi navedeni rezultati upućuju na korisnost određivanja serumskog IL-6 u bolesnika sa KSU-om.

### **5.1.2. Vrijednosti bazofila u bolesnika sa KSU-om**

Među ostalim (potencijalnim) biomarkerima KSU-a osobito su istraživani cirkulirajući bazofili. U bolesnika sa KSU-om uočen je značajno niži udio bazofila među leukocitima i broj bazofila u perifernoj krvi u usporedbi sa zdravim ispitanicima i bolesnicima s atopijskim dermatitisom. Yanase i sur. 2023. pokazali su povezanost bazofila s drugim biomarkerima (kao što su razina histamina u plazmi i ukupni IgE) koji mogu biti korisni u određivanju aktivnosti bolesti (99).

Prema radu de Montjoyei i sur. 2021., u bolesnika sa KSU-om koji ne odgovaraju na H1 antihistaminike uočene su statistički značajno više serumske vrijednosti CRP-a ( $p < 0,0001$ ) i D-dimera ( $p = 0,009$ ) nego u osoba koje reagiraju na H1 antihistaminike (96). Štoviše, serumske vrijednosti CRP-a i D-dimera bile su u statistički značajnoj pozitivnoj korelaciji ( $p < 0,0001$ ). Utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija aktivnosti bolesti (UAS7) s CRP-om ( $p = 0,033$ ), dok je aktivnost bolesti bila u statistički značajnoj negativnoj korelaciji s brojem bazofila u krvi ( $p = 0,023$ ) (96). S druge strane, u našoj su prospektivnoj studiji koncentracija i udio bazofila u krvi statistički značajno negativno korelirali s dnevnim UAS-om ( $r = -0,475$ ;  $p = 0,002$ ), ali ne i s upitnikom UAS7. Također se pokazala statistički značajna negativna korelacija koncentracije i broja bazofila u krvi s narušenom kvalitetom života bolesnika (DLQI)



( $r = -0,358 - (-0,359)$ ;  $p \leq 0,034$ ), tj. što je kvaliteta života bolesnika sa KSU-om bila lošija/narušenija, to je bazopenija bila izraženija. Međutim, broj bazofila nije korelirao s kontroliranosti KSU-a (mjerenom upitnikom UCT). Također smo pokazali statistički značajnu pozitivnu korelaciju (povezanost) koncentracije bazofila s upitnikom Cu-Q2oL (narušenom kvalitetom života specifičnom za urtikarije), veću nego kod bazofilnog udjela ( $r = -0,385$  i  $r = -0,359$ ;  $p \leq 0,023$ ) (linearna, negativna i umjerena korelacija). S porastom aktivnosti KSU-a i narušenosti kvalitete života zbog urtikarije, smanjuje se broj bazofila u krvi. Stoga bi bazofili mogli biti biomarkeri za narušenost dermatološke kvalitete života uz sljedeći izračun: povećanjem udjela bazofila u krvi za  $1 \times 10^9/L$ , smanjuje se narušenost dermatološke kvalitete života za 33,3 skalarna boda ( $y = 7,7 - 33,3x$ ), a povećanjem udjela bazofila u krvi za  $1 \times 10^9/L$ , dnevna aktivnost urtikarije smanjuje se za 18,6 skalarnih bodova ( $y = 2,7 - 18,6x$ ).

Uspoređujući bazopeniju i težinu KSU-a u našoj prospektivnoj studiji (dihotomizacijom vrijednosti bazofila) vidljivo je da je bazopenija statistički značajno češća kod umjerene ili teške bolesti nego blaže bolesti ili remisije (procijenjeno dnevnim UAS-om; 79 % vs. 37%;  $p = 0,020$ ;  $V = 0,394$ ). Usporedbom dihotomiziranih skupina ostalih upitnika (UAS7, DLQI, CU-Q2oL, UCT) s brojem bazofila u krvi pokazano je da bazopenija nije bila česta. Usporedbom razine serumskih biomarkera među skupinama s različitom težinom KSU-a (blagi, umjereni i s velikim učinkom na kvalitetu života), broj bazofila bio je niži kod osoba s umjerenim ili velikim učinkom na narušenost dermatološke kvalitete života (mjereno upitnikom DLQI), a veličina učinka bila je umjerena i nešto veća za koncentraciju bazofila ( $p = 0,020$ ;  $r = -0,363$ ) nego za njihov postotak, iako bez statističke značajnosti ( $p = 0,037$ ;  $r = -0,327$ ). Prema našoj studiji koncentracija bazofila jedini je biomarker koji bi bio mogao biti upotrijebljen za procjenu težine KSU-a (određenu temeljem dnevnog UAS-a) (osjetljivost 78,6 %, specifičnost 63 %,  $p = 0,028$ , uz statističku značajnost). Koncentracija bazofila ima umjerenu točnost, bolje otkriva postojanje težeg oblika KSU-a, a lošije blaži oblik. Pokazali smo i da su bazofili bili prediktor težine bolesti tj. UAS-a. Tako je bazopenija statistički značajno povezana sa 6,2 puta većim izgledom za umjerenu ili tešku bolest procijenjenu upitnikom dnevni UAS (OR 6,2; 95 % CI 1,4 – 27,8;  $p = 0,017$ ).

Važna su i zapažanja povezana s međudnosom vrijednosti bazofila i liječenja omalizumabom u bolesnika sa KSU-om (anti-IgE). Također, prema Poddigheu i Vangelisti 2020. (100), sveukupna analiza triju ključnih ispitivanja [koja su proveli Gericke i sur. 2017. (101), Metz i sur. 2019. (102), i Akdogan i sur. 2019. (103) s ciljem procjene sigurnosti i učinkovitosti omalizumaba u bolesnika sa KSU-om] potvrdila su povećanje cirkulirajućih

bazofila u bolesnika liječenih omalizumabom u konvencionalnoj dozi (100). U prospektivnoj studiji MacGlashan i sur. iz 2021. ispitivane su promjene funkcije bazofila i njihov odnos prema autoantitijelima (u serumu) tijekom liječenja omalizumabom (104). Na uzorku od 18 pacijenata sa KSU-om (njih 17 je završilo studiju) u više vremenskih točaka (prije i tijekom liječenja) određivani su sljedeći parametri: ekspresija protutijela IgE i receptora FcεRI na površini bazofila, ekspresija stanične tirozin-kinaze slezene (SYK), oslobađanje histamina posredovanog IgE-om i autoantitijela u serumu. Prema dobivenim rezultatima bazopenija je bila uvelike povezana s prisutnim autoantitijelima usmjerenima na slobodni receptor FcεRI na površini bazofila, a broj bazofila nije se mijenjao tijekom liječenja. Također, ispitanici u kojih je zabilježena bazopenija nisu pokazali promjene u ekspresiji stanične tirozin-kinaze ili oslobađanja histamina tijekom liječenja. Pritom je uočena važnost postojanja autoantitijela usmjerenih prema receptoru FcεRI. Liječenje omalizumabom rezultiralo je sličnom kinetikom smanjenja površinskih vrijednosti FcεRI i IgE u svim trima skupinama (ispitanici s: (1.) bazopenijom; (2.) normalnim brojem bazofila s normalnim oslobađanjem histamina posredovanim IgE-om; i (3.) normalnim brojem bazofila s lošijim (manjim) oslobađanjem histamina). U pacijenata sa KSU-om, u kojih su bila prisutna autoantitijela na receptor FcεRI, zabilježena je bazopenija i odsutnost promjene broja bazofila tijekom liječenja omalizumabom, a pri odsutnosti autoantitijela uočene su promjene u broju bazofila koje odgovaraju rezultatima prethodnih studija astme i alergije na hranu (104).

Slično tomu, Tamer je u svojoj studiji (iz 2020.) u bolesnika sa KSU-om procijenila učinak omalizumaba na hematološke parametre i biomarkere upale (105). U retrospektivnoj studiji s uključenih 60 pacijenata liječenih omalizumabom, ispitivani su hematološki parametri i biomarkeri upale (omjer neutrofila/limfocita, monocita/limfocita, trombocita/limfocita i omjer volumena/broja trombocita) koji su uspoređeni prije početka liječenja i nakon 12 tjedana liječenja omalizumabom. Nakon liječenja omalizumabom uočeno je statistički značajno povećanje apsolutnog broja bazofila i postotka bazofila ( $p = 0,04$ ,  $p = 0,004$ ) (105). Slično je zapaženo i u našoj prospektivnoj studiji, gdje je bazopenija bila statistički značajno češća kod umjerenog ili teškog KSU-a nego kod blažeg KSU-a ili remisije (procijenjeno dnevnim UAS-om; 79 % vs. 37 %;  $p = 0,020$ ;  $V = 0,394$ ), iako mi nismo uključili bolesnike na omalizumabu. U studiji koju je provela Tamer 2020., nakon liječenja omalizumabom nije bilo statistički značajnog smanjenja apsolutnog broja eozinofila, postotka eozinofila, omjera neutrofila/limfocita, omjera monocita/limfocita i omjera volumena/trombocita, kao ni povećanja omjera trombocita/limfocita (105).

Deza i sur. u svojoj su studiji 2018. (provedenoj na 44 bolesnika sa KSU-om) pokazali postojanje veze između početne izraženosti bazofilnog receptora FcεRI i razdoblja/vremena do odgovora na omalizumab, s uočenim višim razinama ekspresije bazofilnog receptora FcεRI u onih koji su odgovorili na omalizumab unutar 4 tjedna [osobe koje brzo reagiraju, engl. *fast response* (FR)]. Međutim, nakon 4 tjedna terapije omalizumabom nisu primijećene bitne razlike u smanjenju ekspresije receptora FcεRI između onih koji su brzo i sporo odgovorili na omalizumab. Uočena je i pozitivna korelacija između razine ukupnog serumskog IgE-a i početne vrijednosti receptora FcεRI (106).

Zanimljivo je da su Gomuška i sur. u svojoj studiji 2021. procijenili spontano povećanje aktivnosti bazofila i njihov primarni profil u bolesnika sa KSU-om, na temelju ispitivanja 42 bolesnice (koje nisu primjenjivale antialergijske lijekove najmanje 14 dana prije vađenja krvi). Provedenom studijom procijenjena je prisutnost CD63 i CD63 + CD203c na površini bazofila testom protočne citometrije (test aktivacije bazofila – BAT). Rezultati su pokazali da je postotak aktiviranih bazofila (samo za ekspresiju CD63) statistički značajno veći u bolesnika sa KSU-om nego u kontrolnoj skupini ( $p < 0,05$ ) (107). U ovoj našoj prospektivnoj studiji, procjenom stanja nakon praćenja i liječenja bolesnika sa KSU-om (od ukupno 3 mjeseca) nije bilo statistički značajne povezanosti između težine KSU-a i koncentracije ili udjela bazofila u krvi tih bolesnika, vjerojatno zbog manjeg broja bolesnika s teškom kliničkom slikom KSU-a i uzimanja antihistaminika za vrijeme studije.

### **5.1.3. Vrijednosti hormona/protutijela štitnjače i ukupnog IgE-a u bolesnika sa KSU-om**

Sánchez i sur. proveli su 2019. studiju u pacijenata sa KSU-om s ciljem ispitivanja odnosa između IgE autoantitijela protiv antigena štitnjače (108). U studiju je bilo uključeno 100 bolesnika sa KSU-om (30 s autoimunom bolešću štitnjače i 110 zdravih ispitanika). U svih ispitanika procijenjen je ukupni IgE te IgE i IgG specifični anti-TPO, a izveden je i test aktivacije bazofila te kožni testovi s antigenom TPO (ASST). Istraživanje je provedeno kako bi se vidjelo može li TPO selektivno izazvati reakciju urtikarije u ispitanika s pozitivnim IgE anti-TPO, a ukupne serumske vrijednosti IgE-a određene su fluoroenzimskim imunotestom (ImmunoCap System, Uppsala, Švedska). Prema rezultatima te studije uočene su više vrijednosti IgE anti-TPO u bolesnika sa KSU-om, dok su vrijednosti anti-TPO bile više u bolesnika s autoimunom bolešću štitnjače. Nakon provedenog ASST-a s antigenom TPO u svih bolesnika (njih 100 sa KSU-om, među kojima 30 s autoimunom bolešću štitnjače) i

zdravih ispitanika, uočena je statistički značajno veća ekspresija CD203c na bazofilima bolesnika sa KSU-om u kojih je dokazan i IgE anti-TPO (33 %), nego u drugim skupinama [bolesnici sa KSU-om i dokazanom autoimunom bolešću štitnjače (14 %) i zdravi ispitanici (9 %)] ( $P < 0,05$ ). Pasivni prijenos IgE anti-TPO bolesnika sa KSU-om na kožu zdravih kontrola izazvao je pozitivnu kožnu reakciju (odnosno pojavu urtikarije). Stoga, iako IgE anti-TPO nije specifičan biomarker za KSU, IgE anti-TPO igra ulogu u patogenezi i poticanju aktivacije efektorskih stanica i egzacerbacije urtikarije kod nekih pacijenata sa KSU-om (108).

U našoj prospektivnoj studiji, anti-TPO kao potencijalni biomarker KSU-a nije korelirao s trajanjem KSU-a kao ni s težinom KSU-a ili kvalitetom života. Mogući razlog tomu mogli bi biti isključni kriteriji kojima smo unaprijed iz studije isključili pacijente s već poznatom autoimunom bolesti štitnjače. S druge strane, od serumskih biomarkera samo su vrijednosti hormona štitnjače tiroksina (T4) bile statistički značajno ovisne o trajanju bolesti (linearna, negativna i slaba korelacija;  $r = -0,328$ ;  $p = 0,036$ ). Tako su se s duljim trajanjem KSU-a smanjivale vrijednosti hormona T4 (prema regresijskoj jednadžbi  $y = 101 - 0,81x$ , porast dužine trajanja bolesti za 1 mjesec smanjuje koncentraciju hormona T4 za 0,81 nmol/L). Uz to, u našoj prospektivnoj studiji hormon štitnjače trijodtironin (T3) bio je linearno, umjereno pozitivno povezan s narušenom dermatološkom kvalitetom života (DLQI), pa je porast koncentracije vrijednosti T3 za 1 nmol/L povećavao narušenost dermatološke kvalitete života za 1 skalarni bod ( $y = 3,1 + 2,0y$ ;  $r = 0,371$ ;  $p = 0,017$ ). Također, vrijednost T4 bila je statistički značajno snižena u 27 % ispitanika s umjerenom ili teškom bolesti (dnevni UAS), što nije uočeno ni kod jednog bolesnika u remisiji ili s blažom bolesti ( $p = 0,010$ ;  $V = 0,457$ ). No, nije dokazana značajna linearna povezanost između dnevnog UAS-a i razine T4, a T4 nije bio prediktor dnevnog UAS-a.

Zhang i sur. proveli su 2022. metaanalizu s pregledom literature, s ciljem utvrđivanja stope prevalencije IgE i IgG autoantitijela u pacijenata sa KSU-om i njihove povezanosti s kliničkim i laboratorijskim parametrima (109). Tako su određivani: serumska IgE i IgG autoantitijela usmjerena protiv tiroidne peroksidaze (TPO) i tireoglobulina (TG), ukupni IgE (tIgE) i specifični IgE (mjereni upotrebom imunoenzimskog testa, kemiluminiscencijskim imunotestom mikročesticama i imunoblotingom). U metaanalizu bilo je uključeno ukupno 1100 odraslih pacijenata sa KSU-om (Kina, Han) i 1100 zdravih kontrolnih ispitanika, iz ukupno 15 centara. Dobiveni su statistički značajni rezultati po kojima pacijenti sa KSU-om imaju nekoliko puta veću vjerojatnost (4,98, 6,90 i 6,68 puta veću) postojanja pozitivnih IgE anti-TPO, IgG anti-TPO i IgG anti-TG (svi  $P < 0,001$ ) nego kontrole, a dokazana je i statistički

značajna pozitivna korelacija između stopa prevalencije IgE anti-TPO i IgG anti-TPO ( $r = 0,53$ ,  $P = 0,025$ ). U pacijenata sa KSU-om stope prevalencije IgE anti-TPO, IgG anti-TPO, IgE anti-TG ili IgG anti-TG bile su značajno veće od onih u kontrolnoj skupini. Uočene su statistički značajne korelacije između stopa prevalencije IgE anti-TPO i IgG anti-TPO, kao i statistički značajna korelacija između IgE anti-TG i IgG anti-TG u bolesnika sa KSU-om. Bolesnici s dokazanim IgE anti-TPO ili IgG anti-TPO imali su statistički značajno niže razine ukupnog IgE-a ( $P < 0,001$ ). Prema tim rezultatima, pozitivni IgE anti-TPO, pozitivni IgG anti-TPO i ukupni IgE  $< 40$  IU/mL neovisni su prediktori rezistentnosti na liječenje antihistaminicima. To upućuje na to da su stope prevalencije IgE i IgG autoantitijela u bolesnika sa KSU-om značajno povišene i obrnuto koreliraju, što potvrđuje rezultate prethodnih studija provedenih u bolesnika sa KSU (109).

Esmaeilzadeh i sur. prikazali su 2022. rezultate presječne studije radi ispitivanja povezanosti atopije s povišenim IgE-om na inhalacijske alergene i KSU-a (provedenu kod 91 pacijenta sa KSU-om) (110). Pritom je razina IgE-a mjerena komercijalnim enzimskim imunotestom (IgE veći od 100 IU/ml smatran je pozitivnim) i funkcijskim testom pluća (engl. *pulmonary function test*, PFT) koji je učinjen radi dokaza dijagnoze astme [smanjenje forsiranog ekspiracijskog volumena od 15 % ili više na kraju prve sekunde (FEV1) nakon vježbanja ili povećanje od 12 % i više nakon primjene salbutamola dijagnosticirano je kao astma]. Rezultati su klinički usklađeni za ispitivanje alergijskog rinitisa i astme. Nalaz kožnog ubodnog testa (engl. *skin prick test*, SPT) bio je pozitivan u 82,4 % ispitanika, a najčešće pozitivne reakcije bile su na korove (73,6 %), drveće (67 %) i grinje (60,4 %). Od atopijskih bolesti 40,7 % ispitanika imalo je alergijski rinitis, a uočena je i statistički značajna povezanost između prisutnosti alergijskog rinitisa i pozitivnog rezultata SPT-a ( $p = 0,002$ ). Alergijsku astmu imalo je 8,8 % bolesnika, a 49,4 % bolesnika imalo je ukupnu razinu serumskog IgE-a iznad 100 IU/ml. To upućuje na jasnu povezanost između dokazane preosjetljivosti na inhalacijske alergene i razvoja KSU-a, kao i na alergijski rinitis kao čest komorbiditet KSU-a (110). U ovoj našoj prospektivnoj studiji povišene vrijednosti IgE-a (veće od 100 IU/ml) utvrđene su u 46 % bolesnika, što odgovara rezultatima navedene studije. Prema našim rezultatima, ukupni IgE nije korelirao s trajanjem i težinom KSU-a ni kvalitetom života bolesnika sa KSU-om, a nije bilo ni značajne razlike u koncentraciji IgE-a nakon 3 mjeseca (39 % bolesnika imalo je povišen ukupni IgE).

U retrospektivnoj presječnoj studiji iz 2020. koju su proveli Alen Coutinho i sur. cilj je bio otkriti fenotipove bolesnika sa KSU-om rezistentne na standardnu dozu H1 antihistaminika i potražiti kliničke čimbenike povezane s lošijom kontrolom bolesti (111). U studiju je bio

uključen 61 odrasli bolesnik sa KSU-om rezistentan na odobrene doze liječenja H1-AH te su bolesnici promatrani tijekom godinu dana. Pacijenti su procijenjeni prema demografskim podacima, podtipovima urtikarije, angioedemu, pridruženim komorbiditetima te su njihovi podatci (o obradi i liječenju) prikupljeni iz medicinske dokumentacije u vrijeme procjene kontrole KSU-a, primjenjujući dva pristupa podacima: (1.) značajna egzacerbacija – definirana kao egzacerbacija KSU-a koja je zahtijevala neplanirane medicinske konzultacije, hitni prijam, hospitalizaciju ili izostanak s posla tijekom prethodne godine; (2.) rezultati kontrole i aktivnosti bolesti mjerene UCT-om i upitnikom UAS7. Prema toj studiji, KSU je utvrđen u 55,7 % bolesnika, KSU povezan s pridruženom kroničnom induciranom urtikarijom (kao komorbiditetom) u 44,3 %, a angioedem u njih 55,7 %. Medicinski potvrđeni psihijatrijski poremećaji bili su dokazani u 78,7 %. Dodatni komplementarni dijagnostički testovi provedeni su u slučajevima težeg KSU-a ( $UAS7 \geq 28$  i/ili  $UCT < 12$ ) ili duljeg trajanja KSU-a ( $> 1$  godine), što je bilo u 42 testirana bolesnika. Dokazi autoimunosti nađeni su u 45,2 %, pritom dokazanih pozitivnih protutijela anti-TPO, ANA ili ASST, a visok CRP bio je utvrđen u 14,3 % bolesnika, polovica njih također je imala pozitivan titar ANA. Također, većina bolesnika (75,4 %) imala je najmanje jednu znatnu egzacerbaciju koja je zahtijevala liječnički pregled, hitni prijam, hospitalizaciju ili izostanak s posla. Uočena je statistički značajna korelacija između broja egzacerbacija i pojave angioedema ( $p = 0,022$ ), svježe (nedavno postavljene) dijagnoze ( $< 1$  godine) i težeg KSU-a (UAS7) ( $p = 0,006$ ). Iako je inducirana urtikarija bila statistički značajno povezana s loše kontroliranom bolesti, bila je povezana i s manjim brojem egzacerbacija koje zahtijevaju liječničko promatranje ili hospitalizaciju. Svi su pacijenti uzimali antihistaminike, a njih 23,1 % bili su ujedno liječeni i omalizumabom, ciklosporinom ili montelukastom zbog postizanja bolje kontrole bolesti. To sveukupno upućuje na to da autoimunost može utjecati na 50 % bolesnika s teškim ili dugotrajnim KSU-om, pri čemu je UAS7 (kao pokazatelj aktivnosti urtikarije) uvelike povezan s pojavom egzacerbacija i dozama liječenja (111).

U studiji Čildaž i sur. iz 2021. ispitivane su vrijednosti IgE anti-TPO u bolesnika sa KSU-om i u bolesnika s Hashimotovim tireoiditisom (112). Uključeno je 175 ispitanika (59 bolesnika sa KSU-om bez Hashimotova tireoiditisa, a 58 bolesnika s Hashimotovim tireoiditisom bez KSU-a) i 58 zdravih sudionika (kontrolna skupina). Razine serumskih IgE anti-TPO analizirane su tehnikom enzimskog imunosorbentnog ispitivanja (tehnika je modificirana). Pritom su protutijela IgE anti-TPO otkrivena u svim trima skupinama i u svih ispitanika, a nije bilo značajne razlike između triju skupina prema razini IgE anti-TPO. Iako su razine ukupnog IgE-

a i IgE anti-TPO bile više kod IgG anti-TPO pozitivnog KSU-a, nije bilo statističke značajne razlike. To upućuje na to da IgE anti-TPO protutijela nemaju patogenu ulogu u većine bolesnika sa KSU-om (112). Slično tomu pokazala je i naša prospektivna studija u kojoj vrijednosti anti-TPO kao biomarkera KSU-a nisu korelirale s trajanjem KSU-a, kao ni sa težinom KSU-a ili kvalitetom života, a mogući su razlog isključni kriteriji kojima smo bolesnike s već poznatom autoimunom bolesti štitnjače unaprijed isključili iz studije.

U studiji iz 2023. Asero i sur. proučavali su u bolesnika sa KSU-om može li autoimunost štitnjače zajedno s ukupnim IgE-om predvidjeti odgovor na omalizumab (113). U studiju je bilo uključeno 385 pacijenata s teškim KSU-om koji nisu reagirali na antihistaminike (u bilo kojoj dozi), kao ni na omalizumab. Prosječno trajanje bolesti bilo je 58 mjeseci (raspon 2 – 720 mjeseci), a početna razina UAS7 bila je  $> 28$  u svim slučajevima. Pritom su IgG anti-TPO autoantitijela i ukupni IgE mjereni komercijalnim enzimskim fluoroimunim testovima, EliA anti-TPO i EliA ukupni IgE s pomoću analizatora Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, SAD). Za autoimunost štitnjače smatrala se prisutnost pozitivnog anti-TPO testa, neovisno o funkcionalnom statusu štitnjače, a vrijednosti  $> 60$  IU/mL smatrane su pozitivnima. Prema rezultatima je 24 % bolesnika imalo pozitivan IgG anti-TPO. Na liječenje omalizumabom 52 % bolesnika pokazalo je rani odgovor (engl. *early response*, ER), njih 22 % kasni odgovor (engl. *late response*, LR), njih 1 0% stanje bez odgovora na terapiju (engl. *non-response*, NR) i 16 % pozitivan odgovor na terapiju (engl. *positive response*, PR). Ukupno je u 24 % bolesnika dijagnosticirana autoimunosna bolest štitnjače. Odgovor na omalizumab nije bio povezan sa spolom ( $p = 0,38$ ), dobi ( $p = 0,22$ ) ili autoimunosti štitnjače. Nisu otkrivene statistički značajne razlike u odgovoru bolesnika na omalizumab gledajući dokazana protutijela prema štitnjači, tj. između pacijenata s niskim (60 – 500 IU/mL) i visokim ( $> 500$  IU/mL) razinama IgG anti-TPO. Pronađena je pozitivna povezanost između odgovora na omalizumab i dihotomiziranih razina IgE-a (niskih/visokih), koja je uglavnom potaknuta snažnom povezanosti s ranim odgovorom (OR = 5,46). Pritom s povećanjem razine IgE-a značajno raste vjerojatnost ranog odgovora (113).

Prema istoj studiji, odgovor na omalizumab nije bio povezan s autoimunošću štitnjače, ali je pronađena statistički značajna pozitivna povezanost između razina IgE-a i odgovora na omalizumab ( $p < 0,0001$ ) koja je uglavnom bila uzrokovana ranim odgovorom na omalizumab. Ipak, sama autoimunost štitnjače ne može se upotrebljavati kao klinički prediktor odgovora na omalizumab, a u bolesnika s teškim KSU-om ukupne razine IgE-a ostaju jedini i najpouzdaniji prognostički marker odgovora na omalizumab (113). U našoj prospektivnoj studiji nije bilo

značajne razlike u koncentraciji ukupnog IgE-a u inicijalnom (T1) i u kontrolnom (T2) mjerenju (nakon 3 mjeseca praćenja i liječenja bolesnika sa KSU-om), što je i očekivano. Također, ukupni IgE nije korelirao s trajanjem i težinom KSU-a ni kvalitetom života bolesnika sa KSU-om, a nije bilo ni značajne razlike u koncentraciji IgE-a nakon 3 mjeseca praćenja i liječenja (39 % naših pacijenata imalo je povišen ukupni IgE).

Altrichter i sur. u svojem su preglednom radu 2021. prikazali 141 studiju koje su istraživale KSU i ukupni IgE, po kojima su u bolesnika sa KSU-om često povišene serumske razine ukupnog IgE-a (do 50 %), ali su moguće i normalne ili vrlo niske razine ukupnog IgE-a (114). Visok ukupni IgE može predstavljati visoku aktivnost bolesti, dulje trajanje bolesti, visoku vjerojatnost odgovora na liječenje omalizumabom, brzi recidiv nakon prestanka uzimanja omalizumaba i manju vjerojatnost odgovora na ciklosporin. Nasuprot tomu, nizak ukupni IgE može upućivati na autoimunosti KSU tipa IIB, slab odgovor na liječenje omalizumabom i veću vjerojatnost učinka liječenja ciklosporinom. Nadalje, IgE u različitim skupinama bolesnika sa KSU-om može imati različita fizikalno-kemijska svojstva koja bi mogla objasniti razlike u odgovorima na liječenje lijekovima usmjerenima na IgE. Takav uvid u brojne dosadašnje studije upućuje na to da je ukupni IgE vrijedan marker za KSU te se preporučuje njegovo određivanje u rutinskoj dijagnostičkoj obradi pacijenata sa KSU-om (114).

Čakmak i sur. u svojoj su studiji 2022. također potvrdili dobar odgovor na liječenje omalizumabom u bolesnika s KU-om koji su atopičari s visokim eozinofilima, visokim bazofilima i visokim ukupnim razinama IgE-a (115). Studija je provedena na 220 pacijenata s KU-om koji su primali 300 mg sc. omalizumaba svaka 4 tjedna. Prema rezultatima tog istraživanja, broj eozinofila u krvi ( $p < 0,001$ ), razina ukupnog IgE-a ( $p < 0,001$ ) i broj bazofila u krvi ( $p = 0,004$ ) bili su statistički značajni u predviđanju odgovora na liječenje omalizumabom u bolesnika s KU-om (115).

#### **5.1.4. Vrijednosti D-dimera u bolesnika sa KSU-om**

Istraživanje L. de Montjoye i sur. koje je provedeno 2021. u bolesnika sa KSU-om koji reagiraju na H1 antihistaminike nije dokazalo korelaciju između razina D-dimera u serumu i aktivnosti bolesti (mjerene upitnikom UAS7), ( $p = 0,069$ ) (96). Nasuprot tomu, u bolesnika sa KSU-om koji ne reagiraju na H1 antihistaminike uočene su statistički značajno više serumske vrijednosti D-dimera ( $p < 0,0001$ ) nego u onih koji reagiraju na H1 antihistaminike ( $p = 0,009$ ). Štoviše, serumske vrijednosti CRP-a i D-dimera bile su u statistički značajnoj pozitivnoj korelaciji ( $p < 0,0001$ ). Uz to, u slučaju dokazane autoimunosti vrijednosti D-dimera u serumu bile su više ( $p$



= 0,016), a broj bazofila u krvi snižen ( $p = 0,057$ ). Tijekom liječenja omalizumabom, uočene su statistički značajno smanjenje serumske vrijednosti CRP ( $p = 0,0038$ ) i D-dimera ( $p = 0,0002$ ) (96). Prema našoj prospektivnoj studiji, vrijednosti D-dimera u serumu nisu korelirale s trajanjem, težinom i kontroliranosti KSU-a ni kvalitetom života bolesnika sa KSU-om, kao ni s ostalim serumskim biomarkerima KSU-a. Također, nakon provedenog standardnog liječenja KSU-a antihistaminicima tijekom ukupno 3 mjeseca, vrijednosti D-dimera nisu se statistički značajno promijenile u odnosu na početno mjerenje. Moguće objašnjenje navedenog mogao bi biti manjak bolesnika s teškim oblikom KSU-a i uzimanje antihistaminika (antihistaminici nisu bili izostavljeni iz terapije tijekom provođenja studije), a također u terapiju nije bio uključen omalizumab.

Criado i sur. proveli su 2021. studiju u 55 bolesnika sa KSU-om kako bi usporedili težinu i aktivnost KSU-a sa serumskim razinama D-dimera, CRP i testom ASST (116). Vrijednosti D-dimera mjerene su enzimski vezanim fluorescentnim testom, CRP nefelometrijskom metodom, a testiranje ASST provedeno je u pacijenata koji su prekinuli terapiju antihistaminicima. Kontroliranost bolesti procijenjena je upitnikom UCT. Prema rezultatima su pacijenti s teškim, spontanom i teško kontroliranim KSU-om imali statistički značajno povišene vrijednosti D-dimera u serumu, kao i pozitivan ASST. Također je pokazana mala korelacija između težine KSU-a i CRP-a. Većina pacijenata s težim KSU-om imala je visoke vrijednosti D-dimera. Rezultati su uputili na zaključak da pacijenti s teškim KSU-om pokazuju znakove aktivirane fibrinolize. Pacijenti s pozitivnim rezultatima ASST-a imali su teži KSU i trebali su više lijekova za kontrolu bolesti. Konačno, pronađena je mala korelacija između razine CRP-a i težine bolesti (116). U našoj prospektivnoj studiji, nakon 3 mjeseca praćenja i liječenja KSU-a jedino je CRP korelirao s UCT-om ( $r = -0,459$ ;  $p = 0,014$ ) (pritom se s porastom CRP-a značajno snižavala kontrola bolesti), dok ostali serumski biomarkeri KSU-a (uključujući D-dimere) nisu pokazali korelaciju između inicijalnog (T1) i kontrolnog (T2) mjerenja.

#### **5.1.5. Vrijednosti ANA u bolesnika sa KSU-om**

Arunkajohnsak i sur. u svojoj su prospektivnoj studiji 2022. usporedili kliničke značajke pacijenata sa KSU-om s pozitivnim titrom ANA i onih s negativnim titrom ANA (117). Od 323 bolesnika sa KSU-om koji su sudjelovali u studiji, njih 31 % imalo je pozitivnu ANA (izmjerenu imunofluorescentnom tehnikom sa supstratom stanica Hep-2), s vrijednostima izraženima u titru (granična vrijednost za definiranje pozitivne ANA bila je 1 : 100). Nije bilo značajnih razlika u skupinama prema težini bolesti ili smanjenju kvalitete života. Bolesnici s

pozitivnim ANA titrom imali su statistički značajno višu razinu SE-a ( $p = 0,007$ ), statistički značajno nižu prevalenciju alergijskog rinitisa ( $p = 0.048$ ). Prema Kaplan-Meierovoj metodi iz 1958. (118) proučavanjem preživljenja pacijenata sa KSU-om s pozitivnim ANA titrom, 2 % tih pacijenata postiglo je remisiju nakon jedne godine, a 28 % nakon pet godina. Nije bilo statistički značajne razlike u vremenu do remisije i vremenu do relapsa između ANA-pozitivnih i ANA-negativnih skupina (117). U našoj prospektivnoj studiji većina pacijenata sa KSU-om (78 %) nije imala autoimunosnu podlogu (titar ANA negativan ili manji od 1 : 160), dok je njih 22 % imalo autoimunosnu podlogu (titar ANA jednak ili veći od 1 : 160) koja nije bila povezana s težinom KSU-a. U literaturi je dokazano da je ANA češće pozitivna u bolesnika sa KSU-om, no autoimunosne bolesti u bolesnika sa KSU-om često se dijagnosticiraju tek 10 godina nakon početka simptoma KSU-a (30). To objašnjava zašto u našoj prospektivnoj studiji nije pokazana statistički značajna povezanost između titra ANA i KSU-a, kao ni statistički značajna razlika u titru ANA između inicijalnog mjerenja (T1) i kontrolnog (T2) mjerenja, s obzirom na to da je medijan trajanja bolesti KSU-a u naših pacijenata bio 7 mjeseci, odnosno u većine bolesnika (njih 44 %) bolest je trajala između 3 i 6 mjeseci (najduže trajanje bolesti bilo je 5 godina i 4 mjeseca).

#### **5.1.6. Vrijednosti vitamina D u bolesnika sa KSU-om**

Većina studija je u pacijenata sa KSU-om pokazala znatno niže razine vitamina D u serumu nego u zdravih ispitanika (kontrolna skupina). U jednoj metaanalizi, Tuchinda i sur. proučavali su 2018. odnos između vitamina D i KSU-a, tj. serumskih razina vitamina D i ishoda nadoknade vitamina D (119). Pretraživanjem literature u elektroničkim bazama podataka (PubMed, Scopus, Web of Science, MEDLINE, The Cochrane Library i CINAHL), relevantnih članaka i upotrebom pojma za pretraživanje „kronična urtikarija i nedostatak ili manjak vitamina D ili 25(OH)D ili nedostatak ili manjak 1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamina D”, pronašli su ukupno 140 potencijalno relevantnih studija. One su se ponajprije odnosile na određivanje razine serumskog vitamina D u bolesnika sa KSU-om i rezultate nadoknade vitaminom D u njih (119). Većina studija pokazale su znatno niže razine vitamina D u bolesnika sa KSU-om nego u ispitanika iz kontrolne skupine (68,120-129). S druge strane, studija Wu i sur. 2015. pokazala je značajno više razine vitamina D u bolesnika sa KSU-om nego u ispitanika iz kontrolne skupine (130), a studija Lee i sur. 2017. nije pokazala značajnu razliku u razinama vitamina D između bolesnika sa KSU-om i kontrolne skupine (131). Studije su također uspoređivale serumske razine vitamina D pacijenata sa KSU-om s vrijednostima vitamina D u pacijenata s drugim bolestima,

kao što su akutna urtikarija (124,131), atopijski dermatitis (124) i alergijski rinitis (120). Prema tim istraživanjima, razina vitamina D bila je značajno niža u bolesnika sa KSU-om nego u bolesnika s atopijskim dermatitisom i alergijskim rinitisom (120,124). Prema istraživanju Lugović-Mihić i sur. iz 2022. koje je uključilo bolesnike s KU-om (kao i one s atopijskim dermatitisom i kontaktnim dermatitisom), razina vitamina D nije se značajno razlikovala prema dobi, spolu ili području stanovanja ni prema prisutnosti i vrsti alergije (70). Nedostatak vitamina D najčešće je bio uočen u bolesnika s iritativnim kontaktnim dermatitisom, a najrjeđe u bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom (iako to nije bilo statistički značajno). U ispitanika koji su nadomjesno primali vitamin D njihove serumske vrijednosti vitamina D znatno su se povećale s poboljšanjem kliničkog stanja koje je češće uočeno u njih nego u skupini koja nije primila nadoknadu (69,8 prema 58,1;  $p = 0,428$ , iako bez statističke značajnosti) (70). Prema ranije spomenutoj metaanalizi Tuchinda i sur. iz 2018., manji broj studija koje ispituju vrijednosti serumskog vitamina D u bolesnika sa KSU-om (četiri od 11 studija) utvrdio je statistički značajnu povezanost između niskog serumskog vitamina D i visoke aktivnosti bolesti KSU, dok većina (sedam studija) nije pronašla ovu značajnu povezanost (119). Također, većina studija nije pokazala povezanost između niske serumske razine vitamina D i trajanja bolesti KSU (68,120,122,128-129).

Drugi autori izvijestili su o povezanosti između vrijednosti vitamina D u serumu bolesnika sa KSU-om i drugih parametara uključujući SE (121), CRP (68), serumski IgE (122-123,126-128), IL-17 i transformirajući faktor rasta  $\beta 1$  (121), autoantitijela štitnjače (120,126), ASST (68,120-121,124,127,129). Pokazalo se da postoji značajna povezanost niske razine vitamina D u serumu i visokih razina SE-a, ukupnog IgE-a, IL-17 i transformirajućeg faktora rasta  $\beta 1$  (121-122). U tim je studijama nadoknada vitamina D trajala između 4 i 12 tjedana, a potom su razine vitamina D u serumu procijenjene u 4 studije (125,132-133). Četiri od jedanaest studija utvrdile su značajno smanjenje aktivnosti bolesti nakon nadoknade visokim dozama vitamina D (vitamin D2, 140 000 IU/tjedan; vitamin D3, 60 000 – 75 000 IU/tjedan; i nepoznati oblik vitamina D, 50 000 jedinica/tjedan) (125-126,134). Uz to, prikaz jednog slučaja Sindher i sur. 2012. upućuje na to da liječenje niskim dozama vitamina D (400 IU/dan) tijekom dva mjeseca nije smanjilo aktivnost urtikarije, ali je pri višoj dozi (2000 IU/dan) dokazano njezino potpuno povlačenje čak i bez antihistaminika (133). Jedna studija koju su proveli Rorie i sur. 2014. također je izvijestila o znatnom smanjenju aktivnosti bolesti nakon nadoknade visokim dozama vitamina D (4000 IU/dan), u usporedbi s nadoknadom niskim dozama vitamina D (600 IU/dnevno) (132). U našoj prospektivnoj studiji bolesnika (tijekom 3 mjeseca) koji su liječeni

antihistaminicima i nadoknadom vitamina D (ovisno o vrijednostima vitamina D u serumu u T1), uočeno je statistički značajno povećanje vrijednosti vitamina D, uz umjerenu veličinu učinka ( $p = 0,020$ ;  $r = -0,446$ ). Prema vrijednosti vitamina D u serumu u inicijalnom mjerenju (T1) (59,0; 44,0 – 74,0) i u kontrolnom (T2) mjerenju (75,0; 53,0 – 98,0), vidljivo je statistički značajno povećanje vrijednosti vitamina D u kontrolnom (T2) mjerenju ( $N = 27$ ,  $p = 0,020$ ). Prema našem prospektivnom praćenju, 19/28 bolesnika sa KSU-om u kontrolnom (T2) mjerenju uzimalo je nadoknadu vitaminom D tijekom ukupno 3 mjeseca (od čega je njih 10/19 uzimalo kolekalciferol [ $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ] ampulu od 25 000 IU jednom tjedno tijekom mjesec dana, potom dvaput mjesečno tijekom 2 mjeseca, a ostalih 9/19 uzimalo je kolekalciferol u kapima u rasponu od 4 do najviše 7 kapi dnevno (800 – 1400 IU) tijekom 3 mjeseca.

## 5.2. Vrijednosti biomarkera KSU-a u slini bolesnika sa KSU-om

Uvidom u dosad objavljene radove uočava se nedostatak studija koje uključuju određivanje biomarkera KSU-a u slini, već su se proučavali samo serumski biomarkeri. S obzirom na to da je salivarna dijagnostika brza i neinvazivna, a slina kao uzorak jednostavnija za rukovanje i analizu od seruma, postoji potreba za više spoznaja o biomarkerima (čimbenicima) KSU-a određivanima u slini. Također postoji potreba za češćim uvođenjem salivarne dijagnostike u rutinsku obradu, a ne samo za potrebe znanstvenog istraživanja.

Zhang i sur. u svojoj su studiji provedenoj 2008. u odraslih pacijenata s kroničnom upalnom bolesti usne šupljine (u Kini), utvrdili statistički značajnu korelaciju između razina IL-6 u slini i serumu (55). Također su Pfaffe i sur. 2011. te Granger i sur. 2012. u zdravih ispitanika pokazali statistički značajnu povezanost IL-6 u slini i serumu koja je bila umjerena, te su zaključili da se i slina može upotrijebiti za procjenu IL-6 (56-57).

U ovoj našoj prospektivnoj studiji zbog očekivane interindividualne i intraindividualne varijabilnosti IL-6 u slini (koncentracija IL-6 u slini nije konstantna), amilaza je izabrana za referentni analit jer je konstantna u slini bez obzira na njezinu koncentraciju. Tako je u našoj studiji izražen relativni omjer između salivarnog IL-6 i amilaze pa su se tako tumačili rezultati.

U ovoj našoj prospektivnoj studiji, pri procjeni IL-6 u slini bolesnika sa KSU-om analiza varijabilnosti salivarnog IL-6 pokazala je veliku interindividualnu varijabilnost (29,2 i 29,5 pg/mL za prvo i drugo određivanje). Prosječna intraindividualna varijabilnost IL-6 bila je mala, ali je uočeno nešto veće raspršenje (prosječna razlika dvaju očitavanja  $-1,3 \pm 11,9$  pg/mL; 95-postotni interval pouzdanosti  $-5,1 - 2,5$ ). Statistički gledano, Wilcoxonov test pokazao je da nema znatnih razlika između prvog i ponovljenog mjerenja. Intraklasni korelacijski koeficijent

bio je statistički značajno visok  $r = 0,918$  (95 % CI 0,852 – 0,955;  $p < 0,001$ ), što potvrđuje dobru ponovljivost. To upućuje na dosljednost, odnosno sukladnost mjerenja koje je izvedeno na više uzoraka na istom broju ispitanika čime se tako umanjila nedosljednost sline kao dijagnostičkog uzorka.

Prema rezultatima naše prospektivne studije salivarni IL-6 u bolesnika sa KSU-om uglavnom je bio povećan ( $\geq 5,37$  pg/mL), a tek u pojedinim (3 ispitanika) u referentnom rasponu. Također, kada su razine salivarnog i serumskog IL-6 dihotomizirane (referentni raspon vs. povećane varijable i uspoređenje s dihotomiziranim skupinama prema težini KSU-a), razlike također nisu bile statistički značajne. Prema ovoj našoj studiji nije bilo linearne korelacije između vrijednosti IL-6 (serumskog i salivarnog IL-6) i težine KSU-a kao ni s jednim upitnikom procjene stanja bolesti. Nije bilo značajne linearne povezanosti između serumskog i salivarnog IL-6 ni povezanosti serumskih i salivarnih IL-6 s trajanjem bolesti. Većina ispitanika s normalnim vrijednostima serumskog IL-6 imala je povećan salivarni IL-6 (92 %).

Također, vrijednosti serumskog i salivarnog IL-6 te omjer salivarnog IL-6 i amilaze nisu se znatno razlikovale između skupina prema težini KSU-a ni kada su skupine dihotomizirane. Mogući razlog izostanka značajnije razlike serumskog i salivarnog IL-6 među skupinama težine KSU-a jest manji broj težih i umjerenih oblika KSU-a u odnosu na blagi oblik bolesti. Vrijednosti salivarnog IL-6 (prosjeck dvaju uzoraka sline) u inicijalnom mjerenju (T1) bile su nešto češće povećane kod blažeg KSU-a nego kod umjerenog ili teškog KSU-a (mjereno upitnikom UAS7) (95 % vs. 91 %), također nešto češće povećane u bolesnika s manjim učinkom na narušenost dermatološke kvalitete života nego bolesnika s umjerenim ili velikim učinkom na narušenost dermatološke kvalitete života mjerene upitnikom DLQI (96 % vs. 90 %), zatim češće povećane u bolesnika s velikim nego s umjerenim učinkom na narušenost kvalitete života specifične za KU mjerene upitnikom CU-Q2oL (94 % vs. 88 %) te su naposljetku zapažene veće vrijednosti kod nekontroliranog nego kod dobro kontroliranog KU-a mjereno upitnikom UCT (95 % vs. 75 %). Ipak, pritom nije bilo statistički značajne razlike između tih parametara i mali je broj ispitanika imao vrijednost unutar referentnog raspona ( $N = 3$ ).

Pri usporedbi salivarnog IL-6 s drugim serumskim biomarkerima KSU-a uočena je statistički značajna linearna korelacija između salivarnog IL-6 i CRP ( $r = 0,316$ ;  $p = 0,044$ ). Nije uočena povezanost serumskog i salivarnog IL-6 s ostalim biomarkerima, a također nijedan od njih nije bio povezan s omjerom salivarnih IL-6 i amilaze. Usporedbom utjecaja postojanja autoimunosti mjerene povišenim titrom ANA na vrijednosti biomarkera kod KSU-a, nije bilo razlike u razini

serumskog IL-6 i salivarnog IL-6 te omjera salivarnog IL-6 i amilaze između osoba s autoimunom podlogom bolesti i bez nje (temeljem titra ANA). Nije bilo značajne razlike ni pri usporedbi vrijednosti ANA sa skupinama serumskih i salivarnih IL-6 (autoimunosnu podlogu imala su samo 4 ispitanika). Gledajući autoimunosnu podlogu u bolesnika, nijedan ispitanik s povećanim serumskim IL-6 nije imao autoimunosnu podlogu, ali je ona dokazana u 17 % ispitanika s normalnim serumskim IL-6. Također, 15 % ispitanika s povećanim salivarnim IL-6 imalo je autoimunosnu podlogu, dok među bolesnicima s normalnim vrijednostima salivarnog IL-6 nitko nije imao autoimunu bolest.

Prema našim spoznajama, naša je studija prva studija koja je ispitivala neki biomarker KSU-a u slini pa se nadamo i budućim studijama i iskustvu o toj temi.

### **5.3 Značenje upitnika težine KSU-a, kontrole bolesti i kvalitete života bolesnika sa KSU-om**

Gledajući vrijednosti pokazatelja bolesti i biomarkera KSU-a, u literaturi se uočavaju studije iz raznih zemalja koje su dale važne rezultate (91). Studija Stulla i sur. 2016. (autora iz SAD-a i UK-a) pokazala je gotovo savršenu korelaciju između simptoma KSU-a (mjenjenih upitnikom UAS7) i promjena u kvaliteti i narušenosti života bolesnika tijekom istog razdoblja (mjenjene upitnicima DLQI i CU-Q2oL) (135). Uz težinu bolesti i kvalitetu života bolesnika sa KSU-om, ispitivala se i kontrola bolesti. Prema drugom istraživanju Brzoze i sur. 2022. (autora iz Poljske), u pacijenata sa KSU-om uočena je snažna povezanost između aktivnosti bolesti (UAS), utjecaja na kvalitetu života specifičnu za KU (CU-Q2oL) i kontrole KSU-a (UCT), pri čemu su UCT i CU-Q2oL pokazivali najveću korelaciju (136). U jednoj studiji (autora iz Turske) Kocatürka i sur. 2019. zabilježena je izraženija negativna korelacija između UCT rezultata i aktivnosti bolesti tijekom 28 uzastopnih dana (UAS28) i CU-Q2oL (92). Druga studija Khoshkhuija i sur. 2021. (autora iz Irana) pokazala je korelaciju između rezultata perzijskog UCT-a i ukupnog rezultata CU-Q2oL i UAS-a, što upućuje na očekivanu povezanost/korelaciju (137). Jedna studija Dortas Juniora i sur. 2020. (autora iz Brazila) pokazala je da njihovi rezultati UCT-a snažno koreliraju s rezultatima upitnika UAS7 i UAS28, što upućuje na postojanje međusobne povezanosti obaju upitnika (138). Prema jednoj studiji Sáncheza i sur. (autora iz Kolumbije) iz 2018., primjena preporuka međunarodnih smjernica za KSU dovela je do velike kontrole bolesti, procijenjene bodovanjem težine i percepcije pacijenata o kvaliteti života (139). Međutim, autori iz ekspertnog centra za urtikariju (iz

Njemačke) Maurer i sur. 2020. istaknuli su znatnu razliku između preporuka za liječenje KSU-a i kliničke prakse u stvarnosti, što također treba uzeti u obzir (87).

Uspoređujući rezultate iz upitnika primijenjenih u ispitivanju naših bolesnika sa KSU-om u ovoj prospektivnoj studiji, statistički značajna razlika uočena je kod analize težine KSU-a, kontrole bolesti, narušene dermatološke kvalitete života (DLQI) i narušene kvalitete života specifične za KU (CU-Q2oL) koje su statistički značajno korelirale u rasponu od umjerene do vrlo velike ( $r = -0,340 - 0,838$ ;  $p \leq 0,030$ ). Najsnažnija korelacija dokazana je između narušene dermatološke kvalitete života i specifične narušene kvalitete života zbog KSU-a (linearna pozitivna), a slabija korelacija između kontrole KSU-a mjerene UCT-om i dnevne aktivnosti KSU-a mjerene dnevnim UAS-om (linearna negativna). Težina bolesti bolje je korelirala s narušenom dermatološkom kvalitetom života (DLQI) nego kontroliranosti KSU-a (UCT), kontroliranost KSU-a (mjerena UCT-om) bolje je korelirala s težinom KSU-a (mjerena dnevnim UAS-om) nego s narušenom dermatološkom kvalitetom života (mjerena upitnikom DLQI). Narušena dermatološka kvaliteta života (DLQI) bolje je korelirala s težinom KSU-a (dnevni UAS), nego s kontroliranosti KSU-a (UCT) (prema regresijskoj jednadžbi  $y = 0,7 + 0,4x$ , za svaki skalarni bod povećanja težine KSU-a raste njegov utjecaj na narušenu dermatološku kvalitetu života za 0,4 skalarna boda; prema regresijskoj jednadžbi  $y = 10,9 - 0,2x$ , za svaki skalarni bod povećanja aktivnosti KSU-a smanjuje se njegova kontroliranost za 0,2 skalarna boda).

Također, gledajući dnevni UAS, Jauregui i sur. utvrdili su 2019. da je za pacijente sa KSU-om dnevni UAS valjan upitnik za procjenu aktivnosti bolesti u kliničkoj praksi (zabilježeno u bolesnika koji govore španjolski, koji ima sličnu pouzdanost i valjanost kao i druge jezične verzije jednodnevne i dvodnevne varijante UAS-a) (140). Slično smo dokazali u našoj pokusnoj studiji (kao i ovoj studiji) u hrvatskoj populaciji (91). Također su i brojne druge studije na pacijentima s KU-om potvrdile značajnu povezanost serumske razine IL-6, aktivnosti bolesti (UAS7) i narušene dermatološke kvalitete života (DLQI) (41,95,135).





1. Prema našim saznanjima, ovo je prva prospektivna studija (i prva studija uopće) u kojoj se uspoređuju težina kliničke slike KSU-a s vrijednostima biomarkera KSU-a određivanimi i u slini i u serumu (procijenjeno određivanjem salivarnog i serumskog IL-6 te parametara iz krvi: KKS, SE, CRP, TSH, T3, T4, anti-TPO, anti-TG, ukupni IgE, D-vitamin, D-dimeri) i putem upitnika težine KSU-a, kontroliranosti KSU-a i narušenosti kvalitete života bolesnika sa KSU-om koji su određivani u inicijalnoj (T1) i kontrolnoj (T2) točki nakon 3 mjeseca praćenja i standardnog liječenja KSU-a. U dosadašnjim studijama uspoređivali su se isključivo serumski biomarkeri KSU-a koji su određivani u bolesnika sa KSU-om te uspoređivani sa zdravim ispitanicima uz manji broj prospektivnih studija koje su pratile njihov terapijski odgovor na liječenje biologicima (omalizumab).

2. Vrijednosti serumskog i salivarnog IL-6 nisu linearno korelirale s težinom kliničke slike KSU-a (također ni s jednim upitnikom).

Razina serumskog i salivarnog IL-6 te omjer salivarnog IL-6 i salivarne amilaze (kontrola) nije se znatno razlikovala prema težini bolesti među skupinama bolesnika s različitom težinom KSU-a (u remisiji, blaga, umjerena ili teška bolest), kao ni kada su skupine bile dihotomizirane.

Nije bilo značajne linearne povezanosti između serumskog i salivarnog IL-6, kao ni serumskog IL-6 sa omjerom salivarnog IL-6 i salivarne amilaze ni povezanosti navedenih IL-6 vrijednosti s trajanjem bolesti.

3. Serumski IL-6 češće je bio povećan kod umjerenog ili teškog KSU-a nego kod odsutnog ili blagog KSU-a (procijenjene upitnicima dnevni UAS i UAS7).

Također je serumski IL-6 bio češće povećan kod umjerene ili velike narušenosti dermatološke kvalitete života nego kod stanja bez narušenosti ili s malom narušenosti dermatološke kvalitete života (procijenjene upitnikom DLQI).

Serumske vrijednosti IL-6 nikad nisu bile povećane kod dobro kontroliranog KSU-a u odnosu na nekontroliranu bolest (mjereno upitnikom UCT).

Uvidom u vrijednosti IL-6 u odnosu na promjene kvalitete života zbog urtikarije (mjerene upitnikom CU-Q2oL) također nije bilo razlike u serumskom IL-6 između kontroliranog i nekontroliranog KSU-a. Sve prethodno navedeno nije bilo statistički značajno.

Serumski IL-6 statistički je značajno (linearno) pozitivno korelirao s CRP-om, SE-om, D-dimerima te vrijednostima T3 i T4.

4. Vrijednosti salivarnog IL-6 (prosijek rezultata mjerenja dvaju uzoraka sline) u inicijalnom mjerenju (T1) bile su nešto češće povećane kod blažeg KSU-a nego kod umjerenog ili teškog KSU-a (mjereno upitnikom UAS7) te nešto češće povećane u bolesnika s manje narušenom dermatološkom kvalitetom života nego onih s umjerenom ili velikom narušenosti dermatološke kvalitete života (mjerene upitnikom DLQI).

Vrijednosti salivarnog IL-6 u inicijalnom mjerenju (T1) češće su bile povećane kod bolesnika s jako narušenom kvalitetom života nego onih s umjerenom narušenom kvalitetom života zbog urtikarije (mjereno upitnikom CU-Q2oL), a veće vrijednosti izražene su i kod nekontroliranog KSU-a u odnosu na dobro kontrolirani KSU (mjerene upitnikom UCT). Ipak, pritom nije bilo statistički značajne razlike između tih parametara.

Salivarni IL-6 statistički je značajno, linearno korelirao s vrijednostima CRP-a.

5. Uočena je statistički značajna pozitivna korelacija (u rasponu od umjerene do vrlo velike) između težine KSU-a, kontroliranosti bolesti, dermatološke kvalitete života i kvalitete života specifične za kroničnu urtikariju.

Najsnažnija korelacija utvrđena je između dermatološke kvalitete života i kvalitete života specifične za urtikariju (linearna pozitivna), a slabija korelacija između kontrole bolesti i dnevne aktivnosti bolesti (linearna negativna), pri čemu je korelacija bila najveća između upitnika dnevni UAS, UAS7 i DLQI (što je bilo statistički značajno).

Trajanje KSU-a nije linearno koreliralo s težinom bolesti, kvalitetom života i kontrolom bolesti.

6. Koncentracija bazofila statistički je značajno korelirala s dnevnim UAS-om (linearna i negativna korelacija), ali nije bila povezana s upitnikom UAS7.

Također, koncentracija bazofila statistički je značajno korelirala s narušenom dermatološkom kvalitetom života bolesnika sa KSU-om mjerenom upitnikom DLQI (linearna i negativna korelacija), no nije bila povezana s kontroliranosti bolesti (mjerenom upitnikom UCT).

Povezanost koncentracije bazofila i narušene kvalitete života zbog urtikarije (CU-Q2oL) bila je veća nego povezanost udjela bazofila u krvi i narušene kvalitete života zbog urtikarije (linearna, negativna i umjerena korelacija).

Bazopenija je bila statistički značajno češća kod umjerenog ili teškog KSU-a nego kod blagog ili odsutnog KSU-a (procijenjeno dnevnim UAS-om). Tako je bazopenija bila

statistički značajno povezana sa 6,2 puta većim izgledom za umjereni ili teški KSU (procijenjena upitnikom dnevni UAS).

Kao jedini biomarker koji bi mogao biti koristan za procjenu aktualne/dnevne težine kliničke slike KSU-a (određene upitnikom dnevni UAS) pokazala se koncentracija bazofila (statistički značajno).

Vrijednosti koncentracije bazofila statistički su značajno linearno korelirale samo s pokazateljem dnevne aktivnosti urtikarije (dnevni UAS) i narušene dermatološke kvalitete života (mjerene upitnikom DLQI).

7. Od serumskih biomarkera samo je hormon štitnjače tiroksin (T4) statistički značajno korelirao s trajanjem bolesti (linearna, ali slaba korelacija).

Hormon štitnjače trijodtironin (T3) linearno je umjereno pozitivno korelirao s narušenom dermatološkom kvalitetom života (DLQI) (statistički značajno).

Uočeno je da je vrijednost T4 snižena u 27 % bolesnika s umjerenim ili teškim KSU-om (mjereno dnevnim UAS-om), što nije uočeno ni kod jednog bolesnika u remisiji ili s blažom bolesti (statistički značajno).

Promjena vrijednosti TSH (nakon 3 mjeseca praćenja i liječenja KSU-a) statistički je značajno linearno korelirala samo s promjenom narušenosti kvalitete života zbog urtikarije (mjerene upitnikom CU-Q2oL).

8. Vrijednost SE-a češće je bila unutar referentnih vrijednosti u bolesnika s umjerenim ili teškim KSU-om (UAS7), nego u onih u remisiji ili s blažom bolesti gdje je vrijednost SE-a češće bila snižena (statistički značajno).

Jedini značajni prediktor aktivnosti bolesti mjerene upitnikom UAS7 bila je vrijednost SE. Iako su vrijednosti SE-a uglavnom bile unutar referentnih vrijednosti, uočena je povezanost s 4,9 puta većim izgledom za umjereni ili teški KSU u odnosu na blažu bolest (statistički značajno), pritom nijedan drugi biomarker nije bio prediktor umjerene ili teške bolesti.

9. Liječenje KSU-a statistički je značajno smanjilo aktivnost KSU-a (mjerenu upitnicima UAS7 i dnevni UAS), a statistički značajno povećalo kvalitetu života bolesnika sa KSU-om (tj. smanjilo njezinu narušenost mjerenu upitnikom DLQI), ali ne i kvalitetu života specifičnu za urtikariju (mjerenu upitnikom CU-Q2oL).

Liječenje KSU-a također je statistički značajno poboljšalo kontrolu KSU-a (mjerenu upitnikom UCT).

10. Od ispitivanih biomarkera, tijekom praćenja i liječenjem KSU-a (inicijalno i kontrolno mjerenje) jedino je uočeno da se nakon liječenja (uz dodatak vitamina D kod njegova dokazanog nedostatka) statistički značajno povećala vrijednost vitamina D (umjerena veličina učinka), dok se ostali nisu bitno promijenili.
11. Nakon 3 mjeseca liječenja KSU-a jedino je vrijednost CRP-a statistički značajno negativno korelirala s kontrolom KSU-a (mjerenom upitnikom UCT).



1. Zuberbier T, Abdul Latiff AH, Abuzakouk M, Aquilina S, Asero R, Baker D, et al. The international EAACI/GA<sup>2</sup>LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. *Allergy*. 2022;77(3):734-766.
2. Kolkhir P, Giménez-Arnau AM, Kulthanan K, Peter J, Metz M, Maurer M. Urticaria. *Nat Rev Dis Primers*. 2022;15;8(1):61.
3. Bracken SJ, Abraham S, Macleod AS. Autoimmune theories of chronic spontaneous urticaria. *Front Immunol*. 2019;10:627.
4. Poddighe D. The prevalence of chronic spontaneous urticaria (CSU) in the pediatric population. *J Am Acad Dermatol*. 2019;81(5):E149.
5. Saini SS, Kaplan AP. Chronic spontaneous urticaria: the devil's itch. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(4):1097.
6. Baiardini I, Canonica Gw, La Grutta S, Braido F. Clinically significant differences in patient-reported outcomes evaluations in chronic spontaneous urticaria. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2020;20(3):261-267.
7. Bešlić I, Lugović-Mihić L, Vrtarić A, Bešlić A, Škrinjar I, Hanžek M, et al. Melatonin in dermatologic allergic diseases and other skin conditions: current trends and reports. *Int J Mol Sci*. 2023;17;24(4):4039.
8. Fricke J, Ávila G, Keller T, Weller K, Lau S, Maurer M, et al. Prevalence of chronic urticaria in children and adults across the globe: systematic review with meta-analysis. *Allergy*. 2020;75(2):423-432.
9. Curto-Barredo L, Pujol RM, Roura-Vives G, Gimenez-Arnau AM. Chronic urticaria phenotypes: clinical differences regarding triggers, activity, prognosis and therapeutic response. *Eur J Dermatol*. 2019;1;29(6):627-635.
10. Weller K, Maurer M, Bauer A, Wedi B, Wagner N, Schliemann S, et al. Epidemiology, comorbidities, and healthcare utilization of patients with chronic urticaria in Germany. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022;36(1):91-99.
11. Search-UpToDate. [(accessed on 12 July 2023)]. Available online: <https://www.uptodate.com/contents/mast-cells-surface-receptors-and-signal-transduction>
12. Ferreira BR, Pio-Abreu JL, Figueiredo A, Misery L. Pruritus, allergy and autoimmunity: paving the way for an integrated understanding of psychodermatological diseases? *Front Allergy*. 2021;17;2:688999.
13. Zhou B, Li J, Liu R, Zhu L, Peng C. The role of crosstalk of immune cells in pathogenesis of chronic spontaneous urticaria. *Front Immunol*. 2022;31;13:879754.

14. Kaplan AP, Horáková Z, Katz SI. Assessment of tissue fluid histamine levels in patients with urticaria. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1978;61(6):350–354.
15. Sánchez-Borges M, Ansotegui IJ, Baiardini I, Bernstein J, Canonica GW, Ebisawa M et al. The challenges of chronic urticaria part 1: epidemiology, immunopathogenesis, comorbidities, quality of life, and management. *World Allergy Organ J.* 2021;14(6):100533.
16. Dos Santos JC, Azor MH, Nojima VY, Lourenço FD, Prearo E, Maruta CW, et al. Increased circulating pro-inflammatory cytokines and imbalanced regulatory T-cell cytokines production in chronic idiopathic urticaria. *Int Immunopharmacol.* 2008;8(10):1433-1440.
17. Toubi E, Vadasz Z. Highlights in autoimmunity: 2020. *Isr Med Assoc J.* 2020;11(22):717-719.
18. Kaplan A, Lebwohl M, Giménez-Arnau AM, Hide M, Armstrong AW, Maurer M. Chronic spontaneous urticaria: focus on pathophysiology to unlock treatment advances. *Allergy.* 2023;78(2):389-401.
19. Grattan CE, Winkelmann RK, Leiferman KM. Eosinophil major basic protein in autologous serum and saline skin tests in chronic idiopathic urticaria. *Br J Dermatol.* 1997;136(1):141-142.
20. Altrichter S, Frischbutter S, Fok JS, Kolkhir P, Jiao Q, Skov PS, et al. The role of eosinophils in chronic spontaneous urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;145(6):1510-1516.
21. Maheshwari A, Garg T, Chander R, Debnath E. Chronic spontaneous urticaria: an etiopathogenic study. *Indian J Dermatol.* 2022;67 (1):92.
22. Mohamed RW, Fathy A, El-Sayed AE. Increased circulating FcεpsilonRII-bearing B lymphocytes and serum levels of IL-4 in non-autoreactive chronic idiopathic urticaria. *Egypt J Immunol.* 2003;10(2):9-18.
23. Gessner A, Mohrs K, Mohrs M. Mast cells, basophils, and eosinophils acquire constitutive IL-4 and IL-13 transcripts during lineage differentiation that are sufficient for rapid cytokine production. *J Immunol.* 2005;174(2):1063-1072.
24. Ying S, Kikuchi Y, Meng Q, Kay AB, Kaplan AP. TH1/TH2 cytokines and inflammatory cells in skin biopsy specimens from patients with chronic idiopathic urticaria: comparison with the allergen-induced late-phase cutaneous reaction. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109(4):694-700.

25. Giménez-Arnau AM, DeMontojoye L, Asero R, Cugno M, Kulthanan K, Yanase Y, et al. The pathogenesis of chronic spontaneous urticaria: the role of infiltrating cells. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(6):2195-2208.
26. Schmetzer O, Lakin E, Topal FA, Preusse P, Freier D, Church MK, et al. IL-24 is a common and specific autoantigen of IgE in patients with chronic spontaneous urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;142(3):876–82.
27. Yanase Y, Takahagi S, Ozawa K, Hide M. The role of coagulation and complement factors for mast cell activation in the pathogenesis of chronic spontaneous urticaria. *Cells.* 2021;10(7):1759.
28. Shefler I, Pasmanik-Chor M, Kidron D, Mekori YA, Hershko AY. T cell-derived microvesicles induce mast cell production of IL-24: relevance to inflammatory skin diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(1):217-224.
29. Godse K, Rajagopalan M, Girdhar M, Kandhari S, Shah B, Chhajed PN, et al. Position statement for the use of omalizumab in the management of chronic spontaneous urticaria in Indian patients. *Indian Dermatol. Online J.* 2016;7(1):6-11.
30. Confino-Cohen R, Chodick G, Shalev V, Leshno M, Kimhi O, Goldberg A. Chronic urticaria and autoimmunity: associations found in a large population study. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129 (5):1307-1313.
31. Chen TL, Yip HT, Wang JH, Chang CH, Huang C, Hsu CY, et al. Risk of chronic spontaneous urticaria in reproductive-aged women with abnormal uterine bleeding: a population-based cohort study. *J Dermatol.* 2021;48(11):1754–1762.
32. Tan EK, Grattan CE. Drug-induced urticaria. *Expert Opin Drug Saf.* 2004;3(5): 471-484.
33. Grumach AS, Staubach-Renz P, Villa RC, Diez-Zuluaga S, Reese I, Lumry WR. Triggers of Exacerbation in chronic urticaria and recurrent angioedema-prevalence and relevance. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(6):2160-2168.
34. Krišto M, Lugović-Mihić L, Muñoz M, Rupnik M, Mahnic A, Ozretić P, et al. Gut microbiome composition in patients with chronic urticaria: a review of current evidence and data. *Life (Basel).* 2023;4;13(1):152.
35. Zhang X, Zhang J, Chu Z, Shi L, Geng S, Guo K. Gut microbiome alterations and functional prediction in chronic spontaneous urticaria patients. *J Microbiol Biotechnol.* 2021;28;31(5):747-755.



36. Search-UpToDate. [(accessed on 12 July 2023)]. Available online: <https://www.uptodate.com/contents/chronic-spontaneous-urticaria-clinical-manifestations-diagnosis-pathogenesis-and-natural-history>
37. Grattan CE. Aspirin sensitivity and urticaria. *Clin Exp Dermatol*. 2003; 28(2):123-127.
38. Aleem S, Masood Q, Hassan I. Correlation of C-reactive protein levels with severity - of chronic urticaria. *Indian J Dermatol*. 2014;59(6):636.
39. Kasperska-Zajac A, Sztylc J, Machura E, Jop G. Plasma IL-6 concentration correlates with clinical disease activity and serum C-reactive protein concentration in chronic urticaria patients. *Clin Exp Allergy*. 2011;41(10):1386–1391.
40. Ucmak D, Akkurt M, Toprak G, Yesilova Y, Turan E, Yildiz I. Determination of dermatology life quality index, and serum C-reactive protein and plasma interleukin-6 levels in patients with chronic urticaria. *Postep Dermatologii i Alergol*. 2013;30(3):146–151.
41. Zhang Y, Zhang H, Du S, Yan S, Zeng J. Advanced biomarkers: therapeutic and diagnostic targets in urticaria. *Int Arch Allergy Immunol*. 2021;182(10):917-931.
42. Rajappa M, Chandrashekar L, Sundar I, Munisamy M, Ananthanarayanan PH, Thappa DM, et al. Platelet oxidative stress and systemic inflammation in chronic spontaneous urticaria. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(9),1789–1794.
43. Metz M, Altrichter S, Buttgereit T, Fluhr JW, Fok JS, Hawro T, et al. The diagnostic workup in chronic spontaneous urticaria-what to test and why. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;9(6):2274-2283.
44. Rorsman H, Slatkin MW, Harber LC, Baer RL: The basophil leukocyte in urticarial hypersensitivity to physical agents. *J Invest Dermatol*. 1962;39:493-499.
45. Grattan CE, Walpole D, Francis DM, Niimi N, Dootson G, Edler S, Corbett MF, Barr RM. Flow cytometric analysis of basophil numbers in chronic urticaria: basopenia is related to serum histamine releasing activity. *Clin Exp Allergy*. 1997;27:1417-1424.
46. Sabroe RA, Francis DM, Barr RM, Kobza BA, Greaves MW. Anti-FcεRI autoantibodies and basophil histamine releasability in chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102:651-658.
47. Schroeder JT, MacGlashan DW, MacDonald SM, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Regulation of IgE-dependent IL-4 generation by human basophils treated with glucocorticoids. *J Immunol*. 1997;158:5448-5454.

48. Schleimer RP, MacGlashan DW, Gillespie E, Lichtenstein LM. Inhibition of basophil histamine release by anti-inflammatory steroids. II. Studies on the mechanism of action. *J Immunol.* 1982;129:1632-1636.
49. Grattan CE. Basophils in chronic urticaria. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2001;6(2):139-140.
50. Saini SS. Chronic spontaneous urticaria: etiology and pathogenesis. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2014;1;34(1):33–52.
51. Oliver ET, Sterba PM, Saini SS. Interval shifts in basophil measures correlate with disease activity in chronic spontaneous urticaria. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2015;70(5):601-603.
52. Oliver ET, Sterba PM, Devine KB, Vonakis BM, Saini SS. Altered expression of chemoattractant receptorhomologous molecule expressed on TH2 cells on blood basophils and eosinophils in patients with chronic spontaneous urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(1):304-306.
53. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *Int Immunol [Internet].* 2021;33(3):127-148.
54. Grieco T, Porzia A, Paolino G, Chello C, Sernicola A, Faina V, et al. IFN- $\gamma$ /IL-6 and related cytokines in chronic spontaneous urticaria: evaluation of their pathogenetic role and changes during omalizumab therapy. *Int J Dermatol.* 2020;59(5):590–594.
55. Zhang Y, Lin M, Zhang S, Wang Z, Jiang L, Shen J, et al. NF- $\kappa$ B-dependent cytokines in saliva and serum from patients with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese population. *Cytokine.* 2008;41(2):144–149.
56. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem.* 2011;57(5):675-687.
57. Granger DA, Johnson SB, Szanton SL, Out D, Schumann LL. Incorporating salivary biomarkers into nursing research: an overview and review of best practices. *Biol Res Nurs.* 2012;14(4):347-356.
58. Kolkhir P, Kovalkova E, Chernov A, Danilycheva I, Krause K, Sauer M, et al. Autoimmune chronic spontaneous urticaria detection with IgG anti-TPO and total IgE. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(11):4138-4146.e8.
59. Toubi E, Vadasz Z. Predictive features associated with chronic spontaneous urticaria recurrence. *J Dermatol.* 2021;48(11):1786-1788.

60. Leznoff A, Josse RG, Denburg J, Dolovich J. Association of chronic urticaria and angioedema with thyroid autoimmunity. *Arch Dermatol.* 1983;119(8):636–640.
61. Schoepke N, Asero R, Ellrich A, Ferrer M, Gimenez-Arnau A, Grattan CEH, et al. Biomarkers and clinical characteristics of autoimmune chronic spontaneous urticaria: results of the PURIST study. *Allergy.* 2019;74(12):2427-2436.
62. Tienforti D, Di Giulio F, Spagnolo L, Castellini C, Totaro M, Muselli M, et al. Chronic urticaria and thyroid autoimmunity: a meta-analysis of case-control studies. *J Endocrinol Invest.* 2022;45(7):1317-1326.
63. Herrera-Sánchez DA, Álvarez-Chávez FE, O Farrill-Romanillos PM. Activity of chronic spontaneous urticaria in euthyroid vs hypothyroid patients. *Rev Alerg Mex.* 2020; 67(2):112-118.
64. O Farrill-Romanillos PM, Álvarez-Chávez FE, Xochihua-García JJ. Thyroid disorders in spontaneous chronic urticaria. *Rev Alerg Mex.* 2019;66(4):403-408.
65. Asero R, Marzano AV, Ferrucci S, Cugno M. Elevated baseline D-dimer plasma levels are associated with a prompt response to omalizumab in patients with severe CSU. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017;5(6):1740–1742.
66. Kolkhir P, Pogorelov D, Olisova O. CRP, D-Dimer, fibrinogen and ESR as predictive markers of response to standard doses of levocetirizine in patients with chronic spontaneous urticaria. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2017;49(4):189–192.
67. Takeda T, Sakurai Y, Takahagi S, Kato J, Yoshida K, Yoshioka A, et al. Increase of coagulation potential in chronic spontaneous urticaria. *Allergy.* 2011;66(3):428–433.
68. Grzanka A, Machura E, Mazur B, Misiolek M, Jochem J, Kasperski J, et al. Relationship between vitamin D status and the inflammatory state in patients with chronic spontaneous urticaria. *J Inflamm (Lond).* 2014; 11(1):2.
69. Mohamed AA, Hussein MS, Salah EM, Eldemery A, Darwish MM, Ghaith DM, et al. Efficacy and safety of active vitamin D supplementation in chronic spontaneous urticaria patients. *J Dermatolog Treat.* 2020;13:1-6.
70. Lugović-Mihić L, Mandušić N, Dasović M, Pondeljčak N, Kuna M, Pozderac I. Vitamin D supplementation in patients with atopic dermatitis, chronic urticaria and contact irritant and allergic dermatitis—possible improvement without risk. *Folia Med.* 2022; 64(3):467–477.
71. Skander D, Allenova A, Maurer M, Kolkhir P. Omalizumab is effective in patients with chronic spontaneous urticaria plus multiple chronic inducible urticaria. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2021;53(2): 91–93.

72. Hurtado-Avilés MG, Martínez-Reculez MGC, Vargas-Camaño ME, Castrejón-Vázquez MI. Autoimmunity in chronic urticaria. A historical and current perspective. *Rev Alerg Mex.* 2022;69 Suppl 1:s69-s80.
73. Zhang L, Qiu L, Wu J, Qi Y, Gao X, He C, et al. GWAS of Chronic spontaneous urticaria reveals genetic overlap with autoimmune diseases, not atopic diseases. *J Invest Dermatol.* 2023;143(1):67-77.e15.
74. Kolkhir P, Maurer M. Chronic spontaneous urticaria and comorbidities. In: Zuberbier T, Grattan C, Maurer M, eds. *Urticaria and angioedema.* 2nd ed. Switzerland: Springer International; 2021. p. 77-107.
75. Lugović-Mihić L, Bukvić I, Bulat V, Japundžić I. Factors contributing to chronic urticaria/angioedema and nummular eczema resolution - which findings are crucial? *Acta Clin Croat.* 2019;58(4):595-603.
76. Kocatürk E, Salman A, Cherrez-Ojeda I, Criado PR, Peter J, Comert-Ozer E, et al. The global impact of the COVID-19 pandemic on the management and course of chronic urticaria. *Allergy.* 2021;76(3): 816–830.
77. Lapi F, Cassano N, Pegoraro V, Cataldo N, Heiman F, Cricelli I, et al. Epidemiology of chronic spontaneous urticaria: results from a nationwide, population-based study in Italy. *Br J Dermatol.* 2016; 174(5): 996–1004.
78. Lugović-Mihić L, Krišto M, Špoljar S, Novak-Bilić G, Bešlić I, Vučić M, et al. Can skin be a marker for internal malignancy? Evidence from clinical cases. *Acta Clin Croat.* 2021; 60(4):711-721.
79. Bauer AT, Gorzelanny C, Gebhardt C, Pantel K, Schneider, SW. Interplay between coagulation and inflammation in cancer: limitations and therapeutic opportunities. *Cancer Treat Rev.* 2022;102:102322.
80. Tagka A, Lambrou GI, Makris M, Nakou E, Nicolaidou E, Chatziioannou A, et al. Time dependent effects in chronic urticaria: a time-series perspective of omalizumab treatment. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2020;20(10):1726-1739.
81. Finlay AY, Khan GK. Dermatology life quality index (DLQI)--a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol.* 1994;19(3):210-216.
82. Weller K, Groffik A, Church MK, Hawro T, Krause K, Metz M, et al. Development and validation of the urticaria control test: a patient-reported outcome instrument for assessing urticaria control. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(5):1365-1372, 1372.e1-6.

83. Kocaturk E, Saini SS, Rubeiz CJ, Bernstein JA. Existing and investigational medications for refractory chronic spontaneous urticaria: safety, adverse effects, and monitoring. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2022;10(12):3099-3116.
84. Guillén-Aguinaga S, Jáuregui Presa I, Aguinaga-Ontoso E, Guillén-Grima F, Ferrer M. Updosing nonsedating antihistamines in patients with chronic spontaneous urticaria: asystematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol*. 2016;175:1153-1165.
85. Cassano N, Genovese G, Asero R, Crimi N, Cristaudo A, Dapavo P, et al. Therapeutic management of chronic spontaneous urticaria in clinical practice: results from a pilot survey. *Ital J Dermatol Venerol*. 2022;157(1):33-38.
86. Xue X, Wang Q, Yang X, Tu H, Deng Z, Kong D, et al. Effect of bilastine on chronic urticaria: a systematic review and meta-analysis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2023;184(2):176-185.
87. Maurer M, Costa C, Gimenez Arnau A, Guillet G, Labrador-Horrillo M, Lapeere H, et al. Antihistamine-resistant chronic spontaneous urticaria remains undertreated: 2-year data from the AWARE study. *Clin Exp Allergy*. 2020;50(10):1166-1175.
88. Türk M, Yılmaz İ, Nazik Bahçecioğlu S, Can P, Ertaş R, Kartal D, et al. Effectiveness of as-needed antihistamines in chronic spontaneous urticaria patients under omalizumab treatment. *Dermatol Ther*. 2021;34(1):e14543.
89. Search-UpToDate. [(accessed on 12 July 2023)]. Available online: <https://www.uptodate.com/contents/chronic-spontaneous-urticaria-standard-management-and-patient-education>
90. Weller K, Giménez-Arnau A, Grattan C, Asero R, Mathelier-Fusade P, Bizjak M, et al. CURE investigators. The chronic urticaria registry: rationale, methods and initial implementation. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021;35(3):721-729.
91. Kuna M, Štefanović M, Ladika Davidović B, Mandušić N, Birkić Belanović I, Lugović-Mihić L. Chronic urticaria biomarkers IL-6, ESR and CRP in correlation with disease severity and patient quality of life-a pilot study. *Biomedicines*. 2023;11(8):2232.
92. Kocatürk E, Kızıldağ U, Can P, Öztaş Kara R, Erdem T, Kızıldağ K, et al. Validation of the turkish version of the urticaria control test: correlation with other tools and comparison between spontaneous and inducible chronic urticaria. *World Allergy Organ J*. 2019; 26;12(1):100009.

93. Ashok L, Sujatha GP, Hema G. Estimation of salivary amylase and total proteins in leukemia patients and its correlation with clinical feature and radiographic finding. *Indian J Dent Res.* 2010;21(4):486-490.
94. Kasperska-Zajac A, Brzoza Z, Rogala B. Plasma concentration of interleukin 6 (IL-6), and its relationship with circulating concentration of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) in patients with chronic idiopathic urticaria. *Cytokine.* 2007;39(2):142-146.
95. Kasperska-Zajac A, Grzanka A, Machura E, Mazur B, Misiolek M, Czecior E, et al. Analysis of procalcitonin and CRP concentrations in serum of patients with chronic spontaneous urticaria. *Inflamm Res.* 2013;62(3):309-312.
96. de Montjoye L, Darrigade AS, Giménez-Arnau A, Herman A, Dumoutier L, Baeck M. Correlations between disease activity, autoimmunity and biological parameters in patients with chronic spontaneous urticaria. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2021; 53(2):55-66.
97. Kolkhir P, Altrichter S, Hawro T, Maurer M. C-reactive protein is linked to disease activity, impact, and response to treatment in patients with chronic spontaneous urticaria. *Allergy.* 2018;73(4):940-948.
98. Grzanka A, Machura E, Misiolek M, Polaniak R, Kasperski J, Kasperska-Zajac A. Systemic inflammatory response and calcification markers in patients with long lasting moderate-severe chronic spontaneous urticaria. *Eur J Dermatol.* 2015;25(1):26-28.
99. Yanase Y, Matsubara D, Takahagi S, Tanaka A, Ozawa K, Hide M. Basophil characteristics as a marker of the pathogenesis of chronic spontaneous urticaria in relation to the coagulation and complement systems. *Int J Mol Sci.* 2023;24(12):10320.
100. Poddighe D, Vangelista L. Effects of omalizumab on basophils: potential biomarkers in asthma and chronic spontaneous urticaria. *Cell Immunol.* 2020;358:104215.
101. Gericke J, Metz M, Ohanyan T, Weller K, Altrichter S, Skov PS, et al. Serum autoreactivity predicts time to response to omalizumab therapy in chronic spontaneous urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;139(3):1059-1061.e1.
102. Metz M, Torene R, Kaiser S, Beste MT, Staubach P, Bauer A, et al. Omalizumab normalizes the gene expression signature of lesional skin in patients with chronic spontaneous urticaria: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Allergy.* 2019;74(1):141-151.
103. Akdogan N, Demirel Ogut N, Dogan S, Atakan N. Long-term effects of omalizumab on peripheral blood cells and C-reactive protein levels in patients with chronic spontaneous urticaria. *Dermatol Ther.* 2019;32(4):e12966.

104. MacGlashan D Jr, Saini S, Schroeder JT. Response of peripheral blood basophils in subjects with chronic spontaneous urticaria during treatment with omalizumab. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(6):2295-2304.e12.
105. Tamer F. Omalizumab does not lead to a distinct alteration in hematological parameters and complete blood count-derived inflammation biomarkers except for basophil count. *Cutan Ocul Toxicol.* 2020;39(3):229-232.
106. Deza G, Bertolín-Colilla M, Sánchez S, Soto D, Pujol RM, Gimeno R, Giménez-Arnau AM. Basophil FcεRI expression is linked to time to omalizumab response in chronic spontaneous urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;141(6):2313-2316.e1.
107. Gomułka K, Wrześniak M, Mędrala W, Panaszek B. Basophils priming in patients with chronic spontaneous urticaria. *Postepy Dermatol Alergol.* 2021;38(4):608-610.
108. Sánchez J, Sánchez A, Cardona R. Causal relationship between anti-TPO IgE and chronic urticaria by *in vitro* and *in vivo* tests. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2019;11(1):29-42.
109. Zhang L, Qiu L, Wu J, Qi Y, Wang H, Qi R, et al. IgE and IgG anti-thyroid autoantibodies in chinese patients with chronic spontaneous urticaria and a literature review. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2022;14(1):131-142.
110. Esmaeilzadeh H, Eskandarisani M, Nabavizadeh H, Alyasin S, Vali M, Mortazavi N. Investigating the association of atopy and aeroallergen sensitization and chronic spontaneous urticaria. *Postepy Dermatol Alergol.* 2022;39(1):121-125.
111. Alen Coutinho I, Regateiro FS, Fernandes RA, Pita JS, Gomes R, Coelho C, et al. Refractory chronic urticaria in adults: clinical characterization and predictors of severity. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2020;11;16(1):97.
112. Çildağ S, Yenisey Ç, Ünübol M, Şentürk T. Comparison of immunoglobulin E anti-thyroid peroxidase antibodies in patients with Hashimoto thyroiditis and chronic spontaneous urticaria. *Med Pharm Rep.* 2021;94(1):53-57.
113. Asero R, Ferrucci SM, Calzari P, Consonni D, Cugno M. Thyroid autoimmunity in CSU: a potential marker of omalizumab response? *Int J Mol Sci.* 2023;24(8):7491.
114. Altrichter S, Fok JS, Jiao Q, Kolkhir P, Pyatilova P, Romero SM, et al. Total IgE as a marker for chronic spontaneous urticaria. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2021;13(2):206-218.
115. Cakmak ME. Comparison of the patients with chronic urticaria who responded and did not respond to omalizumab treatment: a single-center retrospective study. *Int Arch Allergy Immunol.* 2022;183(11):1209-1215.

116. Criado RF, Bensi CG, Criado PR, Henriques MT, de Espindola BAR, Machado Filho CD. Evaluation of serum levels of C-reactive protein, D-Dimer and autologous serum skin test in patients with chronic spontaneous urticaria in a brazilian tertiary center: a cross-sectional study. *An Bras Dermatol.* 2021;96(2):148-154.
117. Arunkajohnsak S, Jiamton S, Tuchinda P, Chularojanamontri L, Rujitharanawong C, Chanchaemsri N, et al. Do antinuclear antibodies influence the clinical features of chronic spontaneous urticaria?: a retrospective cohort study. *Biomed Res Int.* 2022; 29;2022:7468453.
118. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Amer Statist Assoc.* 1958;53(282): 457-481.
119. Tuchinda P, Kulthanan K, Chularojanamontri L, Arunkajohnsak S, Sriussadaporn S. Relationship between vitamin D and chronic spontaneous urticaria: a systematic review. *Clin Transl Allergy.* 2018;8:51.
120. Thorp WA, Goldner W, Meza J, Poole JA. Reduced vitamin D levels in adult subjects with chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(2):413; author reply 413-414.
121. Chandrashekar L, Rajappa M, Munisamy M, Ananthanarayanan PH, Thappa DM, Arumugam B. 25-Hydroxy vitamin D levels in chronic urticaria and its correlation with disease severity from a tertiary care centre in South India. *Clin Chem Lab Med.* 2014; 52(6):e115-8.
122. Abdel-Rehim AS, Sheha DS, Mohamed NA. Vitamin D level among Egyptian patients with chronic spontaneous urticaria and its relation to severity of the disease. *Egypt J Immunol.* 2014;21(2):85-90.
123. Movahedi M, Tavakol M, Hirbod-Mobarakeh A, Gharagozlou M, Aghamohammadi A, Tavakol Z, et al. Vitamin D deficiency in chronic idiopathic urticaria. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2015;14(2):222-227.
124. Woo YR, Jung KE, Koo DW, Lee JS. Vitamin D as a marker for disease severity in chronic urticaria and its possible role in pathogenesis. *Ann Dermatol.* 2015;27(4):423-430.
125. Rasool R, Masoodi KZ, Shera IA, Yosuf Q, Bhat IA, Qasim I, et al. Chronic urticaria merits serum vitamin D evaluation and supplementation; a randomized case control study. *World Allergy Organ J.* 2015;8:15.
126. Oguz Topal I, Kocaturk E, Gungor S, Durmuscan M, Sucu V, Yıldırım S. Does replacement of vitamin D reduce the symptom scores and improve quality of life in patients with chronic urticaria? *J Dermatolog Treat.* 2016;27(2):163-6.



127. Nasiri-Kalmarzi R, Abdi M, Hosseini J, Babaei E, Mokarizadeh A, Vahabzadeh Z. Evaluation of 1,25-dihydroxyvitamin D3 pathway in patients with chronic urticaria. *QJM*. 2018;1;111(3):161-169.
128. Dabas G, Kumaran MS, Prasad D. Vitamin D in chronic urticaria: unrevealing the enigma. *Br J Dermatol*. 2017;177:47-48.
129. Rather S, Keen A, Sajad P. Serum levels of 25-hydroxyvitamin D in chronic urticaria and its association with disease activity: a case control study. *Indian Dermatol Online J*. 2018;9(3):170-174.
130. Wu CH, Eren E, Ardern-Jones MR, Venter C. Association between micronutrient levels and chronic spontaneous urticaria. *Biomed Res Int*. 2015;2015:926167.
131. Lee SJ, Ha EK, Jee HM, Lee KS, Lee SW, Kim MA, et al. Prevalence and risk factors of urticaria with a focus on chronic urticaria in children. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2017;9(3):212-219.
132. Rorie A, Goldner WS, Lyden E, Poole JA. Beneficial role for supplemental vitamin D3 treatment in chronic urticaria: a randomized study. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014; 112(4):376-382.
133. Sindher SB, Jariwala S, Gilbert J, Rosenstreich D. Resolution of chronic urticaria coincident with vitamin D supplementation. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012;109(5):359-360.
134. Ariaee N, Zarei S, Mohamadi M, Jabbari F. Amelioration of patients with chronic spontaneous urticaria in treatment with vitamin D supplement. *Clin Mol Allergy*. 2017; 22;15:22.
135. Stull DE, McBride D, Houghton K, Finlay AY, Gnanasakthy A, Balp MM. Assessing changes in chronic spontaneous/idiopathic urticaria: comparisons of patient-reported outcomes using latent growth modeling. *Adv Ther*. 2016;33(2):214-224.
136. Brzoza Z, Badura-Brzoza K, Maurer M, Hawro T, Weller K. Chronic spontaneous urticaria activity, impact and control as well as their changes are strongly linked, and these links are not affected by angioedema or comorbid inducible urticaria - results from the validation of the polish urticaria control test. *World Allergy Organ J*. 2022;21;15(3):100635.
137. Khoshkhui M, Weller K, Fadaee J, Maurer M, Jabbari Azad F, Emadzadeh M. Evaluation of the reliability and validity of the persian version of urticaria control test (UCT). *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2021;7;20(4):423-431.

138. Dortas Junior SD, Valle SOR, Weller K, Maurer M, Lupi O. Validity, reliability, and interpretability of the brazilian urticaria control test. *Allergy Asthma Proc.* 2020; 1;41(3):e61-e66.
139. Sánchez J, Zakzuk J, Cardona R. Evaluation of a guidelines-based approach to the treatment of chronic spontaneous urticaria. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2018;6(1):177-182.e1.
140. Jauregui I, Gimenez-Arnau A, Bartra J, Labrador-Horrillo M, de Frutos JO, Silvestre JF, et al. Psychometric properties of the spanish version of the once-daily urticaria activity score (UAS) in patients with chronic spontaneous urticaria managed in clinical practice (the EVALUAS study). *Health qual life outcomes.* 2019;31;17(1):23.

**8. ŽIVOTOPIS AUTORICE S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA**

Dr. Matea Kuna rođena je u Zagrebu 4. 3. 1994. god. gdje inače živi i radi.

2013. god. u Zagrebu završava XV. gimnaziju i srednju glazbenu školu GU Elly Bašić (glasovir) odličnim uspjehom, a iste godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, na kojem diplomira u srpnju 2019. god. uz diplomski rad pod naslovom „Psorijaza u bolesnika starije životne dobi“. Tijekom studija bila je koautor više objavljenih članaka i kongresnih sažetaka.

Od studenog 2019. god. pa do ožujka 2021. god. radi u Domu zdravlja Zagreb-Istok kao liječnica obiteljske medicine gdje stječe znanja i iskustva u primarnoj zdravstvenoj zaštiti. Tijekom tog rada u listopadu 2020. god. upisuje poslijediplomski doktorski studij na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Krajem ožujka 2021. god. započinje specijalističko usavršavanje iz dermatologije i venerologije u KBC-u Sestre milosrdnice. U listopadu 2022. god. također upisuje poslijediplomski specijalistički studij iz dermatologije i venerologije.

Autorica je i koautorica više znanstvenih i stručnih članaka, među kojima je i više renomiranih inozemnih časopisa. Aktivno je sudjelovala u nizu simpozija i skupova, gdje je na nekima i održala predavanje.

Sudjelovala je i u znanstvenim i kliničkim istraživanjima, a u veljači 2022. god. stječe certifikat iz dobre kliničke prakse s kojim aktivno sudjeluje u Multicentričnom, randomiziranom, placebo kontroliranom, dvostruko slijepom ispitivanju pod dermatološkim praćenjem procjene sigurnosti i djelotvornosti PROBITECT topikalnog pripravka tijekom 4-tjednog praćenja ispitanika s blagim atopijskim dermatitisom.

Također je jedna od sudionica projekta pod nazivom „Povezanost obilježja mikrobioma, psihičkog stresa i upale kože“.

U travnju 2022. god. koautorica poglavlja pod naslovom “Perspektive u pristupu bolesnicima s urtikarijom i egzemom/dermatitisom“ koje je objavljeno u knjizi autorice prof. Liborije Lugović Mihić i suradnika pod naslovom “Urtikarije i egzemi/dermatitisi“.

Inače je članica Hrvatske liječničke komore, Hrvatskog dermatovenerološkog društva, Europske akademije za dermatologiju i venerologiju te Internacionalnog dermoskopskog društva.

**Publikacije:**

1. **Kuna M**, Štefanović M, Ladika Davidović B, Mandušić N, Birkić Belanović I, Lugović-Mihić L. Chronic Urticaria Biomarkers IL-6, ESR and CRP in Correlation with Disease Severity and Patient Quality of Life-A Pilot Study. *Biomedicines*. 2023;11(8):2232. doi: 10.3390/biomedicines11082232. **Q1, IF: 4.65 (rad proizašao iz doktorskog rada)**
2. Japundžić I, Lugović-Mihić L, Košćec Bjelajac A, Macan J, Novak-Hlebar I, Buljan M, Zovak M, Vidović D, Trkanjec Z, **Kuna M**. Psychological Stress and Hand Eczema in Physicians and Dentists: A Comparison Based on Surgical Work. *Behav Sci (Basel)*. 2023;13(5):379. doi: 10.3390/bs13050379. **Q2, IF: 2.98**
3. Krišto M, Lugović-Mihić L, Muñoz M, Rupnik M, Mahnic A, Ozretić P, Jaganjac M, Ćesić D, **Kuna M**. Gut Microbiome Composition in Patients with Chronic Urticaria: A Review of Current Evidence and Data. *Life (Basel)*. 2023;13(1):152. doi: 10.3390/life13010152. **Q2, IF: 3.23**
4. Japundžić I, Novak-Hlebar I, Špiljak B, **Kuna M**, Yale K, Lugović-Mihić L. Skin Features Important for the Occurrence of Contact Dermatitis in Healthcare Workers. *Acta Clin. Croat*. 2022;61(4) 692-702 doi:10.20471/acc.2022.61.04.16 **Q3, IF: 0.62**
5. Lugović-Mihić L, Mandušić N, Dasović M, Pondeljčak N, **Kuna M**, Pozderac I. Vitamin D supplementation in patients with atopic dermatitis, chronic urticaria and contact irritant and allergic dermatitis - possible improvement without risk. *Folia Med (Plovdiv)*. 2022;64(3):467-477. doi: 10.3897/folmed.64.e66166. **Q4, IF: 0.56**
6. Lugović-Mihić L, Cvitanović H, Djaković I, **Kuna M**, Šešerko A. The Influence of Psychological Stress on HPV Infection Manifestations and Carcinogenesis. *Cell Physiol Biochem*. 2021;55(S2):71-88. doi: 10.33594/000000395. **Q2, IF: 3.92**
7. Pozderac I, Lugović-Mihić L, Artuković M, Stipičić-Marković A, **Kuna M**, Ferček I. Chronic inducible urticaria: classification and prominent features of physical and non-physical types. *Acta Dermatovenerol. Alp. Pannonica. Adriat*. 2020;29(3):141-148. **Q3, IF: 0.19**

8. Meštrović-Štefekov J, Novak-Bilić G, Kuna M, Pap N, Lugović-Mihić L. Psychological Stress in Patients with Atopic Dermatitis. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2018;26(4):297-303. **Q3, IF: 0.855**
9. Japundžić I, Novak D, **Kuna M**, Novak-Bilić G, Lugović-Mihić L. Analiza skrbi stomatološkog osoblja i studenata o svojoj koži. *Acta stomatol. Croat.* 2018;52(1); 46-52. doi:10.15644/asc52/1/7. **Q3, IF: 0.65**

#### **Poglavlje u knjizi:**

Lugović Mihić L, **Kuna M**. Perspektive u pristupu bolesnicima s urtikarijom i egzemom/dermatitisom. In: Lugović Mihić L I suradnici, editor. *Urtikarije i egzemi/dermatitis*. Zagreb: Medicinska naklada; 2022. 110-112.

#### **Kongresni sažeci:**

1. Hrestak D, Perić M, Čipčić Paljetak H, Matijašić M, Ljubojević Hadžavdić S, Duvančić T, **Kuna M**, et al. Patient-reported outcomes of PROBITECT-A emollient plus treatment in subjects with mild atopic dermatitis during a 4-week follow-up. // 2nd Symposium of the International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG) in cooperation with Croatian Dermatovenereological Society of the Croatian Medical Association. (Split, 31. ožujka do 2. veljače 2023. godine). Poster prezentacija.
2. Perić M, Hrestak D, Čipčić Paljetak H, Matijašić M, Ljubojević Hadžavdić S, Duvančić T, **Kuna M**, et al. Efficacy of the PROBITECT-A emollient plus during a 4-week follow-up in subjects with mild atopic dermatitis. 2nd Symposium of the International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG) in cooperation with Croatian Dermatovenereological Society of the Croatian Medical Association. (Split, 31. ožujka do 2. veljače 2023. godine). Poster prezentacija.
3. **Kuna M**, Štrajtenberger M, Čulina L, Ferara N, Pravica N, Lugović Mihić L. Significant role of the coagulation system and fibrinolysis in the pathophysiology of chronic spontaneous urticaria. 7. kongres hrvatskih dermatovenerologa s međunarodnim sudjelovanjem. (Vodice, 5. do 8. svibnja 2022. godine). Poster prezentacija.

4. Lugović Mihić L, Novak-Bilic G, Bešlić I, **Kuna M**, Pondeljak N, Vučić M. Analysis of skin CD44 expression in patients with allergic and irritant contact dermatitis and vulgar psoriasis. EADV Spring Symposium 2022. (Ljubljana, Slovenija, 12. do 14. svibnja 2022. godine). Poster prezentacija.
5. Ferrara N, Špoljar S, Culina L, Haralović V, **Kuna M**. Consider subacute and systemic lupus erythematosus when dealing with typical presentation of erythema multiforme. EADV 31TH CONGRESS 2022 (Milano, Italija, 7. do 11. rujna 2022. godine). Poster prezentacija.
6. **Kuna M**, Čulina L, Špičić S, Čulav I. Unusual genital ulceration. The 6th international symposium sexually transmitted infections – new horizons (Brijuni, 16. do 18. rujna 2022. godine). Poster prezentacija.
7. Lugović-Mihić L, Meštović-Štefekov J, **Kuna M**. How did COVID-19 quarantine affect patients with atopic dermatitis?. 5. hrvatski kongres psihodermatologije s međunarodnim sudjelovanjem. (Zagreb, 2. do 5. rujna 2021. godine). Poster prezentacija.
8. Blagec T, Lugović Mihić L, **Kuna M**. The association between psychological stress, allergies and cheilitis. 5. Hrvatski kongres psihodermatologije s međunarodnim sudjelovanjem. (Zagreb, 26. kolovoza 2021. godine). Poster prezentacija.
9. Lugović-Mihić L, Cvitanović H, Bešlić I, Pondeljak N, **Kuna M**, Japundžić I. Determination of psychoneuroimmune factors in patients with HPV manifestations. EADV Spring Symposium 2021 (Lugano, Švicarska, 6. do 7. svibnja 2021. godine). Poster prezentacija.
10. Barešić R, **Kuna M**, Ajduk J. Cochlear implantation after deafness caused by meningitis. International journal of medical students. 2021;(9):S19-S20. doi:10.5195/ijms/2021.978. Sažeci Međunarodnog kongresa studenata medicine Sarajevo (SaMED) 2021.
11. Meštović-Štefekov J, Pap N, Lugović Mihić L, Novak-Bilić G, **Kuna M**. The role of psychological stress in atopic dermatitis. 6. kongres hrvatskih dermatovenerologa s međunarodnim sudjelovanjem. (Pula, 4. svibnja 2018. godine). Poster prezentacija.

**Oralna prezentacija:**

**Kuna M.** Vitamin D supplementation in patients with chronic urticaria, atopic dermatitis, or contact dermatitis – how did it affect clinical improvement?. 7. kongres hrvatskih dermatovenerologa s međunarodnim sudjelovanjem. (Vodice, 5. do 8. svibnja 2022. godine).  
Oralna prezentacija.





## PRILOG 1

### INFORMIRANI PRISTANAK ZA SUDJELOVANJE U ISTRAŽIVANJU (ISPITANICI) „Prospektivno praćenje vrijednosti biomarkera IL-6 u slini i serumu bolesnika s kroničnom spontanom urtikarijom u odnosu na vrijednosti ostalih serumskih biomarkera i kliničke pokazatelje bolesti“

Istraživač: Matea Kuna, dr. med.

Kontakt telefon istraživača: 095 506 8401

Kontakt e-mail istraživača: 1) [mkuna@sfzg.hr](mailto:mkuna@sfzg.hr) 2) [matea.kuna43@gmail.com](mailto:matea.kuna43@gmail.com)

Mentor: prof. dr. sc. Liborija Lugović-Mihić, dr. med.

Poštovani/Poštovana,

ovim putem pozivamo Vas da dobrovoljno sudjelujete u znanstvenom istraživanju u kojem će se istražiti vrijednosti biomarkera IL-6 u Vašoj slini i perifernoj krvi (serumu) te usporediti sa ostalim vrijednostima serumskih biomarkera kronične spontane urtikarije (KKS, SE, CRP, uk. IgE, anti-TPO, anti-TG, TSH, T3, T4, ANA, D-dimeri, vitamin D) tijekom Vašeg posjeta Klinici za kožne i spolne bolesti KBC-a Sestre milosrdnice. Također će se ispitati klinički pokazatelji bolesti popunjavanjem određenih upitnika (UAS7, UCT, DLQI). Nakon 3 mjeseca standardne terapije za kroničnu spontanu urtikariju u ovisnosti o težini bolesti, ponovit će se jednaka procedura određivanja gore navedenih biomarkera iz sline i iz krvi o kojoj će Vas istraživač naknadno obavijestiti.

Istraživanje se provodi u Klinici za kožne i spolne bolesti KBC-a Sestre milosrdnice u Zagrebu. Istraživanje provodi Matea Kuna, dr. med.

Nema poznatih rizika za sudionike u ovom istraživanju.

Sudjelovanje u ovom istraživanju ne donosi Vam nikakvu izravnu materijalnu korist. Nije predviđena financijska ili druga kompenzacija.

Identitet ispitanika bit će sačuvan prema načelima profesionalne liječničke tajne. Svakom ispitaniku dodijelit će se identifikacijski broj koji će se koristiti u istraživanju i bit će poznat samo glavnom istraživaču. Osobni podaci neće se koristiti u daljnjem istraživanju. U navedenom istraživanju neće se koristiti audio/video/elektronički zapisi.

Nakon dobivanja traženih rezultata, izvršit će se statistička analiza. Ti rezultati mogu se objaviti u znanstvenim časopisima i o njima se može raspravljati na znanstvenim skupovima, međutim rezultati ispitivanja su zaštićeni i neće ih biti moguće povezati s određenim ispitanikom.

Istraživanje se provodi prema svim primjenjivim smjernicama čiji je cilj osigurati pravilno provođenje i sigurnost osoba koje sudjeluju u ovom znanstvenom istraživanju, uključujući **Osnove dobre kliničke prakse i Helsinšku deklaraciju.**

Hvala Vam što ste pročitali ovu obavijest i razmotrili sudjelovanje u ovom znanstvenom istraživanju. Ispitanik u svakom trenutku može odustati od sudjelovanja u ovom istraživanju. Ispitanik u bilo kojem trenutku može od liječnika zatražiti objašnjenje ako bi bilo nejasnoća pri ispunjavanju upitnika, kao i bilo kakve dodatne informacije.

Jedan original informiranog pristanka ide ispitaniku, drugi primjerak ispitivaču.

**Ova obavijest je sastavljena u skladu s odredbama Zakona o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN 121/03) i Zakona o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04).**

Potpis istraživača: \_\_\_\_\_

Potpis informiranog pristanka ispitanika: \_\_\_\_\_

DATUM: \_\_\_\_\_

**PRILOG 2****UPITNIK O AKTIVNOSTI URTIKARIJE (UAS7)**

Molimo Vas da za svaki od prethodnih 7 dana zaokružite težinu simptoma urtikarije (broj urtika i intenzitet svrbeža).

<b>Dan 1</b>	<b>Urtike</b>	<b>Svrbež</b>
	Bez urtika	Bez svrbeža
	Blage (< 20 urtika u 24 sata)	Blagi (prisutan svrbež, ali subjektivno ne predstavlja problem)
	Umjerene (20 – 50 urtika u 24 sata)	Umjeren (predstavlja problem, ali ne remeti uobičajene dnevne aktivnosti ili spavanje)
	Intenzivne (>50 urtika u 24 sata)	Intenzivan (jak svrbež, remeti normalne dnevne aktivnosti i san)
<b>Dan 2</b>	<b>Urtike</b>	<b>Svrbež</b>
	Bez urtika	Bez svrbeža
	Blage	Blagi
	Umjerene	Umjeren
	Intenzivne	Intenzivan
<b>Dan 3</b>	<b>Urtike</b>	<b>Svrbež</b>
	Bez urtika	Bez svrbeža
	Blage	Blagi
	Umjerene	Umjeren
	Intenzivne	Intenzivan
<b>Dan 4</b>	<b>Urtike</b>	<b>Svrbež</b>
	Bez urtika	Bez svrbeža
	Blage	Blagi
	Umjerene	Umjeren
	Intenzivne	Intenzivan
<b>Dan 5</b>	<b>Urtike</b>	<b>Svrbež</b>
	Bez urtika	Bez svrbeža
	Blage	Blagi
	Umjerene	Umjeren
	Intenzivne	Intenzivan
<b>Dan 6</b>	<b>Urtike</b>	<b>Svrbež</b>
	Bez urtika	Bez svrbeža
	Blage	Blagi
	Umjerene	Umjeren
	Intenzivne	Intenzivan
<b>Dan 7</b>	<b>Urtike</b>	<b>Svrbež</b>
	Bez urtika	Bez svrbeža
	Blage	Blagi
	Umjerene	Umjeren
	Intenzivne	Intenzivan

### **PRILOG 3**

#### **UPITNIK PROCJENE KONTROLE BOLESTI (UCT)**

***Molimo Vas da za svako pitanje odaberete jedan od ponuđenih odgovora.***

1. Koliko često ste imali fizičke simptome urtikarije (svrbež, urtike, oticanje) u protekla 4 tjedna?
  - a. vrlo mnogo
  - b. mnogo
  - c. povremeno
  - d. malo
  - e. uopće se ne odnosi na mene
  
2. Koliko je urtikarija utjecala na Vašu kvalitetu života u protekla 4 tjedna?
  - a. vrlo mnogo
  - b. mnogo
  - c. povremeno
  - d. malo
  - e. uopće se ne odnosi na mene
  
3. Koliko često lijekovi za urtikariju nisu bili dovoljni za kontrolu simptoma u protekla 4 tjedna?
  - a. vrlo mnogo
  - b. mnogo
  - c. povremeno
  - d. malo
  - e. uopće se ne odnosi na mene
  
4. Generalno, koliko je urtikarija bila pod kontrolom u protekla 4 tjedna?
  - a. vrlo mnogo
  - b. mnogo
  - c. povremeno
  - d. malo
  - e. uopće se ne odnosi na mene

## PRILOG 4

### DERMATOLOŠKI INDEKS KVALITETE ŽIVOTA (DLQI)

Cilj ovog upitnika je odrediti koliko je problem s Vašom kožom utjecao na Vaš život TIJEKOM PROTEKLOG TJEDNA. Molimo Vas da označite po jedan kvadratić za svako pitanje.

1.	Tijekom proteklog tjedna, koliko Vas je koža <b>svrbjela, bila osjetljiva, boljela ili peckala?</b>	Vrlo mnogo Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
2.	Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri ste se zbog stanja Vaše kože osjećali <b>neugodno</b> ili <b>upadljivo?</b>	Vrlo mnogo Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
3.	Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri Vas je stanje Vaše kože ometalo pri odlazanju u <b>kupovinu</b> ili u održavanju Vašeg <b>doma ili vrta?</b>	Vrlo mnogo Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Ne odnosi se na moj slučaj <input type="checkbox"/>
4.	Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri je stanje Vaše kože utjecalo na <b>odabir odjeće</b> koju ste nosili?	Vrlo mnogo Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Ne odnosi se na moj slučaj <input type="checkbox"/>
5.	Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri je stanje Vaše kože utjecalo na Vaše <b>društvene</b> ili <b>slobodne</b> aktivnosti?	Vrlo mnogo Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Ne odnosi se na moj slučaj <input type="checkbox"/>
6.	Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri Vam je stanje Vaše kože otežalo bavljenje <b>sportom?</b>	Vrlo mnogo Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Ne odnosi se na moj slučaj <input type="checkbox"/>
7.	Tijekom proteklog tjedna, je li Vas stanje Vaše kože <b>sprječavalo u radu</b> ili <b>učenju?</b>	Da Ne	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Ne odnosi se na moj slučaj <input type="checkbox"/>
	Ako je odgovor "Ne", u kojoj mjeri Vam je tijekom proteklog tjedna stanje Vaše kože bilo problem pri <b>obavljanju posla</b> ili pri <b>učenju?</b>	Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
8.	Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri Vam je Vaša koža stvarala probleme u odnosu s <b>partnerom</b> ili s nekim od Vaših <b>bliskih prijatelja</b> ili <b>rođaka?</b>	Vrlo mnogo Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Ne odnosi se na moj slučaj <input type="checkbox"/>
9.	Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri Vam je stanje Vaše kože uzrokovalo neke <b>seksualne poteškoće?</b>	Vrlo mnogo Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Ne odnosi se na moj slučaj <input type="checkbox"/>
10.	Tijekom proteklog tjedna, koliki problem Vam je predstavljalo <b>liječenje</b> Vaše kože, primjerice tako da Vam je stvaralo nered u kući ili Vam oduzimalo vrijeme?	Vrlo mnogo Mnogo Malo Nimalo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Ne odnosi se na moj slučaj <input type="checkbox"/>

## PRILOG 5

### UPITNIK O KVALITETI ŽIVOTA KOD PACIJENATA S KRONIČNOM URTIKARIJOM (CU-Q2oL)

U kojoj mjeri su Vam smetali sljedeći simptomi? Ukoliko vas nisu uopće smetali, zaokružite 1, a ukoliko su vas smetali vrlo često zaokružite 5.

1. Svrbež 1 2 3 4 5
2. Urtike 1 2 3 4 5
3. Oticanje očiju 1 2 3 4 5
4. Oticanje usana 1 2 3 4 5
  
5. Urtikarija ima utjecaj na moj posao 1 2 3 4 5
6. Urtikarija ima utjecaj na moje fizičke aktivnosti 1 2 3 4 5
7. Urtikarija ima utjecaj na moje spavanje 1 2 3 4 5
8. Urtikarija ima utjecaj na moje slobodno vrijeme 1 2 3 4 5
9. Urtikarija ima utjecaj na moje odnose s ljudima 1 2 3 4 5
10. Urtikarija ima utjecaj na moje navike hranjenja 1 2 3 4 5
  
11. Imate li problema sa uspjavanjem? 1 2 3 4 5
12. Budite li se tijekom noći? 1 2 3 4 5
13. Osjećate li se umorno tijekom dana? 1 2 3 4 5
14. Imate li poteškoća sa koncentracijom? 1 2 3 4 5
15. Osjećate li se nervozno? 1 2 3 4 5
  
16. Jeste li loše raspoloženi? 1 2 3 4 5
17. Morate li se na neki način ograničiti u izboru hrane? 1 2 3 4 5
18. Morate li se zbog urtikarije ograničiti u sportskim aktivnostima? 1 2 3 4 5
  
19. Zabrinjavaju li Vas nuspojave lijekova (utjecaj na izgled)? 1 2 3 4 5
20. Osjećate li se posramljeno zbog urtikarije (utjecaj na izgled)? 1 2 3 4 5
21. Osjećate li se posramljeno kod odlaska na javna mjesta? 1 2 3 4 5
22. Imate li problema sa korištenjem kozmetike? 1 2 3 4 5
23. Imate li bilo kakvih ograničenja u izboru materijala za odjeću? 1 2 3 4 5