

KRONİK ÜRTİKER'Lİ ÇOCUKLARDA SERUM OTOLOG DERİ TESTİ: HASTALIĞIN AĞIRLIĞI İLE İLİŞKİSİ VAR MI?

Serum Autologous Skin Test in Children with Chronic Urticaria: Is it Related to The Severity of The Disease?

Deniz Özçeker¹(0000-0002-0032-6727), Esra Özek Yücel²(0000-0002-0597-6358), Sevgi Sipahi Çimen²(0000-0003-3026-0906), Fatih Dilek³(0000-0003-0700-5317), Nermin Güler²(0000-0002-9702-0491), Zeynep Tamay²(0000-0002-3200-5493)

ÖZ

GİRİŞ ve AMAÇ: Çalışmamızda Otolog serum testi pozitifliği ile çocukluk çağı kronik spontan ürtikerinin ağırlığı arasındaki ilişkiyi araştıran kısıtlı sayıda çalışmaya katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

YÖNTEM ve GEREÇLER: Kronik spontan ürtiker nedeniyle otolog serum testi yapılmış 87 çocuk hastanın verileri geriye dönük incelendi. Ürtiker ağırlığı ürtiker aktivite skoruna göre değerlendirildi.

BULGULAR: Hastalarımızın 19'sında (%21.83) otolog serum testi pozitif olarak tespit edildi. Otolog serum testi pozitif ve negatif olan hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri değerlendirildiğinde; yaş, cins, semptomların başlama yaşı, total IgE ve eozinofil (%) açısından istatistiksel anlamlılık saptanmadı. Otolog serum testi pozitif olan hastaların ürtiker aktivite skorları anlamlı olarak daha yüksek saptandı (p 0,001).

TARTIŞMA ve SONUÇ: Çalışmamızda otolog serum testipozitif hastalarda ürtiker aktivite skoru daha yüksek bulunmuştur. Pozitif otolog serum testine sahip hastaların tedavi seçimi hastalığın daha şiddetli olabileceği ihtimalini dikkate alarak yapıldığında daha çabuksemptom kontrolünü ve hastaların yaşam kalitesinin düzelmesini sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: çocuk, otolog serum testi, kronik spontan ürtiker, ürtiker aktivite skoru

1 Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Okmeydanı Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Çocuk İmmünoloji ve
Alerji Kliniği

2 İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk
İmmünoloji ve Alerji Bilim Dalı

3 Bezmî Alem Üniversitesi, Çocuk
İmmünoloji ve Alerji Bilim Dalı

Sorumlu yazar yazışma adresi:

Deniz ÖZÇEKER: Sağlık Bilimleri
Üniversitesi, Okmeydanı Eğitim ve
Araştırma Hastanesi, Çocuk
İmmünoloji ve Alerji Kliniği
İstanbul - Türkiye,

E-mail: denizozceker@gmail.com

Geliş tarihi/Received: 09.11.2018

Kabul tarihi/Accepted: 11.02.2020

Yayın hakları Güncel Pediatri'ye
aittir.

Güncel Pediatri 2020;18(1):85-94

ABSTRACT

INTRODUCTION: We aimed to contribute to the limited number of studies that investigated the association between autologous serum test positivity and the severity of childhood chronic spontaneous urticaria.

MATERIALS and METHODS: Eighty-seven pediatric patients who underwent autologous serum test for chronic spontaneous urticaria were retrospectively investigated. Urticaria severity was assessed according to urticaria activity score.

RESULTS: In 19 of our patients (21.83%), the autologous serum test was positive. When clinical and laboratory parameters of patients with positive and negative autologous serum test are evaluated; age, sex, onset of symptoms, total IgE and eosinophil (%) were not statistically significant. Patients with positive autologous serum test had significantly higher urticaria activity scores (p 0.001).

CONCLUSIONS: In our study, urticaria activity score was found higher in patients with autologous serum test positive. The choice of treatment for patients with a positive autologous serum test will ensure that symptoms and the quality of life of the patients will be improved faster if they are taken into consideration that the disease may be more severe.

Key words: children, autologous serum test, chronic spontaneous urticaria, urticaria activity score

GİRİŞ

Ürtiker her yaşta görülebilen, ani başlangıçlı, deride kaşıntılı kızarıklıklar ve kabartılarla ve/veya anjiyoödem ile seyreden bir hastalıktır. Lezyonların 1-24 saat içinde kendiliğinden kaybolması tipiktir (1). Çoğunlukla mast hücreleri ve bazofillerin aktive olması ile başta histamin olmak üzere çeşitli mediyatörler ve sitokinler salınarak deride vazodilatasyon, duysal sinir aktivasyonu ve damar dışına plazma sızıntısı ile gerçekleşir. Ürtiker, altı haftadan uzun sürerse ve hemen her gün lezyonlar batıp çıkmaya devam ederse kronik ürtiker (KÜ) olarak sınıflandırılır. Tetikleyici faktörlerin varlığına göre ise kronik ürtiker sınıflaması 'tetiklenebilir ürtiker' ve tetikleyicilerin tespit edilemediği 'spontan ürtiker' olarak iki ana guruba ayrılmaktadır (2). Kronik spontan ürtikerli (KSÜ) hastaların %70-80'inde etioloji tespit edilememektedir. (3). Bu gruptaki hastaların %30-40'ı yüksek afiniteli IgE (anti Fcε RI) reseptörüne karşı veya daha az sıklıkla IgE 'ye yönelik histamin salınımına neden olan oto antikorlara sahiptir ve bu hastaların ürtikerleri daha şiddetli olma eğilimindedir (4-6). Günümüzde hastaların serumunda fonksiyonel oto antikorların saptanması için altın standart test 'bazofil histamin salınım testi'dir. Ancak bu testi standardize etmek oldukça zor olduğundan bu test yerine in vivo bir yöntem olan ve anti Fcε RI ve / veya IgE'ye karşı oluşan dolaşımdaki oto antikorların varlığını gösteren otolog serum cilt testi (OST) kullanılmaktadır. OST'nin duyarlılığı%70 ve özgüllüğü %80'dir (7, 8).

Çoğunluğu erişkin yaş grubunda yapılan OST pozitifliği ile hastalık ağırlığı arasında çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Bazı çalışmalar OST pozitif olan hastaların daha yüksek bir aktivite skoruna sahip olduğunu belirtirken, bazıları ise fark olmadığını belirtmektedir (3,9,10). Biz bu çalışmamızda çocuk yaş gurubunda bu ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

MATERYAL ve METOT

Hastalar ve Laboratuvar Testleri: Çalışmaya İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Alerji Polikliniğine başvuran ve KSÜ tanısı almış 87 hasta alındı. Tüm hastalara ait demografik özellikler, ürtikerin başlama yaşı, ailede atopi öyküsü, fizik muayene bulguları, tam kan sayımı, karaciğer enzimleri, tam idrar analizi, serum total immunglobulin E (IgE) düzeyleri, T4, tirois stimulan hormon (TSH), anti tiroid peroksidaz (TPO), anti-tiroglobülin (TG), kompleman 4 (C4), anti nükleer antikor (ANA), Hepatit B antijeni (HBs Ag) ve Anti HCV, gaitada parazit ve Helicobacter pylori (H.pylori) tetkik sonuçları, besin ve aeroalerjenlerden oluşan deri delme test sonuçları, OST ve ürtiker aktivite skoru (ÜAS) hasta dosyalarından kayıt edildi. Anti nükleer antikor immün floransan yöntem ile çalışıldı ve 1/160 dilüsyon üzeri anlamlı kabul edildi.

Otolog Serum Testi; Test öncesinde hastanın kullanmakta olduğu klasik antihistaminlerin en az üç gün; uzun etkili antihistaminlerin, trisiklik antidepresanların ve fenotiyazin türevlerinin en az yedi gün önce kesildi. Venöz olarak heparinsiz tüpe alınan 5 ml kan 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 15 dakika 1500 devirde santrifüj edilerek serumu ayrıldı. Ayrılan serum tüberkülin enjektörü ile hastanın ön kol iç yüzüne 45 derecelik açı ile 0,05 ml intradermal olarak uygulandı. Eş zamanlı olarak aynı miktarda ve şekilde negatif kontrol olarak serum fizyolojik ve pozitif kontrol olarak histamin (Stallergenes, Fransa) uygulandı ve 30 dakika sonra sonuçlar değerlendirildi. Otuz dakika sonra enjeksiyon yerinde oluşan kabarıklığın çapı > 3mm veya serum fizyolojik kabartısından \geq 1,5 mm ise test pozitif kabul edildi.

Ürtiker aktivite skoru; Hastalığın ağırlığı ÜAS'a göre belirlendi. Otolog serum testi yapıldığı gün, ilaç kullanmadığı dönemde hastanın kaşıntı ve ürtiker plaklarının sayısına göre ÜAS hesaplandı (Tablo 1).

Tablo 1. Ürtiker aktivite skoru (11)

Skor	Kabarıklıklar	Skor	Kaşıntı
0	Yok	0	Yok
1	20'den az	1	Hafif, (çocuğu fazla rahatsız etmiyor)
2	20-50 arası	2	Orta, (oyun oynamasını, günlük aktivitesini etkiliyor, gece uykusunu bozuyor)
3	50'den fazla veya sayıca az ama çok büyük kabarıklıklar	3	Yoğun, (günlük aktiviteyi ve gece uykusunu bozuyor; her şeyini etkiliyor)
TOPLAM GÜNLÜK SKOR (en fazla 6 olabilir)			

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi etik kurulundan izin alınmıştır (2018/193).

İstatistik: Veriler SPSS for Windows v 22 programına girildi. Normal dağılıma uyan veriler ortalama \pm standart sapma (SS), normal dağılıma uymayanlar ise medyan ve çeyrekler aralığı (ÇA) olarak verildi. Kategorik değişkenler Ki kare testi ile değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak tanımlandı.

BULGULAR

Çalışmaya yaşları ortalama $9,80 \pm 4,32$ yıl olan, toplam 87 hasta alındı. Hastaların %43,67 'si (n=38) kız idi. Semptomların başlangıç yaşı ortancası 94ay (ÇA; 60-127) olup diğer demografik özellikler Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2. Hastaların demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri

Demografik bulgular	Ortanca (ÇA)
Başlangıç yaşı (ay)	94 (60-127)
İzlem süresi (ay)	6 (2-12)
Klinik Bulgular	% (n)
Anjiyoödem varlığı	33,33 (29)
Ailede atopi varlığı	25,28 (22)
Stres ile tetiklenme	63,21 (55)
Eşlik eden alerjik hastalık	20,68 (18)
Laboratuvar Bulguları	
	Ortanca (ÇA)
Serum total IgE (kIU/L)	107 (34,81-304,83)
Serum eozinofil (%)	1,92 (0,9-3,0)
	% (n)
Aeroallerjen duyarlılığı	28,73 (25)
Gaitada <i>Helicobacter pylori</i> antijen pozitifliği	2,29 (2)
Hbs Ag ve Anti HCV pozitifliği	0 (0)
Anti peroksidaz antikor ve/veya anti tiroglobülin antikor pozitifliği	2,29 (2)
ANA pozitifliği	6,89 (6)
Otolog serum testi pozitifliği	21,83 (19)
Karaciğer enzimlerinde yükselme	0 (0)
Tam idrar analizinde enfeksiyon bulgusu	0 (0)
Gaitada parazit pozitifliği	0 (0)

ÇA: Çeyrekler aralığı, Ig E: İmmünglobülin E, Hbs Ag: Hepatit B antijeni, HCV: Hepatit C antikor, ANA: Anti nükleer antikor

En az bir aeroalerjene duyarlılık %28,73 idi. Otolog serum testi ise %21,83 (n=19) hastada pozitif olarak tespit edildi. Hastalarımızın laboratuvar bulguları Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Otolog pozitif ve negatif olan hastaların bazı laboratuvar ve klinik özelliklerinin karşılaştırılması

	OST Negatif N= 68 % (n)	OST Pozitif N= 19 % (n)	p*
Anjioödem varlığı	36,76 (25)	21 (4)	0,274
Ailede atopi varlığı	26,47 (18)	21 (4)	0,770
Stres ile tetiklenme	64,70 (44)	57,89 (11)	0,600
Eşlik eden alerjik hastalık	16,17 (11)	36,84 (7)	0,061
Aeroalerjen pozitifliği	29,41 (20)	26,31 (5)	0,750
ANA pozitifliği	5,88 (4)	10,52(2)	0,608

* χ^2 ki kare

Otolog serum testi pozitif olan hastaların ÜAS’ları anlamlı olarak daha yüksek saptandı (p =0,001).

Otolog serum testi pozitif ve negatif olan hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri değerlendirildiğinde; yaş, cins, semptomların başlama yaşı, total IgE ve eozinofil (%) açısından anlamlı herhangi bir parametreye rastlanmadı (p=0,63 ve p=0,18). Diğer laboratuvar parametreleri Tablo 3’ de verilmiştir.

TARTIŞMA

Günümüzde çeşitli hastalıkların seyri ve patogeneğinde rolü olabilen çeşitli oto antikorlar saptanmıştır. Bu oto antikorlar çok sayıda tanımlansa da hastalık ile doğrudan ilişkili olanlar daha az sayıdadır. Yüksek afiniteli IgE reseptörü ve IgE’ye karşı oluşmuş oto antikorlar (anti IgE) mast hücre ve bazofilleri aktive ederek histamin salınımına neden olmaktadır (11). Pemfigus vulgaris, SLE, ürtikeryal vaskülit gibi hastalıklarda farklı oranlarda anti Fcε RI saptansa da sadece kronik ürtikerde bu oto antikorların fonksiyonel olduğu tespit edilmiştir (4, 12,13). Kronik spontan ürtikerli hastalarda 'bazofil histamin salınım testi' fonksiyonel oto antikorları tespit etmek için altın standart olarak kabul edilen bir yöntemdir, ancak bu testi standardize etmek ve uygulamak oldukça zordur. Bu test yerine ilk kez Gratan tarafından uygulanan uygulaması daha kolay, ucuz ve standart bir test olan otolog serum testi kullanılmaktadır (5, 7). Kronik spontan ürtikerli çocukların %18-47’sinde oto reaktiviteyi gösteren otolog serum deri testi pozitifliği bildirilmiştir (14-16). Çalışmamızda da benzer olarak hastaların %18,7’sinde OST pozitif olarak tespit edildi. Erişkin ve çocuk çalışmalarında çoğunda OST

pozitifliği ile cinsiyet, hastalık süresi, ailede ve kendinde atopi öyküsü arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (17-19). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde cinsiyet, kendisinde ve ailede atopi varlığı, ailenin ifadesi ile stresle tetiklenme açısından fark yoktu.

Laboratuvar çalışmalarında OST pozitifliği bulunan ve bulunmayan hastaların serum eozinofil yüzdeleri ve IgE düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır (7,20-22). Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. FcεRI ve IgE'ye karşı oluşan oto antikorların saptanması kronik spontan ürtikerli hastaların bir kısmında otoimmün mekanizmaların da semptom gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir ve otoimmün hastalıklarla birlikteliği ve artmış oranda romatoid faktör, anti tiroid antikorlar ve ANA pozitifliği bildirilmiştir (10,23,24). Mete ve ark. (25) yaptıkları çalışmada OST pozitif hastalarda daha yüksek oranda ANA pozitifliği saptamışlardır. Okba ve ark. (21) da otolog serum testi pozitif hastalarda tiroid otoantikor pozitifliğinin daha yüksek oranda olduğunu bildirmişlerdir. Krupashankar ve ark.(26) OST pozitif hastalarda H.pylori IgG ve tiroid oto antikor pozitifliğini daha yüksek oranda bulmuşlardır. Ancak bazı çalışmalarda böyle bir ilişki saptanmamıştır (3,7,22). Bizim çalışmamızda da ANA pozitifliği, tiroid oto antikor pozitifliği ve H. pylori IgG ile OST sonucu arasında ilişki saptanmamıştır. Bu farklılığın çalışma grubumuzun pediatrik hastalardan oluşmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. H. Pylori'nin kronik spontan ürtiker patogenezindeki rolü tartışmalıdır, bizim de sadece iki hastamızda pozitiflik saptanmıştır. Yeterli sayıda H.pylori pozitif olgumuz olmadığından bu konuda istatistiksel bir çıkarımda bulunulamadı.

Kimi zaman KSÜ'e anjiyoödem de eşlik edebilmektedir. Otolog serum testi pozitifliği ile anjiyoödem varlığı açısından çoğu çalışmada fark bulunmamıştır (3,22,27). Bizim çalışmamızda da eşlik eden anjiyoödem ile OST pozitifliği açısından fark bulunmamıştır. Otolog serum testi pozitifliğinin daha ağır ve daha uzun süren ürtiker tablosu ile ilişkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (3,8,9,10). Ancak Dilek ve ark. (28) çocuk yaş grubunda yaptıkları çalışmada OST pozitifliği ile ÜAS arasında fark bulmamıştır. Son yıllarda ÜAS ürtiker ağırlığının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmakta olup, daha objektif bir gösterge olarak değerlendirilmektedir. Otolog serum testi pozitifliği ile ÜAS arasındaki anlamlı ilişki gösteren kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur (3,8).Bizim çalışmamızda da OST pozitif hastalarda ÜAS daha yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak; çalışmamızda çocukluk çağı KSÜ'lü hastalarda OST pozitif hastalarda ile ÜAS daha yüksek bulunmuştur. Otolog serum testi ürtiker ağırlığı açısından bize öngörü sağlayabilecek, kolay uygulanabilen, çabuk sonuçlanan bir testtir. Pozitif OST'ye sahip hastaların tedavi seçimi hastalığın daha şiddetli olabileceği ihtimalini dikkate alarak yapıldığında daha çabuk semptom kontrolünü ve hastaların yaşam kalitesinin düzelmesini sağlayacaktır.

Çıkar çatışması: yoktur

Finansman desteği: yoktur

KAYNAKLAR

1. Bernstein, JA, Lang, DM, Khan, DA, et al. The diagnosis and management of acute and chronic urticaria: 2014 update. Practice Parameter. J Allergy Clin Immunol 2014;133:1270-77.
2. Zuberbier T, Aberer W, Asero R, et al. The EAACI/GA(2) LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2013 revision and update. Allergy 2014;69:868-87.
3. George M, Balachandran C, Prabhu S. Chronic idiopathic urticaria: comparison of clinical features with positive autologous serum skin test. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2008; 74:105-8.
4. Niimi N, Francis DM, Kermani F, et al. Dermal mast cell activation by autoantibodies against the high affinity IgE receptor in chronic urticaria. J Invest Dermatol 1996;106:1001-6.
5. Grattan CE, Wallington TB, Warin RP, Kennedy CT, Bradford JW. A Serological mediator in chronic idiopathic urticaria — A clinical, immunological and histological evaluation. Br J Dermatol 1986;114:583-90.
6. Fiebiger E, Maurer D, Holub H, et al. Serum IgG autoantibodies directed against the alpha chain of Fc epsilon RI: A selective marker and pathogenetic factor for a distinct subset of chronic urticaria patients? J Clin Invest 1995;96:2606-12.
7. Kumar YH, Bhaskar S, Shankar K. Comparative Study of Positive Versus Negative Autologous Serum Skin Test in Chronic Spontaneous Urticaria and its Treatment Outcome. N Am J Med Sci 2016; 8:25-30.
8. Sabroe KA, Grattan CE, Francis DM, Barr RM, Kobza Black A, Greaves MW. The autologous serum skin test: A screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria. Br J Dermatol 1999;140:446-52.
9. Aktar S, Akdeniz N, Ozkol HU, Calka O, Karadag AS. The relation of autologous serum and plasma skin test results with urticarial activity score, sex and age in patients with chronic urticaria. Postepy Dermatol Alergol 2015; 32:173-8.

10. Caproni M, Volpi W, Giomi B, et al. Chronic idiopathic and chronic autoimmune urticaria: clinical and immunopathological features of 68 subjects. *Acta Derm Venereol* 2004; 84:288-90
11. Hide M, Francis DM, Grattan CE, Hakimi J, Kochan JP, Greaves MW. Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria. *N Engl J Med* 1993; 328:1599-604.
12. Fiebiger E, Hammerschmid F, Stingl G, Maurer D. Anti-FcepsilonRIalpha autoantibodies in autoimmune-mediated disorders. Identification of a structure-function relationship. *J Clin Invest* 1998 ; 101:243-51.
13. Zuberbier T, Henz BM, Fiebiger E, Maurer D, Stingl G. Anti-FcepsilonRIalpha serum autoantibodies in different subtypes of urticaria. *Allergy* 2000; 55:951-4.
14. Jirapongsananuruk O, Pongpreuksa S, Sangacharoenkit P, Visitsunthorn N, Vichyanond P. Identification of the etiologies of chronic urticaria in children: a prospective study of 94 patients. *Pediatr Allergy Immunol* 2010;21:508-14.
15. Sahiner, UM, Civelek, E, Tuncer A, et al. Chronic urticaria: Etiology and natural course in children. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;156:224-30.
16. Kılıç, G, Guler N, Suleyman A, Tamay Z. Chronic urticaria and autoimmunity in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2010;21:837-42.
17. Fusari A, Colangelo C, Bonifazi F, Antonicelli L. The autologous serum skin test in the follow-up of patients with chronic urticaria. *Allergy* 2005; 60:256-8.
18. Altrich ML, Halsey JF, Altman LC. Comparison of the in vivo autologous skin test with in vitro diagnostic tests for diagnosis of chronic autoimmune urticaria. *Allergy Asthma Proc* 2009; 30:28-34.
19. Yıldız H, Karabudak O, Doğan B, Harmanyeri Y. Evaluation of autologous plasma skin test in patients with chronic idiopathic urticaria. *Br J Dermatol* 2011; 165:1205-9.
20. Kumaravel S, Manjula J, Balamurugan L, Sinhuja SD, Anandan H. Chronic autoimmune urticaria and efficacy of autologous serum therapy. *International Journal of Scientific Study* 2017; 11: 163-66.
21. Ashraf MO, Dina SS, Asmaa SM, Alyaa AS, Nesrine AM, Manar FA. Association between thyroid autoimmunity and chronic urticaria in patients versus healthy controls. *Egypt J Obes Diabetes Endocrinol* 2015; 1:84-89.
22. Jindal R, Roy S, Nagrani P. Chronic idiopathic urticaria and autoimmunity: frequency and association in patients with positive versus negative autologous serum skin test. *Int J Res Med Sci* 2017; 5: 1103-06.

23. De Swerd A, Van Den Keybus C, Kasran A, et al. Detection of basophil-activating IgG autoantibodies in chronic idiopathic urticaria by induction of CD 63. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116:662-7
24. Ryhal B, DeMera RS, Shoenfeld Y, Peter JB, Gershwin ME. Are autoantibodies present in patients with subacute and chronic urticaria? *J Invest Allergol Clin Immunol* 2001; 11:16-20.
25. Mete N, Gülbahar O, Onbaşı K, Sin A, Kokuludag A, Sebik F. Otolog Serum Testi Pozitif Kronik İdiopatik Ürtikerli Hastalarda Otoantikorlar. *Türkiye Klinikleri J Allergy-Asthma* 2003; 5:61-6.
26. Krupashankar DS, Ramnane M, Rajouria EA. Etiological approach to chronic urticaria. *Indian J Dermatol* 2010;55:33-8.
27. Kumaran MS, Mangal S, Narang T, Parsad D. Autologous Serum and Plasma Skin Tests in Chronic Spontaneous Urticaria: A Reappraisal. *Indian Dermatol Online J* 2017; 8: 94-9.
28. Dilek F, Ozceker D, Ozkaya E, et al. Elevated nitrosative stress in children with spontaneous urticaria. *Int Arch Allergy Immunol* 2017; 172 (1): 33-39 doi: 10.1159/000453334. Epub 2017 Feb 21.