

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**HENOCH-SCHÖNLEIN PURPURALI ÇOCUKLARDA  
OKSİDATİF STRES DURUMU İLE MnSOD VE PON1 GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Asiye Elvan KUMKAYIR**

**ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMANLAR**

**Doç. Dr. Faruk ÖKTEM  
Doç. Dr. Mustafa AKÇAM**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından 2179-TU-10 proje numarası ile desteklenmiştir**

**ISPARTA – 2011**

## ÖNSÖZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı olarak yetişmemde büyük emeği geçen değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet R. Örmeci, Prof. Dr. Ali Ayata, Prof. Dr. Duran Canatan, Prof. Dr. Tansu Sipahi, Prof. Dr. Selmin Karademir, Doç. Dr. Bumin N. Dündar, Doç. Dr. Hasan Çetin, Doç. Dr. Mustafa Akçam, Doç. Dr. Metehan Özen ve Yrd. Doç. Dr. Nihal Dündar'a bu tezin oluşturulmasında beni başından sonuna kadar yönlendiren, her konuda yardım ve bilgilerini esirgmeden, bilimsel çalışmanın gereklerini öğreten değerli tez hocam Doç. Dr. Faruk Öktem'e teşekkürlerimi sunarım. Çalışma süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Uzm. Dr. Özlem Sangün ve Uzm. Dr. Ayça Esra Kuybulu'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince gösterdikleri uyum için tez hastalarım ve ailelerine, aldığım kan örneklerini çalışan Doç. Dr. Recep Sütçü'ye teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte olmaktan keyif aldığım bütün klinik arkadaşlarıma, klinik hemşire ve personeline, her zaman en büyük desteği gördüğüm sevgili eşim Özgür Kumkayır'a ve aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Asiye Elvan KUMKAYIR**

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Henoch-Schönlein Purpurası .....	3
2.1.1. Epidemiyoloji .....	3
2.1.2. Etyoloji ve Patogenez .....	3
2.1.3. Klinik Bulgular .....	5
2.1.3.1. Cilt Bulguları.....	6
2.1.3.2. Eklem Bulguları .....	6
2.1.3.3. Gastrointestinal Sistem Bulguları .....	6
2.1.3.4. Renal Bulgular .....	6
2.1.4. Laboratuvar Bulguları.....	7
2.1.5. Tanı .....	7
2.1.6. Patoloji.....	8
2.1.7. Klinik Seyir ve Prognoz.....	8
2.1.8. İzlem .....	9
2.1.9. Tedavi .....	10
2.2. Oksidatif Stres .....	10
2.2.1. Oksidatif Stres ve Lipid Peroksidasyonu.....	10
2.2.2. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri .....	12
2.2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	12
2.2.4. Oksidatif Stres ve Hastalıklar .....	13
2.2.4.1. Glomeruler Hastalıklar ve Oksidatif Stres .....	13
2.2.4.2. Henoch-Schönlein Purpurası ve Oksidatif Stres .....	15
2.2.5. Paraoksonaz Enzimi.....	17
2.2.5.1. PON1 Enziminin Biyokimyasal Fonksiyonu .....	18
2.2.5.2. PON1 Aktivitesi ve Ekspresyonunun Regülasyonu.....	19
2.2.5.3. PON1 Geni ve Polimorfizmi .....	20

2.2.5.4. PON1 Gen Polimorfizmi ve PON1 Aktivitesi .....	21
2.2.5.5. PON1 Gen Polimorfizmi ve Plazma Lipoproteinleri .....	21
2.2.5.6. PON1 Gen Polimorfizmi ve Hastalıklar .....	22
2.2.5.6.1. Böbrek hastalıkları, Kollajen Doku Hastalıkları ve PON1 .....	22
2.2.5.6.2. Kardiyovasküler Hastalıklar ve PON1 .....	24
2.2.5.6.3. Serebrovasküler Hastalıklar ve PON1 .....	25
2.2.5.6.4. DM ve Diğer Endokrin Hastalıklarda PON1 .....	25
2.2.5.6.5. Diğer Hastalıklar ve PON1 .....	26
2.2.6. Süperoksit Dismutaz .....	26
2.2.6.1. Mangan Süperoksit Dismutaz Enzimi .....	27
2.2.6.2. Mangan Süperoksit Dismutaz Geni .....	27
2.2.6.3. Mangan Süperoksit Dismutaz Gen Polimorfizmi .....	28
2.2.6.4. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Hastalıklar .....	28
2.2.6.4.1. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Böbrek Hastalıkları .....	28
2.2.6.4.2. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Diğer Hastalıklar .....	29
2.3. N-asetil- $\beta$ -D-glukozaminidaz (NAG) .....	30
<b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>31</b>
3.1. Çalışma Grubunun Seçimi .....	31
3.2. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanışı .....	32
3.3. MDA Tayini .....	32
3.4. TAK, TOS ve PON Ölçümü .....	32
3.5. DNA İzolasyonu .....	33
3.6. Agaroz Jel Elektforeziyle PZR Kontrolü .....	34
3.7. Örnek Yükleme Tamponu (Loading Dye) .....	34
3.8. PON 192 Q/R Gen Polimorfizmi .....	35
3.9. PON 55 L/M Gen Polimorfizmi .....	36
3.10. MnSOD A16V Gen Polimorfizmi .....	37
3.11. İstatiksel Analiz .....	38
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>39</b>
4.1. Başvuru Sırasındaki Klinik ve Laboratuvar Bulgular .....	40
4.1.1. Klinik Bulgular .....	40
4.1.2. Laboratuvar Bulguları .....	42
4.2. Oksidatif Stres ile İlgili Bulgular .....	43
4.3. Gen Polimorfizmi İle İlgili Bulgular .....	46

4.3.1. PON1 Genotip Dağılımı .....	46
4.3.1.1. PON Q/R 192 Genotip Dağılımı .....	46
4.3.1.2. PON L/M 55 Genotip Dağılımı .....	47
4.3.2. MnSOD Genotip Dağılımı.....	48
4.3.2.1. MnSOD A/V 16 Genotip Dağılımı .....	48
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>54</b>
<b>SONUÇ.....</b>	<b>61</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>62</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>63</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>64</b>

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>A</b>	: Alanin
<b>ACE inh.</b>	: Anjiotensin konverting enzim inhibitörü
<b>ANA</b>	: Antinükleer Antikor
<b>ANCA</b>	: Antinötrofilik stoplazmik antikor
<b>Anti-DNAse B</b>	: Anti-deoksiribonükleaz B
<b>AP-2</b>	: Aktivatör protein-2
<b>APC</b>	: Antijen sunan hücre
<b>Apo B 100</b>	: Apolipoprotein B 100
<b>ApoB 100ox</b>	: Okside apolipoprotein B 100
<b>ARYL</b>	: Arilesteraz
<b>ASO</b>	: Antistreptolizin O
<b>bp</b>	: baz çifti
<b>BUN</b>	: Kan Üre Azotu
<b>C</b>	: Sitozin
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CI</b>	: Güvenirlik Aralığı
<b>Cu-Zn SOD</b>	: Bakır ve Çinko İçeren Süperoksit Dismutaz
<b>CLP</b>	: Serüloplazmin
<b>dak.</b>	: Dakika
<b>dL</b>	: Desilitre
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>DM</b>	: Diabetes mellitus
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin Tetraasetikasit
<b>EC-SOD</b>	: Ekstraselüler Süperoksit Dismutaz
<b>Eox</b>	: Okside vitamin E
<b>FSGS</b>	: Fokal Segmental Glomerül
<b>G</b>	: Guanozin
<b>GFR</b>	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
<b>GIS</b>	: Gastrointestinal sistem
<b>GPX</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>Gssg</b>	: Okside glutasyon
<b>GsH</b>	: İndirgenmiş glutasyon

<b>gr</b>	: Gram
<b>HD</b>	: Hemodiyaliz
<b>HDL</b>	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
<b>HLA</b>	: Human Lökosit Antijenleri
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>HSP</b>	: Henoch-Schönlein Purpurası
<b>IgA</b>	: Immünglobulin A
<b>IgA IK</b>	: IgA immünkompleks
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>IL-8</b>	: İnterlökin-8
<b>İMK</b>	: İntima-media kalınlığı
<b>KBY</b>	: Kronik Böbrek Yetmezliği
<b>KKH</b>	: Korener Kalp Hastalığı
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>L</b>	: Lösin
<b>LDL</b>	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>LDLox</b>	: Okside LDL
<b>LPS</b>	: Lipopoliakkarit
<b>L/M 55</b>	: PON1 geninde 55. Pozisyondaki lösinin metyonin ile yer değiştirmesi sonucu oluşan polimorfizm
<b>M</b>	: Metyonin
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MnSOD</b>	: Mangan Süperoksit Dismutaz
<b>MnSOD A/V 16</b>	: MnSOD geninde 16.pozisyondaki alaninin valin ile yer değiştirmesi sonucu oluşan polimorfizm
<b>MPGN</b>	: Memranoproliferatif Glomerülonefrit
<b>MPO</b>	: Myeloperoksidaz
<b>MSS</b>	: Mitokondrial Sinyal Sekans
<b>mg</b>	: Miligram
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>m<sup>2</sup></b>	: Metrekare
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>µL</b>	: Mikrolitre

<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	: Nükleus faktörü- kappa B
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>NS</b>	: Nefrotik Sendrom
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit Radikali
<b>OH</b>	: Hidroksil Radikali
<b>OR</b>	: Odds oranı
<b>PON1</b>	: Paraoksonaz 1
<b>PUFA</b>	: Poliansature yağ asitleri
<b>PUFAox</b>	: Okside poliansature yağ asitleri
<b>PZR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>Q</b>	: Glutamin
<b>Q/R 192</b>	: PON1 geninde 192. Pozisyondaki glutamin arginin ile yer değiştirmesi sonucu oluşan polimorfizm
<b>RF</b>	: Romatoid faktör
<b>ROT</b>	: Reaktif Oksijen Türevleri
<b>SDBY</b>	: Son Dönem Böbrek Yetmezliği
<b>SLE</b>	: Sistemik Lupus Eritematozus
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>SP</b>	: Selektif Promotör Faktör
<b>SP-1</b>	: Selektif promotör faktör -1
<b>SVO</b>	: Serebrovasküler Olay
<b>TA</b>	: Tansiyon Arteriyel
<b>TAK</b>	: Total Antioksidan Kapasite
<b>TBA</b>	: Tiobarbitürik asit
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktörü alfa
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforming growth faktör Beta
<b>TNP</b>	: Tek Nükleotid polimorfizmi
<b>TOS</b>	: Total Oksidan Durum
<b>TG</b>	: Trigliserit
<b>TNF</b>	: Tümör Nekroz Faktör
<b>V</b>	: Valin
<b>Vit Cox</b>	: Okside vitamin C



**TABLolar DİZİNİ**

<b>Tablo 1.</b> HSP'ye neden olan etkenler .....	4
<b>Tablo 2.</b> HSP'nin Komplikasyonları .....	9
<b>Tablo 3.</b> Hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri .....	39
<b>Tablo 4.</b> Çalışmanın ikinci bölümündeki hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri. ....	42
<b>Tablo 5.</b> Aktif dönem, iyileşme dönemi ve kontrol grubunun laboratuvar bulguları. ....	43
<b>Tablo 6.</b> Gruplar arası oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması. ....	44
<b>Tablo 7.</b> PON1 Q/R192 genotip dağılımı.....	47
<b>Tablo 8.</b> PON1 L/M 55 genotip dağılımı. ....	48
<b>Tablo 9.</b> MnSOD A/V 16 genotip dağılımı .....	49
<b>Tablo 10.</b> Hasta grubu verileri.....	50
<b>Tablo 11.</b> Sağlıklı kontrol grubu verileri.....	52

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> HSP gelişimi .....	5
<b>Şekil 2.</b> Serbest radikallerin oluşumu, lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistemin ilişkisi .....	13
<b>Şekil 3.</b> PON gen ailesinin genetik haritası .....	20
<b>Şekil 4.</b> Örneklerin PON1 192 genotiplendirmesi .....	36
<b>Şekil 5.</b> Örneklerin 55 L/M genotiplendirmesi .....	37
<b>Şekil 6.</b> Örneklerin MnSOD A16V gen genotiplendirmesi .....	38
<b>Şekil 7.</b> Çalışma grubunda ilk başvuru sırasındaki klinik özellikler (n=70). .....	40
<b>Şekil 8.</b> Çalışma grubunda hastalığın başladığı ayların dağılımı (n=70).....	41
<b>Şekil 9.</b> Çalışma grubunda tutulan eklemlerin dağılımı (n=70).....	41
<b>Şekil 10.</b> Gruplar arası MDA düzeyleri. ....	45
<b>Şekil 11.</b> Gruplar arası PON aktivitesi.....	45
<b>Şekil 12.</b> Gruplar arası TAK düzeyleri. ....	46

## 1. GİRİŞ

Henoch-Schönlein Purpurası (HSP), küçük damarlar başta olmak üzere damar duvarlarında immünglobulin A (IgA) birikimi ile gelişen akut lökositoklastik vaskülitte bağlı olarak ortaya çıkan sistemik inflamatuvar bir hastalıktır (1). Yıllık insidansı yaklaşık olarak 14/100.000' dir. HSP en sık deri, gastrointestinal sistem (GİS), eklem ve böbrek tutulumuyla ortaya çıkar. Klinik seyir boyunca palpabl purpura şeklindeki deri tutulumu tüm olgularda gözlenirken, GİS tutulumu %85, eklem tutulumu %60-85 ve böbrek tutulumu %20-55'inde görülür. Hastalığın prognozunu belirleyen en önemli faktör böbrek tutulumu ve bunun derecesidir (2,3).

Patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türevleri (ROT) ile antioksidan sistemler arasındaki dengenin kaybı olarak tanımlanan oksidatif stres, günümüzde birçok hastalığın patogenezinde önemli hale gelmiştir. Oksidatif stresin vasküler hasara yol açtığına ve HSP'nin patogenezinde rolü olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur. Oksidatif stres ile antioksidan mekanizmalar arasındaki dengeyi etkileyecek faktörlerden biri de antioksidan etkiden sorumlu olan enzimlerdeki genetik farklılıklardır. Antioksidan enzimlerden paraoksonaz (PON) ve mangan süperoksit dismutazda (MnSOD) görülen polimorfizmlerin enzim aktivitelerini etkileyebileceği öne sürülmüştür (2-4).

İnsanda bulunan serum PON enziminin, organofosfatların detoksifikasyonunda rol aldığı ve LDL'yi lipid peroksidasyonundan koruduğu görüşü ileri sürülmektedir. PON1 enzimini kodlayan ve insanlarda 7. kromozomun uzun kolunda yer alan PON1 geni, iki genetik polimorfizm göstermektedir. Birinci polimorfizm Q/R192 veya A/B192 diye isimlendirilir ve 192. pozisyondaki glutaminin(Q) arginin (R) ile yer değiştirmesiyle oluşur; ikincisi ise L/M55 diye adlandırılır ve 55. pozisyondaki lösinin (L) metiyonin (M) ile yer değiştirmesiyle oluşur. Bu polimorfizmler PON1 aktivitesini bağımsız olarak etkilemektedirler (3).

PON1 polimorfizmlerinin koroner kalp hastalığı (KKH), inme, Tip 2 Diabetes Mellitus (DM) gibi damar tutulumu olan hastalıklarla ve fokal segmental glomeruloskleroz (FSGS), membranoproliferatif glomerulonefrit (MPGN) gibi immünolojik böbrek hastalıklarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (3).

MnSOD, oksidatif strese karşı savunma sağlayan, mitokondri içindeki süperoksit radikallerini temizleyebilen tek enzimdir. MnSOD geni 5 ekson ve 4 introndan oluşur. MnSOD'un kodlanan bölgesinde enzimin aktivitesini değiştiren birkaç polimorfik bölge bulunur. MnSOD geninin 2. ekzonunda bir baz çiftinde sitozin yerine timin gelirse (GCT→GTT), mitokondriyal sinyal sekansın (MSS) 16. pozisyonunda alanin (A) yerine valin (V) geçer. MnSOD aktivitesi değişerek mitokondriyal elektron transport zincirinde üretilen ROT'a karşı etkin mücadele sağlanamaz. Bu polimorfizmin de otoenflamatuvar, böbrek hastalıkları ve maligniteler ile ilişkisi sorgulanmaya devam etmektedir (4).

HSP'li hastalarda tüm vücutta ve böbrekte değişen derecelerde vasküler hasar söz konusudur, ancak tutulan sistemler kişiden kişiye farklılıklar gösterir ve hastalığın klinik bulguları hafiften ağıra doğru geniş bir yelpaze oluşturur. Bunun nedeni ise kişiler arasındaki genetik farklılıklar olabilir.

Bu çalışmanın amaçlarından biri oksidatif stresin HSP patogenezindeki yerini belirlemek, diğeri ise oksidatif stresin olumsuz etkilerini kontrol etmede etkili antioksidan enzimlerden olan PON1 ve MnDOS'a ait gen polimorfizmlerinin HSP ile ilişkisini araştırmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Henoch-Schönlein Purpurası

HSP; akut, sistemik, immün kompleks ile ilişkili lökositoklastik vaskülitir. Palpabl purpura, abdominal ağrı ve artrit ile karakterizedir. Glomerülonefrit ve gastrointestinal kanama yaygın komplikasyonlarıdır (3,5-7).

#### 2.1.1. Epidemiyoloji

HSP çocukluk çağının en sık görülen vaskülitidir. Yıllık insidansı yaklaşık olarak 100.000 çocukta 14 olgudur. İki yaşın altındaki çocuklarda daha nadirdir. Ortalama başlangıç yaşı 4-5'tir. Erkeklerde kızlardan daha sık görülür ( E/K: 1.4-1.7/1) (1,8).

#### 2.1.2. Etyoloji ve Patogenez

HSP'nin etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Hastalığın birçok farklı antijenik uyarının tetiklediği immün kompleks mekanizmalarının sonucu olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. HSP'yi diğer sistemik vaskülitlerden ayıran özellik damar duvarlarında ve glomerüler mezanjial alanda IgA depolanmasıdır. IgA, serumda ve daha çok vücut salgılarında bulunan ve mukozal immünitede önemli rol oynayan bir immünglobulindir. IgA sentezinde artma veya klirensinde azalma, IgA immün komplekslerinin (IgA-IK) dokularda depolanmasında etkindir (8). HSP, olguların yaklaşık 2/3'ünde bir üst solunum yolu enfeksiyonunu izleyerek ortaya çıkar. HSP gelişimi mukozal enfeksiyonlarla tetiklendiği ve IgA mukozal sekresyonlarda bulunan başlıca immünglobulin olduğundan  $\beta$ -hemolitik streptokok, mikoplazma, toksoplazma, yersinia, HIV, varisella, rubella, adenovirüs gibi birçok mikroorganizmanın IgA yapımını arttırdığı ve HSP patogenezinde rol oynadığı düşünülmüşse de kanıtlanamamıştır (3). Aşılar ve ilaçlara karşı allerjik reaksiyonun hastalığın gelişiminde rolü olabileceği düşünülmüş, ancak bu da kesin olarak kanıtlanamamıştır (Tablo1) (3). Sonbaharda pik yapması nedeniyle hastalığın oluşumunda mevsimsel değişimlerin rol oynadığı düşünülmektedir (9).

**Tablo 1.** HSP'ye neden olan etkenler (10).

<b>Bakteriyel</b>	<b>Aşılar</b>
Grup A beta hemolitik streptokok Staphylococcus aureus Mikoplazma H.pylori	Kızamık, kızamıkçık, kabakulak Pnömonokok Meningokok Hemofilus İnfluenza tip B (Hib) Aşısı
<b>Viral</b>	<b>İlaçlar</b>
Hepatit A Hepatit B Hepatit E Herpes simplex virüs Human parvo virüs Adenovirüs Varisella CMV HIV	Kinolonlar Asetaminofen Kodein Etanersept Klaritromisin
<b>Tümörler</b>	<b>Parazit</b>
Küçük hücreli akciğer kanseri Prostat kanseri Lenfoma Multipl myeloma	Toxocara canis
<b>Tümörler</b>	<b>Genetik</b>
Küçük hücreli akciğer kanseri Prostat kanseri Lenfoma Multipl myeloma	Alfa 1 antitripsin eksikliği Ailesel Akdeniz ateşi HLA-DRB1 * 01 HLA-B35

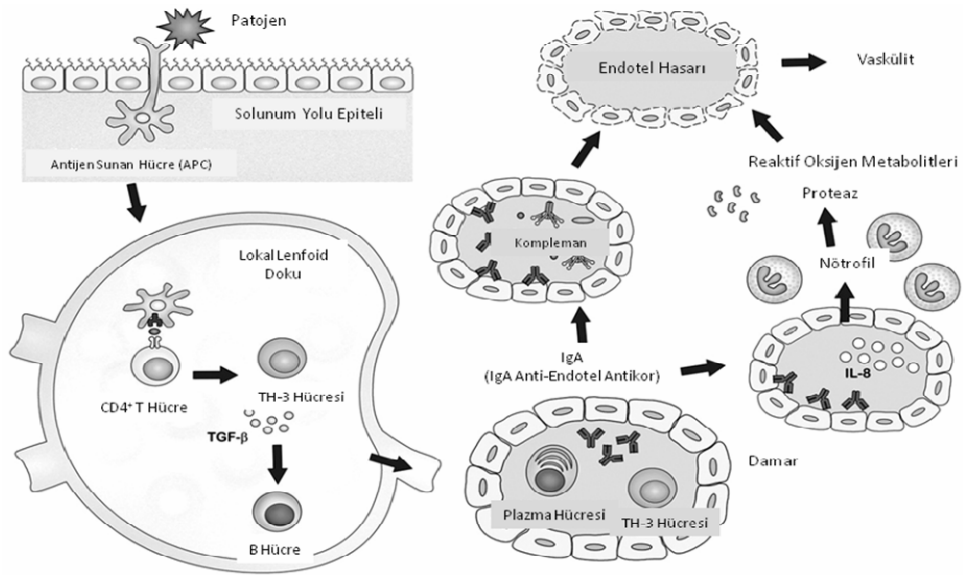
Glomerüllerde IgA içeren immün kompleks birikiminin, HSP nefritindeki en önemli patojenik mekanizma olduğu ileri sürülmektedir. HSP nefritinin ve döküntülü dönemin aktif fazında serumda yüksek düzeyde IgA-IK tespit edilmiştir.

HSP nefritinde depolanan IgA'nın büyük çoğunluğu IgA<sub>1</sub> sub grubundan oluşmaktadır. HSP'li hastalarda anormal IgA<sub>1</sub> glikozilasyonu saptanmıştır (8,9). Anormal glikozilasyona uğramış olan IgA<sub>1</sub>, glomerüllerdeki mezenjial matrikste normal IgA<sub>1</sub>'den daha kolay depolanır. Anormal glikozillenmiş IgA<sub>1</sub>'in mezenjial hücrelerdeki Fcα reseptörleri ve transferin reseptörü ile etkileşiminin artması sellüler aktivasyon ve mediatör sentezi ile sonuçlanır. İntraglomerüler nitrik oksit (NO) üretimindeki artış oksidatif hasar, apoptozis ve skleroza yol açabilir (7,8,11).

IgA kümeleri ayrıca mezenjial hücrelerde çeşitli sitokinlerin (interlökin-6 (IL-6), trombosit kaynaklı büyüme faktörü, interlökin-1(IL-1), tümör nekrozis faktör-α (TNFα), transforming growth faktör-β (TGF-β), vazoaktif faktörlerin (prostaglandinler, tromboksan, lökotrienler, endotelin, platelet agrege edici faktör, NO), kemokinlerin (monosit kemotaktik protein-1, interlökin-8) sentezine ve

kompleman aktivasyonuna sebep olabilir. Bunların sonucunda enflamasyon oluşup endotel hasarı gelişir ve vaskülit oluşur. Büyük oranda üst solunum yollarından giren A grubu beta hemolitik streptokokların (AGBHS) mukozal bariyeri geçtikten sonra antijen sunan hücreler (APC) aracılığı ile lokalize lenfoid dokulara ulaştığı, orada CD4+ hücreler ve TGF $\beta$  aracılığı ile B hücrelerini uyardığı ve sonucunda salgılanan IgA aracılığıyla kompleman ve IL-8'in tetiklediği nötrofil aktivasyonu ile damar endotel hücresinde hasar ve vaskülit geliştiği kabul edilmektedir (Şekil1). Bazı araştırmacılar bu molekülleri kontrol eden gen polimorfizmlerinin HSP patogenezinde rolü olup olmadığını ortaya koymaya çalışmışlardır (12-17).

HSP de artmış bir oksidatif stres bulunduğu, HSP'nin patogenezinde ve renal hasar gelişiminde lipit peroksidasyonun önemli bir role sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (14).



Şekil 1. HSP gelişimi (14).

### 2.1.3. Klinik Bulgular

HSP birçok organ tutulumu ile giden bir hastalıktır. HSP semptomları öncelikle deri, gastrointestinal sistem ve böbreklerde küçük damar vaskülitinin yerleşimi sonucu gelişir (3,18-24).

### **2.1.3.1. Cilt Bulguları**

En sık görülen klinik bulgularındandır. Hastaların tümünde görülür. Döküntüler makülopapüler şeklinde başlayıp peteşi ve palpabl purpuraya doğru ilerler ve zamanla kırmızıdan kahverengiye dönüşür. Lezyonlar gruplar halinde olma eğilimindedir, 3-10 gün sürer ve birkaç günden 3-4 aya kadar olabilen aralarla belirir (18). Palpabl purpura genellikle alt bacakta görülür, daha sonra kalçalara yayılır (4). Deri damarlarında gelişen hasar nedeniyle lokal anjioödem de gelişebilir, bu palpabl purpuradan önce belirebilir. Ödem genellikle kalçaların üzerinde, bel altında ve doku ödemeine yatkın alanlarda, göz kapaklarında, dudaklarda, skrotumda ve el-ayak sırtında görülür (18-23).

### **2.1.3.2. Eklem Bulguları**

Artrit veya artralji HSP'nin ikinci sıklıkta görülen klinik bulgularındandır ve olguların %80'inde görülmektedir. Hastaların yaklaşık % 15-25'inde döküntülerden önce ortaya çıkabilmektedir. Gezici olmayan artrit HSP'li hastaların %75'inde oluşur. Sıklıkla dizler, ayak bilekleri, dirsekler ve el bilekleri tutulur. Eklem tutulumu; eklem erozyonu, deformite ve hareket kısıtlılığına yol açmaz (1,8).

### **2.1.3.3. Gastrointestinal Sistem Bulguları**

Gastrointestinal belirtiler hastaların yaklaşık % 50-75'inde görülür. Yemeklerden sonra artan periumblik ve epigastriumda lokalize karın ağrısı en tipik belirtidir. Kusma, hematemez, hematokezya ve melena sıktır (8,19,21). İntussepsiyon HSP'de cerrahi komplikasyonların en yaygın olanıdır ve hastaların % 0,7- 13,6'sında görülür. Klinik obstruksiyon ve palpabl kitle olarak karşımıza çıkar. Yeri daha çok ileo-ileal, ileo-kolik, nadiren jejun-jejunaldır. Perforasyon genellikle ileumda görülür. Tedavide ranitidin gastrointestinal tutulumunda etkili olduğu bulunmuştur. (7,19,20,22).

### **2.1.3.4. Renal Bulgular**

HSP sıklıkla kendini sınırlayan bir hastalıktır. Ancak hastaların yaklaşık %40'ında ilk 4-6 hafta içinde nefrit kliniği gelişir (7,24-30). HSP nefriti; izole



mikroskopik, makroskopik hematüri, hafif proteinüri, nefrotik sendrom, nefritik sendrom veya nefritik-nefrotik sendrom gibi değişik klinik tablolarla ortaya çıkabilir (8,31). En yaygın renal belirti hematüri, hafif ve orta derece proteinürüdür (7). Persistan proteinüri ve hematüri bulunan hastalarda renal yetmezlik gelişim riski yaklaşık % 15'tir ve bu risk nefrotik sendromlu hastalarda % 50'ye çıkabilir. Hastaların % 2-5'inde son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) ilerler (7,31). Çoğu hastada renal tutulum kendiliğinden iyileşir. Bununla birlikte ilerleyici renal hastalık gelişebilir, tekrar eden proteinüri renal hasara yol açar. HSP'li hastaların en yaygın ölüm nedeni renal yetmezliktir (23,32).

#### 2.1.4. Laboratuvar Bulguları

HSP'nin tanısı için spesifik bir laboratuvar testi yoktur (7). HSP'li hastalarda anemi, lökositoz ve eritrosit sedimantasyon hızında artma görülebilir (33,34). HSP'nin akut fazında %70 kadar hastada serum IgA düzeyi artar ve iyileşme döneminde tekrar normale döner. Kanama profili normaldir. Antistreptolizin O (ASO) ve anti-deoksiribonükleaz B (anti-DNAse B) artmıştır (34). Faktör 13 aktivitesindeki azalma abdominal belirtilerin şiddeti ile koreledir. Faktör 13 aktivitesinin ölçümü, ciddi Gİ belirtileri olan hastaları tanımlamada yararlıdır (35-38).

#### 2.1.5. Tanı

HSP'de tanı öncelikle anamnez ve klinik bulgulara dayanmaktadır. Pediatrik Avrupa Romatoloji Topluluğu 2006 yılında çocukluk çağı vaskülitlerini yeniden sınıflandırmıştır. Bu sınıflamada, palpabl purpura şeklinde ve özellikle alt ekstremitelerde yaygın olarak bulunan döküntü **mutlak kriter** olarak belirlenmiştir.

Diğer kriterler ise;

1. Karın ağrısı (akut zeminde gelişen, yaygın abdominal ağrı)
2. Histopatoloji (IgA depolanmasının fazla olduğu lökositolastik vaskülit ya da proliferatif glomerülonefrit)
3. Artrit/artralji
4. Böbrek tutulumu (proteinüri veya mikroskopik hematüri)

Bu yeni kriterlere göre HSP tanısı, **purpura mutlak kriter olmak üzere**, 4 kriterden en az bir tanesinin olması ile konur (10,34).

### **2.1.6. Patoloji**

Histopatolojik incelemelerde, başta kapillerler olmak üzere, arteriol ve venüllerin tutulduğu görülür. Cilt biyopsisinin mikroskopik incelemesinde perivasküler nötrofil ve monosit birikiminin izlendiği lökositoklastik vaskülit görünümü vardır. İmmünfloresan incelemede ise vasküler IgA ve C3 depolanması gözlenir. HSP nefritinde böbrek biyopsisinin ışık mikroskopuyla incelemesinde mezanjial hasar, izole mezanjial proliferasyondan fokal ve segmental proliferasyona ve ağır kresentik glomerulonefrite kadar değişen derecelerde hipersellülarite gözlenir (3,8-10).

### **2.1.7. Klinik Seyir ve Prognoz**

Klinik seyir ve uzun dönem sonuçları açısından çocuk nefroloji ünitelerinde takip edilen HSP'li hastalarla, genel çocuk kliniklerince takip edilen "seçilmemiş" grubu oluşturan HSP'li hastalar karşılaştırıldığında fark gözlenmiştir. Seçilmemiş hasta serilerinde yapılan çalışmalara göre HSP genellikle hafif seyirlidir ve prognozu çok iyidir. Uzun dönemde morbidite böbrek tutulumuna bağlıdır. Başlangıçta böbrek tutulum belirtileri olan çocuklar 10 yıldan daha fazla izlendiklerinde, yaklaşık %2-3'ünün SDBY'e ilerlediği gözlemlenmiştir. Başlangıçta hastaların %20-28'inde anormal idrar bulgusu görülür. Tüm HSP hastaları gözönüne alındığında kronik böbrek yetersizliği (KBY) hastaların %1'inden azında ortaya çıkar (8,32). Komplikasyonları tablo 2'de görülmektedir (1).

**Tablo 2.** HSP'nin Komplikasyonları (1).

<b>Renal</b>	<b>Gastrointestinal</b>
Glomerülonefrit Hemorajik sistit Nefrotik sendrom Renal yetmezlik Üreteral obstruksiyon	Bağırsak infaktı Bağırsak perforasyonu Duodenal obstruksiyon Gastrointestinal kanama İntestinal striktür İntusepsiyon
<b>Pulmoner</b>	<b>Diğerleri</b>
Alveolar kanama İnterstisyel infiltrasyon Pulmoner efüzyon  <b>Santral Sinir Sistemi</b> Afazi Ataksi Serebral hemoraji Korea Kortikal körlük Nöropati Parezi Nöbet	Anterior üveit Myokardit Myosit Orşit Skrotal ödem Testiküler torsiyon

**2.1.8. İzlem**

HSP'nin yönetimi; yeterli sıvı tedavisini, herhangi bir antijenik marüziyetinin hemen kesilmesini ve ilk 1 ay içinde her hafta, ikinci ayda iki haftada bir ve daha sonra anormal idrar bulguları geçinceye kadar aylık takipleri içerir. Başlangıçta nefrit bulgusu olmayan hastalar döküntüler geçtikten sonra en az 6 ay tam idrar tetkikiyle izlenmelidir (9). İzole hematüri veya hafif proteinürinin eşlik ettiği hematüri olguları idrar tetkikinin normale dönmesinden sonra en az 2 yıl izlenmeli ve bazı hastalarda hipertansiyonun başlangıçtan iki yıl sonra bile ortaya çıkabileceği de unutulmamalıdır (7).

### 2.1.9. Tedavi

HSP'nin tedavisi uygun hidrasyon ve ağrı kontrolünü içeren destek tedavisidir (7). Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) kullanılabilir. Çocuklarda aspirinden kaçınılmalıdır. Bu ilaçlar artrit ve döküntüde yeterlidir (10).

Oral steroidler ciddi döküntü, ödem, kolik tarzında abdominal ağrı, böbrek ve testiküler tutulumu olan hastalarda kullanılmalıdır. Genellikle prednizolon ve metilprednizolon 1-2 mg/kg /gün 1-2 hafta için başlanabilir. Yüksek doz I.V puls steroid tedavisi nefrotik proteinüri ve mezenterik vaskülitli hastalarda gereklidir (10,39).

İmmüsupresif ilaçların (siklofosamid, azatiopürin, siklosporin A ) yüksek doz I.V. pulse steroid tedavisi ile kombine edilmesi sadece steroid tedavisinin yararlı olmadığı durumlarda önerilir. Bu durumlar; hızlı ilerleyici glomerülonefrit, akciğerlerin ve beynin hemorajik tutulumudur. (10,40). Plazmaferez ve yüksek doz immünglobulin tedavisi, steroid ve immüsupresif ilaçlara dirençli beyin ve akciğerlerde kanamalarında kullanılması önerilir (41).

Faktör 13 seviyesi HSP'li hastalarda düşük olduğu bulunmuştur ve gastrointestinal belirtilerin şiddeti ile koreledir. F<sub>13</sub> replasmanı desteklenmektedir (10,42). Nefritik sendrom ve hipertansiyonu olan olgularda sıvı ve tuz kısıtlamasının yanısıra diüretik verilmeli, nefrotik sendromlu hastalarda da hipovolemiden kaçınmaya dikkat ederek sıvı kısıtlaması yapılmalıdır. Renal hastalığın progresyonunu yavaşlatmak veya renal hastalığı önlemek ve orta proteinürisi olan genç hastalarda anjiotensin konverting enzim (ACE) inhibitörünün yararlı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (9)

## 2.2. Oksidatif Stres

### 2.2.1. Oksidatif Stres ve Lipid Peroksidasyonu

Atomlardaki elektronlar çekirdeğin etrafındaki yörüngelerde bulunurlar. Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde tek sayıda elektron bulunan atom veya moleküllerdir. Organik ve inorganik moleküller halinde bulunurlar. Eğer elektron çiftleşmemiş ise molekül daha reaktif duruma gelir ve kararsızlaşır.

Moleküler oksijen ( $O_2$ ), paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektrona sahiptir. Moleküler oksijen, yüksek derecede ROT oluşturma eğilimindedir.

Serbest radikal tanımına göre moleküler oksijen, bir biradikal olarak değerlendirilir. Biradikal oksijen, radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girdiği halde diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer. Serbest radikallere oksijen merkezli süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ), sülfür merkezli tiyol ( $RS^{\cdot}$ ), karbon triklorometil ( $CCl_3^{\cdot}$ ) ve azot merkezli  $NO^{\cdot}$  örnek verilebilir (43).

ROT deyimi, hem  $O_2^{\cdot-}$  ve  $OH^{\cdot}$  gibi oksijen merkezli serbest radikalleri hem de hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), singlet oksijen ( $O_2$ ), hipoklorik asit ( $HOCl$ ) gibi radikal olmayan oksijen türevlerini kapsar

Hücrede reaktif oksijen türevlerinin kaynağı:

- Mitokondriyal elektron transport zincirinden elektron sızıntısı,
- Endoplazmik retikulum ve nükleer membrana bağlı sitokromların oksidasyonu,
- Ksantin oksidazın katalitik döngüsü,
- Dihidroorotat dehidrojenaz, flavoprotein dehidrojenaz, amino asit oksidaz ve triptofan dioksijenaz,
- Peroksizomlar çok önemli hücre içi  $H_2O_2$  kaynağıdır.
- Araşidonik asit metabolizması da reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz, protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranından araşidonik asidin serbestleşmesine yol açar. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu da çeşitli serbest radikal ara ürünleri meydana gelir. Araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine "**enzimatik lipid peroksidasyonu**" denir.

### 2.2.2. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri (L<sup>•</sup>) ve lipid peroksit radikallerinin (LOO<sup>•</sup>) oluşması, ROT'un neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "**nonenzimatik lipid peroksidasyonu**" denir.

Lipid peroksitleri (LOOH) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir.

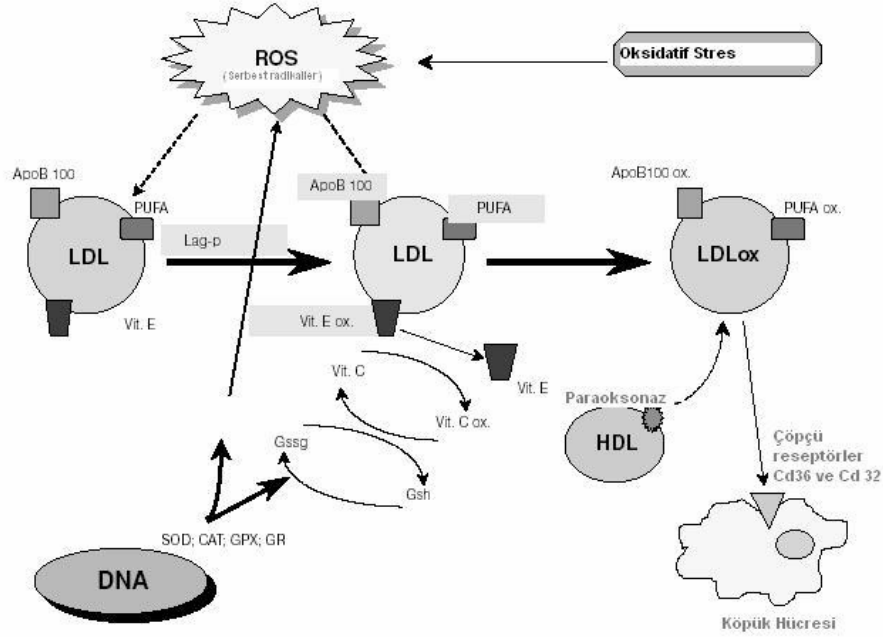
MDA, kanda ve idrarda ortaya çıkar, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, Deoksiribonükleik asitin (DNA) nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (3,44-53)

### 2.2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

ROT'un oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

**Enzim olan endojen antioksidanlar;** SOD, PON, glutasyon peroksidaz (GPX), glutasyon S-Transferazlar (GST), katalaz (CAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz olarak sınıflandırılabilir (54)

**Enzim olmayan endojen antioksidanlar;** melatonin, transferin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutasyon, sistein, metiyonin, urat, laktoferrin, albümin olarak sıralanabilir (51).



**Şekil 2.** Serbest radikallerin oluşumu, lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistemin ilişkisi (3,55).

Apo B 100: apolipoprotein B 100, PUFA: poliansatüre yağ asitleri, LDL: düşük dansiteli lipoproteinler, Eox: okside vitamin E, LDLox: okside LDL, apoB 100-100ox, okside apolipoprotein B 100, PUFAox: okside poliansatüre yağ asitleri, Vit Cox: okside vitamin C, Gssg: okside glutasyon, Gsh: indirgenmiş glutasyon, HDL: yüksek dansiteli lipoprotein, SOD: süperoksit dismutaz, GPX: glutasyon peroksidaz, CAT: katalaz.

## 2.2.4. Oksidatif Stres ve Hastalıklar

### 2.2.4.1. Glomeruler Hastalıklar ve Oksidatif Stres

Böbrek biyopsilerinde intraglomeruler lipid depolanması görülür ve bu da ilerleyici glomerulosklerozun patogeneğinde LDL peroksidasyonunun rolü olduğunu düşündürmektedir (56). Böbrek hastalığı olanların glomerüllerinde okside LDL bulunup bulunmadığını saptamak amacıyla 939 böbrek biyopsi materyali değerlendirilmiş ve hastaların %6,6'sında glomerüllerde okside LDL varlığı

gösterilmiştir (56). Çalışmaya katılan hastalardan 25'i HSP nefriti olup iki hastada (biri kresentte ve diğeri mezenjial alanda olmak üzere) okside LDL saptanmıştır (56). Bu bulgu glomerüler hastalıkların patogeneğinde lipid peroksidasyonunun rol oynayabileceğini düşündürmektedir (56). Glomerüler hastalığı olan 45 çocuk, 20 erişkin hasta ve sağlıklı 15 çocuk, 14 erişkinle yapılan bir çalışmada plazma ve eritrosit MDA düzeyinin arttığı, antioksidan özelliği olan SOD ve CAT enzim düzeylerinin ise azaldığı saptanmıştır. Bu çalışmada glomerüler hastalıkların gelişiminde oksidatif stresin rolü olduğu sonucuna varılmıştır (57).

Böbrek hastalığı olan 10 hastanın sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığı bir çalışmada, böbrek hastalığı olan grupta  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  radikalleri ile lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyinin arttığı, ayrıca esansiyel yağ asidi metabolitlerinden araşidonik asit düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (58). Çalışmada serbest radikaller ve esansiyel yağ asidi metabolitlerinin glomeruler hastalıkların patogeneğinde rolü olabileceği sonucuna varılmıştır (58).

Glomerüler hastalığı olan 39 çocuk ve 13 sağlıklı çocuğun katıldığı bir başka bir çalışmada hasta grubunda kan ve idrarda lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığı ve antioksidan bir enzim olan CAT aktivitesinin kanda azaldığı ama idrarda arttığı saptanmıştır. Bu bulgulardan böbrek hastalıklarında oksidatif stres geliştiği ve antioksidanların idrarla kaybedildiği sonucu çıkarılmıştır (59). Kronik glomerulonefriti olan 80 hastada yapılan bir çalışmada, hasta grubunda plazmada NO, plazmada ve eritrositte lipid peroksit düzeyinin arttığı, ayrıca plazmada vitamin C, vitamin E, beta-karoten ve eritrositte SOD, CAT ve GPX düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Kronik glomerulonefritte serbest radikal reaksiyonlarının oksidatif hasara yol açtığı sonucuna varılmıştır (60).

Akut poststreptokoksik glomerulonefrit (APSGN) geçiren 17 çocukta yapılan bir çalışmada da hasta grubunda plazma ve eritrositte lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığı ve eritrositte SOD, CAT, GPX, GST, indirgenmiş glutatyon, vitamin C düzeyleriyle plazma indirgenmiş glutatyon ve vitamin C düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir. Bu çalışmada APSGN'in patogeneğinde lipid peroksidasyonun önemli olduğu sonucuna varılmıştır (61).



#### 2.2.4.2. Henoch-Schönlein Purpurası ve Oksidatif Stres

HSP'nin patogenezi tam olarak bilinmemektedir, ancak çeşitli antijenik uyarılara karşı oluşan immün komplekslerden kaynaklanan Ig ilişkili inflamatuvar bir süreç olduğu düşünülmektedir. Damar duvarı ve mezengiumda toplanan immün kompleksler kompleman sistemini alternatif yoldan aktive ederler ve bu nötrofil kemotaksisi ile sonuçlanır. Nötrofillerden proteazlar, lökotrienler ve ROT'un salınması doku hasarını artırır. Polimorfonükleer lökositler, monositler, makrofajlar ve mezenjial hücreler gibi birçok hücre aktive olduklarında ROT'u üretebilirler.

Böbrek vasküler bir organ olduğundan nötrofillerin ve immün komplekslerin kolaylıkla ulaşarak inflamasyonu başlatabilecekleri bir organ olmasının yanısıra ROT'u üretebilecek diğer hücreler olan endotelial ve mezenjial hücrelerden de zengindir. Bunlardan dolayı böbrekler oksidatif hasara diğer organlardan daha duyarlıdır ve glomerulonefritler, vaskülitler, toksik nefropatiler, piyelonefrit, akut böbrek yetersizliği gibi birçok böbrek hastalığının patogenezinde oksidatif hasarın rolü olabilir (62).

Glomerüler hastalıklar ve vaskülitlerde oksidatif stresin varlığını gösteren çalışmaların yanısıra HSP'nin patogenezinde oksidatif hasar ve lipid peroksidasyonunun rolü olabileceğine dair yayınlar da mevcuttur (2,11,62-67).

Ece ve ark.'nın (2) yaptığı çalışmada HSP'li çocuklarda hastalığın aktif ve iyileşme döneminde antioksidan enzimlerden CAT, arilesteraz (ARYL) ve PON aktiviteleri; lipid peroksidasyon belirteci olan serum MDA seviyeleri ölçülmüş ve total antioksidan kapasite (TAK) belirlenmiştir. Bu değerler 30 kişilik sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Aktif dönem sonuçları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, daha yüksek MDA seviyeleri, daha düşük de TAK, ARYL ve CAT aktivitesi elde edilmiştir. Hastalığın aktif ve iyileşme dönemlerinde CAT ve PON'un benzer olarak bulunmasına rağmen, aktif dönemde ARYL ve TAK düşük; MDA değerleri ise yüksek bulunmuştur. İyileşme dönemindeki TAK, CAT seviyeleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Bu bulgularla hastalığın aktif döneminde oksidatif hasarın arttığı hatta iyileşme döneminde bile bunun etkilerinin devam ettiği gösterilmiştir. Sonuç olarak HSP vaskülit patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir.

Demircin ve ark. (62), yaptıkları çalışmada HSP' li hastalarda SOD aktivitesi ile MDA düzeyini ölçmüşler ve sağlıklı çocuklardan oluşan kontrol grubuyla karşılaştırmışlardır. SOD aktivitesi açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmamış, ancak hastalığın aktif döneminde alınan MDA düzeyi böbrek tutulumu olanlarda en yüksek, böbrek tutulumu olmayanlarda daha düşük ve kontrol grubunda en düşük düzeyde saptanmıştır. Bu çalışmada oksidatif stres ve özellikle lipid peroksidasyonunun HSP patogenezinde ve böbrek hasarı gelişiminde önemli bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır (62).

Erdoğan ve ark. (63), reaktif oksijen moleküllerinin HSP patogenezindeki rolünü ve vitamin E'nin oksidatif hasar üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada SOD ve GSH-Px aktiviteleri ve MDA düzeyi ölçülmüştür. SOD ve GSH-Px aktiviteleri, aktif dönemde iyileşme dönemine göre düşük bulunmuştur. İyileşme döneminde bu antioksidan enzim aktivitelerinde belirgin artış olmasına rağmen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yine düşük saptanmıştır. MDA düzeyi ise aktif dönemde iyileşme dönemine göre yüksek bulunmuştur. İyileşme döneminde MDA düzeyi düşmesine rağmen kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır. Oksidatif hasarı gösteren bu parametrelerde böbrek tutulumu olan ve olmayan hastalar arasında fark saptanmamıştır. Oksidatif hasar ve lipid peroksidasyonun HSP'nin patogenezinde önemli bir rol oynadığı fakat hücrel hasarın son fazı olan lipid peroksidasyonundan sonra verilen vitamin E'nin, oksidatif zincir reaksiyonlarını önlemede etkisiz olduğu sonucuna varılmıştır (63).

Buyan ve ark. (64), HSP'li 12 çocukta yaptıkları bir çalışmada, plazma araşidonik asit metabolitlerinin vasküler inflamasyonda önemli rol oynadığını göstermişlerdir. Aynı merkezde 1998'de oksidatif stres ve siklooksijenaz (CO) yolağı ürünlerinin HSP patogenezinde rol oynayabileceğini göstermek için, 10 HSP'li çocuk ve 5 sağlıklı kontrolde MDA, inflamatuvar mediatör olarak PGE benzeri aktivite ve vitamin E düzeyi çalışılmıştır. Hastalığın aktif döneminde ölçülen MDA düzeyi ve PGE benzeri aktivite remisyon döneminde bakılana göre yüksek, vitamin E düzeyi ise düşük bulunmuştur. Bu çalışmada hastalığın aktif döneminde MDA düzeyinde artma, vitamin E düzeyinde azalma saptanmasının; lipid peroksidasyonundan korunmak için endojen antioksidanların kullanıldığı görüşü öne sürülmüştür. Bu bulgularla oksidatif stresin HSP patogenezinde rolü olabileceği

sonucuna varılmıştır (65). HSP nefriti ile aynı patogeneze sahip IgA nefritinde lipid peroksidasyonun rolünü belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada 42 Ig A nefropatili (IgAN)'li hastada SOD, MDA ve vitamin E düzeyi değerlendirilmiş ve SOD aktivitesi ile vitamin E düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük ama MDA düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgularla IgAN patogenezinde ve aynı zamanda hastalığın klinik ve histopatolojik olarak aktivitesinde lipid peroksidasyonunun rolü olabileceğini savunmuşlardır (66).

Ece ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada HSP patogenezinde nötrofil aktivasyonu, protein oksidasyonu ve seruloplazminin (CLP) rolünü belirlemek için 29 HSP'li çocukta hastalık aktif ve iyileşme döneminde serum myeloperoksidaz (MPO) ve ARYL aktiviteleri, serbest thiol grupları, CLP ve total oksidan durumu (TOS) düzeyleri 30 sağlıklı kontrol ile karşılaştırılmıştır. Aktif dönem HSP hastalarında MPO aktivitesi, CLP ve TOS seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek, serum ARYL aktivitesi ve serbest thiol değerleri düşük bulunmuştur. Sonuç olarak, protein oksidasyonu ve nötrofil aktivasyonunun HSP patogenezinde önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir (67).

### **2.2.5. Paraoksonaz Enzimi**

İnsan serum PON enzimi; karaciğerde sentezlenen, arildialkilfosfataz olarak da adlandırılan Ca bağımlı, HDL ile ilişkili, LDL'yi serbest radikallerin indüklediği oksidasyona karşı koruma özelliği de olan ve 43- 45 kDa molekül ağırlıklı bir ester hidrolazdır. Kalsiyum, enzimin hem aktivitesi hem de stabilitesi için gerekmektedir (68).

PON enzimi 354 aminoasit içeren glikoprotein yapılı bir enzimdir. PON'u kodlayan gen, 7. kromozomun q 21-22 bölgesine yerleşmiştir. PON gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyesi vardır. İmmünohistokimyasal yöntemle PON1 ve PON3'ün karaciğer ve plazmada, PON2'nin ise karaciğer, beyin, böbrek, kalp, aort düz kas hücreleri ve testis endotel tabakasında bulunduğu gösterilmiştir. Parathion adlı insektisidin ürünü olan paraokson'u hidrolize etmesinden dolayı bu şekilde adlandırılmıştır (3,55,68-73)

### 2.2.5.1. PON1 Enziminin Biyokimyasal Fonksiyonu

PON1 enzimi N-terminalindeki hidrofobik sinyal peptidi aracılığıyla fosfolipidlere ve lipoproteinlere bağlanır. (68). PON1 enziminin HDL-kolesterolün apoA1 ve apo-J (Clustrein) proteinleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (68-70,72).

PON1 hidrolize ettiği organofosfatlara reversibl olarak bağlanabilir ve dolaşıma giren organofosfatların nörotoksitesine karşı korunmada başlıca araçtır (72). In vitro çalışmalar PON1'in LDL'yi serbest radikallerin indüklediği oksidasyona karşı koruduğunu, LDL türevi okside fosfolipidleri inaktive ettiğini ve HDL'nin oksidasyonunu inhibe ederek HDL'nin fonksiyonunu koruduğu gösterilmiştir. Bu etkisi, aterosklerozun başlamasında rol oynayan okside serum lipid içeriğini potansiyel olarak azaltır. HDL'nin yapısında bulunan PON1 enzimi, minimal modifiye LDL'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarındaki hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterir. Ateroskleroz gelişiminde oksidatif stres altında oluşan  $H_2O_2$ 'i %25 oranında hidrolize eder ve dolayısıyla peroksidaz aktivitesine sahip bir enzimdir (şekil 2). Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil, hücre yapısındaki lipidlerde peroksidasyona uğramaktadır (72). PON1 lipid peroksitlerin aterojenik etkisini nötralize ederek hücre membranını koruyucu etki gösterir (72). PON1 organofosfatların hidrolizi için kalsiyuma ihtiyaç duyar, ancak lipid peroksidasyonundan koruyucu antioksidan aktivitesi için kalsiyum gerekmez.

Bu çalışmaları in vivo olarak teyid etmek amacıyla Shih ve ark. gen hedefleme yöntemiyle PON1 geni taşımayan (PON1<sup>-/-</sup>) fareler üretmişlerdir (70). Bu çalışmada homozigot olarak PON1 geni taşımayan farelerde plazmada hiç PON1 aktivitesi saptanmamış ve heterozigot olan farelerde PON1 aktivitesi yabani tip farelere göre %50 daha düşük bulunmuştur (74). Homozigot PON1<sup>-/-</sup> farelerden alınan HDL'nin LDL'yi oksidasyondan koruyamadığı arter duvarının bir kültür modelinde gösterilmiştir (74). Bu farelerin vahşi farelere göre ateroskleroza daha eğilimli olmasının nedeni muhtemelen artmış oksidatif strestir (70-72). HDL'nin antioksidan aktivitesinin büyük oranda PON1'e bağlı olduğu düşünülmektedir (73).

Tward ve ark. (75), yüksek PON1 düzeyinin LDL'yi oksidasyona karşı koruyup korumayacağını ve ateroskleroza azaltıp azaltmayacağını in vivo olarak

saptamak için insan PON1 transgenik fareleri üretmişlerdir (75). Plazma PON1 düzeyi normalin 2-4 katı olan bu farelerde aterosklerotik lezyonların anlamlı derecede daha az olduğu ve onlardan izole edilen HDL'nin LDL oksidasyonuna karşı korunmada daha etkin olduğu görülmüştür (75). Bu çalışmada in vivo koşullarda insan PON1 enziminin antioksidan ve antiaterojenik fonksiyonu olduğu ve PON1 enziminin etkisinin doza bağlı olduğu gösterilmiştir (72,75,76).

PON1'in birçok antioksidan fonksiyonu açıklanmıştır ve bunlar arasında okside fosfolipidleri hidrolize ederek gösterdiği fosfolipaz-A2 benzeri aktivitesi ve lipid hidroperoksitleri ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i yıkarak gösterdiği peroksidaz benzeri aktivitesi de yer almaktadır (68,72,73).

HDL ilişkili enzimler lesitin-kolesterol açıltransferaz (LCAT), fosfolipid transfer protein, kolesterol ester transfer protein, trombosit aktive edici faktör (PAF) asetilhidrolaz, PON1 ve apoA1'dir (72). Bu enzimler çeşitli lipidlerin transfer ve hidrolizini kolaylaştırarak ve okside lipidleri dokudan dolaşıma taşıyarak HDL'nin yapılanmasına ve döngüsüne katkıda bulunur (68,72). Bununla birlikte bu enzimler içinde PON1, lipid peroksitlerin LDL üzerinde birikmeden önce yok edilmesinden sorumlu başlıca enzimdir (72). İnsan PON1 enziminin PAF'ı da hidrolize ettiği ve HDL'nin PAF asetilhidrolazı kullanarak PAF'ı hidrolize etme aktivitesinin tümünün PON1'e bağlı olduğu gösterilmiştir (68,72).

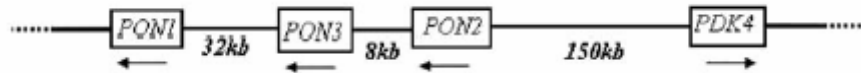
#### **2.2.5.2. PON1 Aktivitesi ve Ekspresyonunun Regülasyonu**

PON aktivitesi, yeni doğanlarda ve prematüre bebeklerde yetişkindekine yakın yaklaşık yarısı kadardır. Doğumdan yaklaşık bir yıl sonra erişkindeki düzeyine ulaşır ve hayat boyu değişmeden devam eder. PON1 aktivitesinin düzeyi 5' regülatör bölge polimorfizmi ve bireyin genetik zemini ile belirlenir (72,77).

Ancak ilaçlar, çevresel kimyasallar, fizyolojik ve patolojik durumlar, diyet ve yaşam şekli gibi çeşitli faktörlerin PON1 aktivitesi üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (72,78). Statin ve benzeri hipokolesterolemik ilaçların ise serum PON1 aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (69-73,79-82).

### 2.2.5.3. PON1 Geni ve Polimorfizmi

PON1 geninin kodlandığı bölge 9 ekzondan oluşmakta ve bazı polimorfizmler göstermektedir. Polimorfizmlerin spesifik bir formu tek nükleotid polimorfizmidir (TNP) ve genin kodlayan bölgesinde 2 adet TNP görülür (72,83).



Şekil 3. PON gen ailesinin genetik haritası (72).

Paraoksonaz aktivite polimorfizminin moleküler temeli, PON1'in kodlanma bölgesindeki kendiliğinden olan mutasyonlar sonucu iki aminoasitin yer değiştirmesi ile ilişkilidir. Bu mutasyonlardan ilki kodlanma bölgesindeki 192. kodonda Q'nin R ile yer değiştirmesiyle oluşur. Q/R192 veya A/B192 diye adlandırılır (84). Kodlanma bölgesindeki ikinci mutasyon 55. pozisyonda L'nin, M ile yer değiştirmesiyle oluşur. L/M55 diye adlandırılır. Bu polimorfizmler PON1 aktivitesini etkiler ve kişiler arasındaki farklılıkların moleküler temeli olarak adlandırılırlar (72).

PON1'in R allelinin kodlandığı proteinin paraoksan hidroliz aktivitesi Q allele göre daha yüksektir. Ayrıca PON1 Q formu yükseltgenmiş HDL ve LDL'nin metabolize edilmesinde R formundan daha etkilidir (85). Bu genetik polimorfizm serum protein konsantrasyonunu da etkiler. Alanin bir N-terminal kalıntısı olarak tanımlandığında polimorfizm olan bölgeler 191 ve 54. pozisyonlar olarak adlandırılır. Q/R192 polimorfizmi organofosfatlara karşı serum PON1 aktivitesinin en önemli belirleyicisidir (72). Homozigot R bireyler homozigot Q'ya göre daha yüksek enzim konsantrasyonuna sahiptir (86). Bu kodlama bölgesindeki polimorfizmlerin yanında PON1 geninin promoter bölgesinde de polimorfizm belirlenmiştir. PON1 genindeki promoter polimorfizmlerinin, gen ekspresyonu ve enzimlerin serum düzeyleri üzerinde güçlü etkisinin olduğu bulunmuştur (72).

PON1 allellerinin sıklığı toplumlar arasında farklılıklar gösterir. PON1'in M55 alleli beyazlarda zencilerden daha sık, R192 alleli zencilerde daha sık görülmüştür (72). Türkiye'de Ağaçhan ve ark. (87), yaptıkları çalışmada PON1 L/M55 genotip sıklığı LL %46.8, LM %46.8, MM %6.4 (L alleli %70.1, M alleli %29.9) ve PON1 Q/R192 genotip sıklığı AA %33.6, AB %57, BB %9.3 (A alleli

%62.1, B alleli %37.9) olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada Tip 2 DM li hastalarda serum lipidleri ve PON aktivitesi üzerine etkileri değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Tip 2 DM hastalarda AA genotip sıklığı daha yüksek oranda saptanmış olsa da kontrol ve hasta grubu arasında gen frekansları açısından anlamlı fark bulunamamıştır (87). Aynacıoğlu ve ark. (88)'nin yaptığı çalışmada da PON1 L/M55 genotip sıklığı LL %52, LM %39, MM %0.9 (L alleli %72) ve PON1 Q/R192 genotip sıklığı QQ %49, QR %40, RR %11 (R alleli %31) olarak bulunmuş ve Ağaçhan ve ark'nın sonuçlarına benzer sonuçlar elde edilmiştir (88).

#### **2.2.5.4. PON1 Gen Polimorfizmi ve PON1 Aktivitesi**

Serum PON1 aktivitesi açısından bireyler arasında farklar vardır (72). Bu farkların moleküler temelini PON1 geni ile ilişkili olduğu görülmektedir. PON1 Q/R192 polimorfizmi, PON1<sub>192R</sub> ve PON1<sub>192Q</sub> olarak adlandırılan iki izoenzimi tanımlar (72,89).

PON1<sub>192R</sub> izoenzimi paraoksonu diğer izoenzimden daha hızlı hidrolize eder, oysa PON1<sub>192Q</sub> formu LDL yi oksidasyondan koruma kapasitesi daha yüksektir. Ayrıca sarin, soman ve diazoksona karşı daha aktiftir (72,89). Lösin/Metiyonin (L/M) 55 polimorfizmi, PON1 enzim aktivitesini Q/R 192 polimorfizminden bağımsız olarak etkilemektedir (90).

PON1 L/M55 polimorfizmi PON1 enziminin substratlarla ilişkisini etkilemez, enzim düzeyi ile ilişkilidir ve M allelini taşıyanlarda PON1 düzeyi düşük bulunmuştur. Ayrıca L allelini taşıyanlarda enzim yapısı daha stabildir. Bu da yüksek serum PON1 düzeyleriyle ilişkisini kısmen açıklayabilir (70, 91).

#### **2.2.5.5. PON1 Gen Polimorfizmi ve Plazma Lipoproteinleri**

Birçok çalışmada serum PON1 aktivitesindeki değişikliklerin serum apo A1, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol içeren plazma lipoprotein konsantrasyonundaki değişikliklerle ilişkili olduğu belirtilmiştir (72,92-94). Yapılan çalışmalarda homozigot PON1 Q192 alleli taşıyanların plazma apoB düzeyinin, total kolesterol ve apoB/apoA1 oranlarının da düşük olduğu ve heterozigot veya homozigot R alleli taşıyanlara göre daha iyi bir plazma lipoprotein profiline sahip oldukları bildirilmiştir

(72,92). Yapılan başka bir çalışmada PON1 M55 alleli taşıyanların plazma lipoprotein profilinin daha iyi olduğu saptanmıştır (72,94).

### **2.2.5.6. PON1 Gen Polimorfizmi ve Hastalıklar**

#### **2.2.5.6.1. Böbrek hastalıkları, Kollajen Doku Hastalıkları ve PON1**

KBY anormal lipid parametreleri ile birlikte, SOD, CAT, PON gibi yetersiz antioksidan enzim aktivitesi ve artmış oksidatif strese bağlı aterosklerozis ile ilişkili bir hastalıktır (95-97).

KBY'li hastalarda yapılan bir çalışmada okside LDL düzeyi ve PON1 aktivitesini değerlendirmişler ve hasta grubunda kontrol grubuna göre okside LDL düzeyinin yüksek, PON1 aktivitesinin ise düşük olduğunu, ancak KBY'li hastalar içinde hemodiyaliz (HD) alan ve almayanlar arasında fark olmadığını saptamışlardır. Bu bulgu KBY'li hastalarda koruyucu antioksidan kapasitenin azaldığı( HDL kolesterol seviyeleri ve PON 1 aktivitesi,) şeklinde belirtilmiştir (95).

Başka bir çalışmada 44'ü HD'e giren toplam 72 KBY'li hasta ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; hemodializ hastalarında PON aktivitesi, HDL-kolesterol ve apoAI seviyeleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Serum PON ve ARYL aktivitesi serum üre ve kreatin seviyeleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Sonucundada uzun dönem HD hastalarında PON, ARYL aktivitesinin azalmış olduğu ve bunun azalmış HDL kolesterol ve azalmış Apo A1 seviyesi yanında artmış serum üre ve kreatin ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (96).

Başka bir çalışmada ise 74 HD hastası ile 92 kişilik sağlıklı kontrol grubu PON1 aktivitesi, PON1 genotipleri ve HDL subtipleri açısından karşılaştırılmıştır (97). HD alan hastalarda PON1 aktivitesi ve ortalama HDL3 düzeyi düşük bulunmuş, ama PON1 genotipleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır. Sonuç olarak hemodializ alan hastalarda PON1 aktivitesindeki düşüşün en önemli nedeninin PON1 genotipleri değil, serum HDL3 düzeyindeki düşme olduğu bildirilmiştir (97).

FSGS çocuklarda SDBY'nin önemli bir nedenidir. Ateroskleroz ile glomerulosklerozun altında yatan mekanizma arasında benzerlikler vardır. LDL'nin



oksidatif modifikasyonu aterosklerozda olduğu kadar glomerulosklerozda da önemlidir. FSGS ile PON1 Q/R192 ve L/M55 gen polimorfizmleri arasında ilişki olup olmadığını ortaya çıkarmak amacıyla Arap ve İsrail kökenli çocuklarda yapılan bir çalışmada hasta ve kontrol grubu arasında PON1 genotipleri açısından fark saptanmamış, ancak PON1 L/M55 LL genotipinin Arap kökenli hastalarda Yahudi kökenli hastalara ve Arap kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla olduğu bildirilmiştir (98). Bu makalede daha önceki çalışmalarda Arap çocuklarda FSGS prognozunun Yahudi çocuklarına göre daha kötü olduğu belirtilmiş ve LL genotipinin Arap çocuklarda FSGS gelişimiyle, belki de kötü prognozla ilişkili olabileceği yorumu yapılmıştır (98).

Yapılan başka bir çalışmada MPGN ile PON1 Q/R192 gen polimorfizmi arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Hasta grubunda kontrol grubuna göre AA genotipi anlamlı olarak yüksek bulunmuş olup AA genotipinin MPGN gelişme riski ve kötü prognoz ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (99).

Bıyıklı ve ark. (100), 2006 yılında steroide duyarlı nefrotik sendrom (NS) ve FSGS tanılı çocuk hastalarla yaptıkları çalışmada da PON1 Q/R 192 gen polimorfizminin hastalık açısından belirleyici bir faktör olmadığı fakat B allelinin FSGS gelişiminde bir risk faktörü olabileceği vurgulanmıştır (100).

Literatürde sadece hasta insanlarla değil, laboratuvar ortamında çeşitli hayvan deneylerinde de PON gen polimorfizmleri incelenmiştir. Heyman nefriti olarak adlandırılan ve ratlara antijenik kompleksler enjekte edilerek, otoimmün reaksiyonlar sonucunda membranöz glomerulonefrit oluşturulmasına esasına dayanan deneysel çalışmalarda da PON1 gen polimorfizmleri araştırılmıştır. Koroliczuk ve ark. (101), Heyman nefritinde BB genotipinin, inflamasyonun sistemik ve vasküler belirteçleri üzerindeki baskılayıcı rolüne dolayısıyla da renal hasarı önleyici etkisine dikkat çekmişlerdir.

Otoinflamatuvar hastalıklardan SLE ve Behçet hastalığının patogeneğinde oksidatif stresin rolü olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır (102-104). Behçet hastalarında yapılan bir çalışmada, hastalığın aktif döneminde lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyi ile antioksidan enzim olan PON1 aktivitesi değerlendirilmiş ve hastalığın aktif döneminde MDA düzeyi yüksek, PON1

aktivitesi düşük bulunmuştur. Patogenezinde oksidatif stresin rol oynayabileceği bildirilmiştir (102-104). Romatoid artritli hastalarda yapılan bir çalışmada, serum PON1 aktivitesinin hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunduğu ve PON1 Q/R192 Q allelinin sağlıklı kontrol grubuna göre daha az sıklıkta saptandığı bildirilmiştir (105).

#### **2.2.5.6.2. Kardiyovasküler Hastalıklar ve PON1**

PON1 serum aktivitesi ve genotipleriyle kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar yapılmıştır (106-108). Almanya’da postmenapozal kadınlarda koroner kalp hastalığı (KKH) olan 55 kişilik hasta grubu ile KKH olmayan 32 kişilik kontrol grubu PON1 aktivitesi açısından karşılaştırılmış ve anlamlı fark bulunmamıştır (107). ABD’de yapılan bir çalışmada ateroskleroz riski ile PON1 Q/R192 polimorfizmi değerlendirilmiştir. 436 genç erişkinde doppler USG ile karotis intima-media kalınlığı (İMK) ölçülmüştür. Yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi ve sigara alışkanlığı kriterleri incelendiğinde sigara içmeyen kadınlar arasında R alleli taşıyanlarda karotis İMK’sı daha düşük bulunmuştur (108).

Başka bir çalışmada 310 kadında karotis İMK’sı ölçülerek karotis aterosklerozuyla PON1 Q/R192 ve L/M55 polimorfizmleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Q/R192 genotipleriyle karotis aterosklerozu arasında ilişki saptanmamış, ancak L/M55 L alleli taşıyanların karotis aterosklerozu için riskli olduğu bildirilmiştir (109). Avusturya’da yapılan bir çalışmada; Q/R192 genotipleriyle karotis aterosklerozu arasında ilişki saptanmazken, L/M55 LL genotipinin karotis aterosklerozu için genetik bir risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır (110). Finlandiya’da yalpan bir çalışmada ise PON1 Q/R192 ve L/M55 polimorfizmleriyle ateroskleroz arasındaki ilişkiyi belirlemek için otopsi olgularında abdominal aorta, mezenterik ve ana iliak arterlerde intima kalınlığı ölçülmüştür. Q/R192 genotipleriyle ateroskleroz arasında ilişki saptanmamış, ama L/M55 LL genotipinin ateroskleroz için bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (111).

Brezilya’da yapılan çalışmada anjiyografiyle KKH (koroner kalp hastalığı) saptanmış olan 352 hasta ile KKH olmayan 380 kişilik kontrol grubu PON1 Q/R192 ve L/M55 polimorfizmleri açısından karşılaştırılmıştır. Hasta grubunda PON1 M allel sıklığı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş, ancak Q/R192 genotipleri

açısından hasta ve kontrol grupları arasında fark saptanmamıştır (112). Kore’de 39-78 yaş arası erişkinlerde yapılan çalışmada ise 192 KKH’li hasta ile 113 sağlıklı kontrol PON1 Q/R192 ve L/M55 polimorfizmleri açısından karşılaştırılmış, iki grup arasında fark saptanmamıştır (113).

#### **2.2.5.6.3. Serebrovasküler Hastalıklar ve PON1**

Hırvatistan’da yapılan bir çalışmada strok geçiren 56 hasta ve karotis stenozu olan 36 hasta, 124 kişilik sağlıklı kontrol grubuyla PON1 polimorfizmleri açısından karşılaştırılmış ve iki grup arasında fark saptanmamıştır (114). Brezilya’da arteriyel iskemik strok ile PON1 gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi saptamak amacıyla 45 yaş altında ilk kez arteriyel iskemik strok geçirip hayatta kalan 118 hastayla kontrol grubu karşılaştırılmıştır. PON1 Q/R192 RR genotipinin genç erişkinlerde arteriyel iskemik strok riskini dört kez arttırdığı sonucuna varılmış, ancak PON1 L/M55 polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmamıştır (115). Japonya’da yapılan bir çalışmada ise 112 serebral infarktli hasta ile 106 kişilik sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılmıştır. PON1 Q/R192 genotipleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmazken, PON1 L/M55 polimorfizmi açısından serebral infarktli grupta M alleli anlamlı olarak daha fazla ve LL genotipi ise daha az saptanmıştır (116).

#### **2.2.5.6.4. DM ve Diğer Endokrin Hastalıklarda PON1**

DM insülin sekresyonunda yetersizlik, insüline direnç veya her ikisinin sonucunda oluşan hiperglisemi ile karakterize bir hastalıktır. DM’de oksidatif stres, serbest radikallerin oluşumunda artış ve antioksidan defansta azalmaya bağlıdır (117). Tip 2 DM sonucu vasküler komplikasyonu olan hastalarda PON1 aktivitesi ve gen polimorfizmlerinin etkisini araştıran bir çalışmada 71 DM’ye bağlı damar komplikasyonu olan hasta, 96 DM’li ama damar komplikasyonu olmayan hasta ve 105 sağlıklı kontrol PON1 aktivitesi ve gen polimorfizmleri açısından karşılaştırılmıştır. Damar komplikasyonu olmayan grupta PON1 aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük saptanmış. Q192 alleli damar komplikasyonu olan ve olmayan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha

fazla bulunmuş, ancak PON1 L/M55 polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmamıştır (118).

Türkiye’de yapılan bir çalışmada, DM’li 213 hasta ile 116 sağlıklı kontrol PON1 aktivitesi ve gen polimorfizmleri açısından karşılaştırılmış ve PON1 aktivitesi hasta grubunda daha düşük bulunurken, PON1 Q/R192 ve PON1 L/M55 genotip dağılımı açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmamıştır (87). Yapılan başka bir çalışmada PON1 aktivitesi ve okside LDL’nin diabetik nefropatideki etkisini araştırmak amacıyla 91 Tip 2 DM’li hasta kontrol grubuyla karşılaştırılmış ve PON1 aktivitesi hasta grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca idrar albümin atılımıyla PON1 aktivitesi arasında negatif korelasyon ve idrar albümin atılımıyla okside LDL düzeyi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (119).

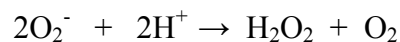
#### 2.2.5.6.5. Diğer Hastalıklar ve PON1

Akçay ve ark.’nın (120), gastrik ve hepatik kanserli hastalarda yaptığı çalışmada serum PON1 düzeyi her iki hasta grubunda da sağlıklı kontrollere göre daha düşük olarak saptanmıştır (120). Gornicka ve ark. (121) tarafından Polonya’da akut bronşiyal astma atağıyla hastaneye başvuran 23 çocuk hastada atak sırasında serum PON1 aktivitesi çalışılmış ve sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Astma atağı sırasında serum PON1 aktivitesinin azaldığı saptanmış, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (121). İtalya’da yapılan bir çalışmada 124 Alzheimer hastası ile 135 kişilik sağlıklı kontrol grubu PON1 Q/R192 polimorfizmi açısından karşılaştırılmış ancak iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır (122).

#### 2.2.6. Süperoksit Dismutaz

$O_2^-$ ’in  $H_2O_2$ ’e dismutasyonunu katalizleyen enzimdir (SOD, EC 1. 15. 1. 1) (4,123).

Katalizlediği reaksiyon şu şekildedir:



Katalizlediği bu reaksiyon spontan olarak meydana gelebilir. Fakat SOD aracılığı ile reaksiyon hızı artar. Aktif bölgede ihtiyaç duyulan metal türlerine göre iki tip SOD bildirilmiştir. Sitoplazmada dimerik, bakır ve çinko içeren SOD (Cu-Zn-

SOD veya SOD1, sitoplazmik) ve mitokondride tetramerik, mangan içeren SOD (MnSOD veya SOD2, mitokondriyal) olmak üzere iki tip izomeri mevcuttur. Bakır ve çinko içeren (EC-SOD veya SOD3 diğer form ekstrasellüler lokalizasyona sahiptir. Bu form en son keşfedilen ve en az bilinen SOD üyesidir. Bu izoformların fonksiyonları benzerdir fakat protein yapıları, kromozom lokalizasyonları, kofaktör metal gereksinimleri, gen dağılımları birbirinden farklıdır. Cu-Zn-SOD 21q22 no'lu kromozomda, Mn-SOD 6q25.3. no'lu kromozomda lokalizedir. Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni katabolize eden hücreleri superoksit serbest radikalının zararlı etkilerine karşı korumaktadır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder (4,52,53,124).

### **2.2.6.1. Mangan Süperoksit Dismutaz Enzimi**

İstirahatteki bir hücrede reaktif oksijen ürünlerinin ana kaynağı mitokondridir. Antioksidan koruma yetersiz ise bu durum oksidatif stresle sonuçlanır ve mitokondriyal disfonksiyon meydana gelir.

Mangan süperoksit dismutaz (Mn-SOD, SOD2, EC 1.15.1.1) ; oksidatif strese karşı savunma sağlayan mitokondri içindeki süperoksit radikallerini temizleyebilen tek enzimdir. MnSOD sentezi oksidatif stres, hipoksi, TNF $\alpha$ , IL-1 ve lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenir (125).

### **2.2.6.2. Mangan Süperoksit Dismutaz Geni**

MnSOD ayrılabilir bir N- terminal MSS ile sitoplazmada prekürsör protein olarak sentezlenir. Dış ve iç membrandaki translokaz aracılığı ile MSS, MnSOD prekürsörünün mitokondriyal yerleşimine rehberlik eder. Mitokondriyal matriksin içinde MSS, mitokondriyal işleyici peptidaz tarafından ayrılır ve matür MnSOD proteininin 4 monomeri, aktif MnSOD homotetramerine dönüşür (120).

SOD 2 geni, 5 ekson ve 4 introndan oluşur (126). MnSOD'un promotor bölgesi, transkripsiyon faktörlerinden olan multipl selektif promotör faktör-1 (SP-1) ve aktivatör protein-2 (AP-2) bağlayıcı bölge içerir. Aynı zamanda guanozin, sitozin (GC) bakımından zengin olan promoter tarafından, MnSOD geninin temel ekspresyonu kontrol edilmektedir. Transkripsiyonel faktörler SOD seviyelerinin

düzenlenmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bunlar; Nükleus faktörü- kappa B (NF- $\kappa$ B), AP-1, AP-2, Sp1.

Genin transkripsiyonu için Sp1 çok önemli ve yeterli iken AP-2 transkripsiyonda negatif rol aynar. İnsan MnSOD proteini bir homotetramer yapıdadır ve her bir alt ünite 198 aminoasit içerir (4,125). Her alt ünitenin bölümlerini N-terminal ve C-terminal bölge oluşturur. N-terminal bölge: N-terminal loop,  $\alpha$ 1 ve  $\alpha$ 2 sarmaldan oluşur. C-terminal bölge ise beş  $\alpha$ -sarmal ( $\alpha$ 3- $\alpha$ 7) ve üç  $\beta$ -ipliğinden ( $\beta$ 1- $\beta$ 3) oluşur (127-129).

### 2.2.6.3. Mangan Süperoksit Dismutaz Gen Polimorfizmi

MnSOD geni üzerinde değişik mutasyonlar tanımlanmıştır. MnSOD'un kodlanan bölgesinde enzimin aktivitesini değiştiren birkaç polimorfik bölge bulunur. Bunlar 3. ekzonda 58. pozisyonda İzolösin/Treonin (ACA $\rightarrow$ ATA), 60. pozisyonda Lösin/Fenilalanin (CTT $\rightarrow$ TTT) polimorfizmleridir. MnSOD, MSS gen bölgesinde enzimin aktivitesini değiştiren 1 dimorfik bölgeye sahiptir. Enzimin prekürsörünün 16. kodonda genetik dimorfizmi, enzimin MSS'inde alanin/valin dönüşümüne yol açar. Aktif enziminin -9. pozisyonunda alanin/valin dönüşümü olduğu için bu polimorfizm A-9V MnSOD polimorfizmi olarak da geçer (130).

Alanin içeren MSS,  $\alpha$ -heliks ikincil yapısına sahiptir ve mitokondri içerisine engelsiz girebilir. Fakat MnSOD geninin 2. ekzonunda bir baz çiftinde sitozin yerine timin gelirse (GCT $\rightarrow$ GTT), MSS'nin 16. pozisyonunda alanin (A) yerine valin (V) geçer. Dolayısıyla, enzimin ikincil yapısı  $\alpha$ -heliksten,  $\beta$ -kırmalı tabakaya değişir. Böylelikle, enzimin V izoformu mitokondriye taşınırken iç mitokondriyal membran tarafından durdurulmuş olur ve sonuç olarak aktif enzim miktarında azalma ortaya çıkar. MnSOD aktivitesi değişerek mitokondriyal elektron transport zincirinde üretilen ROT'a karşı etkin mücadele sağlanamaz (4,123,130).

### 2.2.6.4. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Hastalıklar

#### 2.2.6.4.1. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Böbrek Hastalıkları

Möllsten ve ark. (131), İsveç ve Finlandiyalı Tip 1 DM'li hastalarda 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada MnSOD VV genotipinin ve sigara içiminin

diyabetik nefropati riskini artırdığı saptanmıştır. Nomiya ve arkadaşları (132) tarafından Tip 2 DM'li hastalarda yapılan çalışmada da benzer bulgular elde edilmiştir. Sonuç olarak MnSOD V allelinin diyabetli hastalarda oksidatif stresi önleyemediği ve nefropati gelişimine katkı sağladığı öne sürülmüştür (131,132). Liu ve ark. (133), Çin'de Tip 2 DM'li hastalarda MnSOD V16-A polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında diyabetik nefropatili hastalarda AA ve AV genotiplerinin diyabetik nefropati gelişimine karşı koruyucu olabileceğini savunmuşlardır (133).

Lee ve ark. (134), Tip 2 diyabetik hastalarda albuminüri derecesi ve MnSOD gen V16A polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Nondiyabetik 178, tip 2 diyabetik 371 olgu çalışmaya alınmıştır. Diyabetik olgular normoalbuminürik, mikroalbuminürik ve makroalbuminürik olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu ile tip 2 diyabetik olgularda MnSOD genotip dağılımında (VV/VA ve AA) ve A allel frekansında farklılık saptanmamıştır. Ancak hipertansiyonun eşlik ettiği, albumin/kreatinin oranının düşük olduğu olgularda A alleli düşük saptanmıştır. A allelinin albuminüri derecesiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür. MnSOD gen V16A polimorfizminin diyabetin patogenezi etkilemediği ancak albuminüri derecesi ile yakın ilişkide olduğu belirtilmiştir (134).

#### **2.2.6.4.2. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Diğer Hastalıklar**

Sobkowiak ve ark. (135), Polonyalı SLE olgularında MnSOD Ala-9Val gen polimorfizmini araştırmışlar ve MnSOD VV genotipinin SLE'li olguların çeşitli klinik bulguları indükleyebileceğini öne sürmüşlerdir. Akyol ve ark.'nın (136), şizofren hastalar ile yapmış oldukları çalışmada kontrol grubunda hasta grubuna göre AV genotipini düşük, AA genotipini ise yüksek bulmuşlardır. Çalışmanın sonucunda AV genotipinin şizofreniye yatkınlık gösterdiğini ve AA genotipinin şizofreniye karşı koruyucu olduğunu savunmuşlardır (136).

Bunların yanında MnSOD gen polimorfizmi ile kanser ilişkisini araştıran çalışmalar da yapılmış olup sonuçlarda çelişkiler mevcuttur. Akyol ve ark.'nın (123) meme kanseri ile MnSOD ilişkisini araştırdıkları çalışmasında meme kanserli hastalarda VV genotipinin artışı ve AV genotipinin düşmesinin meme kanserine yakalanma oranını artırdığı ileri sürülmüştür (123).

Mitrunen ve ark. (137), Finlandiyalı 483 meme kanserli ve 482 sağlıklı kadında yaptıkları çalışmalarında, MnSOD A allel frekansının meme kanserli hastalarda kontrol grubundan daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Çalışmada A alleleline sahip homozigot ve heterozigot kadınlarda meme kanseri riskinin, VV homozigot olanlara göre 1,5 kat daha fazla olduğu öne sürülmüştür (137). Şanghai Meme Kanseri Araştırması'nda 1125 meme kanserli hasta ve 1197 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunda MnSOD A16V polimorfizmi incelenmiştir. Meme kanseri riskinin AA genotipli kadınlarda, özellikle premenopoz döneminde olanlarda daha yüksek olduğu bildirilmiştir (138). Woodson ve ark. (139), 197 prostat kanserli hasta ile 190 sağlıklı erkek bireyden oluşan kontrol grubunda MnSOD A16V polimorfizmini inceledikleri çalışmalarında, homozigot A alleleline sahip kişilerde prostat kanseri riskinin homozigot V alleleline sahip olanlara göre %70 daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Ayrıca homozigot AA genotipi taşıyan prostat kanserli hastalarda kanserin ilerleme riskinin AV ve VV genotipine sahip olanlara göre 3 kat arttığını savunmuşlardır (139). Olson ve ark. (140), 125 over kanserli hasta ve 193 sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubunda MnSOD A16V polimorfizmini incelemişlerdir. AV ve AA genotipine sahip bireylerde over kanseri riskinin arttığını bildirmişlerdir (140).

### **2.3. N-asetil-β-D-glukozaminidaz (NAG)**

Renal tübüler hasarın erken belirlenmesi, koruyucu tedavinin başarısı için oldukça önemlidir. Kronik böbrek hastalığının erken döneminde belirti ve bulgular oldukça az olduğundan tarama ve tanı amaçlı yapılan testlerin nefrolojide önemi büyüktür. Böbrek fonksiyonundaki anormallikleri erken belirlemede kullanılan en iyi testlerden birisi glomerüler filtrasyon hızıdır (GFR). Proksimal ve distal tubuler sekresyon ve reabsorpsiyonunun değerlendirilmesi için de çeşitli testler vardır.

N-acetyl-b-D-glukozaminidaz (NAG; EC 3.2.1.30), idrar enzimleri arasında renal tübüler hasarı belirlemede en çok araştırılan ve geniş bir kullanım alanına sahiptir. Yüksek moleküler ağırlığı (130 000-140 000 Da) olması glomerüler bazal membrandan geçişine izin vermez, bu nedenle minimal diurnal değişiklikler olsa da gün içerisinde atılımı oldukça stabildir. Sağlıklı bireylerin idrarında çok az miktarda bulunur. NAG, nefronun bütün segmentlerinde bulunmasına rağmen özellikle böbrek proksimal tübül hücrelerindeki lizozomlarda yüksek miktarda bulunması nedeniyle bu bölgenin fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır (141,142).



### 3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamız Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nden onay alınarak ve Helsinki Deklarasyonu kurallarına uygun yapılmıştır. Çalışmaya katılan tüm hastalar çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onamları alınmıştır.

#### 3.1. Çalışma Grubunun Seçimi

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Nefroloji Bilim Dalı tarafından HSP tanısıyla takip ve tedavi edilen hastalar çalışmaya alınmıştır. Çalışma prospektif ve kontrollü olup 2010-2011 yılları arasında yapılmıştır. HSP tanısı; Pediatrik Avrupa Romatoloji Topluluğu'nun tanı kriterlerine göre konmuştur (10,34). Hastalar hakkındaki bilgiler hastaların izlemi için düzenli olarak tutulan poliklinik dosyalarından alınmıştır. Hastalar için form doldurulmuştur. Hastaların aktif dönemde olup olmadığı, hastalığın ilk başladığı tarih (ay ve yıl olarak), aktif dönemde ortaya çıkan sorunlar (döküntü, karın ağrısı, artralji, artrit, yumuşak doku şişliği) ve süreleri, böbrek biopsisi yapıldı ise sonucu, gaitada gizli kan, proteinüri, hematüri, hipertansiyon olup olmadığı ve aldığı tedaviler kaydedilmiştir. Çalışmaya HSP tanısıyla takip ve tedavi edilen 70 hasta alınmıştır. Hasta grubuyla aynı yaş grubunda olan, kendisinde veya ailesinde bilinen erken yaş iskemik kalp hastalığı, lipid metabolizma bozukluğu, hipertansiyon, metabolik rahatsızlık (DM, böbrek yetersizliği, KC yetersizliği vs.) olmayan 60 sağlıklı çocuk kontrol grubunu oluşturmuştur.

Çalışmanın birinci bölümünde tüm hasta ve kontrol grubunun klinik değerlendirmeleri yapılmıştır. İkinci bölümünde hasta grubunun 16'sında hem hastalık (aktif) hemde iyileşme döneminde oksidatif stres ve biyokimyasal belirteçlerine bakılmış; kontrol grubundan 14 sağlıklı çocuğun verileri ile karşılaştırılmıştır. Aktif dönem ile iyileşme dönemi arasında ortalama 8-10 hafta süre mevcuttur. Biyokimyasal belirteçlerden serumda BUN, kreatinin, GFR (glomerüler filtrasyon hızı), Na, K, Ca, P, LDL kolesterol, total kolesterol, idrarda Na/ kreatinin, K/ kreatinin, Ca/ kreatinin, tübüler fosfor reabsorpsiyonu (TRP), NAG düzeylerine ve tam idrar analizine bakılmıştır. Oksidatif stres belirteçlerinden MDA seviyesi,

PON aktivitesi, TAK ve TOS düzeylerine bakılmıştır. Çalışmanın üçüncü bölümünde ise tüm hasta ve kontrol gruplarında PON1 Q/R192, L/M 55 ve MnSOD A16 V genotip tayini yapılmıştır.

### **3.2. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanışı**

Laboratuvar değerlendirmesinde; serumda BUN, kreatinin, Na, K, Ca, P, LDL, total kolesterol, idrarda kreatinin, Na, K, Ca, P, NAG ölçümleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında spektrofotometrik yöntemle dayalı ticari kit (İdrarda NAG için Bioquant) kullanılarak otoanalizörde (Olympus AU 2700, Japonya) gerçekleştirildi.

### **3.3. MDA Tayini**

Etilendiamin Tetraasetikasit (EDTA)'li tüplere alınan kan örneklerinden hemolizat hazırlandı. 0.5 mL kan örneği, 3000 devir/dak'da 10 dak. santrifüj edildi ve plazması aspire edildi. Eritrositler 3 mL %0.9 NaCl ile 3000 devir/dk /10 dk santrifüj edilerek 3 defa yıkandı. Yıkamış eritrositler 2 mL soğuk distile suyla hemoliz edildi. Hemolizattan MDA tayini yapıldı.

MDA ölçümü için Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi kullanıldı (143). Metodun prensibi MDA-TBA (Tiobarbitürik asit) kompleksinin 532 nm de verdikleri absorbansın ölçülmesi esasına dayanır. Hemolizatlarda hemoglobin konsantrasyonu siyanomethemoglobin metoduyla hemolizattan tayin edildi (144). Sonuçlar nmol/gr. Hb olarak verildi.

### **3.4. TAK, TOS ve PON Ölçümü**

Çalışma gruplarından venöz kan örnekleri alındı ve 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Örnekler çalışma yapılincaya kadar -70 C °'de saklandı. Serum TAK, TOS ve PON seviyeleri spektrofotometrik yöntemle dayalı ticari (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kit kullanılarak otoanalizörde (Olympus AU 2400, Japonya) gerçekleştirildi. Sonuçlar sırasıyla mmol Trolox Equiv./L, µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv./L ve U/L olarak verildi.

### 3.5. DNA İzolasyonu

PON1 Q/R192, L/M 55 ve MnSOD A16V genotiplerinin belirlenmesi için hasta ve kontrol grubuna dahil edilen tüm olgulardan DNA izolasyonu için EDTA'lı tüplere yaklaşık 5'er ml venöz kan örnekleri alındı. DNA izolasyonuna kadar toplanan kanlar -80 °C'de muhafaza edildi. Invitex marka Invisorb Spin Blood Mini Kit (Berlin) kullanılarak, sırası ile aşağıdaki işlemler yapılmak suretiyle DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Kan örnekleri 10 mL Na-EDTA tüplerinde toplanmış ve sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanmıştır.

1. Ependorf tüpüne 200 µl kan örneği, 200 µl lizis buffer A ve 20 µl proteinaz K konularak karıştırılmış ve 10 dakika 56°C'de termomikserde (Thermo-Rock, Sweden) inkübasyona bırakılmıştır.

2. İnkübasyonun sonunda tüp içine 400 µl binding buffer B6 konulup 10 saniye karıştırılmıştır. Sıvının tamamı RTA spin filtreli tüpe aktarılmıştır. Üç dakika oda sıcaklığında inkübe edilip 12000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Altta kalan sıvı atılıp, spinfilterler içindeki materyalle birlikte yeni toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

3. Örneklerin üzerine 500 µl'lik wash buffer I eklenmiş ve 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Altta kalan sıvı atılıp, toplama tüpleri değiştirilmiştir.

4. Örneklerin üzerine 800 µl wash buffer II eklenmiş ve 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

5. Filtre boş toplama tüpüne aktarılıp, 14.000 rpm'de 4 dakika tekrar santrifüj edilerek alkolden arındırılmıştır.

6. Filtre temiz 1.5 ml'lik ependorf tüpüne aktarılmış ve alkolün tamamen uzaklaşması için 3 dakika kapak açık biçimde oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.

7. Filtre membranın tam ortasına ısıtılmış 56°C'de 200 µl elution buffer D eklenmiş ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.

8. Sonrasında 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek filtre atılmış ve tüp içerisindeki ekstrakt (DNA) alınıp -20°C'de saklanmıştır.

### 3.6. Agaroz Jel Elektroforeziyle PZR Kontrolü

TBE tamponu (Tris-Borik asit-EDTA): Stok çözelti (10x, pH 8,0), 121,10 gr. Tris aminometan, 61,83 gr. Borik asit, 4 gr. EDTA tartılıp distile suyla hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti 10 kat konsantre olduğundan kullanırken bir kat olacak şekilde distile su ile seyreltilmiştir.

#### Agaroz Jel Hazırlanması

Malzemeler	%2 lik 25 ml
Agaroz	0,5 gr
1xTBE tamponu	25 ml
Etidyum Bromür	2µl

1. Gerekli miktarda agaroz tartılıp, erlene koyulmuştur.
2. Gerekli miktarda TBE eklenmiştir.
3. Hafifçe çalkalanıp mikrodalga fırına koyulmuştur.
4. Mikrodalga fırın örnek kaynamaya başlayana kadar yüksek ayarda çalıştırılmıştır.
5. Aralıklarla erlen mikrodalgadan çıkarılıp çalkalanmıştır.
6. Kaynama başladıktan sonra mikrodalganın ayarı düşürülmüştür ve tamamen eriyene kadar çalkalanarak ısıtılmıştır.
7. Etidyum Bromür eklenerek ve çalkalayarak tüm çözeltiliye dağılması sağlanmıştır.
8. Trayın çatlamaması için çözelti muslukta biraz soğutulmuştur.
9. Traye yavaşça dökülmüş ve polimerize olması için en az 15 dakika beklenmiştir.

### 3.7. Örnek Yükleme Tamponu (Loading Dye)

50 µl % 1'lik Bromfenol blue, 50 µl %1'lik Ksilen cyanol, 10 µl % 50'lik Gliserol ve 880 µl % 10'luk Tris-EDTA pH 8 kullanılarak hazırlanmıştır. PZR ürünleri örnek yükleme tamponuyla 5/1 oranında karıştırılarak jele yüklenip, 80 volt 20 dakika yürütülmüştür. Jel, Kodak Image Station 2000MM cihazında

görüntülenerek PZR'de amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği kontrol edilmiştir.

### 3.8. PON1 192 Q/R Gen Polimorfizmi

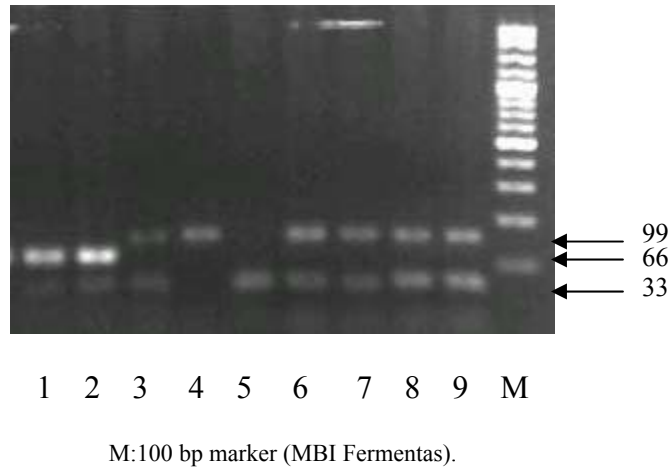
PON1 192 gen polimorfizmi PZR-RFLP yöntemiyle belirlenmiştir. PZR işlemi; 20-100 ng DNA, 100 µm dNTPs, 20 pmol primer (Forward ve Reverse primer), 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 mM Tris-HCl PH=[8,6], 50 mM KCl, 1 U Taq polymerase (MBI Fermentas) içerecek şekilde 25 µl hacminde gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan primerlerin dizilimi şu şekildedir:

Forward primer: 5'-TAT TGT TGC TGT GGG ACC TGA G-3'

Reverse Primer: 5'-CAC GCT AAA CCC AAA TAC ATC TC-3'

PZR; 95 °C'de 5 dakika ilk denaturasyondan sonra, 35 siklus; 95 °C'de 1 dakika denaturasyon, 62 °C'de 30 saniye primer bağlanma (annealing) ve 72 °C'de 1 dakika sentezi (extension), en son 1 siklus 72°C'de 7 dakika son sentez işlemleriyle gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri; % 2'lik agaroz jelde 80 Voltta 20 dakikalık elektroforez işleminden sonra Kodak IMAGE 2000 sistemiyle görüntülenmiştir. RFLP işlemi, 10 µl PZR ürününün ürünleri 5U AlwI restriksiyon enzimi (New England Biolabs) ile 37°C de bir gece boyunca inkübasyonla gerçekleştirilmiştir. RFLP sonucu, 0,5 mg/ml ethidium bromide içeren, % 3'lük agaroz jelde 100 Voltta 40 dakikalık elektroforez işleminden sonra gözlenmiştir. Tüm değerlendirmelerde 100 bp'lik marker (100 bp DNA Ladder, MBI Fermentas) kullanılmıştır. UV ışık kullanılarak jel görüntüleme sistemiyle (Kodak IMAGE 2000MM) genotipler belirlenmiştir. PZR sonunda 99 bp'lik ürün oluşmuştur. Enzim kesimi sonrasında 66 ve 33 bp'lik ürünler oluşmuştur. Şekil 4'de PON1 192 gen polimorfizmine ait genotip örnekleri gösterilmiştir. 1,2 normal(QQ); 3, 5, 6, 7, 8 ve 9 heterozigot(QR); 4 homozigot(RR).



**Şekil 4.** Örneklerin PON1 192 genotiplendirmesi

### 3.9. PON 55 L/M Gen Polimorfizmi

PON 55 L/M gen polimorfizmi de PZR-RFLP yöntemiyle belirlenmiştir. PZR işlemi; 20-100 ng DNA, 100 µm dNTPs, 20 pmol primer (Forward ve Reverse primer), 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 mM Tris-HCl PH=[8,6], 50 mM KCl, 1 U Taq polymerase (MBI Fermentas) içerecek şekilde 25 µl hacminde gerçekleştirilmiştir.

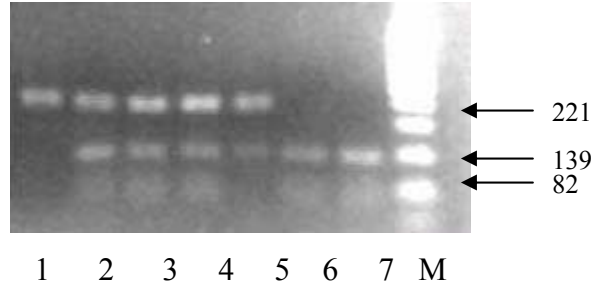
Kullanılan primerlerin dizilimi şu şekildedir:

Forward primer: 5'-GAA ATG GAT CCA CAT CCT GC-3'

Reverse Primer: 5'-TTG AAA GTG GGC ATG GGT AT-3'

PZR; 94 °C'de 5 dakika ilk denaturasyondan sonra, 35 siklus; 94 °C'de 1 dakika denaturasyon, 59 °C'de 1 dakika primer bağlanma (annealing) ve 72 °C'de 1 dakika sentezi (extension), en son 1 siklus 72°C'de 7 dakika son sentez işlemleriyle gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri; % 2'lik agaroz jelde 80 Voltta 20 dakikalık elektroforez işleminden sonra Kodak IMAGE 2000 sistemiyle görüntülenmiştir. RFLP işlemi, 10 µl PZR ürününün ürünleri NlaIII restriksiyon enzimi (New England Biolabs) ile 37°C de bir gece boyunca inkübasyonla gerçekleştirilmiştir. RFLP sonucu, 0,5 mg/ml ethidium bromide içeren, % 3'lük agaroz jelde 100 Voltta 40 dakikalık elektroforez işleminden sonra gözlenmiştir. Tüm değerlendirmelerde 50 bp'lik marker (50 bp DNA Ladder, MBI Fermentas) kullanılmıştır. UV ışık kullanılarak jel görüntüleme sistemiyle (Kodak IMAGE 2000MM) genotipler belirlenmiştir. PZR sonunda 221 bp'lik ürün oluşmuştur. Enzim kesimi sonrasında

139 ve 82 bp'lik ürünler oluşmuştur. Şekil 5'de PON 55 L/M gen polimorfizmine ait genotip örnekleri gösterilmiştir. 1 homozigot;(MM) 2, 3, 4 ve 5 heterozigot(LM), 6 ve 7 normal(LL).



M:50 bp marker (MBI Fermentas).

Şekil 5. Örneklerin 55 L/M genotiplendirmesi

### 3.10. MnSOD A16V Gen Polimorfizmi

MnSOD A16V gen polimorfizmi de PZR-RFLP yöntemiyle belirlenmiştir. PZR işlemi; 20-100 ng DNA, 100 µm dNTPs, 20 pmol primer (Forward ve Reverse primer), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 mM Tris-HCl PH=[8,6], 50 mM KCl, 1 U Taq polymerase (MBI Fermentas) içerecek şekilde 25 µl hacminde gerçekleştirilmiştir.

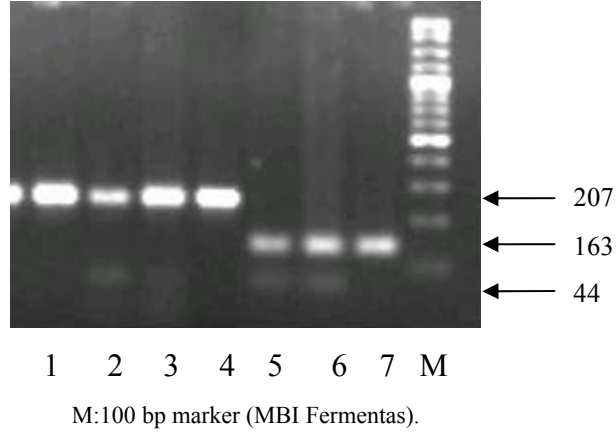
Kullanılan primerlerin dizilimi şu şekildedir:

Forward primer: 5'-GCT GTG CTT TCT CGC TTT CAG-3'

Reverse Primer: 5'-TGG TAC TTC TCC TCG GTG ACG-3'

PZR; 95 °C'de 5 dakika ilk denaturasyondan sonra, 35 siklus; 95 °C'de 1 dakika denaturasyon, 58 °C'de 1 dakika primer bağlanma (annealing) ve 72 °C'de 1 dakika sentezi (extension), en son 1 siklus 72°C'de 7 dakika son sentez işlemleriyle gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri; % 2'lik agaroz jelde 80 Voltta 20 dakikalık elektroforez işleminden sonra Kodak IMAGE MM 2000 sistemiyle görüntülenmiştir. RFLP işlemi, 10 µl PZR ürününün ürünleri 5U BSaWI restriksiyon enzimi (New England Biolabs) ile 37°C de bir gece boyunca inkübasyonla gerçekleştirilmiştir. RFLP sonucu, 0,5 mg/ml ethidium bromide içeren, % 3'lük agaroz jelde 100 Voltta 40 dakikalık elektroforez işleminden sonra gözlenmiştir. Tüm değerlendirmelerde 100 bp'lik marker (100 bp DNA Ladder, MBI Fermentas) kullanılmıştır. UV ışık kullanılarak jel görüntüleme sistemiyle (Kodak IMAGE 2000MM) genotipler

belirlenmiştir. PZR sonunda 207 bp'lik ürün oluşmuştur. Enzim kesimi sonrasında 163 ve 44 bp'lik ürünler oluşmuştur. Şekil 6'de MnSOD A16V gen polimorfizmine ait genotip örnekleri gösterilmiştir. 5,6,7 normal (AA), 1,4 homozigot (VV), 2,3 heterozigot (AV)



**Şekil 6.** Örneklerin MnSOD A16V gen genotiplendirmesi

### 3.11. İstatiksel Analiz

İstatistiksel hesaplamalar için SPSS 15.0 paket programı kullanılmıştır. Değerlendirmede hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetlerini karşılaştırmada ki-kare testi kullanılırken, yaş, vücut ağırlığı, sistolik ve diastolik tansiyon ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasında T testi kullanılmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde biyokimyasal ve oksidatif stres belirteçlerinin aktif dönem ile iyileşme dönemindeki verilerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi, bu grupların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Genotip sonuçlarının karşılaştırılmasında ise ki-kare testi ve Fisher's exact testi (olgu sayısı düşük olan gruplarda) kullanılmıştır ve p değeri  $< 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Allel frekansları gen sayma metoduna göre yapılmıştır. Bunun yanında tahmini relatif risk açısından, odds oranı (OR) ve güvenirlilik aralığına (CI) bakılmıştır. Veri sunumu, sayı, yüzde değerler, ortalama, standart sapma, en küçük ve en büyük değerler kullanılarak yapılmıştır.



#### 4. BULGULAR

Bu çalışma HSP tanısı almış 70 hasta (27 erkek, 43 kız) ve 60 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubunda (33 erkek, 27 kız) yapılmıştır. HSP'nin başlangıç yaşı ortalama  $7,2\pm 3,2$  yıldır (3-15). Hasta ile kontrol grubunun klinik ve demografik özellikleri Tablo 3' de özetlenmiştir.

**Tablo 3.** Hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri

	<b>HSP hasta grubu(n=70)</b>	<b>Kontrol grubu(n=60)</b>	<b>P</b>
Cinsiyet(E/K) Sayı-(%)	27/43(39/61)	33/27(55/45)	AD*
Yas (yıl)	7,2±3,2	7,5±3,5	AD**
Vücut ağırlığı (kg)	27,6±14,3	25,3±10,2	AD**
Boy(cm)	126,9±18,7	123,3±20,5	AD**
Sistolik kan basıncı(mm Hg)	98,7±8,3	98,9±7,7	AD**
Diastolik kan basıncı(mm Hg)	56,6±5,9	57,08±7,01	AD**
Kalp tepe atımı	75,3±6,4	77,1±4,9	AD**

n: Olgu sayısı

\*Ki kare test

\*\* T Test

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

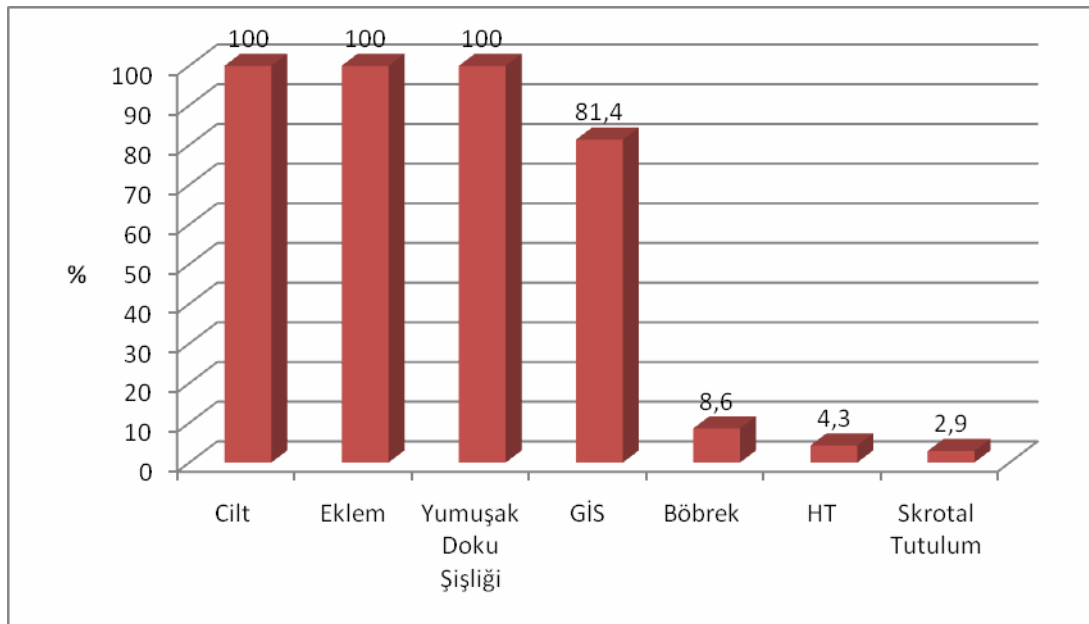
Çalışmadan elde edilen bulgular 3 ana başlıkta değerlendirildi:

- 1- Klinik ve laboratuvar bulgular
- 2- Oksidatif stres ile ilgili bulgular
- 3- Gen polimorfizmi ile ilgili bulgular

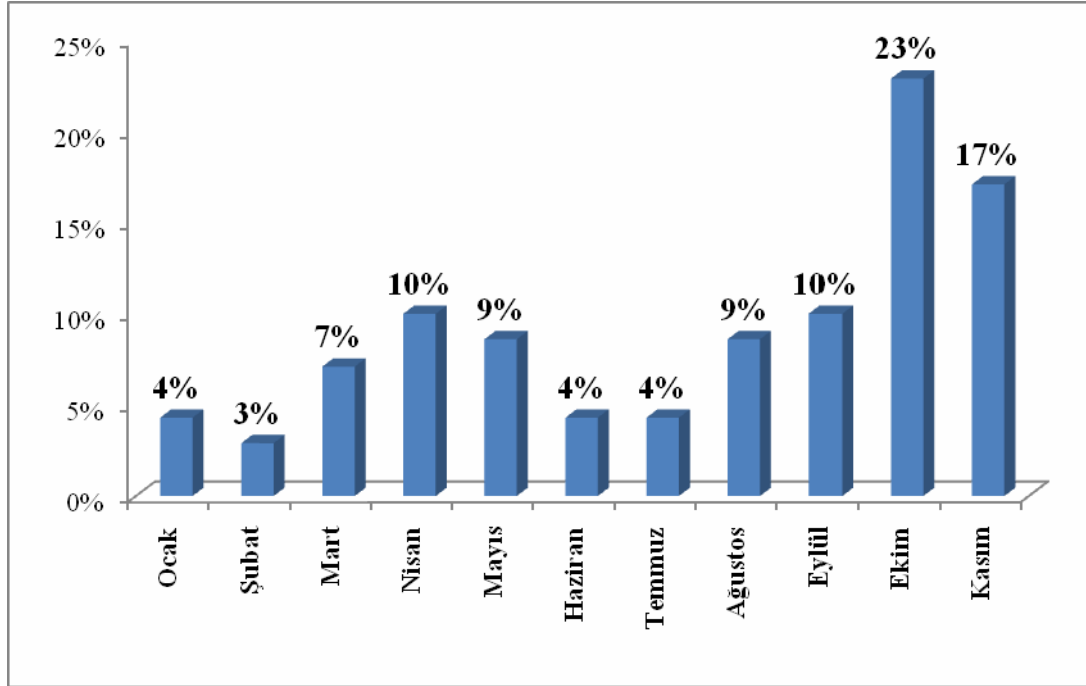
## 4.1. Başvuru Sırasındaki Klinik ve Laboratuvar Bulgular

### 4.1.1. Klinik Bulgular

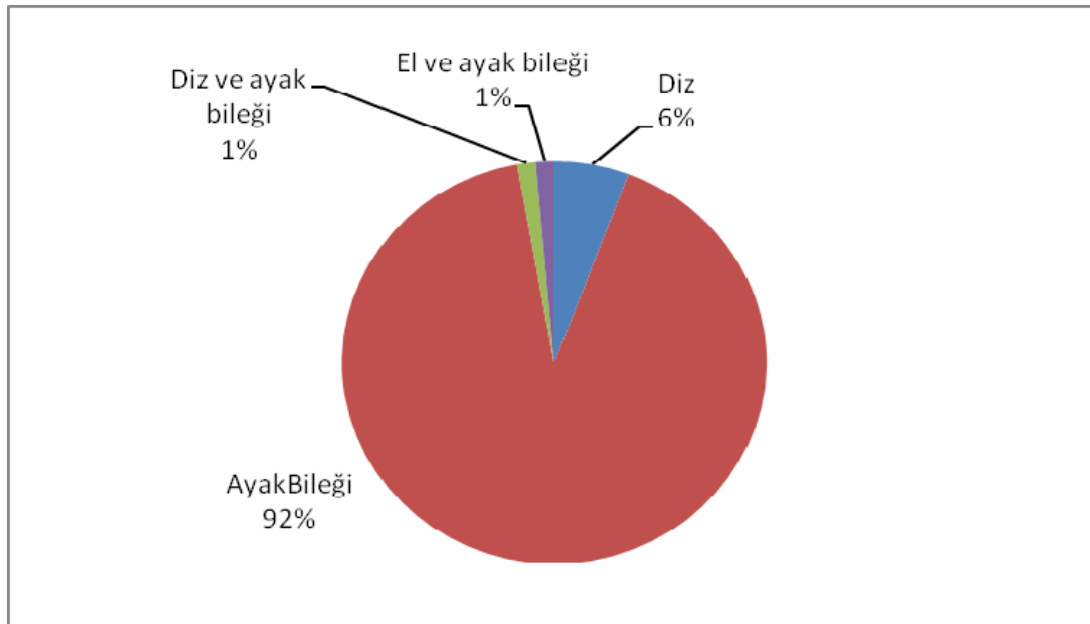
Hastaların tümünde (%100) cilt tutulumu, eklem tutulumu ve yumuşak doku şişliği, 57'sinde (%81,4) GİS tutulumu, 12'sinde (% 17,1) gaitada gizli kan pozitifliği, 6'sında (%8,6) böbrek tutulumu, 3'ünde (% 4,3) hipertansiyon, 2'sinde (% 2,9) skrotal tutulum ve yine 2 hastada (%2,9) bağırsak perforasyonu saptanmıştır (Şekil 7). HSP'nin başladığı ay dağılımına bakıldığında hastaların % 23'ünde ekim ayında, %17 sinde kasım ayında, %10'unda nisan ve eylül aylarında başlamıştır (Şekil 8). Eklem tutulumuna bakıldığında ise % 91 oranında ayak bileği en sık tutulan eklemdir. (Şekil 9)



Şekil 7. Çalışma grubunda ilk başvuru sırasındaki klinik özellikler (n=70).



Şekil 8. Çalışma grubunda hastalığın başladığı ayların dağılımı (n=70).



Şekil 9. Çalışma grubunda tutulan eklemlerin dağılımı (n=70).

#### 4.1.2. Laboratuvar Bulguları

Çalışmanın ikinci bölümünde ise 70 HSP'li hastanın 16'sında, hastalığın aktif döneminde ve iyileşme döneminde oksidatif stres ve biyokimyasal belirteçlere bakılmıştır. Kontrol grubundan 14 sağlıklı çocuğun verileri ile karşılaştırılmıştır. Hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri Tablo 4'te, laboratuvar bulguları Tablo 5 'te özetlenmiştir.

**Tablo 4.** Çalışmanın ikinci bölümündeki hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri.

	HSP hasta grubu(n=16)	Kontrol grubu(n=14)	P
<b>Cinsiyet(E/K)</b> Sayı	9/7	8/6	AD*
<b>Yas (yıl)</b>	7,1±3,9	8,2±3,6	AD**
<b>Sistolik kan basıncı(mm Hg)</b>	97,5±8,6	98,6±6,7	AD**
<b>Diastolik kan basıncı(mm Hg)</b>	56,9±6,0	57,9±6,9	AD**

n: olgu sayısı

\* Fisher's exact test

\*\* Mann-Whitney U Testi

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

Tablo 5'te görüldüğü gibi aktif dönem, iyileşme dönemi ve kontrol grubunda serum ve idrarda biyokimyasal parametrelere bakılmıştır. Bakılan biyokimyasal belirteçlerden idrarda NAG düzeyi; hasta grubunda aktif dönemde 18,5±10,3 IU/mg kreatinin, iyileşme döneminde 12,1±9,9 IU/mg kreatinin bulunurken kontrol grubunda 10,2±4,64 IU/mg kreatinin saptanmıştır. Aktif dönemde NAG'ın kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). TRP oranı; hasta grubunda aktif dönemde 92,4±3,3, iyileşme döneminde 94,5±2,2 bulunurken kontrol grubunda 93,6±3,7 saptanmıştır. Aktif dönemde TRP'nin iyileşme grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). LDL düzeyi; hasta grubunda aktif dönemde 86,3±19,8 mg/dl, iyileşme döneminde 82,9±21,3 mg/dl bulunurken kontrol grubunda 71,6±12,1 mg/dl saptanmıştır. Aktif dönemde LDL'nin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Diğer parametreler açısından anlamlı farka rastlanmamıştır.

**Tablo 5.** Aktif dönem, iyileşme dönemi ve kontrol grubunun laboratuvar bulguları.

Göstergeler	Aktif dönemi (n=16)	İyileşme dönemi (n=16)	Kontrol grubu (n=14)	p
Cr (mg/dl)	0,6± 0,1	0,6± 0,1	0.6±0,1	*p=AD **p=AD ***p=AD
GFR	105,3±8,3	106.1± 9,9	113,0±14,6	*p=AD **p=AD ***p=AD
BUN (mg/dl)	11,55±5,93	10,31±2,98	10,83±2,52	*p=AD **p=AD ***p=AD
Na (mmol/L)	138,19±2.38	140,43±3,29	139.22±2,41	*p=AD **p=AD ***p=AD
K (mmol/L)	4,26±0,48	4,35±0,32	4.31±0,25	*p=AD **p=AD ***p=AD
Ca (mg/dl)	9,61±0,52	9,87±0,49	9,76±0,55	*p=AD **p=AD ***p=AD
P (mg/dl)	4,55±0,78	4,63±0,66	4,50±0,66	*p=AD **p=AD ***p=AD
LDL kolesterol (mg/dl)	86,3±19,8	82,9±21,3	71,6±12,1	*p=AD **p=0,04 ***p=AD
Total kolesterol (mg/dl)	151,8±26,48	151,25±24,02	143,14±14,31	*p=AD **p=AD ***p=AD
NAG (IU/mg kreatinin)	18,54±10,34	12,05±9,94	10,18±4,64	*p=AD **p=0,02 ***p=AD
İdrar Na/kreatinin (mM/mg kreatinin)	1,94±1,71	1,90±1,85	1,5±1,0	*p=AD **p=AD ***p=AD
İdrar K/kreatinin (mM/mg kreatinin)	0,71±0,36	0,70±0,50	0,48±0,21	*p=AD **p=AD ***p=AD
TRP	92,4±3,26	94,5±2,22	93,57±3,73	*p=0,03 **p=AD ***p=AD
İdrar Ca/kreatinin	0,11±0,11	0,07±0,07	0,08±0,05	*p=AD **p=AD ***p=AD

n :olgu sayısı

\*p:aktif ile iyileşme dönemi karşılaştırılması (Wilcoxon testi)

\*\*p:aktif dönem ile kontrol grubunun karşılaştırılması (Mann- Whitney U testi)

\*\*\*p:iyileşme dönemi ile kontrol grubu karşılaştırılması (Mann- Whitney U testi)

#### 4.2. Oksidatif Stres ile İlgili Bulgular

Lipid peroksidasyonu ve oksidan durumu göstermek için bakılan MDA, aktif dönemde ortalama 0,17±0,16 nmol/gr. Hb, iyileşme döneminde 0,06±0,06 nmol/gr. Hb bulunurken, kontrol grubunda 0.07±0.04 nmol/gr. Hb olarak bulunmuştur. Aktif dönemdeki MDA düzeyleri iyileşme dönemi ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak

yüksek saptanmıştır ( $p<0,05$ ). TAK değerlendirildiğinde; aktif dönemde TAK ortalama  $0,96\pm0,26$  mmol Trolox Equiv./L, iyileşme döneminde  $1,04\pm0,26$  mmol Trolox Equiv./L ve kontrol grubunda  $1,21\pm0,58$  mmol Trolox Equiv./L saptanmıştır. Aktif dönemdeki TAK düzeyi, iyileşme dönemi ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken ( $p<0,05$ ); remisyon dönemi ile kontrol grubu arasında ortalama TAK düzeyleri açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Antioksidan enzimlerden PON aktivitesi; aktif dönemde ortalama  $75,60\pm31,26$  U/L, iyileşme döneminde  $92,35\pm40,29$  U/L bulunurken, kontrol grubunda  $169,98\pm71,30$  U/L olarak saptanmıştır. Aktif dönemde bakılan PON aktivitesi, iyileşme dönemi ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Yine remisyon döneminde bakılan PON aktivitesi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Oksidatif stres parametrelerinden TOS düzeyinde, gruplar arası fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 6.** Gruplar arası oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması.

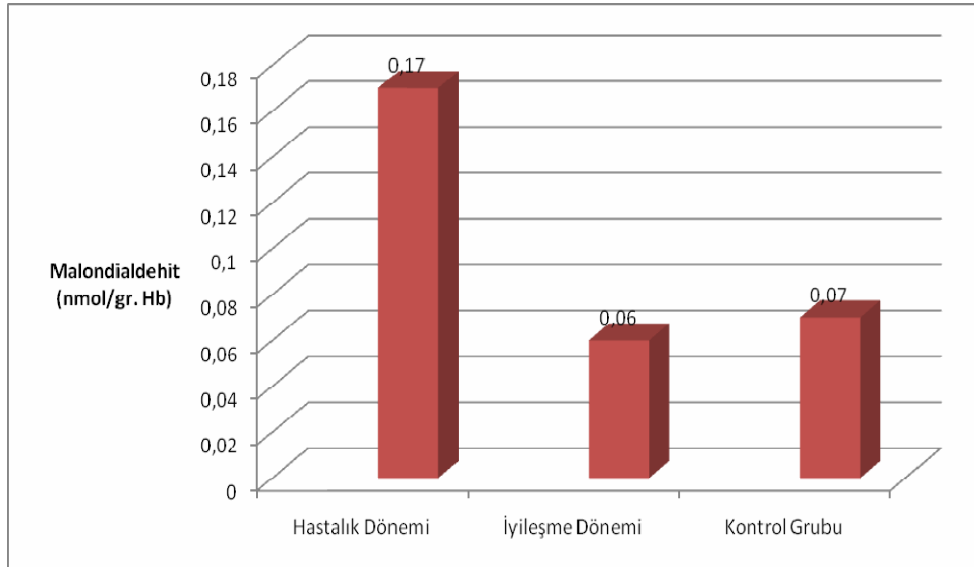
Göstergeler	Aktif dönem (n=16)	İyileşme dönemi (n=16)	Kontrol grubu (n=14)	P
MDA (nmol/gr. Hb)	$0,17\pm0,16$	$0,06\pm0,06$	$0,07\pm0,04$	*p=0,01 **p=0,03 ***p=AD
PON (U/L)	$75,60\pm31,26$	$92,35\pm40,29$	$169,98\pm71,30$	*p=0,05 **p=0,01 ***p=0,05
TAK (mmol Trolox Equiv./L)	$0,96\pm0,26$	$1,04\pm0,26$	$1,21\pm0,58$	*p=0,05 **p=0,03 ***p=AD
TOS ( $\mu$ mol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Equiv./L)	$10,48\pm8,79$	$6,94\pm8,48$	$11,19\pm10,89$	*p=AD **p=AD ***p=AD

n :olgu sayısı

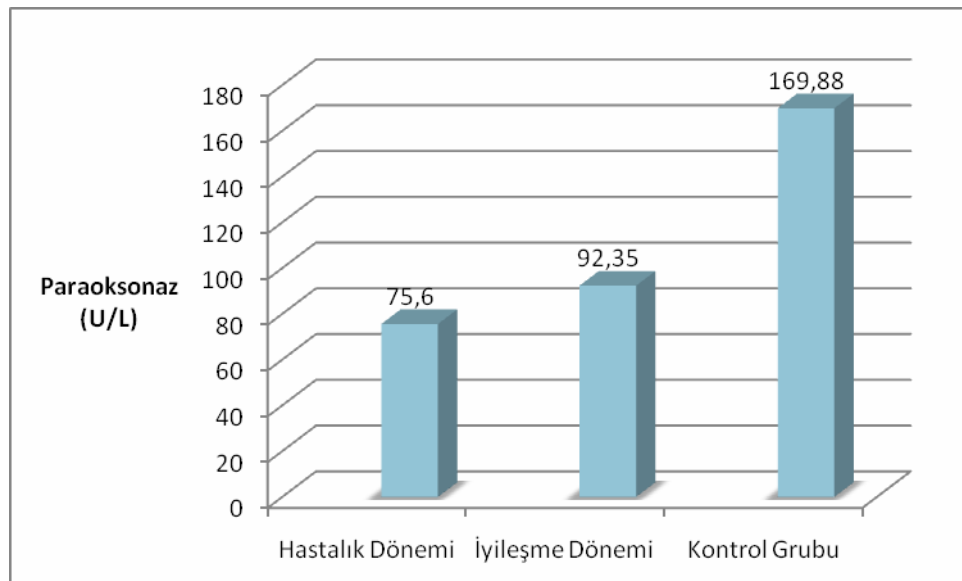
\*p:aktif ile iyileşme dönemi karşılaştırılması (Wilcoxon testi)

\*\*p:aktif dönem ile kontrol grubunun karşılaştırılması (Mann- Whitney U testi)

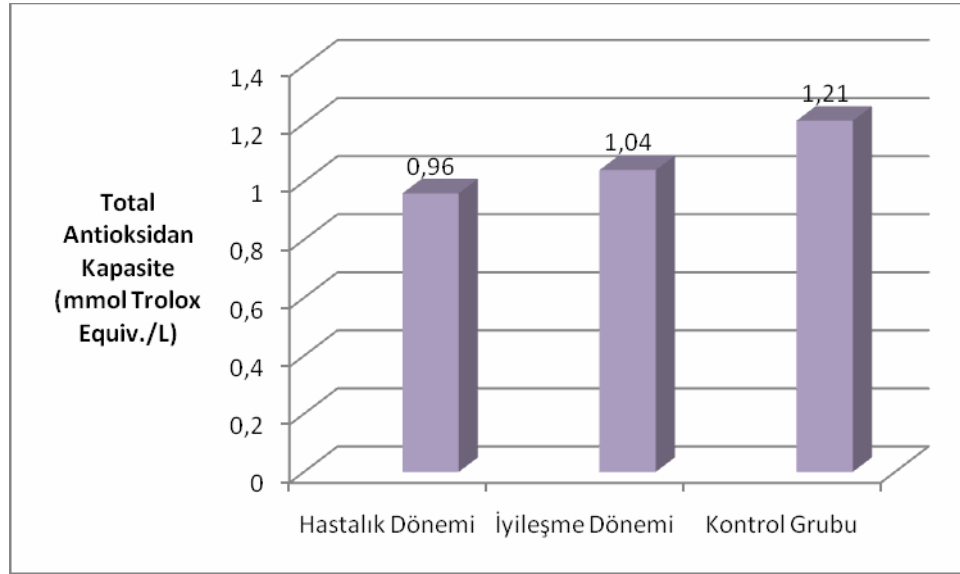
\*\*\*p:iyileşme dönemi ile kontrol grubu karşılaştırılması (Mann- Whitney U testi)



**Şekil 10.** Gruplar arası MDA düzeyleri.



**Şekil 11.** Gruplar arası PON aktivitesi.



Şekil 12. Gruplar arası TAK düzeyleri.

### 4.3. Gen Polimorfizmi İle İlgili Bulgular

#### 4.3.1. PON1 Genotip Dağılımı

##### 4.3.1.1. PON Q/R 192 Genotip Dağılımı

PON Q/R 192 genotiplerinin dağılımına bakıldığında hasta grubunun (n=70); 12'sinde (%17) QQ, 32'sinde (%46) QR, 26'sında (%37) RR genotipi iken kontrol grubunun (n=60); 6'sında (%10) QQ, 22'sinde (%36) QR, 32'sinde (%54) RR genotipi saptanmıştır. Hasta grubunda QQ genotipi sıklığının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmış fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,24).

Allel dağılımına bakıldığında, Q allel taşıyıcılığı hasta grubunda (%40) kontrol grubuna (%28) göre daha yüksek saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,04). Relatif riske bakıldığında Q allelinin hastalık gelişme riskini 1,68 kat artırdığı saptanmıştır (OR=1,68 %95 Güven Aralığı (CI): [ 1,00-2,84]).



**Tablo 7.** PON1 Q/R192 genotip dağılımı.

	Hasta grubu (n=70)		Kontrol grubu (n=60)		*p değeri	OR (%95 CI)
	n	%	n	%		
<b>QQ</b>	12	17	6	10	AD	0,53 (0,18-1,53)
<b>QR</b>	32	46	22	36	AD	0,68 (0,34-1,39)
<b>RR</b>	26	37	32	54	AD	1,93 (0,95-3,90)
<b>Toplam</b>	70	100	60	100	-	
<b>Q allel</b>	56	40	34	28	0,04	1,68 (1,00-2,84)
<b>R allel</b>	84	60	86	72	0,04	0,59 (0,35-0,99)

\* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve  $p < 0,05$  anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

**AD:** İstatistiksel olarak anlamlı değil

**OR:** Odds oranı

**CI:** Güvenirlik aralığı

#### 4.3.1.2. PON L/M 55 Genotip Dağılımı

PON L/M 55 genotiplerinin dağılımı hasta grubunun (n=70); 25'inde (% 36) LL, 17'sinde (%24) LM ve 28'inde (%40) MM genotipi iken kontrol grubunun (n=60), 29'unda (%48) LL, 23'ünde (%38) LM ve 8'inde (%14) MM genotipi saptanmıştır. Hasta grubunda MM genotipi sıklığının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p:0,001$ ). Allel dağılımı açısından bakıldığında M allel taşıyıcılığı hasta grubunda (%52) kontrol grubuna (%33) göre daha yüksek saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,001$ ). Relatif riske bakıldığında M allelinin hastalık gelişme riskini 2,2 kat artırdığı saptanmıştır (OR=2,2 %95 Güven Aralığı (CI): [ 1,36-3,75]).

**Tablo 8.** PON1 L/M 55 genotip dağılımı.

	Hasta grubu (n=70)		Kontrol grubu (n=60)		*p değeri	OR (%95 CI)
	n	%	n	%		
<b>LL</b>	25	36	29	48	AD	1.68 (0,83-3,4)
<b>LM</b>	17	24	23	38	AD	1,93 (0,91-4,12)
<b>MM</b>	28	40	8	14	0.001	0.23 (0,09-0,55)
<b>Toplam</b>	70	100	60	100	-	
<b>L allel</b>	67	48	81	67	0,001	0,44 (0,26-0,73)
<b>M allel</b>	73	52	39	33	0,001	2,2 (1,36-3,75)

\* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve  $p < 0,05$  anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

**AD:** İstatistiksel olarak anlamlı değil

**OR:** Odds oranı

**CI:** Güvenirlik aralığı

### 4.3.2. MnSOD Genotip Dağılımı

#### 4.3.2.1. MnSOD A/V 16 Genotip Dağılımı

MnSOD A/V 16 genotiplerinin dağılımı hasta grubunun (n=70); 11'inde (%16) VV, 31'inde (%44) AV, 28'inde (%40) AA genotipi iken kontrol grubunun (n=60) 14'ünde (%24) VV, 28'inde (%46) AV, 18'inde (%30) AA genotipi saptanmıştır. Hasta grubunda AA genotipi sıklığı kontrol grubuna göre yüksek saptanmış olsada bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,23$ ). Allel dağılımı açısından bakıldığında ise, A allel taşıyıcılığının hasta grubunda daha yüksek olduğu saptanmış ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,15$ ). Relatif riske bakıldığında A allelinin hastalık gelişme riskini 1,43 kat arttırdığı saptanmıştır (OR=1,43 %95 Güven Aralığı (CI) : [0,87-2,35]).

**Tablo 9.** MnSOD A/V 16 genotip dağılımı

	<b>Hasta grubu (n=70)</b>		<b>Kontrol grubu (n=60)</b>		<b>*p değeri</b>	<b>OR (%95 CI)</b>
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>		
<b>AA</b>	28	40	18	30	AD	0.64 (0,3-1,33)
<b>AV</b>	31	44	28	46	AD	1,1 (0,55-2,2)
<b>VV</b>	11	16	14	24	AD	1,63 (0,67-3,93)
<b>Toplam</b>	70	100	60	100	-	
<b>A allel</b>	87	62	64	53	AD	1,43 (0,87-2,35)
<b>V allel</b>	53	38	56	47	AD	0,69 (0,42-1,14)

\* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve  $p < 0,05$  anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

**AD:** İstatistiksel olarak anlamlı değil

**OR:** Odds oranı

**CI:** Güvenirlilik aralığı

Tablo 10. Hasta grubu verileri

İsim	PON L/M	55 QIR	PON QIR	192 A/V	SOD	Cinsiyet	Yaş	Çilt	GIS	Ekleme	Tutulan Ekleme	Yumuşak Doku Şişliği	Böbrek	Hematüri	Proteinüri	GGK	HT	Skrotal Tutulum	Bağırsak Perforasyonu	NSAİİ Tedavi Süresi	Tedavi
BT	LL	QR	RR	VV	E	K	3.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	var	var	5 gün	OST
ZSÖ	LM	RR	RR	VA	K	E	7	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	5-7 gün	OST
MK	LM	RR	RR	VA	E	E	4.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	4 gün	OST
HY	LM	RR	RR	VA	K	K	6.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	2 gün	OST
KY	LM	RR	RR	VA	K	K	5.5	var	var	var	Diz ve Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	10 gün	OST+P+ACE
EK	LM	QR	QR	VA	K	K	9	var	yok	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
MMK	LM	QR	QR	VA	K	K	5.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	1 gün	OST
SNY	MM	QR	QR	AA	K	K	3.4	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	5 gün	OST
ED	LM	QR	QR	VA	E	E	8.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
ES	MM	QR	QR	AA	E	E	6	var	yok	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
PU	LM	RR	RR	AA	K	K	10	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
IT	MM	RR	RR	AA	K	K	3.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	6 gün	OST
AOK	LL	RR	RR	VA	K	K	14	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
BO	LL	QR	QR	VA	E	E	10.5	var	var	var	Eli ve ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	5 gün	OST
AB	MM	QR	QR	VA	E	E	6	var	var	var	Diz	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	2 gün	OST
SD	MM	QR	QR	VV	E	E	2.5	var	yok	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
ZE	MM	QR	QR	AA	K	K	5.5	var	yok	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
CG	LL	QR	QR	VV	K	E	5	var	yok	var	diz	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	5 gün	OST
FÖ	MM	RR	RR	VV	E	E	15	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	10 gün	OST
SK	MM	RR	RR	AA	E	E	3.5	var	yok	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	5 gün	OST
URO	LL	QR	QR	AA	K	K	6.5	var	yok	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	10 gün	OST
AG	MM	QQ	QQ	AA	K	K	7.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	10 gün	OST
OŞ	MM	QR	QR	VA	E	E	13	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
HİÇ	LL	RR	RR	AA	E	E	5.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	10 gün	OST
HIS	LL	RR	RR	VA	E	E	5.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	5 gün	OST
AFD	LL	QR	QR	AA	K	K	6.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	3 gün	OST
FK	LL	QR	QR	VV	K	K	5.5	var	yok	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	5 gün	OST
ESG	MM	QR	QR	AA	K	K	8	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
RK	MM	RR	RR	AA	E	E	9.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	15 gün	OST
ND	LM	QR	QR	VA	K	K	13	var	yok	var	Ayak bileği	var	var	var	var	var	var	var	var	10 gün	ACE
TK	LM	RR	RR	VA	E	E	13.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	10 gün	OST
BI	MM	QR	QR	AA	K	K	4.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	5 gün	OST
MAK	MM	RR	RR	AA	E	E	9.5	var	var	var	Ayak bileği	var	var	var	var	var	var	var	var	10 gün	OST+P+E+ACE
HK	LM	QR	QR	VA	E	E	7.5	var	yok	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST
AND	MM	RR	RR	AA	K	K	4.5	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	yok	7 gün	OST

SK	LM	RR	VA	K	6	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	7 gün
BA	MM	QR	AA	K	3,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
EKD	LL	RR	VA	E	12	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	7 gün
ÖK	LL	RR	VA	K	4,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	7 gün
BB	LL	RR	VV	E	6,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	5 gün
FS	MM	QR	VV	E	6	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
BY	LL	RR	VV	K	7,5	var	yok	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	4 gün
ASC	LL	RR	VV	K	4,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	5 gün
MA	LL	QR	VV	K	14,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
ABK	LL	RR	VV	K	7	var	yok	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	7 gün
EE	MM	RR	AA	E	5	var	var	var	var	Diz	var	var	var	var	var	14 g	
IS	LM	QR	VA	K	4,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	4 gün
FK	LM	QR	VA	E	14,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	var	yok	yok	10 gün
HM	MM	QR	AA	E	5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
ZE	MM	QQ	AA	K	6	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	7 gün
PK	MM	QQ	VA	K	4	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
SD	MM	QQ	VA	K	10,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	var	var	var	var	var	5 gün
EM	MM	QR	AA	K	3	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	7 gün
FB	LL	QR	VA	K	4,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
BD	MM	QR	VA	K	5,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	var	var	var	var	var	10 gün
RD	LL	QR	AA	K	3	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	7 gün
ŞBK	LL	QQ	VA	K	7,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	3 gün
UY	LL	RR	VA	K	5,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	5 gün
KÇ	LL	QR	VA	E	9,5	var	yok	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
KK	LM	QQ	AA	E	6,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
BGN	LM	QQ	VA	K	12,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	var	var	var	var	var	10 gün
HNK	LL	QQ	AA	K	12,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
FK	LL	QQ	AA	K	7	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	7 gün
YO	LM	QQ	AA	K	7	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
IY	MM	QQ	VA	K	11	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
SI	MM	QQ	AA	E	6	var	var	var	var	Diz	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
TV	MM	RR	AA	E	6	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün
SK	LL	QR	AA	K	6	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	8 gün
RY	LL	QR	VA	K	7	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	7 gün
HA	MM	RR	VA	E	8,5	var	var	var	var	Ayak bileği	var	yok	yok	yok	yok	yok	10 gün

**OST:** 1-2 hafta süreli günlük steroid tedavisi

**P:** Günaşırı 30 mg/kg/doz intravenöz metilprednisolon

**E:** Oral 2 mg/kg/gün oral endoksan tedavisi

**ACE inh:** ACE inhibitörü tedavisi

**Tablo 11.** Sağlıklı kontrol grubu verileri

Sıra No	İsim	PON 55 L/M	PON 192 Q/R	MnSOD A/V 16	cinsiyet	yas
1	ZNİ	LM	QQ	AA	K	3,5
2	BŞ	LL	QQ	VA	E	7,5
3	AÖ	LL	QR	VA	K	3
4	SP	LL	RR	VA	E	7
5	EU	LM	QR	VA	E	11
6	MSC	LL	RR	AA	K	11
7	BK	LM	QR	VA	K	8
8	İİK	LM	RR	AA	K	4
9	UA	LM	QR	AA	E	6,5
10	MA	LL	QR	AA	E	11
11	ÜHK	LL	RR	VA	K	10,5
12	AMK	LM	RR	AA	K	9
13	FD	LL	QR	VV	E	12,5
14	SEE	LL	QQ	VA	E	9,5
15	AE	LL	RR	VA	E	13
16	İK	LM	QR	VA	E	10,5
17	BY	LL	QQ	VA	E	3
18	ANC	LM	QR	AA	K	5
19	NP	LM	QR	VA	K	2,5
20	MK	LM	RR	AA	E	3,5
21	KÖ	LL	RR	VA	K	11,5
22	MMA	LM	RR	VA	E	13
23	HÖ	LL	RR	VA	E	4,5
24	MBB	LM	RR	VA	E	3
25	AA	LL	RR	VV	E	16,5
26	SA	LL	RR	AA	E	10
27	NK	LL	RR	VA	K	5
28	SK	LL	RR	VV	E	3
29	SS	LM	RR	VV	K	8
30	OM	LM	QR	VV	E	7,5
31	BNK	LM	RR	VV	K	11
32	MBB	LM	RR	VV	E	5,5
33	İFD	LM	RR	VV	E	7
34	FA	MM	RR	VV	K	7
35	SC	MM	QR	VV	K	8,5
36	SUK	MM	RR	AA	K	4,5
37	İY	MM	RR	VA	E	8
38	HS	MM	QR	VA	K	15
39	SS	LL	QR	AA	E	6
40	AND	LL	QR	AA	K	4
41	EU	LL	RR	VA	E	11
42	ATA	LL	RR	VA	E	9
43	YBÖ	LL	RR	AA	E	9,5
44	HS	MM	RR	VA	E	5
45	EK	LM	RR	AA	E	3
46	EB	LM	QR	VA	E	10,5
47	AS	LM	QR	VA	E	3,5
48	MAÖ	LL	QR	AA	E	5,5
49	DÇ	MM	QQ	VV	K	5,5
50	ZNA	LL	QR	VA	K	4
51	MDC	LL	QR	VA	K	10,5
52	GA	LL	RR	VA	K	4

53	ÖT	LL	RR	VV	K	14
54	MED	LL	RR	VV	E	2,5
55	GÇ	LL	RR	AA	K	3
56	DC	LL	RR	AA	K	9,5
57	SOT	MM	QQ	VA	E	13,5
58	YNE	LM	QR	VA	K	9
59	FNC	LM	QR	VV	K	6,5
60	YÖ	LM	QR	AA	E	6,5

## 5. TARTIŞMA

HSP, çocukluk çağında en sık görülen vaskülitir ve Ig A ile immün-aracılı reaksiyona sekonder olarak geliştiği bilinmektedir. HSP erkeklerde daha sık görülür (E/K: 1,4-1,7/1). Hastalık 2 yaşın altında nadirdir ve ortalama başlangıç yaşı 4-5 yaşdır. Böbrek tutulumu ise en sık 6-10 yaş arasında görülür (1,8). Bizim çalışma grubumuzun %38'i erkekti ve erkek/kız oranı 1/1,5 idi. Hasta grubumuzda literatürden farklı olarak hastalığın kız hastalarda sık görülmesinin nedenini tam olarak bilemiyoruz. Fakat olgu sayısının nispeten kısıtlı olması ve bölgesel farklılıkların bu sonuca yol açabileceğini düşünmekteyiz. Denizli'de 45 HSP'li hastada yapılan çalışmada benzer şekilde erkek/kız;1/1,5 bulunmuştur (145). Bu bulgu, bölgemizde HSP'nin kız hastalarda fazla görülmesi sonucunu desteklemektedir. Çalışmamızda hastalığın başlangıç yaşı ortalama 7,21±3,20 yıl (3-15) olup kaynaklarla uyumlu bulunmuştur (1,3,8).

HSP cilt, GİS, eklem ve böbrek gibi birçok sistemi tutan bir hastalıktır. Makulopapüler purpura şeklindeki cilt döküntüsü hastaların tümünde, eklem tutulumu % 85'inde, GİS tutulumu %50-75'inde ve böbrek tutulumu %20-60'inde, görülür. Nadiren serebral tutulum, pulmoner kanama, pankreatit, adrenal kanama ve testis tutulumu gözlenir (1,3,7,8). Bizim hastalarımızın tümünde (%100) cilt, eklem tutulumu ve yumuşak doku şişliği, 57'sinde (%81,4) GİS tutulumu, 6'sında (%8,6) böbrek tutulumu, 3'ünde (% 4,3) hipertansiyon ve 2'sinde (% 2,9) testis tutulumu saptanmıştır. GİS tutulumu olanların %21'inde ise GGK pozitifliği saptanmıştır. Eklem tutulumunda en sık ayak bileği etkilenmiştir. Çalışma grubumuzdaki cilt ve GİS tutulumu dağılımları kaynaklarla uyumlu bulunmuştur (1,3,18). Bulgularımızda renal tutulumun az olmasının nedeni, vaka sayısının az olmasına ve renal tutulum kriterlerinin, çoğu çalışmada değişken olmasına bağlanmıştır. HSP, sonbahar ve ilkbahar döneminde daha sık görülür. Bizim çalışmamızda eylül, ekim, kasım ve nisan aylarında hastalık daha sık saptanmış olup kaynaklarla uyumlu bulunmuştur (1,8,18).

HSP tüm vücutta damarları tutan, glomerül damar yumağında skleroza yol açan bir hastalıktır ve HSP'nin patogeneğinde oksidatif hasar ve lipid peroksidasyonunun rolü olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (2,11,62-65,67). Bu



çalışmada amaçlarımızdan biri oksidatif stresin HSP patogenezindeki yerini belirlemek diğeri ise antioksidan enzimlerden olan PON ve MnSOD enzimini kodlayan gen polimorfizmlerinin, HSP ile ilişkisini araştırmaktır. Çalışmamızda oksidatif stres belirteçlerine bakıldığında; HSP'nin aktif döneminde PON aktivitesi ve TAK, iyileşme dönemi ve kontrol grubuna kıyasla düşük, yine aktif dönemde MDA seviyesi ise, iyileşme dönemi ve kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu bulgular hastalığın aktif döneminde otoenflamatuvar bir sürecin başladığı, bu süreçte de oksidatif stresin katkıda bulunduğunu göstermektedir. HSP ile oksidatif stres ilişkisini gösteren çok sayıda çalışma vardır. Örneğin; Demircin ve ark (62) yaptıkları çalışmada HSP'li hastalarda lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyini sağlıklı çocuklardan oluşan kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Aynı çalışmada oksidatif stres ve özellikle lipid peroksidasyonunun HSP patogenezinde ve böbrek hasarı gelişiminde önemli bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Ece ve ark.'nın (2), HSP'li hastalarda yaptığı çalışmada ise kontrol grubuna göre aktif dönemde MDA seviyesini yüksek, TAK, ARYL ve CAT aktivitesini düşük bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonucunda HSP patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir. Ece ve arkadaşlarının (67) yaptığı başka bir çalışmada aktif dönem HSP hastalarında kontrol grubuna göre MPO aktivitesi, CLP ve TOS seviyeleri yüksek, serum ARYL aktivitesi ve serbest thiol değerleri düşük bulunmuştur. Bu yazarlar protein oksidasyonu ve nötrofil aktivasyonunun HSP patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini belirtmişlerdir.

Bizim çalışmamızda yukarıdaki çalışmalara uygun olarak aktif dönemde MDA seviyesinin hem iyileşme dönemine hemde kontrol grubuna göre yüksek saptanması oksidatif hasar oluşup lipid peroksidasyonunun gerçekleştiğinin bir göstergesidir. Yine aktif dönemde PON aktivitesi ve TAK'ın iyileşme dönemi ve kontrol grubuna göre düşük saptanması artmış oksidatif stresin HSP'nin hastalık sürecinde rol aldığını ve bu enzimlerin azalmasının ROT'un zararlı etkilerinden korunmak için bir kompensasyon mekanizması olduğunu göstermektedir. Ayrıca iyileşme dönemindeki PON aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük olması oksidatif hasarın iyileşme döneminde bile devam ettiğinin bir göstergesidir. Bizim çalışmamızla uyumlu olan literatürde çok sayıda çalışma mevcuttur. Erdoğan ve ark. (63), HSP'li hastalarda yaptıkları çalışmada SOD, GSH-Px aktiviteleri ve MDA

düzeıı öölçülmüştür. SOD, GSH-Px aktiviteleri hastalığın aktif ve iyileşme döneminde düşük, MDA düzeıı ise yüksek bulunmuştur. Yazarlar çalışmalarında oksidatif hasar ve lipit peroksidasyonunun HSP patogeneğinde önemli bir rol oynadığını savunmuşlardır. Buyan ve ark. (64), HSP'li çocuklarda yaptıkları bir çalışmada ise plazma araşidonik asit metabolitlerinin vasküler inflamasyonda önemli rol oynadığını savunmuşlardır. Aynı merkezde yapılan başka bir çalışmada da oksidatif stres ve siklooksijenaz (CO) yolu ürünlerinin HSP patogeneğinde rol oynayabileceği savunulmuştur (65).

Çalışmamızda HSP hastalarında, oksidatif hasar yanında renal tübüler etkilenmeyi değerlendirmek için biyokimyasal belirteçlerden idrarda NAG ve TRP bakılmıştır. NAG, böbrekte proksimal tübüler hücrelerde bulunur. Bu enzimin idrarda yüksek saptanması; DM, hipertansiyon, nefrotik sendrom, vezikoureteral reflü, SLE gibi hastalıklarda renal hasarın göstergesi olabilir (141,142,146). Çalışmamızda idrarda NAG düzeıı, hastalığın aktif döneminde kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Yine aktif dönemde bakılan TRP oranı ise iyileşme dönemine göre düşük bulunmuştur. Bu bulgular bize aktif dönemde renal tutulum olmamasına rağmen tübüler etkilenmenin mümkün olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan birçok çalışmada renal tübüler hasarın en hassas göstergesi olarak NAG gösterilmektedir. AAA ve taş hastalarında yapılan çalışmalarda, NAG'ın böbrek fonksiyonlarının izlenmesinde kullanılabilir basit, ucuz ve kolay bir parametre olması nedeniyle rutin olarak kullanılabilir önerilmiştir (141,142,146-148). Bizim çalışmamızda HSP'li hastalarda aktif dönemde idrar NAG ve TRP'nin değişiklik göstermesi, HSP'nin proksimal tübül zedelenmesi yapabildiğini düşündürmektedir. Hasar oluşum mekanizmasında birçok faktörün yanında oksidatif hasarın rolü olabileceğini düşünmekteyiz. Yapılan bir çalışmada da oksidatif hasarın renal tübüler etkilenmeye yol açabileceği gösterilmiştir (149).

HDL kolesterol ile ilişkili, LDL kolesterolü serbest radikallerin indüklediği oksidasyona karşı koruma özelliği olan PON aktivitesinin yanı sıra çalışmamızda biyokimyasal belirteçlerden LDL kolesterol düzeyine de bakılmıştır. Aktif dönemde LDL kolesterol düzeıı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. LDL'nin yüksek paraoksonaz aktivitesinin düşük olması lipid peroksidasyonundan korunmak için endojen antioksidanların kullanıldığını göstermektedir. Yapılan bir çalışmada,

KBY'li hastalarda okside LDL düzeyi ve PON1 aktivitesi değerlendirilmiş ve hasta grubunda kontrol grubuna göre okside LDL düzeyinin yüksek, PON1 aktivitesinin ise düşük olduğu, ancak KBY'li hastalar içinde hemodiyalize (HD) giren ve girmeyenler arasında fark olmadığı saptanmıştır. Bu bulgu KBY'li hastalarda koruyucu antioksidan kapasitenin azaldığı şeklinde yorumlanmıştır (95). Bizim çalışmamızda yukarıdaki çalışmayla uyumlu olarak LDL düzeyinin yüksek, PON1 aktivitesinin düşük olması, HSP'li hastalarda aktif dönemde oksidatif stresin varlığını göstermektedir.

Çalışmamızın son bölümünde PON1 enzimine ait PON1 Q/R192, L/M 55 ve MnSOD enzimine ait MnSOD A16V gen polimorfizmleri ile HSP arasındaki ilişkiyi araştırdık. Otoenflamatuvar, renal ve vasküler hastalıklar ile PON1 Q/R192 ve PON1 L/M55 genotiplerinin ilişkisini araştıran birçok çalışma yapılmıştır (3,99,108). Vasküler hastalıklardan en sık ateroskleroz araştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada 436 genç erişkinde doppler USG ile karotis İMK ölçülmüş ve sigara içmeyen kadınlar arasında R alleli taşıyanlarda karotis İMK'sı daha düşük bulunmuştur (108). Q alleli ile karotis aterosklerozu gelişme riskinin ilişkili olabileceği belirtilmiştir (108). Çocukluk çağıının önemli primer glomerüler hastalıklarından olan MPGN'li hastalarda yapılan bir çalışmada QQ genotipi kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş ve QQ genotipinin MPGN gelişme riski ve kötü prognoz ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (99). HSP ile PON1 gen polimorfizmi arasında ilişkiyi araştıran literatürde tek çalışma vardır. Yılmaz ve ark. (3), çalışmasında HSP li çocuklarda PON1 Q/R192 ve L/M 55 gen polimorfizmlerinin hastalığın klinik seyrine, prognozuna ve nefrit gelişimine etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda da HSP'li hastalarda QQ genotipi yüksek bulunmuştur. QQ genotipinin HSP gelişme riski ile ilişkili olduğu fakat nefrit gelişimi ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda hasta grubunda QQ genotipi sıklığı kontrol grubuna göre yüksek olsada bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Allel dağılımına bakıldığında ise, Q allel taşıyıcılığı hasta grubunda kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,04$ ). Aynı zamanda Q allelinin hastalık gelişme riskini 1.68 kat artırdığı saptanmıştır. Sonuçlarımız PON1 Q/R192 polimorfizminde Q allelinin HSP gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bizim bulgularımızı destekleyen başka çalışmalarda mevcuttur.

Fransa’da Tip 2 DM’li hastalarda PON Q/R 192 gen polimorfizmlerinin araştırıldığı bir çalışmada hasta grubunda Q alleli kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Q allelinin Tip 2 DM gelişme riskini artırdığı belirtilmiştir (118). Ratlarda yapılan bir çalışmada ise heymann nefritinde BB genotipinin, renal hasarı önleyici etkisi olduğu savunulmuştur (101).

Bizim bulgularımızla farklılık gösteren çalışmalar da mevcuttur. Türkiye’de DM’li hastalarda yapılan bir çalışmada PON1 Q/R192 genotip dağılımı açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmamıştır (119). FSGS ile PON1 Q/R192 gen polimorfizmi arasında ilişkiyi araştıran Arap ve İsrail kökenli çocuklarda yapılan bir çalışmada hasta ve kontrol grubu arasında PON1 Q/R192 genotipleri açısından fark saptanmamıştır (98). FSGS’li çocuk hastalarla yapılan farklı bir çalışmada B allelinin FSGS gelişiminde bir risk faktörü olabileceği vurgulanmıştır (100). Strok ile PON1 Q/R192 polimorfizmi arasında ilişki saptanmadığını bildiren çalışmaların (114), yanısıra Brezilya’da yapılan bir çalışmada PON1 Q/R192 RR genotipinin genç erişkinlerde arteriyel iskemik strok riskini dört kez artırdığı sonucuna varılmıştır (115). Romatoid artritli hastalarda yapılan çalışmada PON1 Q/R192 Q allelinin sağlıklı kontrol grubuna göre daha az sıklıkta saptandığı bildirilmiştir (105). Pola ve ark.’nın (122), İtalya’da yaptıkları çalışmada Alzheimer hastalığı ile PON1 Q/R192 polimorfizmi arasında ilişki saptanmamıştır (122).

Yaptığımız çalışmada en dikkat çekici sonuçları; PON1 L/M55 gen polimorfizminden elde ettik. Çalışmamızda L/M 55 gen dağılımına bakıldığında hasta grubunda MM genotipi sıklığı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Allel dağılımına bakıldığında da M allel taşıyıcılığı hasta grubunda daha yüksektir ve M allelinin hastalık gelişme riskini 2,2 kat artırdığı saptanmıştır. Bu bulgularla MM genotipinin HSP gelişiminde risk faktörü olabileceği söylenebilir. PON1 L/M55 genotipi ile serebrovasküler olay (SVO), ateroskleroz, malignite ve renal hastalıklar arasında ilişkiyi araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Bazı yayınlarda PON1 L/M55 genotipleriyle ateroskleroz arasında ilişki saptanmadığı bildirilmiştir (113). Strok ile PON1 L/M55 genotipleri arasında ilişki bulunmadığını bildiren yayınların (114) yanısıra Japonya’da yapılan bir çalışmada serebral infarktli hastalarda M alleli kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır. M allelinin SVO gelişme riski ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (84). Brezilya’da yapılan bir çalışmada ise

anjiografiyle KKH saptanmış olan hastalarda kontrol grubuna göre M allel sıklığı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (112). İran’ da romatoid artritli hastalarda yapılan çalışmada M alleli kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır. M allelinin romatoid artrit için risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır (150). Bizim sonuçlarımız yukarıdaki çalışmalarla uyumlu olup PON1 L/M 55 polimorfizminde MM genotipi ve M allelinin HSP gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Bununla birlikte bizim bulgularımızla farklılık gösteren çalışmalarda mevcuttur. Özellikle HSP’li hastalarda yapılan çalışmada MM genotipinin HSP gelişiminde koruyucu rol oynayabileceğini ancak nefrit gelişimiyle veya nefritli hastaların böbrek biyopsi bulguları ve son durumlarıyla PON1 L/M55 genotiplerinin ilişkisinin olmadığını göstermişlerdir (3). Tip2 DM ile PON1 L/M55 genotipleri arasında ilişki bulunmadığı bildiren yayınlar mevcuttur (87,118). Bazı çalışmalarda ise L allelinin ateroskleroz için risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır (109,111). Yapılan başka bir çalışmada HD tedavisi gören KBY’li hastalarla kontrol grubu PON1 L/M55 genotipleri açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında fark saptanmamıştır (97). FSGS’li Arap ve İsrail kökenli çocuklarda yapılan bir çalışmada hasta ve kontrol grubu arasında PON1 L/M55 LL genotipinin Arap kökenli hastalarda Yahudi kökenli hastalara ve Arap kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla olduğu bildirilmiştir ve LL genotipinin Arap çocuklarda FSGS gelişimiyle, belki de kötü prognozla ilişkili olabileceği yorumu yapılmıştır (98). FSGS’li çocuk hastalarla yapılan çalışmada L allelinin FSGS gelişiminde bir risk faktörü olabileceği vurgulanmıştır (100).

Çalışmamızda en son HSP’li hastalarda MnSOD A16V gen polimorfizmini değerlendirdik. MnSOD A16V gen polimorfizmi ile çeşitli hastalıkların patogenezi ilişkilendirilmiştir. MnSOD Val allelinin diyabetli hastalarda oksidatif stresi önleyemediği ve nefropati gelişimine katkı sağladığı öne sürülmüştür (131,132). 2009 yılında Çin’de tip 2 DM’li hastalarda AA ve AV genotiplerinin diyabetik nefropati gelişimine karşı koruyucu olabileceğini öne sürmüşlerdir (133). Polonya’da yapılan çalışmada SLE hastalarında MnSOD VV genotipinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (135). Aksini iddia eden çalışmalar da yapılmıştır. Kanser ile MnSOD A16V gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda; AA

genotipinin kanser riskini artırdığı sonucu çıkarılmıştır (137-140). Bizim çalışmamızda hasta grubunda AA genotipi kontrol grubuna göre daha yüksek olsada bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu bulgular HSP ile MnSOD gen polimorfizmi arasında bir ilişki olmadığını düşündürmektedir. Literatürde HSP ile MnSOD gen polimorfizmi ilişkisini araştıran hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak kesin yorumunu yapabilmek için farklı çalışmalarla daha büyük HSP'li hasta gruplarında MnSOD gen polimorfizmini değerlendirmenin doğru olacağını kanımsındayız.

## SONUÇ

Çalışmamızda HSP ile oksidatif stres arasında kesin bir ilişki saptanmıştır. Hastalığın aktif döneminde PON aktivitesi ve TAK düzeyinin iyileşme dönemi ve kontrol grubuna göre düşük saptanması, oksidatif stresin HSP'nin hastalık sürecinde rol aldığını ve bu enzimlerin ROT'un zararlı etkilerinden korunmak için kullanıldığını düşündürmektedir. Aktif dönemde MDA seviyesinin hem iyileşme dönemine hemde kontrol grubuna göre yüksek saptanması, lipid peroksidasyonunun HSP patogenezinde yer aldığı düşüncesini desteklemektedir.

Antioksidan enzimler olan PON1 ve MnSOD'u kodlayan genlerde görülen polimorfizmlere bakıldığında; PON1 Q/R 192 polimorfizminde, Q allelinin HSP gelişiminde risk faktörü olduğu ve HSP gelişme riskini 1,6 kat artırdığı gözlenmiştir. Çalışmamızda gen polimorfizmi dağılımında en dikkat çekici sonuç PON1 L/M 55 polimorfizminden elde edilmiştir. MM genotipinin HSP gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğu ve M allelinin hastalık gelişme riskini 2,3 kat artırdığı saptanmıştır. MnSOD A16V gen polimorfizmine bakıldığında ise HSP ile arasında kesin bir ilişki saptanmamıştır. HSP'li çocuklarda MnSOD A16V polimorfizmine yönelik literatürde çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılacak daha geniş ve kapsamlı çalışmalarla bulgularımızın karşılaştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

## ÖZET

### **Henoch Schönlein Purpuralı Çocuklarda Oksidatif Stres Durumu ile MnSOD ve PON1 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması**

Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun, Henoch Schönlein Purpurası (HSP) patogenezindeki rolü birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada oksidatif stresin HSP patogenezindeki rolünü belirlemek ayrıca antioksidan enzimlerden olan paraoksonaz (PON1) ve mangan süperoksit dismutaz (MnSOD)'a ait gen polimorfizmlerinin HSP ile ilişkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışmaya 70 HSP'li hasta (27 erkek, 43 kız) ve 60 sağlıklı çocuk alınmıştır. 70 HSP'li hastanın 16'sında, hastalığın aktif ve iyileşme döneminde oksidatif stres ve biyokimyasal belirteçlere bakılmış, kontrol grubundan 14 sağlıklı çocuğun verileri ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın son bölümünde her iki grubun PON1 Q/R192, L/M55 ve MnSOD A16V gen polimorfizmlerine değerlendirilmiştir.

İdrarda n-asetil-β-D-glukozaminidaz (NAG) düzeyi aktif dönemde olan hastalarda, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Hastalığın aktif döneminde bulunan hastalarda bakılan tübüler fosfor reabsorpsiyonu (TPR) oranı iyileşme döneminde olan hastalara göre düşük bulunmuştur. Bu bulgular, HSP'nin aktif döneminde proksimal tübüler hasarın varlığını ortaya koymaktadır. Oksidatif stres belirteçlerine bakıldığında; hastalığın aktif döneminde malondialdehit (MDA) düzeyleri artmış, PON aktivitesi ve total antioksidan kapasite azalmıştır. Bu bulgular, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun HSP patogenezinde rolü olduğunu desteklemektedir.

PON1 Q/R192 genotiplerinin dağılımı değerlendirildiğinde, HSP grubunda QQ genotipi sıklığı kontrol grubuna göre daha yüksek olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Allel dağılımında hasta grubunda Q allel sıklığı, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Bu bulgu, Q allelinin HSP gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. PON1 L/M55 genotiplerinin dağılımına bakıldığında, HSP grubunda MM genotip sıklığının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Allel dağılımında hasta grubunda M allel sıklığı, kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır. Bu bulgu M allelinin, HSP gelişiminde bir risk faktörü olduğu söylenebilir. MnSOD A16V genotiplerinin dağılımına bakıldığında ise HSP grubunda AA genotip sıklığı kontrol grubuna göre yüksek olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0,05$ ).

Sonuç olarak, bizim bulgularımız oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun HSP patogenezinde rolü olduğunu, PON1 ile ilişkili PON1 Q/R192 ve PON1 L/M55 polimorfizmlerinin HSP gelişme riski ile ilişkili olduğu ancak MnSOD A16V polimorfizmi ile HSP gelişme riski arasında kesin bir ilişki olmadığını düşündürmektedir. Yapılacak daha geniş ve kapsamlı çalışmalarla bulgularımızın karşılaştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Gen polimorfizm, HSP, MnSOD, PON



## SUMMARY

### **Investigation of Oxidative Stress Status and Gene Polymorphisms of MnSOD and PON1 in children with Henoch-Schonlein Purpura**

The role of oxidative stress and lipid peroxidation in Henoch Schönlein Purpura (HSP) pathogenesis is shown by many researches. In this study, we aimed to state the role of oxidative stress in the pathogenesis of HSP, also to investigate the relation between gene polymorphisms of the antioxidant enzymes PON1 and MnSOD with HSP.

Seventy patients with HSP (27 male, 43 female) and 64 healthy children as control group were enrolled in this study. Sixteen of 70 patients with HSP, oxidative stress and biochemical markers in active and remission periods of disease were evaluated and compared with the results of 14 healthy children from control group. At last part of the study, PON1 Q/R192, L/M55 and MnSOD A16V gene polymorphisms of both groups were evaluated.

Urine n-asetil- $\beta$ -D-glukozaminidase (NAG) levels were higher in patients with active period of the disease than control group. Tubular phosphorus reabsorption (TPR) ratio which is evaluated in patients within active period of the disease, was lower than patients within remission period of the disease. This findings affirmed the presence of proximal tubular injury during the active period of HSP.

When considering oxidative stress markers; malondialdehyde (MDA) levels in active period of the disease increased, PON activity and total antioxsidation capacity (TAC) levels decreased. These findings support the presence of the role of oxidative stress and lipid peroxidation in HSP pathogenesis.

When we assessed distribution of PON1 Q/R192 genotypes, although QQ genotype frequency was higher in HSP group than control group, this difference was not statistically significant. In allele distribution, Q allele frequency was higher in patient group than control group ( $p < 0,05$ ). This finding suggests possible role of Q allele in developing of HSP.

In view of PON1 L/M55 genotype distribution, MM genotype frequency was higher in HSP group than control group ( $p < 0,05$ ). In allele distribution of patient group, M allele frequency was higher than control group. Through this finding, it might be said that, M allel may be a risk factor for developing of HSP. In view of MnSOD A16V genotype distribution, AA genotype frequency higher in HSP group than control group but this difference was not statistically significant( $p > 0,05$ ).

In conclusion, our findings indicate the current role of oxidative stress and lipid peroxidation in HSP pathogenesis, PON1 Q/R192 and PON1 L/M55 polimorphisms related with PON1 might have relation with the risk of HSP development whereas the relation between MnSOD A16V polimorphisms with the risk of developing HSP is not definite. We think that further larger and comprehensive studies are needed to compare the findings of our study.

**Key Words:** Gene polymorphism, HSP, MnSOD, PON

## KAYNAKLAR

1. Reamy BV, Williams PM, Lindsay TJ. Henoch-Schönlein purpura. *Am Fam Physician*. 2009 Oct 1; 80(7):697-704
2. Ece A, Kelekçi S, Kocamaz H, Hekimoğlu A, Balik H, Yolbaş I, Erel O. Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and total antioxidant status in children with Henoch-Schönlein purpura. *Clin Rheumatol*. 2008 Feb; 27(2):163-9
3. Yilmaz A, Emre S, Agachan B, Bilge I, Yilmaz H, Ergen A, Isbir T, Sirin A. Effect of paraoxonase 1 gene polymorphisms on clinical course of Henoch-Schönlein purpura. *J Nephrol*. 2009 Nov-Dec; 22(6):726-32
4. Miao L, St Clair DK. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radic Biol Med*. 2009 Aug 15; 47(4):344-56
5. Tarvin ST, Ballinger S. Henoch-Schönlein purpura. *Current Pediatrics*. 2006; 16:259-63
6. Henoch EH. Über ein eigenthe Form von Purpura. *Berl Klin Wochenschr*. 1974; 11: 641-3
7. Scheinfeld N, 2010. İnternet sitesi. <http://emedicine.medscape.com/article/984105-overview>. Erişim Tarihi: 06.06.2011.
8. Rosanna Coppo, Alessandro Amore Henoch-Schönlein purpura. *Pediatric Nephrology* 2009 (6th);1111-26
9. G. Smith Management of Henoch-Schönlein purpura. *Paediatrics and Child Health*. August 2008, 18(8); 358-363
10. Sohagia AB, Gunturu SG, Tong TR, Hertan HI. Henoch-schonlein purpura-a case report and review of the literature. *Gastroenterol Res Pract*. 2010:597-648
11. Soylemezoglu O, Ozkaya O, Erbas D, Akkok N, Buyan N, Hasanoglu E. Nitric oxide in Henoch-Schonlein purpura. *Scand J Rheumatol*. 2002; 31(5):271-4
12. Amoli MM, Thomson W, Hajeer AH, Calviño MC, Garcia-Porrúa C, Ollier WE, Gonzalez-Gay MA. Interleukin 8 gene polymorphism is associated with increased risk of nephritis in cutaneous vasculitis. *J Rheumatol*. 2002 Nov; 29(11):2367-70
13. Eleftheriou D, Brogan PA. Vasculitis in children. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2009 Jun; 23(3):309-23
14. Yang YH, Chuang YH, Wang LC, Huang HY, Gershwin ME, Chiang BL. The immunobiology of Henoch-Schönlein purpura. *Autoimmun Rev*. 2008 Jan; 7(3):179-84
15. Amoli MM, Calviño MC, Garcia-Porrúa C, Llorca J, Ollier WE, Gonzalez-Gay MA. Interleukin 1beta gene polymorphism association with severe renal manifestations and renal sequelae in Henoch-Schönlein purpura. *J Rheumatol*. 2004 Feb; 31(2):295-8
16. Tabel Y, Mir S, Berdeli A. Interleukin 8 gene 2767 A/G polymorphism is associated with increased risk of nephritis in children with Henoch-Schönlein purpura. *Rheumatol Int*. 2011 Jan 15; 4
17. Amoli MM, Thomson W, Hajeer AH, Calviño MC, Garcia-Porrúa C, Ollier WE, Gonzalez-Gay MA. Interleukin 1 receptor antagonist gene polymorphism is associated with severe renal involvement and renal sequelae in Henoch-Schönlein purpura. *J Rheumatol*. 2002 Jul; 29(7):1404-7

18. Miller ML and Pachman LM. Vasculitis syndromes. Chapter 166: Nelson Textbook of Pediatrics 18th. 2008;1042-48
19. Ebert EC. Gastrointestinal manifestations of Henoch-Schonlein Purpura. *Dig Dis Sci.* 2008 Aug; 53(8):2011-9
20. Chen SY, Kong MS. Gastrointestinal manifestations and complications of Henoch-Schönlein purpura. *Chang Gung Med J.* 2004 Mar; 27(3):175-81
21. Soyer T, Egritas O, Atmaca E, Akman H, Oztürk H, Tezic T. Acute pancreatitis: a rare presenting feature of Henoch Schonlein purpura. *J Paediatr Child Health.* 2008 Mar; 44(3):152-3
22. Acar B, Arikan FI, Alioglu B, Oner N, Dallar Y. Successful treatment of gastrointestinal involvement in Henoch-Schönlein purpura with plasmapheresis. *Pediatr Nephrol.* 2008 Nov; 23(11):2103
23. Roberts PF, Waller TA, Brinker TM, Riffe IZ, Sayre JW, Bratton RL. Henoch-Schönlein purpura: a review article. *South Med J.* 2007 Aug; 100(8):821-4
24. Bak M, Cebe A, Serdaroğlu E. Henoch-Schönlein Vaskülitinde Böbrek Tutulumu ve Tedavisi. *Türkiye Klinikleri J.pediatr.* 2006; 15:12-25
25. Hamdan JM, Barqawi MA. Henoch-Schonlein purpura in children. Influence of age on the incidence of nephritis and arthritis. *Saudi Med J.* 2008 Apr; 29(4): 549-52
26. Narchi H. Risk of long term renal impairment and duration of follow up recommended for Henoch-Schonlein purpura with normal or minimal urinary findings: a systematic review. *Arch Dis Child.* 2005 Sep; 90(9):916-20
27. Davin JC, Weening JJ. Henoch-Schönlein purpura nephritis: an update. *Eur J Pediatr.* 2001 Dec; 160(12):689-95
28. Lau KK, Suzuki H, Novak J, Wyatt RJ. Pathogenesis of Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Pediatr Nephrol.* 2010 Jan; 25(1):19-26
29. Coppo R, Mazzucco G, Cagnoli L, Lupo A, Schena FP. Long-term prognosis of Henoch-Schönlein nephritis in adults and children. Italian Group of Renal Immunopathology Collaborative Study on Henoch-Schönlein purpura. *Nephrol Dial Transplant.* 1997 Nov; 12(11):2277-83
30. Saulsbury FT. Clinical update: Henoch-Schönlein Purpura. *Lancet* 2007 Mar 24; 369(9566):976-8
31. Meadow SR, Glasgow EF, White RH, Moncrieff MW, Cameron JS, Ogg CS. Schönlein-Henoch nephritis. *Q J Med.* 1972 Jul; 41(163):241-58
32. Rieu P, Noël LH. Henoch-Schönlein nephritis in children and adults. Morphological features and clinicopathological correlations. *Ann Med Interne(Paris).* 1999 Feb; 150(2):151-9
33. Trapani S, Micheli A, Grisolia F, Resti M, Chiappini E, Falcini F, De Martino M. Henoch Schonlein purpura in childhood: epidemiological and clinical analysis of 150 cases over a 5-year period and review of literature. *Semin Arthritis Rheum.* 2005 Dec; 35(3):143-53
34. McCarthy HJ, Tizard EJ. Clinical practice: Diagnosis and management of Henoch-Schönlein purpura. *Eur J Pediatr.* 2010 Jun; 169(6):643-50
35. Yilmaz D, Kavakli K, Ozkayin N. The elevated markers of hypercoagulability in children with Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Hematol Oncol.* 2005 Jan-Feb; 22(1):41-8

36. Coppo R, Andrulli S, Amore A, et al. Predictors of outcome in Henoch-Schonlein nephritis in children and adults. *Am J Kidney Dis.* 2006; 47(6):993-1003
37. Prenzel F, Pfäffle R, Thiele F, Schuster V. Decreased factor XIII activity during severe Henoch Schoenlein purpura -- does it play a role? *Klin Padiatr.* 2006 May-Jun; 218(3):174-6
38. Shin JI, Lee JS. Could measurement of factor XIII level detect the vasculitic process of Henoch-Schönlein purpura without skin rash? *Acta Paediatr.* 2008 Apr; 97(4):395
39. Peru H, Soylemezoglu O, Bakkaloglu SA, Elmas S, Bozkaya D, Elmaci AM, Kara F, Buyan N, Hasanoglu E. Henoch Schonlein purpura in childhood: clinical analysis of 254 cases over a 3-year period. *Clin Rheumatol.* 2008 Sep; 27(9):1087-92
40. Shin JI, Park JM, Shin YH, Kim JH, Lee JS, Jeong HJ. Henoch-Schönlein purpura nephritis with nephrotic-range proteinuria: histological regression possibly associated with cyclosporin A and steroid treatment. *Scand J Rheumatol.* 2005 Sep-Oct; 34(5):392-5
41. Saulsbury FT. Successful treatment of prolonged Henoch-Schönlein purpura with colchicine. *Clin Pediatr (Phila).* 2009 Oct; 48(8):866-8
42. Shin JI, Lee JS. Severe gastrointestinal vasculitis in Henoch-Schoenlein purpura: pathophysiologic mechanisms, the diagnostic value of factor XIII, and therapeutic options. *Eur J Pediatr.* 2007 Nov; 166(11):1199-200
43. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr.* 1993 May; 57(5 Suppl):715-24
44. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. *Mayo Clin Proc.* 1988; 63:381-89
45. Young SG, Parthasarathy S. Why are low density lipoproteins atherogenic. *West J Med.* 1994; 160:153-64
46. Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıkgöz. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology* 2002; 202:227-35
47. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation(malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem.* 1966 Aug; 16(2):359-64
48. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982 Nov; 47(5):412-26
49. Nowak P, Olas B, Wachowicz B. Oxidative stress in haemostasis. *Postepy Biochem.* 2010; 56(3):239-47
50. Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland 1996;3-7
51. Isbir T. Antioksidan Sistemler. Endotel. İzmir Tabib Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu. 1994;92-98
52. Pácal L, Varvařovská J, Ruřavý Z, Lacigová S, Stětina R, Racek J, Pomahačová R, Tanhäuserová V, Kaňková K. Parameters of oxidative stress, DNA damage and DNA repair in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Arch Physiol Biochem.* 2011 Feb; 22
53. Romano AD, Serviddio G, de Matthaëis A, Bellanti F, Vendemiale G. Oxidative stress and aging. *J Nephrol.* 2010 Sep-Oct; 23 Suppl 15:29-36

54. Spallholz JE. Selenium and glutathione peroxidase: Essential nutrient and antioxidant component of the immun system. *Adv Exp Med Biol.* 1990; 262:145-158
55. Senti M., Tomas M., Elosua R, Marrugat J. Interrelationship of serum paraoxonase activity and paraoxonase genetic variants on atherosclerosis risk. *Contributions to science.* 2000; 1(3):323-29
56. Lee HS, Kim YS. Identification of oxidized low density lipoprotein in human renal biopsies. *Kidney Int.* 1998 Sep; 54(3):848-56
57. Túri S, Németh I, Torkos A, Sághy L, Varga I, Matkovics B, Nagy J. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Radic Biol Med.* 1997; 22(1-2):161-8
58. Das UN, Kumar KV, Prabha PS, Murthy BV, Neela P. Oxy-radicals, lipid peroxides and essential fatty acids in patients with glomerular disorders. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1993 Aug; 49(2):603-7
59. Pavlova EL, Lilova MI, Savov VM. Oxidative stress in children with kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2005 Nov; 20(11):1599-604
60. Zhou JF, Chen JX, Shen HC, Cai D. Abnormal reactions of free radicals and oxidative damages in the bodies of patients with chronic glomerulonephritis. *Biomed Environ Sci.* 2002 Sep; 15(3):233-44
61. Devasena T, Lalitha S, Padma K. Lipid peroxidation, osmotic fragility and antioxidant status in children with acute post-streptococcal glomerulonephritis. *Clin Chim Acta.* 2001 Jun; 308(1-2):155-61
62. Demircin G, Oner A, Unver Y, Bulbul M, Erdogan O. Erythrocyte superoxide dismutase activity and plasma malondialdehyde levels in children with Henoch Schonlein purpura. *Acta Paediatr.* 1998 Aug; 87(8):848-52
63. Erdogan O, Oner A, Aydin A, Isimer A, Demircin G, Bulbul M. Effect of vitamin E treatment on the oxidative damage occurring in Henoch-Schonlein purpura. *Acta Paediatr.* 2003 May; 92(5):546-50
64. Buyan N, Hasanoglu E, Oguz A, Ercan S. The role of plasma arachidonic acid metabolites in the pathogenesis and the prognosis of Henoch-Schonlein purpura. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1994 Jun; 50(6):353-6
65. Buyan N, Erbas D, Akkok N, Oz E, Biberoglu G, Hasanoglu E. Role of free oxygen radicals and prostanoids in the pathogenesis of Henoch-Schonlein Purpura. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1998 Sep; 59(3):181-4
66. Tian J, Chen JH, Li Q, He Q, Lin WQ. Lipid peroxidation in IgA nephropathy and the effect of lipo-prostaglandin E1. *J Nephrol.* 2005 May-Jun; 18(3):243-8
67. Ece A, Kelekçi S, Hekimoğlu A, Kocamaz H, Balik H, Yolbaş I, Erel O. Neutrophil activation, protein oxidation and ceruloplasmin levels in children with Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Nephrol.* 2007 Aug; 22(8):1151-7
68. Ekmekçi ÖB, Donma O, Ekmekçi H. Paraoksonaz. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.* 2004; 35:78-82
69. Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med.* 2005 Jan 15; 38(2):153-63
70. Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci (Lond).* 2004 Nov; 107(5):435-47

71. Costa LG, Cole TB, Jarvik GP, Furlong CE. Functional genomic of the paraoxonase (PON1) polymorphisms: effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease, and drug metabolism. *Annu Rev Med.* 2003; 54:371-92
72. Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *J Mol Med.* 2003 Dec; 81(12):766-79
73. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN. Paraoxonase and coronary heart disease. *Atheroscler Suppl.* 2002 Dec; 3(4):49-55
74. Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, Castellani LW, Furlong CE, Costa LG, Fogelman AM, Lusis AJ. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature.* 1998 Jul 16; 394(6690):284-7
75. Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, Castellani LW, Lusis AJ, Shih DM. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation.* 2002 Jul 23; 106(4):484-90
76. Oda MN, Bielicki JK, Ho TT, Berger T, Rubin EM, Forte TM. Paraoxonase 1 overexpression in mice and its effect on high-density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002 Jan 25; 290(3):921-77
77. Cole TB, Jampsa RL, Walter BJ, Arndt TL, Richter RJ, Shih DM, Tward A, Lusis AJ, Jack RM, Costa LG, Furlong CE. Expression of human paraoxonase (PON1) during development. *Pharmacogenetics.* 2003 Jun; 13(6):357-64
78. Kleemola P, Freese R, Jauhiainen M, Pahlman R, Alfthan G, Mutanen M. Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. *Atherosclerosis.* 2002 Feb; 160(2):425-32
79. Paragh G, Törocsik D, Seres I, Harangi M, Illyés L, Balogh Z, Kovács P. Effect of short term treatment with simvastatin and atorvastatin on lipids and paraoxonase activity in patients with hyperlipoproteinaemia. *Curr Med Res Opin.* 2004 Aug; 20(8):1321-7
80. Harangi M, Seres I, Varga Z, Emri G, Szilvássy Z, Paragh G, Remenyik E. Atorvastatin effect on high-density lipoprotein-associated paraoxonase activity and oxidative DNA damage. *Eur J Clin Pharmacol.* 2004 Dec;60(10):685-91
81. Fuhrman B, Koren L, Volkova N, Keidar S, Hayek T, Aviram M. Atorvastatin therapy in hypercholesterolemic patients suppresses cellular uptake of oxidized-LDL by differentiating monocytes. *Atherosclerosis* 2002; 164:179–185.
82. Kural BV, Orem C, Uydu HA, Alver A, Orem A. The effects of lipid-lowering therapy on paraoxonase activities and their relationships with the oxidant-antioxidant system in patients with dyslipidemia. *Coron Artery Dis.* 2004 Aug; 15(5):277-83
83. Leviev I, James RW. Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Feb; 20(2):516-21
84. Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet.* 1993 Jan; 3(1):73-6
85. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, Billicke S, Draganov D, Rosenblat M. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation.* 2000 May 30; 101(21):2510-7

86. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Durrington PN. Effect of the molecular polymorphisms of human paraoxonase (PON1) on the rate of hydrolysis of paraoxon. *Br J Pharmacol.* 1997 Sep; 122(2):265-8
87. Agachan B, Yilmaz H, Karaali Z, Isbir T. Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct.* 2004 May-Jun; 22(3):163-8
88. Aynacioglu AS, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Nacak M, Tapanyigit EE, Roots I. Paraoxonase 1 mutations in a Turkish population. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1999 Jun 15; 157(3):174-7
89. Scacchi R, Corbo RM, Rickards O, De Stefano GF. New data on the world distribution of paraoxonase (PON1 Gln 192 --> Arg) gene frequencies. *Hum Biol.* 2003 Jun; 75(3):365-73
90. Baltter Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel P, et al. Paraoxonase polymorphism Met-Leu 54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased cardiovascular risk in diabetes. *J Clin Invest* 1997; 99:62-6
91. Leviev I, Deakin S, James RW. Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributory factor to variations in human serum paraoxonase concentrations. *J Lipid Res.* 2001 Apr; 42(4):528-35
92. Hegele RA. Paraoxonase genes and disease. *Ann Med* 1999(31):217-224
93. Leus FR, Zwart M, Kastelein JJ, Voorbij HA. PON2 gene variants are associated with clinical manifestations of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia patients. *Atherosclerosis.* 2001 Feb 15; 154(3):641-9
94. James RW, Deakin SP. The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1: Secretion, stability, and activity. *Free Radical Biology & Medicine* 2004 37(12); 1986-1994
95. Ak G, Ozgönül M, Sözmen EY, Aslan SL, Sözmen B. Renal cortical thickness and PON1 activity both decrease in chronic renal failure. *J Nephrol.* 2002; 15(2):144-9
96. Dirican M, Akca R, Sarandol E, Dilek K. Serum paraoxonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. *J Nephrol.* 2004 Nov-Dec; 17(6):813-8
97. Schiavon R, Battaglia P, De Fanti E, Fasolin A, Biasioli S, Targa L, Guidi G. HDL3-related decreased serum paraoxonase (PON) activity in uremic patients: comparison with the PON1 allele polymorphism. *Clin Chim Acta.* 2002 Oct; 324(1-2):39-44
98. Frishberg Y, Toledano H, Becker-Cohen R, Feigin E, Halle D. Genetic polymorphism in paraoxonase is a risk factor for childhood focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Kidney Dis.* 2000 Dec; 36(6):1253-61
99. Bilge I, Sirin A, Agachan B, Emre S, Sadikoglu B, Yilmaz H, Sucu A, Isbir T. Is paraoxonase 192 gene polymorphism a risk factor for membranoproliferative glomerulonephritis in children? *Cell Biochem Funct.* 2007; 25(2):159-65
100. Biyikli NK, Alpay H, Yildiz N, Agachan B, Ergen A, Zeybek U, et al. Paraoxonase 1 192 and 55 polymorphisms in nephrotic children. *Pediatr Nephrol.* 2006; 21(5):649-54
101. Koroliczuk A, Chibowski D, Beltowski J, Wójcicka G. Selected markers of oxidative stress in rats with active Heyman nephritis. *Med Sci Monit* 2001; 7(3):369-376

102. Delgado Alves J, Ames PR, Donohue S, Stanyer L, Nourooz-Zadeh J, Ravirajan C, Isenberg DA. Antibodies to high-density lipoprotein and beta2-glycoprotein I are inversely correlated with paraoxonase activity in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.* 2002 Oct; 46(10):2686-94
103. Sandikci R, Türkmen S, Güvenen G, Ayabakan H, Gülcan P, Koldas M, Ozbek Kir Z, Yenice N. Lipid peroxidation and antioxidant defence system in patients with active or inactive Behçet's disease. *Acta Derm Venereol.* 2003; 83(5):342-6
104. Karakucuk S, Baskol G, Oner AO, Baskol M, Mirza E, Ustdal M. Serum paraoxonase activity is decreased in the active stage of Behçet's disease. *Br J Ophthalmol.* 2004 Oct; 88(10):1256-8
105. Tanimoto N, Kumon Y, Suehiro T, Ohkubo S, Ikeda Y, Nishiya K, Hashimoto K. Serum paraoxonase activity decreases in rheumatoid arthritis. *Life Sci.* 2003 May 9; 72(25):2877-85
106. Dahabreh IJ, Kitsios GD, Kent DM, Trikalinos TA. Paraoxonase 1 polymorphisms and ischemic stroke risk: A systematic review and meta-analysis. *Genet Med.* 2010 Oct; 12(10):606-15
107. Horter MJ, Sondermann S, Reinecke H, Bogdanski J, Woltering A, Kerber S, Breithardt G, Assmann G, Von Eckardstein A. Associations of HDL phospholipids and paraoxonase activity with coronary heart disease in postmenopausal women. *Acta Physiol Scand.* 2002 Oct; 176(2):123-30
108. Srinivasan SR, Li S, Chen W, Tang R, Bond MG, Boerwinkle E, Berenson GS. Q192R polymorphism of the paraoxonase 1 gene and its association with serum lipoprotein variables and carotid artery intima-media thickness in young adults from a biracial community. *The Bogalusa Heart Study. Atherosclerosis* 2004 Nov; 177(1):167-74.
109. Fortunato G, Rubba P, Panico S, Trono D, Tinto N, Mazzaccara C, De Michele M, Iannuzzi A, Vitale DF, Salvatore F, Sacchetti L. A paraoxonase gene polymorphism, PON 1 (55), as an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in middle-aged women. *Atherosclerosis* 2003 Mar; 167(1):141-8
110. Schmidt H, Schmidt R, Niederkorn K, Gradert A, Schumacher M, Watzinger N, Hartung HP, Kostner GM. Paraoxonase PON1 polymorphism leu-Met54 is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Stroke* 1998 Oct; 29(10):2043-8
111. Malin R, Järvinen O, Sisto T, Koivula T, Lehtimäki T. Paraoxonase producing PON1 gene M/L55 polymorphism is related to autopsy-verified artery-wall atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2001 Aug; 157(2):301-7
112. Oliveira SA, Mansur AP, Ribeiro CC, Raires JA, Annichino-Bizzacchi JM. PON1 M/L55 mutation protects high-risk patients against coronary artery disease. *Int J Cardiol.* 2004 Mar; 94(1):73-7
113. Hong SH, Song J, Min WK, Kim JQ. Genetic variations of the paraoxonase gene in patients with coronary artery disease. *Clin Biochem.* 2001 Sep; 34(6):475-81
114. Topić E, Simundić AM, Ttefanović M, Demarin V, Vuković V, Lovrenčić-Huzjan A, Zuntar I. Polymorphism of apoprotein E (APOE), methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and paraoxonase (PON1) genes in patients with cerebrovascular disease. *Clin Chem Lab Med.* 2001 Apr; 39(4):346-50



115. Voetsch B, Benke KS, Damasceno BP, Siqueira LH, Loscalzo J. Paraoxonase 192 Gln->Arg polymorphism: an independent risk factor for nonfatal arterial ischemic stroke among young adults. *Stroke* 2002 Jun; 33(6):1459-64
116. Ueno T, Shimazaki E, Matsumoto T, Watanabe H, Tsunemi A, Takahashi Y, Mori M, Hamano R, Fujioka T, Soma M, Matsumoto K, Kanmatsuse K. Paraoxonase1 polymorphism Leu-Met55 is associated with cerebral infarction in Japanese population. *Med Sci Monit.* 2003 Jun; 9(6):208-12
117. Ahmed RG. The physiological and biochemical effects of diabetes on the balance between oxidative stress and antioxidant defense system. *Medical Journal of Islamic Academy of Science.* 2002 15(1): 31-42
118. Letellier C, Durou MR, Jouanolle AM, Le Gall JY, Poirier JY, Ruelland A. Serum paraoxonase activity and paraoxonase gene polymorphism in type 2 diabetic patients with or without vascular complications. *Diabetes Metab.* 2002 Sep; 28(4 Pt1):297-304
119. Wang H, Deng H, Liu W. The effects of paraoxonase-1 and oxidized low density lipoprotein on nephropathy in type-2 diabetes mellitus. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2002 Mar; 41(3):179-82
120. Akçay MN, Yilmaz I, Polat MF, Akçay G. Serum paraoxonase levels in gastric cancer. *Hepatogastroenterology.* 2003 Dec;50 Suppl 2:cclxxiii-cclxxv
121. Górnicka G, Bełtowski J, Wójcicka G, Jamroz A. Serum paraoxonase activity total antioxidant potential and lipid peroxidation products in children with bronchial asthma exacerbation. *Wiad Lek.* 2002; 55(5-6):257-63
122. Pola R, Gaetani E, Flex A, Gerardino L, Aloï F, Flore R, Serricchio M, Pola P, Bernabei R. Lack of association between Alzheimer's disease and Gln-Arg 192 Q/R polymorphism of the PON-1 gene in an Italian population. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2003; 15(2):88-91
123. Akyol O, Canatan H, Yilmaz HR, Yuce H, Ozyurt H, Sogut S, Gulec M, Elyas H. PCR/RFLP-based cost-effective identification of SOD2 signal (leader) sequence polymorphism (Ala-9Val) using NgoM IV: a detailed methodological approach. *Clin Chim Acta.* 2004 Jul; 345(1-2):151-9
124. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med.* 2002 Aug; 33(3):337-49
125. Elsakka NE, Webster NR, Galley HF. Polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene. *Free Radic Res.* 2007 Jul; 41(7):770-8
126. Hirvonen A, Tuimala J, Ollikainen T, Linnainmaa K, Kinnula V. Manganese superoxide dismutase genotypes and asbestos-associated pulmonary disorders. *Cancer Lett.* 2002; 178(1):71-4
127. Eras N. Manganez süperoksid dismutaz (MnSOD) geninin Ala-9-Val polimorfizmiyle meme kanseri riski arasındaki ilişkinin araştırılması. Yüksek lisans tezi. Mersin Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı. 2006;15-20
128. Borgstahl GE, Parge HE, Hickey MJ, Beyer WF Jr, Hallewell RA, Tainer JA. The structure of human mitochondrial manganese superoxide dismutase reveals a novel tetrameric interface of two 4-helix bundles. *Cell.* 1992 Oct 2; 71(1):107-18
129. Buettner GR, Oberley LW, Schafer FQ, Spitz DR, Domann FE. Manganese Süperokside Dismutase. *Free Radicals in Biology and Medicine* 2001; 77(222):1-11

130. St Clair D. Manganese superoxide dismutase: genetic variation and regulation. *J Nutr.* 2004 Nov; 134(11):3190-1
131. Möllsten A, Marklund SL, Wessman M, Svensson M, Forsblom C, Parkkonen M, Brismar K, Groop PH, Dahlquist G. A functional polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene and diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2007 Jan; 56(1):265-9
132. Nomiya T, Tanaka Y, Piao L, Nagasaka K, Sakai K, Ogihara T, Nakajima K, Watada H, Kawamori R. The polymorphism of manganese superoxide dismutase is associated with diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients. *J Hum Genet.* 2003;48(3):138-41
133. Liu L, Zheng T, Wang N, Wang F, Li M, Jiang J, Zhao R, Li L, Zhao W, Zhu Q, Jia W. The manganese superoxide dismutase Val16Ala polymorphism is associated with decreased risk of diabetic nephropathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem.* 2009 Feb; 322(1-2):87-91
134. Lee SJ, Choi MG, Kim DS, Kim TW. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism (V16A) is associated with stages of albuminuria in Korean type 2 diabetic patients. *Metabolism* 2006 Jan; 55(1):1-7
135. Sobkowiak A, Lianeri M, Wudarski M, Lacki JK, Jagodziński PP. Manganese superoxide dismutase Ala-9Val mitochondrial targeting sequence polymorphism in systemic lupus erythematosus in Poland. *Clin Rheumatol.* 2008 Jul; 27(7):827-31
136. Akyol O, Yanik M, Elyas H, Namli M, Canatan H, Akin H, Yuce H, Yilmaz HR, Tutkun H, Sogut S, Herken H, Ozyurt H, Savas HA, Zoroglu SS. Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2005 Jan; 29(1):123-31
137. Mitrunen, K., Sillanpaa, P., Kataja, V., Eskelinen, M., Kosma, V.M., Benhamou, S., Uusitupa, M., Hirvonen, A. Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2001; 22:827-29
138. Cai, Q., Shu, X.-O., Wen, W., Cheng, J.-R., Dai, Q., Gao, Y.-T., Zheng, W. Genetic polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene, antioxidant intake, and breast cancer risk: results from the Shanghai breast cancer study. *Breast Canc Res.* 2004; 6:647-55
139. Woodson, K., Tangrea, J.A., Lehman, T.A., Modali, R., Taylor, K.M., Snyder, K., Taylor, P.R., Virtamo, J., Albanes, D. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) polymorphism,  $\alpha$ -tocopherol supplementation and prostate cancer risk in the  $\alpha$ -tocopherol, beta-carotene cancer prevention study (Finland). *Cancer Causes Control* 2003; 14:513-18
140. Olson, S.H., Carlson, M.D.A., Ostrer, H., Harlap, S., Stone, A., Winters, M., Ambrosone, C.B. Genetic variants in SOD2, MPO, and NQO1, and risk of ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2004; 93:615-20
141. Bazzi, C., Petrini, C., Rizza, V., Arrigo, G., Napodano, P., Paparella, M. ve diğerleri. Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrology Dialysis and Transplantation* 2002; 17(11):1890-96
142. D'Amico G, Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003 Nov; 12(6):639-43
143. Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990;186:421-431

144. Van kampfen EJ, Zjilstra WG. Determination of hemoglobin and ist derivatives. *Adv Clin Chem*. 1965; 8:141
145. Candemir M, Halis H, Polat A, Ergin H, Kılıç İ, Semiz S, Cinbiş Mine. Henoch-Schönlein purpuralı hastaların analizi. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2006; 7(3):39-43
146. Kavukcu S, Soylu A, Turkmen M. The clinical value of urinary N-acetyl-beta-Dglucosaminidase levels in childhood age group. *Acta Med Okayama*. 2002 Feb; 56(1):7-11
147. Akkus S, Caliskan S, Kasapcopur O. Tubular functions in Familial Mediterranean Fever. *Turk J Pediatr*. 2002 Oct-Dec; 44(4):317-20
148. Bagga, A., Bajpai, A. ve Menon, S. Approach to renal tubular disorders. *Indian Journal of Pediatrics* 2005; 72(9):771-6
149. Hamed EA, ElMelegy NT. Renal functions in pediatric patients with beta-thalassemia major: relation to chelation therapy: original prospective study. *Ital J Pediatr*. 2010 May 25;36:39
150. Hashemi M, Moazeni-Roodi AK, Fazaeli A, Sandoughi M, Taheri M, Bardestani GR, Zakeri Z, Kordi-Tamandani DM, Ghavami S. The L55M polymorphism of paraoxonase-1 is a risk factor for rheumatoid arthritis. *Genet Mol Res*. 2010 Aug; 31;9(3):1735-41