



RENAL TUTULUMU OLAN HENOC-SCHÖNLEİN PURPURALI HASTALARDA ANJİYOTENSİN KONVERTİNG ENZİM GEN POLİMORFİZMİNİN PROGNOZLA İLİŞKİSİ

The Association of Angiotension Converting Enzyme Gene Polymorphism with Prognosis of Henoch-Schönlein Purpura with Renal Involvement in the Children

Sevliya ÖCAL DEMİR¹ , Müferet ERGÜVEN² 

¹ SB İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları, İstanbul, TÜRKİYE.

² Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Romatoloji, Kars, TÜRKİYE.

Çalışma, SB İstanbul Medeniyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 29.1.2020 tarihli 2020/0023 sayılı kararıyla onaylandı.

İstanbul'da "28. Pediatri günleri" kongresinde sözlü sunum olarak sunulmuştur.

Öz

Amaç: Henoch-Schönlein purpurası (HSP) sıklıkla çocukluk çağında görülen, nadiren böbrek yetersizliğine ilerleyebilen bir vaskülitir. Böbrek yetersizliğine gidişin mekanizması tam bilinmese de anjiyotensin konverteng enzim (ACE) genindeki delesyon artan ACE aktivitesi ve artan lokal anjiyotensin-II konsantrasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada renal tutulumu olan HSP'li hastalarda ACE gen polimorfizminin prognozla ilişkisini araştırmayı amaçladık

Materyal ve Metot: HSP nefriti tanımlı ACE gen polimorfizmi çalışılmış 0-18 yaş arası 42 hasta çalışmaya alındı. Hastalar delesyon (DD) allelline sahip olanlar (Grup1) ile heterozigot delesyon (ID) veya insersiyon (II) allelline sahip olanlar (grup2) olarak ayrıldı; demografik özellikleri ve renal tutulumun ağırlık derecesi açısından karşılaştırıldı.

Bulgular: Grup 1'de 15 erkek 14 kız toplam 29 hasta vardı, ortalama yaşları 8,26±3 yıl, izlem süreleri 3,34±2,1 yıldır. Grup 2'de 6 erkek 7 kız toplam 13 hasta vardı, ortalama yaşları 7,92±3,1 yıl, izlem süreleri 2,1±1,9 yıl idi. İki grup arasında yaş, cinsiyet dağılımı ve izlem süreleri bakımından istatistiksel bir fark görülmedi (p=0,347, p=422, p=0,267). Grup 1'de 11 hastada hafif, 14 hastada orta, 4 hastada ciddi renal tutulum gözlemlendi. Grup 2'de 4 hastada hafif, 8 hastada orta, 1 hastada ciddi renal tutulum gözlemlendi. Renal tutulumun ağırlığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (p=0,375). Proteinüri düzelme oranı grup1'de, grup2'den daha düşüktü, sırası ile %31,2, %62,5, ancak vaka sayıları az olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,127) [ID veya II/ID (OR):3,667, (%95 CI 0,619- 21,739)].

Sonuç: Renal tutulumu olan HSP'li çocuklarda böbrek tutulumunun ağırlığı ile DD genotipi veya D alleli arasında anlamlı bir ilişki görülmedi, ancak daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: ACE gen polimorfizmi, nefrit, Henoch-Schönlein purpurası.

Abstract

Aim: Henoch-Schönlein purpura (HSP) is a vasculitis rarely progresses to renal failure. The mechanism of renal failure in HSP has been associated with increased angiotensin converting enzyme (ACE) activity and increased local angiotension-II concentration as a result of deletion in ACE gene. Here relation between ACE gene polymorphism and prognosis of HSP nephritis was investigated.

Materials and Methods: Forty-two children with HSP nephritis and ACE gene polymorphism studied were included in the study. Those who have deletion (DD) allele (Group-1) and heterozygous deletion (ID) or insertion (II) allele (Group-2) compared according to their demographic characteristic, severity of renal involvement.

Results: Between two groups, there was no statically difference in the terms of age, gender distribution and duration of follow-up (p=0,347, p=422, p=0,267). In group-1, 11 cases had mild, 14 had moderate, 4 had severe renal involvement. In group-2 4 cases had mild, 8 had moderate and 1 had severe renal involvement. There was no statistically significant difference in severity of renal involvement between two groups (p=0,375). Although there was a difference in proteinuria recovery rates between the two groups, the number of cases was not enough for statistical analysis (p=0,127) [ID or II / ID (OR): 3,667, (95% CI 0.619-21.739)].

Conclusion: There was no significant association between the severity of renal involvement of HSP with DD genotype or D allele, however, this needs to be supported by studies with larger series.

Keywords: ACE gene polymorphism, nephritis, Henoch-Schönlein purpura.

Corresponding Author / Sorumlu Yazar:

Sevliya ÖCAL DEMİR

Adres: SB İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi Merkez, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Binası, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Servisi Eğitim Mah. Dr. Erkin Cad. Kadıköy/İstanbul 34722/TÜRKİYE
E-posta: sevliyademir@gmail.com

Article History / Makale Geçmişi:

Date Received / Geliş Tarihi: 28.02.2020

Date Accepted / Kabul Tarihi: 08.06.2020

GİRİŞ

Henoch-Shönlein purpurası (HSP) birincil olarak çocukluk çağında görülen, küçük damarları tutan sistemik vaskülitik bir sendromdur. Cilt, eklem, gastrointestinal ve böbrek tutulumu ile karakterizedir. Etiyolojide enfeksiyöz nedenler ön plana çıksa da hastalığın etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Patogeneizde değişik antijenik uyarılarla oluşan immün komplekslerin damar duvarına yerleşerek zedelenme oluşturduğu ve bu zedelenmeye yanıt olarak iltihabi mediyatörlerin vasküler hasara neden olduğu varsayılmaktadır. HSP'de prognozu belirleyen en önemli faktör renal tutulumdur. Retrospektif çalışmalar çeşitli derecelerdeki renal tutulumu %20-54, son dönem böbrek yetmezliğini %1-3 olarak raporlamaktadır^{1,2}.

Son yıllarda böbrek hastalıklarının patogenezinde renin-anjiyotensin sisteminin rolünü araştıran, veziköüreteral reflü, hipertansiyon, immünglobulin A nefropatisi (IgA nefropetisi) gibi birçok renal hastalığın ilerlemesini ACE genotipi ile ilişkilendiren çalışmalar dikkat çekmektedir³⁻⁵. HSP nefriti gibi çocukluk döneminde kronik glomerülofritin sık bir nedeni olan ve yine benzer histopatolojik bulgular gösteren IgA nefritinde anjiyotensin konverting enzim (ACE) geninde homozigot delesyon (DD) alleli taşıyan hastaların diğer hastalara oranla böbrek fonksiyonlarının hızla bozulduğu ve diyalize ihtiyaç duydukları raporlanmıştır⁵. Mekanizması bilinmese de bu durum delesyonun fizyolojik sonucu olarak artan ACE aktivitesi ve artan lokal anjiyotensin-II konsantrasyonu ile ilişkilendirilmiştir.

İnsan ACE geni 17. kromozom üzerine yerleşmiş 26 ekzonludur, 16. intronda 278 bp alu tekrar bölgesinin absence (delesyon-D) ve presence (insersiyon-I) polimorfizmi ile karakterize edilmiştir. ACE geninin Mendel kalıtımı şeklinde geçiş gösterdiği allelerin plazma ACE seviyesi üzerindeki etkilerinin değişik olduğu raporlanmıştır. D allelini homozigot (DD) olarak taşıyan kişilerde serum ACE düzeyi yüksek bulunurken, (II) allelini homozigot taşıyanlarda düşük bulunmuştur⁶. ACE anjiyotensin-I'i aktif şekli olan anjiyotensin-II'e dönüştürür, bu da hipertansiyona ve immünmodulasyon, kollajen üretiminde artma gibi hemodinamik olmayan renal etkilere neden olur. ACE inhibitörlerinin anti-hipertansif etkisi dışında anjiotensin-II'i azaltarak renal hastalığı ilerlemesini yavaşlatması da ACE gen polimorfizminin renal hastalıkla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada HSP nefriti olan hastalarda renal tutulumunun ağırlığı ve ilerlemesi ile ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. Nitekim ACE delesyon genotipi ile HSP'da renal hastalığın ilerlemesi arasında ilişki gösterilir ise DD genotipine sahip HSP nefriti olan hastalar yakın takibe alınabilir, ACE inhibitörleri ile profilaksi veya erken tedavi gündeme gelebilir.

MATERYAL VE METOT

Olguların Seçimi ve tanımlanması

SB İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi Merkez Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği Çocuk Romatoloji ve Çocuk Nefroloji bölümlerinden HSP nefriti tanısı ile izlenen ve ACE gen polimorfizmi çalışılmış çocuk hastalar çalışmaya alındı. Tanımlamaya uyan 42 hastanın verileri; yaş, cinsiyet, klinik ve laboratuvar bulguları, gen analiz sonuçları hasta dosyaları ve tıbbi kayıtlardan elde edildi. Tüm hastalar Amerikan Romatizmal Hastalıklar Birliğinin HSP tanısı için belirlediği kriterlerden en az ikisini taşıyordu⁷. Renal tutulum mikroskopik hematüri ve veya idrarda mikroalbumin kreatin oranında artış olması durumunda hafif, nefritik veya nefrotik düzeyde proteinüri varlığında orta, nefrotik sendrom gelişmesi veya böbrek fonksiyonlarının bozulması durumunda ağır

tutulum olarak tanımlandı. Çalışmada ID ve II genotipine sahip olan hastalar az olduğundan; delesyon (DD) allelline sahip olanlar grup1 olarak tanımlanırken, heterozigot delesyon (ID) veya homozigot insersiyon (II) allelline sahip olanlar aynı gruba alınıp grup 2 olarak tanımlandı. İki gruptaki hastalar tanı yaşları, cinsiyet dağılımı, izlem süreleri, proteinüri ağırlığı, proteinüri devamlılığı ve renal tutulumun ağırlık derecesi açısından karşılaştırıldı.

DNA ayırımı ve ACE I/D gen polimorfizminin tespiti

Tüm hastalardan kan 10 cc'lik EDTA' lı steril tüplere alınmış, 24 saat içinde DNA ekstraksiyonu yapılmıştır.

DNA ekstraksiyonu; Lökosit DNA'sı Miller yöntemi ile elde edilmiş, tüm DNA'larm saflığı spektrofotometrik olarak kontrol edilmiştir^{8,9}.

Sonra diziyeye özgü primerler kullanılarak PCR amplifikasyonu yapılmıştır. Amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde tespit etme işleminden sonra ayrılmış ve ethidium bromide boyaması ile DNA görünür hale getirilmiştir. İşlem sonunda transluminatör ile ultraviyole altında jel incelenerek yapılan yorumlama ile 3 çeşit genotip görüntülenmiştir; 490 baz çifti içeren PCR ürünü, DD genotipi (delesyon/delesyon), 190 baz çifti içeren PCR ürünü, II genotipi (insersiyon/insersiyon), 490 baz çifti ve 190 baz çiftini birlikte içeren PCR ürünü, ID genotipi (insersiyon/ delesyon) olarak değerlendirilmiştir^{8,9}.

Çalışma SB İstanbul Medeniyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 29.1.2020 tarihli 2020/0023 sayılı kararıyla onaylandı.

İstatistik Analiz

Çalışmanın İstatistiksel analizi SPSS (Statistical Package for Social Sciences) paket programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak alındı. Gruplar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde Ki kare (X^2) testi kullanıldı, Ki kare testinde herhangi bir gözdeki beklenen değer 5'den küçük olduğunda Fisher tam Ki kare testi uygulanarak p değeri verildi. Gruplar arası risk etkenin belirlenmesi için Odds oranı (OR) ve %95 güven sınırları (%95 CI) verilmiştir. Allel hesaplanmalarında gen sayma metodu, gruplardaki sayısal verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 42 hastanın 21'i kız, 21'i erkek, ortalama tanı yaşları $8,2 \pm 3,1$ yıl (1-13,5 yıl), takip süreleri ortalama $3,0 \pm 2,1$ yıl (6 ay-7,7 yıl) idi. Olguların 29'u (%69) ACE gen polimorfizminin delesyon genotipini (DD), 7'si (%16,7) heterozigot delesyon genotipini (ID), 6'sı (%14,3) insersiyon (II) genotipini taşıyordu.

Grup 1'de (DD) 15 erkek 14 kız toplam 29 hasta vardı, ortalama yaşları $8,26 \pm 3$ yıl, izlem süreleri $3,34 \pm 2,1$ yıl idi. Grup 2'de (ID/II) 6 erkek 7 kız toplam 13 hasta vardı, ortalama yaşları $7,92 \pm 3,1$ yıl, izlem süreleri $2,1 \pm 1,9$ yıl idi (Tablo 1). İki grup arasında yaş, cinsiyet dağılımı ve izlem süreleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p=0,347$, $p=0,422$, $p=0,267$).

Olguların renal tutulumları Tablo 1’de detaylandırılmıştır. Gruplar proteinüri varlığı ve ağırlığı açısından değerlendirildi. Grup 1’de 11 hastada proteinüri yok (%37,9), 13’ünde nefritik düzeyde (%44,8), 5’inde nefrotik düzeyde (%17,2) idi. Grup 2’de hastaların 4’ünde proteinüri yok (%30,8), 7’sinde nefritik düzeyde (%53,9), 2’sinde nefrotik düzeyde (%15,4) idi. Gruplar arasında proteinüri ağırlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p=0,383$).

Tablo 1. HSP nefriti olan çocukların ACE genotipine göre demografik özellikleri ve klinik bulgularının dağılımı

	Grup-1 (DD genotipi)		Grup 2 (ID/II genotipleri)	
Hasta sayısı (n) / (%)	29 ID	(%69)	7 ID	(%16,7)
			6 II	(%14,3)
Erkek/kız	15/14		6/7	
Tanı yaşı (yıl)	8,26±3,1	(1-13,5)	7,92±3,1	(3,3-12,8)
İzlem süresi (yıl)	3,34 ± 2,1	(0,5-7,7)	2,1-1,9	(0,7-7,7)
Renal tutulum				
Hematüri				
Mikroskopik hematüri (n)	13	(%44,8)	8	(%)
Makroskopik hematüri	7	(%24,1)	2	(%15,4)
Proteinüri				
Yok	11	(%37,9)	4	(%30,8)
Nefritik proteinüri(n)	13	(%44,8)	7	(%53,9)
Nefrotik proteinüri (n)	5	(%17,2)	2	(%15,4)
Böbrek fonksiyonlarında bozulma ve veya nefrotik sendrom gelişmesi	4	(% 13,8)	1	(%7,7)
Böbrek biopsisinde kresent varlığı	4	(%13,8)	3	1 (%7,7)
	hastada grade-3B		1	1 hastada grade-3A
	hastada grade-5			
Proteinüri (1 yıllık takipte) *				
Düzelme var	5	(%31,2)	5	(%62,5)
Devam ediyor	11	(%68,8)	3	(%37,5)

*Orta derece renal tutulumdaki proteinüri, (hesaplamaya ağır renal tutulumlu 3 hastanın proteinürisi dahil edilmedi)

Gruplar proteinüri sürekliliği açısından da karşılaştırıldı, en az 1 yıllık izlem sonunda grup 1’de 5 hastada (%31,2) proteinüri düzeliyor, 11 hastada (%68,8) devam ediyordu. Grup 2’de 5 hastada (%62,5) proteinüri düzeliyor, 3 hastada (%37,5) devam ediyordu. İki grup arasında proteinüri düzelme oranları açısından fark olmakla birlikte, vaka sayıları az olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark değildi ($p=0,127$ [ID veya II/ID (OR):3,667, (%95 CI 0,619- 21,739]).

Hastaların renal tutulumu; 6’sında idrarda mikroalbumin kreatinin oranında artma; proteinüri varlığından bağımsız 21’inde mikroskopik 9’unda makroskopik hematüri; hematuri varlığından bağımsız 20’sinde nefritik, 7’sinde nefrotik düzeyde proteinüri şeklinde idi. Dört hastada böbrek fonksiyonları bozulmuş, bir hastada nefrotik sendrom gelişmişti. Hiçbir hastada son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) gelişmedi. Grup 1’de 11 hastada (%37,9) hafif, 14 hastada (%48,3) orta, 4 hastada (%13,8) ciddi renal tutulum gözlemlendi. Ciddi renal tutulumu olan 3 hastada grade-3B, 1’inde grade-5 kresentik glomerülonefrit bulguları saptandı. Grup 2’de 4 hastada (%30,7) hafif, 8’inde (%61,3) orta, 1’inde (%7,7) ciddi renal tutulum gözlemlendi. Ciddi renal tutulumu olan bu hastada grade-3A kresentik glomerülonefrit bulguları vardı. Gruplar arasında renal tutulumun ağırlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p=0,375$).

TARTIŞMA

Günümüzde hala HSP’da nefrit gelişiminin etiyopatogenezi tam bilinmemekte, immünolojik ve hemodinamik olayların rolü olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple Renin-angiotensin sistemi (RAS) suçlanmakta ve RAS’ı etkileyen genler üzerinde çalışılmaktadır. Nitekim bazı çalışmalarda HSP nefriti ile benzer olan IgA nefropatisinde delesyon (DD) alleli varlığında ilerleyici böbrek hasarı için riskin

yüksek olduğu raporlanmıştır¹⁰. Bu çalışmamızda ACE gen polimorfizmi ile HSP nefritinin prognozu arasındaki ilişkiyi araştırdık.

ACE gen polimorfizmi için genotip dağılımını ülkemizde ilk kez 1997 yılında Hatemi ve ark.'ları 100 sağlıklı bireyde araştırmış; DD genotipini %35,9, ID genotipini %46,2, II genotipini %17,6 ve D allel sıklığını %59 olarak tespit etmiştir¹¹. 2009 yılında Berdeli ve ark. 1063 sağlıklı bireyde allel dağılımını benzer, D allel sıklığını da %60,1 bulmuştur¹². Çalışmamızda 29 olguda (%69) delesyon (DD), 7 olguda (%16,7) heterozigot delesyon (ID), 6 olguda (%14,3) insersiyon (II) alleli tespit edildi, D allel sıklığı ise %77,4 olup, Türk toplumunda sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalarda elde edilen sıklıktan belirgin farkla yüksekti. Olguların hepsi HSP nefriti olduğundan D allel sıklığındaki bu yüksekliğin HSP'na mı, yoksa HSP'nın renal tutulumuna mı bağlı olduğu ayırt edilemedi. 2019 yılında Zhang ve ark.'larının 60 çalışmayı dahil ettikleri meta-analizde 504 HSP tanılı hasta ve 706 sağlıklı kontrolü değerlendirmiş, D allelinin genel popülasyonda HSP insidansı riski ile belirgin şekilde ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir¹³. Ülkemizden Dursun ve ark. 2013 yılında 54 vaka ile yaptıkları çalışmada HSP'li hastalarda ID genotipini %74 bulurken, DD genotipi olan HSP nefritli hastalarda DD genotipi olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte proteinürinin daha geç düzeldiğini gözlemlemişlerdir¹⁴. Bu bulgular HSP'da renal tutulum için DD genotipinin önemli yeri olduğunu işaret etmektedir.

HSP'de proteinürinin devamlılığının renal tutulumu yansıttığından yola çıkarak çalışmalar yapılmış, Yoshioka ve ark delesyon (DD) polimorfizminin varlığı ile HSP nefritinde proteinürinin devamlılığının öngörülebileceğini ileri sürmüştür¹⁵. Ozkaya ve ark. HSP ve HSP nefritinde rolü olabilecek 3 ACE gen polimorfizmini; ACE insersiyon/delesyon polimorfizmi, anjiyotensin geninde M235T mutasyonunu ve anjiyotensin-II reseptöründe A1166C polimorfizmini çalışmış, Anjiyotensin geninde M235T mutasyonunu HSP nefriti ile ilişkili bulmuş, ancak her üç genin de nefrotik düzeyde proteinüri ile ilişkisini gösterememişlerdir¹⁶. Diğer taraftan Dursun ve ark devamlı proteinürisi olan HSP nefritli hastaların büyük oranda DD genotipi taşıdıklarını; DD genotipli hastalarda proteinüri oranını, II genotipli hastalara kıyasla 5 kat daha fazla bulduklarını, ID genotipli hastalarda proteinüri oranının DD ve II genotipi arasında bir oranda saptadıklarını raporlamışlardır¹⁴. Ayrıca aynı çalışmada proteinürinin DD genotipli hastalarda tedaviye daha geç yanıt verdiği de belirtilmiştir.

Çalışmamızda homozigot delesyon (DD) alleleline sahip olgular, heterozigot delesyon veya homozigot insersiyon alleleline sahip olgulardan oluşan grupla (ID ve II) karşılaştırıldı. Her iki grup arasında proteinüri varlığı ve ağırlığı bakımından anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak proteinüri sürekliliği diğer bir deyişle proteinüri düzelme oranları açısından fark vardı, ancak vaka sayıları az olduğundan istatistiksel olarak anlamlı değildi. Olguların renal tutulum ağırlığını klinik bulgularına göre sınıflandırdığımızda da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Hasta sayımızın az olması, 3 genotipteki hasta dağılımımızın orantısız olması ve takip süremizin kısa olması çalışmanın sınırlayıcı etmenleri idi.

SONUÇLAR

HSP'li hastalarda D allelinin genel topluma göre yüksek bulunması D allelinin HSP için kolaylaştırıcı bir faktör olabileceğini düşündürmektedir. DD genotipi HSP nefritinde proteinüri sürekliliği için öngördürücü bulunsa da renal tutulumu olan HSP'li çocuklarda böbrek tutulumunun ağırlığı ile DD

genotipi veya D alleli arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir. Ancak daha geniş serili çalışmalara ihtiyaç vardır. Yeni çalışmalar ile HSP nefritinden sorumlu mekanizmanın ortaya çıkarılması ampirik tedavi ve önlemlerle az görülen ciddi komplikasyonların önlenmesinde yardımcı olacaktır.

Kaynaklar

1. Ronkainen J, Koskimies O, Ala-Houhla M, Arikoski P, Hölttä T, et al. Renal manifestations of Henoch-Schonlein purpura in a 6-month prospective study of 223 children. *Arch Dis Child*. 2010;95(11):877-82.
2. Chen JY, Mao JH. Henoch-Schönlein Purpura Nephritis in Children: Incidence, Pathogenesis and Management. *World J Pediatr*. 2015;11(1):29-34.
3. Sparks MA, Crowley SD, Gurley SB, Mirososou M, Coffman TM. Classical Renin-Angiotensin System in Kidney Physiology. *Compr Physiol*. 2014;4(3): 1201–28.
4. Zhang Q, Cong M, Wang N, Li X, Zhang H, Zhang K, et al. Association of Angiotensin-Converting Enzyme 2 Gene Polymorphism and enzymatic activity with essential hypertension in different gender: a case-control study. *medicine (Baltimore)*. 2018;97(42):e12917.
5. Ai JW, Zeng XT, Liu Y, Fu Y, Liu TZ, Pei B. Association Between Angiotensin Converting Enzyme Gene insertion/deletion Polymorphism and Renal Scar Risk in Children Vesicoureteral Reflex: A Reappraise Meta-Analysis *Sci Rep*. 2016;10;6:31243.
6. Zhou TB, Yin SS, Liang R. A meta-analysis of the association between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism and end-stage renal disease risk in IgA nephropathy patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2013; 14(3):235-41.
7. Mills JA, Michel BA, Block D. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Henoch-Schonlein Purpura. *Arthritis Rheum*. 1990; 33(3):1114-21.
8. Graham DE. The isolation of high molecular weight DNA from whole organisms or large tissue masses. *Anal Biochem* 1978;85(2):609-13.
9. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.
10. Teranishi J, Yamamoto R, Nagasawa Y, Shoji T, Iwatani H, Okada N, et al. ACE insertion/deletion Polymorphism (rs1799752) Modifies the Renoprotective Effect of Renin-Angiotensin System Blockade in Patients With IgA Nephropathy. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2015;16(3):633-41.
11. Hatemi AC, Cine N, Özcelik T. Allele and genotype frequencies of the angiotensin converting enzyme (ACE) gene insertion /deletion polymorphism in the Turkish population. *Tr J Med Sci* 1997; 27: 205-8.
12. Berdeli A, Cam FS. Prevalence of the angiotensin I converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in a healthy Turkish population. *Biochem Genet*. 2009;47(5-6):412-20.
13. Zhang X, Wu L, Chai M, Huang X, Zhu J, Li S, et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and susceptibility to Henoch-Schönlein purpura: a meta-analysis *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2019;20(1):1-6.
14. H Dursun, A Noyan, A Karabay Bayazıt, Matyar S, Büyükçelik M, Şimşek B. ve ark. Henoch-Schonlein purpuralı çocuklarda angiotensin konverting enzim gen polimorfizmi. *Çocuk Dergisi* 2013;13(1):11-5.
15. Yoshioka T, Xu YX, Yoshida H, Shiraga H, Muraki T, Ito K. Deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene predicts persistent proteinuria in Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Arch Dis Child* 1998;79(5):394-9.
16. Ozkaya O, Söylemezoğlu O, Gönen S, Misirlioğlu M, Tuncer S, Kalman S, ve ark. Renin-angiotensin system gene polymorphisms: association with susceptibility to henoch-schonlein purpura and renal involvement. *Clin Rheumatol*. 2006;25(6):861-5.

Çalışma, SB İstanbul Medeniyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 29.1.2020 tarihli 2020/0023 sayılı kararıyla onaylandı.
