

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI

Henoch-schönlein purpuralı çocuklarda endotel kaynaklı mikropartiküllerin organ tutumları ile ilişkisi

Proje No:TA-06-13

Proje Türü

LİSANSÜSTÜ VE ARAŞTIRMA PROJESİ ☐

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Adı Soyadı **Ruhan Düşünsel**

Birimi/Bölümü: Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Nefroloji

Araştırmacı:

İsmail Dursun

Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Nefroloji

Mart 2010

KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa <u>No</u>
TÜRKÇE ÖZET	4
SUMMARY	5-6
GİRİŞ	7-8
HASTALAR VE YÖNTEM	8-12
SONUÇ	12
TARTIŞMA	13-14
KAYNAKLAR	14-17
TABLolar	18-19

ÖZET

Amaç: Çalışmamızın amacı Henoch-Schonlein Purpura'lı (HSP) çocuklarda dolaşımdaki endotel mikropartikül (EMP) düzeylerinin ölçülmesi ve HSP nefriti olanlarla olmayanlar arasında EMP düzeyleri açısından farklılık olup olmadığının belirlenmesidir.

Hastalar ve Yöntem: HSP tanısı ile takip edilen yaşları 2,5-10 yaş arasında değişen 20 hasta ve 10 sağlıklı çocuk çalışmaya alındı. HSP'li hastalar böbrek tutulumu olanlar (n=9) ve olmayanlar (n=11) olarak iki gruba ayrıldı. Tüm gruplarda trombositten fakir kanda EMP düzeyleri çalışıldı. Aynı zamanda trombositten fakir plazma ile inkübe edilen insan umbilikal ven endotel kültür ortamından elde edilen sıvıda EMP düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: HSP' li hastalarda dolaşan EMP düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek saptandı. Nefriti olanlarla olmayanlar arasında dolaşan EMP düzeyleri arasında istatistiksel farklılık saptanmadı. HSP grubunda hastalığın aktif döneminde dolaşan EMP düzeyleri (CD144+EMP ve CD146+EMP) remisyon dönemine göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

Sonuçlar: HSP'li hastalarda hem aktif hemde remisyon döneminde dolaşan EMP düzeyleri yüksek saptandı. Hastalığın klinik ve laboratuvar bulguları normale dönmesine rağmen yüksek EMP değerlerinin saptanması bu hastalarda subklinik inflamasyonun devam ettiğini düşündürmektedir. Biz HSP'li hastalarda dolaşan EMP'nin subklinik inflamasyonun göstergesi olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: Henoch-Schonlein Purpura, Endotel mikropartikül, Endotel fonksiyon bozukluğu, Çocuk

SUMMARY

The aim: To investigate the levels of circulating EMPs in children with Henoch-Schonlein Purpura (HSP) and determine whether or not there was different between patients with nephritis or without nephritis.

Material and Methods: Twenty patients with HSP aged 2 years and six month-15 years and 10 age and sex matched healthy control were enrolled in the study. The HSP group was divided into two groups, including patients with nephritis (n=9) and without nephritis (n=11). In all groups, circulating EMPs were numerated by flow cytometry, after staining of platelet-free plasma with PE-conjugated anti-CD144. In parallel, human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were incubated with platelet-free plasma of HSP patients and control group. Then, circulating EMPs were counted in supernatant of HUVEC incubated with platelet-free plasma of patients and control groups, after staining of supernatant of HUVEC with PE-conjugated anti-CD146

Results: Circulating EMPs were significantly higher in both active and remission period of patient groups compared with control subjects. In patient group, there were no statistically significant differences in the level of circulating EMPs between patients with nephritis and without nephritis. Both CD144 and 146+EMP in patients with HSP nephritis in active period were substantially higher than in remission ($p < 0,05$). CD144+EMP in active period were substantially higher than in remission in patient without nephritis ($p < 0,05$).

Conclusions: We detected that circulating EMPs increased in patients with HSP in both active and remission periods. Although clinical and laboratory findings resolve in remission period, the increased circulating EMPs may show that inflammatory process continuous as

subclinical. We think that circulating EMPs could be used as a surrogate marker for subclinical inflammation in HSP

Key words: Henoch-Schonlein Purpura, Endothelial microparticles, Endothelial dysfunction, Child.

GİRİŞ

Henoch-Schönlein Purpura (HSP) nontrombositik purpura, artrit, karın ağrısı ve glomerülonefrit ile karakterize sistemik inflamatuvar bir hastalıktır (1). Hastalığın etiyolojisi hala bilinmemektedir, ancak lökositler ve damar endotel arasındaki etkileşimin önemli olduğu ve kemokin ve sitokinlerin bu süreçte rol aldığı düşünülmektedir (2-4). Damar endoteli angiogeneze, kan basıncının düzenlenmesinde ve homeostaziste önemli rolü vardır (5,6). Endotel proinflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, enfeksiyon ajanları, lipoproteinler, oksidatif stres gibi uyarılara cevap verebilme yeteneğine sahiptir. Bu uyarılara cevap olarak endotel aktivasyonunun uzaması veya aşırı yanıt vasküler hastalığın erken ve preklinik komponenti olan endotel fonksiyon bozukluğuna neden olur. Eğer endotel hücreleri birbirinden ayrılır ise hücre bütünlüğü kaybolur, apoptozis ve nekroz gelişir (7).

Mikropartiküller (MP) hücre zarından köken alan ve köken aldığı hücreye göre 0,2–2 µm boyutları arasında değişen inflamasyon, koagülasyon ve vasküler fonksiyonlarda rol alan küçük veziküllerdir. MP oluşumuna neden olan önemli iki hücresel olay aktivasyon ve apoptozistir (8,9). Endotelyal mikropartiküller (EMP) aktivasyon yada apoptozis sırasında endotel hücrelerinden ayrılan endotel fonksiyon bozukluğunun göstergesi olarak düşünülen 1.5 µm'den küçük veziküllerdir. Vascular endotelyal (VE)-cadherin (CD144) ve S-Endo 1- ilişkili antijen (CD146) endotel hücreleri arasında bulunurlar ve damar endotel hasarını değerlendirmede kullanılabilirler. Yapılan çalışmalarda, preeklampsi, akut koroner sendrom, diyabet, hipertansiyon ve vaskülit geçiren hastaların plazmalarında mikropartikül düzeylerinde belirgin yükseklik olduğu gösterilmiştir (10-17) Biz son zamanlarda yapılan çalışmamızda KBY'li çocuklarda EMP düzeylerinin sağlıklı çocuklara göre belirgin şekilde arttığını gösterdik (18). Şimdiye kadar HSP nefriti ile EMP arasındaki ilişkiyi irdeleyen bir çalışma yapılmamıştır. Biz bu çalışmamızda öncelikle HSP'li çocuklarda dolaşan EMP

düzeylerini belirlemeyi ve böbrek tutulumu olanlarla olmayanlar arasında EMP düzeyleri arasında farklılığın olup olmadığını belirlemeyi amaçladık.

Hastalar ve yöntem

Yaşları 2,5-15 arasında değişen ve ACR ölçütlerine (19) göre HSP tanısı konulan 20 çocuk ve 10 kontrol grubu çalışmaya alındı. Tüm hastaların ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri alındı ve kan basınçları ölçüldü. HSP'li hastalar böbrek tutulumu olanlar (n=9) ve olmayanlar (n=11) olarak ayrıldı. Aktif ve remisyon dönemlerinde akut faz göstergelerine bakıldı.

HSP'de remisyon semptomunun olamaması, akut faz göstergeleri ve idrar bulgularının normal olması olarak kabul edildi. Nefrit proteinürinin eşlik ettiği veya etmediği mikroskopik ve/veya makroskopik hematüri olarak kabul edildi. Proteinüri 4 mg/m²/saatten fazla protein atılımı olarak kabul edildi. Böbrek biyopsi endikasyonları akut böbrek yetmezliği, nefrotik-nefritik sendrom, devam eden hematüri ve proteinüri olarak belirlendi.

EMP değerlendirmesi için hastalığın aktif ve remisyon döneminde gece açlıktan sonra 0,129 mol L⁻¹ sodyum sitrattan 0,5 cc olan tüpe 4,5 cc kan alındı. Trombositten fakir plazma elde etmek için alınan kan örneği 160 g devirde 10 dakika santrifüj edildi, daha sonra 13000 g devirde 2 dakika santrifüj daha yapıldıktan sonra çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı.

İNSAN UMBİLİKAL VEN ENDOTEL HÜCRE KÜLTÜRÜ (HUVEC)

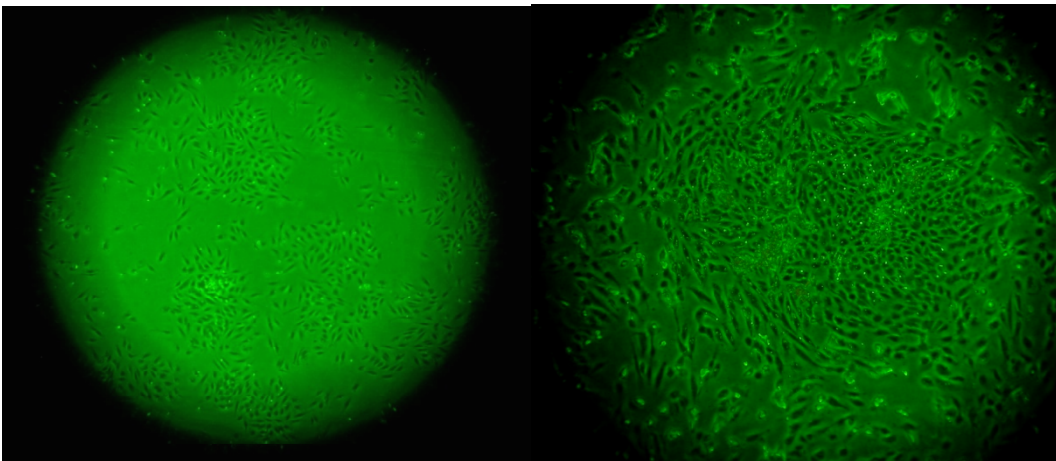
Tampon sıvıların hazırlanması: HANK'S tamponu litreye 9,5 g olacak şekilde distile su içine hazır toz formu (Sigma-Aldrich) katılarak elde edildi ve pH metre ile pH 7.4'e ayarlandı. Fosfat buffer saline (PBS) hazır toz formundan (Biological Industries) litreye 9,6 gram olacak şekilde distile su ile hazırlandı. Her iki tamponda 0,22 mikronluk filtrelerden geçirilerek steril edildi ve kullanılıncaya kadar -26°C'de saklandı.

Besi yeri hazırlanması: Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) toz formu (HyClone, Kat. No: SH30003.03) litreye 13,4 gr olacak şekilde distile su ile hazırlandı ve pH 7.4 olarak ayarlandı. 0,22 mikronluk filtrelerden geçirilerek steril edildi Tam kültür besi yeri elde etmek için 80 cc DMEM içine, 20 cc dana serumu (FCS) ve 1 cc penisilin/streptomisin ilave edildi.

HUVEC Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Hastanesi ile Kayseri Doğum ve Çocuk Hastanesi Doğum Ünitesi'nden normal doğum veya sezeryan sonrası göbek kordonu alınıp Jaffe ve arkadaşları tarafından rapor edilen protokol temel alınarak, Hakan Çetinsaya Deneysel Araştırmalar Merkezi Hücre Kültür Laboratuvarı'nda hazırlandı. Tüm işlemlerde mutlaka steril malzemeler kullandı.

1. Umblikal kord steril şartlarda doğum salonunda plasentadan alındı. HANK'S tamponu ile dolu steril kap içerisine yerleştirildi ve iki saati geçmemek üzere işleme kadar 4⁰ C de tutuldu.
1. Kort incelenerek klemp izleri olan bölgeler kesildi.
2. Umblikal venin lümeni ucu pürüzsüz ve künt bir kılavuz yardımı ile 2 cm boyunca kanule edildi ve steril 8 Fr beslenme sondasının 3 cm'lik uç kısmı damar lümenine yerleştirilerek sabitlendi
3. Umblikal ven lümeni 50 ml PBS ile yıkanarak kanlar uzaklaştırıldı.
4. Umblikal ven içine %0.2 collagenase (PAA'dan, Kat.no: K21-240) dan 10 ml verildi. Umblikal kord her iki ucu kapalı olacak şekilde HANK'S tamponu içeren petri kutusunda 15 dakika 37 derecede bekletildi.
5. İçerisinde 10 cc tam kültür besi yeri olan 50 ml'lik falcon tüp içerisine kordun bir ucu yerleştirilerek diğer uçtan umblikal ven içine 30 ml PBS verilerek hücrelerin tüp içine akması sağlandı

6. Hücreler 900 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatant steril pipetle yavaşça çekilerek atıldı. Tabanda kalan hücreler üzerine tam kültür besiyeri ilave edilerek önce karıştırıldı ve daha sonra 900 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, süpernatant uzaklaştırıldı. Bu işlem iki defa daha tekrarlandı.
7. Daha sonra tüpün dip kısmında biriken hücreler üzerine 2-2,5 cc tam kültür besiyeri ilave edilerek karıştırıldı ve 25 mm petri kaplarına ekildi.
8. Petri kapları %5 CO₂ ve 37⁰C'de inkübe edildi. 24 saat sonra petri kaplarındaki hücreler PBS ile yıkandı ve besiyeri ilave edildi. Hücreler 48 saatte bir defa taze kültür vasatı tam değiştirilerek beslendi (Resim1)
9. Birinci hafta sonunda kültür kabının tabanını dolduğunun (Resim 2,3) görülmesi üzerine hücreler önce PBS ile yıkandı. Daha sonra 1-2 cc % 0.05 Tripsin/EDTA petri kabındaki hücre ortamına konuldu ve 1-2 dakika 37⁰C de inkübe edildi. Hücrelerin tabandan kalktığı görüldü.
10. Steril pipetle, içinde tam kültür besiyeri olan bir tüpe aktarıldı ve 7., 8. ve 9. işlemler tekrarlandı. Tüm hücreler 2. pasajda kullanıldı



Resim 1. (a) HUVEC vasatının 24. saat görünümü (b) Yeterli yoğunluğa ulaştığındaki görünümü

İn vivo EMP çalışma protokolü

Hastalardan alınıp daha önce hazırlanan trombositten fakir plazma Benmari içinde 37⁰C ‘de çözüldükten sonra flow-sitometrik analiz için kullanılan özel tüp içine 50 mikrolitre hasta plazması + 10 mikrolitre monoklonal antikor(mAb) (CD 144)(Beckman Coulter) konulduktan sonra 15 dakika karanlık ortamda bekletildi. Daha sonra 50 mikrolitre flow-count florofor (Beckman-Coulter)+ 500 mikrolitre isoflow konulduktan sonra flowsitometride 1,5 mikrometre çapından küçük 20000 hücre geçirildikten sonra mAb ile boyanan hücrelerin sayısı logaritmik olarak verildi.

İn vitro EMP çalışma protokolü

Her bir hasta için ayrı ayrı hazırlanmış flasklarda yeterince yoğunluğa ulaşmış hücrelere besi yerinde %20 konsantrasyonda hasta plazması (2 cc medium + 0.5 cc trombositten fakir plazma) ilave edildi. 24 saat beklemeyi takiben süpernatanın 50 mikrolitresi 10 mikrolitre monoklonal antikor(mAb) (CD 146)(Beckman Coulter) konulduktan sonra 15 dakika karanlık ortamda bekletildi. Daha sonra 50 mikrolitre flow-count florofor (Beckman-Coulter)+500 mikrolitre isoflow konulduktan sonra flowsitometride 1,5 mikrometre çapından küçük 20000 hücre geçirildikten sonra mAb ile boyanan hücrelerin sayısı logaritmik olarak verildi.

İstatistiksel analiz

Çalışmanın istatistiki değerlendirmesinde SPSS Windows 15.0 kullanıldı. İlk olarak verilerin dağılımı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılan değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma, anormal dağılım gösteren değişkenler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Ortalamalar unpaired t-testi ile ortancalar Mann-Whitney U-testi ile değerlendirildi. Gruplar arası oranların karşılaştırılmasında Ki kare testi kullanıldı. HSP grubunda aktif ve remisyon dönemini karşılaştırmada Kruskal-Wallis-H testi yapıldı. Gruplar

arasında anlamlı farklılık var ise Dunn's prosedürü kullanıldı. Tüm istatistiksel analizlerde $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sonuçlar

Çalışmaya alınan HSP'li olguların tamamında cilt tutulumu, 17 hastada eklem tutulumu, 12 hastada gastrointestinal sistem tutulumu, 9 hastada böbrek tutulumu, 2 hastada skalp ödemi ve 1 hastada skrotal tutulum saptandı. Çalışmaya alınan hastaların epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 1'de gösterildi. HSP nefriti olanlar ile olmayanlar arasında eozinofil sayısı, IgE düzeyleri, eritrosit sedimentasyon hızı, CRP, kompleman 3 ve 4, hemoglobin, beyaz küre ve trombosit sayıları açısından farklılık saptanmadı ($p>0.05$; Tablo 1).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm HSP olgularında EMP sayısı anlamlı derecede yüksek saptandı. CD 144+EMP sayısı aktif HSP nefritinde remisyon grubu ve kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (aktif HSP nefritinde 1772 / μ L, remisyon döneminde 693/ μ L ve kontrol grubunda 251 / μ L) (Tablo 2). Böbrek tutulumu olmayan HSP'li olgularda CD 144+EMP sayısı aktif dönemde remisyon grubuna ve kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (aktif HSP 1894 / μ L, remisyon döneminde 621/ μ L ve kontrol grubunda 251 / μ L) (Tablo 2). CD144+EMP sayısı açısından böbrek tutulumu olanlarla olmayanlar arasında istatistikî farklılık saptanmadı.

Vaskülitli olguların plazmalarının HUVEC üzerine etkisine bakıldığında HSP'li olgularda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek CD146+EMP sayısı saptandı. Böbrek tutulumu olanlarla olmayanlar arasında CD146+EMP sayıları açısından anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo2).

Tartışma

Bizim çalışmamızın ana bulguları şöyle özetlenebilir. 1) HSP'li çocuklarda kontrol grubuna göre EMP sayıları artmıştır, 2) Böbrek tutulumu olanlarla olmayanlar arasında EMP düzeyleri açısından farklılık yoktur.

Damar endotel hasarı küçük dammar vaskülitlerinin esas özelliğidir (25). Uzamış veya abartılı endotel aktivasyonu endotel disfonksiyonuna neden olmakta ve dolaşıma EMP salınması ile sonuçlanmaktadır (7,21,24). Erişkin ve çocuk vaskülitli olgularda yapılan çalışmalarda EMP düzeylerinde artma saptanmıştır (17,26). HSP hastalarında EMP sayıları ile ilgili literatürde yayınlanan bir çalışma yoktur. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda HSP'li hastaların plazmalarının HUVEC üzerinde IL-8 üretimini artırıcı etkisinin olduğu saptanmıştır (27-29). Biz bu çalışmamızda hem HSP'li hastaların plazmalarında EMP'nin arttığını, hem de HSP'li hasta plazmalarının HUVEC üzerine EMP sayısını artırıcı etkisi olduğunu gösterdik

Vaskülitli hastalarda organ tutulumu, hastalık aktivitesi ve EMP sayısı arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda Brogan ve ark. (26) orta ve küçük dammar vaskülitinde EMP sayısının arttığını göstermişlerdir. Nakatani ve ark. (30) Kawasaki hastalarında koroner arter tutulumu olanlarda olmayanlara göre daha yüksek EMP sayısının varlığını saptamışlardır. Son zamanlarda Erdbruegger ve ark (17) erişkin ANCA ilişkili vaskülit olgularında EMP sayılarının arttığını ve hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Çalışmamızda HSP olgularında EMP sayıları kontrole göre anlamlı derecede yüksekti ve hastalığın aktif döneminde bu yükseklik daha belirgin idi. Bu yüzden biz, yüksek EMP sayılarının hastalık aktivitesi ile ilişkili olabileceğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak dolaşımdaki EMP sayısı HSP hastalarında aktif ve iyileşme döneminde yüksek saptandı. Bu sonuçlar HSP'li olgularda endotel disfonksiyonunun varlığını göstermektedir. Hastalığın iyileşme döneminde klinik ve laboratuvar bulguları normale dönmesine rağmen

EMP sayılarında yüksekliğin devam etmesi hücre düzeyinde subklinik enflamasyonu düşündürmektedir.

References

1. Cassidy JT, Petty RE. Henoch-Schonlein Purpura. In: Cassidy JT, Petty RE (eds) Pediatric Rheumatology, 4th edn. Saunders, Philadelphia ,2001 pp 569-579
2. Tahan F, Dursun I, Poyrazoglu H, Gurgoze M, Dusunsel R. The role of chemokines in Henoch Schonlein Purpura. [Rheumatol Int](#) 2007, 27:955–960
3. Chung HS, Kim HY, Kim HS et al. Production of chemokines in Kawasaki disease, Henoch-Schönlein purpura and acute febrile illness. J Korean Med Sci 2004, 19:800-804
4. Besbas N, Saatci U, Ruacan S et al. The role of cytokines in Henoch Schonlein purpura. Scand J Rheumatol 1997, 26:456- 460.
5. Kurotobi S, Kawakami N, Honda A et al. Impaired vascular endothelium-dependent relaxation in Henoch-Schönlein purpura. Pediatr Nephrol 2004, 19:138–143
6. Cines DB, Pollak ES, Buck CA et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. Blood 1998, 91:3527- 3561.
7. Dignat-Gorge F, Sampol J. Circulating endothelial cells in vascular disorders: new insights into an old concept. Eur J Haematol 2000, 65: 215–220
8. Hristov M, Erl W, Linder S, Weber PC. Apoptotic bodies from endothelial cells enhance the number and initiate the differentiation of human endothelial progenitor cells in vitro. Blood 2004, 104: 2761–2766
9. Petzelbauer P, Halama T, Groger M. Endothelial adherens junctions. J Investig Dermatol Symp Proc 2000, 5: 10–13

10. Bardin N, George F, Mutin M, Brisson C, Horschowski N, Francés V, Lesaule G, Sampol J. S-Endo 1, a pan-endothelial monoclonal antibody recognizing a novel human endothelial antigen. *Tissue Antigens* 1996, 548: 531–539
11. González-Quintero VH, Jiménez JJ, Jy W et al. Elevated plasma endothelial microparticles in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2003, 189: 589–593
12. Sabatier F, Darmon P, Hugel B et al. Type 1 and type 2 diabetic patients display different patterns of cellular microparticles. *Diabetes* 2002, 51: 2840–2845
13. Bernal-Mizrachi L, Jy W, Jimenez JJ et al. High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J* 2003, 145: 962–970
14. Mallat Z, Benamer H, Hugel B et al. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndrome. *Circulation* 2000, 101: 841–843
15. Preston RA, Jy W, Jimenez JJ et al. Effects of severe hypertension on endothelial and platelet microparticles. *Hypertension* 2003, 41: 211–217
16. Combes V, Simon AC, Grau GE et al. In vitro generation of endothelial microparticles and possible prothrombotic activity in patients with lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1999, 104: 93–102
17. Erdbruegger U, Grossheim M, Hertel B et al. Diagnostic role of endothelial microparticles in vasculitis. *Rheumatology* 2008, 47:1820-1825.
18. Dursun I, M Poyrazoglu H, Gunduz Z, et al. The relationship between circulating endothelial microparticles and arterial stiffness and atherosclerosis in children with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2009, 24: 2511–2518

19. Michel BA, Hunder GG, Bloch DA, Calabrese LH. Hypersensitivity vasculitis and Henoch-Schönlein purpura: a comparison between the 2 disorders. *J Rheumatol* 1992, 19:721–728.
20. Mir S, Yavascan O, Mutlubas F, Yeniay B, Sonmez F. Clinical outcome in children with Henoch-Schönlein nephritis. *Pediatr Nephrol* 2007, 22:64-70.
21. Faure V, Dou L, Sabatier F et al. Elevation of circulating endothelial microparticles in patients with chronic renal failure. *J Thromb Haemost* 2006, 4: 566–573
22. Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG, Minick CR. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *J Clin Invest* 1973, 52: 2745–2756
23. Minagar A, Jy W, Jimenez JJ et al. Elevated plasma endothelial microparticles in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2001, 56: 1319–1324
24. Amabile N, Guérin AP, Leroyer A et al. Circulating endothelial microparticles are associated with vascular dysfunction in patients with end-stage renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2005, 16: 3381–3388
25. Haubitz M, Woywodt A. Circulating endothelial cells and vasculitis. *Intern Med* 2004, 43:660-607.
26. .Brogan PA, Shah V, Brachet C et al. Endothelial and platelet microparticles in vasculitis of the young. *Arthritis Rheum* 2004, 50:927-936
27. Yang YH, Wang SJ, Chuang YH, Lin YT, Chiang BL. The level of IgA antibodies to human umbilical vein endothelial cells can be enhanced by TNF-alpha treatment in children with Henoch-Schönlein purpura. *Clin Exp Immunol* 2002, 130:352-357.
28. [Yang YH, Lai HJ, Huang CM, Wang LC, Lin YT, Chiang BL](#). Sera from children with active Henoch-Schönlein purpura can enhance the production of interleukin 8 by human umbilical venous endothelial cells. *Ann Rheum Dis* 2004, 63:1511-1513

29. [Yang YH, Huang YH, Lin YL et al.](#) Circulating IgA from acute stage of childhood Henoch-Schönlein purpura can enhance endothelial interleukin (IL)-8 production through MEK/ERK signalling pathway. Clin Exp Immunol 2006, 144:247-253.
30. Nakatani K, Takeshita S, Tsujimoto H, Kawamura Y, Tokutomi T, Sekine I. Circulating endothelial cells in Kawasaki disease. Clin Exp Immunol 2003, 131:536-540.

Tablolar

Tablo1. Çalışmaya alınan olguların epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar bulguları

	HSP böbrek tutulumu – aktif (n = 9)	Böbrek tutulumu olmayan HSP - aktif (n=11)	Kontrol (n = 10)
Yaş (yıl) ^a	10.1 ± 3.9	8.7 ±3.1	10.2 ± 1.61
Cins (K/E)	5/4	5/6	5/5
Klinik			
<i>Palpabl purpura, n (%)</i>	9 (100)	11(100)	
<i>Artrit/artralji, n (%)</i>	7(77,7)	10 (90,9)	-
<i>Karın ağrısı, n (%)</i>	6 (66,6)	6(54,5)	
<i>Diğer, n (%)</i>	1 (11,1)	2(18,1)	
Hb (mg/dl) ^a	14,1± 1,6	13,5± 0,9	-
WBC /mm ³ ^a	12432± 4969	10231±3644	-
Trombosit (x10 ³ / mm ³) ^a	330 ± 84	330 ± 84	-
Sed (mm/h) ^a	28 ±16	26 ± 11	-
CRP (mg/dl) ^b	17 (3-54)	25 (4-139)	-
Eozinofil (sayı/mm ³) ^b	30 (1-450)	60 10-150)	-
IgA (mg/dl) ^a	221 ±61	223 ±9 8	-
IgE (mg/dl) ^b	64(5-532)	36(17-248)	-
C3 (mg/dl) ^a	131±35	143±62	-
C4 (mg/dl) ^a	29±15	26±11	-
Remisyon süresi(gün) ^a	78,8±32,5	18,3±6,2	-

^a ort ± standart sapma, ^b ortanca (minimum-maksimum)

Tablo 2. Çalışma grubunun EMP düzeyleri

Değişkenler	ÇALIŞMA GRUPLARI				
	HSP nefrit-aktif (n=9)	HSP nefrit-rem (n=9)	HSP nefrit olmayan-aktif (n=11)	HSP nefrit olmayan-rem (n=11)	Kontrol (n=10)
CD 144+EMP/μL [Ortanca(min-mak)]	1772 (893–16240) ^{a, b}	693 (323–1647) ^a	1894 (463–3843) ^a	621 (214–2379) ^a	251 (160–362)
CD 146+EMP / μL** [Ortanca(min-mak)]	768 (451–1313) ^{a, b}	477 (296–660) ^a	660 (136–958) ^a	487 (237–742) ^a	291 (102–874)

^a İstatistiksel farklılık kontrolden, ^b İstatistiksel farklılık nefrit remisyonundan

Not: Bu araştırma makale şekline getirilerek “Rheumatology International” adlı dergiye gönderilmiş ve değerlendirilme aşamasındadır.