

Diyabetik Nefropatili Hastalarda Paraoksonaz 1 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması

Investigation of Paraoxonase 1 Gene Polymorphisms In Patients With Diabetic Nephropathy

Feridun AKKAFA¹ , Oğuzhan KENGER¹ , Mehmet Ali EREN² 

¹Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE

²Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE

Öz.

Amaç: Bu çalışmada, Paraoksonaz 1 geni kodlanan bölge Q192R ve L55M polimorfizmleri ile Tip2 Diyabetli hastalarda Diyabetik Nefropati gelişimi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve metod: Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Bilim Dalı polikliniklerine başvuran; Tip2 Diyabetli 50 hasta, Diyabetik Nefropatili 50 hasta ve 50 sağlıklı kontrol grupları çalışmaya alındı. Alınan periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu ile elde edilen ürünler restriksiyon enzimleri AlwI ve Hin1II ile kesildi. Elde edilen ürünler agaroz jelde yürütüldü. UV görüntüleme ile polimorfizm genotiplenmesi yapıldı.

Bulgular: Paraoksonaz 1 geni Q192R (584A>G) polimorfizmini genotip dağılımı: Tip 2 Diyabet hasta grubunda; QQ %58, QR %32 ve RR %10 bulundu. Diyabetik Nefropati grubunda; QQ %52, QR %42 ve RR %6 bulundu. Sağlıklı kontrol grubunda; QQ %62, QR %30 ve RR %8 bulundu. Gruplar arasında genotip frekansları yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$). Paraoksonaz 1 geni L55M (172T/A) polimorfizminin genotip dağılımı: Tip 2 Diyabet hasta grubunda LL %48, LM %32 ve MM %20 bulundu. Diyabetik Nefropati grubunda; LL %68, LM %26 ve MM %6 bulundu. Sağlıklı kontrol grubunda; LL %42, LM %42 ve MM %16 bulundu. Gruplar arasında genotip dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$). M allel frekansının Tip 2 Diyabetli ve Diyabetik Nefropati'li grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (sırasıyla $p=0.007$, $p=0.011$).

Sonuç: Bulgularımıza göre, Paraoksonaz 1 L55M allel frekansının, Tip2 Diyabet ve Diyabetik Nefropati hasta grubunda anlamlı çıkması, Paraoksonaz 1 L55M polimorfizminin bu hastalıkların gelişiminde risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Paraoksonaz 1 geni Q192R ve L55M polimorfizmlerinin, Tip 2 Diyabet hastalarında Diyabetik Nefropatiye yakalanma riski ile ilişkili olmadığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: PON1, Tip2 Diabetes Mellitus, Diyabetik Nefropati, Polimorfizm

Abstract

Background: In this study, it was aimed to investigate the relationship between Q192R and L55M polymorphisms in the region encoding the Paraoxonase 1 (PON1) gene and the development of Diabetic Nephropathy in patients with Type 2 Diabetes.

Materials and Methods: Applying to Harran University Medical Faculty Endocrinology Department polyclinics; 50 patients with Type 2 Diabetes, 50 patients with Diabetic Nephropathy and 50 healthy controls groups were included in the study. DNA isolation was performed from peripheral blood samples. The products obtained by polymerase chain reaction were cut with the restriction enzymes AlwI and Hin1II. The obtained products were run on an agarose gel. Polymorphism genotyping was performed by UV imaging.

he study was planned as descriptive cross-sectional. The attitudes of the students studying at the Faculty of medicine towards scientific research were questioned. In the study, the "Attitude Scale Towards Scientific Research" was used.

Results: The genotype distribution of the paraoxonase 1 gene Q192R (584A/G) polymorphism: It was found QQ 58%, QR 32%, and RR 10% in Type 2 Diabetes patient group. It was found QQ 52%, QR 42%, and RR 6% in Diabetic Nephropathy group. It was found QQ 62%, QR 30%, and RR 8% in healthy control group. There was no statistically significant difference between the groups in terms of genotype frequencies ($p>0.05$). Genotype distribution of Paraoxonase 1 gene L55M (172T/A) polymorphism: It was found LL 48%, LM 32%, and MM 20% in Type 2 Diabetes patient group. It was found LL 68%, LM 26%, and MM 6% in Diabetic Nephropathy group. It was found LL 42%, LM 42%, and MM 16% in healthy control group. There was no statistically significant difference between the groups in terms of genotype frequencies ($p>0.05$). M allele frequency was found to be statistically significant in Type 2 Diabetes and Diabetic Nephropathy groups ($p=0.007$, $p=0.011$, respectively).

Conclusions: According to our findings, the fact that Paraoxonase 1 L55M allele frequency was significant in Type 2 Diabetes and Diabetic Nephropathy patient groups suggests that Paraoxonase 1 L55M polymorphism may be a risk factor in the development of these diseases. Paraoxonase 1 gene Q192R and L55M polymorphisms were not associated with the risk of developing Diabetic Nephropathy in Type 2 Diabetes patients.

Keywords: PON1, Type2 Diabetes Mellitus, Diabetic Nephropathy, Polymorphism

Sorumlu Yazar/Corresponding Author

Dr. Feridun AKKAFA

Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Osmanbey kampüsü,
Şanlıurfa-Mardin Karayolu Üzeri 18.Km
Şanlıurfa,TÜRKİYE

E-mail: aferidun@harran.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 07.07.2022

Kabul tarihi / Accepted: 22.07.2022

DOI: 10.35440/hutfd.1142132

Giriş

Diabetes Mellitus (DM); insülinin genom kaynaklı eksikliği veya fonksiyonel bozukluğu ile karakterize olan, organizmanın karbohidrat, yağ, protein gibi biyomolekül metabolizmasında hasar oluşturan bir hastalıktır (1,2,3). DM; hiperglisemi, mikrovasküler ve makrovasküler birçok komplikasyona sebep olmaktadır. Dünyada morbidite ve mortalite oranının oldukça yüksek seyrettiği kronik metabolik hastalıklar grubunun önemli bir üyesidir (4,5). Diyabet, gelişim sürecine bağlı olarak genellikle nefropati, retinopati, nöropati ve ateroskleroz gibi çeşitli komplikasyonlara ve fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır (6).

Diyabetik Nefropati (DN), DM'un kronik mikrovasküler komplikasyonlarından biri olup, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) gelişimin en önemli etkenidir. DM'nin Tip 2 türü daha yaygın bir şekilde görüldüğünden, DN vakalarının çoğu Tip 2 diyabet ile ilişkilidir. Dünyada genellikle Tip 2 Diyabet ile birlikte daha sık seyreden DN; Tip 2 diyabetin morbidite ve mortalitesinde büyük rol oynamaktadır. DN, normalde kanda olması gereken proteinin idrarla atılma oranının fazla olduğunu gösteren proteinüri ile kendini gösterir. DN sürecinde rutin seyreden proteinüri ve kanda üre-kreatin yüksekliği, mikroalbuminüriyi beraberinde getirmektedir (7,8,9) Vücuttaki sıvı homeostazı ve kan akış düzenlilikleri, inflammatuar ve metabolik fonksiyonlardaki defektler DN gelişiminin temelinde yatan nedenlerdir. Hiperglisemi olgularında sitokin, büyüme faktörleri ve kemokinlerin ekspresyonundaki artış diyabette mikrovasküler seviyede komplikasyonların baş göstermesine sebep olmaktadır. Diyabetli bireylerde 3-6 aylık sürede yapılan üç idrar tetkikinin en az ikisinde, hastanın albüminüri değerleri mg/24 saat bazında >300 veya µg/dk bazında >200 çıkması ile DN tanısı konulmaktadır (10).

Paraoksonase (PON) gen ailesi, 7 nolu kromozom üzerinde yer alır ve PON1, PON2, PON3 genlerinden oluşur. Paraoksonaz 1 (PON1) geni; 7q21.3'de lokalize olup özellikle karaciğer dokusunda eksprese olur. PON1 karaciğerde sentezlenip seruma salgılanan, toksik metabolitlerden paraoksonun hidrolizinden sorumlu, yüksek yoğunluktaki lipoproteine (HDL) bağlı bir esterazdır. Aynı zamanda LDL'yi lipid peroksidlerinin oksidatif hasarından koruyan antioksidan ve anti-inflamatuar bir enzimdir. Kalsiyum (Ca) bağımlı olup antiaterojenik ve antioksidan özelliği olan bir enzim olması nedeniyle kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, sepsis, alzheimer ve parkinson gibi pek çok hastalığın gelişmesine karşı koruyucu rol oynayabileceği düşünülmektedir. PON1, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidatif modifikasyonuna karşı ve aterosklerotik süreçleri önlemede önemli bir rol oynamaktadır. Kolesterol taşınmasında rol oynayarak periferik dokular üzerinde kolesterol birikimine engel olur. (11,12,13).

PON1'deki enzimatik aktivite bireysel farklılıklar göstermektedir. PON1 aktivitesinde gerçekleşen değişimlerden, proteini eksprese eden gen lokusundaki polimorfizmler sorumlu tutulmaktadır. PON1 geni kodlanan bölgede lokalize

iki aminoasitteki değişimler serum PON1 aktivitesini doğrudan etkilemektedir. Bu değişiklikler 55. kodonda Leu → Met, 192. Kodonda ise Gln → Arg değişimi olarak kaydedilmiştir. (14,-16).

Bu çalışmada, Paraoksonaz 1 geni kodlanan bölge Q192R ve L55M polimorfizmlerinin Tip2 Diyabetli hastalarda Diyabetik Nefropati gelişimi ile ilişkileri incelendi.

Materyal ve Metod

Çalışma grupları

Şanlıurfa Harran Üniversitesi Hastanesi Endokrinoloji Poliklinikliğine başvuran, benzer yaş aralığında, farklı cinsiyetlerde ve 18 yaş üzeri bireylerden oluşturuldu. *Tip 2 DM hasta grubu:* Endokrinoloji poliklinikliğinde American Diabetes Association (ADA) kriterlerine göre Tip 2 DM tanısı konmuş ve tedavisi devam eden çalışmaya onay vermiş 18 yaş üstü 50 hastadan oluşturuldu.

DN hasta grubu: Daha önce Endokrinoloji poliklinikliğinde Tip 2 DM tanısı konmuş, idrar mikroalbumin/kreatin oranı ≥30 mg/gün üzeri olan çalışmaya onay vermiş 18 yaş üstü 50 hastadan oluşturuldu. *Kontrol Grubu:* Tip 2 DM tanısı ve nefropati tanısı konmamış, 18 yaş üstü çalışmaya onay vermiş 50 kişiden oluşturuldu. Bilinen malignitesi olanlar, DN dışında nefropatisi olanlar, gebeliği olanlar, aşikar kardiyovasküler hastalığı, nörodejeneratif hastalığı olanlar ve diyabetik ayak yarası olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışma için, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 08.09.2019 tarih ve 19/09/52 sayılı onay alındı.

Kan alımı ve DNA izolasyonu

Hastalardan alınan 2 cc periferik venöz kan EDTA'lı hemogram tüpüne alındı, kanlar -20 derecede saklandı. DNA izolasyonu, kan örneklerinden K1820-02 katalog numaralı PureLink™ Genomic DNA Mini Kit ile kit protokolü kullanılarak yapıldı (17).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Q192R polimorfizmi için PZR, 15 µl hacimde yapıldı. 7,5 µl PZR Master Mix(K0171), 0,3 µl forward primer, 0,3 µl reverse primer (Biobasic, Ontario, Canada), 4,9 ddH₂O ve 2 µl genomik DNA kullanıldı. PZR; 95°C'de 5 dk (başlangıç denatürasyonu), 95°C'de 30 sn, 60 °C'de 30 sn, 72 °C'de 45 sn (40 siklus) ve 72°C'de 5 dk. olarak gerçekleştirildi.

L55M polimorfizmi için PZR, 15 µl hacimde yapıldı. 7,5 µl PCR Master Mix(K0171), 0,3 µl forward primer, 0,3 µl reverse primer (Biobasic), 4,9 ddH₂O ve 2 µl genomik DNA kullanıldı. PZR; 95°C'de 5 dk (başlangıç denatürasyonu), 95°C'de 30 sn, 55°C'de 30 sn, 72°C'de 45 sn (40 siklus), 72 °C'de 5 dk olarak gerçekleştirildi.

Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP) Analizi

PZR ile çoğaltılan 99 bp uzunluğunda olan 10 µl Q192R DNA'sı 1U AlwI (MBI Fermentas) restriksiyon endonükleaz enzimi ile 6 saat 55°C'de kesim işlemi yapıldıktan sonra

80°C'de 20 dk inkübe edildi. %4'lük agaroz jel elektroforezinde yürütülerek UV altında görüntülendi.

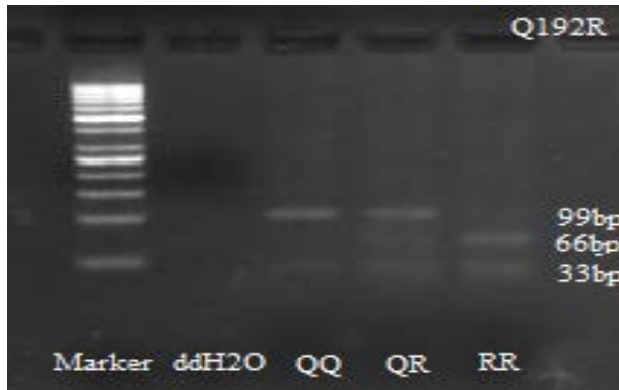
Q192R gen polimorfizmi için; 99 bç'lik PZR ürünü PZR-RFLP ile analiz edildiğinde: jelde 99 bç uzunluğunda tek DNA bandının görülmesi polimorfizmin olmadığını (Wild-tip, Q/Q);

66 ve 33 bç uzunluğunda iki DNA bandının görülmesi homozigot (R/R); 99, 66, 33 bç uzunluğunda üç DNA bandının görülmesi heterozigot (Q/R) polimorfizm olarak değerlendirildi (Şekil 1).

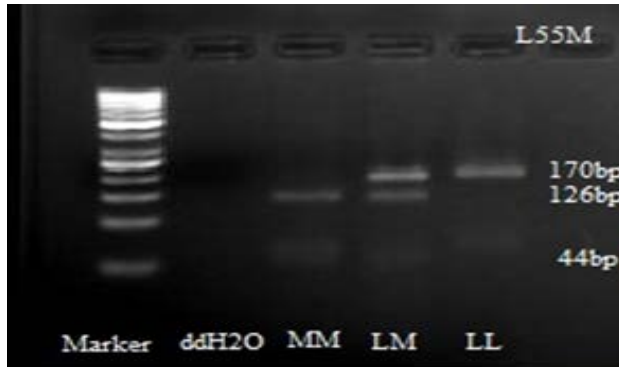
Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Primer Dizileri

SNP	Primer Dizisi	Amplifikasyon ürünü
192 Q/R	5'-TATTGTTGCTGTGGACCTGAG-3' (Q192RF5), 5'-CACGCTAAACCCAAATACATCTC-3' (Q192RR5)	99bp
55 L/M	5'-GAAGAGTGATGTATAGCCCCAG-3' (L55MF5), 5'-TTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC-3'(L55MR5)	170bp

SNP: single nucleotide polymorphism.



Şekil 1. PON1 Geni Q192R (rs662 584A>G) AlwI enzimi ile kesilen PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. 1. birey QQ genotipi, 2. birey QR ve 3. birey RR genotipi. Q alleli 99 bç, R alleli 66 ve 33 bç.



Şekil 2. PON1 Geni rs854560 L55M (172T>A) Hin1I enzimi ile kesilen PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. 1. birey MM genotipi, 2. birey LM ve 3. birey LL genotipi. M alleli 170 bç, L alleli 126 ve 44 bç.

PZR ile çoğaltılan 170 bp uzunluğunda olan 10 µl L55M DNA'sı, 2U Hin1I (MBI Fermentas) restriksiyon endonükleaz ile 5 saat 37°C'de kesim işlemi yapıldıktan sonra 65°C'de 20 dk inkübe edildi ve %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek UV altında görüntülendi. L55M gen polimorfizmi için; 170 baz çifti (bç) uzunluğunda amplifikasyon ürünü Hin1I ile kesildikten sonra, jelde sadece 170 bç bandın görülmesi polimorfizmin olmadığını (Wild-tip, L/L), 126 ve 44 bç iki DNA bandının görülmesi homozigot polimorfizmi (M/M), 170, 126 ve 44 bç uzunluğunda üç DNA bandının görülmesi heterozigot polimorfizm (L/M) olarak değerlendirildi (Şekil 2).

İstatistiksel Analiz

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için SPSS V25.0 programı kullanıldı. Biyokimyasal veriler ve demografik özellikler Anova testi kullanılarak karşılaştırıldı. Biyokimyasal ve demografik özelliklerin yabanil tip ve mutant allel arasında karşılaştırılması için T testi uygulandı. Allel frekansları ve genotip dağılımları Hardy-Weinberg eşitliği ki-kare testi ile belirlendi. Allel dağılım ve sıklığının gruplar arası farklılıkları da Fisher's exact testi ile değerlendirildi. P <0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışma gruplarının demografik özellikleri incelendiğinde; yaş ortalamalarının birbirine yakın olduğu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Ancak hasta gruplarının, sağlıklı gruba arasındaki vücut kitle indeksi (VKİ) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olduğu görüldü (Tablo 2.). Çalışmaya alınan grupların biyokimyasal verileri de ayrıca istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo3).

Tablo 2. Çalışma Gruplarının Demografik Özellikleri

Değişkenler	T2DM Hastaları	T2DM Nefropati Hastaları	Sağlıklı Kontrol Grubu	P değeri
Örnek Sayısı(n)	50	50	50	
Cinsiyet(E/K)	25/25	24/26	12/38	
Yaş (yıl)	52.06±8.43	50.94±10.75	50.42±11.062	0.712*
VKİ(kg/m ²)	30.97±4.56	29.88±3.75	25.21±1.11	<0.01*

VKİ; Vücut kitle indeksi

Tip2 DM ve sağlıklı kontrol grubundaki PON1 Q192R ve L55M polimorfizminin genotip dağılımı ve allel frekansları karşılaştırıldı. Tip 2 DM ve kontrol grubu arasında genotip dağılımlarının ve R allel frekansının anlamlı olmadığı, M allel frekansının Tip 2 DM'li grupta anlamlı olduğu bulundu ($p=0.007$) (Tablo 4). DN ve sağlıklı kontrol grubundaki PON1

Q192R ve L55M polimorfizminin genotip dağılımı ve allel frekansları karşılaştırıldı. DN ve kontrol grubu arasında genotip dağılımlarının ve R allel frekansının anlamlı olmadığı, M allel frekansının ise DN'li grupta anlamlı olduğu bulundu ($p=0.011$) (Tablo 5).

Tablo 3. Çalışma Gruplarının Biyokimyasal Verileri

Değişkenler	T2DM Hastaları	T2DM Nefropati Hastaları	Sağlıklı Kontrol Grubu	p değeri
Örnek Sayısı(n)	50	50	50	
AKŞ (mg/dl)	167.24±60.11	192.92±90.31	89.84±10.41	<0.01*
HbA1c (%)	9.76±9.51	8.96±2.49	5.14±0.34	<0.01*
Üre (mg/dl)	32.23±15.65	36.52±23.09	27.15±8.57	0.023*
Kreatin (mg/dl)	1.078±1.59	0.993±0.52	0.72±0.196	0.163
Trigliserit (mg/dl)	239.24±235.7	213.36±132.94	146.4±76.87	0.015*
Total Kol. (mg/dl)	192.9±51.48	173.12±44.17	161.14±54.96	0.013*
LDL (mg/dl)	137.53±24.15	86.73±37.20	70.21±29.44	0.051
HDL (mg/dl)	52.66±63.61	40.72±9.91	68.84±44.16	0.009*
eGFR ml/dk	91.22±19.33	84.46±24.73	104.88±20.81	<0.01*
İdrar mikroalbümin (mg/gr)	10.97±14.83	154.76±240.21	-	<0.01*
İdrar Kreatinin (ml/dk)	142.48±95.11	97.78±69.08	-	0.008*

AKŞ: açlık kan şekeri, eGFR: tahmini glomerüler filtrleme oranı, HbA1c: hemoglobinA1c, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein.

Tablo 4. Tip 2 DM ve Kontrol Grubu Q192R ve L55M Genotip Dağılımı ve Allel Frekansları

SNP Genotip/Allel	Tip2 DM (n=50)	Kontrol (n=50)	X ²	OR (%95 CI)	p değeri
Q192R					
Genotip					
QQ	31 (%62,0)	26 (%52,0)	Referans	Referans	Referans
QR	15 (%30,0)	21 (%42,0)	0.091	1.680 (0.973-2.900)	0.069
RR	4 (%8,0)	3 (%6,0)	1.000	0.894 (0.183-4.364)	0.500
Allel					
Q	77 (%77,0)	73 (%73,0)	Referans	Referans	Referans
R	23 (%23,0)	27 (%27,0)	0.427	0.750 (0.177-3.180)	0.624
L55M					
Genotip					
LL	21 (%42,0)	34 (%68,0)	Referans	Referans	Referans
LM	21 (%42,0)	13 (%26,0)	0.139	0.619 (0.350-1.095)	0.139
MM	8 (%16,0)	3 (%6,0)	0.201	0.375 (0.106-1.332)	0.200
Allel					
L	63 (%63,0)	81 (%81,0)	Referans	Referans	Referans
M	37 (%37,0)	19 (%19,0)	0.005*	0.514 (0.318-0.829)	0.007*

X²: Ki-Kare, OR: Odds Ratio, CI: Confidence interval, SNP: single nucleotide polymorphism.

Tablo 5. DN ile Kontrol Grubu Q192R ve L55M Genotip Dağılımı ve Allel Frekansları

SNP Genotip/Allel	DN (n=50)	Kontrol (n=50)	X ²	OR (%95 CI)	p değeri
Q192R					
Genotip					
QQ	29 (%58,0)	26 (%52,0)	Referans	Referans	Referans
QR	16 (%32,0)	21 (%42,0)	0.407	0.762 (0.453-1.280)	0.408
RR	5 (%10,0)	3 (%6,0)	0.543	1.667 (0.421-6.603)	0.715
Allel					
Q	74 (%74,0)	73 (%73,0)	Referans	Referans	Referans
R	26 (%26,0)	27 (%27,0)	0.026*	0.963 (0.607-1.528)	0.500
L55M					
Genotip					
LL	24 (%48,0)	34 (%68,0)	Referans	Referans	Referans
LM	16 (%32,0)	13 (%26,0)	0.068	1.231 (0.663-2.283)	0.068
MM	10 (%20,0)	3 (%6,0)	0.074	3.333 (0.975-11.395)	0.071
Allel					
L	64 (%63,0)	81 (%81,0)	Referans	Referans	Referans
M	36 (%37,0)	19 (%19,0)	0.007*	1.895 (1.170-3.067)	0.011*

X²: Ki-Kare, OR: Odds Ratio, CI: Confidence interval, SNP: single nucleotide polymorphism.

Tip 2 DM hasta grubu ile DN hasta grubu arasında Q192R polimorfik bölgesi için QQ-QR ve QQ-RR genotipleri karşılaştırıldığında (sırasıyla $X^2:0,549-0,748$) QQ (yabanil tip) ile QR (heterozigot mutant) ve RR (homozigot mutant tip) genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0.524$, $p=1.000$). Tip2 DM hasta grubu ile DN hasta grubu arasında alleller karşılaştırıldığında; R(mutant) allelinin Tip 2 DM grubu ve DN grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0.743$) (Tablo 6). Tip2 DM hasta grubu ile DN hasta grubu arasında L55M polimorfik bölgesi için LL-LM ve LL-MM genotipleri karşılaştırıldığında (sırasıyla $X^2:0,407-0.795$) sonuçların istatistiksel

olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0.408$, $p=0.795$). DM hasta grubu ile DN hasta grubu arasında L ve M allelleri karşılaştırıldığında M allelinin Tip 2 DM grubu ve DN grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Tablo 6).

Çalışmaya dahil edilen bireylerin demografik özellikleri ve kan basıncı, sırasıyla QQ; LL; yabanil tip polimorfizm göstermeyen genotipleri ve RR; MM; polimorfizm gösteren genotipleri arasında karşılaştırıldı. Sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Tablo7).

Tablo 6. Tip 2 DM ve DN Hasta Grubu Arasında PON1 Geni Q192R ve L55M Genotip ve Allel Frekansları

SNP Genotip/Allel	Tip2 DM (n=50)	DN (n=50)	X ²	OR (%95 CI)	p değeri
Q192R					
Genotip					
QQ	31 (%62,0)	29 (%58,0)	Referans	Referans	Referans
QR	15 (%30,0)	16 (%32,0)	0.549	1.280(0.705-2.323)	0.524
RR	4 (%8,0)	5 (%10,0)	0.748	1.250(0.356-4.385)	1.000
Allel					
Q	77 (%77,0)	74 (%74,0)	Referans	Referans	Referans
R	23 (%23,0)	26 (%26,0)	0.742	1.130(0.694-1.841)	0.743
L55M					
Genotip					
LL	21 (%42,0)	24 (%48,0)	Referans	Referans	Referans
LM	21 (%42,0)	16 (%32,0)	0.407	0.762(0.453-1.280)	0.408
MM	8 (%16,0)	10 (%20,0)	0.795	1.250(0.538-2.904)	0.795
Allel					
L	63 (%63,0)	64 (%63,0)	Referans	Referans	Referans
M	37 (%37,0)	36 (%27,0)	0.883	0.973(0.675-1.402)	1.000

X²: Ki-Kare, OR: Odds Ratio, CI: Confidence interval, SNP: single nucleotide polymorphism.

Tablo 7. Çalışma Gruplarında Polimorfizm Göstermeyen ve Homozigot Polimorfizm Gösteren Bireyler Arasında Demografik ve klinik verilerin Karşılaştırılması

rs662 (Q192R)									
Genotip (n)	Tip 2 DM			DN			Kontrol		
	QQ	RR	p	QQ	RR	p	QQ	RR	p
Yaş (yıl)	50.97±8.32	57±13,03	0,323	51.17±10.78	49.80±5.26	0,343	49.77±9.76	55±15.62	0.227
VKI (kg/m ²)	31.48±4.92	32,55±4,91	0,560	29.62±3.21	32.12±3.81	0,079	25.24±1.12	25.50±1.08	0,802
SBP (mmHg)	123.55±16.24	112,5±9,57	0,180	124.48±12.70	142±20.49	0,043*	112.30±9.08	116.66±5.77	0.313
DBP (mmHg)	77.42±7.73	72.5±9.57	0,512	78.28±6.58	88±8.36	0,524	75±7.07	80±0.7	0.239
rs854560 (L55M)									
Genotip N	Tip 2 DM			DN			Kontrol		
	LL	MM	p	LL	MM	p	LL	MM	p
Yaş (yıl)	52.05±6.64	52.50±6.57	0.640	49.50±11.01	54.80±10.71	0.663	51.74±11.63	43±3.46	0.209
VKI (kg/m ²)	30.28±4.35	32.94±3.88	0.771	28.82±2.97	31.20±4.98	0.132	25.27±1.03	25.23±1.07	0.996
SBP (mmHg)	121.90±17.21	128.75±14.6	0.964	127.91±16.41	120±14.9	0.316	115.88±7.83	113.33±11.55	0.351
DBP (mmHg)	76.66±7.96	80±9.25	0.671	79.58±6.9	75.72±9.71	0.278	76.17±6.52	76.66±5.57	0.580

QQ: yabanil tip polimorfizm göstermeyen genotip, RR: polimorfizm gösteren genotip, DBP: diastolik kan basıncı, SBP: sistolik kan basıncı, VKİ: vücut kitle indeksi,

Tip 2 DM hastalarında Q192R polimorfizmi için QQ ve RR genotipleri arasında AKŞ, eGFR ve idrar kreatin değerlerinin anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). HbA1c, üre, kreatin, trigliserit, total kolesterol, LDL, HDL ve idrar mikroalbumin değerleri anlamlı değildi ($p > 0.05$). DN hastalarında ve kontrol grubunda biyokimyasal verilerin QQ ve RR genotipleri arasında anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0.05$) (Tablo 8.). Tip 2 DM hastalarında L55M polimorfizmi için LL ve MM genotipleri arasında HDL, eGFR ve idrar kreatin de-

ğerlerinin anlamlı olduğu; AKŞ, HbA1c, üre, trigliserit, total kolesterol, LDL, HDL ve idrar mikroalbumin değerlerinin anlamlı olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$). DN grubunda LL ve MM genotipleri eGFR değerlerinin anlamlı olduğu; AKŞ, HbA1c, üre, kreatin, trigliserit, total kolesterol, LDL, HDL, idrar mikroalbumin ve idrar kreatinin değerlerinin anlamlı olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$). Kontrol grubunda LL ve MM genotipleri arasında biyokimyasal verilerin anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0.05$) (Tablo 9).

Tablo 8. Çalışma Gruplarında Q192R Polimorfizmi için Polimorfizm Göstermeyen ve Homozigot Polimorfizm Gösteren Bireyler Arasında Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması

rs662 (Q192R)										
Çalışma Grubu		Tip2 DM			DN			Kontrol		
Genotip	QQ	RR	p	QQ	RR	p	QQ	RR	p	
Genotip Sayısı(n)	31	4		29	5		26	3		
AKŞ (mg/dl)	167.45±63.76	178.25±14.56	0.022*	202.72±91.42	217.4±134.34	0.09	89.42±10.58	97.66±13.05	0.694	
HbA1c (%)	7.68±2.71	7.93±2.45	0.478	9.44±2.78	8.47±1.79	0.156	5.15±0.36	5.02±0.16	0.164	
Üre (mg/dl)	32.02±18.48	42.07±25.2	0.219	39.14±28.14	35.95±10.41	0.376	25.68±8.05	31.38±10.11	0.625	
Kreatin (mg/dl)	0.85±0.38	0.983±0.37	0.593	1.004±0.55	1.04±0.35	0.720	0.72±0.19	0.70±0.26	0.418	
Trigliserit (mg/dl)	249.32±284.44	238.25±80.44	0.432	214.86±151.09	192.4±80.08	0.355	149.65±81.9	105.66±23.45	0.277	
Total Kolesterol (mg/dl)	192.7±55.11	204±28.57	0.389	178.75±48.16	155.4±45.91	0.875	178.03±74.57	128.66±51.86	0.685	
LDL (mg/dl)	91.75±39.75	84.27±31.26	0.319	91.49±43.65	71.52±37.65	0.590	75.50±34.50	73.4±1.21	0.100	
HDL (mg/dl)	53.33±35.01	43.08±10.55	0.129	40.88±11.28	39.8±12.63	0.797	78.51±53.50	42±5.29	0.141	
eGFR (ml/dk)	94.14±17.27	71±28.67	0.048*	83.13±24.01	77.6±17.75	0.471	104.69±21.36	101.33±24.41	0.778	
İdrar (mg/gr) mikroalbumin	10.91±14.33	3.37±1.42	0.067	146.47±211.2	186.8±223.74	0.680	-	-	-	
İdrar Kreatin (ml/dk)	141.28±67.89	198.38±256.83	<0.01*	108.45±79.18	83.04±50.62	0.501	-	-	-	

QQ: yabani tip polimorfizm göstermeyen genotip, RR: polimorfizm gösteren genotip,

AKŞ: açlık kan şekeri, eGFR: tahmini glomerüler filtreleme oranı, HbA1c: hemoglobinA1c, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein

Tablo 9. Çalışma Gruplarında L55M Polimorfizmi için Polimorfizm Göstermeyen ve Homozigot Polimorfizm Gösterenler Arasında Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması

Rs854560 (L55M)										
Çalışma Grubu		Tip2 DM			DN			Kontrol		
Genotip	LL	MM	p	LL	MM	p	LL	MM	p	
Genotip Sayısı(n)	21	8		29	5		26	3		
AKŞ (mg/dL)	161.47±62.69	158.37±44.34	0.092	221.95±94.64	179.5±87.47	0.715	88.44±10.61	87.33±4.51	0.075	
HbA1c (%)	7.49±2.68	7.95±2.77	0.216	9.71±2.09	8.46±3.14	0.979	5.12±0.3	5.18±0.27	0.587	
Üre (mg/dL)	30.99±14.80	31.30±9.31	0.486	38.58±22.04	33.67±9.36	0.149	26.96±8.85	28.53±12.35	0.412	
Kreatin (mg/dL)	0.85±0.42	0.79±0.17	0.073	1.04±0.64	0.88±0.19	0.129	0.73±0.21	0.63±0.12	0.357	
Trigliserit (mg/dL)	183.24±127.94	168.25±80.65	0.561	215±101.67	207.3±126.57	0.958	145.7±75.89	113.33±22.74	0.212	
Total Koles. (mg/dL)	177.23±45.87	210.37±68.06	0.300	171.36±41.59	173.1±46.11	0.502	166.58±71.86	142.66±41.68	0.390	
LDL (mg/dL)	81.81±35.4	100.46±46.68	0.182	85.94±36.21	82.22±40.45	0.539	67.47±26.31	76.13±2.01	0.087	
HDL (mg/dL)	57.45±37.26	42.63±10.76	0.022*	40.18±9.93	41.5±11.01	0.583	76.75±49.28	41.8±5.07	0.119	
eGFR (ml/dk)	91.85±19.44	102±6.14	0.003*	87.54±30.32	78.9±13.27	0.039*	102.85±21.65	121.33±16.5	0.387	
İdrar (mg/gr) mikroalbumin	8.59±9.29	7.12±6.29	0.106	144.83±233.11	235.5±366.44	0.213	-	-	-	
İdrar Kreatin (ml/dk)	121.45±78.39	130.98±25.19	0.013*	86.97±76.47	102.75±47.47	0.320	-	-	-	

LL: yabani tip polimorfizm göstermeyen genotip, MM: polimorfizm gösteren genotip

AKŞ: açlık kan şekeri, eGFR: tahmini glomerüler filtreleme oranı, HbA1c: hemoglobinA1c, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein

Tartışma

DM, birden fazla komplikasyon ile endike olup dünyada en sık rastlanan kronik metabolik bir hastalıktır. Çevresel, fiziksel ve genetik faktörlerin birleşimi sonucu gelişir (18). Metabolik hastalıklar arasında tüm dünyada ilk sıralarda yer alır ve Tip1, Tip2 ve Gestasyonel diyabet olarak üç ana gruba ayrılır (19).

Tip 2 DM, insülin bağımlı olmayan diyabet (NIDDM) türü olarak bilinen, asıl nedeni zamanla gelişen insülin direnci olan, buna ek olarak β hücrelerindeki fonksiyonel bozukluklar ve hepatik glikoz sentez miktarındaki artışların da hastalık gelişiminde önemli rol oynadığı multifaktöryel metabolik bir hastalıktır. Bu hastalıkta Tip 1 DM'un aksine insülin sekresyonu ve üretimi mevcuttur (20,21). Tip2 diyabet çevresel ve genetik etkilere bağlı multifaktöryel bir hastalıktır. Tip 2 DM, genelde monogenik ve poligenik olgular şeklinde iki ana grupta incelenmektedir. Monogenik olgular, tek bir gene bağlı mutasyonlar ve polimorfik yapılar sonucu hastalık oluşumuna yol açarlar. Tip 2 DM'de gençlerde rastlanan erişkin tip DM (MODY) olguları hariç genelde poligenik seyreden ve bireysel farklılıklar gösteren çeşitli genetik varyasyonlar sonucu meydana gelmektedir (22). Diyabete bağlı olarak gelişen nefropati, diyabetik bireyleri etkileyen ikincil önemli komplikasyonlardan biridir. DN ile ilişkili birçok gen varyantları araştırılmıştır (23).

PON1 gen bölgesindeki polimorfizmler enzim aktivitesini etkilemektedir (24). PON1 geni kodlanan bölgede en sık görülen Q192R ve L55M polimorfizmleridir. Bu polimorfizmlerin inme, Tip 2 DM, hiperlipidemi ve koroner arter hastalığı gibi hastalıklarla ilişkisi olduğu ileri sürülmüştür (25,26). Farklı etnik gruplarda yapılan çalışmalarda, PON1 geninin 192. pozisyonda R allelinin bulunmasının ateroskleroz gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (27,28). Liu ve ark. tarafından yapılan meta-analizde PON1 geni Q192R polimorfizminde R alleli ya da RR genotipinin, iskemik inme için risk artırıcı bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (29). Tip 1 diyabetli hastalarda PON1 polimorfizmi ile nefropati gelişiminin ilişkisinin olmadığı raporlanmıştır (30). 2017 yılında yapılan bir çalışmada Tip 1 diyabetli hastalarda L55M ve Q192R polimorfizmlerinin DN gelişiminde rol oynayan genetik belirteçler olabileceği ileri sürülmüştür (31). Jun ve ark. tarafından 2013 yılında yapılan meta-analizde, PON1 geni Q192R ve L55M polimorfizmi ile DN gelişimi arasında bir ilişki bulunmamıştır (32). Alicja ve arkadaşlar tarafından 2020 yılında yapılan bir çalışmada, L55M gen polimorfizminin, hemodiyaliz hastalarında insüline bağımlı olmayan DM nefropatisiyle ilişkisinin olmadığı bildirilmiştir (33).

Çalışmamızda, Tip2 DM hastalarında PON1 geni Q192R ve L55M polimorfizmlerinin genotip dağılımı ve allel frekanslarının DN gelişimine olası etkisi araştırıldı. Tip 2 DM ve kontrol grubu arasında R allel frekansının anlamlı olmadığı, M allel frekansının Tip 2 DM'li grupta anlamlı olduğu görüldü ($p=0.007$). DN ve kontrol grubu arasında R allel frekansının anlamlı olmadığı, M allel frekansının ise DN'li grupta anlamlı olduğu görüldü ($p=0.011$). Tip 2 DM ve DN hasta grupları arasında, RR ve MM mutant genotiplerinin anlamlı olmadığı

görüldü ($p>0.05$). Tip 2 DM grubu ile DN grubu arasında R ve M allel frekanslarının anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$).

Li ve ark. aşikâr nefropatisi olan ve yeni tanı nefropatisi olan Tip 2 DM'li hastalarda HDL-PON1 aktivitesinin azaldığını bulmuşlardır (34). Qujeq ve ark. tuzla uyarılan PON1 genotip ve fenotiplerinin Tip 2 DM'de aterojenik indekslerle ilişkisini incelemişlerdir. LL genotipli bireylerle LM+MM genotipli bireyler arasında ve QQ genotipli bireylerle QR+RR genotipli bireyler arasında demografik özelliklerin anlamlı olmadığını rapor etmişlerdir (35). Ayan ve ark. diyabetli ve başlangıç seviyede DN'li hastalarda paraoksonaz, arilesteraz ve homosistein tiyolaktonaz aktivitelerini incelemişler. Kontrol grubu, Tip 2 DM normoalbuminüri ve Tip 2 DM mikroalbuminüri hasta grupları arasında demografik verilerin anlamlı olmadığını bildirmişlerdir (36).

Çalışmamızda; kontrol, Tip 2 DM ve DN hasta grubu arasındaki biyokimyasal parametreleri hastalığa etkisi yönünden inceledik. Ayrıca her parametreyi, PON1 polimorfizm (yabanil tip (QQ-LL) ve homozigot mutant tip (RR-MM)) genotipleri arasında istatistiksel olarak karşılaştırdık. Ayrıca DN gelişiminde, biyokimyasal parametrelerin genotip ve alleller arasındaki farklılıklarını inceledik.

Çalışmamızda Tip 2 DM, DN ve kontrol grubunda VKİ değerlerine bakıldığında her iki hasta grubunda VKİ değerlerinin, kontrol grubundakine göre daha yüksek olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0.01$).

Buna ek olarak Tip 2 DM, DN ve kontrol grubu arasında bireylerin VKİ değerleri Q192R ve L55M polimorfik bölgeleri için yabanil tip ve homozigot mutant genotipler (QQ-RR ve LL-MM) arasında karşılaştırıldığında, RR ve MM genotipine sahip bireylerde VKİ ortalamaları daha yüksek görülsede, sonuçların anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$).

Qujeq ve arkadaşları, LL ve LL+MM genotiplerine sahip bireyler arasında biyokimyasal parametreleri karşılaştırmışlar. AKŞ, trigliserit, total kolesterol ve LDL değerleri LL+MM genotipine sahip bireylerde daha yüksek olduğunu ancak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. QQ ve QR+RR genotiplerine sahip bireyler arasında biyokimyasal parametreleri karşılaştırdıklarında AKŞ, HbA1c, trigliserit, total kolesterol ve LDL değerlerinin QQ genotipine sahip bireylerde daha yüksek olduğu görülmüştür. QQ ve QR+RR genotipli bireyler arasında LDL değerlerinde anlamlı bir fark olduğu, diğer parametrelerin anlamlı olmadığı görülmüştür (35).

Ayan ve arkadaşlarının, diyabetli ve başlangıç seviyede DN'li hastalarda paraoksonaz, arilesteraz ve homosistein tiyolaktonaz aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmada; kontrol grubu, diyabetli normoalbuminüri grubu ve diyabetli mikroalbuminüri grubu bireyleri arasında HbA1c, eGFR, Kreatinin, LDL, HDL, trigliserit, total kolesterol, idrar albümini ve idrar kreatini gibi biyokimyasal parametreler karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında HbA1c, HDL, kreatinin, trigliserit ve idrar albümin değerlerinin anlamlı olduğunu ancak eGFR, LDL, total kolesterol ve idrar kreatin değerlerinin anlamlı olmadığını bildirmişlerdir (36).

Çalışmamızda, Tip 2 DM, DN ve kontrol grubunda, AKŞ,

HbA1c, Üre, Trigliserit, Total Kolesterol, HDL, eGFR, idrar mikroalbümin ve idrar kreatin değerlerinin anlamlı olduğu görülürken ($p<0.05$), LDL ve kan kreatin değerlerinin anlamlı olmadığı görüldü. Ayrıca hasta grupları ve kontrol grubundaki bireylerin biyokimyasal parametrelerini, PON1 Q912R ve L55M polimorfik bölgeleri için yabanil tip ve homozigot mutant genotipler (QQ-RR ve LL-MM) arasında karşılaştırdık. QQ ve RR genotipleri arasında, AKŞ değerlerinin Tip 2 DM grubunda anlamlı olduğu ($p=0.002$), DN ve kontrol grubunda anlamlı olmadığı görüldü. LL ve MM genotipleri arasında ise AKŞ değerlerinin gruplar arasında anlamlı olmadığı görüldü.

Tip2 DM hasta grubunda HDL değerlerinin, QQ ve RR genotipleri arasında anlamlı olmadığı, LL ve MM genotipleri arasında ise anlamlı olduğu görüldü ($p=0.022$). eGFR değerlerinin; Tip 2 DM hasta grubunda QQ ve RR genotipleri arasında anlamlı olduğu ($p=0.048$), DN ve kontrol grubunda anlamlı olmadığı görüldü. LL ve MM genotipleri arasında, Tip 2 DM ve DN grubunda anlamlı olduğu (sırasıyla $p=0.003$, $p=0.039$), kontrol grubunda ise anlamlı olmadığı görüldü. İdrar mikroalbümin değerlerinin; Tip 2 DM, DN ve kontrol grubunda QQ-RR ve LL-MM genotipleri arasında anlamlı olmadığı görüldü. İdrar kreatin değerleri; Tip 2 DM grubunda QQ-RR ve LL-MM genotipleri karşılaştırıldığında anlamlı olduğu görüldü ($p=0.013$). Ancak DN grubunda QQ-RR ve LL-MM genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olmadığı görüldü.

Sonuç

Çalışmamızda, PON1 L55M polimorfizmi ile Tip2 DM ve DN arasında anlamlı ilişki olduğu, PON1 Q192R polimorfizmi ile Tip2 DM ve DN arasında anlamlı ilişki olmadığı görüldü. M allel frekansının Tip2 DM ve DN hasta grubunda anlamlı çıkması (sırasıyla; $p=0.007$, $p=0.011$), PON1 L>M polimorfizminin bu hastalıkların gelişiminde risk faktörü olarak değerlendirilmesinin uygun olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmaya katılan kişi sayısının az olması, çalışmanın kısıtlayıcı faktörü olarak gösterilebilir. Tip2 DM ve DN ile bu polimorfizmler arasındaki ilişkiyi doğrulamak için yapılacak olan çalışmalarda kişi sayısının artırılması uygun olacaktır.

Teşekkür

Yüksek Lisans Öğrencisi Uzman Oğuzhan KENGER, çalışmaya katkısı olmuş ancak makalenin yazım aşamasında vefat etmiştir. Kendisine yapmış olduğu katkılardan dolayı teşekkür ederiz.

Etik onam: Çalışma için, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 08.09.2019 tarih ve 19/09/52 sayılı onay alındı. Çalışma Helsinki Bildirisi'ne uygun olarak yapıldı.

Yazar Katkıları:

Konsept: A., O.K., M.A. E.

Literatür Tarama: F.A., O.K.

Tasarım: F.A., O.K.

Veri toplama: F.A., O.K.

Analiz ve yorum: F.A., O.K.

Makale yazımı: F.A.

Eleştirel incelenmesi: F.A., M.A.E.

Çıkar Çatışması: Herhangi bir çıkar çatışmamız bulunmamaktadır.
Finansal Destek: Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Kurulu (HÜBAP) tarafından 19251 nolu proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Kuzuya T, Nakagawa S, Satoh J, Kanazawa Y, Iwamoto Y, Kobayashi M, et al. Report of the Committee on the Classification and Diagnostic Criteria of Diabetes Mellitus, Diabetes Research and Clinical Practice, 2002;55, 65-85.
2. Amaral S, Oliveira P J, Ramallo-Santos J. Diabetes and the Impairment of Reproductive Function: Possible Role of Mitochondria and Reactive Oxygen Species, Current Diabetes Reviews, 2008;4, 46-54.
3. Puavilai G, Chanprasertyotin S, Sriphrapadaeng A. Diagnostic Criteria for Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance: 1997 Criteria by the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (ADA), 1998 WHO Consultation Criteria, and 1985 WHO Criteria, Diabetes Research and Clinical Practice, 1999;44, 21-26.
4. Heydari I, Radi V, Razmjou S, Amiri A. Chronic Complications of Diabetes Mellitus in Newly Diagnosed Patients, International Journal of Diabetes Mellitus, 2010;2(1), 61-63.
5. Ryden L, Standhl E, Bartnik M, Berghe GVD, Betteridge J. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular disease. EurHeart J 2007; 28: 88-136.
6. D Deshpande A, Harris-Hayes M, Schootman M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. Phys Ther. 2008;88(11):1254-64
7. Cho NH, Kirigia J, Mbanya JC, Ogurustova K, Guariguata L, Rathmann W et al. Diabetes Atlas. International Diabetes Federation. 8th edition, 2017; 14(5):120-40.
8. Said G. Diabetic Neuropathy: An update. J Neurol 1996; 243(6):431-40.
9. Lippert J, Ritz E, Schawarzberg A, Schneider P. The rising tide of end-stage renal failure from diabetic nephropathy type II—an epidemiological analysis. Nephrol Dial Transplant 1995; 10: 462-7.
10. Bingöl G., Topbaş E. Diyabetik Nefropati Evreleri ve Evrelere Özgü Hemşirelik Yaklaşımı. Türk Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Hemşireleri Derneği Nefroloji Hemşireliği Dergisi 2018;2 (13).
11. Motti C, Dessi M, Gnasso A, Irace C, Indigeno P, Angelucci CB, et al. A multiplex PCR-based DNA assay for the detection of paraoxonase gene cluster polymorphisms. Atherosclerosis 2001;158:35-40
12. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. J Clin Invest. 1998; 101(8):1581-1590
13. Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. Atherosclerosis. 1995; 115(2): 243-253
14. Costa LG., Vitalone A., Cole TB., Furlong. Modulation of Paraoxonase (PON1) activity Biochem Pharmacol. 2005; 69 : 541-550
15. Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1 Clinical Science 2004;107: 435-447
16. Aviram M. Does paraoxonase play a role in susceptibility to

- cardiovascular disease? *Mol Med Today* 1999;5:381-6.
17. Akbas H, Kahraman S, Sak S, Akkafa F. Minor variant of AHS6 gene 767C>G polymorphism may decrease the risk of gestational diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol.* 2019 Jul 24;1-5.
 18. Özdemir İ., Hocaoğlu Ç. Tip 2 diabetes mellitus ve yaşam kalitesi: Bir gözden geçirme. *Göztepe Tıp Dergisi* 2009;24(2):73-78.
 19. Kahn B B. Type 2 Diabetes: When Insulin Secretion Fails to Compensate for Insulin Resistance, *Cell*, 1998;92, 593-596,
 20. Satman İ. ve TURDEP Çalışma Grubu. (2011)
 21. Groop LC, Widen E, Ferrannini E. Insulin resistance and insulin deficiency in pathogenesis of type 2 diabetes. *Errors of metabolism or methods. Diabetologia* 36: 1326-1331, 1993.
 22. Tsai FJ, Yang CF, Chen CC, Chuang LM, Lu CH, Chang CT, et al., A genome-wide association study identifies susceptibility variants for type 2 diabetes in Han Chinese. *PLoS Genet*, 2010; 19;6(2)
 23. Rizvi S., Raza S.T., Mahdi F. Association of genetic variants with diabetic nephropathy, *World J Diabetes.* 2014 Dec 15;5(6):809-16. doi: 10.4239/wjd.v5.i6.809.
 24. Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B alleles. *Am J Hum Genet* 1993;52:598-608
 25. Fortunato G, Rubba P, Panico S, Trono D, Tinto N, Mazzaccara C, et al. A paraoxonase gene polymorphism, PON 1 (55), as an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in middle-aged women. *Atherosclerosis* 2003;167(1):141-8.
 26. 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;33(6):1459-64.
 27. Sanghera DK, Saha N, Aston CE, Kamboh MI. Genetic polymorphism of paraoxonase and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(6):1067-73
 28. Antikainen M, Murtomäki S, Syväne M, Pahlman R, Tahvanainen E, Jauhainen M, et al. The Gln-Arg191 polymorphism of the human paraoxonase gene (HUMPONA) is not associated with the risk of coronary artery disease in Finns. *J Clin Invest* 1996;98(4):883-5.
 29. Liu H, Xia P, Liu M, Ji XM, Sun HB, Tao L, et al. PON gene polymorphisms and ischaemic stroke: a systematic review and meta analysis. *Int J Stroke.* 2013;8(2):111-123.
 30. Araki S, Makita Y, Canani L, Ng D, Warram J.H, Krolewski A.S. Polymorphisms of human paraoxonase 1 gene (PON1) and susceptibility to diabetic nephropathy in Type I diabetes mellitus, *Diabetologia* 2000;43,1540-1543.
 31. Fekih O, Triki S, Rejeb J, Neffati F, Douki W, Ommezine A, et al. Paraoxonase 1 polymorphisms (L55M and Q192R) as a genetic marker of diabetic nephropathy in youth with type 1 diabetes, *Endokrynologia Polska* 2017;68(1):35-41.
 32. Wang J, Yang MM, Rong SS, Ng TK, Li YB, Liu XM. Association of paraoxonase gene polymorphisms with diabetic nephropathy and retinopathy, *Molecular Medicine Reports*, 2013, 1845-1851.
 33. Grzegorzewska AE, Ostromecka K, Adamska P, Mostowska A, Warchoń W, Jagodziński PP. Paraoxonase 1 gene polymorphisms concerning non-insulin-dependent diabetes mellitus nephropathy in hemodialysis patients, *Journal of Diabetes and its Complications*, 2020;34,(11), 107687
 34. Li C, Gu Ç. Protective effect of paraoxonase 1 of high-density lipoprotein in type 2 diabetic patients with nephropathy, *Nephrology (Carlton)*, 2009;14(5):514-20.
 35. Qujeq D, Mahrooz A, Alizadeh A, Masoumi P, Annemohammadzadeh S, Boorank R. Genotype and phenotype of salt-stimulated paraoxonase 1 (PON1) is associated with atherogenic indices in type 2 diabetes, *J Diabetes Metab Disord.* 2018;17(1): 1-10.
 36. Ayan D, Şeneş M, Çaycı AB, Söylemez S, Eren N, Altuntaş Y, et al., Evaluation of Paraoxonase, Arylesterase, and Homocysteine Thiolactonase Activities in Patients with Diabetes and Incipient Diabetes Nephropathy, *J Med Biochem.* 2019;38(4): 481-488.