

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Ankara - 2020

## I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özeti

### ÖZET

#### **Dayanıklılık Performansları Yüksek Futbol Hakemlerinin ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi**

İnsan Genom Projesi'nin tamamlanmasının ardından bazı genetik polimorfizmlerin atletik performansla ilişkisi olabileceği tespit edilmiş ve bu sayının en güncel literatürlerde 120'yi aştiği kaydedilmiştir (Szalata ve ark., 2019). Bu genler arasında en sık araştırılanlardan birisi damar genişlemesi ve daralmasıyla ilişkisi bulunan ACE genidir. ACE geninin atletik performansla ilişkisi sıklıkla araştırılmış olsa da, kas yapısıyla yüksek derecede ilişkisi bulunan SOX15 ve HGF genlerindeki polimorfizmlerin atletik performansla ilişkisini inceleyen araştırmalar literatürde henüz bulunmamaktadır. Bu araştırmada, 12 dk. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşabilen futbol hakemlerinin ( $n = 30$ ) ACE I/D (rs4646994), SOX15 T/G (rs4227) ve HGF C/A (rs5745697) polimorfizmleri, sporcu lisansı bulunmayan kontrol grubu ( $n = 30$ ) ile karşılaştırılmıştır. Araştırma için AÜTF Klinik araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Karar No: 05-409-19). Araştırma için hücreler rımel tipi sinear firçalarla katılımcıların yanak iç bölümünden sürüntü örneği şeklinde alınmış ve SNP'ler özel bir laboratuvara incelenmiştir. Araştırma sonucunda ACE I/D polimorfizmi açısından hakemler ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p > 0,05$ ). SOX15 T/G polimorfizmi açısından hakemler ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Futbol hakemlerinde SOX15 T allele frekansı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha fazladır. HGF C/A polimorfizmi açısından anlamlı bir fark kaydedilmemiştir ( $p > 0,05$ ). ACE I/D polimorfizminin dayanıklılık belirteci olarak gösterilmesinin ardından, yakın tarihlerde yapılan çok sayıda araştırmada bu polimorfizmin dayanıklılık performansıyla ilişkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu araştırmada da ACE I/D polimorfizmin dayanıklılıkla ilişkisi anlamsız bulunmuştur. Ayrıca araştırmamızda, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmlerinin dayanıklılık performansı ile ilişkisi ilk kez incelenmiş ve SOX15 T/G polimorfizminin dayanıklılıkla istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi ilk kez gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** ACE, HGF, Polimorfizm, SOX15, Spor Genetiği

7946

## SUMMARY

### **Analysis of ACE I/D, SOX15 T/G and HGF C/A Gene Polymorphisms of Football Referees with High Endurance Performances**

After the completion of the Human Genome Project, it has been determined that various genetic polymorphisms may be associated with athletic performance and this number has exceeded 120 in the most recent literature (Szalata et al., 2019). One of the most frequently studied among these genes is the ACE gene, which is associated with vasodilation and narrowing. Although the relationship of ACE gene with athletic performance is frequently investigated, there are no studies in the literature that investigate the relationship between polymorphisms and athletic performance in SOX15 and HGF genes, which are highly correlated with muscle structure. In this study, ACE I/D (rs4646994), SOX15 T/G (rs4227) and HGF C/A (rs5745697) polymorphisms of football referees ( $n = 30$ ) who could run 3000 m and above from the Cooper endurance test were compared with the control group ( $n = 30$ ). Ethical approval was obtained from the AUTF Clinical Research Ethics Committee for the research (Decision No: 05-409-19). Cells for the study were taken as a swab sample from the cheek interior of the participants using a buccal swab and SNPs were examined in a private laboratory. As a result of the study, no significant difference was found of ACE I/D polymorphism between the referees and the control group ( $p > 0.05$ ). In terms of SOX15 T/G polymorphism, a statistically significant difference was found between the referees and the control group ( $p < 0.05$ ). In football referees, the frequency of SOX15 T allele is significantly higher than the control group. There was no significant difference in terms of HGF C/A polymorphism ( $p > 0.05$ ). After ACE I / D polymorphism has been shown as an endurance marker, recent studies have shown that this polymorphism is not related to endurance performance. Similarly, in our study, the relationship between ACE I/D polymorphism and endurance performance was found meaningless. In addition, the relationship between SOX15 T/G and HGF C/A polymorphisms and endurance performance was investigated for the first time in our study and the statistically significant relationship of SOX15 T/G polymorphism with endurance was shown for the first time.

**Keywords:** ACE, HGF, Polymorphism, SOX15, Sports Genetics

1946

## II. Amaç ve Kapsam

Genetiğin dayanıklılık performansıyla ilişkisini gösteren binlerce araştırma bulunmasına rağmen, futbol hakemlerinde dayanıklılık ve genetik ilişkisini inceleyen araştırmalar oldukça az sayıdadır. Bu araştırmada futbol hakemlerinin, bir üst klasmana yükselmesi aşamasında sıkılıkla uygulanan bir test olan Cooper testinden birkaç kez 3000 m ve üzerinde performans gösterebilmiş futbol hakemlerinin ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmleri incelenmiştir.

## III. Materyal ve Yöntem

### Araştırma Grubu

Bu araştırmada, futbol hakemlerinin seçimi ve klasman yükseltilmesinde periyodik olarak kullanılmakta olan 12 dk. Cooper Testi sonuçları Ankara İl Hakem Kurulu'ndan izin alınarak incelenmiş ve son üç koşuda da 3000 m ve üzerinde mesafe kat edebilmiş 30 futbol hakemi araştırmaya katılmıştır. Araştırmaya katılan futbol hakemlerinin demografik verileri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Çizelge 2.1). Araştırmada yer alan tüm hakemlerden bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alınmıştır.

Araştırmada kontrol grubu olarak, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi'nden, sporcu lisansına sahip olmayan geçmişinde de sporcu lisansı almamış ve günlük işler dışında herhangi bir ekstra fiziksel aktivite yapmayan otuz gönüllü öğrenci yer almıştır. Kontrol grubu seçiminde bu koşulların aranılmasıyla, kontrol grubunun dayanıklılık seviyesi açısından mümkün olduğu kadar genel popülasyonu yansıtılabilmesi amaçlanmıştır. Araştırmaya katılan kontrol grubunun demografik verileri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Çizelge 1). Araştırmaya kontrol grubu olarak katılan tüm öğrencilerden bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alınmıştır.

	Sayı	Yaş	Boy (cm)	Vücut Ağırlığı (Kg)
Hakemler	30	23,33 ± 2,52	178,19 ± 5,23	72,64 ± 7,16
Kontrol	30	22,47 ± 1,92	173,71 ± 7,02	76,81 ± 9,62

Çizelge 1. Hakem ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri

### İncelenenek SNP'ler

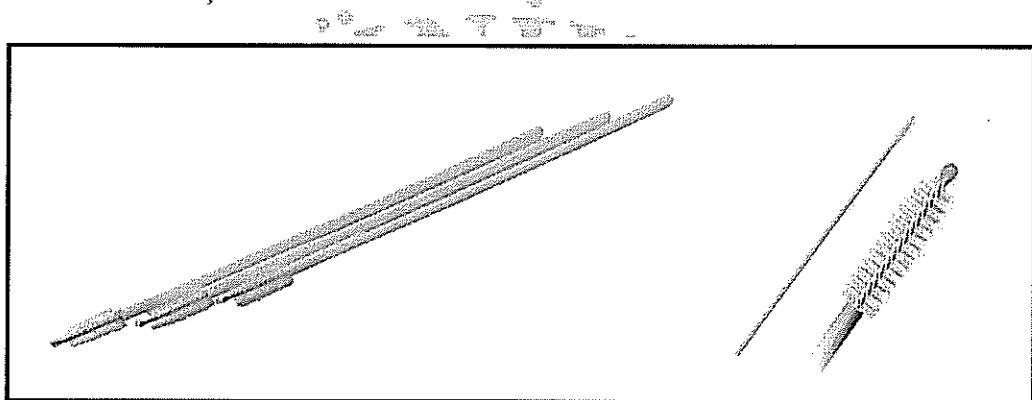
Araştırmada ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmleri inclenecektir. İncelenenek SNP'lerin detayları Çizelge 2'de gösterilmiştir (Çizelge 2).

Gen	Polimorfizm	SNP Kodu
ACE	I/D	rs4646994
SOX15	T/G	rs4227
HGF	C/A	rs5745697

## Çizelge 2. Araştırmada incelenen SNP'ler

### Araştırma Grubundan DNA Eldesi

Araştırma grubundan DNA elde edilmesi için, orijinal ismi Buccal Swab olan, tek kullanımlık steril, rimel tipi smear fırçaları kullanılmıştır (Şekil 1). Katılımcıların her iki yanak iç bölgesine steril fırçalar 1 dk kadar sürüldükten sonra yanak içi sürüntü örnekleri içerisinde izotonik su (%0,9 NaCl) bulunan eppendorf tüplerine fırçanın ucu batırılarak alınmıştır.



Şekil 1. Rımel Tipi Smear Fırça

### DNA Izolasyonu

Tüm laboratuvar analizleri İntergen Genetik Merkezi’nde hizmet alımı ile yapılmıştır. DNA izolasyonu için magnetik boncuk yöntemi kullanan otomatize bir sistem kullanılmıştır. İzolasyon için Zinexts - MagPurix Kit (ZP02001) kullanılmıştır.

### Primer Tasarımı

Çalışılan 3 polimorfizm için 3 çift polimeraz zincir reaksiyonu (Orijinal adı ve kısaltması: Polymerase Chain Reaction, PCR) primeri tasarlanmıştır. SOX15 ve HGF polimorfizmlerinde, PCR sonucunda elde edilecek amplikonların, indeksleme PCR’ı sayesinde direkt olarak dizilebilmesi için primerlerin 5' uçlarına uygun diziler eklenmiştir. ACE polimorfizmi için ise agaroz jel elektroforezi kullanılarak genotipleme yapıldığı için 5' uçlarına dizi eklenmemiştir. Kullanılan primerler ve amplikon boyları Çizelge 3'de gösterilmiştir (Çizelge 3).

<b>SOX15_SNP1_F</b>	ATTTGAGTGCTTCGTAAGCCCTGTAC	
<b>SOX15_SNP1_R</b>	TGCCCGTCCAGACTCAGTCTTCCAG	173 bp
<b>HGF_SNP2_F</b>	AAGAATGAAAGTCAAGATTGCCAG	
<b>HGF_SNP2_R</b>	AACATGAAATATTACTGCCACTTGC	210 bp
<b>ACE_DL_F</b>	GGACTCTGTAAGCCACTGCTGGA	
<b>ACE_DL_R</b>	TCCCATGCCATAACAGGTCTTC	1: 530 bp

Çizelge 3: İncelenenek polimorfizmler için hazırlanan primerler

### Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Çalışılacak polimorfizm bölgelerinin PCR ile amplifikasyonu, yeni nesil sekanslamaya uygun olarak tasarlanan primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR koşulları Çizelge 4'te sunulmuştur (Çizelge 4). PCR sonuçları %2'lik agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir.

İçerik	Reaksiyon Başına Miktar ( $\mu$ l)
dH <sub>2</sub> O	15
5x Tampón (Thermo Inc.)	5
dNTP karışımı, her biri 10mM	0,5
İleri Primer (5 $\mu$ M)	1
Gen Primer (5 $\mu$ M)	1
PhireII HS DNA Polimeraz. (Thermo Inc.)	0,5
Kalıp DNA (20-50 ng/ $\mu$ l)	2
<b>Toplam</b>	<b>25</b>

Çizelge 4. PCR Koşulları

### Yeni Nesil Sekanslama İçin İndeksleme PCR'ı

Her bir örnek için farklı bir set primer çifti kullanılarak örnekler hem indekslenmiş hem de yeni nesil sekanslamaya uygun hale getirilmiştir. Bu aşamada kalıp olarak ilk PCR da elde edilen ürünlerin karışımı kullanılmıştır. PCR koşulları Çizelge 5'te gösterilmiştir (Çizelge 5). Reaksiyon sonuçları %2'lik agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir.

İçerik	Reaksiyon Başına Miktar ( $\mu$ l)
dH <sub>2</sub> O	17
5x Tampon (Bioline Inc.)	5
İleri Primer (5 $\mu$ M)	1
Geri Primer (5 $\mu$ M)	1
MyTaq DNA Polimeraz (Bioline Inc.)	0,5
Kalıp DNA (PCR ürünü)	0,5
Toplam	25

Çizelge 5. Yeni nesil sekanslama için indeksleme PCR koşulları.

### PCR Havuzu Oluşturma

Her bir örnek için elde edilen PCR ürünleri, reaksiyon verimliliği göz önünde bulundurularak, her bir örneğin yaklaşık eşit oranda temsil edileceği şekilde karıştırılmıştır.

### Saflaştırma ve Ölçüm

Oluşturulan PCR havuzu, MN – NucleoFast 96 kiti kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırılan PCR havuzu Nanodrop – ND1000 spektroskopometre yardımcı ile ölçülmüştür.

### Yeni Nesil Sekans

Illumina firmasının Miseq cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İndeksleme PCR'ı yapıldığı için ayrıca örnek hazırlama kiti kullanılmamıştır; ölçülen saflaştırılmış ürün uygun bir şekilde seyreltilerek direkt olarak yüklenmiştir. Sekanslama için v2 300cy kiti kullanılmıştır. Illumina firmasının Miseq Reporter yazılımı ve Broad Institute tarafından geliştirilen IGV 2.3 yazılımı kullanılarak, örneklerin analizi yapılmıştır.

### İstatistiksel Analiz

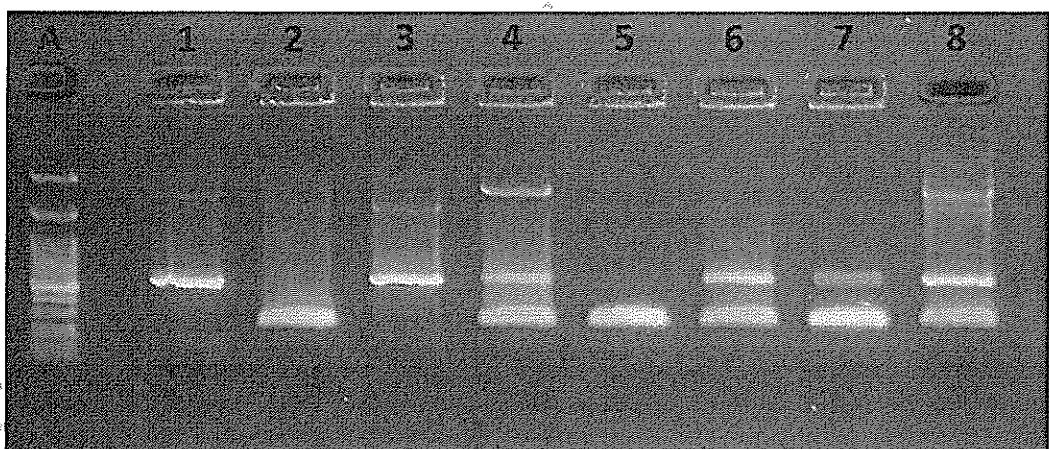
ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmlerinin araştırma grubunda Hardy-Weinberg eşitliği için allele dağılımı test edilmiştir (Malhotra ve ark., 1996). Analiz için IBM SPSS Statistics 24 programı kullanılmıştır. Gruplar arasında anlamlı farklılık olup olmadığı Chi square/Fisher's Exact testi ile analiz edilmiştir (Malhotra ve ark., 1996). Minimum güven düzeyleri %95 ( $p<0,05$ ) olarak belirlenmiştir.

## IV. Analiz ve Bulgular

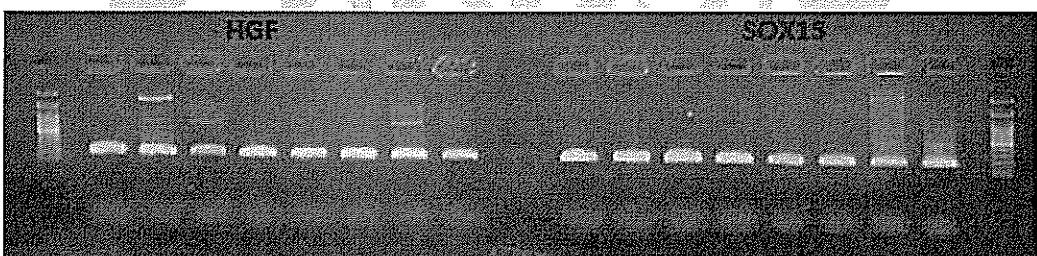
Bu araştırmada 12 dk. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşabilen 30 futbol hakeminin ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmleri, spor yapmayan

30 kişinin polimorfizmleri ile karşılaştırılmıştır. Araştırma grubunda Hardy-Weinberg eşitliği için allel dağılımı test edilmiş ve dengede olduğu kaydedilmiştir ( $n = 60$ ; ACE I/D;  $p = 0,575$ ;  $q = 0,425$ ;  $P = 0,094781$ ; SOX15 T/G;  $p = 0,817$ ;  $q = 0,183$ ;  $P = 0,3965$ ; HGF C/A;  $p = 0,117$ ;  $q = 0,883$ ;  $P = 0,818352$ ).

PCR sonrasında ACE I/D polimorfizmini için örnek jel elektroforez görüntüleri Şekil 2'de gösterilmiştir (Şekil 2). SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmleri için örnek görüntüler Şekil 3'te gösterilmiştir (Şekil 3).



Şekil 2. ACE için örnek agaroz jel elektroforez sonuçları. A: Ladder: 100 bp. 8. Kuyu: ID genotipine sahip pozitif kontrol örneği. 1 ve 3 nolu örnekler II, 2 ve 5 nolu örnekler DD, 4, 6 ve 7 nolu örnekler ID.



Şekil 3. Örnek agaroz jel elektroforez sonuçları: 1 – 8 arası kuyucuklar: HGF polimorfizmi, 9 – 16 arası kuyucuklar: SOX15 polimorfizmi. Ladder: 100 bp.

1946

ACE I/D polimorfizmi (rs4646994) açısından 12 dk. Cooper testinden 3000 m ve üzeri koşabilen hakemlerle kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. İstatistiksel analizler sonucunda futbol hakemleri ile kontrol grubu arasında ACE I/D polimorfizmi açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Futbol hakemlerinde hem II (%2 fazla) hem de DD (%10 fazla) genotipi sıklığı kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Bulunan farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Genotip sayıları ve oranları Çizelge 6'da gösterilmiştir (Çizelge 6).

Genotip	Hakemler (n = 30)	Kontrol (n = 30)
DD	13 (%43)	10 (%33)
ID	9 (%30)	14 (%47)
II	8 (%27)	6 (%20)
Allel		
D	35 (%58)	34 (%57)
I	25 (%42)	26 (%43)

*p*>0,05

Çizelge 6. ACE I/D Polimorfizmi Genotip Sayıları

Benzer şekilde SOX15 T/G polimorfizmini (rs4227) açısından 12 dk. Cooper testinden 3000 m ve üzeri koşabilen hakemlerle kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Yapılan istatistiksel analizler SOX15 T/G polimorfizmini açısından hakemler ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur (*p* < 0,05). Hakemlerde TT ve TG genotipi %42 (TT: 2, TG: 11) sıklıktaken, kontrol grubunda %20 (TT: 1, TG: 5) sıklıkta olduğu tespit edilmiştir. Genotip sayıları ve oranları Çizelge 7'de gösterilmiştir (Çizelge 6).

Genotip	Hakemler (n = 30)	Kontrol (n = 30)
GG	17 (%56)*	24 (%80)*
TG	11 (%37)*	5 (%17)*
TT	2 (%7)*	1 (%3)*
Allel		
G	45 (%75)*	53 (%88)*
T	15 (%25)*	7 (%12)*

\**p*<0,05

Çizelge 7. SOX15 T/G Polimorfizmi Genotip Sayıları

HGF C/A polimorfizmini (rs5745697) açısından 12 dk. Cooper testinden 3000 m ve üzeri koşabilen hakemlerle kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda hakemler ile kontrol grubu arasında HGF C/A polimorfizmini açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Detaylı sayılar Çizelge 8'de gösterilmiştir (Çizelge 8).

Genotip	Hakemler (n = 30)	Kontrol (n = 30)
CC	1 (%3)	0 (%0)
CA	6 (%20)	6 (%20)
AA	23 (%77)	24 (%80)
Allel		
C	8 (%13)	6 (%10)
A	52 (%87)	54 (%90)

p > 0,05

Cizelge 8 HGF C/A Polimorfizmi Genotip Sayıları

## V. Sonuç ve Öneriler

Bu araştırmada, 12. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşmuş futbol hakemlerinin 3 gen açısından farklılığa sahip olup olmadıkları incelenmiştir. Bu kapsamındaki 30 futbol hakeminin ACE I/D (rs4646994), SOX15 T/G (rs4227) ve HGF C/A (rs5745697) gen polimorfizmleri, sporcu lisansı bulunmayan 30 kontolle karşılaştırılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda ACE I/D polimorfizmini açısından hakemlerle kontrol grubu arasında anlamlı bir fark kaydedilmemiştir ( $p > 0,05$ ). Ancak, spor genetigi araştırmalarının ilki olan Montgomery ve ark. (1998), çalışmalarında ACE I/D polimorfizminin dayanıklılık sporcularında anlamlı şekilde farklı olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmadan ardından ACE I/D polimorfizmini çok sayıda ülkede elit sporcularda incelenmeye başlandı. Örnek olarak İngiliz 5000 m üstü koşucularında (Myerson ve ark., 1999), Hırvat, Rus ve Avusturyalı kürekçilerde (Ahmetov ve ark., 2008), İspanyol elit bisikletçi, uzun mesafe koşucusu ve hentbol oyuncularında, gene İspanyol Ironman atletlerinde (Alvarez ve ark., 2000), Rus orta mesafe yüzüçülerinde (Nazarov ve ark., 2001), İtalyan olimpik dayanıklılık atletlerinde (Scanavini ve ark., 2002), Türk dayanıklılık sporcularında (Turgut ve ark., 2004), Polonyalı kürekçilerde (Cieczczyk ve ark., 2009), Japonya üniversitesi uzun mesafe koşucularında (Min ve ark., 2009) ve Hindistan ordusu atletlerinde (Shenoy ve ark., 2010) ACE I alleli anlamlı şekilde daha fazla sayıda bulunmuştur.

Tüm pozitif sonuçlara rağmen, ACE I/D polimorfizminin atletik performansla ilişkisini araştıran çalışmaların sayısı arttıkça negatif sonuçların sayısı da oldukça fazlalaşmıştır. Öyle ki, bu konudaki en güncel derleme olan Szalata ve ark., (2019) araştırmalarında verilen rakamlara göre ACE I/D (rs4646994) polimorfizminin atletik performansla istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olmadığını gösteren araştırmaların sayısı pozitif araştırmaların sayısını geçmiş durumdadır (Pozitif: 1310; Negatif: 1329).

Örnek olarak; Etiyopya'lı dayanıklılık atletlerinde (Ash ve ark., 2011), Japon dayanıklılık koşucularında (Tobina ve ark., 2010), Rus dayanıklılık atletlerinde (Ahmetov ve ark., 2009), Yunan elit dayanıklılık atletlerinde (Papadimitriou ve ark., 2009), Kenyalı dayanıklılık atletlerinde (Scott ve ark., 2005), Kanadalı, Alman, Finlandiyalı ve Amerikalı dayanıklılık sporcularında (Rankinen ve ark., 2000), Avustralyalı elit dayanıklılık sporcularında (Taylor ve ark., 1999) ve Kafkasyalı

dayanıklılık sporcularında (Orysiak ve ark., 2013) ACE I/D polimorfizmi ile dayanıklılık performansı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmada da benzer şekilde, 12 dk. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşan futbol hakemleri ile lisanslı sporcuyolmayan kontrol grubu arasında ACE I/D polimorfizmini açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.1).

Tobina ve ark. (2010), araştırmaları sonucunda Japon dayanıklılık sporcularında DD ve ID genotipinin daha yüksek sıklıkta olduğunu göstermiştir. Bu araştırmada da benzer şekilde, Cooper testinde yüksek performans gösteren futbol hakemleri arasında DD ve ID genotipi daha yüksek (II: 8, ID: 9, DD: 13) bulunmuştur. Ayrıca, çalışmamızla benzer şekilde Jesus (2016) yaptığı araştırmada futbol yardımcı hakemlerinde ACE D genotipinin daha yüksek frekansta olduğunu göstermiştir (Jesus, 2016).

Bu araştırmada 12 dk. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşabilen futbol hakemleri ile lisanslı sporcuyolmayan kontrol grubu arasında SOX15 T/G polimorfizmi (rs4227) açısından anlamlı bir fark ( $p < 0,05$ ) bulunmuştur (Çizelge 3.2).

SOX15 geninin kas yapılanmasıyla yüksek derecede ilişkisi olduğu epeyce aydınlatıldığı halde, bu gendeki polimorfizmlerin sporla ilişkisi üzerine çok az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu alandaki bir araştırmada Pruna ve ark. (2017) SOX15 T/G polimorfizminin (rs4227) futbolcularda temassız kas yaralanmallarıyla ilişkisini incelemiş ve T alleli taşıyan sporcuların daha az kas yaralanması yaşadığı gösterilmiştir. Yanlış isimme tekniği, yetersiz esneklik gibi çeşitli faktörler temassız kas yaralanmalarda etkili olsa da (Koz ve Ersöz, 2004; Şahin ve ark., 2018), Pruna ve ark. (2017) araştırmasıyla beraber genetik faktörlerin de kas yaralanmalarda etkisi olabileceği görülmektedir. Araştırmada ayrıca GG genotipine sahip futbolcularda anormal iskelet formasyonu olduğu kaydedilmiş ve kas yaralanması oranının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada da paralel şekilde futbol hakemlerinde kontrol grubuna göre daha fazla SOX15 T alleli bulunduğu kaydedilmiştir (Çizelge 3.2).

Bu araştırma, SOX15 T/G (rs4227) polimorfizminin dayanıklılık performansıyla ilişkisini inceleyen ilk araştırma özelliğini taşımaktadır. SOX15 geni kas dokusuyla yüksek ilişkiye sahip bir gen konumundadır. Örnek olarak SOX15 geni, proliferatif myoblast hücrelerinde yüksek miktarda eksprese edilmektedir (Beranger ve ark., 2000). Aynı zamanda SOX15 geninin kas doku farklılaşmasında kritik rol oynadığı bilinmektedir (Lee ve ark., 2004). Öyle ki, SOX15 geni susturulmuş farelerde kas yaralanması sonrasında kas yenilenmesi yavaşlamaktadır (Meeson ve ark., 2007). Ayrıca, SOX15 geni susturulmuş hücre hatlarında kas doku farklılaşmasında görevli transkripsiyon faktörlerinin miktarı azalmakta ve bununla birlikte miyogenik büyümeye eksik kalmaktadır (Savage ve ark., 2009). Tüm bu verilerin ışığında, SOX15 genindeki polimorfizmlerin atletik performansı etkileyebileceği düşünülebilir. Atletik performans için kas dokusu son derece önemlidir ve kas dokusunda oluşabilecek her türlü farklılığın sportif performansı etkileyebileceğinin öngörülebilir. Bu araştırmada Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşabilen hakemlerde, kontrol grubuna göre SOX15 T/G polimorfizmi açısından anlamlı bir fark bulunmasının nedenlerinden birisi, bu polimorfizmin neden olacağı kas yapılarındaki farklılıklar olabilir.

Pruna ve ark., 2017, SOX15 G allele'ine sahip sporcularda anormal iskelet kası formasyonu gözlemlemiştir. Hikida ve ark. (1983), dayanıklılık egzersizlerinin iskelet kas liflerinde önemli yaralanmalara yol açtığını göstermiştir. Ayrıca, dayanıklılık performansı sırasında en büyük hasarın en derin ekstensör kaslarda görüleceği öngörülümüştür (Armstrong, 1986). Bununla beraber, histolojik araştırmalar gecikmiş kas

ağrısının altında yatan nedenler arasında, dayanıklılık performansı esnasında görülen kas yaralanmalarına bağlı olabileceğini göstermiştir (Friden ve ark., 1981; Friden ve ark., 1983). Tüm bunlar ele alındığında SOX15 G alleline sahip sporcularda anormal kas formasyonu görülmesinin ve daha yüksek oranda kassal yaralanmalar yaşadıklarının kaydedilmesi önemli bir veridir (Pruna ve ark., 2017). Bu araştırmada Cooper testinden 3000 m ve üzeri performans gösteren futbol hakemlerinde SOX15 T alleli frekansının kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Dayanıklılık performansı esnasında kaslarda akut görülen yaralanmaların oluşturduğu hasar SOX15 T alleli taşıyan bireylerde daha düşük olabilir. Futbol hakemlerinde SOX15 T allelinin daha yüksek frekansa bulunması, kas yapısındaki genotiplere bağlı kas formasyonu farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir. SOX15 geni susturulmuş farelerde ve hücrelerde kas yenilenmesinin yavaşlaması, dayanıklılık performansı sırasında kaslarda görülecek mikrohasarların, sporcuların performansını SOX15 T/G polimorfizmine bağlı olarak da etkileyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca SOX15 T alleli taşıyan sporcularda kasların oksijen kullanım kapasiteleri de kas yapılanmasına ve performans sırasında oluşacak akut kaş hasarlarının etkisine bağlı olarak daha yüksek seviyelerde olabilir. SOX15 T/G polimorfizminin fizyolojik etkileri üzerine daha detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Bu araştırmada dayanıklılık performansıyla ilişkisi incelenen bir diğer polimorfizm HGF C/A (rs5745697) polimorfizmidir. İncelemeler sonucunda 12 dk. Cooper dayanıklılık testinde 3000 m ve üzeri koşabilen futbol hakemleri ile sporcu lisansı olmayan kontrol grubu arasında HGF C/A polimorfizmi açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Çizelge 3.3).

HGF geninin kas yaralanmalarının ardından kas liflerinde ekspresyonunun artması (Tatsumi ve ark., 1998) ve bu genin yüksek ekspresyonunun kas yenilenmesini artırmaması (Gal-Levi ve ark., 1998; O'Reilly ve ark., 2008; Tatsumi ve ark., 1998), bu gendeki polimorfizmlerin atletik performansı etkileyebileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, Shimizu ve ark. (2018), yüksek HGF ekspresyonunun handgrip kas kuvvetini artırdığını göstermiştir. Ayrıca HGF C/A polimorfizminin sporcularda kas sakatlığıyla ilişkisinin incelendiği tek araştırmada Pruna ve ark. (2017), bu polimorfizmin futbolcularda temassız kas yaralanmalıyla ilişkisi olduğunu göstermiş, CC genotipine sahip sporcuların anlamlı şekilde daha az kas sakatlığı yaşadıkları kaydedilmiştir. Bu çalışmada ise HGF C/A polimorfizminin dayanıklılık performansıyla ilişkisi incelenmiş ancak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p > 0,05$ ).

Bu araştırma, HGF C/A polimorfizminin (rs5745697) dayanıklılık performansıyla ilişkisini inceleyen ilk çalışmadır. HGF geninin atletik performansla ilişkisini inceleyen araştırmalar çok az sayıdadır. Yapılan analizler sonucunda HGF C/A polimorfizminin dayanıklılık performansıyla ilişkisi olmadığı kaydedilse de, ileride yapılacak araştırmalar bu konudaki sonucu daha net hale getirecektir.

Literatürde futbol hakemlerinde performans ve genetik polimorfizm ilişkisini inceleyen tek araştırma ACE I/D polimorfizmini incelemiştir ve bu çalışmaya benzer şekilde, yardımcı hakemlerde ACE D allelinin daha yüksek frekansa olduğunu göstermiştir (Jesus, 2016). Bu araştırma, futbol hakemlerinde SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmlerinin dayanıklılık performansıyla ilişkisini inceleyen ilk çalışma olmuştur. Bu polimorfizmlerle ilgili net karar verebilmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Futbolda vücut tipi gibi fiziksel özelliklerin önemi bilinmektedir (Hazır, 2010) ve gelecek araştırmalarla bu özelliklerin altında yatan genetik mekanizmaların aydınlatılması; sporcuların gelişimi, sakatlıkların önlenmesi, sakatlıkların azaltılması

gibi çok sayıda konuda faydalı olabilir.

## VI. Geleceğe İlişkin Öngörülen Katkılar

ACE I/D polimorfizminin (rs4646994) atletik performansla ilişkisi üzerine özellikle son dönemlerde yapılan araştırmalara bakıldığından, bu genin dayanıklılık üzerine etkisi olup olmadığından aydınlatılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir. ACE I allelinin dayanıklılık alleli olarak adlandırılmasının, hatta dayanıklılık belirteci olarak gösterilmesinin ardından yapılan epeyce araştırma sonucunda bu polimorfizmin dayanıklılıkla ilişkisi olmadığını gösteren çalışmalar daha fazla sayıya ulaşmıştır. Bu çalışma da bu konuda negatif sonuç bulan çalışmalar arasına eklenmiş durumdadır.

Bu araştırma SOX15 T/G (rs4227) polimorfizminin sporda dayanıklılık performansıyla anlamlı ilişkisini gösteren ilk çalışma olmuştur. Aynı zamanda bu araştırma, futbol hakemlerinde SOX15 geni ve performans ilişkisini inceleyen ilk çalışmадır. SOX15 geniyle ilgili bu sonuç her ne kadar önemli ve yeni bir sonuç olsa da, bu polimorfizmin atletik performansa etkisini araştıran çalışma sayısı oldukça azdır. Gelecekte yapılacak araştırmalarla SOX15 T/G polimorfizminin sportif performansa etkileri ve altında yatan mekanizmalar detaylandırılabilir. SOX15 T alleli taşıyan bireylerin kas yapıları, spor yaralanmalara karşı direnci arttırmayı olabilir. Bununla beraber SOX15 T alleli taşıyan sporcuların kaslarının daha az yaralanması, kaslardaki oksijen tüketim kapasitelerini ve yükseltiyor olabilir. SOX15 T alleli taşıyan bireylerin kasları, daha verimli enerji tüketimine sahip olabilir.

Bu araştırma, HGF C/A (rs5745697) polimorfizminin atletik performansla ilişkisini inceleyen ilk çalışmадır. Aynı zamanda bu çalışmada futbol hakemlerinde HGF geni ve performans ilişkisini inceleyen ilk çalışmадır. Elde edilen veriler ışığında, bu polimorfizmin dayanıklılık performansıyla anlamlı bir ilişkisi kaydedilmemiştir. Kas yaralanmalıyla ilişkisi gösterilen (Pruna ve ark., 2017) bu polimorfizmin atletik performansa etkileri daha fazla araştırılmalıdır.

Bu araştırmmanın bir diğer özgün noktası, bir testi baz almasıdır. Spor genetiği araştırmalarının büyük çoğunluğu elit sporcular ile sedanter bireyler arasındaki polimorfizm farklarına odaklanmaktadır. Bu araştırmada ise elit sporcular yerine, bir dayanıklılık testi olan Cooper testi baz alınmıştır. Ayrıca bu teste katılan futbol hakemleri de il hakemi klasmanındadır. Bu açıdan da, Cooper testinden 3000 m ve üzeri koşabilen bireylerin SOX15 geninde anlamlı farklılık bulunması önemli bir sonuçtur.

Bireyler arasındaki genetik farklılıklar toplumlar arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Bu açıdan ele alındığında, bu çalışmada yer alan polimorfizmlerin Türk sporcularındaki farklılıkları daha detaylı şekilde incelenebilir. Araştırmmanın bu konuya ilgili kısıtlılıklarından birisi sporcu ve kontrol grubunun sayısının az olmasıdır. İlerleyen süreçlerde daha geniş bir sporcu kitlesi ve daha geniş bir kontrol grubuya yapılacak araştırmalar ile bu sonuçlar detaylandırılabilir.

Bu çalışmada futbol hakemlerinin bir üst klasmana yükselmesi için kullanılan testlerden biri olan Cooper testi sonuçlarına göre inceleme yapılmıştır. Araştırmmanın sonuçları Cooper dayanıklılık testinin genetik verilerle ilişkisi olabileceğini göstermiştir. Cooper testinden 3000 m ve üzeri mesafeleri koşabilen futbol hakemlerinde SOX15 T allelinin yüksek frekansta bulunması, bu testin görünenden daha fazla sonuçlar ortaya koyabileceğini düşündürmektedir. SOX15 geninin kas yapısı oluşumu ile yüksek derecede ilişkisinin olması da bu düşünceyi kuvvetlendirmektedir. Gelecek dönemlerde

futbol hakemlerinin seçiminde SOX15 T/G polimorfizmine de bakılması, hakemlerin kas yaralanmalarına karşı yatkınlıkları ve dayanıklılık performansları hakkında bir bilgi verebilir. Gelecek araştırmalarla sporla ilişkili genetik polimorfizmlerin ve bu polimorfizmlerin fizyolojik etkilerinin daha detaylı şekilde aydınlatılması, atletik 88performansı artırmak ve sporcuya sağlığını korumak için faydalı olabilir.

## VII. Sağlanan Altyapı Olanakları ile Varsa Gerçekleştirilen Projeler

Yoktur.

## VIII. Sağlanan Altyapı Olanaklarının Varsa Bilim/Hizmet ve Eğitim Alanlarındaki Katkıları

Yoktur

## IX. Kaynaklar

AHMETOV II, WILLIAMS AG, POPOV DV, LYUBAEVA EV, HAKIMULLINA AM, FEDOTOVSKAYA ON, MOZHAYSKAYA IA, VINOGRADOVA OL, ASTRATENKOVA IV, MONTGOMERY HE, ROGOZKIN VA (2009). The combined impact of metabolic gene polymorphisms on elite endurance athlete status and related phenotypes. *Hum. Genet.* 126: 751–761.

AHMETOV II, POPOV DV, ASTRATENKOVA, IV, MISSINA AM, VINOGRADOVA SS, ROGOZKIN VA (2008). The use of molecular genetic methods for prognosis of aerobic and anaerobic performance in athletes. *Human Physiology*, 34(3): 338.

ALVAREZ R, TERRADOS N, ORTOLANO R, IGLESIAS-CUBERO G, REGUERO JR, BATALLA A, ALVAREZ V (2000). Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. *European journal of applied physiology*, 82(1-2): 117-120.

ASH GI, SCOTT RA, DEASON M, DAWSON TA, WOLDE B, BEKELE Z, TEKA S, PITSLADIS YP (2011). No association between ACE gene variation and endurance athlete status in Ethiopians. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 43: 590–597.

BÉRANGER F, MÉJEAN C, MONIOT B, BERTA P, VANDROMME M. (2000). Muscle differentiation is antagonized by SOX15, a new member of the SOX protein family. *Journal of Biological Chemistry*. 275(21): 16103-16109.

CIESZCZYK P, KRUPECKI K, MACIEJEWSKA A, SAWCZUK M. (2009). The angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in Polish rowers. *International journal of sports medicine*. 30(8): 624-627.

GAL-LEVI R, LESHEM Y, AOKI S, NAKAMURA T, HALEVY O (1998). Hepatocyte growth factor plays a dual role in regulating skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1402(1): 39-51.

JESUS GV (2016). Influencia del polimorfismo I/D del gen ACE en el rendimiento físico de los árbitros y asistentes de fútbol. *Repositorio Abierto de la Universidad de Cantabria*, 60.

KOZ M, ERSÖZ G (2004). Futbol Oyuncularında Spor Yaralanmalarına Etki Eden Faktörler Ve Esnekliğin Önemi. *Gazi Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*, 9(3): 13-26.

LEE HJ, GORING W, OCHS M, MUHLFELD C, STEDING G, PAPROTTA I, ADHAM IM (2004). Sox15 is required for skeletal muscle regeneration. *Molecular and cellular biology*, 24(19): 8428-8436.

MEESON AP, SHI X, ALEXANDER MS, WILLIAMS RS, ALLEN RE, JIANG N, GARRY DJ (2007). Sox15 and Fhl3 transcriptionally coactivate Foxk1 and regulate myogenic progenitor cells. *The EMBO Journal*, 26(10): 2553-2564.

journal, 26(7): 1902-1912.

MIN SK, TAKAHASHI K, ISHIGAMI H, HIRANUMA K, MIZUNO M, ISHII T, NAKAZATO K (2009). Is there a gender difference between ACE gene and race distance? *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 34(5): 926-932.

MONTGOMERY HE, MARSHALL R, HEMINGWAY H, MYERSON S, CLARKSON P, DOLLERY C, THOMAS EL (1998). Human gene for physical performance. *Nature*, 393(6682): 221-222.

MYERSON S, HEMINGWAY H, BUDGET R, MARTIN J, HUMPHRIES S, MONTGOMERY H (1999). Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance, *Journal of Applied Physiology*, 87: 1313-1316.

NAZAROV IB, WOODS DR, MONTGOMERY HE, SHNEIDER OV, KAZAKOV VI, TOMILIN NV, ROGOZKIN VA (2001). The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes. *European Journal of Human Genetics*, 9(10): 797-801.

O'REILLY C, MCKAY B, PHILLIPS S, TARNOPOLSKY M, PARISE G (2008). Hepatocyte growth factor (HGF) and the satellite cell response following muscle lengthening contractions in humans. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*, 38(5): 1434-1442.

ORYSIAK J, ZMIJEWSKI P, KLUSIEWICZ A, KALISZEWSKI P, MALCZEWSKA-LENCZOWSKA J, GAJEWSKI J, POKRYWKA A (2013). The association between ace gene variation and aerobic capacity in winter endurance disciplines. *Biol. Sport* 30: 249-253.

PAPADIMITRIOU ID, PAPADOPOULOS C, KOUVATSI A, TRIANTAPHYLLODIS C (2009). The ACE I/D polymorphism in elite Greek track and field athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 49: 459-463.

PRUNA R, ARTELLS R, LUNDBLAD M, MAFFULLI N (2017). Genetic biomarkers in non-contact muscle injuries in elite soccer players. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 25(10): 3311-3318.

RANKINEN T, WOLFARTH B, SIMONEAU JA, MAIER-LENZ D, RAURAMAA R, RIVERA MA, BOULAY MR, CHAGNON YC, PERUSSE L, KEUL J, BOUCHARD C (2000). No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *J. Appl. Physiol.* 88: 1571-1575.

SAHIN N, GÜRSES VV, BAYDIL B, AKGÜL M, S, FEKA K, IOVANE A, MESINA G (2018). The effect of comprehensive warm-up (FIFA 11+ Program) on motor abilities in young basketball players: A pilot study. *Acta medica*, 34: 703.

SAVAGE J, CONLEY AJ, BLAIS A, SKERJANC IS (2009). SOX15 and SOX7 differentially regulate the myogenic program in P19 cells. *Stem Cells*, 27(6): 1231-1243.

SCANAVINI D, BERNARDI F, CASTOLDI E, CONCONI F, MAZZONI SD, BERNARDI F, CASTOLDI E, CONCONI F, MAZZONI G. (2002). Increased frequency of the homozygous II ACE genotype in Italian Olympic endurance athletes. *European Journal of Human Genetics*, 10(10): 576.

SCOTT RA, MORAN C, WILSON RH, ONYWERA V, BOIT MK, GOODWIN WH, GOHLKE P, PAYNE J, MONTGOMERY H, PITSLADIS YP (2005). No association between Angiotensin Converting Enzyme (ACE) gene variation and endurance athlete status in Kenyans. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 141: 169-175.

SHENOY S, TANDON S, SANDHU J, BHANWER AS (2010). Association of angiotensin converting enzyme gene polymorphism and Indian army triathletes performance. *Asian journal of sports medicine*, 1(3): 143.

SHIMIZU Y, YAMANASHI H, NOGUCHI Y, KOYAMATSU J, NAGAYOSHI M, KIYOURA K, MAEDA T (2018). Association of hemoglobin concentration with handgrip strength in relation to hepatocyte growth factor levels among elderly Japanese men aged 60-69 years: a cross-sectional study. *Environmental health and preventive medicine*, 23(1): 56.

SZALATA M, SŁOMSKI R, BALKÓ Š, BALKÓ I (2019). Advances in athlete genomics in 2019. Trends in Sports Sciences, 2(26): 55-61.

TATSUMI R, ANDERSON JE, NEVORET CJ, HALEVY O, ALLEN RE (1998). HGF/SF is present in normal adult skeletal muscle and is capable of activating satellite cells. Developmental biology, 194(1): 114-128.

TAYLOR RR, MAMOTTE CD, FALLON K, VAN BOCKXMEER FM (1999). Elite athletes and the gene for angiotensin-converting enzyme. J. Appl. Physiol. 87: 1035-1037.

TOBINA T, MICHISHITA R, YAMASAWA F, ZHANG B, SASAKI H, TANAKA H, SAKU K, KIYONAGA A (2010). Association between the angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and endurance running speed in Japanese runners. J. Physiol. Sci. 60: 325-330.

TURGUT G, TURGUT S, GENÇ Ö, ATALAY A, ATALAY EO (2004). The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Turkish athletes and sedentary controls. Acta Medica-Hradec Kralove, 47(2): 133-136.

X. **Ekler**

- a. Mali Bilanço ve Açıklamaları

**MALİ BİLANÇO VE AÇIKLAMALARI**

**Proje Türü :** Doktora Projesi

**Proje No :** 19L0665001

**Proje Yürüttücüsü :** Doç. Dr. Recep Sürhat MÜNIROĞLU

**Proje Başlığı :** DAYANIKLILIK PERFORMANSLARI YÜKSEK FUTBOL HAKEMLERİNİN ACE I/D, SOX15 T/G VE HGF C/A GEN POLIMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

**Ödenekler:**

Bütçe Yılı	Bütçe Kodu	Açıklama	Başlangıç Ödeneği	Net Ödenek	Harecanan	Kalan
2019	03.5	HİZMET ALIMLARI	4.980,00	4.980,00	0,00	4.980,00
2020	03.5	HİZMET ALIMLARI	0,00	4.980,00	4.860,00	120,00

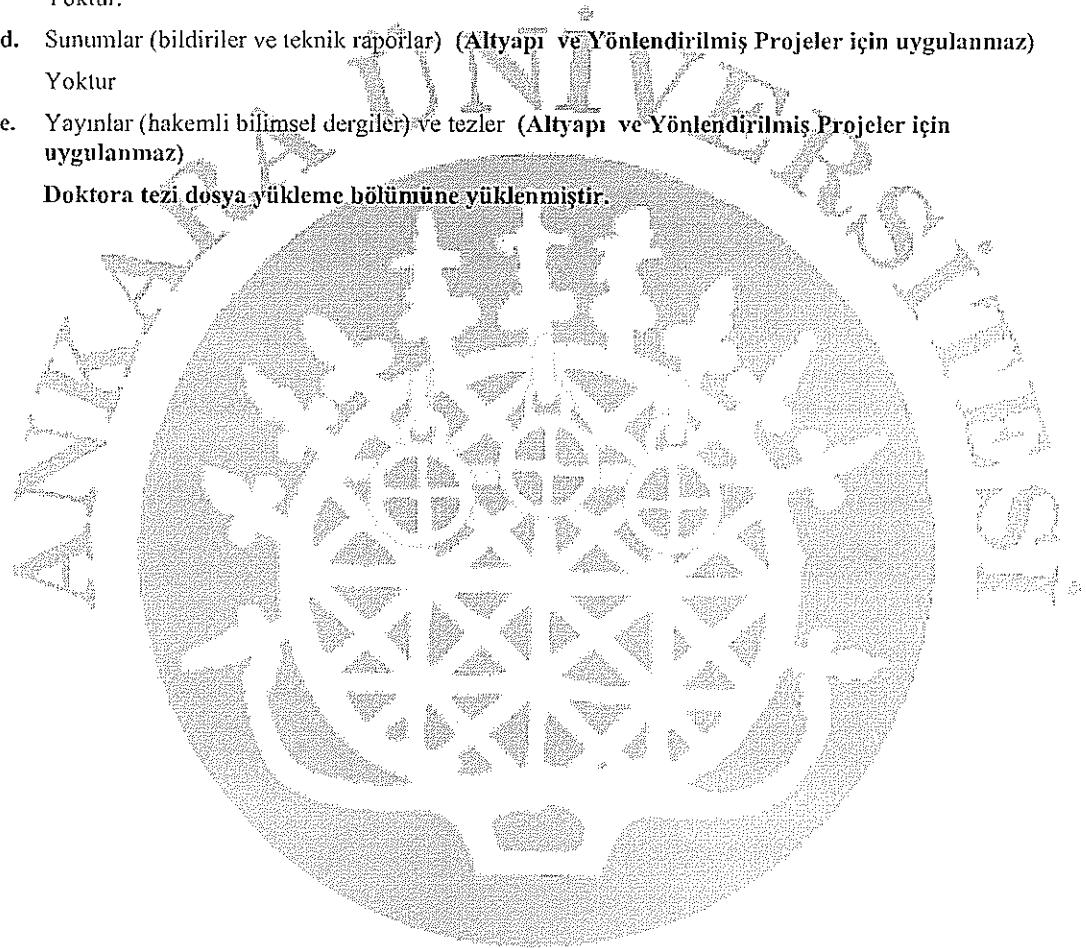
**Açıklama:**

“DAYANIKLILIK PERFORMANSLARI YÜKSEK FUTBOL HAKEMLERİNİN ACE I/D, SOX15 T/G VE HGF C/A GEN POLIMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı, 19L0665001 numaralı proje dahilinde “DNA Genotiplendirme İçin Hizmet Alımı” işlemi, yapılan ihale sonrasında KDV dahil 4.860,00 TL ücretle, alım şekli “Doğrudan Temin”

olmak üzere, İntergen Genetik ve Nadir Hastalıklar Tanı Araştırma & Uygulama Merkezi'ne yapılmıştır.

Proje için yapılan başka bir harcama yoktur.

- b. Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar  
Yoktur.
- c. Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar  
Yoktur.
- d. Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar) (Altyapı ve Yönlendirilmiş Projeler için uygulanmaz)  
Yoktur.
- e. Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler (Altyapı ve Yönlendirilmiş Projeler için uygulanmaz)  
**Doktora tezi dosya yükleme bölümüne yüklenmiştir.**



1946



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DAYANIKLILIK PERFORMANSLARI YÜKSEK FUTBOL  
HAKEMLERİNİN ACE I/D, SOX15 T/G VE HGF C/A GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

Gülhan Erdem SUBAK

**SPOR BİLİMLERİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Recep Sürhat MÜNİROĞLU

ANKARA  
2020

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DAYANIKLILIK PERFORMANSLARI YÜKSEK FUTBOL  
HAKEMLERİNİN ACE I/D, SOX15 T/G VE HGF C/A GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

Gülhan Erdem SUBAK

**SPOR BİLİMLERİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
Doç. Dr. Recep Sürhat MÜNİROĞLU

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün  
19L0665001 numaralı projesi ile desteklenmiştir

**ANKARA  
2020**

## **ETİK BEYAN**

Ankara Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne.

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Dayanıklılık Performansları Yüksek Futbol Hakemlerinin ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı:

Tarih:

İmza:

## **KABUL VE ONAY**

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı'nda Gülhan Erdem SUBAK tarafından hazırlanan "Dayanıklılık Performansları Yüksek Futbol Hakemlerinin ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki juri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza  
Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Jüri Başkanı

İmza  
Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Raportör

İmza  
Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Üye

İmza  
Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Raportör

İmza  
Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Üye

Tez hakkında alınan juri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza  
Unvanı Adı ve Soyadı  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

Eтик Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	ix
Çizelgeler	x
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Genetik	2
1.1.1. Gen	3
1.1.2. DNA Polimorfizmi	4
1.1.3. Tek Nükleotid Polimorfizmi	5
1.2. Spor Genetiği	6
1.2.1. Aerobik Dayanıklılık ve Gen İlişkisi	8
1.2.1.1. Aerobik Dayanıklılık Performansını Etkileyen Faktörler	9
1.2.1.2. Futbol Hakemleri İçin Dayanıklılık Performansının Önemi	10
1.2.1.3. Cooper Testi	10
1.2.2. ACE Geni, I/D Polimorfizmi ve Sporla İlişkisi	11
1.2.3. SOX15 Geni, T/G Polimorfizmi ve Sporla İlişkisi	13
1.2.4. HGF Geni, C/A Polimorfizmi ve Sporla İlişkisi	16
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	19
2.1. Araştırma Grubu	19
2.2. İncelenen SNP'ler	20
2.3. Araştırma Grubundan DNA Eldesi	20
2.4. DNA İzolasyonu	21
2.5. Primer Tasarımı	21
2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	21
2.7. Yeni Nesil Sekanslama İçin İndeksleme PCR'ı	22
2.8. PCR Havuzu Oluşturma	23
2.9. Saflaştırma ve Ölçüm	23
2.10. Yeni Nesil Sekans	23
2.11. İstatistiksel Analiz	24
<b>3. BULGULAR</b>	25
<b>4. TARTIŞMA</b>	28
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	33
<b>ÖZET</b>	35
<b>SUMMARY</b>	36
<b>KAYNAKLAR</b>	37
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	45

## ÖNSÖZ

Futbol hakemliği yaptığım ilk sezondan itibaren, bazı hakem arkadaşlarımın çeşitli sebeplerden dolayı antrenmanlara uzun süreler katılmamaları ve hatta kendileriyle konuşmalarından öğrendiğim üzere, bireysel antrenmanlar dahi yapmamalarına rağmen, katıldıkları test koşularında, çok düzenli şekilde antrenman yapan birçok hakem arkadaşından daha iyi performans gösterdiklerine şahit olmamla spor genetiği üzerine merakım başlamıştı. Bu merakımla ilgili ilk sorumu, bir hakem eğitim seminer toplantılarında kendisine sorduğum Sn. Recep Sürhat MÜNİROĞLU'nun kendisiyle çalışmamı istemesi bu tezin ilk kıvılcımı olmuştur. Spor genetiği araştırmaları yapmak hedefiyle başladığım doktora programı boyunca bana desteğini hiçbir zaman esirgemediği için kendisine gönülden teşekkür ederim. Ayrıca, tüm yeni fikirlere olan açıklığı ve yeni her türlü girişime gösterdiği büyük cesaret için kendisine bir kez daha teşekkür ederim. Kendisine sunduğum hiçbir fikir için kaygı duymamış ve sonuna kadar desteklemiştir.

Farklı bir bölümde mezun olup doktora eğitimi için başvurduğum Ankara Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi'nde görev alan tüm hocalarıma, beni aralarına kabul ettikleri için sonsuz teşekkür ederim. Bu vasıta ile Ankara Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi'nin ilk genetik araştırması özelliği taşıyan bu tezin ortaya çıkmasında, beni bu güzel aileye kabul eden tüm hocalarımın desteği bulunmaktadır. Bu araştırmamın genetik analizlerini yapan İntergen Genetik ve Nadir Hastalıklar Tanı Araştırma & Uygulama Merkezi'ne de ayrıca teşekkür ederim.

Tüm akademik hayatım boyunca benden hiçbir şekilde desteklerini esirgemeyen annem Aysel SUBAK'a, babam Semih SUBAK'a, kardeşim Yiğit SUBAK'a sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca doktora eğitimim esnasında hayatıma giren ve geri kalan “tüm hayatım” olan, doktora boyunca da bana tüm desteğini veren eşim Hilal SUBAK'a, değerli ailesine ve kızım Simay SUBAK'a sonsuz teşekkür ederim.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

$\times$	Çarpım Sembolü
$\mu\text{l}$	Mikrolitre
$\mu\text{M}$	Mikromol
<b>A</b>	Adenin
<b>ACE</b>	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim ( <i>Angiotensin Converting Enzyme</i> )
<b>ACTN3</b>	Alfa-Aktinin 3
<b>AMPD1</b>	Adenozin Monofosfat Deminaz 1
<b>APOE</b>	Apolipoprotein E
<b>ATP</b>	Adenozin Trifosfat
<b>AÜTF</b>	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
<b>C</b>	Sitozin
<b>C1C12</b>	Fare Hücre Hattı
<b>C9orf64</b>	Kromozom 9 Açık Okuma Çerçeveşi 64
<b>cDNA</b>	Komplementer Deoksiribonükleik Asit
<b>c-MET</b>	Tirozin Protein Kinaz Met
<b>D</b>	Delesyon
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	Distile Su
<b>dk</b>	Dakika
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik Asit
<b>dNTP</b>	Deoksinükleotid
<b>ERK1/ERK2</b>	Mitojenle Aktifleşirilen Protein Kinazın Diğer Kısaltması, Bir Hücre İçi Sinyal Yolğu

<b>G</b>	Guanin
<b>G0/G1</b>	Hücre Döngüsü Fazları
<b>HGF</b>	Hepatosit Büyüme ( <i>Growth</i> ) Faktörü
<b>HIF1A</b>	Hipoksi İndükleyici Faktör
<b>HMG</b>	Yüksek ( <i>High</i> ) Mobilite Grup
<b>I</b>	İnsersiyon
<b>IGFDP5</b>	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 5
<b>kg</b>	Kilogram
<b>maksVO<sub>2</sub></b>	Masimal Oksijen Tüketimi
<b>Meox1</b>	Mezenşim Kutu 1 ( <i>Mesenchyme Homeobox 1</i> )
<b>miRNA</b>	Mikro Ribonükleik Asit
<b>ml</b>	Mililitre
<b> mM</b>	Milimol
<b>mRNA</b>	Mesajçı Ribonükleik Asit
<b>MTHFR</b>	Metilentetrahidrofolat Redüktaz
<b>MyoD</b>	Myoblast Belirleme Proteini
<b>NaCl</b>	Sodyum Klorür
<b>ng</b>	Nanogram
<b>No</b>	Numara
<b>NOS3</b>	Nitrik Oksit Sentaz 3
<b>P19</b>	Hücre Hattı
<b>PAQR6</b>	Progesterin ve AdipoQ Reseptörü 6
<b>Pax3</b>	Eşleştirilmiş Kutu 3 ( <i>Paired Box 3</i> ) Geni
<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir ( <i>Chain</i> ) Reaksiyonu

<b>PI3k/Akt</b>	Fosfoinositid 3 Kinaz / Protein Kinaz B Hücre içi Sinyal Yolağı
<b>PkC</b>	Protein Kinaz C
<b>PPARA</b>	Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Alfa
<b>PPARGC1A</b>	Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gama Koaktivatör 1 Alfa
<b>Rac/Rho</b>	Hücre İçi Sinyal Yolağı
<b>RAP1</b>	Represör Aktivatör Protein 1
<b>RAS</b>	Renin Anjiyotensin Sistemi
<b>rs</b>	Referans Tek Nükleotid Polimorfizmi
<b>siRNA</b>	Susturucu Ribonükleik Asit
<b>SNP</b>	Tek ( <i>Single</i> ) Nükleotid Polimorfizmi
<b>SOX15</b>	Cinsiyet Belirleyici Bölge Y Kutusu 15 ( <i>Sex Determining Region Y Box 15</i> )
<b>SRY</b>	Cinsiyet Belirleyici Bölge Y ( <i>Sex Related Region Y</i> )
<b>T</b>	Timin

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Alleller için homozigot ve heterozigot durumları	4
Şekil 1.2. SNP: Tek Nükleotid Polimorfizmi	5
Şekil 1.3. ACE Geninin 17. Kromozomdaki Lokasyonu	11
Şekil 1.4. ACE I/D Polimorfizmi	12
Şekil 1.5. SOX15 Geninin 17. Kromozomdaki Lokasyonu	16
Şekil 1.6. HGF Geninin 7. Kromozomdaki Lokasyonu	17
Şekil 2.1. Rimel Tipi Smear Fırça	20
Şekil 3.1. ACE için örnek agaroz jel elektroforez sonuçları.	25
Şekil 3.2. Örnek agaroz jel elektroforez sonuçları	26

## **ÇİZELGELER**

<b>Çizelge 2.1.</b> Hakem ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri	19
<b>Çizelge 2.2.</b> Araştırmada incelenen SNP'ler.	20
<b>Çizelge 2.3.</b> İncelenen polimorfizmler için hazırlanan primerler	21
<b>Çizelge 2.4.</b> PCR Koşulları	22
<b>Çizelge 2.5.</b> Yeni nesil sekanslama için indeksleme PCR koşulları.	23
<b>Çizelge 3.1.</b> ACE I/D Polimorfizmi Genotip Sayıları	26
<b>Çizelge 3.2.</b> SOX15 T/G Polimorfizmi Genotip Sayıları	27
<b>Çizelge 3.3.</b> HGF C/A Polimorfizmi Genotip Sayıları	27

## 1. GİRİŞ

Genetik faktörlerin; dayanıklılık, kuvvet, güç, esneklik, nöromusküler koordinasyon, psikolojik özellikler gibi çok sayıda atletik performans bileşeni üzerine etkisi vardır. Öyle ki, atletik performansın, spor branşına bağlı olarak %66 gibi yüksek bir oranda kalıtsal olduğu, kalan kısmınınca çevresel faktörlere bağlı olduğu ifade edilmektedir (De Moor ve ark., 2007). Bu oldukça yüksek orana ilaveten, çok sayıda spor dalı için atletik performansı etkilediği belirlenen gen sayısı artmaya devam etmektedir.

Spor genetiği (veya spor genomluğu), elit atletlerin genetik organizasyonları ve fonksiyonlarını incelemeye odaklanmış yeni bir bilimsel alan haline gelmiştir. Spor genetiği devri, 2000'li yıllarda insan DNA'sının deşifre edilmesini takiben; ACE, ACTN3 ve AMPD1 gibi atletik performansla ilişkisi keşfedilen ilk genetik belirteçlerin bulunmasıyla başlamıştır. Genotipleme teknolojilerinin gelişimi ve daha geniş alanda kullanıma başlanmasıyla birlikte, çok sayıda vaka kontrol çalışmaları gerçekleştirilmiş ve elit atletik seviyeye ilişkisi olabilecek çok sayıda yeni aday gen ortaya atılmıştır (Ahmetov ve ark., 2005).

Spor genetiği incelemeleri için genel olarak sürdürülən araştırma dizayını vaka-vaka kontrol türündedir ve DNA sekansındaki bir allelin elit atletlerde, genel popülasyona göre farklılık gösterip göstermediğini bulma amacıyla sahip araştırmalar yapılmaktadır (Eynon ve ark., 2013).

Spor genetiği incelemelerinde başvurulan araştırma türlerinden bir diğeri de kesitsel analizlerdir. Kesitsel analizlerde maksimal oksijen tüketimi (maksVO<sub>2</sub>), kuvvet ölçümleri, hızlı kasılan kasların yüzdesi, kardiyak boyut, laktat gibi ölçümler yapılmakta ve bu ölçümlerde farklılık gösteren kişilerin özel DNA bölgelerindeki farklılıklar incelenmektedir (Mustafina ve ark., 2014). Bu araştırmada da kesitsel bir analiz yapılarak, bir dayanıklılık testinden belirli bir seviyenin üzerinde performans gösteren sporcuların bazı gen bölgeleri, spor yapmayan kişilerle karşılaştırılmıştır.

Bu araştırmada, 12 dk. Cooper testinde 3000 metre ve üzerinde koşabilen futbol hakemlerinin ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmleri, spor yapmayan kişilerle karşılaştırarak anlamlı bir fark olup olmadığı incelenmiştir.

### 1.1. Genetik

James Watson, Francis Crick ve Rosalind Franklin'ın çalışmaları sonucunda 1953 yılında DNA'nın çift sarmal yapısı ortaya konmuş ve modern genetiğe ilk adım atılmıştır (Watson ve Crick, 1953). DNA'nın yapısının aydınlatılması ile genetik bilginin okunabilir, depolanabilir ve nesilden nesile aktarılabilir olmasını sağlayan DNA'nın replikasyonu aydınlatılmıştır.

DNA çift sarmalında zincirler birbirine zıt olarak uzanmaktadır. Sarmal açıldığında her bir zincir, DNA'nın kopyalanması için bir kalıp oluşturmaktadır. Böylelikle çift sarmal açıldığında iki yeni ve benzer DNA molekülü meydana gelmektedir.

Genetik şifreyi oluşturan bilgi adenin, timin, guanin ve sitozin adlı 4 nükleotidin doğrusal bir şekilde yazılımı ile belirlenmektedir. Söz konusu şifre, transkripsiyon ve translasyon adı verilen iki süreçte okunmaktadır. Transkripsiyon işlemi, DNA ipliklerinden birisinin nükleotid dizisine karşılık gelen bir mesajcı RNA (mRNA) yazılması sürecidir. Daha sonra bu mRNA, translasyon işlemi ile bir aminoasit dizisine çevrilmektedir. RNA'da yer alan nükleotidler arasında timin yoktur, bunun yerine urasil nükleotidi yer almaktadır.

DNA üzerindeki temel yazılım şekli, 3 nükleotid dizisinin bir aminoasiti şifrelemesiyledir. Bu şekilde aminoasit kodlayan 3'lü nükleotid dizilerine kodon adı verilmektedir. Kodonlar 20 aminoasitten birini kodlamaktadır (Crick, 1974; Wilkins, 2003).

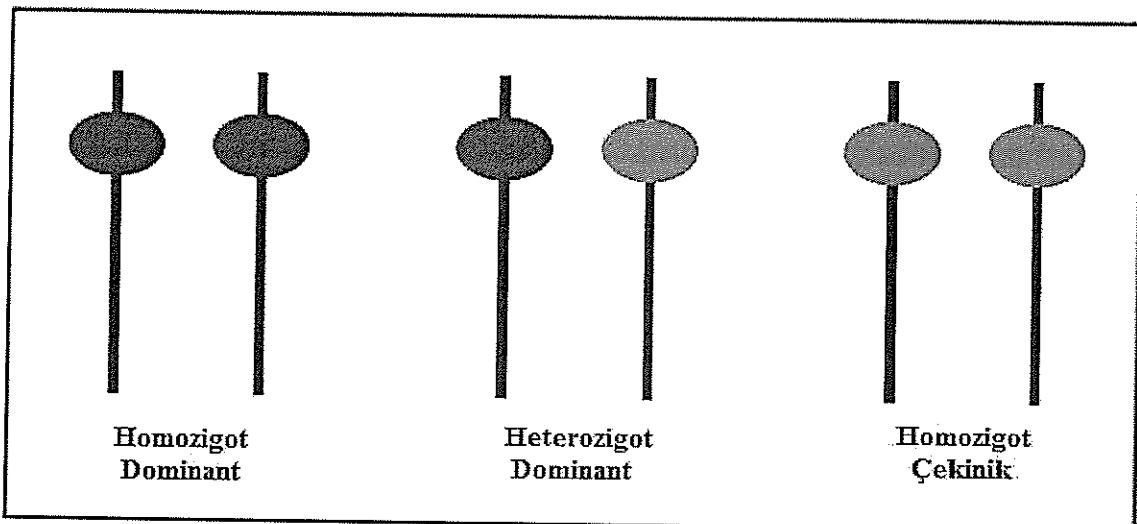
### **1.1.1. Gen**

DNA'nın replikasyonu ve translasyonu esnasında aktarılan bilginin depolandığı birimlere gen adı verilmektedir. Genlerin DNA'danoluştugu keşfedilene kadarki süreçte gen terimi, Mendel'in ifadesi olan; bir hayvana veya bitkiye belirli kalitsal özellikleri veren bir etmen şeklinde kabul edilen soyut bir kavram halindeydi. Gen terimi ise, 1909 yılında Danimarkalı bilim adamı Wilhelm Johannsen tarafından ortaya konmuştur (Lodish ve ark., 2004).

Genler; üretilmesi gereklili proteinler, bir proteinden daha küçük yapılar (polipeptit dizileri) ve işlevleri halen keşfedilmekte olan çeşitli RNA'lar (miRNA, siRNA vd.) için DNA içerisinde düzenlenmiş kod yapılarıdır. Genlerin içerisinde protein, polipeptid veya sadece RNA kodlanması için; transkripsiyon başlatma bölgesi, transkripsiyon hızlandırma, yavaşlatma, durdurma bölgeleri, kontrol bölgeleri vd. yer almaktadır. Aynı zamanda DNA, üzerinde yer alan kodlama bölgeleri içerisinde kendi replikasyonunu başlatacak dizilere de sahiptir. Tüm bu işlemler gen kontrol mekanizmaları tarafından yürütülmektedir. Gen kontrol mekanizmalarının içerisinde transkripsiyon faktörleri, enzimler, nükleotidler vd. yer almaktadır (Lodish ve ark., 2004).

Canlıların; saç rengi, vücut yapısı, ten rengi, boy gibi görünen özelliklerine fenotip adı verilmektedir. Bu özelliklerin arkasındaki genetik kod dizilimine ise genotip adı verilmektedir (Vogel ve ark., 2013).

İnsanlarda DNA 23 kromozom halinde paketlenmiştir. Tüm genler kromozomlar üzerinde belirli bölgelerde yer alırlar. Genlerin bulunduğu bu bölgelere gen lokusu adı verilmektedir. Genetik bilginin, bir gen lokusunda görülen farklı formları *allel* olarak isimlendirilmektedir. İnsanlarda 23 kromozom anneden ve 23 kromozom babadan alınır ve aynı genin iki kopyası bulunur. Bu nedenle bir gen lokusunda iki allel bulunmaktadır. Anne ve babadan gelen her iki allelin aynı olması durumuna homozigotluk, iki allelin farklı olmasına heterozigotluk denmektedir (Griffiths ve ark., 2005) (Şekil 1.1).



**Şekil 1.1.** Alleller için homozigot ve heterozigot durumları.

Eğer bir allel heterozigot durumda iken kendini belli edebiliyorsa **dominant** (baskın) olarak adlandırılmaktadır. Bunun yerine, yalnızca homozigot durumdayken kendini belli edebiliyorsa **çekinik** (resesif) olarak adlandırılmaktadır. Bazı durumlarda ise heterozigot durumda iki allel birden görülebilmektedir ve bu alleller **kodominant** veya eşbaskın olarak adlandırılmaktadır (Passarge, 2001).

### 1.1.2. DNA Polimorfizmi

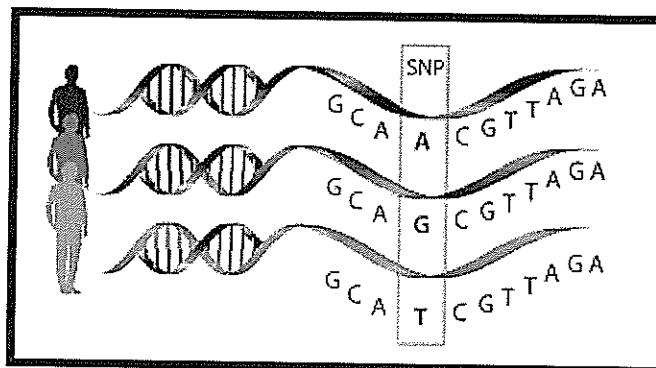
Çok sayıda genin allel olarak tanımlanan farklı kopyaları bulunmaktadır. Bu farklılıklar DNA dizisindeki farklılıklardan oluşmaktadır. Bireyler arasında genetik dizilimde görülen farklılıklara genel olarak polimorfizm adı verilmektedir. Eğer ender görülen bir allelin görülmesindeki sıklık %1'in üzerinde ise bu gen lokusu polimorfik olarak adlandırılmaktadır (Campbell ve ark., 2017).

Polimorfizmler; bireyin tüm düzeylerinde (fenotip), proteinlerin ve kan grubu bileşiklerinin çeşitli formlarında, kromozomların morfolojik özelliklerinde veya DNA seviyesinde nükleotid farklılıklarını şeklinde görülebilmektedir (Passarge, 2001).

DNA üzerindeki belirli bir bölgede çoklu allele bulunuyorsa bu durum DNA polimorfizmi olarak adlandırılmaktadır. Bu farklılıkların nedeni; tek bir nukleotid farklılığı, kısa ardışık tekrarlayan DNA bölgeleri (mikrosatellitler), daha büyük boyutta, 20-500 baz çiftinin tekrarlanmalıyla meydana gelen bölgeler (minisatellitler) olabilmektedir (Feuk ve ark., 2006).

### 1.1.3. Tek Nukleotid Polimorfizmi

İnsan türü olarak, birbirimiz arasındaki farklılıklarımızın büyük çoğunu, insan genomundaki tek bir baz çiftinin varyasyonu olan tek nukleotid polimorfizmleri (*Single Nucleotide Polymorphism, SNP*) oluşturmaktadır (Şekil 1.2). Genel olarak, genom içerisindeki spesifik bir pozisyonda, tek bir nukleotidin değişimi tek nukleotid polimorfizminin kaynağı halindedir. Genomda tek bir nukleotidde görülen bu farklılık eğer popülasyonun %1'inden daha fazlasında görülyorsa bu durum tek nükleotid polimorfizmini olarak adlandırılmaktadır (Strachan & Read, 2003).



Şekil 1.2. SNP: Tek Nukleotid Polimorfizmini (<http://humanandscience1.blogspot.com>)

İnsan genomunda SNP'ler, 1.000 baz çiftinde bir sıklıkta görülmektedir. Bunun bir diğer anlamı olarak, insanların DNA dizileri %99,9 oranında benzerlik göstermektedir (Lander & Weinberg, 2000).

Araştırmalar sonucunda insan genomunda 3 milyonun üzerinde farklı SNP bölgesi keşfedilmiş durumdadır. SNP'ler genel olarak hastalık genlerinin teşhisinde, çevresel toksin ve ilaçlara karşı duyarlılığı etkileyen genlerin belirlenmesinde yararlı belirteçler halindedir. Örnek olarak orak hücre anemisi, beta talasemi ve kistik fibrozis hastalıkları tek nükleotid polimorfizminden kaynaklanmaktadır (Hamosh ve ark., 1992; Chang & Kan, 1979; Ingram, 1956). Hastalıkların şiddeti ve vücutun hastalıkala cevabı da genetik çeşitliliğin etkisi altındadır. Buna bir örnek olarak, apolipoprotein E (APOE) genindeki bir SNP, düşük alzheimer hastalığı olasılığı ile ilişkilendirilmiştir (Wolf ve ark., 2013). Bunun yanında insan popülasyonları arasındaki farklılıkların tanımlanmasında yararlı olmaktadır (Campbell ve ark., 2017).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, SNP'lerin atletik performansla da ilişkisi olduğunu göstermiştir. 1998 yılında ACE genindeki bir SNP'nin dayanıklılık performansıyla ilişkisi olduğunu gösterilmesi ile başlayan spor genetiği araştırmalarında, sporla ilişkisi olduğu bildirilen SNP sayısı günümüzde 100'ün üzerindedir (Ahmetov ve ark., 2005).

## 1.2. Spor Genetiği

Kas performansının işlevi açısından kuvvet ve dayanıklılık birbirinden farklı uçlarda olduğu için, bu iki parametreden birine daha baskın şekilde sahip olan ve kuvvet veya dayanıklılık baskın spor dallarında yarışan atletlerin allele frekansları günümüzde sıkılıkla karşılaştırılmaktadır. Araştırmacılar bu yolla kuvvet ve dayanıklılığın genetik belirteçlerini bulmak için incelemeler yapmaktadır (Naumov ve ark., 2014). Bu kapsamda yapılan ilk araştırma, Montgomery ve ark. (1998) tarafından 1998 yılında, bir dayanıklılık dalı olan tırmanış sporcuları üzerinde yapılmıştır. Araştırmada everest tepesine tırmanan elit sporcuların ACE geni incelenmiş ve yüksek oranda I allele taşıdıklarını tespit edilmiştir (Montgomery ve ark., 1998).

İllerleyen araştırmalar, genetik faktörlerin, dayanıklılık ve kuvvetin yanı sıra esneklik, nöromusküler koordinasyon, psikolojik özellikler gibi birçok fenotipin üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, atletik seviyedeki varyansın ortalama %66'sının genetik faktörlerin katkısıyla olduğu açıklanmıştır (De Moor ve ark., 2007).

Spor genetiği, elit atletlerin genetik organizasyonlarını ve fonksiyonlarını araştırmaya odaklanmış yeni bir disiplin haline gelmiştir (Ahmetov ve ark., 2005; Subak ve ark., 2017). 2000'li yılların başlarında insan genom projesinin tamamlanmasının ardından ACE, ACTN3 ve AMPD1 gibi bazı genlerin atletik performansla ilişkisi olabileceğinin açıklanmasıyla birlikte bir nevi spor genetiği araştırmaları dönemi başlamıştır. Genotipleme sistemlerinin gelişmesi ve daha ulaşılabilir hale gelmesiyle birlikte çok sayıda spor genetiği araştırmaları yapılmış ve 2014 Aralık ayı itibarıyle spor genetiği ile ilişkilendirilmiş DNA polimorfizm sayısı 120'den fazla olarak yayınlanmış ve 2016 yılında bu rakamın artarak 155'i geçtiği ifade edilmiştir (Ahmetov ve ark., 2005; Ahmetov ve ark., 2016). Bu polimorfizmler 53 otozomal gen içerisinde, Y kromozomunda ve mitokondriyel DNA içerisinde yer almaktadır. Açıklanan polimorfizmler arasında 77 tanesi dayanıklılık performansı için, 43 tanesi de kuvvet performansı için belirteç olarak kaydedilmiştir. Dayanıklılık belirteçleri olarak ifade edilen ve çokça araştırılan polimorfizmler: ACE I, ACTN3 577X, PPARGC1A Gly482, PPARA rs4253778 G. Kuvvet belirteçleri olarak ifade edilen ve çokça araştırılan polimorfizmler: ACE D, ACTN R577, AMPD1 Gln12, Arg577, MTHFR rs1801131 C, HIF1A 582Ser, NOS3 rs2070744 T (Ahmetov ve ark., 2005) .

### **1.2.1. Aerobik Dayanıklılık ve Gen İlişkisi**

Aerobik dayanıklılığın temelini aerobik enerji sistemi oluşturmaktadır. Oksidasyon adı verilen, mitokondrilerde besinlerin enerji elde etmek amacıyla parçalanması yöntemi ile yüksek miktarda ATP oluşturulmaktadır. Yağların ve

karbonhidratların, karbondioksit ve suya kadar parçalanmasıyla 38-39 mol ATP üretilmektedir (Günay ve ark., 2013).

Aerobik dayanıklılığın baskın özellik olduğu maraton, bisiklet ve kürek gibi uzun süreli egzersizleri temel alan spor dallarında kullanılan temel enerji sistemi aerobik sistemdir. Bu sistemde maksVO<sub>2</sub>, uzun süreli egzersizlerde kaliteli ve yüksek seviyede performans için çok önemlidir (Aslan ve ark., 2012; Günay ve ark., 2013).

Dayanıklılık performansının kapasitesi, birçoğu hücresel metabolizma ve kardiyovasküler fonksiyon ile ilişkili olan çok sayıda faktörden etkilenmektedir. Örnek olarak, iskelet kası içerisindeki yavaş kasılan kas lif oranı aerobik dayanıklılık için önemlidir. Bunun haricinde, oksijen tüketiminin maksimal oranı ile doğrudan bağlantılı olan maksimal kardiyak çıkış da dayanıklılık performansının kapasitesi için oldukça önemlidir. Bu tip fenotiplerin yüksek derecede genetik etki altında olduğu belirtilmektedir. Öyle ki, yavaş kasılan kas lifi oranının genetik olarak belirlendiği ifade edilmektedir (Simoneau ve Bouchard, 1995). Ayrıca maksVO<sub>2</sub> ve aerobik güç özelliklerinin de yüksek oranda kalitsal olduğunu gösteren detaylı araştırmalar mevcuttur (Alonso et al., 2014; Bouchard et al., 1999). Spor genetiğiyle ilgili en fazla araştırma dayanıklılık sporcuları üzerinde yapılmıştır ve Ahmetov ve ark., yaptıkları detaylı incelemede en az 77 dayanıklılık belirtecinin literatürde yer aldığı göstermiştir (Ahmetov ve ark., 2005).

Sporcularda maksVO<sub>2</sub> seviyesi direkt ve indirekt testlerle ölçülmektedir. Direkt ölçümler arasında koşu bandı, bisiklet ergometresi, basamak testi gibi testler bulunmaktadır. İndirekt ölçümler arasında da bisiklet ergometresi, basamak testleri gibi testlerin yanında 12 dk. Cooper testi gibi sahada yapılan ölçümler de yer almaktadır (Ergen ve ark., 2002). Bu araştırmada dayanıklılık belirteci olarak 12 dk. Cooper testi sonuçları kullanılmıştır.

### **1.2.1.1. Aerobik Dayanıklılık Performansı Etkileyen Faktörler**

Aerobik dayanıklılığın verimi çok sayıda faktörden etkilenmektedir. Bu faktörler arasında aerobik güç, laktat eşiği, kas fibril tipi, hareket ekonomisi gibi çok sayıda etmen yer almaktadır. Her ne kadar maksVO<sub>2</sub> değeri sporcuların dayanıklılık seviyeleri için önemli olsa da, aerobik dayanıklılık performansının verimi ve verim düzeyini etkileyen faktörler arasında kasların önemi de çok yüksektir (Bompa, 2015).

Yapılan araştırmalar kaslarla ilgili birçok faktörün aerobik dayanıklılık performansı üzerine etkileri olduğunu göstermektedir. Bu faktörler arasında kas kuvveti, esneklik, kas fiber tipleri, iskelet kası işlevi gibi etmenler ön plana çıkmaktadır (Bassett ve ark., 2000; Joyner ve ark., 2008; Paavolainen ve ark., 1999).

Dayanıklılık performansının devamlılığı esnasında oluşan kassal yaralanmaların, performansı etkileyebileceği kaydedilmiştir (Armstrong, 1986). Hikida ve ark. (1983), dayanıklılık egzersizlerinin iskelet kas liflerinde önemli yaralanmalara yol açtığını göstermiştir. Dayanıklılık performansı sırasında en büyük hasarın en derin ekstensör kaslarda olduğu görülmüştür (Armstrong, 1986). Dayanıklılık performansı esnasında kaslardaki bu yaralanmaların enzimlerle ilişkisi de çokça araştırılmıştır (Apple ve ark., 1985; Newham ve ark., 1983; Siegel ve ark., 1981). Histolojik araştırmalar, gecikmiş kas ağrısının altında yatan nedenler arasında, dayanıklılık performansı esnasında görülen kas yaralanmalarının olabileceğini belirtmektedir (Friden ve ark., 1981; Friden ve ark., 1983). Dayanıklılık performansı sırasında düşük enerji harcanmasını gerektiren eksantrik kasılmaların kas hasarlarına neden olduğu kaydedilmiştir (Bond ve ark., 1972). Tüm bu araştırmalar kassal yaralanmaların dayanıklılık performansını etkileyebileceğini göstermektedir.

### **1.2.1.2. Futbol Hakemleri İçin Dayanıklılık Performansının Önemi**

Futbol hakemlerinin müsabaka süresince göstermeleri gereken performans seviyesi her geçen gün artmaktadır. Öyle ki, İngiltere Premier Liginde yapılan ölçümler, futbol hakemlerinin müsabaka boyunca futbolculardan daha fazla mesafe kat ettiklerini göstermiştir (Weston ve ark., 2011).

Dayanıklılık, futbol hakemlerinin müsabaka boyunca doğru yer alabilmesi ve pozisyonlara yakın olabilmesi için en önemli faktörler arasındadır. Araştırmalar futbol hakemlerinde dayanıklılık performansının, hakemlerde dikkat, doğru karar verme, pozisyonlara yakınlık gibi çok sayıda fiziksel ve psikolojik faktörleri etkilediğini göstermektedir (Casajus ve ark., 2007; Castagna ve ark., 2005; Castagna ve ark., 2002; MacMahon ve ark., 2007; Müniroğlu, 1999).

Genetiğin dayanıklılık performansıyla ilişkisini gösteren binlerce araştırma bulunmasına rağmen, futbol hakemlerinde dayanıklılık ve genetik ilişkisini inceleyen araştırmalar oldukça az saydadır. Bu araştırmada futbol hakemlerinin, bir üst klasmana yükselmesi aşamasında sıkılıkla uygulanan bir test olan Cooper testinden birkaç kez 3000 m ve üzerinde performans gösterebilmiş futbol hakemlerinin ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmleri incelenmiştir.

### **1.2.1.3. Cooper Testi**

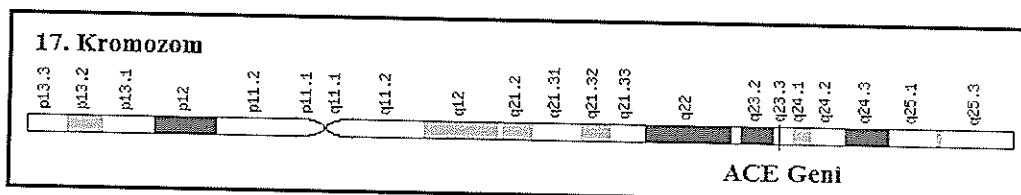
12 dk. Cooper testi, bir dayanıklılık seviyesi ölçüm testi olarak kullanılmaktadır. Bu testte sporculardan, 12 dk. süre boyunca koşabildikleri kadar mesafeyi koşmaları istenmekte ve bunu yapabilmeleri için sürekli motive edilmektedir. 12 dk. sonunda koşulan mesafe kilometre birimine çevrilerek ve aşağıdaki eşitlikte kullanılarak tahmini maks $\text{VO}_2$  değeri hesaplanmaktadır (Bandyopadhyay, 2015):

$$\text{maksVO}_2 (\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{dk}^{-1}) = (22.351 \times \text{koşulan mesafe 'km' biriminde}) - 11.288$$

Bu araştırmada 12 dk. Cooper testinden 3000 metre ve üzeri koşabilmiş futbol hakemleri yer almaktadır. Yukarıdaki eşitlikte mesafe yerine 3 km yerleştirildiğinde maksVO<sub>2</sub> sonucu 55,77 ml·kg<sup>-1</sup>·dk<sup>-1</sup> olarak hesaplanmaktadır.

### 1.2.2. ACE Geni, I/D Polimorfizmi ve Sporla İlişkisi

ACE geni, 17. kromozomun q bölgesinde yer almaktadır. Bu gen anjiyotensin dönüştürücü enzimi (ACE) kodlamaktadır (Şekil 1.3). ACE, anjiyotensin I proteinini, anjiyotensin II proteinine dönüştürdüğü için anjiyotensin dönüştürücü enzim olarak adlandırılmıştır. Anjiyotensin ailesi, damar genişlemesi ve daralması ile ilişkili Renin-Anjiyotensin Sistemin (RAS) en önemli elemanlarındandır (Almeida, 2012; Montgomery ve ark., 1998; Sahlén ve ark., 2010).



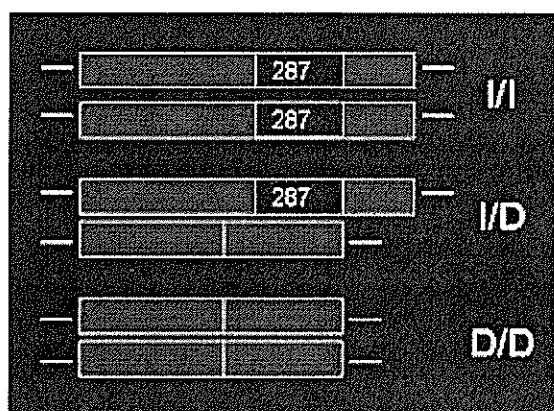
**Şekil 1.3.** ACE Geninin 17. Kromozomdaki Lokasyonu (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ACE>)

Anjiyotensin II proteininin, RAS yolu aracılığıyla damar daralması ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca, aldosteron hormonunun sentezini artırarak böbreklerden su ve tuz emilimini artırmaktadır. ACE'nin bir diğer etkisi ise, vazodilatör bir faktör olan bradikininin yıkımıdır (e Santos ve ark., 2012). ACE bu yolla damar daralmasında ikincil bir etkiye de sahiptir (Huang ve ark., 2014).

ACE geni üzerindeki bir noktada görülen tek nükleotid polimorfizmi ile meydana gelen I/D polimorfizminin (rs4646994) sporla ilişkisi bir süredir

tartışılmaktadır (Ahmetov ve ark., 2008; Alvarez ve ark., 2000; Collins ve ark., 2004; Gayagay ve ark., 1998; Humphries ve ark., 2000; Jelakovic ve ark., 2000; Myerson ve ark., 1999). ACE geninden 287 baz çiftinin ayrılmasıyla oluşan ve ismini bundan alan D allelinin (Delesyon) toplumda yüksek frekansta olduğu gösterilmiştir (Şekil 1.4). Söz konusu 287 baz çiftinin ayrılmadığı formu ise delesyon kelimesine zıt olarak düşünülp I alleli (İnsersiyon) olarak adlandırılmaktadır (Durmic ve ark., 2017).

ACE D allelinin ACE aktivitesini artırdığı gösterilmiştir. ACE aktivitesinin değişimi, anjiyotensin II miktarında değişimlere yol açmaktadır. ACE I/I genotipine sahip kişilerde anjiyotensin II seviyesi en düşükken, I/D kişilerde artmakta, D/D kişilerde ise en yüksek oranda artmaktadır (Saber-Ayad ve ark., 2014; Tanrıverdi ve ark., 2005).



Şekil 1.4. ACE I/D Polimorfizmi (Feldman ve ark., 2007)

1998 yılında yapılan ilk spor genetiği araştırması ACE genini incelemiştir. Everest'e tırmanan dağcılar üzerinde yapılan araştırmada, bu dayanıklılık sporcularında ACE I allelinin yüksek frekansta olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, 8,000 metreden daha fazla tırmanan 15 dağcında ACE D alleli görülmemiği belirtilmiştir (Montgomery ve ark., 1998).

ACE I allelinin dayanıklılık sporcularında daha yüksek frekansta olduğu, çok sayıda araştırmada ifade edilmektedir (Ahmetov ve ark., 2008; Alvarez ve ark., 2000; Collins ve ark., 2004; Gayagay ve ark., 1998; Humphries ve ark., 2000; Jelakovic ve ark., 2000; Myerson ve ark., 1999). 2012 yılında yayınlanan bir derleme yayında ACE I/D polimorfizmi, atletik performans için bir biyolojik belirteç olarak kaydedilmiştir (De Mello Costa ve ark., 2012).

Türkiye'de de ACE geninin performansa etkisi araştırılmış, ACE I allelinin dayanıklılık sporcularında, ACE D allelinin ise kuvvet sporcularında yüksek frekansta olduğu sonucu kaydedilmiştir (Çam ve ark., 2005; Gunel ve ark., 2014; Kasikcioglu ve ark., 2004; Tanrıverdi ve ark., 2005; Ulucan ve ark., 2014).

Bu araştırmada Cooper testinden 3000 m ve üzerinde performans gösteren futbol hakemlerinin ACE I/D polimorfizmi incelenmiş ve kontrol grubuya karşılaştırılmıştır.

### **1.2.3. SOX15 Geni, T/G Polimorfizmi ve Sporla İlişkisi**

SRY (*Sex determining Region Y*) adı verilen cinsiyet belirleyici gen, 79 aminoasitten oluşan bir proteini kodlamaktadır. Bu protein, DNA içerisinde hareket edebilen, bir diğer deyişle yüksek mobiliteye sahip HMG (*High Mobility Group*) kutusuna (bölgесine) bağlanmaktadır. SRY HMG bölgesinde %50'den fazla aminoasit benzerliğine sahip proteinler kodlayan genler tanımlanmış ve SRY kutusu (*SRY Box*) veya kısaca SOX genleri olarak tanımlanmıştır. SOX proteinleri transkripsiyon faktörü olarak görev almakta ve kromozom oluşumunda görev alan kromatinin mimari yapısına katılmaktadırlar (Béranger ve ark., 2000).

SOX ailesi, sınıflandırılması yapıldığı ilk zamanlarda A ile F harfleri arasında isimlendirilen 6 gruba ayrılmıştır. Farelerde SOX15'in keşfinden sonra bu sayı 7 ye çıkarılmış (A - G) ve insan SOX20 geninin adı SOX15 olarak güncellenmiştir. Bu

nedenle daha eski literatürde SOX15 genine SOX20 ismiyle de rastlanmaktadır. Ayrıca SOX15, SOXG grubunun tek üyesi durumundadır (Ito, 2010).

Orijinal adı *Sry-box 15* olan SOX15, SOX ailesinin bir transkripsiyon faktörüdür. Embriyonik büyümeyenin kontrolünde görevli olduğu bilinmektedir (Rui ve ark., 2017). SOX15, 20 farklı protein kodu barındırmakta olan ve yüksek mobiliteye sahip bir gruptur. Hücre büyümeye ve farklılaşmasında transkripsiyonu aktive edici (aktivatör) ya da baskılayıcı (represör) işlevi göstermektedir (Bernard & Harley, 2010).

SOX15'in, erken embriyonik gelişimin düzenlenmesinde ve erişkin dokularda hücre ölümü (apoptoz), hücre çoğalması, yağ dokusu oluşumu, damar oluşumu ve sinir hücreleri arasındaki sinapsların oluşumundan sorumlu Wnt  $\beta$ -katenin sinyal yolunu baskıladığı gösterilmiştir (Thu ve ark., 2014).

Farelerde SOX15 cDNA'sını ilk kez izole etmeyi başaran Béranger ve ark. (2000), yüksek derecede çoğalma özelliği gösterebilen, bir diğer deyişle proliferatif myoblast hücrelerinde SOX15'in yüksek miktarda expresyonu olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde Lee ve ark. (2004), fareler üzerinde yaptıkları araştırma ile SOX15'in kaslar üzerindeki etkilerini oldukça detaylı incelemiştir. Yapılan deneylerde SOX15'in miyojenik, yani kas doku farklılaşmasında kritik rol oynadığı kaydedilmiştir. Ayrıca, SOX15'in aynı zamanda iskelet kasının bozunumunda rol alan satellit (uydu) hücrelerinin gelişiminde rol oynadığı ifade edilmektedir. Bununla birlikte, SOX15 geni susturulan farelerde kas yaralanması sonrasında kas yenilenmesinin azaldığı tespit edilmiştir. Aynı araştırmada SOX15'in, iskelet kası gelişimi sırasında erken miyojenik hücre soylarının belirlenmesinde rol aldığı da gösterilmiştir. SOX15 geni susturulan farelerde iskelet kası yenilenmesinin bozulduğu gösterilmiş ve araştırma sonucunda SOX15'in miyojenik program için gerekli olduğu ifade edilmiştir (Lee ve ark.. 2004; Meeson ve ark.. 2007).

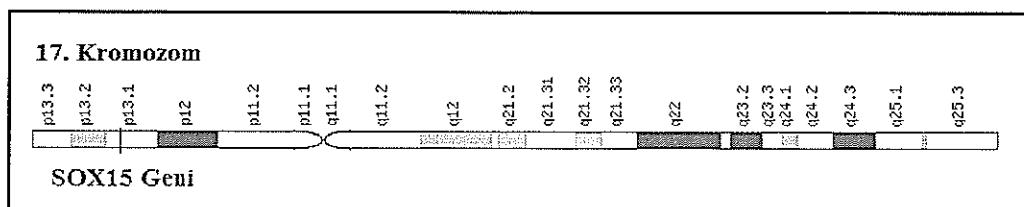
Bir diğer detaylı araştırmada Savage ve ark. (2009), P19 adı verilen bir çeşit kanser hücre hattı üzerinde SOX15 genini susturarak araştırmalar yapmıştır. SOX15

geni susturulan hücrelerde kas doku farklılaşmasında görevli transkripsiyon faktörlerinin kontrolünde rol alan Pax3 ve Meox1 proteinlerinde azalma kaydedilmiştir. Ayrıca miyojenik büyümeye için baskılıayıcı olduğu belirtilen Msx1 ve Id1 seviyelerinin arttığı, bu nedenle de SOX15 suskun hücrelerde miyojenik büyümeyen eksik kaldığı rapor edilmiştir. Araştırmada SOX15 geninin kasların öncü hücrelerinin (ya da prekürsör) kaderinin belirlenmesinde gerekli olduğu ifade edilmektedir (Savage ve ark., 2009).

Daha detaylı bir bilgi olarak, C2C12 adı verilen bir miyoblast hücre hattı üzerinde deneyler yapılmış ve bu hücrelerin farklılaşmamış evresinde SOX15'in ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar SOX15'in fazla ekspresyonunun, *myogenin* ve *MyoD* adı verilen, kas doku oluşumunda önemli iki faktörün ekspresyonunu baskıladığını göstermiştir. Bu yolla da miyoblast hücrelerinin ileri kas dokularına (miyotüplere) farklılaşmalarının bloke olduğu ifade edilmektedir (Béranger ve ark., 2000; Schmidt ve ark., 2003). C2C12 miyoblast hücre hattı ile çalışan bir başka grup ise, bu hücrelerin SOX15 geninin susturulmasıyla beraber G0/G1 hücre döngüsünde kaldıklarını, bir diğer deyişle hücre bölünmesinin başlangıç evresinde durduğu gösterilmiştir (Meeson ve ark., 2007). İleri araştırmalarda benzer şekilde SOX15 geni susturulmuş miyojenik hücrelerin yüksek miktarda MyoD eksprese ettiği kaydedilmiştir. Bu sebeple araştırmacılar SOX15'in MyoD ekspresyonunu etkilemesi nedeniyle iskelet kas yenilenmesi ile ilişkisi olduğunu belirtmektedir (Ito, 2010). Ayrıca SOX15 geninin embriyonik ve trofoblast kök hücrelerde eksprese edildiği de gösterilmiştir (Lee ve ark., 2004; Maruyama ve ark., 2005).

İnsan SOX15 geni 17. kromozom üzerinde, 17p13 bölgesinde yer almaktadır (Şekil 1.5). Fetal dokulardan yetişkin dokulara kadar ekspresyonu olduğu bilinmektedir (Meyer ve ark, 1996; Vujić ve ark., 1998). Yan ve ark. (2007), insan hücrelerinde SOX15 geninin overekspresyonunun, bir diğer deyişle normalden fazla eksprese edilmesinin hücre bölünmesini baskıladığını göstermiştir. Aynı araştırmada SOX15'in overekspresyonu ile IGFDP5, C9orf64, PAQR6 gibi çok sayıda genin ekspresyonunun 2 kattan fazla yükseldiği ve bu genlerden en az altısının hücre

bölünmesi ve/veya hücre döngüsünde rol aldığıni ifade edilmektedir (Yan ve ark., 2007).



**Şekil 1.5.** SOX15 Geninin 17. Kromozomdaki Lokasyonu (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddis.cgi?pl?gene=SOX15>)

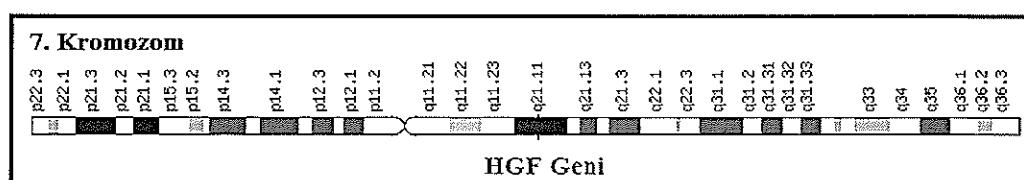
Pruna ve ark. (2017), SOX15 geninde görülen T/G polimorfizminin (rs4227) futbolcularda temassız kas yaralanmaları ile ilişkisini incelemiştir. Araştırmada T alleli taşıyan sporcuların daha az temassız kas yaralanması yaşadığı kaydedilmiştir. Araştırmada ayrıca, GG genotipine sahip futbolcularda anormal iskelet formasyonu olduğu ve kas yaralanması oranının yükseldiği belirtilmektedir (Pruna ve ark., 2017).

Bu araştırmada Cooper testinden 3000 m ve üzerinde performans gösteren futbol hakemlerinin SOX15 T/G polimorfizmini incelenmiş ve kontrol grubuya karşılaştırılmıştır.

#### 1.2.4. HGF Geni C/A Polimorfizmi ve Sporla İlişkisi

Hepatosit büyümeye faktörü, kısaca HGF (*Hepatocyte Growth Factor*), ilk olarak 1984 yılında bir protein olarak keşfedilmiş ve saflaştırılmış, daha sonra insan ve tavşan plazmasından da izole edilmiştir. 1989 yılında insan HGF cDNA'sı klonlanmış ve HGF, farklı yapısal karakteriyle yeni bir büyümeye faktörü olarak tanımlanmıştır. Biyolojik olarak aktif HGF, 697 ya da 692 aminoasit içeren heterodinamik bir moleküldür (Nakamura ve ark., 2011).

HGF, birden fazla fenotipik özelliği etkileyen, diğer ismiyle pleiotropik bir büyümeye faktörüdür. 7. kromozom üzerinde, 7q21 lokasyonunda bulunmaktadır (Şekil 1.6). Birçok hücre tipinde mitojenik (mitoz hücre bölünmesini tetikleyen), motojenik (hücre göçünü tetikleyen), morfojenik (hücrede şekil değişimini tetikleyen), anjiyojenik (kan damarı oluşumunu tetikleyen), antienflamatuar (iltihap önleyici) ve antifibrotik özellikler göstermekte olduğu bilinmektedir (Dally ve ark., 2017). HGF tüm bu işlemleri, bir tirozin protein kinaz olan reseptörü c-MET'e bağlanarak gerçekleştirilmektedir (Conway ve ark., 2006; Ilangumaran ve ark., 2016; Nakamura ve ark., 2011).



**Şekil 1.6.** HGF Geninin 7. Kromozomdaki Lokasyonu (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HGF>)

HGF'nin bağlı olduğu c-MET reseptörünün bloke edildiği bir araştırmada, farelerde ekstremite kaslarının ve diyaframın şekil olmadığı kaydedilmiştir (Bladt ve ark., 1995). Benzer şekilde bir başka araştırmada HGF'nin ekstremite kaslarının motor nöronlarının tasarımda rolü bulunduğu ifade etmektedir (Ebens ve ark., 1996).

HGF'nin, embriyogenez sırasında organ ve doku gelişiminde çok çeşitli roller üstlendiği bilinmektedir. Ayrıca, mukoza ve deri gibi çok sayıda dokuda doku homeostazisi, tamiri ve yenilenmesinin kontrolünde de işlev gördüğü gösterilmiştir (Conway ve ark., 2006; Glim ve ark., 2013). Bunun yanında, HGF'nin farklı organlarda epitel doku gelişimini düzenlediği de bilinmektedir (Nakamura ve ark., 2011).

HGF geninden tam uzunlukta ve birçok alana etki edebilen (*multi-domain*) bir protein eksprese edilebilmekte, alternatif kesimlerle HGF-NK gibi başka izoformlar da eksprese edilebilmektedir (Ciocca ve ark., 1996; Miyazawa ve ark., 1991; Mungunsukh ve ark., 2016). HGF'nin c-MET reseptörüne bağlanması, hücrenin sitoplazmik bölgesinde bir haberleşme şekli olan otofosforilasyona yol açmakta ve ERK1/ERK2, PI3K/Akt, STAT3, PKC, Rac/Rho ve RAP1 gibi çok sayıda hücre içi sinyal yolağını aktive etmektedir (Dally ve ark., 2017).

HGF'nin kaslarla ilgili etkileriyle ilgili de araştırmalar bulunmaktadır. Bir araştırmada HGF'nin kas sakatlığının ardından kas fibrillerinde sekresyonu gösterilmiştir (Tatsumi ve ark., 1998). Ayrıca araştırmalar HGF'nin yüksek konsantrasyonunun kas yenilenmesini arttıırken düşük konsantrasyonunun baskılıayabildiğini belirtmektedir (Gal-Levi ve ark., 1998; O'Reilly ve ark., 2008; Tatsumi ve ark., 1998). Güncel bir araştırmada HGF seviyesinin handgrip kas kuvvetini etkilediği, yüksek HGF ekspresyonunun kas kuvvetini artttığı kaydedilmiştir (Shimizu ve ark., 2018).

HGF geninde görülen bir polimorfizmin sporcularda temassız kas yaralanmalarıyla ilişkisi araştırılmıştır. Pruna ve ark. (2017), HGF C/A (rs5745697) polimorfizminin futbolcularda temassız kas yaralanmalarıyla ilişkisi olduğunu göstermiştir. Araştırmaya göre CC genotipindeki sporcuların anlamlı ölçüde daha az kas yaralanması geçirdikleri kaydedilmiştir (Pruna ve ark., 2017).

Bu araştırmada Cooper testinden 3000 m ve üzerinde performans gösteren futbol hakemlerinin HGF C/A polimorfizmi incelenmiş ve kontrol grubuya karşılaştırılmıştır.

## **2. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **2.1. Araştırma Grubu**

Bu araştırma, periyodik olarak yapılan Cooper Testi'ni 3000 m ve üzerinde koşan 30 futbol hakemi üzerinde yapılmıştır. Deney grubu olarak seçilen hakemler için Ankara İl Hakem Kurulu'ndan izin alınmıştır.

Araştırmada kontrol grubu olarak, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi'nden, sporcu lisansına sahip olmayan, geçmişinde de sporcu lisansı almamış ve günlük işler dışında herhangi bir ekstra fiziksel aktivite yapmayan otuz gönüllü öğrenci yer almıştır. Kontrol grubu seçiminde bu koşulların arananmasıyla, kontrol grubunun dayanıklılık seviyesi açısından mümkün olduğu kadar genel popülasyonu yansıtılabilmesi amaçlanmıştır.

Araştırmaya katılan deney ve kontrol grubundan bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alınmıştır. Araştırmaya katılan deney ve kontrol grubunun demografik verileri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1.** Hakem ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri

	Sayı	Yaş	Boy (cm)	Vücut Ağırlığı (kg)
Hakemler	30	$23,33 \pm 2,52$	$178,19 \pm 5,23$	$72,64 \pm 7,16$
Kontrol	30	$22,47 \pm 1,92$	$173,71 \pm 7,02$	$76,81 \pm 9,62$

Deney ve kontrol grubu seçilirken etik kurallara uyulmuştur. Grup seçilirken ağız içi sürüntü örneği alınacağı için, ağızlarında yara olup olmadığı sorulmuş, ağız içinde yara olan kişiler araştırmaya dahil edilmemiştir. Araştırma için AÜTF Klinik araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Karar No: 05-409-19, Karar Tarihi: 11.03.2019).

## 2.2. İncelenen SNP'ler

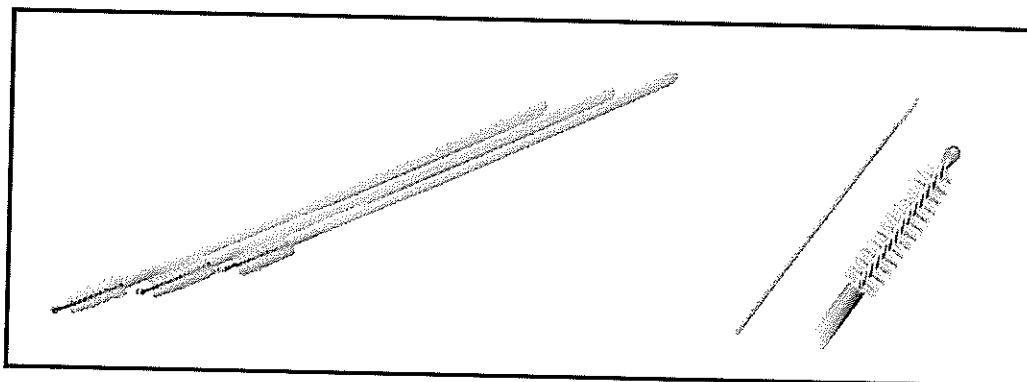
Araştırmada ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmleri incelenmiştir. İncelenen SNP'lerin detayları Çizelge 2.2'de gösterilmiştir (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Araştırmada incelenen SNP'ler.

Gen	Polimorfizm	SNP Kodu
ACE	I/D	rs4646994
SOX15	T/G	rs4227
HGF	C/A	rs5745697

## 2.3. Araştırma Grubundan DNA Eldesi

Araştırma grubundan DNA elde edilmesi için, orijinal ismi *Buccal Swab* olan, tek kullanımlık steril, rimel tipi smear fırçaları kullanılmıştır (Şekil 2.1). Katılımcıların her iki yanak iç bölgесine steril fırçalar 1 dk kadar sürüldükten sonra yanak içi sürüntü örnekleri içerisinde izotonik su (%0,9 NaCl) bulunan eppendorf tüplerine fırçanın ucu batırılarak alınmıştır.



Şekil 2.1. Rimel Tipi Smear Fırça

## 2.4. DNA İzolasyonu

Tüm laboratuvar analizleri İntergen Genetik Merkezi’nde hizmet alımı ile yaptırılmıştır. DNA izolasyonu için magnetik boncuk yöntemi kullanan otomatize bir sistem kullanılmıştır. İzolasyon için Zinexts - MagPurix Kit (ZP02001) kullanılmıştır.

## 2.5. Primer Tasarımı

Çalışılan 3 polimorfizm için 3 çift polimeraz zincir reaksiyonu (Orijinal adı ve kısaltması: *Polymerase Chain Reaction, PCR*) primeri tasarlanmıştır. SOX15 ve HGF polimorfizmlerinde, PCR sonucunda elde edilecek amplikonların, indeksleme PCR’ı sayesinde direkt olarak dizilenebilmesi için primerlerin 5’ uçlarına uygun diziler eklenmiştir. ACE polimorfizmi için ise agaroz jel elektroforezi kullanılarak genotipleme yapıldığı için 5’ uçlarına dizi eklenmemiştir. Kullanılan primerler ve amplikon boyları Çizelge 2.3’de gösterilmiştir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. İncelenen polimorfizmler için hazırlanan primerler

<b>SOX15_SNPI_F</b>	ATTTGAGTGCTTCGTAAGCCCTGTAC	173 bp
<b>SOX15_SNPI_R</b>	TGCCGTCCAGACTCAGTCTTCCAG	
<b>HGF_SNP2_F</b>	AAGAATGAAAGTCAAGATTGCCAG	210 bp
<b>HGF_SNP2_R</b>	AACATGAAATATTACTTGCCCCACTTGC	
<b>ACE_DL_F</b>	GGACTCTGTAAGCCACTGCTGGA	I: 530 bp
<b>ACE_DL_R</b>	TCCCATGCCCATAACAGGGCTTC	

## 2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Çalışılacak polimorfizm bölgelerinin PCR ile amplifikasyonu, yeni nesil sekanslamaya uygun olarak tasarlanan primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

PCR koşulları Çizelge 2.4'de sunulmuştur (Çizelge 2.4). PCR sonuçları %2'lik agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir.

## 2.7. Yeni Nesil Sekanslama İçin İndeksleme PCR'ı

Her bir örnek için farklı bir set primer çifti kullanılarak örnekler hem indekslenmiş hem de yeni nesil sekanslamaya uygun hale getirilmiştir. Bu aşamada kalıp olarak ilk PCR da elde edilen ürünlerin karışımı kullanılmıştır. PCR koşulları Çizelge 2.5'te gösterilmiştir (Çizelge 2.5). Reaksiyon sonuçları %2'lik agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir.

Çizelge 2.4. PCR Koşulları

İçerik	Reaksiyon Başına Miktar ( $\mu$ l)
dH <sub>2</sub> O	15
5x Tampon (Thermo Inc.)	5
dNTP karışımı, her biri 10mM	0,5
İleri Primer (5 $\mu$ M)	1
Geri Primer (5 $\mu$ M)	1
PhireII HS DNA Polimeraz (Thermo Inc.)	0,5
Kalıp DNA (20-50 ng/ $\mu$ l)	2
Toplam	25

**Çizelge 2.5.** Yeni nesil sekanslama için indeksleme PCR koşulları.

İçerik	Reaksiyon Başına Miktar ( $\mu$ l)
dH <sub>2</sub> O	17
5x Tampon (Bioline Inc.)	5
İleri Primer (5 $\mu$ M)	1
Geri Primer (5 $\mu$ M)	1
MyTaq DNA Polimeraz (Bioline Inc.)	0,5
Kalıp DNA (PCR ürünü)	0,5
Toplam	25

## 2.8. PCR Havuzu Oluşturma

Her bir örnek için elde edilen PCR ürünleri, reaksiyon verimliliği göz önünde bulundurularak, her bir örneğin yaklaşık eşit oranda temsil edileceği şekilde karıştırılmıştır.

## 2.9. Saflaştırma ve Ölçüm

Oluşturulan PCR havuzu, MN – NucleoFast 96 kiti kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırılan PCR havuzu Nanodrop – ND1000 spektrofotometre yardımı ile ölçülmüştür.

## 2.10. Yeni Nesil Sekans

İllumina firmasının Miseq cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İndeksleme PCR'ı yapıldığı için ayrıca örnek hazırlama kiti kullanılmamıştır; ölçülen saflaştırılmış ürün uygun bir şekilde seyreltilerek direkt olarak yüklenmiştir. Sekanslama için v2 300cy kiti kullanılmıştır. Illumina firmasının Miseq Reporter

yazılımı ve Broad Institute tarafından geliştirilen IGV 2.3 yazılımı kullanılarak, örneklerin analizi yapılmıştır.

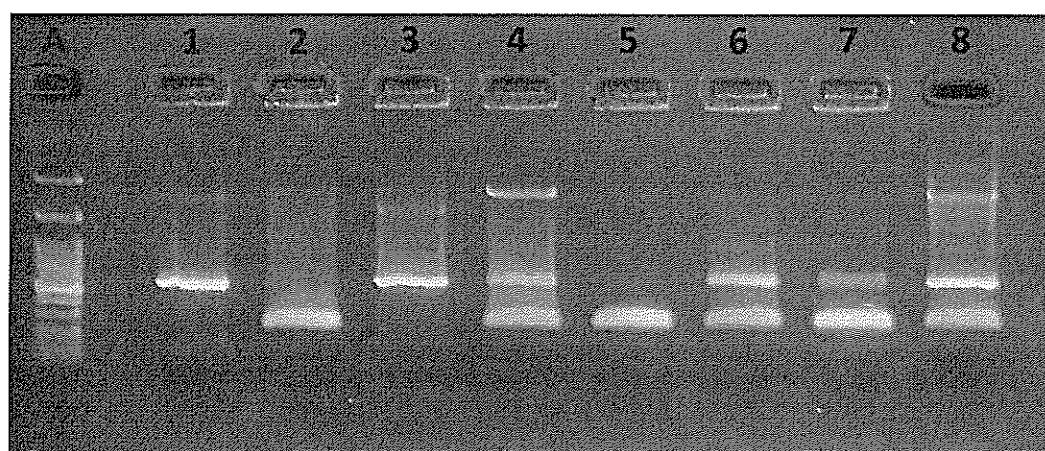
## **2.11. İstatistiksel Analiz**

ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmlerinin araştırma grubunda Hardy-Weinberg eşitliği için allel dağılımı test edilmiştir (Malhotra ve ark., 1996). Analiz için IBM SPSS Statistics 24 programı kullanılmıştır. Gruplar arasında anlamlı farklılık olup olmadığı Chi square/Fisher's Exact testi ile analiz edilmiştir (Malhotra ve ark., 1996). Minimum güven düzeyleri %95 ( $p<0,05$ ) olarak belirlenmiştir.

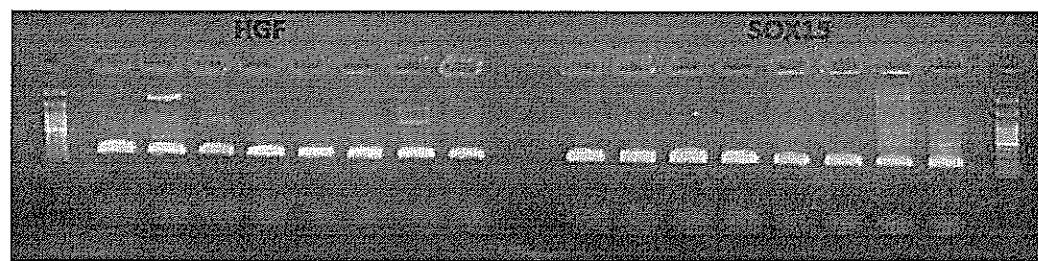
### 3. BULGULAR

Bu araştırmada 12 dk. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşabilen 30 futbol hakeminin ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmleri, spor yapmayan 30 kişinin polimorfizmleri ile karşılaştırılmıştır. Araştırma grubunda Hardy-Weinberg eşitliği için allele dağılımı test edilmiş ve dengede olduğu kaydedilmiştir ( $n = 60$ ; ACE I/D;  $p = 0,575$ ;  $q = 0,425$ ;  $P = 0,094781$ ; SOX15 T/G;  $p = 0,817$ ;  $q = 0,183$ ;  $P = 0,3965$ ; HGF C/A;  $p = 0,117$ ;  $q = 0,883$ ;  $P = 0,818352$ ).

PCR sonrasında ACE I/D polimorfizmi için örnek jel elektroforez görüntüleri Şekil 3.1.'de gösterilmiştir (Şekil 3.1). SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmleri için örnek görüntüler Şekil 3.2 de gösterilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. ACE için örnek agaroz jel elektroforez sonuçları. A. Ladder: 100 bp. 8. Kuyu: I/D genotipine sahip pozitif kontrol örneği. 1 ve 3 nolu örnekler I/I, 2 ve 5 nolu örnekler D/D, 4, 6 ve 7 nolu örnekler I/D.



**Şekil 3.2.** Örnek agaroz jel elektroforez sonuçları; 1 – 8 arası kuyucuklar: HGF C/A polimorfizmi, 9 – 16 arası kuyucuklar: SOX15 T/G polimorfizmi. Ladder: 100 bp.

ACE I/D polimorfizmi (rs4646994) açısından 12 dk. Cooper testinden 3000 m ve üzeri koşabilen hakemlerle kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. İstatistiksel analizler sonucunda futbol hakemleri ile kontrol grubu arasında ACE I/D polimorfizmi açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p = 0,187085$ ;  $p > 0,05$ ). Futbol hakemlerinde hem I/I (%2 fazla) hem de D/D (%10 fazla) genotipi sıklığı kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Bulunan farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Genotip sayıları ve oranları Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** ACE I/D Polimorfizmi Genotip Sayıları

Genotip	Hakemler (n = 30)	Kontrol (n = 30)
DD	13 (%43)	10 (%33)
ID	9 (%30)	14 (%47)
II	8 (%27)	6 (%20)
<hr/>		
Allel		
D	35 (%58)	34 (%57)
I	25 (%42)	26 (%43)
<hr/>		
$p > 0,05$		

Benzer şekilde SOX15 T/G polimorfizmi (rs4227) açısından 12 dk. Cooper testinden 3000 m ve üzeri koşabilen hakemlerle kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Yapılan istatistiksel analizler SOX15 T/G polimorfizmi açısından hakemler ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p = 0,005971$ ;  $p <$

0,05). Hakemlerde TT ve TG genotipi %42 (TT: 2, TG: 11) sıklıkta tayken kontrol grubunda %20 (TT: 1, TG: 5) sıklıkta olduğu tespit edilmiştir. Genotip sayıları ve oranları Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2. SOX15 T/G Polimorfizmi Genotip Sayıları**

Genotip	Hakemler (n = 30)	Kontrol (n = 30)
GG	17 (%56)*	24 (%80)*
TG	11 (%37)*	5 (%17)*
TT	2 (%7)*	1 (%3)*
<b>Allel</b>		
G	45 (%75)*	53 (%88)*
T	15 (%25)*	7 (%12)*

\* $p < 0,05$

HGF C/A polimorfizmi (rs5745697) açısından 12 dk. Cooper testinden 3000 m ve üzeri koşabilen hakemlerle kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda hakemler ile kontrol grubu arasında HGF C/A polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p = 0,386476$ ;  $p > 0,05$ ). Detaylı sayılar Çizelge 3.3'te gösterilmiştir (Çizelge 3.3).

**Çizelge 3.3. HGF C/A Polimorfizmi Genotip Sayıları**

Genotip	Hakemler (n = 30)	Kontrol (n = 30)
CC	1 (%3)	0 (%0)
CA	6 (%20)	6 (%20)
AA	23 (%77)	24 (%80)
<b>Allel</b>		
C	8 (%13)	6 (%10)
A	52 (%87)	54 (%90)

$p \sim 0,05$

#### **4. TARTIŞMA**

Bu araştırmada, 12. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşmuş futbol hakemlerinin 3 gen açısından farklılığa sahip olup olmadıkları incelenmiştir. Bu kapsamdaki 30 futbol hakeminin ACE I/D (rs4646994), SOX15 T/G (rs4227) ve HGF C/A (rs5745697) gen polimorfizmleri, sporcu lisansı bulunmayan 30 kontolle karşılaştırılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda ACE I/D polimorfizmini açısından hakemlerle kontrol grubu arasında anlamlı bir fark kaydedilmemiştir ( $p > 0,05$ ). Ancak, spor genetiği araştırmalarının ilki olan Montgomery ve ark. (1998), çalışmalarında ACE I/D polimorfizminin dayanıklılık sporcularında anlamlı şekilde farklı olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmanın ardından ACE I/D polimorfizmini çok sayıda ülkede elit sporcularda incelenmeye başlandı. Örnek olarak İngiliz 5000 m üstü koşucularında (Myerson ve ark., 1999), Hırvat, Rus ve Avusturyalı kürekçilerde (Ahmetov ve ark., 2008), İspanyol elit bisikletçi, uzun mesafe koşucusu ve hentbol oyuncularında, gene İspanyol Ironman atletlerinde (Alvarez ve ark., 2000), Rus orta mesafe yüzüclerinde (Nazarov ve ark., 2001), İtalyan olimpik dayanıklılık atletlerinde (Scanavini ve ark., 2002), Türk dayanıklılık sporcularında (Turgut ve ark., 2004), Polonyalı kürekçilerde (Ciezczyk ve ark., 2009), Japonya üniversite seviyesi uzun mesafe koşucularında (Min ve ark., 2009) ve Hindistan ordusu atletlerinde (Shenoy ve ark., 2010) ACE I allele anlamlı şekilde daha fazla sayıda bulunmuştur.

Tüm pozitif sonuçlara rağmen, ACE I/D polimorfizminin atletik performansla ilişkisini araştıran çalışmaların sayısı arttıkça negatif sonuçların sayısı da oldukça fazlalaşmıştır. Öyle ki, bu konudaki en güncel derleme olan Szalata ve ark., (2019) araştırmalarında verilen rakamlara göre ACE I/D (rs4646994) polimorfizminin atletik performansla istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olmadığını gösteren araştırmaların sayısı pozitif araştırmaların sayısını geçmiş durumdadır (Pozitif: 1310; Negatif: 1329).

Örnek olarak; Etiyopya’lı dayanıklılık atletlerinde (Ash ve ark., 2011), Japon dayanıklılık koşucularında (Tobina ve ark., 2010), Rus dayanıklılık atletlerinde (Ahmetov ve ark., 2009), Yunan elit dayanıklılık atletlerinde (Papadimitriou ve ark., 2009), Kenyalı dayanıklılık atletlerinde (Scott ve ark., 2005), Kanadalı, Alman, Finlandiyalı ve Amerikalı dayanıklılık sporcularında (Rankinen ve ark., 2000), Avustralyalı elit dayanıklılık sporcularında (Taylor ve ark., 1999) ve Kafkasyalı dayanıklılık sporcularında (Orysiak ve ark., 2013) ACE I/D polimorfizmi ile dayanıklılık performansı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmada da benzer şekilde, 12 dk. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşan futbol hakemleri ile lisanslı sporcuy olmayan kontrol grubu arasında ACE I/D polimorfizmi açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.1).

Tobina ve ark. (2010), araştırmaları sonucunda Japon dayanıklılık sporcularında DD ve ID genotipinin daha yüksek sıklıkta olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada da benzer şekilde, Cooper testinde yüksek performans gösteren futbol hakemleri arasında DD ve ID genotipi daha yüksek (II: 8, ID: 9, DD: 13) bulunmuştur. Ayrıca, çalışmamızla benzer şekilde Jesus (2016) yaptığı çalışmada futbol yardımcı hakemlerinde ACE D genotipinin daha yüksek frekansta olduğunu göstermiştir (Jesus, 2016).

Bu çalışmada 12 dk. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşabilen futbol hakemleri ile lisanslı sporcuy olmayan kontrol grubu arasında SOX15 T/G polimorfizmi (rs4227) açısından anlamlı bir fark ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Çizelge 3.2).

SOX15 geninin kas yapılanmasıyla yüksek derecede ilişkisi olduğu epeyce aydınlatıldığı halde, bu gendeki polimorfizmlerin sporla ilişkisi üzerine çok az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu alandaki bir çalışmada Pruna ve ark. (2017) SOX15 T/G polimorfizminin (rs4227) futbolcularda temassız kas yaralanmalarıyla ilişkisini incelemiş ve T allele taşıyan sporcuların daha az kas yaralanması yaşadığı gösterilmiştir. Yanlış isimle teknigi, yetersiz esneklik gibi çeşitli faktörler temassız kas yaralanmalarında etkili olsa da (Koz ve Ersöz, 2004; Şahin ve ark., 2018), Pruna

ve ark. (2017) araştırmasıyla beraber genetik faktörlerin de kas yaralanmalarında etkisi olabileceği görülmektedir. Araştırmada ayrıca GG genotipine sahip futbolcularda anormal iskelet formasyonu olduğu kaydedilmiş ve kas yaralanması oranının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada da paralel şekilde futbol hakemlerinde kontrol grubuna göre daha fazla SOX15 T alleli bulunduğu kaydedilmiştir (Çizelge 3.2).

Bu araştırma, SOX15 T/G (rs4227) polimorfizminin dayanıklılık performansıyla ilişkisini inceleyen ilk araştırma özelliğini taşımaktadır. SOX15 geni kas dokusuyla yüksek ilişkiye sahip bir gen konumundadır. Örnek olarak SOX15 geni, proliferatif myoblast hücrelerinde yüksek miktarda eksprese edilmektedir (Beranger ve ark., 2000). Aynı zamanda SOX15 geninin kas doku farklılaşmasında kritik rol oynadığı bilinmektedir (Lee ve ark., 2004). Öyle ki, SOX15 geni susturulmuş farelerde kas yaralanması sonrasında kas yenilenmesi yavaşlamaktadır (Meeson ve ark., 2007). Ayrıca, SOX15 geni susturulmuş hücre hatlarında kas doku farklılaşmasında görevli transkripsiyon faktörlerinin miktarı azalmakta ve bununla birlikte miyogenik büyümeye eksik kalmaktadır (Savage ve ark., 2009). Tüm bu verilerin ışığında, SOX15 genindeki polimorfizmlerin atletik performansı etkileyebileceği düşünülebilir. Atletik performans için kas dokusu son derece önemlidir ve kas dokusunda oluşabilecek her türlü farklılığın sportif performansı etkileyebileceği öngörlülebilir. Bu araştırmada Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşabilen hakemlerde, kontrol grubuna göre SOX15 T/G polimorfizmi açısından anlamlı bir fark bulunmasının nedenlerinden birisi, bu polimorfizmin neden olacağı kas yapılarındaki farklılıklar olabilir.

Pruna ve ark., 2017, SOX15 G allele'ine sahip sporcularda anormal iskelet kası formasyonu gözlemlemiştir. Hikida ve ark. (1983), dayanıklılık egzersizlerinin iskelet kas liflerinde önemli yaralanmalara yol açtığını göstermiştir. Ayrıca, dayanıklılık performansı sırasında en büyük hasarın en derin ekstensör kaslarda görüleceği öngörlülmüştür (Armstrong, 1986). Bununla beraber, histolojik araştırmalar gecikmiş kas ağrısının altında yatan nedenler arasında, dayanıklılık performansı esnasında görülen kas yaralanmalarına bağlı olabileceği göstermiştir

(Friden ve ark., 1981; Friden ve ark., 1983). Tüm bunlar ele alındığında SOX15 G allele'ine sahip sporcularda anormal kas formasyonu görülmesinin ve daha yüksek oranda kassal yaralanmalar yaşadıklarının kaydedilmesi önemli bir veridir (Pruna ve ark., 2017). Bu araştırmada Cooper testinden 3000 m ve üzeri performans gösteren futbol hakemlerinde SOX15 T allele frekansının kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Dayanıklılık performansı esnasında kaslarda akut görülen yaralanmaların oluşturduğu hasar SOX15 T allele taşıyan bireylerde daha düşük olabilir. Futbol hakemlerinde SOX15 T allele'in daha yüksek frekansta bulunması, kas yapısındaki genotiplere bağlı kas formasyonu farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir. SOX15 geni susturulmuş farelerde ve hücrelerde kas yenilenmesinin yavaşlaması, dayanıklılık performansı sırasında kaslarda görülecek mikrohasarların, sporcuların performansını SOX15 T/G polimorfizmine bağlı olarak da etkileyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca SOX15 T allele taşıyan sporcularda kasların oksijen kullanım kapasiteleri de kas yapılanmasına ve performans sırasında oluşacak akut kas hasarlarının etkisine bağlı olarak daha yüksek seviyelerde olabilir. SOX15 T/G polimorfizminin fizyolojik etkileri üzerine daha detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Bu araştırmada dayanıklılık performansıyla ilişkisi incelenen bir diğer polimorfizm HGF C/A (rs5745697) polimorfizmidir. İncelemeler sonucunda 12 dk. Cooper dayanıklılık testinde 3000 m ve üzeri koşabilen futbol hakemleri ile sporcu lisansı olmayan kontrol grubu arasında HGF C/A polimorfizmi açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Çizelge 3.3).

HGF geninin kas yaralanmalarının ardından kas liflerinde ekspresyonunun artması (Tatsumi ve ark., 1998) ve bu genin yüksek ekspresyonunun kas yenilenmesini artıtabilmesi (Gal-Levi ve ark., 1998; O'Reilly ve ark., 2008; Tatsumi ve ark., 1998), bu gendeği polimorfizmlerin atletik performansı etkileyebileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, Shimizu ve ark. (2018), yüksek HGF ekspresyonunun handgrip kas kuvvetini artırdığını göstermiştir. Ayrıca HGF C/A polimorfizminin sporcularda kas sakatlıklarıyla ilişkisinin incelendiği tek araştırmada Pruna ve ark. (2017), bu polimorfizmin futbolcularda temassız kas yaralanmalarıyla

ilişkisi olduğunu göstermiş, CC genotipine sahip sporcuların anlamlı şekilde daha az kas sakatlığı yaşadıkları kaydedilmiştir. Bu çalışmada ise HGF C/A polimorfizminin dayanıklılık performansıyla ilişkisi incelenmiş ancak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p > 0,05$ ).

Bu araştırma, HGF C/A polimorfizminin (rs5745697) dayanıklılık performansıyla ilişkisini inceleyen ilk çalışmadır. HGF geninin atletik performansla ilişkisini inceleyen araştırmalar çok az sayıdadır. Yapılan analizler sonucunda HGF C/A polimorfizminin dayanıklılık performansıyla ilişkisi olmadığı kaydedilse de, ileride yapılacak araştırmalar bu konudaki sonucu daha net hale getirecektir.

Literatürde futbol hakemlerinde performans ve genetik polimorfizm ilişkisini inceleyen tek araştırma ACE I/D polimorfizmini incelemiştir ve bu çalışmaya benzer şekilde, yardımcı hakemlerde ACE D allelinin daha yüksek frekansta olduğunu göstermiştir (Jesus, 2016). Bu araştırma, futbol hakemlerinde SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmlerinin dayanıklık performansıyla ilişkisini inceleyen ilk çalışma olmuştur. Bu polimorfizmlerle ilgili net karar verebilmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Futbolda vücut tipi gibi fiziksel özelliklerin önemi bilinmektedir (Hazır, 2010) ve gelecek araştırmalarla bu özelliklerin altında yatan genetik mekanizmaların aydınlatılması; sporcuların gelişimi, sakatlıkların önlenmesi, sakatlıkların azaltılması gibi çok sayıda konuda faydalı olabilir.

## **5. SONUÇ VE ÖNERİLER**

ACE I/D polimorfizminin (rs4646994) atletik performansla ilişkisi üzerine özellikle son dönemlerde yapılan araştırmalara bakıldığından, bu genin dayanıklılık üzerine etkisi olup olmadığıın aydınlatılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir. ACE I allelinin dayanıklılık alleli olarak adlandırılmasının, hatta dayanıklılık belirteci olarak gösterilmesinin ardından yapılan epeyce araştırma sonucunda bu polimorfizmin dayanıklılıkla ilişkisi olmadığını gösteren çalışmalar daha fazla sayıya ulaşmıştır. Bu çalışma da bu konuda negatif sonuç bulan çalışmalar arasına eklenmiş durumdadır.

Bu araştırma SOX15 T/G (rs4227) polimorfizminin sporda dayanıklılık performansıyla anlamlı ilişkisini gösteren ilk çalışma olmuştur. Aynı zamanda bu araştırma, futbol hakemlerinde SOX15 geni ve performans ilişkisini inceleyen ilk çalışmaddir. SOX15 geniyle ilgili bu sonuç her ne kadar önemli ve yeni bir sonuç olsada, bu polimorfizmin atletik performansa etkisini araştıran çalışma sayısı oldukça azdır. Gelecekte yapılacak araştırmalarla SOX15 T/G polimorfizminin sportif performansa etkileri ve altında yatan mekanizmalar detaylandırılabilir. SOX15 T alleli taşıyan bireylerin kas yapıları, spor yaralanmalara karşı direnci arttırmayı olabilir. Bununla beraber SOX15 T alleli taşıyan sporcuların kaslarının daha az yaralanmaları, kaslardaki oksijen tüketim kapasitelerini ve yükseltiyor olabilir. SOX15 T alleli taşıyan bireylerin kasları, daha verimli enerji tüketimine sahip olabilir.

Bu araştırma, HGF C/A (rs5745697) polimorfizminin atletik performansla ilişkisini inceleyen ilk çalışmaddir. Aynı zamanda bu çalışma, futbol hakemlerinde HGF geni ve performans ilişkisini inceleyen ilk çalışmaddir. Elde edilen veriler ışığında, bu polimorfizmin dayanıklılık performansıyla anlamlı bir ilişkisi kaydedilmemiştir. Kas yaralanmalarıyla ilişkisi gösterilen (Pruna ve ark., 2017) bu polimorfizmin atletik performansa etkileri daha fazla araştırılmalıdır.

Bu araştırmmanın bir diğer özgün noktası, bir testi baz almasıdır. Spor genetiği araştırmalarının büyük çoğunluğu elit sporcular ile sedanter bireyler arasındaki polimorfizm farklarına odaklanmaktadır. Bu araştırmada ise elit sporcular yerine, bir dayanıklılık testi olan Cooper testi baz alınmıştır. Ayrıca bu teste katılan futbol hakemleri de il hakemi klasmanındadır. Bu açıdan da, Cooper testinden 3000 m ve üzeri koşabilen bireylerin SOX15 geninde anlamlı farklılık bulunması önemli bir sonuçtur.

Bireyler arasındaki genetik farklılıklar toplumlar arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Bu açıdan ele alındığında, bu çalışmada yer alan polimorfizmlerin Türk sporcularındaki farklılıkları daha detaylı şekilde incelenebilir. Araştırmmanın bu konuya ilgili kısıtlılıklarından birisi sporcu ve kontrol grubunun sayısının az olmasıdır. İlerleyen süreçlerde daha geniş bir sporcu kitlesi ve daha geniş bir kontrol grubuyla yapılacak araştırmalar ile bu sonuçlar detaylandırılabilir.

Bu çalışmada futbol hakemlerinin bir üst klasmana yükselmesi için kullanılan testlerden biri olan Cooper testi sonuçlarına göre inceleme yapılmıştır. Araştırmmanın sonuçları Cooper dayanıklılık testinin genetik verilerle ilişkisi olabileceğini göstermiştir. Cooper testinden 3000 m ve üzeri mesafeleri koşabilen futbol hakemlerinde SOX15 T allelinin yüksek frekansta bulunması, bu testin görünenden daha fazla sonuçlar ortaya koyabileceğini düşündürmektedir. SOX15 geninin kas yapısı oluşumu ile yüksek derecede ilişkisinin olması da bu düşünceyi kuvvetlendirmektedir. Gelecek dönemlerde futbol hakemlerinin seçiminde SOX15 T/G polimorfizmine de bakılması, hakemlerin kas yaralanmalarına karşı yatkınlıkları ve dayanıklılık performansları hakkında bir bilgi verebilir. Gelecek araştırmalarla sporla ilişkili genetik polimorfizmlerin ve bu polimorfizmlerin fizyolojik etkilerinin daha detaylı şekilde aydınlatılması, atletik performansı arttırmak ve sporcu sağlığını korumak için faydalı olabilir.

## ÖZET

### Dayanıklılık Performansları Yüksek Futbol Hakemlerinin ACE I/D, SOX15 T/G ve HGF C/A Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi

İnsan Genom Projesi'nin tamamlanmasının ardından bazı genetik polimorfizmlerin atletik performansla ilişkisi olabileceği tespit edilmiş ve bu sayının en güncel literatürlerde 155'i aşığı kaydedilmiştir. Bu genler arasında en sık araştırılanlardan birisi damar genişlemesi ve daralmasıyla ilişkisi bulunan ACE genidir. ACE geninin atletik performansla ilişkisi sıklıkla araştırılmış olsa da, kas yapısıyla yüksek derecede ilişkisi bulunan SOX15 ve HGF genlerindeki polimorfizmlerin atletik performansla ilişkisini inceleyen araştırmalar literatürde henüz bulunmamaktadır. Bu araştırmada, 12 dk. Cooper dayanıklılık testinden 3000 m ve üzeri koşabilen futbol hakemlerinin ( $n = 30$ ) ACE I/D (rs4646994), SOX15 T/G (rs4227) ve HGF C/A (rs5745697) polimorfizmleri, sporcu lisansı bulunmayan kontrol grubu ( $n = 30$ ) ile karşılaştırılmıştır. Araştırma için AÜTF Klinik araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Karar No: 05-409-19). Araştırmaya için hücreler, rimel tipi smear fırçalarla katılımcıların yanak iç bölümünden sürüntü örneği şeklinde alınmış ve SNP'ler özel bir laboratuvara incelenmiştir. Araştırmanın sonucunda ACE I/D polimorfizmini açısından hakemler ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p > 0,05$ ). SOX15 T/G polimorfizmini açısından hakemler ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Futbol hakemlerinde SOX15 T allele frekansı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha fazla bulunmuştur. HGF C/A polimorfizmini açısından anlamlı bir fark kaydedilmemiştir ( $p > 0,05$ ). ACE I/D polimorfizminin dayanıklılık belirteci olarak gösterilmesinin ardından, yakın tarihlerde yapılan çok sayıda araştırmada bu polimorfizmin dayanıklılık performansıyla ilişkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu araştırmada da ACE I/D polimorfizmin dayanıklılıkla ilişkisi anlamsız bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada, SOX15 T/G ve HGF C/A polimorfizmlerinin dayanıklılık performansı ile ilişkisi ilk kez incelenmiş ve SOX15 T/G polimorfizminin dayanıklılıkla istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** ACE, HGF, Polimorfizm, SOX15, Spor Genetiği

## SUMMARY

### **Analysis of ACE I/D, SOX15 T/G and HGF C/A Gene Polymorphisms of Football Referees with High Endurance Performances**

After the completion of the Human Genome Project, it has been determined that various genetic polymorphisms may be associated with athletic performance and this number has exceeded 155 in the most recent literature. One of the most frequently studied among these genes is the ACE gene, which is associated with vasodilation and narrowing. Although the relationship of ACE gene with athletic performance is frequently investigated, there are no studies in the literature that investigate the relationship between polymorphisms and athletic performance in SOX15 and HGF genes, which are highly correlated with muscle structure. In this study, ACE I/D (rs4646994), SOX15 T/G (rs4227) and HGF C/A (rs5745697) polymorphisms of football referees ( $n = 30$ ) who could run 3000 m and above from the Cooper endurance test were compared with the control group ( $n = 30$ ). Ethical approval was obtained from the AUTF Clinical Research Ethics Committee for the research (Decision No: 05-409-19). Cells for the study were taken as a swab sample from the cheek interior of the participants using a buccal swab and SNPs were examined in a private laboratory. As a result of the study, no significant difference was found of ACE I/D polymorphism between the referees and the control group ( $p > 0.05$ ). In terms of SOX15 T/G polymorphism, a statistically significant difference was found between the referees and the control group ( $p < 0.05$ ). In football referees, the frequency of SOX15 T allele is significantly higher than the control group. There was no significant difference in terms of HGF C/A polymorphism ( $p > 0.05$ ). After ACE I / D polymorphism has been shown as an endurance marker, recent studies have shown that this polymorphism is not related to endurance performance. Similarly, in our study, the relationship between ACE I/D polymorphism and endurance performance was found meaningless. In addition, the relationship between SOX15 T/G and HGF C/A polymorphisms and endurance performance was investigated for the first time in our study and the statistically significant relationship of SOX15 T/G polymorphism with endurance was shown for the first time.

**Keywords:** ACE, HGF, Polymorphism, SOX15, Sports Genetics

## KAYNAKLAR

- AHMETOV II, EGOROVA ES, GABDRAKHMANOVA LJ, FEDOTOVSKAYA ON (2016). Genes and Athletic Performance: An Update. *Med Sport Sci*, 61:41-54.
- AHMETOV II, FEDOTOVSKAYA ON (2015). Current progress in sports genomics. In *Advances in clinical chemistry* 70: 247-314.
- AHMETOV II, WILLIAMS AG, POPOV DV, LYUBAEVA EV, HAKIMULLINA AM, FEDOTOVSKAYA ON, MOZHAYSKAYA IA, VINOGRADOVA OL, ASTRATENKOVA IV, MONTGOMERY HE, ROGOZKIN VA (2009). The combined impact of metabolic gene polymorphisms on elite endurance athlete status and related phenotypes. *Hum. Genet.* 126: 751–761.
- AHMETOV II., POPOV DV, ASTRATENKOVA, IV, MISSINA AM, VINOGRADOVA SS, ROGOZKIN VA (2008). The use of molecular genetic methods for prognosis of aerobic and anaerobic performance in athletes. *Human Physiology*, 34(3): 338.
- ALMEIDA JA (2012). The Influence of ACE Genotype on Cardiorespiratory Fitness of Moderately Active Young Men. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*, 98(4).
- ALONSO L, SOUZA EC, OLIVEIRA MV, NASCIMENTO LFE, DANTAS PMS (2014). Heritability of aerobic power of individuals in northeast Brazil. *Biology of sport*, 31(4): 267.
- ALVAREZ R, TERRADOS N, ORTOLANO R, IGLESIAS-CUBERO G, REGUERO JR, BATALLA A, ALVAREZ V (2000). Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. *European journal of applied physiology*, 82(1-2): 117-120.
- APPLE FS, ROGERS MA, CASAL DC, SHERMAN WM, IVY JL (1985). Creatine kinase-MB isoenzyme adaptations in stressed human skeletal muscle of marathon runners. *Journal of Applied Physiology*. 58: 149-153.
- ARMSTRONG RB (1986). Muscle Damage and Endurance Events. *Sports Medicine*, 3: 370–381.
- ASH GI, SCOTT RA, DEASON M, DAWSON TA, WOLDE B, BEKELE Z, TEKA S, PITSLADIS YP (2011). No association between ACE gene variation and endurance athlete status in Ethiopians. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 43: 590–597.
- ASLAN A, ACIKADA C, GÜVENÇ A, GÖREN H, HAZIR T, ÖZKARA A (2012). Metabolic demands of match performance in young soccer players. *Journal of sports science & medicine*, 11(1): 170.
- BANDYOPADHYAY A (2015). Validity of Cooper's 12-minute run test for estimation of maximum oxygen uptake in male university students. *Biology of sport*, 32(1): 59.
- BASSETT DR, HOWLEY ET (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Medicine and science in sports and exercise*, 32(1): 70-84.
- BÉRANGER F, MÉJEAN C, MONIOT B, BERTA P, VANDROMME M. (2000). Muscle differentiation is antagonized by SOX15, a new member of the SOX protein family. *Journal of Biological Chemistry*. 275(21): 16103-16109.

- BERNARD P, HARLEY VR (2010). Acquisition of SOX transcription factor specificity through protein–protein interaction, modulation of Wnt signalling and post-translational modification. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 42(3): 400-410.
- BLADT F, RIETHMACHER D, ISENmann S, AGUZZI A, BIRCHMEIER C. (1995). Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. *Nature*, 376(6543): 768-771.
- BOMPA TO, HAFF GG (2015). Dönemleme: Antrenman kuramı ve yöntemi. *Spor Yayınevi ve Kitabevi*.321-350.
- BOND-PETERSON F, KNUTTGEN HG, HENRIKSSON J (1972). Muscle metabolism during exercise with concentric and eccentric contractions. *Journal of Applied Physiology*, 33: 792-795.
- BOUCHARD CANP, RICE T, SKINNER JS, WILMORE JH, GAGNON J, RAO DC (1999). Familial aggregation of VO<sub>2max</sub> response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study. *Journal of applied physiology*, 87(3): 1003-1008.
- CAMPBELL NA, URRY LA, CAIN ML, WASSERMAN SA, MINORSKY PV (2017). Biology: a global approach. *Pearson Higher Ed.*
- CASAJUS JA, CASTAGNA C (2007). Aerobic fitness and field test performance in elite Spanish soccer referees of different ages. *Journal of science and medicine in sport*, 10(6): 382-389.
- CASTAGNA C, ABT G, D'OTTAVIO S (2002). The relationship between selected blood lactate thresholds and match performance in elite soccer referees. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 16(4), 623-627.
- CASTAGNA C, ABT G, D'OTTAVIO S (2005). Competitive-level differences in Yo-Yo intermittent recovery and twelve minute run test performance in soccer referees. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 19(4): 805.
- CHANG JC, KAN YW (1979). beta 0 thalassemia, a nonsense mutation in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(6): 2886-2889.
- CIESZCZYK P, KRUEPECKI K., MACIEJEWSKA A., SAWCZUK M. (2009). The angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in Polish rowers. *International journal of sports medicine*, 30(8): 624-627.
- CIOCE V, CSAKY KG, CHAN AML, BOTTARO DP, TAYLOR WG, JENSEN R, RUBIN JS (1996). Hepatocyte growth factor (HGF)/NK1 is a naturally occurring HGF/scatter factor variant with partial agonist/antagonist activity. *Journal of Biological Chemistry*, 271(22): 13110-13115.
- COLLINS M, STAVROULLA X, MARIOS A, GAONYADIWE G, MOKONE DE, LAKIS A, TIMOTHY DN (2004). The ACE gene and endurance performance during the South African Ironman Triathlons. *Medicine and science in sports and exercise*, 36: 1314-1320.
- CONWAY K, PRICE P, HARDING KG, JIANG WG (2006). The molecular and clinical impact of hepatocyte growth factor, its receptor, activators, and inhibitors in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 14(1): 2-10.
- COSTA DM, FERNANDA M, SLOCOMBE R (2012). The Use of Angiotensin-I Converting Enzyme I/D Genetic Polymorphism as a Biomarker of Athletic Performance in Humans. *Biosensors*, 2: 396.

- CRICK F (1974). The double helix: a personal view. *Nature*, 248(5451): 766-769.
- ÇAM FS, COLAKOGLU M, SEKURI C, COLAKOGLU S, SAHAN Ç, BERDELI A (2005). Association Between the ACE I/D Gene Polymorphism and Physical Performance in a Homogeneous Non-Elite Cohort. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30: 74-86.
- DALLY J, KHAN JS, VOISEY A, CHARALAMBOUS C, JOHN HL, WOODS EL, MIDGLEY AC (2017). Hepatocyte growth factor mediates enhanced wound healing responses and resistance to transforming growth factor- $\beta$ 1-driven myofibroblast differentiation in oral mucosal fibroblasts. *International journal of molecular sciences*, 18(9): 1843.
- DE MOOR MH, SPECTOR TD, CHERKAS LF, FALCHI M, HOTTENGA JJ, BOOMSMA DI, DE GEUS EJ (2007). Genome-wide linkage scan for athlete status in 700 British female DZ twin pairs. *Twin Research and Human Genetics*, 10(6): 812-820.
- DURMIC TS, ZDRAVKOVIC MD, DJELIC MN, GAVRILOVIC TD, DJORDJEVIC SA, PLAJSIC JN, MIRKOVIĆ SV, BATINIC DV, ANTIC MN, MIHAJOVIC ZR, ATANASIEVIC NG, MILEUSNIC MJ, STOJKOVIC OV (2017). Polymorphisms in ACE and ACTN3 Genes and Blood Pressure Response to Acute Exercise in Elite Male Athletes from Serbia, *Tohoku J Exp Med*, 243: 311-320.
- EBENS A, BROSE K, LEONARDO ED, HANSON JR, BLADT F, BIRCHMEIER C, TESSIER-LAVIGNE M (1996). Hepatocyte growth factor/scatter factor is an axonal chemoattractant and a neurotrophic factor for spinal motor neurons. *Neuron*, 17(6): 1157-1172.
- ERGEN E, DEMİREL H, GÜNER R, TURNAGÖL H, BAŞOĞLU S, ZERGEROĞLU AM, ÜLKAR B (2002). Egzersiz fizyolojisi. *Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti.*, Ankara. 39-81.
- EYNON N, NASIBULINA ES, BANTING LK, CIESZCZYK P, MACIEJEWSKA-KARLOWSKA A, SAWCZUK M., WILLIAMS AG (2013). The FTO A/T polymorphism and elite athletic performance: a study involving three groups of European athletes. *PloS one*, 8(4).
- FELDMAN AM, KAJINAMI K, TAKAHASHI T (2007). State of the Art: Pharmacogenomics of Heart Failure. *Japanese Circulation Society*, 71(4).
- FEUK L, CARSON AR, SCHERER SW (2006). Structural variation in the human genome. *Nature Reviews Genetics*, 7(2): 85-97.
- FRIDEN J, SEGER J, SJOSTROM M, EKBLOM B (1983). Adaptive response in human skeletal muscle subjected to prolonged eccentric training. *International Journal of Sports Medicine*, 4: 177-183.
- FRIDEN J, SJOSTROM M, EKBLOM B (1981). A morphological study of delayed muscle soreness. *Experientia*, 37: 506-507.
- GAL-LEVI R, LESHEM Y, AOKI S, NAKAMURA T, HALEVY O (1998). Hepatocyte growth factor plays a dual role in regulating skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1402(1): 39-51.
- GEORGE G, YU B, HAMBLY B, BOSTON T, HAHN A, CELERMAIER DS, TRENT RJ (1998). Elite endurance athletes and the ACE I allele—the role of genes in athletic performance. *Human genetics*, 103: 48-50.
- GLIM JE, EGMOND VM, NIJESSEN FB, EVERTS V, BEELEN RH (2013). Detrimental dermal wound healing: what can we learn from the oral mucosa? *Wound Repair and Regeneration*, 21(5): 648-660.

GRIFFITHS AJ, WESSLER SR, LEWONTIN RC, GELBART WM, SUZUKI DT, MILLER JH (2005). An introduction to genetic analysis. *Macmillan*.

GUNEL T, GUMUSOGLU E, HOSSEINI MK, YILMAZ YILDIRIM E, DOLEKCAP I, AYDINLI K (2014). Effect of angiotensin I-converting enzyme and  $\alpha$ -actinin-3 gene polymorphisms on sport performance, *Molecular medicine reports*, 9: 1422-1426.

GÜNEY M, TAMER K, CİCİOĞLU İ (2013). Spor fizyolojisi ve performans ölçümü. *Gazi Kitabevi*.

HAMOSH A, KING TM, ROSENSTEIN BJ, COREY M, LEVISON H, DURIE P, MACEK M (1992). Cystic fibrosis patients bearing both the common missense mutation, Gly → Asp at codon 551 and the ΔF508 mutation are clinically indistinguishable from ΔF508 homozygotes, except for decreased risk of meconium ileus. *American journal of human genetics*, 51(2): 245.

HAZIR, T (2010). Physical characteristics and somatotype of soccer players according to playing level and position. *Journal of Human Kinetics*, 26(1): 83-95.

HUANG YG, LI H, LAN GZ, HUANG C (2014). Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphisms and risk of intracerebral hemorrhage: a meta-analysis of epidemiologic studies, *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 15: 32-38.

HUMPHRIES, SE, VE HE MONTGOMERY. (2000). 'The ACE gene and muscle performance'. *Nature*, London, 403: 614.

ILANGUMARAN S, VILLALOBOS-HERNANDEZ A, BOBBALA D, RAMANATHAN S. (2016). The hepatocyte growth factor (HGF)-MET receptor tyrosine kinase signaling pathway: Diverse roles in modulating immune cell functions. *Cytokine*, 82: 125-139.

INGRAM VM (1956). A specific chemical difference between the globins of normal human and sickle-cell anaemia haemoglobin. *Nature*, 178(4537): 792-794.

IITO M (2010). Function and molecular evolution of mammalian Sox15, a singleton in the SoxG group of transcription factors. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 42(3): 449-452.

JELAKOVIC B, KUZMANIC D, MILICIC D, LAGANOVIC M, RONCEVIC T, SERTIC J, STAVLJENIC-RUKAVINA A (2000). I022: Influence of angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism and circadian blood pressure (BP) changes on left ventricle (LV) mass in competitive oarsmen. *American Journal of Hypertension*, 13: 182A.

JESUS GV (2016). Influencia del polimorfismo I/D del gen ACE en el rendimiento físico de los árbitros y asistentes de fútbol. *Repositorio Abierto de la Universidad de Cantabria*, 60.

JOYNER MJ, COYLE EF (2008). Endurance exercise performance: the physiology of champions. *The Journal of physiology*, 586(1): 35-44.

KASIKCIOGLU E, KAYSERILIOGLU A, CILOGLU F, AKHAN II, OFLAZ II, YILDIZ S, PEKER I (2004). Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism, left ventricular remodeling, and exercise capacity in strength-trained athletes. *Heart and vessels*, 19: 287-293.

KOZ M, ERSÖZ G (2004). Futbol Oyuncularında Spor Yaralanmalarına Etki Eden Faktörler Ve Esnekliğin Önemi. *Gazi Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*, 9(3): 13-26.

LANDER ES, WEINBERG RA (2000). Journey to the center of biology. *Science*, 287(5459): 1777-1782.

- LEE HJ, GORING W, OCHS M, MUHLFELD C, STEDING G, PAPROTTA J, ADHAM IM (2004). Sox15 is required for skeletal muscle regeneration. *Molecular and cellular biology*, 24(19): 8428-8436.
- LODISH H, BERK A, KAISER CA, KRIEGER M, SCOTT MP, BRETSCHER A, MATSUDAIRA P (2008). *Molecular cell biology*. Macmillan.
- MACMAHON C., HELSEN WF, STARKES JL, WESTON M (2007). Decision-making skills and deliberate practice in elite association football referees. *Journal of sports sciences*, 25(1): 65-78.
- MALHOTRA AK, GOLDMAN D, OZAKI N (1996). Clozapine response and the 5HT2C Cys23Ser polymorphism. *Neuroreport*, 7(13): 2100-2102.
- MARUYAMA M, ICHISAKA T, NAKAGAWA M, YAMANAKA S (2005). Differential roles for Sox15 and Sox2 in transcriptional control in mouse embryonic stem cells. *Journal of Biological Chemistry*, 280(26): 24371-24379.
- MEESON AP, SHI X, ALEXANDER MS, WILLIAMS RS, ALLEN RE, JIANG N, GARRY DJ (2007). Sox15 and Fhl3 transcriptionally coactivate Foxk1 and regulate myogenic progenitor cells. *The EMBO journal*, 26(7): 1902-1912.
- MEYER J, WIRTH J, HELD M, SCHEMPP W, SCHERER G (1996). SOX20, a new member of the SOX gene family, is located on chromosome 17p13. *Cytogenetic and Genome Research*, 72(2-3): 246-249.
- MIN SK, TAKAHASHI K, ISHIGAMI H, HIRANUMA K, MIZUNO M, ISHII T, NAKAZATO K (2009). Is there a gender difference between ACE gene and race distance? *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 34(5): 926-932.
- MIYAZAWA K, KITAMURA A, NAKA D, KITAMURA N (1991). An alternatively processed mRNA generated from human hepatocyte growth factor gene. *European journal of biochemistry*, 197(1): 15-22.
- MONTGOMERY HE, MARSHALL R, HEMINGWAY H, MYERSON S, CLARKSON P, DOLLERY C, THOMAS EL (1998). Human gene for physical performance. *Nature*, 393(6682): 221-222.
- MUNGUNSUHK O, LEE YH, BOTTARO DP, DAY RM (2016). The hepatocyte growth factor isoform NK2 activates motogenesis and survival but not proliferation due to lack of Akt activation. *Cellular signalling*, 28(8): 1114-1123.
- MUSTAFINA LJ, NAUMOV VA, CIESZCZYK P, POPOV DV, LYUBAEVA EV, KOSTRYUKOVA ES, ALEXEEV DG (2014). AGTR2 gene polymorphism is associated with muscle fibre composition, athletic status and aerobic performance. *Experimental physiology*, 99(8): 1042-1052.
- MÜNİROĞLU S (1999). Ankara Bölgesi Futbol Hakemlerinin Maç Sırasındaki Kalp Atım Hızı ile Koşu Mesafeleri Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. *Spor Bilimleri Dergisi*, 10(2): 25-32.
- MYERSON S, HEMINGWAY H, BUDGET R, MARTIN J, HUMPHRIES S, MONTGOMERY H (1999). Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *Journal of applied physiology*, 87(4): 1313-1316.
- MYERSON S, HEMINGWAY H, BUDGET R, MARTIN J, HUMPHRIES S, MONTGOMERY H (1999). Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *Journal of Applied Physiology*, 87: 1313-1316.

- NAKAMURA T, SAKAI K, NAKAMURA T, MATSUMOTO K (2011). Hepatocyte growth factor twenty years on: Much more than a growth factor. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 26: 188-202.
- NAUMOV VA, AHMETOV II, LARIN AK, GENEROZOV EV, KULEMIN NA, OSPANOVA EA, GOVORUN VM (2014). Genome-wide association analysis identifies a locus on DMD (dystrophin) gene for power athlete status in Russians. *European Journal of Human Genetics*, 22(S1): 502-502.
- NAZAROV IB, WOODS DR, MONTGOMERY HE, SHNEIDER OV, KAZAKOV VI, TOMILIN NV, ROGOZKIN VA (2001). The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes. *European Journal of Human Genetics*, 9(10): 797-801.
- NEWHAM DH, JONES DA, EDWARDS RHT (1983). Large delayed plasma creatine kinase changes after stepping exercise. *Muscle and Nerve*, 6: 380-385.
- O'REILLY C, MCKAY B, PHILLIPS S, TARNOPOLSKY M, PARISE G (2008). Hepatocyte growth factor (HGF) and the satellite cell response following muscle lengthening contractions in humans. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*, 38(5): 1434-1442.
- ORYSIAK J, ZMIJEWSKI P, KLUSIEWICZ A, KALISZEWSKI P, MALCZEWSKA-LENCZOWSKA J, GAJEWSKI J, POKRYWKWA A (2013). The association between ace gene variation and aerobic capacity in winter endurance disciplines. *Biol. Sport*, 30: 249-253.
- PAAVOLAINEN L, HAKKINEN K., HAMALAINEN I, NUMMELA A, RUSKO H (1999). Explosive-strength training improves 5-km running time by improving running economy and muscle power. *Journal of applied physiology*, 86(5): 1527-1533.
- PAPADIMITRIOU ID, PAPADOPOULOS C, KOUVATSI A, TRIANTAPHYLLOIDIS C (2009). The ACE I/D polymorphism in elite Greek track and field athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 49: 459-463.
- PASSARGE E (2001). Color atlas of genetics. Thieme.
- PRUNA R, ARTELLS R, LUNDBLAD M, MAFFULLI N (2017). Genetic biomarkers in non-contact muscle injuries in elite soccer players. *Knee Surgery. Sports Traumatology, Arthroscopy*, 25(10): 3311-3318.
- RANKINEN T, WOLFARTH B, SIMONEAU JA, MAIER-LENZ D, RAURAMAA R, RIVERA MA, BOULAY MR, CHAGNON YC, PE'RUSSE L, KEUL J, BOUCHARD C (2000). No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *J. Appl. Physiol.* 88: 1571-1575.
- RUI X, XU Y, JIANG X, GUO C, JIANG J (2017). SOX15 regulates proliferation and migration of endometrial cancer cells. *Bioscience reports*, 37(5).
- SABER-AYAD MM, YASSER SN, INAS AL (2014). Angiotensin-converting enzyme I/D gene polymorphism affects early cardiac response to professional training in young footballers. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 15: 236-242.
- SAHIN N, GÜRSES VV, BAYDIL B, AKGUL M, FEKA K, IOVANE A, MESINA G (2018). The effect of comprehensive warm up (FIFA 11+ Program) on motor abilities in young basketball players: A pilot study. *Acta medica*, 34: 703.
- SAHLÉN A, SHAHGALDI K, AMINOFF A, AAGAARD P, MANOURAS A, WINTER R, EHRENBORG E, BRAUNSCHWEIG F (2010). Effects of Prolonged Exercise on Left Ventricular Mechanical Synchrony in Long-Distance Runners: Importance of Previous Exposure to Endurance Races. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 23: 977-984.

- SANTOS E, VILHENA DMD, KATZMARZYK PT, SEABRA AFT, MAIA JAR (2012). Genetics of physical activity and physical inactivity in humans. *Behavior genetics*, 42: 559-578.
- SAVAGE J, CONLEY AJ, BLAIS A, SKERJANC IS (2009). SOX15 and SOX7 differentially regulate the myogenic program in P19 cells. *Stem Cells*, 27(6): 1231-1243.
- SCANAVINI D, BERNARDI F, CASTOLDI E, CONCONI F, MAZZONI SD, BERNARDI F, CASTOLDI E, CONCONI F, MAZZONI G. (2002). Increased frequency of the homozygous II ACE genotype in Italian Olympic endurance athletes. *European Journal of Human Genetics*, 10(10): 576.
- SCHMIDT K, GLASER G, WERNIG A, WEGNER M, ROSORIUS O (2003). Sox8 is a specific marker for muscle satellite cells and inhibits myogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 278(32): 29769-29775.
- SCOTT RA, MORAN C, WILSON RH, ONYWERA V, BOIT MK, GOODWIN WH, GOHLKE P, PAYNE J, MONTGOMERY H, PITSLADIS YP (2005). No association between Angiotensin Converting Enzyme (ACE) gene variation and endurance athlete status in Kenyans. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 141: 169-175.
- SHENOY S, TANDON S, SANDHU J, BHANWER AS (2010). Association of angiotensin converting enzyme gene polymorphism and Indian army triathletes performance. *Asian journal of sports medicine*, 1(3): 143.
- SHIMIZU Y, YAMANASHI H, NOGUCHI Y, KOYAMATSU J, NAGAYOSHI M, KIYOURA K, MAEDA T (2018). Association of hemoglobin concentration with handgrip strength in relation to hepatocyte growth factor levels among elderly Japanese men aged 60–69 years: a cross-sectional study. *Environmental health and preventive medicine*, 23(1): 56.
- SIEGEL AJ, SILVERMAN LM, HOLMAN BL (1981). Elevated creatine kinase MB isoenzyme levels in marathon runners. *Journal of the American Medical Association*, 246: 2049-2051.
- SIMONEAU JA, BOUCHARD C (1995). Genetic determinism of fiber type proportion in human skeletal muscle. *The FASEB journal*, 9(11): 1091-1095.
- STRACHAN T, READ AP (2003). Human molecular genetics. *Garland science Edition, Kapitel*, 13: 418.
- SUBAK E, SAHIN F, MUNIROGLU S (2017). Sporcuların başarısında genetik faktörlerin önemi. *SPORMETRE Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*, 15(3): 109-118
- SZALATA M, SŁOMSKI R, BALKÓ Š, BALKÓ I (2019). Advances in athlete genomics in 2019. *Trends in Sports Sciences*, 2(26): 55-61.
- TANRIVERDI H, EVRENGUL H, KAFTAN A, DURSUNOGLU D, TURGUT S, AKDA B, KILIÇ M (2005). Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Polymorphism on Aortic Elastic Parameters in Athletes. *Cardiology*, 104: 113-119.
- TATSUMI R, ANDERSON JE, NEVORET CJ, HALEVY O, ALLEN RE (1998). IIGF SF is present in normal adult skeletal muscle and is capable of activating satellite cells. *Developmental biology*, 194(1): 114-128.
- TAYLOR RR, MAMOTTE CD, FALLON K, VAN BOCKXMEER FM (1999). Elite athletes and the gene for angiotensin-converting enzyme. *J. Appl. Physiol.* 87: 1035-1037.
- THU KL, RADULOVICH N, BECKER-SANTOS DD, PIKOR LA, PUSIC A, LOCKWOOD WW, TSAO MS (2014). SOX15 is a candidate tumor suppressor in pancreatic cancer with a potential role in Wnt/β-catenin signaling. *Oncogene*, 33(3): 279-288.

- TOBINA T, MICHISHITA R, YAMASAWA F, ZHANG B, SASAKI H, TANAKA H, SAKU K, KIYONAGA A (2010). Association between the angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and endurance running speed in Japanese runners. *J. Physiol. Sci.* 60: 325–330.
- TURGUT G, TURGUT S, GENC O, ATALAY A, ATALAY EO (2004). The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Turkish athletes and sedentary controls. *Acta Medica-Hradec Kralove*, 47(2): 133-136.
- ULUCAN K, SEBEN G (2014). ACE I/D polymorphism determination in Turkish elite wind-surfers, *Sport Science Review*, 23: 79-84.
- VOGEL F, MOTULSKY AG (2013). Vogel and Motulsky's Human Genetics: Problems and Approaches. *Springer Science & Business Media*.
- VUJIĆ M, RAJIĆ T, GOODFELLOW PN, STEVANOVIĆ M (1998). cDNA characterization and high resolution mapping of the human SOX20 gene. *Mammalian genome*, 9(12): 1059-1061.
- WATSON JD, CRICK FHC (1953). Genetic implications of the structure of nucleic acid. A structure for DNA. *Nature*, 171: 964-967.
- WESTON M, DRUST B, GREGSON W (2011). Intensities of exercise during match-play in FA Premier League referees and players. *Journal of Sports Sciences*, 29(5): 527-532.
- WILKINS M. (2003). Third Man of the Double Helix (pp. 151-2). *Oxford University Press*.
- WOLF AB, CASELLI RJ, REIMAN EM, VALLA J (2013). APOE and neuroenergetics: an emerging paradigm in Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 34(4): 1007-1017.
- YAN HT, SHINKA T, SATO Y, YANG XJ, CHEN G, SAKAMOTO K, NAKAHORI Y (2007). Overexpression of SOX15 inhibits proliferation of NT2/D1 cells derived from a testicular embryonal cell carcinoma. *Molecules & Cells (Springer Science & Business Media BV)*, 24(3).

## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı ve Soyadı :Gülhan Erdem SUBAK  
Doğum Tarihi : 02.04.1990  
Tabiyeti : T.C.  
Medeni Durumu : Evli  
Askerlik Durumu : Yapıldı  
Adresi : Yavuz Selim Mah., PTT Cad., Boşnak Sk., Dostlar St., B Blok 13/5 Çubuk/ ANKARA Tel: 0 506 861 67 29

### II- Eğitimi

Yüksek Lisans : 2016 - Ankara Üniversitesi Kök Hücre Enstitüsü

Lisans : 2012 - Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü

Orta Öğrenim : 2008 - Çubuk Anadolu Lisesi (Ankara)

İlköğretim : 2004 - Bahçelievler Nebahat Keskin İlköğretim Okulu (Ankara)

### III- Ünvanları: Biyolog

#### **IV- Bilimsel Etkinlikleri**

Yayınlar:

- Muniroglu, S., & Subak, E. (2020). Carrying A Flag Decreases The Sprint Performances Of The Soccer Assistant Referees. *Acta Medica Mediterranea*, 36(1), 635-639.
- Muniroglu, S. & Subak, E. (2018). A Comparison of 5, 10, 30 Meters Sprint, Modified T-Test, Arrowheadand Illinois Agility Tests on Football Referees. *Journal of Educationand Training Studies*, 6(8), 70-76.
- Muniroglu, S. & Subak, E. (2018). A Modified T-Test for FootballRefereesto Test Agility, Quickness and Sprint Performances. *Journal of Educationand Training Studies*, 6(5), 10-15.
- Muniroglu, S. & Subak, E. (2018). An Overview of the Important Points of Talent Selection in Sports. *ResInves Sports Med* 3(3). RISM.000560.2018. DOI: 10.31031
- Subak, E., Özdemir, N.Ş, Müniroğlu, S. (2017). Sporcuların Başarısında Genetik Faktörlerin Önemi. Ankara Üniversitesi Spormetre Dergisi,15(3),109-118.

Yüksek Lisans Tezi

- İnsan Adipoz Kökenli Mezenkimal Kök Hücrelerin Yerçekimi ve Mikroyerçekimi Şartlarında Adipojenik Farklılaşmasının Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi Yüksek Lisans Tezi, 2016

Kitapta Bölüm

- Müniroğlu, S., Subak, E. (2019)" Sporda Yetenek Seçiminin Önemi" Türkiye Barolar Birliği Yayınları.Ankara

## Projeler

- İnsan Adipoz-kökenli Mezenkimal Kök Hücrelerin Mikroyerçekimi Ve Yerçekimi Şartlarında Adipojenik Farklılaşmasının Karşılaştırılmalı Olarak İncelenmesi, Yüksek Lisans Tez Projesi Proje No: 15L0216001, 2015-2016

Aldığı burslar:

- TÜBİTAK ARAŞTIRMA PROJESİ BURSİYER, Hamilelikte Emniyetli İlaç Kullanımının Sağlanması'na Yönelik Olarak İlaç Taşıyıcı Sistemlerin İncelenmesi, Yüksek Lisans Bursu (Proje No: 112S529)

## V- Uluslararası Kongre Sunumu

- Elçin Y.M., Subak E., Şeker Ş., Elçin A.E. "In Vitro Adipogenic Differentiation of Human Adipose Stem Cells Under Simulated Microgravity", Poster Presentation, ISSCR 2016 - Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research, 22-25 June 2016, San Francisco, California, U.S.A.
- Müniroğlu, S., Subak, E. (2019) " Futbol Hakemlerinin Sprint Performanslarının Çabukluk-Çeviklik Performanslarıyla İlişkisinin İncelenmesi" Uluslararası Spor Bilimleri Kongresi, 13-16 Kasım,Antalya.
- Müniroğlu, S., Subak, E. (2018). Futbol Hakemlerinin ve Futbolcuların Sürat, Çabukluk ve Vücut Yağ Yüzdesi Degerlerinin Zaman İçinde Değişiminin İncelenmesi. Uluslararası Spor Bilimleri

Kongresi, 103-106. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4551007)

#### V- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve Katıldığı eğitim seminerleri:

- Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası – ANKÜSEM (2014)
- Mikrobiyal Biyoteknoloji – Ankara Üniversitesi Biyoteknolojisi Enstitüsü (2011)
- Trüf Mantarı Güz Dikim Çalıştayı – Trüf Çiftlik Kurulum (2011)
- Dil Kursları Sertifikası İngilizce – TÖMER (2011)
- Hakem Eğitimi Sertifika Programı – Anadolu Üniversitesi (2014)