



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PROFESYONEL SPORCULARDA KAFEİN METABOLİZMASI
İLE İLİŞKİLİ CYP1A2 GENİNİN RS2069514 VE RS762551
ALLEL DAĞILIMLARININ BELİRLENMESİ**

BEGÜM YÜCESOY

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. NESRİN EMEKLİ

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. KORKUT ULUCAN

İSTANBUL-2017

TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya
Tez Sahibi : Begüm YÜCESOY
Tez Başlığı : Profesyonel Sporcularda Kafein Metabolizması İle İlişkili
Cyp1A2 Geninin Rs2069514 ve Rs762551 Allel
Dağılımlarının Belirlenmesi
Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversite
Sınav Tarihi : 09.11.2017

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Prof.Dr.Neslin EMEKLİ

Kurumu

İstanbul Medipol Üniversitesi

İmza

Sınav Jüri Üyeleri

Doç.Dr.Korkut ULUCAN

Marmara Üniversitesi

Prof.Dr.Ebru ALTURFAN

Marmara Üniversitesi

Prof.Dr.Ahmet Ata ALTURFAN

İstanbul Üniversitesi

Doç.Dr.Türkan YİĞİTBAŞI

İstanbul Medipol Üniversitesi

Yukarıdaki jüri kararıyla kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 16./11./2017 tarih ve 2017./35 - 05 sayılı kararı ile şekil yönünden Tez Yazım Kılavuzuna uygun olduğu onaylanmıştır.

Prof.Dr. Neslin EMEKLİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilemeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Begüm Yücesoy



TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yürütülmesi ve içeriğinin düzenlenmesinde desteğini hiç bir zaman esirgemeyen, Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren ve vizyonumu genişleten, gerek akademik gerekse kişilik olarak örnek aldığım saygıdeğer Anabilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım Prof. Dr. Nesrin Emekli'ye,

Tez çalışmamı genetik alanında yapmak istediğimde beni yüreklendiren, çalışmamı yapmam için tüm olanakları sağlayan ve akademik alanda örnek aldığım diğer bir tez danışmanım Doç. Dr. Korkut Ulucan'a

Çalışmamın başlangıcından bitişine kadar hep yanımda olan ve desteğini esirgemeyen canım kardeşim Merve Moğul'a, laboratuvar çalışmalarını yapmamda yardımcı olan, her türlü destek ve yardımı sağlayan ekip arkadaşım Sezgin Kapıcı'ya, diğer ekip arkadaşım Canan Sercan'a, canım iş arkadaşım Uzm. Psk. Özgecan Nuryüz'e,

Hayatımın her anında kendimi huzurlu ve güvende hissetmemi sağlayan, bu yaşıma kadar karakter ve kişiliğimin oluşmasında eğitimci tavırlarıyla büyük emekleri olan canım annem Güzeyda Yücesoy ve babam Ayhan Yücesoy'a, her zaman yanımda olduklarını hissettiğim ağabeyim Fatih Yücesoy ve ablam Betül Cahyir'e,

Tüm kalbimle teşekkürlerimi sunarım.

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

Algılanan Egzersiz Ölçeği	: RPE
Aril Hidrokarbon Reseptör	: AHR
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği	: BGOF
Dünya Anti-Doping Ajansı	: WADA
Elektron Transport Zinciri	: ETS
Fosfodiesteraz	: PDE
Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu	: RT-PCR
Hormon Duyarlı Lipaz	: HSL
Kalp Hızı Değişkenliği	: HRV
Maksimal Oksijen Tüketimi	: VO ₂ max
Reference Single Nucleotide Polymorphism	: RS
Sitokrom P450	: CYP
Tek Nükleotid Varyasyonları	: SNV
Uluslararası Atletizm Fedarasyonları Birliği	: IAAF
Uluslararası Olimpiyat Komitesi	: IOC

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1.2.1. Kafein ve adenozinin kimyasal yapısının gösterimi.....	6
Şekil 4.1.3.1. Kafeinin sindirime uğramasıyla meydana gelen metabolitler	7
Şekil 4.1.3.2. Kafeinin hücre içerisinde cAMP yolağında, inhibitor etkisinin gösterimi.....	9
Şekil 4.2.1.1. Yağ asidi yıkımında CYP enziminin rolü.....	19
Şekil 4.2.1.2. Sitokrom P450 enzim sisteminin adlandırılması	20
Şekil 4.2.2.1. CYP1A2 geni üzerindeki bazı polimorfizmlerin gösterimi.....	22
Şekil 4.2.4.1. Kafein metabolizmasında CYP1A2 geninin etki noktaları.....	26
Şekil 4.2.4.2. Karaciğer hücresindeki kafein metabolizmasında görev alan CYP1A2 ve diğer tanımlanan genlerin şematik görünümü.....	27
Şekil 6.1.1. Rs2069514 polimorfizmi “G” genotipinin FAM ışması ile belirlenmesi.....	36
Şekil 6.1.2. Rs2069514 polimorfizmi “A” genotipinin HEX ışması ile belirlenmesi.....	36
Şekil 6.1.3. Rs762551 polimorfizmi “C” genotipinin FAM ışması ile belirlenmesi.....	37
Şekil 6.1.4. Rs762551 polimorfizmi “A” genotipinin HEX ışması ile belirlenmesi.....	37
Şekil 6.2.1. Kısa mesafe koşucularında rs762551 polimorfizmi genotip dağılımının Real Time-PCR ile gösterilmesi.....	39
Şekil 6.2.2. Kısa mesafe koşucularında rs2069514 polimorfizmi genotip dağılımının Real Time-PCR ile gösterilmesi.....	39
Şekil 6.2.3. Uzun mesafe koşucularında rs762551 polimorfizmi genotip dağılımının Real Time-PCR ile gösterilmesi.....	40
Şekil 6.2.4. Uzun mesafe koşucularında rs2069514 polimorfizmi genotip dağılımının Real Time-PCR ile gösterilmesi.....	40

TABLolar LİSTESİ

Tablo 5.4.1. CYP1A2 geni rs2069514 allel bölgesinde kullanılan ileri-geri primerler.....	31
Tablo 5.4.2. CYP1A2 geni rs762551 allel bölgesinde kullanılan ileri-geri primerler.....	31
Tablo 5.6.1. CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 alelleri için kullanılan kimyasallar.....	33
Tablo 6.3.1. CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 gen bölgesi kısa mesafe koşucuların genotiplemesi.....	41
Tablo 6.3.2. CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 gen bölgesi uzun mesafe koşucuların genotiplemesi.....	42
Tablo 6.3.3. CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 polimorfizmlerinin atletlerdeki genel dağılımı.....	43
Tablo 6.3.4. Sporcuların CYP1A2 genotip, sporcu branşı ve kafeini metabolize etme hızları.....	44
Tablo 6.3.5. Kısa ve uzun mesafe koşucularının CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 polimorfizmlerindeki genotip dağılımları.....	45
Tablo 6.3.6. CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 polimorfizmlerinin cinsiyete göre dağılımları.....	45

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI FORMU	i
BEYAN	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vi
1.ÖZET	1
2.ABSTRACT	2
3.GİRİŞ VE AMAÇ	3
4.GENEL BİLGİLER	5
4.1. Kafein.....	5
4.1.1.Tarihçesi.....	5
4.1.2.Kimyasal yapısı.....	5
4.1.3.Kafein metabolizması ve ürünleri	7
4.1.4.Kafeinin sindirimi ve emilimi	11
4.1.5.Kafeinin vücuda etkileri.....	12
4.1.6.Kafeinin kullanım dozu.....	14
4.1.7.Dünyada ve Türkiye’de kullanım oranı	15
4.1.8.Kafeinin spor performansına etkileri	15
4.1.9.Kafein metabolizması üzerine genetik etkiler.....	17
4.2. Sitokrom P450 (CYP) Enzim Sistemi.....	18
4.2.1.CYP enzim sistemi ve özellikleri.....	18
4.2.2.CYP1A2 geni ve tanımı	22
4.2.3.CYP1A2 geni ve metabolizması	24
4.2.4.CYP1A2 geni ve kafein ilişkisi.....	25
4.2.5.CYP1A2 geni, kafein ve spor ilişkisi.....	28
4.2.6.CYP1A2 geninin rs2069514 ve rs762551 polimorfizmleri	29
5.GEREÇ VE YÖNTEM	30
5.1.Kullanılan Aletler.....	30
5.2.Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
5.3.Kullanılan Ticari Kitler	30
5.4.Kullanılan Primerler.....	30
5.5.Yöntem.....	32
5.5.1.Kandan DNA İzolasyonu	32

5.5.2.Ön Hazırlık.....	32
5.5.3.Çalışma.....	32
5.6. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time-PCR).....	33
5.7. Çalışma Grubu	34
5.8. Bilgilendirilmiş Olur Formu	34
5.9. Etik Kurul Onayı	34
5.10.Laboratuvar	34
5.11.İstatistiksel Analizler.....	34
6.BULGULAR	35
6.1.CYP1A2 Geni Rs2069514 ve Rs762551 Polimorfizmlerinin Genotiplemesinin Belirlenmesi	35
6.2.CYP1A2 Geni Rs2069514 ve Rs762551 Polimorfizmlerinin Real Time-PCR Bulguları.....	38
6.3.Sporcuların Genotip Dağılımları ve Allel Frekansları	41
7.TARTIŞMA VE SONUÇ	46
8.KAYNAKLAR	55
9.EKLER.....	63
10.ETİK KURUL ONAYI.....	68
11.ÖZGEÇMİŞ	71

1. ÖZET

PROFESYONEL SPORCULARDA KAFEİN METABOLİZMASI İLE İLİŞKİLİ CYP1A2 GENİNİN RS2069514 VE RS762551 ALLEL DAĞILIMLARININ BELİRLENMESİ

Sporcuların performansı üzerinde olumlu etkileri nedeniyle kafein kullandıkları bilinmektedir. Kafein ile ilişkilendirilen Sitokrom P450 (CYP1A2) geni polimorfizmleri literatürde üzerinde çalışılan önemli konulardan biridir. Bu çalışmada amacımız; kafeini yavaş (rs2069514) veya hızlı (rs762551) metabolize eden CYP1A2 geni polimorfizmlerinin Türk popülasyonundaki kısa ve uzun mesafe koşucularında allel dağılımlarının araştırılmasıdır. Çalışmaya, 18-24 yaş aralığında 10'u uzun ve 10'u kısa mesafe koşucusu olmak üzere 20 atlet katılmıştır. Sporculardan elde edilen kan örneklerine DNA izolasyonu yapılmış olup Real Time-PCR tekniği kullanılarak veriler alınmıştır. Atletler üzerinde yapılan analiz çalışmasına göre; rs2069514 allel bölgesinde sırasıyla AA, GG ve AG genotipine sahip birey sayısı; 6 (%30), 9 (%45) ve 5 (%25)'tir. Allel frekansları; A allel sayısı 17 (%42,5) ve G alleli sayısı 23 (%57,5) olarak saptanmıştır. Rs762551 allel bölgesinde sırasıyla AA, CC, AC genotipine sahip birey sayısı; 4 (%20), 9 (%45) ve 7 (%35)'dir. Allel frekansları ise, A Allel sayısı 15 (%37,5) ve C Allel sayısı 25 (%62,5) olarak saptanmıştır. Sonuçlara göre; kısa ve uzun mesafe koşucularında çalışılan 2 farklı polimorfizmde de branşa bağlı genotip dağılımları arasında sadece rs2069514 polimorfizminde anlamlı bir farklılık ($p<0,05$) gözlemlenmiştir. Cinsiyete bağlı genotip dağılımları arasında her iki polimorfizmde de bir fark elde edilememiştir. Genel olarak ele alındığında ise kafeini daha yavaş metabolize eden gen alleli çalışmamızda daha fazla görülmüştür. Bu araştırma, CYP1A2 geni ve kafein ilişkisinin Türk sporcularında çalışıldığı, 2 polimorfizmde birlikte kısa ve uzun mesafe sporcularında bakıldığı ilk çalışma olarak görülmektedir. Böylelikle çalışmamızın genetik bilgi havuzuna katkıda bulunacağı ve bu alanda yapılan diğer çalışmalara ve sporcularda kafein kullanımına ilişkin araştırmalara önderlik edeceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: CYP1A2, kafein, kısa ve uzun mesafe koşucu, rs2069514, rs762551

2. ABSTRACT

DETERMINATION OF RS2069514 AND RS762551 ALLEL DISTRIBUTION OF CYP1A2 GENE ASSOCIATED WITH CAFFEINE METABOLISM ON PROFESSIONAL ATHLETES

It is known that athletes use caffeine because of positive effects on performance. Cytochrome gene polymorphisms P450 (CYP1A2) associated with caffeine are one of the important topics studied in the literature. Our aim in this study is to investigate allele distributions of CYP1A2 gene polymorphisms which metabolise caffeine slow (rs2069514) or rapid (rs762551) on short and long-distance runners in the Turkish population. Twenty athletes, 10 of them long and 10 short distance runners whose ages range from 18 to 24 years participated in the study. DNA isolation was done to blood samples obtained from the sporters and datas were acquired using Real Time-PCR technique. According to the analyses conducted on the athletes; the number of individuals with the genotype AA, GG, AG were respectively; 6 (30%), 9 (45%) and 5 (25%) in rs2069514 allele region. Allele frequencies were determined as number of A allele 17 (42,5%) and G allele 23 (57,5%) in rs2069514 allele region. The number of individuals with the genotype AA, CC, AC were respectively; 4 (20%), 9 (45%) and 7 (35%) in rs762551 allele region. Allele frequencies were determined as number of A allele 15 (37.5%) and C allele 25 (62.5%). According to the results; a significant difference was observed only in the rs2069514 polymorphism between genotype distributions associated with branch on two different polymorphisms studied on short and long-distance runners ($p < 0,05$). There was no difference between genotype distributions associated with gender in both polymorphisms. In general, it was found that the gene allele that metabolizes caffeine is more frequent in our study. This research appears to be the first study of CYP1A2 gene and caffeine association in Turkish athletes, and in short and long-distance athletes in 2 polymorphisms together. Therefore, we believe that this study will contribute to the pool of genetic information and other studies in this field and lead research relating to the use of caffeine on athletes.

Key words: CYP1A2, caffeine, short and long-distance runner, rs2069514, rs762551

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya genelinde en popüler alkolsüz içeceklerin başında; kahve, çay ve kola gelmektedir. Bu içeceklerin içerdikleri kafein nedeniyle, kendilerine özgü farklı tat ve kokulara sahiptirler. Kafein, dünyadaki 63 bitki türünün yaprak, tohum veya meyvelerinde bulunan ve doğal olarak oluşan bir maddedir (1).

Sporcuların, tepki sürelerini hızlandırmak ve uzun süreli egzersizde dayanıklılığı arttırmak için kafein kullandıkları bilinmektedir. Kafeinin, vücutta adenozin reseptörlerini bloke ederek ve beyinde sinirsel uyarılabilirliği artırarak merkezi sinir sistemi yoluyla performans artırıcı etki gösterdiği düşünülmektedir (2). Kafein ayrıca dayanıklılığı artırma, yorgunluğun geciktirilmesi ve glikojen kullanımının azalması açısından bu performans artırıcı (ergojenik) etkiyi sağlamaktadır (1). Vücutta bazı enzim aktivitelerini de değiştirerek glikojen yerine yağın kullanımına bağlı olarak yağ yıkımında etkili olmaktadır (3).

Kafeinin ergojenik etkisi nedeniyle sporcularda bu konuyla ilgili çalışmalar yoğun bir şekilde yapılmaktadır. Oksidoredüktazlar sınıfından bir enzim olan Sitokrom P450 (CYP) - (EC 1.14.14.1) farklı izoformları ile vücutta çeşitli reaksiyonlarda yer alır. Genetik araştırmaların da gelişmesiyle birlikte vücutta kafein metabolizmasıyla da ilişkilendirilen CYP enzim ailesinin CYP1A2 geninin performans üzerindeki rolünü gösteren araştırmalar bulunmaktadır (4, 5, 6).

Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan değişikliklerden biri polimorfizmdir. Polimorfizm, bir popülasyondaki bireylerin en az %1'inde, ilgili DNA bölgesinde farklılıklar olmasıdır. Farklı popülasyonlarda görülen polimorfizm sıklığı değişken olabilmektedir. Genomda çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmak üzere (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler vardır. Polimorfizmler kişinin hastalığa yakalanma riskinin, hastalığa verdiği yanıtın, ilaçlara karşı gözlenen yan etkilerin farklı olmasından sorumludur (7, 8).

Vücutta CYP1A2 enzimi üzerinde gen varyantlarına bakıldığında; kafeini yavaş ve hızlı metabolize eden polimorfizmlerin olduğu görülmüştür. Bir veya daha fazla CYP1A2*1C (rs2069514) alleli taşıyan bireyler "yavaş" kafein metabolizörleri, CYP1A2*1F (rs762551) değişkenleri taşıyıcıları ise "hızlı" kafein metabolizörleridir (4). Vücudun kafeini metabolize etme yeteneğine göre uyarıcı etkileri de buna bağlı olarak farklı olacaktır. Aynı miktarda alınan kafein, yavaş metabolizörler üzerinde hızlı metabolizörlere göre daha fazla uyarıcı bir etkiye neden olmaktadır (<http://www.SNPedia.com>, Erişim tarihi: 01 Mart 2017).

Bu çalışmada amacımız; sporcular için ergojenik etkisi olduğu kanıtlanmış kafeini metabolize eden CYP1A2 geni polimorfizmlerinin (rs2069514 ve rs762551) sporculardaki dağılımlarının araştırılmasıdır. Kafeini yavaş ve hızlı metabolize ettiği düşünölen bu varyantların kısa ve uzun mesafe koşucularında cinsiyete bağlı farklılıkları incelenecektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kafein

Kafein (1,3,7-trimetilksantin), metillenmiş ksantinler veya basitçe ksantinler olarak adlandırılan bir grup pürin alkaloidlerden biridir. Oda sıcaklığında renksiz, kokusuz, suda ve organik çözücülerde çözünebilen beyaz, kristalimsi yapıdadır (1). Kafein, teobromin ve teofilin gibi diğer pürin alkaloidleri, Camellia, Coffea, Cola, Ilex, Theobroma, Mate, Guarana ve Herrania gibi yaygın olarak tüketilen birçok bitki cinsinde doğal olarak bulunan maddelerdir (9).

4.1.1. Tarihçesi

Arap kökenli olduğu bilinen kahve kelimesi Arapça ‘‘qahwa’’ daha sonra Türkçe ‘‘kahveh’’ kelimesinden türemiş ve Avrupa dillerinin birçoğunda da fonetik yapısı bakımından benzerlik göstermektedir. Kafein kelimesinin anlamı, isteksiz bir şey yapmak veya bir şey için arzuyu azaltmaktır.

Kafein, ilk olarak 1819'da genç bir doktor olan Friedlieb Ferdinand Runge ve dünyanın görmüş olduğu en büyük şairlerden biri olan Johann Wolfgang von Goethe tarafından, Arabistan Mocha fasulyesinden izole edilmiştir.

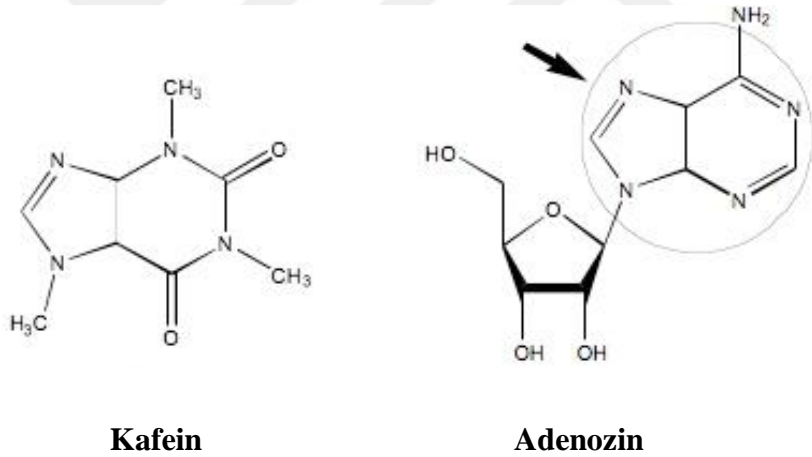
17. yy'ın ikinci yarısında en yaratıcı bilim adamları tarafından kullanılan kahvenin 20. yy'daki bilimsel çalışmalarda; uyanıklılığı sağladığı, performansı geliştirdiği, mental ve fiziksel çalışma için dayanıklılığı artırdığı öne sürülmüştür (1). İlk olarak Rivers ve Webber tarafından 1907'de kafeinin ergojenik bir etkiye sahip olduğu ve doping ajanı olarak sınıflandırıldığı bildirilmiştir (10).

4.1.2. Kimyasal yapısı

Kafein, dünyada bulunan 4 yaygın element olan karbon, hidrojen, oksijen ve azottan oluşan $C_8H_{10}N_4O_2$ formülüne sahip bir kimyasal bileşiktir. Saf halde, teofilin ve teobrominden metillenerek elde edilen veya dimetilüre ve malonik asitten sentezlenen atık çay yapraklarından kahvenin kafeinsizleştirilmesi sonucu oluşan tortu olarak toplanmaktadır.

Kafein, birinci, üçüncü ve yedinci karbona üç metil grubu eklenmesiyle oluşan bir trimetilksantindir. En yaygın olarak 1,3,7-trimetilksantin ismiyle temsil edilmektedir. Yapısını en fazla açığa çıkaran isim 1H-Purin-2,6-dion, 3,7-dihydro-1,3,7 trimetil olmakla birlikte 1,3,7-Trimetil-2,6-dioksopurin, 7-Methyltheophylline, Methyltheobromine ile de adlandırılmaktadır (1).

Adenozine benzer bir yapıya sahip olan kafein, reseptör bölgelerinde adenozin ile rekabet edebilmektedir (Şekil 4.1.2.1). Adenozin, pürin bazlarından biri olan adenine, bir pentoz halkasının eklenmesiyle oluşan doğal bir nükleoziddir. Adenozin, güçlü bir vazodilatör ve kalp fonksiyonlarında önemli rolü olan bir düzenleyicidir. Adenosin reseptörleri vücudun tamamında ve tüm büyük organlarda bulunur. Bu, kafeinin aynı anda birden çok dokuyu etkilemesine ve bir dizi karşılıklı etkileşime neden olmasına olanak tanır. Bununla birlikte, birçok farklı dokuyu etkilediğinden, kafeinin etkilerinin tam nedenini belirlemek zor olmuştur (11).



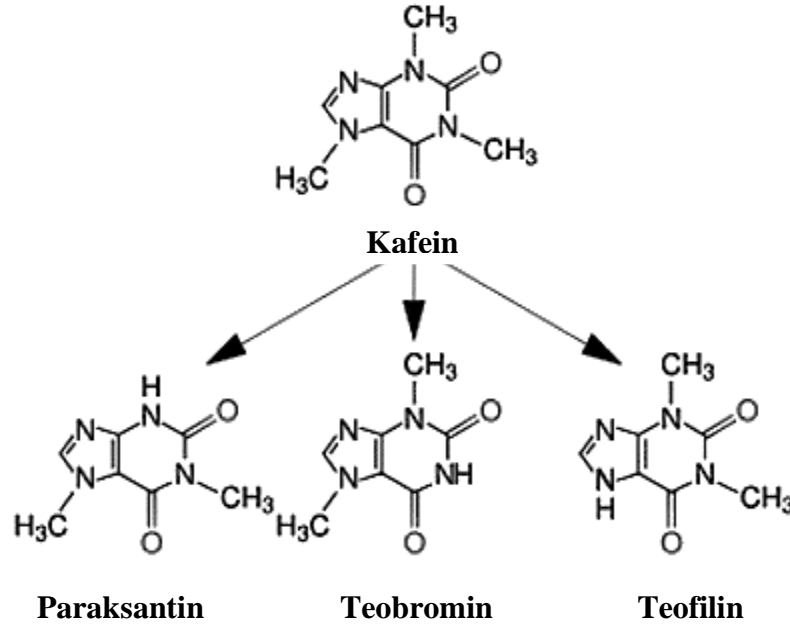
Şekil 4.1.2.1. Kafein ve adenozinin kimyasal yapısının gösterimi

Kafein içeriğindeki pürin yapısından dolayı genetik materyalimiz olan DNA ve RNA'yı oluşturan nükleotidlerden adenin ve guaninin ana bileşimidir. Bazı bilim adamları, genetik materyal ile olan bu benzerlikten ötürü, kafein ve metabolitlerinin hücre çoğalmasına, kansere, tümörlere ve doğum kusurlarına neden olabileceğini öngörmektedir (1).

4.1.3. Kafein metabolizması ve ürünleri

Metilatlı ksantinlerden olan teofilin, teobromin ve paraksantin kafeinin konjenerası veya kimyasal varyasyonları olup, insanlardaki kafein metabolizmasının birincil ürünleridir. Kafein de dahil olmak üzere tüm pürin bazlar, moleküllerde iki halka yapısına sahip, beş ve altı üyeli azotlu bileşikler olup her biri iki nitrojen atomu içerir. Pürin alkaloid ksantin, pürine iki oksijen atomu eklendiğinde oluşturulur.

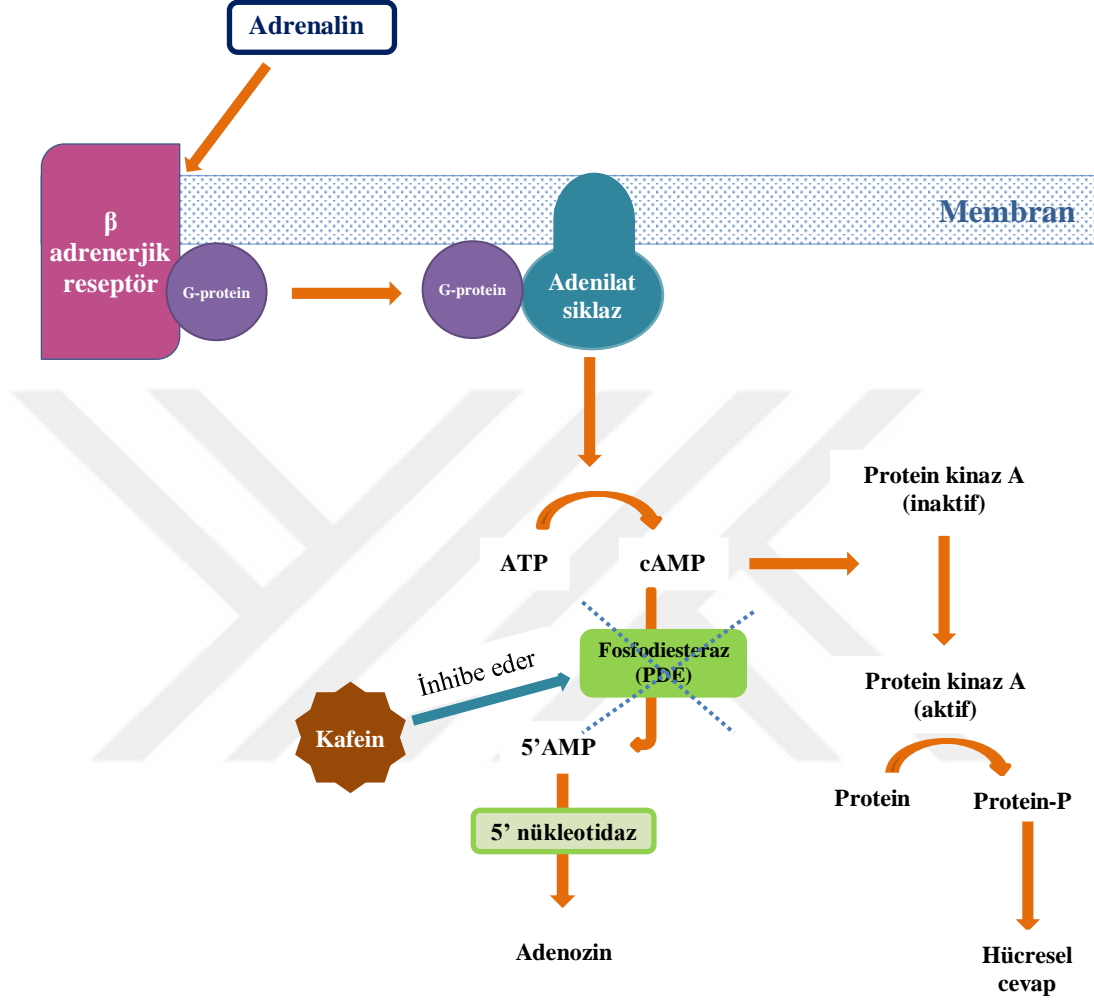
Diğer pürin alkaloidleri ise, değişen sayı ve pozisyonlarda metil grupları, yani bir karbon ve üç hidrojen atomu grubu ekleyerek ksantinden yapılmıştır. Kafeinin metabolitleri; teofilin (1,3-dimetilksantin), teobromin (3,7-dimetilksantin) ve paraksantin (1,7-dimetilksantin) bu yolla meydana gelmektedir (1). Şekil 4.1.3.1. de kafeinin sindirime uğraması sonucu meydana gelen metabolitler ve oranları gösterilmektedir.



Şekil 4.1.3.1. Kafeinin sindirime uğramasıyla meydana gelen metabolitler (12, 13).

Son zamanlarda yapılan çalışmalara göre efedrin ve kafein, vücutta termojenezi aktive etmektedir. Bu durumu, dolaylı olarak sempatik sinirlerden salınımını artırarak yaptığı ve direkt olarak postsinaptik etkilerin yalnızca daha yüksek ilaç konsantrasyonlarında mevcut olduğu rapor edilmiştir. Diğer bir yandan kafeinin, nöradrenalin salınımı ve eylemleri üzerindeki adenozin-inhibe edici etkileri antagonize etme ve fosfodiesteraz enzimi (PDE) aktivitesini inhibe etme yeteneği ile açıklanabilmektedir. Bu enzimin inhibe olmasıyla da hücrede kritik görevi bulunan siklik adenozin monofosfatın (cAMP) hücresel seviyesi yükselmektedir (14).

Hücre içi arabulucu (ikinci haberci) olarak anılan cAMP, hücre dışındaki hormonlara ait bir sinyali hücre içi metabolizmanın regülasyonunda görev alan sistemlere aktarmaktadır. Vücutta cAMP'nin görevi; proteinlerin fosforilasyonunu sağlamaktır. Kafeinin fosfodiesterazı inhibisyonu ile cAMP artış göstermektedir. Bu sayede proteinlerin fosforilasyonu artacak ve hücresel termojenez gibi fonksiyonlar artmış olacaktır. Bu artış sonucunda, ergojenik etkinin yani performansın artışı görülmektedir (14).



Şekil 4.1.3.2. Kafeinin hücre içerisinde cAMP yolağında, inhibitör etkisinin gösterimi (Moustafa ve Feldman,2014'ten modifiye edilerek hazırlanmıştır.)

Kafein ve diğer kimyasal bileşiklerin çoğu kan dolaşımı vasıtasıyla vücudun merkezi kan arıtma fabrikası olan karaciğere gelir. Karaciğerde metabolize olan kafein, "metabolitler" olarak adlandırılan ve idrarla atılan ikincil ürünlere dönüşür. Kullanılan kafeinin %98'inden fazlası bu şekilde vücut tarafından atılmaktadır.

Metabolize edildiği çoklu alternatif yollar olmasına rağmen, bu yolların tümü başka bir ürik asit türevi ile sonuçlanır ve idrarla atılır. Üriner metabolitlerin profili bireyler arasında belirgin farklılık göstermektedir. Bir metilksantin metabolize edilmesi diğer bir metilksantinlerin metabolize edilme hızlarını etkileyebilir (1).

Kafein, gastrointestinal kanaldan kan dolaşımına renal tübüller tarafından hızlıca ve tamamen emilir. Ayrıca böbrekler tarafından filtrelenir ve 48 saat içinde yalnızca %1-5'i idrarla değişmeden vücuttan atılır. Yükselmiş kafein konsantrasyonları alındıktan 15 dakika sonra kan dolaşımında ortaya çıkar ve yaklaşık 1-1,5 saat içerisinde pik plazma konsantrasyonlarına ulaşır. Midede 20 dakikada %90'ı temizlenirken, 30-45 dakika içerisinde genel dolaşımında kalır (15).

4.1.4. Kafeinin sindirimi ve emilimi

Kafeinin vücuttaki dağılımını kolaylaştıran durum, suda yüksek bir şekilde çözünmesidir. Bu şekilde vücuttan hızla temizlenir ve vücudunuza çabucak girip çıkmaktadır. Kafein dokulardan öylesine dolaştığı ve yağda kolayca çözülmediği için, vücut yağında ve organlarda birikemez. Aynı zamanda plazma proteinlerine nispeten düşük bir bağlanma düzeyi sergilediğinden, metabolizması sıralı işlemle uzatılmaz.

Kafeinin emilimi bireyler arasında değişiklik göstermektedir. İnsanlar da dahil olmak üzere birçok hayvan türü için, kafeinin ortalama eliminasyon yarı ömrü çeşitli faktörlerden etkilenmekle birlikte 2-4 saattir. Bu durum yaklaşık 12 saat içinde %90'dan fazlasının vücuttan atıldığı anlamına gelmektedir (1). Ayrıca kafeinin karbonhidrat ile birlikte alımında bağırsak emilimi ve glikoz oksidasyonunu artırabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır (16).

Sigara, kafeinin vücuttan atılma oranını iki katına çıkarırken; alkol tüketimi kafeinin atılma hızını yavaşlatmaktadır. Buna bağlı olarak da sigara içen bireylerin daha fazla kahve içeceği, alkol kullanan bireylerin ise kafeinin etkisini daha çok hissedeceği sonucu ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda araştırmalar, kafein metabolizma oranının ırklar arasında değiştiğini, hatta Asyalıların Kafkasyalılara göre kafeini daha yavaş metabolize ettiğine ilişkin veriler elde etmiştir (1).

4.1.5. Kafeinin vücuda etkileri

Kafein, yağda çözünebilir bir maddedir ve tüm hücre membranlarından kolayca geçebilmektedir. Bu özelliğinden dolayı kafein, mideden ve bağırsaklardan kan dolaşımına hızla ve tamamen emilir ve böylece tüm organlara taşınır (1). Yapılan bir çalışmada kafeinin, hem basit difüzyon hem de doyurulabilir, taşıyıcı aracılı ulaşım yoluyla beyne girdiği bulunmuştur. Bu yolun bulunması, kafein taşınımının yapısal olarak kafeine benzer makromolekülleri içerdiğini ileri sürmüştür (17).

Kafein, reaksiyon zamanı gibi psikomotor uyanıklılığı geliştirmektedir. Pek çok klinik öncesi araştırma, adozin reseptörlerini antagonize eden kafeinin, yaşlanma ve nörolojik bozukluklarda, bilişsel düşüşü ve bozuklukların ilerlemesini yavaşlatarak nöroprotektif etkilere sahip olduğunu bulmuştur. Kadın ve erkeklerde yapılan geniş kohort çalışmalarında, kafein tüketimi ile Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalık riski arasında ters bir ilişki bulunmuştur. Bu bilgilere göre; kafeinin uyarıcı etkisinin yaşlanmaya bağlı bazı sağlık problemlerine yardımcı olabileceği ileri sürülmektedir (18, 19).

Kafein ağrı tedavisinde de uzun zamandır kullanılmıştır. Birçok çalışma akut diyet kafein tüketiminin ağrıyı azaltabileceğini bildirmiştir. Bu etkisine bağlı olarak egzersizden sonra kafein kullanımının, egzersizle oluşan kas ağrılarının önlenmesi açısından etkili olabileceği düşünülmektedir (20).

Vücutta sempatik sinir sistemi, toplam vücut yağının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabilen beyaz yağ dokusunun sempatik inervasyonu, enerji dengesi ve lipolizin düzenlenmesinde rol almaktadır. Lipidlerin gliserol ve serbest yağ asitlerine parçalanması olarak bilinen lipoliz sonucunda vücut yağ oranı azalmaktadır. Ayrıca kafeinin, enerji verimliliğini artırarak enerji dengesini etkilediği ve enerji alımını düşürdüğü bulunmuştur. Bu nedenle kafein; termojenez, yağ oksidasyonu ve enerji alımı ile kilo vermeyi geliştirir (21).

Genel olarak akut kafein alımı sonrasında kan basıncında (hem sistolik hem de diyastolik olarak) orta düzeyde bir artış gözlenmektedir ve bu durum kalp hızını (doz bağımlı olarak bradikardi veya taşikardi) etkilemektedir. Bu duruma bağlı olarak, aşırı kafein alımı kalbi zorlayabilmektedir (19).

Kafein nöroendokrin etkilere (epinefrin, norepinefrin ve renin salınımı) de neden olmaktadır. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarındaki bir artış ile norepinefrin salınımı ve dopamin reseptörlerinin duyarlılaşması kafeinin nöroendokrin etkilerindedir. Kafeine bağlı kardiyak aritmiler için önerilen bir mekanizma yine adenosin reseptör blokajıdır (19). James'in sistematik derleminde; kafeinin kan basıncını yükselten etkilerinin, kardiyovasküler sistem morbidite ve mortalitesine neden olduğu bildirilmiştir (22).

4.1.6. Kafeinin kullanım dozu

Kafein, en yaygın olarak kahve formunda bulunmaktadır ve 1 fincan kahve ortalama olarak 100 mg kafein içermektedir. Bu miktar fincanın içerisindeki sıvı miktarı ve kahvenin hazırlama yöntemlerine (kahvenin türü, kavurma yöntemi, kahve miktarı vb.) bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (1).

Kafeinin popülaritesinin artmasına bağlı olarak kafeinle zenginleştirilmiş; enerji içecekleri, sporcu içecekleri ve atıştırmalıklar gibi ürünlerde günlük alınması gereken miktarın aşılması sorunu meydana gelmiştir. Günlük alım miktarı Güney Afrika ve Kenya gibi Afrika ülkelerinde en düşük (50 mg), İsviçre ve Norveç gibi Avrupa ülkelerinde ise 400 mg gibi üst seviyelere çıkabilmektedir. Yetişkinlerde sinirsel sağlığa faydaları açısından 400 mg/gün altında olmak üzere yaklaşık 5 servis kafein tüketilmesi önerilmektedir (15, 23).

Kafein tüketiminin insan sağlığı üzerindeki etkilerinin kapsamlı bir incelemesinde, sağlıklı erişkinler için günde 400 mg'a kadar orta düzeyde kafein alımının, kardiyovasküler sağlık, kalsiyum dengesi, kemik durumu, davranış, kanser riski ve erkek doğurganlığı üzerine olumsuz etkiler ile ilişkilendirilmemiştir (24).

Uluslararası Olimpiyat Komitesi (IOC), kafeinin ergojenik etkisinden dolayı, bir ml idrarda 12 µg'dan fazla kafeinin bulunması durumunda yarışmacıları uzaklaştırmaktadır. Ayrıca düşük-orta dozlarda (3-6 mg.kg⁻¹) susuz kafein desteğinin, antrenmanlı atletlerde spor performansını arttırdığını, ancak daha yüksek dozlarda alındığında ek faydalar görülmediğini belirtmiştir (≥ 9 mg.kg⁻¹).

Egzersizden önce ve yeni kanıtlarla birlikte uzun süreli egzersiz sırasında alınan düşük kafein dozlarının ($\sim < 3$ mg/kg) atletik performansı arttırdığı ve güçlü bir ergojenik etki meydana getirdiği bildirilmiştir. Bu değer altındaki kafein dozları ergojenik etkisi Merkezi Sinir Sistemi'nde (MSS) olmakla birlikte, hidrasyon durumu ve termoregülasyon yeteneği üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte yapılan diğer çalışmalarda da uzun süreli egzersiz sırasında karbonhidrat oksidasyonunu artırmak için yüksek miktarda kafeinin gerekli olduğu savunulmaktadır (16, 25).

4.1.7. Dünyada ve Türkiye’de kullanım oranı

Günden güne artan küresel kahve tüketimi, 2012/13 yılından bu yana yıllık ortalama %1,3 oranında artış göstermiştir. Son raporlara göre; 2015/16 (Ekim 2015'den Eylül 2016'ya kadar) yılında 60 kg'lık paketlerden ortalama olarak 151.3 milyon tüketilmiştir. Türkiyede ise ortalama olarak 60 kg'lık paketlerden 1,1 milyon adet tüketediği bildirilmiştir. (<http://www.ico.org>, Erişim tarihi: 08.09.2017).

4.1.8. Kafeinin spor performansına etkileri

Atletik kapasiteyi arttırmak için sporculardaki kafein kullanımı Uluslararası Olimpiyat Komitesi (IOC) tarafından 1962 yılında idrar konsantrasyonunda 15 mg/litre olarak sınırlandırılmıştır (1). Geçmişten beri kafein, Dünya Anti-Doping Ajansı (WADA) tarafından yasaklılar listesine girip çıkmaktadır. WADA'nın yasaklanmış madde listesinden 2004'te resmen çıkarılmış olsa da, 2018 yılında yayınladığı listeye göre müsabaka içinde kafein kullanımı izleme programındadır (26). Takım sporları ve anaerobik enerji olarak adlandırılan kısa süreli yüksek yoğunluklu egzersizlerde kafeinin potansiyel ergojenik etkisinin olduğuna dair çalışmalar yapılmaktadır (16). Ancak kafeinin en fazla dayanıklılık sporcularında ergojenik etki sahip olduğu ve kas dayanıklılığını olumlu yönde etkilediği görülmektedir (11, 27).

Kafeinin atletik performansı geliştirebileceği iddiasının altını çizen temel teori, üç iddiaya dayanmaktadır. Birincisi; kasları artmış serbest yağ asitlerini yakıt olarak yağları kullanmaya teşvik ederek glikojenin tükenmesini geciktirmesi ile birlikte vücudun yağ yakma verimini artırma yeteneğidir. İkincisi; kafeinin glikojen tüketimini azaltma yeteneğidir. Üçüncüsü; kafeinin algılanan egzersiz oranını (RPE) düşürme gücü, yani yorgunluk hissini azaltmak için verdiği güçtür.

Kafeinin performansını artırıcı etkileri dışında bazı olumsuz özellikleri de bulunduğu dair çalışmalar yapılmıştır. Sindirim sekresyonlarını arttırarak, mide rahatsızlığına neden olabilir ve bu nedenle performansı engelleyebilir. Diüretik bir ajan olması nedeniyle fazla idrara çıkışı teşvik ederek, dehidrasyona yol açabilir.

Aşırı idrara çıkmaya bağlı olarak, iyi bir performans için gerekli vitamin ve minerallerin kaybına neden olabilir (1).

Kafein, muhtemelen beş mekanizma ile insan vücudu üzerindeki performans arttırıcı etkisini ortaya koymaktadır:

1. Adenozin molekülüne kimyasal benzerliği nedeniyle kafein, adenozin reseptörlerini işgal edip bloke eder. Bu şekilde serebral kan akışını düşürebilir ve böylece adenozin aracılı vazodilatasyonu azaltabilir ve dolayısıyla miyokard kan akışını azaltabilir (28, 29).
2. Kafein alımından sonra, kas içi triaçilgliserol veya kas dışı serbest yağ asidinin kullanımı artmaktadır. Bunun sonucu olarak; egzersiz sonrası erken dönemde ve egzersiz sonrası dinlenme döneminde kas sitrat ve asetil-CoA/CoA-SH oranındaki yükselmeler yoluyla vücutta karbonhidrat kullanımı engellenebilmektedir (30).
3. Kafein, hormona duyarlı lipaz (HSL) enzimini aktive ederek ve glikojen fosforilaz enzimini inhibe ederek glikojenden yağa substrat tercihini değiştirmektedir (3, 31).
4. Kafeinin fosfodiesteraz enzimi aktivitesini inhibe edici etkisi nedeniyle cAMP artışı sağlanmaktadır. Bu sayede protein fosforilasyonu hücrel cevap oluşmaktadır (31).
5. Egzersiz sonrası kas glikojen birikiminde artış sağlanmaktadır. Yapılan bir çalışmada; egzersiz sonrası karbonhidrat beslenmesine eklenen kafeinin, bir sonraki yüksek yoğunluklu aralıklı çalışma kapasitesini geliştirebildiğini ve glikojenin yeniden sentezini geliştirme potansiyeline sahip olabileceği gösterilmiştir (32).
6. Kafein, sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımını artırır ve bunun tekrar alımını engellemektedir. Bu şekilde hücre içi kalsiyumun mobilizasyonu sağlamaktadır (33).

Egzersiz performansına ek olarak, kafeinin sporcuların performansı üzerinde etkili olan uyku, biliş, algı ve ruh hallerini etkilediği bildirilmektedir. Ayrıca, adrenalin salınımını uyarır, substrat kullanımını değiştirir, hücrel iyon salınımını arttırır. Kafein tüketiminin egzersiz performansı üzerindeki olumlu etkisine rağmen,

bireyler arasında genetiğe bağlı büyük farklılıklar gösterilebiliyor. Bu nedenle genetik, bir kişinin egzersiz sırasında kafein takviyesi yanıtlarında önemli bir rol oynamaktadır (11, 34).

4.1.9. Kafein metabolizması üzerine genetik etkiler

Bir karaciğer enzimi olan Sitokrom P450 1A2 (CYP1A2) birincil kafein metabolizmasından sorumludur. CYP1A2 enzimi kafeinin yıkımıyla paraksantin, teofilin ve teobromin olmak üzere üç ana metabolit haline getirmektedir (1, 4).

CYP1A2 geninin intron 1'inde tek bir nükleotid (A/C) polimorfizmi, karaciğerdeki kafein metabolizma hızını etkilemektedir. Bu polimorfizm, C alleli taşıyıcılarının AA homozigota sahip bireylere göre bu enzimin daha yüksek indüklenebilirliğine yol açmaktadır. Bu sayede kafeini metabolize etme hızı bu alleli taşıyan bireylerde daha hızlı olduğu gösterilmiştir (4, 35).

Farklı genotiplerin farklı hızlarda kafeini metabolize ettiği ve kafein yanıtında bir değişime neden olduğu hipotezi ileri sürülmüştür. Bu hipoteze uygun olarak da pek çok çalışma yapılmıştır. Womack ve arkadaşlarının bir grup rekabetçi bisikletli ile yaptığı bir çalışmada A/A homozigotunda 3.8 dakika C allel taşıyıcılarında 1.3 dakikalık 40 bin çalışma performansında artış ile birlikte daha belirgin ergojenik bir etki gözlemlenmiştir (5). Bu bilgiye karşın Pataky ve arkadaşları, rekreasyonel olarak eğitilmiş 38 bisikletlide A/A homozigotuna kıyasla, C allel taşıyıcılarında 3 bin km'lik çalışma performansında daha büyük bir artış gözlemlenmiştir (36). Her iki çalışmayla da çelişen Algrain ve arkadaşları, 20 "orta düzey formda" bireylerde genotipler arasında 15 dakikalık bir bisiklet performansında herhangi bir fark bulamamıştır (37).

Genetik etkilere bağlı olarak kafeinin metabolize edilme hızı, vücutta performansa etkisi dışında diğer fonksiyonları da farklı yönde etkileyebilmektedir. Örneğin; miyokard infarktüsü ve hipertansiyon riski orta (3-4 bardak) kahve tüketen yavaş metabolizerlerde artmışken, hızlı metabolizörlerde koruyucu bir etki sergilemiştir (38, 39).

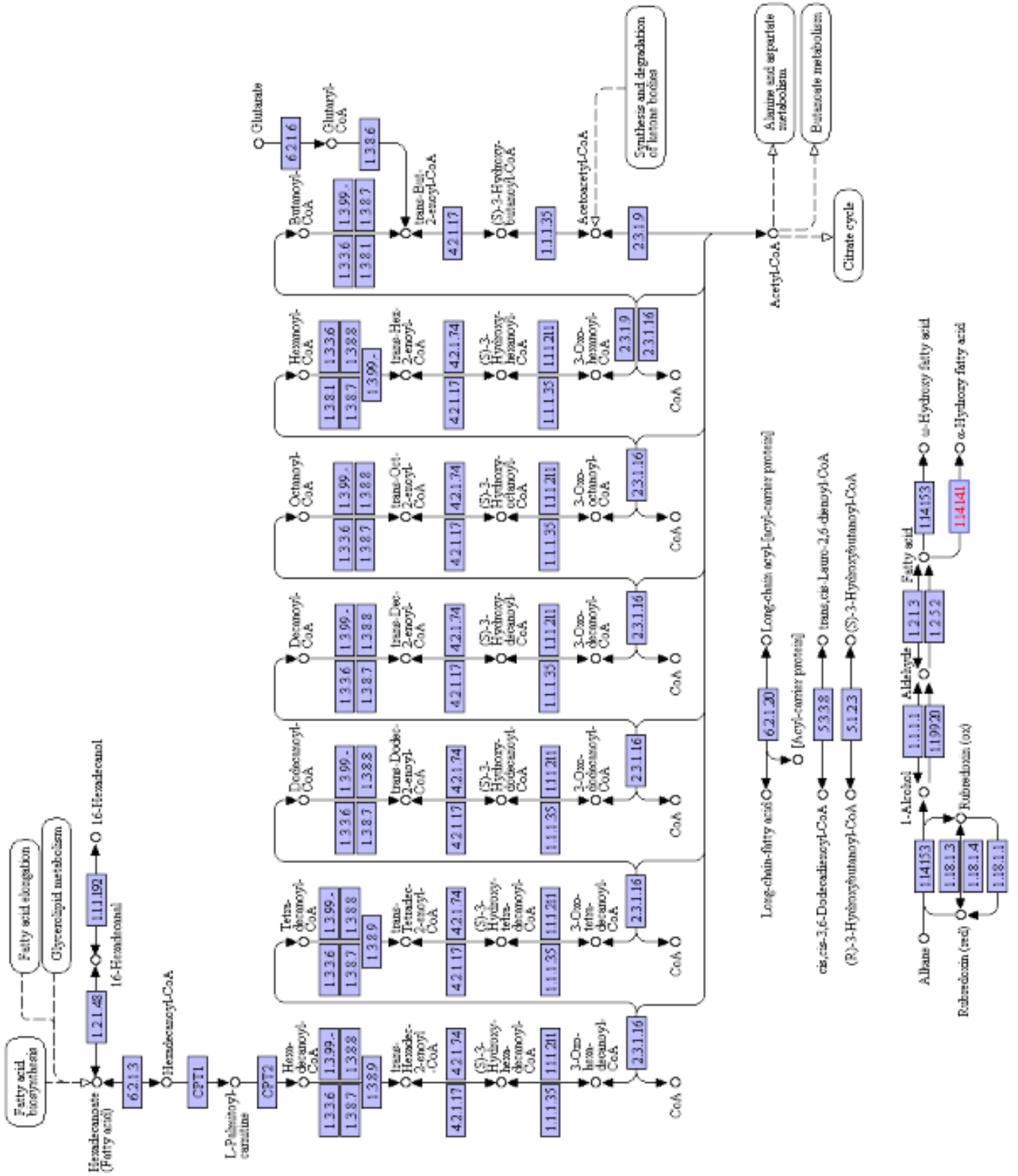
4.2. Sitokrom P450 (CYP) Enzim Sistemi

4.2.1. CYP enzim sistemi ve özellikleri

CYP enzimleri, hem-içeren proteinlerin süper ailesidir. Bu enzim sistemi, monooksijenazlar ile karışık işlevli oksidazlar olarak da bilinmektedirler (40). Genellikle, Elektron Transport Zincirinde (ETS) terminal oksidaz olarak etki etmektedirler (41). Bu enzim sisteminde bulunan proteinlerin absorbanz spektrumunun benzersizdir ve bu pigmentlere P450 adı, 450 nm'de absorbanz gösterdiği için verilmiştir (42).

CYP; steroidlerin, yağ asitlerinin, biyojenik aminlerin ve bitki metabolitlerinin oksidatif metabolizmasına katılan ve aynı zamanda kimyasal kanserojenlerin, ilaçların, mutajen ve diğer çevresel kirleticilerin metabolizmasından sorumlu enzimlerdir. Prokaryotlarda ve mantarlarda meydana geldiği bilinen yabancı bir kimyasal maddenin enerji kaynağı olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Özellikle bitki metabolitleri olmak üzere çok sayıda yabancı maddenin, detoksifikasyonunu yapmaktadır (43).

CYP proteinleri, yağ asitlerinin katabolizmasına ve steroidlerin biyosentezi ile bozunumuna katıldığından; CYP geni ifadesi muhtemelen zar bütünlüğü için önemli olmuş ve bazı prokaryotlarda ve en eski ökaryotlardan devretmişlerdir (43). CYP, böbrekler tarafından atılabilen polar metabolitlerin biyotransformasyonuna aracılık etmektedir. Ayrıca lipofilik ilaçlar için en önemli eliminasyon yolu, CYP bağımlı oksidasyondur (44).



Şekil 4.2.1.1. Yağ asidi yıkımında CYP enziminin rolü (<http://www.genome.jp> Erişim Tarihi: 08.09.2017)

Son birkaç yılda meydana gelen protein ekspresyonu ve saflaştırılmasındaki teknolojik gelişmelerle birlikte yeni Sitokrom P450 (EC 1.14.14.1) kristal yapıları keşfedilmiştir. Buna bağlı olarak da protein veritabanında bu enzimle ilgili depolanan verilerin sayısı giderek artmaktadır.

Rekombinant DNA teknolojisi, insan CYP genlerinin düzenlenmesine ve aynı zamanda değişmiş ilaç veya steroid metabolizması ile bağlantılı olabilen tek nükleotid varyasyonlarının (SNV'ler) analizi için fikir sahibi olmaya imkan vermiştir. (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp1a2.htm>, Erişim Tarihi: 08.09.2017) CYP enzim sisteminin araştırılması ise; ilaçların, karsinojenlerin ve steroidlerin metabolizması üzerine çalışmalarla başlamıştır (41).

Ekstra hepatic sitokrom P450 enzimleri ince bağırsak, pankreas, beyin, akciğer, adrenal bez, böbrek, kemik iliği, mast hücreleri, deri, yumurtalık ve testis gibi geniş bir doku aralığında tanımlanmıştır (45).

CYP enzimleri, amino asit sekansına dayalı olarak sistematik bir şekilde sınıflandırılmıştır ve her P450 enzimi farklı bir gen tarafından kodlanmaktadır. Amino asit sıralanmasında %40'ın üzerinde homoloji gösteren ve proteinleri kodlayan genler aileler olarak gruplanmışlardır. Aileler, sitokrom P450 (CYP) kısaltması ile gösterilmektedir ve bunu takiben her biri bir Arap rakamı ile isimlendirilmiştir. Bir aile içinde %55'den fazla sekans homolojisine sahip enzimler aynı alt ailede bulunmaktadır. Altfamilyalar, aile numarasını takip eden bir harfle gösterilmektedir (Şekil 4.2.1.1.) (43, 44).

Family	Subfamily	Individual gene
CYP1		
CYP2→	CYP2C→	CYP2C9
		CYP2C19
CYP3	CYP2D	

Şekil 4.2.1.2. Sitokrom P450 enzim sisteminin adlandırılması (43, 44).

Bugüne kadar tüm memelilerde 14'ü her yerde bulunan en az 74 CYP gen ailesi tarif edilmiştir. CYP1, CYP2 ve CYP3 ailelerine ait enzimler, birçok ilaç, (pro) kanserojen, (pro) mutajen ve alkoller de dahil olmak üzere eksojen bileşiklerin oksidatif biyotransformasyonunu katalize eder. Diğer CYP aileleri, yağ asitleri, prostaglandinler ve steroid ve tiroit hormonları gibi endojen maddelerin metabolizmasına karışmaktadırlar (44, 46).

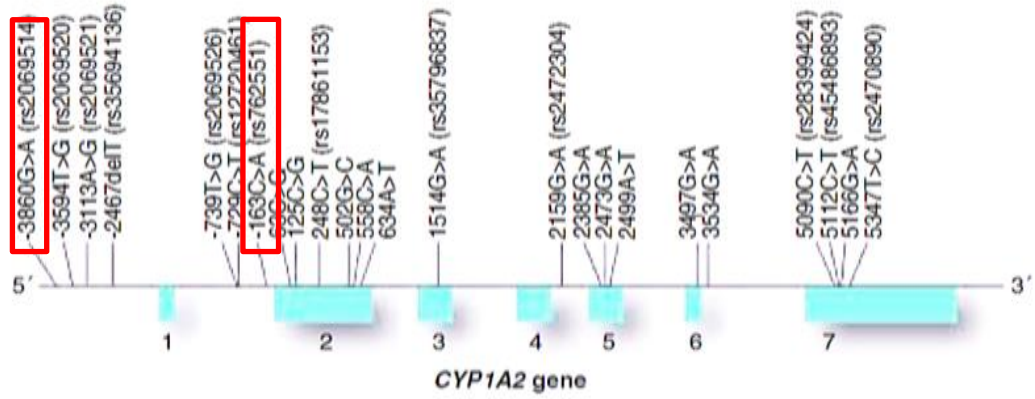
CYP enzim sisteminin metabolik kapasitesi, bir nüfusun tüm üyelerinde eşit değildir. Sonuç olarak, ilaçların metabolik dönüşüm ve atılım hızı, bireyler arasında yavaştan çok hızlıya doğru bir şekilde değişmektedir. Birçok ilaç için, zayıf metabolizanlar (PM'ler), ara metabolizanlar (IM'ler), geniş metabolizanlar (EM'ler) ve çok hızlı metabolizanlar (UM'ler) olmak üzere dört ana fenotip ayırt edilebilmektedir. Bu değişkenlikler, anormal aktiviteye sahip CYP enzimine neden olabilecek mutant alleller ile birlikte genetik faktörler tarafından belirlenmektedir.

Bireysel metabolik kapasite, genetik faktörlerin yanı sıra çeşitli iç ve çevresel faktörlerden de etkilenmektedir. Örneğin; yaş, cinsiyet, hepatik tutulum ile ilişkili bazı hastalıklar, sigara, beslenme ve alkolün yanı sıra ortak ilaç kullanımı CYP enzim sisteminin metabolik kapasitesini değiştirebilmektedir (44).

CYP allellerinin küresel bir dağılım haritasını sağlamak için 5 büyük insan popülasyonunda birbiriyle ilişkisiz olan 56.945 bireyle tüm genomu ve ekspres sıralama verilerinin entegre edildiği bir meta-analiz yayınlanmıştır. Bu veri setini popülasyona özgü bağlantı bilgisi ile birleştirerek, 12 CYP genine ait 176 CYP haplotipinin frekansları çıkartılmıştır (47).

4.2.2. CYP1A2 geni ve tanımı

Kafein metabolizmasını, bir dizi çevresel ve biyolojik faktör etkilemektedir. Kafein metabolizmasıyla ilişkilendirilen CYP1A2 geni, sitokrom P450 enzim ailesinin, A alt ailesinin ikinci üyesidir ve birincil kafein metabolizmasının %95'inden sorumludur (48). Şekil 4.2.2.1. de CYP1A2 geni üzerinde bizim çalışığımız rs2069514 ve rs762551 ile bazı polimorfizmler gösterilmektedir



Şekil 4.2.2.1. CYP1A2 geni üzerindeki bazı polimorfizmlerin gösterimi (Güneş ve Dahl'dan modifiye edilmiştir) (49).

CYP1A2 gen dizisi 15. kromozomda bulunmaktadır. Şekil 4.2.2.1'de de görüldüğü gibi yaklaşık olarak 7.8-kb uzunluğunda 7 ekson ve 6 intron bölgesinden oluşmaktadır. Bu gen bölgesinde 40'tan fazla Tek nükleotid polimorfizmleri (Single-nucleotide polymorphisms, SNP's) tanımlanmıştır (49).

Ayrıca CYP1A2; yabancı bileşiklerin vücuttan atılmasında, endojen bileşiklerin biyosentezinde ve steroid hormonu, safra asidi ile kolesterol içeriğinde önemli fizyolojik rollere sahiptir (50).

CYP1A2 geni, NCBI dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ve SNP500Cancer veritabanlarına (<http://variatgps.nci.nih.gov>) göre aynı tür popülasyonlarda fenotipik açıdan oldukça çeşitlilik göstermektedir (polimorfik) ve bu gen bölgesinde 200'den fazla polimorfizm görülmektedir. Bu polimorfizmler kafein metabolizması üzerine hızlı ve yavaş olmak üzere farklı etkiler göstermektedir (51).

CYP1 ailesi üç geni içerir: CYP1A1, 1A2 ve 1B1; Bunların hepsi Aril Hidrokarbon Reseptör (AhR) agonistleri tarafından indüklenebilmektedir. İnsan CYP1A1 ve 1A2 genleri, kromozom 15'te yaklaşık 23-kilobase kb'lik bir mesafede bir baştan başa yönlendirmede düzenlenmektedir (41, 52).

CYP1A1 ve CYP1A2 genleri arasındaki intergenik aralayıcı bölgeyi içeren bir çift haberci vektörü kullanarak, daha önce CYP1A1 geni ile karakterize edilen XREC'in sadece CYP1A1'i değil CYP1A2'yi de etkinleştirmek için iki yönlü bir şekilde çalıştığını göstermiştir. Yapılan çalışmada elde edilen verilere göre; insan CYP1A1 ve CYP1A2'nin indüksiyonunun iki yönlü ve ortak düzenleyici elementler vasıtasıyla aynı anda kontrol edildiği tespit edilmiştir (41, 52).

4.2.3. CYP1A2 geni ve metabolizması

Sitokrom 1A2 (CYP1A2), karaciğerde bulunur ve metabolik aktivitesi öncelikle bileşiklerin oksidatif metabolizma yoluyla hidroksilasyon demetilasyonudur (45). CYP1A2 (CYP2E1, CYP1A1 ve CYP1B1 ile birlikte) genellikle Polisiklik Aromatik Hidrokarbonları (PAH) kanserojen bileşiklere metabolize eder. Sitokrom 1A2, pek çok ilacın metabolizması CYP2D6, CYP2C9 ve CYP2C19'ın aksine düşük afiniteli/yüksek kapasiteli bir enzimdir (45, 53).

CYP1A2 metabolizmasında indüksiyon Brüksel lahanası, brokoli, lahana ve diğer turpgil sebzeler ve kızarmış gıdalar (yanmış etler) ile sağlanabilir. CYP1A2'nin çalışmasına neden olan önemli bir toksik duman içinde muhtemelen PAH'ların uyarılması yoluyla tütün dumanıdır (45).

CYP1A2 aktivitesi üzerine yapılan fare ve insan çalışmalarında, protein ekspresyonu ve aktivitesinde bireyler arası ve etnik kökene bağlı varyasyonlar rapor edilmiştir. Karaciğerde CYP1A2 mRNA'sı 40 katlanmadan fazla bireysel farklılıklar sergilemektedir (49, 54).

CYP1A2 geni, çevresel ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda işlev gören memeli ve kuşların evrimleşmesi sırasında, yaklaşık 350 milyon yıl önce CYP1A1'in duplikasyonu yoluyla oluştuğuna inanılmaktadır. Ayrıca ilaç metabolizmasında anahtar rol oynamaktadır Demetilasyon, kafein klirensinin %80'inden sorumludur. Kafein klirensi, CYP1A2 aktivitesinde altın standart olarak kabul görmektedir. Kafein metabolizmasında CYP1A2 aracılı reaksiyonlar, enzimin fenotip aktivitesinde kullanılmaktadır (49).

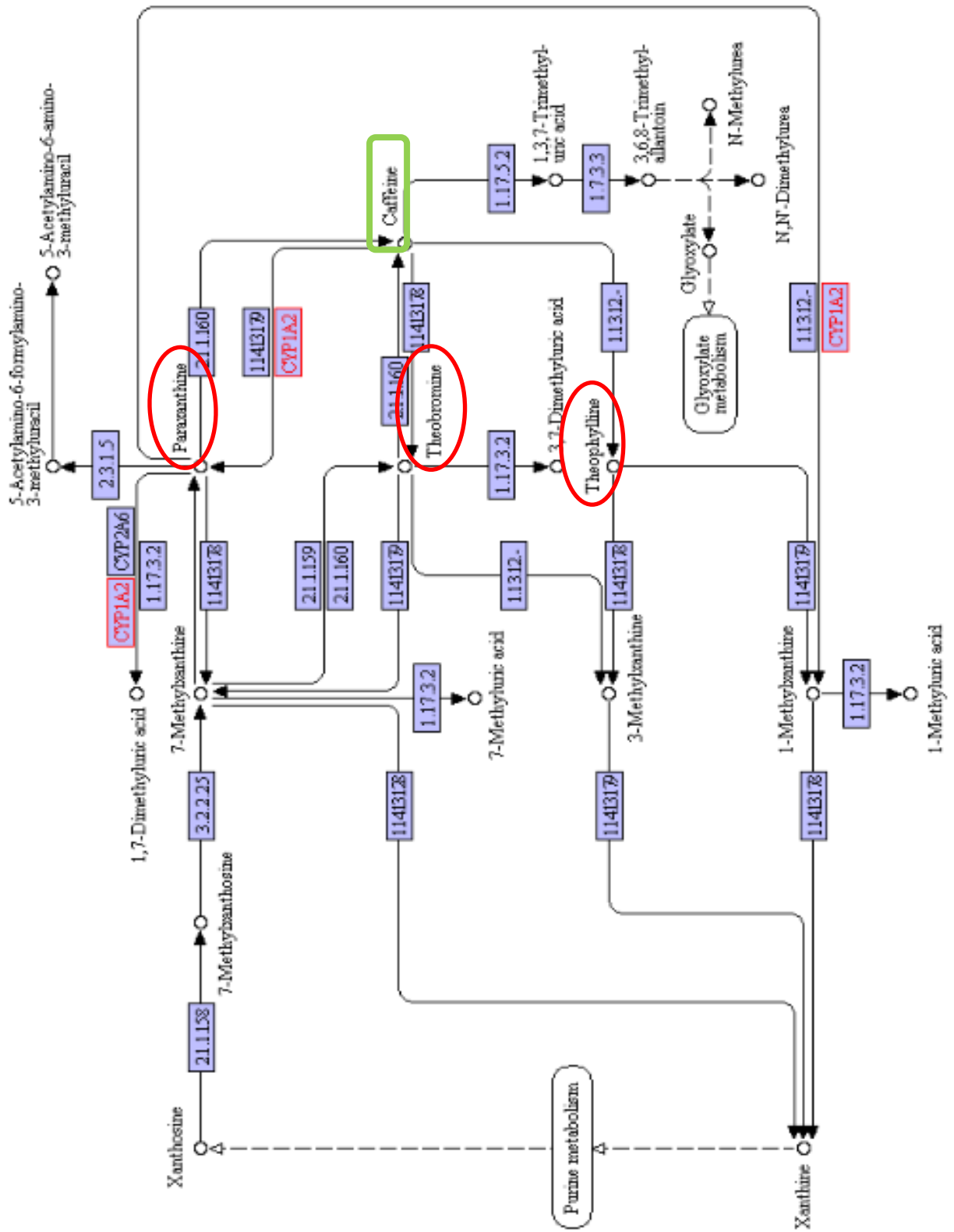
CYP1A2 aktivitesi endojen ve ekzojen birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Örneğin; sigara CYP1A1 ve CYP1A2'nin kuvvetli bir indükleyicisi olmakla birlikte; ağır egzersiz, turpgiller ve mangal kömüründe pişmiş etler diğer bir indükleyici çevresel faktörlerdir (55). Oral kontraseptif kullanıcıları, menstrüasyon ve hamilelik döneminde artan progesteron ve östrojene bağlı olarak, kafein klirensi ve CYP1A2 aktivitesinde azalma meydana geldiği bildirilmiştir (56).

4.2.4. CYP1A2 geni ve kafein ilişkisi

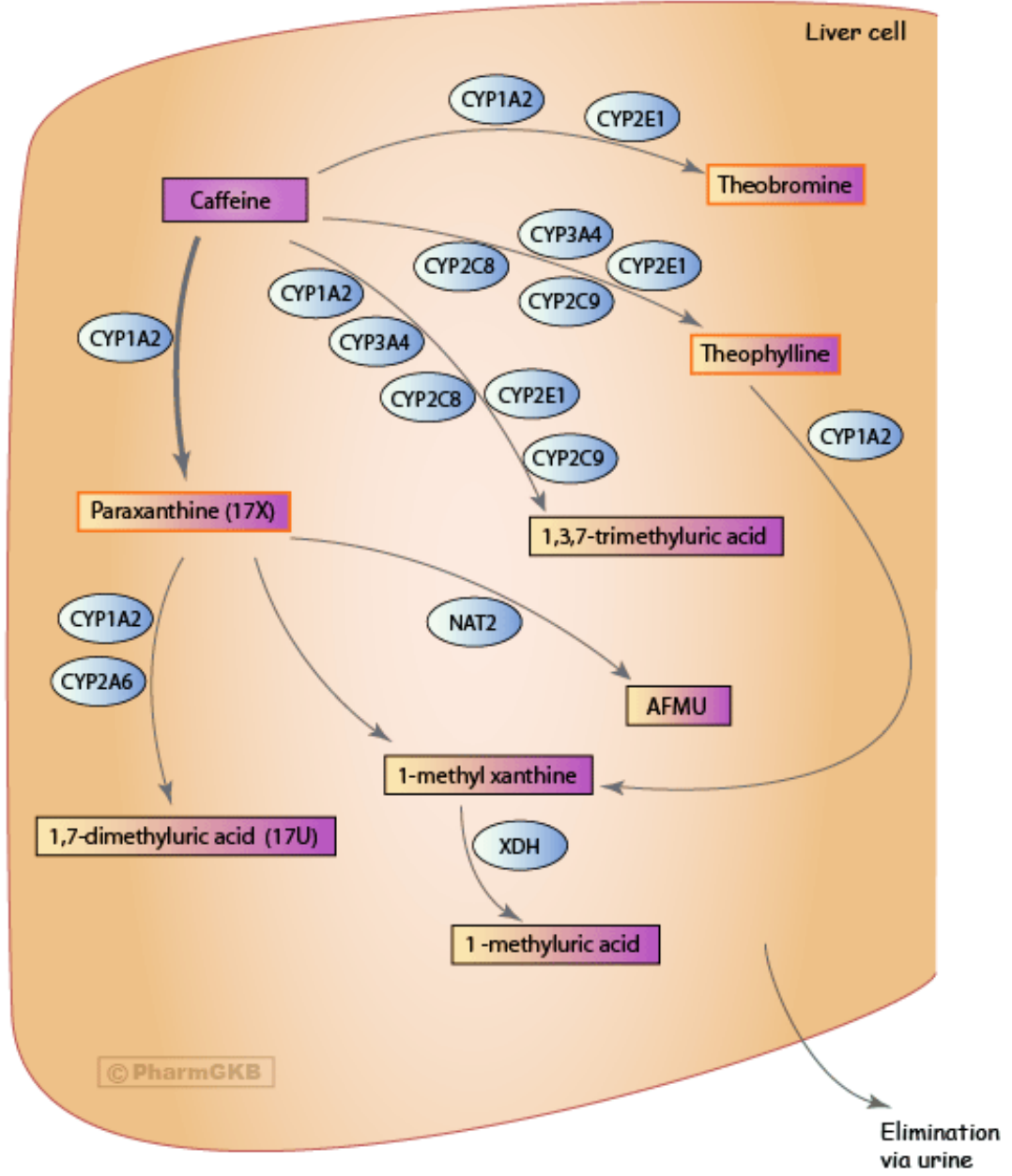
şekil 4.2.4.1'de kafein metabolitleri ve CYP1A2 geni arasındaki ilişki gösterilmiştir. Bu nedenle şekilde kafein ve pürin metabolizması arasında yakın ilişki olduğu görülmektedir. (Bkz. 4.1.2)

Kafeinin sağlık üzerindeki potansiyel olumlu ve olumsuz etkileri bireysel farklılıklara göre değişmektedir. Genom apında Birlik alışması (GWAS) ile 6 popülasyona dayalı 9,876 kadar Avrupa kökenli bireyler arasında plazma kafein, paraksantin, teofilin, teobromin ve paraksantin/kafein oranının hesaplandığı bir çalışma yrtlmştir. Bu çalışmada 7p21 (AHR yakınında) ve 15q24 (CYP1A2 yakınında) varyantları (yavaş kafein metabolizması), daha yüksek plazma kafeini ve daha düşük plazma paraksantin/kafein ile ilişkilendirilmiş daha önce düşük kahve ve kafein tüketim davranışlarıyla GWAS'da ilişkilendirilmiştir (38).

İlginç bir şekilde kafeinin hem indüksiyon hem de inhibitör etkileri bulunmaktadır. Bu etkiler, melatonin gibi CYP1A2 katabolizması sonucu oluşan farklı substratlar üzerine rapor edilmiştir (57).



Şekil 4.2.4.1. Kafein metabolizmasında CYP1A2 geninin etki noktaları (kırmızı ile gösterilmiştir) (<http://www.genome.jp>, Erişim Tarihi: 08.09.2017)



Şekil 4.2.4.2. Karaciğer hücresindeki kafein metabolizmasında görev alan CYP1A2 ve diğer tanımlanan genlerin şematik görünümü (48).

4.2.5. CYP1A2 geni, kafein ve spor ilişkisi

Uluslararası Atletizm Fedarasyonları Birliği (IAAF) mesafeye dayalı olarak; kısa (sprint, 60-400 m), orta (800-3000 m), uzun (maraton, 5000 m) ve ultramaraton (maraton<) olmak üzere gruplandırmıştır. IAAF, Olimpik mesafelerde 100, 200 ve 400 m mesafeleri olmak üzere 400 metreye kadar olan mesafeleri sprint koşuları olarak tanımlamaktadır. (<https://www.iaaf.org/home> Erişim Tarihi: 08.09.2017).

4.2.5.1.Kısa mesafe koşucuları

Kısa mesafe (sprint) koşularında performansı etkileyen en önemli faktör, çabukluk olarak görülmektedir. Bireyin genetik durumuna bağlı kas fibril tipi ve miktarı, reaksiyon ve refleks zamanı sporcunun başarısını etkileyen durumlar olarak karşımıza çıkmaktadır (58).

Kısa mesafe koşularında ilk olarak kreatin fosfat yolundan enerji elde edilirken; mesafe arttıkça gereken enerjiyi sağlamak için anaerobik glikoliz yoluna gidilmektedir. Buna bağlı olarak, anaerobik işlevsellik seviyelerinin daha yüksek olduğu bireylerin, muhtemelen daha iyi bir sürat performansı göstereceği düşünölmektedir (59).

4.2.5.2.Uzun mesafe koşucuları

Uzun mesafe koşu performansının temel belirleyicileri, aerobik kapasiteyle kuvvetli bir şekilde ilişkilidir. Uzun süre yüksek bir enerji harcamasını (koşu hızı) sürdürme yeteneği, yani yorgunluk olmadan bu optimum enerji üretim oranını koruyanlar başarılı olmaktadır. Mesafe koşularında maksimum oksijen alım miktarı (VO₂max), performansın önemli bir belirleyicisidir (59, 60).

Koşu ekonomisi, uzun mesafe koşucular için en önemli unsurlardan biridir. Verilen minimum hızdaki enerji talebi olarak tanımlanır ve kararlı durum oksijen tüketiminin (VO₂) ve solunum değişim oranının ölçölmesi ile tespit edilmektedir. İyi koşu ekonomisine sahip olan, anaerobik eşiği yüksek sporcular, aynı kararlı hal hızında kötü koşu ekonomisine sahip sporculara göre daha az oksijen ve buna bağlı daha az enerji kullanmaktadır (61).

Elit mesafe koşucularında gözlemlenen yüksek VO₂max değerlerinde birincil faktör artan kan atım hacmi olmakla birlikte kan hacminde, kılcal yoğunlukta ve mitokondriyal yoğunluğa bağlı artıştır (59).

Kısa ve uzun mesafe koşusu arasında çeşitli fizyolojik farklılıklar bulunmaktadır. Bunlardan biri; her adımda yere temas veya duruş süresidir. Hız arttıkça, yere ayak temas süreleri önemli ölçüde azalmaktadır. Kısa mesafede; güç, patlama ve en üst hız üzerine odaklanılmaktadır. Güç gelişimi üzerine vücut merkezi kullanılır ve efor daha da yoğunlaştırılır. Uzun mesafe koşularında ise; koşu ekonomisine odaklanılmaktadır (62).

4.2.6. CYP1A2 geninin rs2069514 ve rs762551 polimorfizmleri

Bir veya daha fazla CYP1A2*1C (rs2069514) alleli taşıyan bireyler “yavaş” kafein metabolizörleri, CYP1A2*1F (rs762551) değişkenleri taşıyıcıları ise “hızlı” kafein metabolizörleridir. Bu nedenle aynı miktarda alınan kafein, CYP1A2 yavaş metabolizörleri üzerinde CYP1A2 hızlı metabolizörlerinden daha fazla uyarıcı etkiye sahip olacaktır (<https://www.snpedia.com/index.php/CYP1A2> Erişim Tarihi: 08.09.2017).

CYP1A2'nin rs762551 polimorfizmi (-164C>A), en yaygın çalışılan varyantlarından biridir. Bu polimorfizm, CYP1A2 geninin intron 1'inde, ilk transkribe olan nükleotidin aşağı tarafındaki 734. pozisyonunda sitozinin adenine dönüşmesi sonucu olmuştur. Rs762551 varyantını taşıyan bireylerin, muhtemel olarak bu polimorfizm enzim uyarılabilirliğini azalttığı için daha düşük CYP1A2 aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir (4). Genotiplendirme açısından rs762551 (AA)'ya sahip bireyler hızlı kafein metabolizörleri iken; heterozigot rs762551 (AC) veya homozigot rs762551 (CC)'ya sahip bireyler yavaş kafein metabolizörleridir.

Rs2069514, -3860G>A olarak da bilinir ve CYP1A2 geninde bir SNP'dir. Rs2069514 (A) alleli CYP1A2*1C varyantını tanımlamaktadır. CYP1A2, rs2069514 polimorfizminin homozigot alleli genotip (GG) normal, heterozigot alleli genotip (GA) ve homozigot alleli genotip (AA) varyantları olarak adlandırılır (<https://www.snpedia.com/index.php/CYP1A2> Erişim Tarihi: 08.09.2017).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Kullanılan Aletler

- Arçelik -20 °C Derin Dondurucu (Türkiye)
- Roche LightCycler Nano (Almanya)
- Microfuge 16 Mikrosantrifüj, Beckman Coulter (A.B.D)
- SBH130 Su Banyosu, Block Heater (İngiltere)
- Stuart Vorteks (UK)
- Thermo Scientific Smart 2 Pure 3 Distile Su Cihazı (A.B.D)
- Thermo Scientific Otomatik Mikropipetler, Eppendorf Research Plus (A.B.D)
- Tıp Kim San Mor Kapaklı EDTA'lı tüpler (Türkiye)
- Vestel Buzdolabı (Türkiye)

5.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- TaqMan SNP Genotyping Assays, Human, SM (USA)
- TaqMan Universal Master Mix II, with UNG (USA)
- Double Distile Su (dH₂O)

5.3. Kullanılan Ticari Kitler

- DNA İzolasyon Kiti: Thermofisher invitrogen (USA)
(Referans no: K1820-02)

5.4. Kullanılan Primerler

Rs2069514 genotipleme, ticari olarak temin edilen Termofisher TaqMan Genotip kiti (Referans no: C_15859191_30), rs762551 genotipleme için ise Termofisher TaqMan Genotip kiti (Referans no: C_8881221_40) kullanıldı. Primerlerin işaretlenmesinde 2 kit içinde FAM ve HEX problemleri kullanıldı. Assay ve tampon çözeltiler kullanım zamanına kadar -20°C'de saklandı. Kullanılan primerlerin dizileri Tablo 5.4.1. ve Tablo 5.4.2' de verilmiştir.

Tablo 5.4.1. CYP1A2 rs2069514 bölgesi kullanılan ileri-geri primerler

Kullanılan Primerler	
Genomik DNA Bölgesi	DNA dizisi (5'→3')
CYP1A2 rs2069514	5'-primer 3': 5'-GCTACACATGATCGAGCTATAC-3' (forward)
	3'-primer 5': 5'-CAGGTCTCTTCACTGTAAAGTTA-3' (reverse)

Tablo 5.4.2. CYP1A2 rs762551 bölgesi kullanılan ileri-geri primerler

Kullanılan Primerler	
Genomik DNA Bölgesi	DNA dizisi (5'→3')
CYP1A2 rs762551	5'-primer: 3': 5'-CAACCCTGCCAATCTCAAGCAC-3' (forward)
	3'-primer:5': 5'-AGAAGCTCTGTGGCCGAGAAGG-3' (reverse)

5.5.Yöntem

5.5.1. Kandan DNA İzolasyonu

Kandan DNA izolasyonu Invitrogen (USA) ile üretici firmanın protokolü doğrultusunda yapıldı.

Invitrogen Kandan DNA izolasyonu protokol aşamaları;

5.5.2. Ön Hazırlık

1. Su banyosu 55°C'ye getirildi.

5.5.3. Çalışma

1. Ependorf tüpe 200 µl kan alındı.
2. 20 µl Protein Kinaz (PK) eklendi.
3. 10 µl RNAz eklendikten sonra 2 dakika Vortex'te oda sıcaklığında bekletildi.
4. 200 µl Binding Buffer ekleyip karıştırılarak homojen hale getirildi.
5. 55°C'de 10 dakika inkübe edildi.
6. 200 µl etanol eklendikten sonra 5 saniye Vortex'te karıştırıldı.
7. Elde edilen karışım filtrelili tüpe alındı.
8. 10.000xg'de 1.15 saniye santrifüj yapılmıştır. Sonra başka yeni bir tüpe alındı.
9. 500 µl Wash Buffer-1 (TW) eklendi.
10. 10.000xg'de 1.15 saniye santrifüj yapıldı.
11. Yeni tüpe 500 µl Wash Buffer-2 (TW) ekleyip maksimum hızda 3 dakika santrifuj edilmiş ve yeni ependorfa alındı.
12. 80 µl Elution Buffer (AE) ilave edilip çevirildikten sonra 1 dakika inkübe edildi.
13. Örnek maksimum hızda 1 dakika santrifuj edilmiş ve DNA ependorf tüpe alındı.

5.6.Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time-PCR)

Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time-PCR), floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı bir çoğaltma yöntemidir. Diğer PCR yöntemlerine kıyasla sıcaklık döngüleri ve floresan okunmasının aynı cihazda olması nedeniyle daha pratik bir yöntem olarak bu çalışmada yararlanılmıştır.

Tablo 5.6.1’de gösterildiği gibi CYP1A2 rs2069514 ve rs762551 Allel bölgelerinin çoğaltılması için gerekli çözelti hazırlandı. Bu allel bölgeleri için, 20 µl’lik hacimde reaksiyon karışımı Tablo 5.6.1’de verilmiştir.

Tablo 5.6.1. CYP1A2 rs2069514 ve rs762551 Allelleri için kullanılan kimyasallar

Reaksiyon içeriği	Miktar (µl)
Distile Su	2
Master Mix	14
Kalıp DNA	4
Toplam	20

Her bir allel bölgesi için 1,5 ml’lik ependorf tüplerinde hazırlanan kimyasallar karıştırılarak, pipetlere eşit olarak dağıtıldı. Pipetlerin üzerine 4 µl kalıp DNA’lar eklendi. Real Time cihazına yerleştirilerek belirlenen program uygulandı. Program sonunda Real-Time PCR cihazında CYP1A2 rs2069514 ve rs762551 Allelleri sonuçlarının analizi yapıldı.

CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 allelleri için Real-Time PCR programı:

95 °C’de 300 sn	(Ön denatürasyon)	} 35 döngü
95 °C’de 10 sn	(Denatürasyon)	
60 °C’de 60 sn	(Okuma)	

5.7.Çalışma Grubu

Araştırmamızda yer alan sporcular Gelişim Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu ve İstanbul Üniversitesi, Spor Bilimleri Fakültelerinde öğrenim gören lisanslı ve aktif sporculardan oluşturuldu. Yaş aralığı 18-24 yaş olan 20 profesyonel atlet; 10 kadın (5 kısa mesafe koşucusu, 5 uzun mesafe koşucusu) ve 10 erkek (5 kısa mesafe koşucusu, 5 uzun mesafe koşucusu) olmak üzere sınıflandırıldı.

5.8.Bilgilendirilmiş Olur Formu

Araştırmamıza katılan bireylere, araştırmanın içeriği hakkında EK.1’de verilen “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği (BGOF)” ile kısaca bilgilendirme yapıldı. Sporcuların aileleri ve kendilerinin bilgileri dâhilinde yazılı onayları alındı. Çalışmaya katılan sporcularda gönüllülük olur formunu imzalamayan sporcular çalışmaya alınmadı.

5.9.Etik Kurul Onayı

Araştırmamız, İstanbul Medipol Üniversitesi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığının etik kurulu tarafından “10840098-604.1.01-E.6793” sayılı yazı ile onay alınarak yapılmıştır.

5.10. Laboratuvar

Araştırmanın analizi ve sonuçları, İstanbul Medipol Üniversitesi, Biyokimya Bölümü ile Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarları ve Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri- Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarlarında yürütülüp tamamlandı.

5.11. İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda kullanılan istatistiksel analizler SPSS (20.00, 2017) programı kullanarak yapıldı. Kısa ve uzun mesafe koşucuların genotiplerinin karşılaştırılmasında Ki-Kare (χ^2), Fisher’s Exact testi uygulandı. Kullanılan analizlerde anlamlılık sınırı $p<0,05$ olarak belirlendi.

6. BULGULAR

Distile su ve TaqMan Universal Master Mix ile birlikte izolasyonu yapılmış DNA örneği karışım haline getirilmiştir. Hazırlanan karışımda CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 polimorfizmleri, Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time-PCR) ile çoğaltılarak analiz edilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları, LightCycler Nano Software programında okunmuştur.

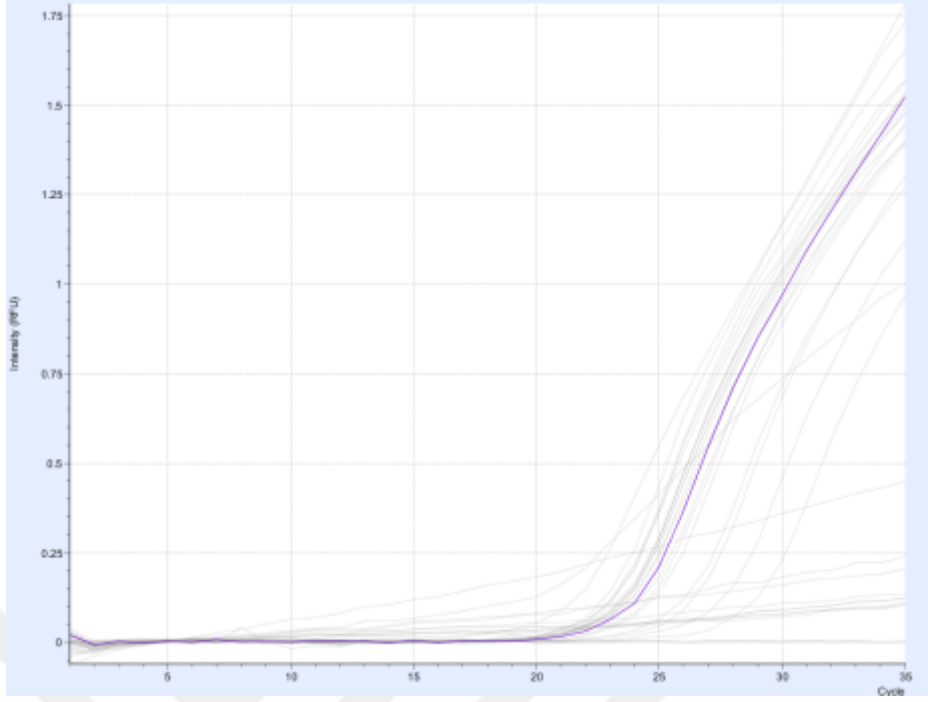
Sporcuların genotip dağılımlarının belirlenmesi için Termofisher TaqMan Universal Master Mix içerisindeki FAM ve HEX problemleri kullanılmıştır. Primerler bu problemlerle işaretlenerek Real Time-PCR cihazı içerisinde belirli dalga boylarında meydana gelen ışımalara göre sporcuların genotipi belirlenmiştir.

6.1.CYP1A2 Geni Rs2069514 ve Rs762551 Polimorfizmlerinin

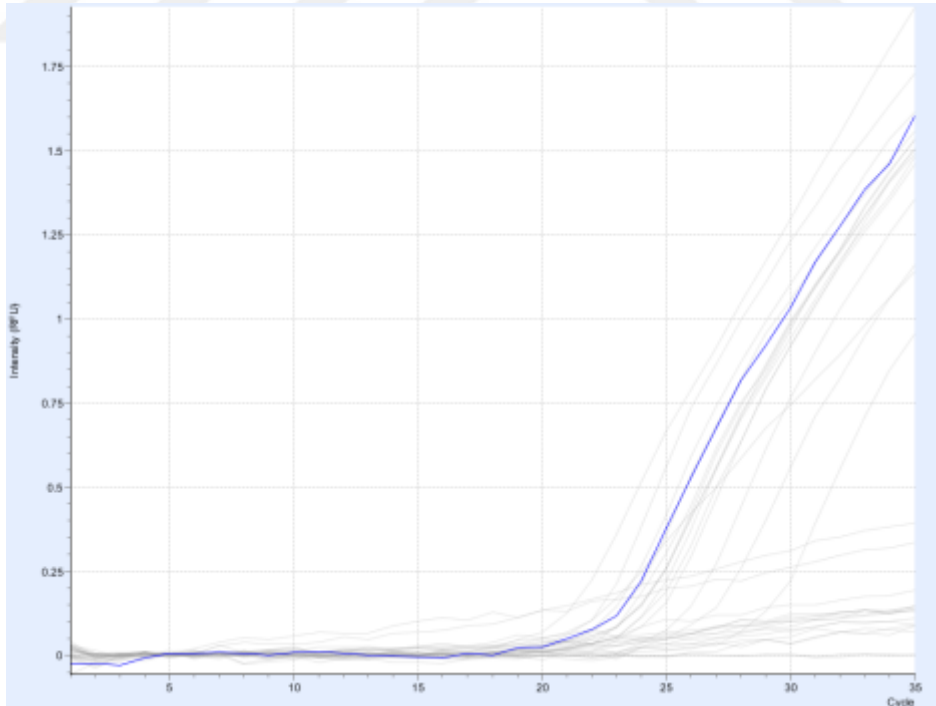
Genotiplemesinin Belirlenmesi

Real Time-PCR cihazından bilgisayar ortamına aktarılan bilgileri görüntüleyebilmek için her bir allel bölgesi için FAM ve HEX ışınması kullanılmıştır. Rs2069514 allel bölgesi için örnek bir FAM ışınması Şekil 6.1.1'de ve HEX ışınması Şekil 6.1.2'de gösterilmiştir. FAM ışınması (Allel 1) G allelini ve HEX ışınması (Allel 2) A allelini ifade etmektedir.

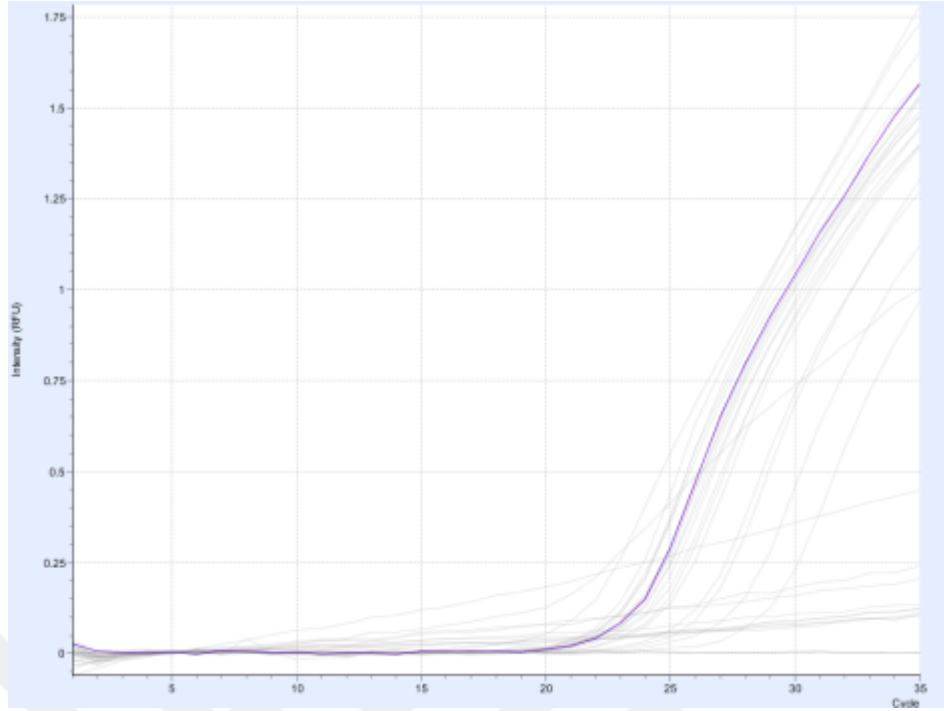
Rs762551 Allel bölgesinde ise; FAM ışınması Şekil 6.1.3'te ve HEX ışınması Şekil 6.1.4'de gösterilmiştir. FAM ışınması (Allel 1) C allelini (Şekil 6.1.3) ve HEX ışınması (Allel 2) A allelini (Şekil 6.1.4) ifade etmektedir. Yapılan ışımalara göre; sporcuların genotip dağılımları belirlenmiştir. Rs2069514 ve rs762551 polimorfizmlerinin kısa ve uzun mesafe koşucuları arasındaki ilişki SPSS 20 paket veri programı kullanılarak analiz edilmiştir.



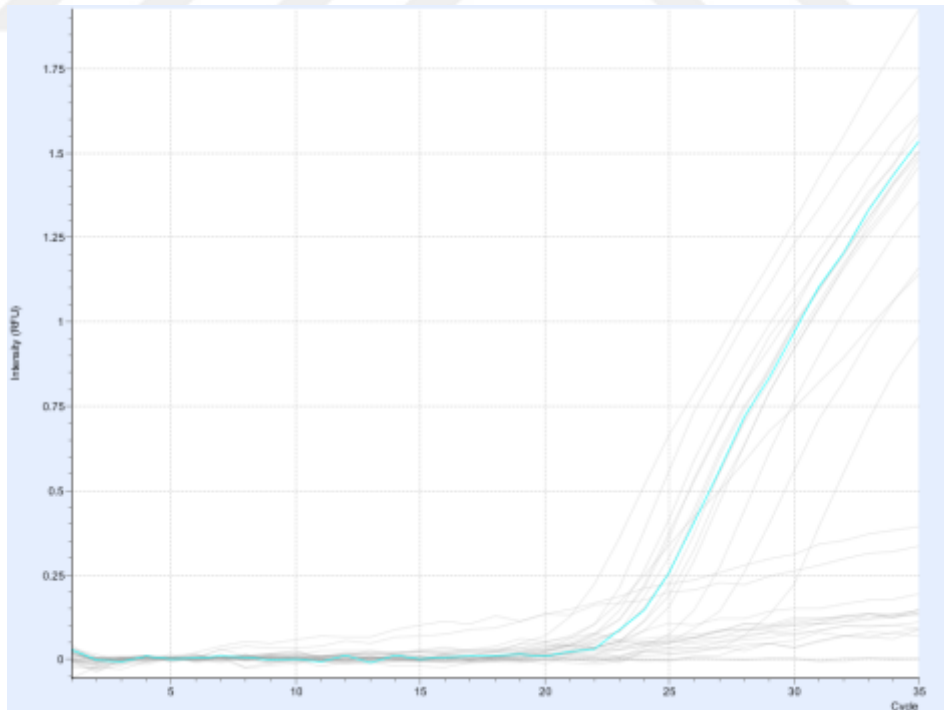
Şekil 6.1.1. Rs2069514 polimorfizmi “G” genotipinin FAM ışması ile belirlenmesi.



Şekil 6.1.2. Rs2069514 polimorfizmi “A” genotipinin HEX ışması ile belirlenmesi.



Şekil 6.1.3. Rs762551 polimorfizmi “C” genotipinin FAM ışması ile belirlenmesi.



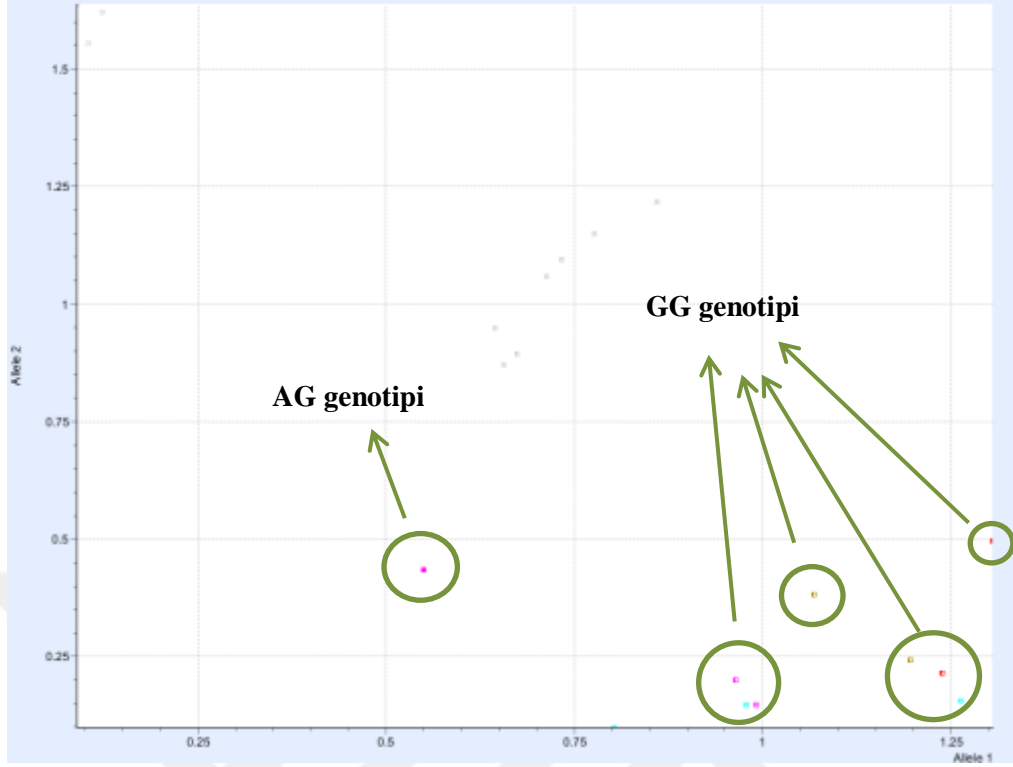
Şekil 6.1.4. Rs762551 polimorfizmi “A” genotipinin HEX ışması ile belirlenmesi.

6.2.CYP1A2 Geni Rs2069514 ve Rs762551 Polimorfizmlerinin Real Time-PCR Bulguları

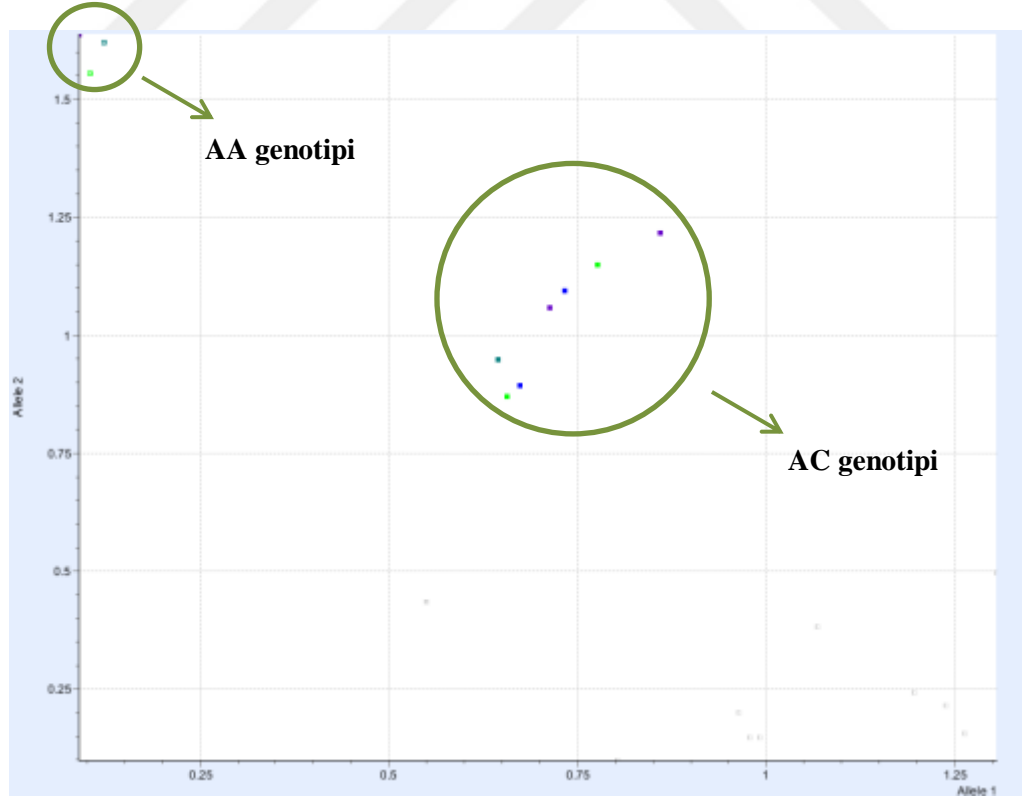
Çalışmamıza dahil edilen sporcuların CYP1A2 geni rs762551 ve rs2069514 tek nükleotid polimorfizmlerinin Real Time-PCR sonucu genotip dağılımı grafikleri verilmiştir. Kısa ve uzun mesafe koşucuları olmak üzere her bir polimorfizmin allel genotip dağılımları ayrı ayrı gösterilmektedir.

Grafikler ile verilen kısa mesafe koşucularının analiz sonucuna göre; rs2069514 polimorfizminde 1 birey AG genotipine sahipken, 9 birey GG genotipi dağılımını göstermiştir. Rs762551 polimorfizminde de 2 birey AA genotipi iken, geriye kalan 8 birey AC genotipine sahiptir.

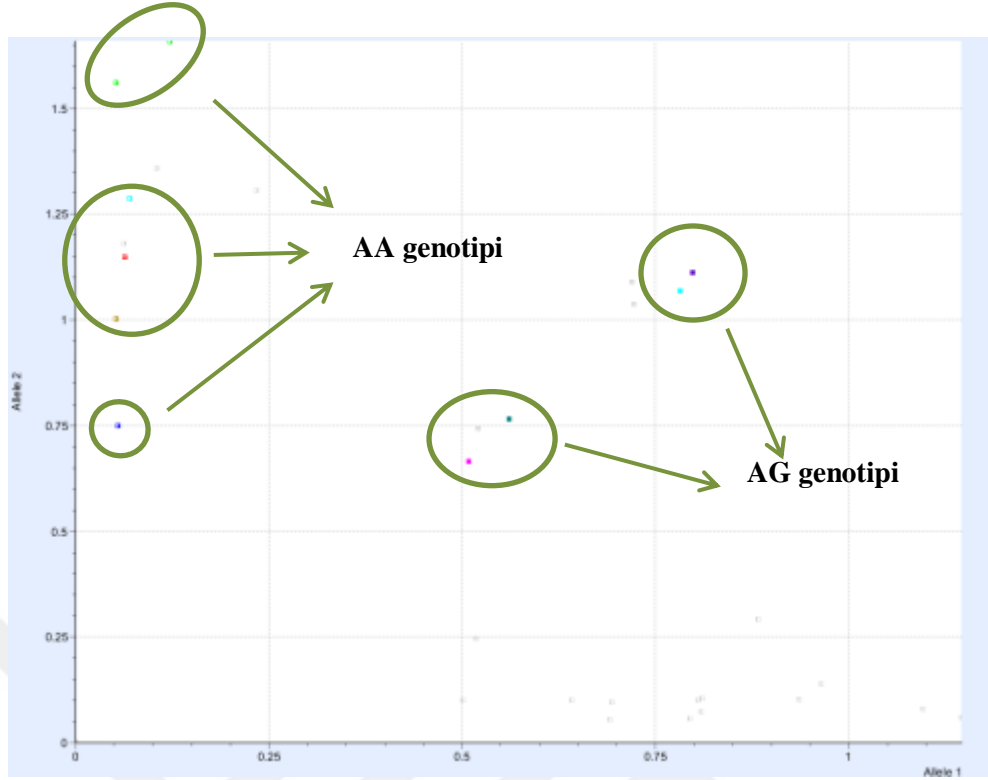
Uzun mesafe sporcularının analizi sonucuna göre, rs2069514 polimorfizminde 6 birey AA genotipi ışınmasını gösteriyorken; 4 birey her iki probdan da ışınma yaparak AG genotipini göstermiştir. Rs762551 polimorfizminde ise; 1 birey AA genotipi iken, geriye kalan 9 birey CC genotipini göstermiştir.



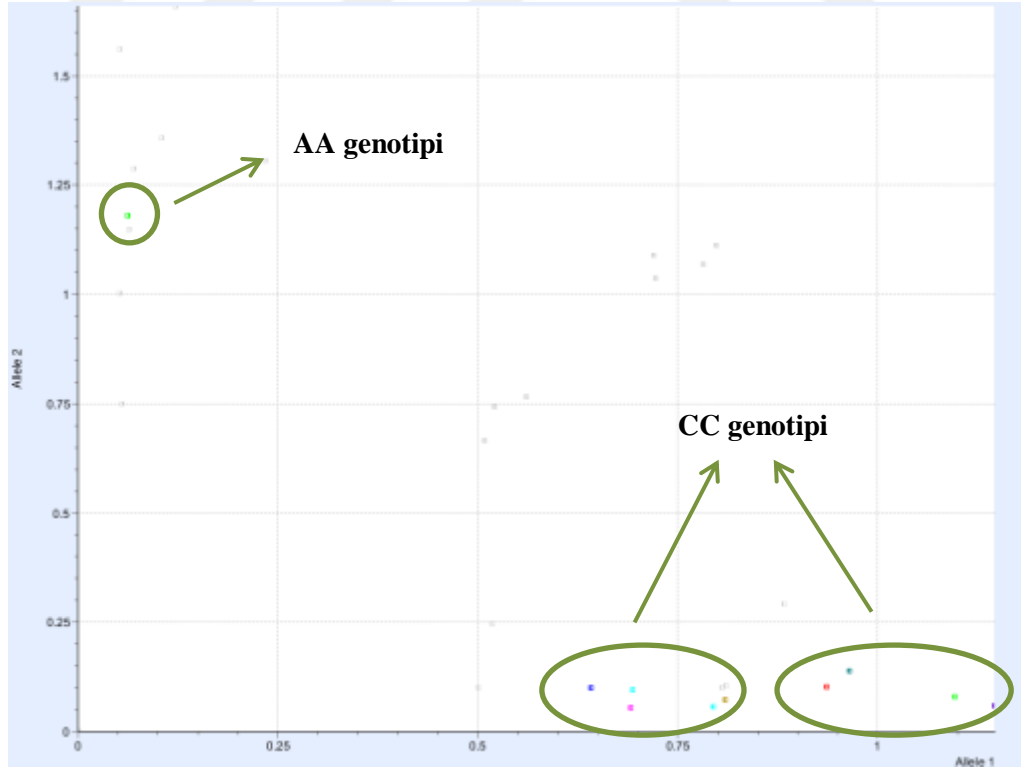
Şekil 6.2.1. Kısa mesafe koşucularında rs2069514 polimorfizmi genotip dağılımının Real Time-PCR ile gösterilmesi.



Şekil 6.2.2. Kısa mesafe koşucularında rs762551 polimorfizmi genotip dağılımının Real Time-PCR ile gösterilmesi.



Şekil 6.2.3. Uzun mesafe koşucularında rs2069514 polimorfizmi genotip dağılımının Real Time-PCR ile gösterilmesi.



Şekil 6.324. Uzun mesafe koşucularında rs762551 polimorfizmi genotip dağılımının Real Time-PCR ile gösterilmesi.

6.3.Sporcuların Genotip Dağılımları ve Allel Frekansları

Bu çalışmaya 18-24 yaş aralığında 20 atlet (10'u uzun ve 10'u kısa mesafe koşucusu) katılmıştır. Araştırmamızda yer alan 10 kısa mesafe koşucusundan rs2069514 allel bölgesinde, 9 kişi (%90, 5'i kadın, 4'ü erkek) GG genotipine sahipken; 1 kişi (%10, erkek) AG genotipi taşımaktadır. Kısa mesafe koşucularında ise rs762551 allel bölgesinde 3 kişi (%30, 1'i kadın, 2'si erkek) AA genotipine sahipken; 7 kişi (%70, 4'ü kadın, 3'ü erkek) AC genotipi taşımaktadır. Atletlerin allel frekanslarına bakıldığında, rs2069514 polimorfizminde A Alleli sayısı 1 (%5) ve G Alleli sayısı 19 (%95); rs762551 polimorfizminde ise A Allel sayısı 13 (%65) ve C Alleli sayısı 7 (%35) olarak saptanmıştır.

Tablo 6.3.1. CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 gen bölgesi kısa mesafe koşucuların genotiplemesi

Kısa mesafe koşucuları		Genotip			Allel Frekansı	
		AA	GG	AG	A	G
CYP1A2*1C (rs2069514)	Kadın (n=5)	-	5 (%100)	-	-	10 (%100)
	Erkek (n=5)	-	4 (%80)	1 (%20)	1 (%10)	9 (%90)
	Toplam (n=10)	-	9 (%90)	1 (%10)	1 (%5)	19 (%95)
		AA	CC	AC	A	C
CYP1A2*1F (rs762551)	Kadın (n=5)	1 (%20)	-	4 (%80)	6 (%60)	4 (%40)
	Erkek (n=5)	2 (%40)	-	3 (%60)	7 (%70)	3 (%30)
	Toplam (n=10)	3 (%30)	-	7 (%70)	13 (%65)	7 (%35)

Araştırmamızda diğer 10 uzun mesafe koşucusundan rs2069514 polimorfizminde, 6 kişi (4'ü kadın, 2'si erkek) AA genotipine sahipken; 4 kişi (1'i kadın, 3'ü erkek) AG genotipi taşımaktadır. Uzun mesafe koşucularından rs762551 allel bölgesinde ise 1 kişi (erkek) AA genotipine sahipken; 9 kişi (5'i kadın, 4'ü erkek) CC genotipi taşımaktadır. Atletlerin allel frekanslarına bakıldığında, rs2069514 allel bölgesinde A Allel sayısı 16 (%80) ve G Allel sayısı 4 (%20); rs762551 allel bölgesinde A Allel sayısı 2 (%10) ve C Allel sayısı 18 (%90) olarak saptanmıştır.

Tablo 6.3.2. CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 gen bölgesi uzun mesafe koşucuların genotiplemeesi

Uzun mesafe koşucuları		Genotip			Allel Frekansı	
		AA	GG	AG	A	G
CYP1A2*1C (rs2069514)	Kadın (n=5)	4 (%80)	-	1 (%20)	9 (%90)	1 (%10)
	Erkek (n=5)	2 (%40)	-	3 (%60)	7 (%70)	3 (%30)
	Toplam	6 (%60)	-	4 (%40)	16 (%80)	4 (%20)
CYP1A2*1F (rs762551)		AA	CC	AC	A	C
	Kadın (n=5)	-	5 (%100)	-	-	10 (%100)
	Erkek (n=5)	1 (%20)	4 (%80)	-	2 (%20)	8 (%80)
	Toplam	1 (%10)	9 (%90)	-	2 (%10)	18 (%90)

Genel olarak ele alındığında Tablo 6.3.3' de gösterildiği üzere 20 atlet üzerinde yapılan analiz çalışmasına göre, rs2069514 polimorfizminde sırasıyla AA, GG, AG genotipine sahip birey sayısı; 6, 9, 5'tir. Allel frekansları ise, A Allel sayısı 17 (%42,5) ve G Allel sayısı 23 (%57,5) olarak saptanmıştır. Rs762551 polimorfizminde sırasıyla AA, CC, AC genotipine sahip birey sayısı; 4, 9, 7'dir. Allel frekansları ise, A Allel sayısı 15 (%37,5) ve C Allel sayısı 25 (%62,5) olarak saptanmıştır.

Tablo 6.3.3. CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 polimorfizmlerinin atletlerdeki genel dağılımı

		Genotip			Allel Frekansı	
		AA	GG	AG	A	G
CYP1A2 rs2069514 (n=20)	n	6	9	5	17	23
	%	30	45	25	42,5	57,5
CYP1A2 rs762551 (n=20)		AA	CC	AC	A	C
	n	4	9	7	15	25
	%	20	45	35	37,5	62,5

Tablo 6.3.4'te çalışmamıza katılan her bir sporcunun ayrı ayrı 2 polimorfizm bölgesindeki genotip dağılımları gösterilmiştir. Her iki polimorfizmin etkileme durumuna bakıldığında sadece sporcuların 3'ünün kafeini hızlı metabolize ettiği tespit edilmiştir. Genel durumda ise; kafeini yavaş metabolize eden gen alleli çalışma grubumuzda daha fazla görülmüştür. Bir birey ise; hem yavaş hem de hızlı allel taşıyıcısıdır.

Tablo 6.3.4. Sporcuların CYP1A2 genotip, sporcu branşı ve kafeini metabolize etme hızları

Sporcu	rs2069514	rs762551	Branş	Kafeini metabolize etme hızı (rs2069514)	Kafeini metabolize etme hızı (rs762551)
1	GG	AA	Kısa mesafe	Normal	Hızlı
2	GG	AC	Kısa mesafe	Normal	Yavaş
3	GG	AC	Kısa mesafe	Normal	Yavaş
4	GG	AA	Kısa mesafe	Normal	Hızlı
5	AG	AC	Kısa mesafe	Yavaş	Normal
6	GG	AC	Kısa mesafe	Normal	Yavaş
7	GG	AC	Kısa mesafe	Normal	Yavaş
8	GG	AC	Kısa mesafe	Normal	Yavaş
9	GG	AC	Kısa mesafe	Normal	Yavaş
10	GG	AA	Kısa mesafe	Normal	Hızlı
11	AA	AA	Uzun mesafe	Yavaş	Hızlı
12	AG	CC	Uzun mesafe	Yavaş	Yavaş
13	AG	CC	Uzun mesafe	Yavaş	Yavaş
14	AG	CC	Uzun mesafe	Yavaş	Yavaş
15	AA	CC	Uzun mesafe	Yavaş	Yavaş
16	AA	CC	Uzun mesafe	Yavaş	Yavaş
17	AG	CC	Uzun mesafe	Yavaş	Yavaş
18	AA	CC	Uzun mesafe	Yavaş	Yavaş
19	AA	CC	Uzun mesafe	Yavaş	Yavaş
20	AA	CC	Uzun mesafe	Yavaş	Yavaş

CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 tek nükleotid polimorfizmlerinin genotip dağılımları açısından bransa göre Tablo 6.3.5’ de ve cinsiyete göre Tablo 6.2.6’da anlamlılık durumları verilmiştir. CYP1A2 geni rs762551 polimorfizminde C allel taşıyıcıları (AC + CC) ve rs2069514 allel bölgesinde de A allel taşıyıcıları (AG + AA) olarak birleştirilip analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; sadece rs2069514 polimorfizminde bransa göre anlamlı bir farklılık ($p < 0,05$) gözlemlenmiştir. Cinsiyete bağlı genotip dağılımları arasında her iki polimorfizmde de bir farklılık gözlemlenmemiştir. (rs762551 için $p = 0,582$ ve rs2069514 için $p = 1,000$)

Tablo 6.3.5. Kısa ve uzun mesafe koşucularının rs2069514 ve rs762551 polimorfizmlerindeki genotip dağılımları

Genotipler		Kısa mesafe (n=10)		Uzun mesafe (n=10)		Toplam (n=20)		P
		n	%	n	%	n	%	
CYP1A2 rs2069514	GG	9	45	-	-	9	45	0,000*
	AG+AA	1	5	10	50	11	55	
CYP1A2 rs762551	AA	3	15	1	5	4	20	0,582
	AC+CC	7	35	9	45	16	80	

$p < 0,05^*$

Tablo 6.3.6. CYP1A2 geni rs2069514 ve rs762551 polimorfizmlerinin cinsiyete göre dağılımları

Genotipler		Kadın (n=10)		Erkek (n=10)		Toplam (n=20)		P
		n	%	n	%	n	%	
CYP1A2 rs2069514	GG	5	25	4	20	9	45	0,582
	AG+AA	5	25	6	30	11	55	
CYP1A2 rs762551	AA	1	5	3	15	4	20	1,000
	AC+CC	9	45	7	35	16	80	

$p < 0,05^*$

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kafeinin, performans üzerine olumlu yönde bir etki gösterdiği bilinmektedir. Bunu adenosin reseptörlerini bloke ederek ve sinirsel uyarılabilirliği artırarak merkezi sinir sistemi yoluyla yapmaktadır (1, 25). Ancak adenosin reseptörleri kafein metabolitleri için kafeinden daha yüksek bir bağlanma afinitesine sahiptir (2).

Kafeinin, vücutta enerji verimliliğini artırarak enerji dengesini etkilediği ve enerji alımını düşürdüğü bulunmuştur. Ayrıca vücutta bazı enzim aktivitelerini de değiştirmesiyle glikojen yerine yağın kullanımına bağlı olarak yağ yıkımında da etkili olmaktadır. Bu nedenle kafein; termojenez, yağ oksidasyonu ve enerji alımı ile kilo vermeyi geliştirir (3, 14, 21, 63).

Kafein ile ilişkilendirilen CYP1A2 enzim aktivitesi, bireyler arasında cinsiyet, kişisel alışkanlıklar (örn., sigara içimi durumu ve diyet) ve genotip gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bunun sonucunda CYP1A2 geninin kafeini metabolize eden yavaş ve hızlı polimorfizmleri meydana gelmektedir. Bu gen bölgesi üzerinde rs762551 polimorfizminde, homozigot AA'ya sahip kişilerin muhtemelen yüksek CYP1A2 enzim aktivitesine sahip olduğu ve bu nedenle C alleli muadillerine göre daha hızlı kafein metabolitleri birikimi yaşayabilecekleri gösterilmiştir (36, 64). Genotiplendirmede, literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırma yapabilmek için AC ve CC genotipi olarak ayırmak yerine C allel taşıyıcıları şeklinde kullanılacaktır. Literatürde rs2069514 polimorfizminde GG genotipi normal dağılım gösterirken; A alleli taşıyıcıları bu genin varyantları olarak kabul edilmektedir. (<https://www.snpedia.com/index.php/Rs2069514> Erişim Tarihi: 08.09.2017)

Bu çalışmada amacımız; sporcular için ergojenik etkisi olduğu diğer çalışmalarca belirlenmiş, kafeini metabolize eden CYP1A2 gen polimorfizmlerinin (rs2069514 ve rs762551) Türk popülasyonundaki kısa ve uzun mesafe koşucularındaki dağılımlarının araştırılmasıdır. Kafeini yavaş ve hızlı metabolize ettiği düşünülen bu polimorfizmlerin örneklem grubundaki bransa ve cinsiyete bağlı farklılıkları analiz edilmiştir.

Bu çalışmada 10 kısa (5 kadın, 5 erkek) ve 10 uzun mesafe koşucusu (5 kadın, 5 erkek) olmak üzere 20 atletten alınan kan örneklerine DNA izolasyonu sonrası Real Time-PCR yöntemi uygulanmıştır. Sonuçlarda iki branşa ait çalışılan polimorfizmlerde genotiplerin Real Time-PCR görüntüsü alınmıştır.

Bu çalışmadan alınan sonuçlara göre; rs762551 allel bölgesinde 20 atletten 4'ü AA (%20), 9'u (%45) AC ve 7'si (%35) CC genotipine (C allel taşıyıcıları n=16, %80) sahiptir. Allel frekansları ise, A Allel sayısı 15 (%37.5) ve C Allel sayısı 25 (%62,5) olarak saptanmıştır. Bu durumda çalışma grubumuzda genel olarak C allel taşıyıcıları (n=16), AA genotipine (n=4) sahip bireylerden sayıca daha fazla görülmektedir.

Yapılan bu çalışmada yer alan diğer bir allel bölgesi rs2069514' de ise 20 atletten 6'sı AA (%30), 9'u GG (%45) ve 5'i AG (%25) genotipine sahiptir. Allel frekansları ise, A Allel sayısı 17 (%85) ve G Allel sayısı 23 (%15) olarak saptanmıştır. Rs2069514 polimorfizminde A alleli taşıyıcıları (n=11) normal dağılımı ifade eden GG genotipinden (n=9) sayıca daha fazla çıkmıştır.

CYP1A2 geninde araştırdığımız tek nükleotid polimorfizmlerinden sadece rs2069514 polimorfizminde branşa göre anlamlı bir farklılık ($p<0,05$) gözlemlenmiştir. Rs762551 allel bölgesinde ilginç bir şekilde kısa mesafe koşucularının 3'ü AA genotipi ve 7'si AC genotipine sahipken; uzun mesafe koşucularında 1'i AA genotipi ve 9'u CC genotipine sahiptir. Rs2069514 allel bölgesinde ise kısa mesafe koşucularının 1'i AG ve 9'u GG genotipine sahipken; uzun mesafe koşucularının 4'ü AG ve 6'sı AA genotipine sahiptir.

Her iki branşta da C allel taşıyıcıları yüksek bulunmuştur. Bu durum, çalışma grubumuzun rs762551 allel bölgesinde kafeini yavaş metabolize eden sporcuların sayıca daha fazla olduğunu göstermektedir. Rs2069514 allel bölgesinde, kısa mesafe koşucuları normal dağılım gösteriyorken, uzun mesafe koşucuları bu durumun aksine bu allel bölgesinin varyantlarını göstermektedir. Sporcuların iki allel bölgesinin durumuna bakıldığında; 3 bireyin kafeini hızlı metabolize ettiği ve bu bireylerin kısa mesafe koşucuları olduğu tespit edilmiştir. Diğer 17 bireyin yavaş veya yavaş-normal metabolizör olduğu tespit edilmiştir.

Rs762551 allel bölgesinde kadınlarda 1 birey AA genotipine sahipken; 9 birey C allel taşıyıcısıdır. CYP1A2 rs762551 ve rs2069514 polimorfizmlerinin ikisinde de cinsiyete göre anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir (rs762551 için $p=0,582$ ve rs2069514 için $p=1,000$).

Sachse ve ark. (4) tarafından CYP1A2 geni rs762551 allel bölgesinde 236 sağlıklı bireyle yapılan çalışmada, toplam örneklemin %46'sı homozigot A varyantı, %54'ü ise C allel taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Çalışmada CYP1A2 geninin yüksek indüklenbilirlik genotipini temsil edebilen AA genotipi, artmış CYP1A2 aktivitesinin doğrudan bir nedeni olabileceği gösterilmiştir. Çalışmamızla benzer bir şekilde C allel taşıyıcıları sayıca daha fazla çıkmıştır.

Djordjevic ve ark., (65) rs762551 allel bölgesinde yaptığı çalışmada Sırp popülasyonunun, %34'unun AA genotipi ve %66'sının C allel taşıyıcısı; İsveç popülasyonunun 46'sının (%40) AA genotipi ve 68'inin (%60) C allel taşıyıcısı olduğu gösterilmiştir. Araştırılan diğer polimorfizmler açısından tek yüksek enzim aktivitesiyle ilişkilendirilen rs762551 polimorfizmi, ağır kahve tüketimiyle CYP1A2 indüklenbilirliği üzerinde önemli bir artan etkiye sahip olduğu düşünülmüştür. Bu çalışmayla bizim verilerimiz karşılaştırıldığında Sırp ve İsveç popülasyonu ile verilerimiz benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmayla farklı bir şekilde rs2069514 polimorfizminde normal dağılım gösteren bireylerin sayıca daha fazla çıktığı Ghotbi ve ark. (66) çalışmasında; İsveç (n=147, %99) ve Kore (n=82, %55) popülasyonunda GG genotipine sahip bireylerin daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu veriler, çalışmamızdaki kısa mesafe koşucularının sonuçları ile benzerlik gösterirken; uzun mesafe koşucular ve genel gruba bakıldığında benzerlik göstermemektedir. Çok fark olmamakla birlikte, İsveç popülasyonunun rs762551 allel bölgesinde, C allel taşıyıcıları (%49) daha düşük bulunmuştur.

Türkiye popülasyonunda Altaylı ve ark. (67), CYP1A2 geni RS762551 polimorfizminin mesane kanseri ile ilişkisine bakıldığı bir çalışmada hastaların 110'unun (%80) C allel taşıyıcısı ve 27'sinin (%20) AA genotipi dağılımını gösterdiği belirlenmiştir.

Güneş ve ark (68) Türkiye'de 146 sağlıklı gönüllüde yaptığı çalışmada; rs762551 allel bölgesinde 19 kişinin (%13) AA genotipine sahip olduğu ve 127 kişinin (%87) C allel taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Rs2069514 allel bölgesinde ise; 2 kişi (%1,4) AA, 129 kişi (%88,4) GG ve 15 kişi (%10,2) AG genotipi göstermiştir.

Arıcı ve Özhan'ın (69) 160 sağlıklı birey (88 kadın, 72 erkek) ile yaptığı yeni bir çalışmaya göre; CYP1A2*1C (rs2069514) polimorfizminde bireylerin 10'u (%6,8) AA genotipi, 131'i (%89,8) GG genotipi ve 5'i (%3,4) AG genotipi göstermektedir. CYP1A2*1F (rs762551) polimorfizminde ise; bireylerin 21'i (%14) CC genotipine, 57'si (%38) AC genotipine ve 72'si (%48) AA genotipine sahiptir.

Türk popülasyonunda yapılan bu çalışmalarla (67, 68, 69), bizim elde ettiğimiz sonuçlar benzerlik göstermektedir. Bu durum, etnik kökenin veya bulunulan coğrafi konumun polimorfizmler üzerinde etkisi olduğu ve genetik yapılarımızın benzerlik gösterdiği bilgisini doğrulayacak niteliktedir. Ayrıca Arıcı ve Özhan'ın Türk popülasyonunda elde ettiği veriler ile Türkiye'nin, CYP1A2*1C (A alleli) için Güney Asya ve Kafkasya'ya, CYP1A2*1F (A alleli) için ise Doğu Asya'ya Avrupa'dan daha fazla benzediği düşünülmektedir (69).

Patacky ve ark. (36) rs762551 allel bölgesinde 38 rekreasyonel antrenmanlı kadın ve erkek bireyde yaptığı bir çalışmada; 21'inin (%55) AA genotipi ve 17'sinin (%45) ise C allel taşıyıcısı olduğu tespit edilmiştir. AC heterozigotlarının yapılan diğer araştırmalara kıyasla, AA homozigotlara göre kafein alımıyla daha fazla performans artışı elde edildiği gösterilmiştir.

Algrain ve ark. (37) tarafından 20 sigara içmeyen bisikletçide rs762551 allel bölgesinde yaptığı çalışmada ise; 11 birey (%55) AA genotipine sahipken; 9 birey (%45) C allel taşıyıcısıdır. Çalışma sonucunda, kafein tedavisi ile performans

artışının bu popülasyonda belirgin olmadığı ($p \geq 0.258$) ve kafeine ergojenik yanıtların genotip gruplarında farklı olmadığı gösterilmiştir ($p \geq 0.861$).

Thomas ve ark. (6) rs762551 allel bölgesinde yaptıkları araştırmada katılımcıların genotiplerini, 11'i (%55) AA homozigotu ve 9'u (%45) C allel taşıyıcıları olarak tanımlamıştır. Kafein alımına yanıt olarak egzersiz sonrası kalp hızı değişkenliği (HRV) üzerine bir CYP1A2*1F polimorfizmin, kafein alımının egzersiz sonrası HRV üzerindeki etkilerini açık bir şekilde etkilemediği görülmüştür.

Rs762551 allel bölgesinde bizim çalışmamızdaki sonuçlardan farklı olarak bu çalışmalarda (6, 36, 37) AA genotipine sahip birey sayısı C allel taşıyıcılarına göre daha fazladır ve bu çalışmalarla benzerlik ilişkisi kurulamamıştır. Bunun nedeninin; etnik köken veya çalışmalardaki bransa göre farklılık durumlarından söz edilebilmektedir.

Southward tarafından (11) rs762551 allel bölgesinde 16 rekreasyonel antrenmanlı atlete 10 km'lik bir koşu yaptırmışlar ve bu çalışma sonucunda kafeinin çalışma sürelerini önemli ölçüde iyileştirmediği gözlemlenmiştir. Çalışmada 14 birey (%87,5) AC heterozigot ve 2 birey (%12,5) AA homozigot çıkmıştır. Yapılan diğer çalışmalarca önerilen egzersizden 1 saat önce kafein alımına karşın; AC genotipli bireylerde 1,5-2 saat öncesinde alınan kafeinin dayanıklılık performansına daha faydalı olabileceği düşünülmüştür.

Salinero ve ark. (70), 21 sağlıklı aktif bireyde rs762551 polimorfizmine baktığı bir diğer çalışmada; 5'inin (%24) AA genotipi ve 16'sının (%76) C allel taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Kafein alımının, test sırasında pik gücü ve güç süresini artırmasına karşın; AA homozigotları ($n=5$) ile C ($n=16$) arasında hiçbir fark bulunmamıştır. CYP1A2 polimorfizminin genetik çeşitliliği, ergojenik etkileri ve orta doz bir kafeinin yutulmasından kaynaklanan dezavantajları etkilemediği gösterilmiştir.

Tenis yetenek testi sırasında kalp atım hızına bakan Klein (71), rs762551 allel bölgesinde, 7'sinde (%44) AA genotipi ve 9'unda (%56) C alleli olduğunu bulmuştur. AA homozigotlarında kafeinin daha büyük bir fizyolojik etkisi için ön

destek olabileceği, ancak tenis performansı üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı öne sürülmüştür. Diğer çalışmalarında; 18 kolej tenisçisini AA homozigot (n=7, %44) veya C alel taşıyıcı (n=9, %56) olarak sınıflandırılmışlardır (72).

Womack ve ark. (5) tarafından CYP1A2 rs762551 polimorfizminin kafein üzerine ergojenik etkisine baktığı 35 antrene erkek bisikletçide; 16'sını (%46) AA genotipi ve 19'unu (%54) C alel taşıyıcısı olarak gruplandırmıştır. Sonuçlara göre kafein alımını takiben bu polimorfizmin A alleli için homozigot olan bireylerin daha büyük bir ergojenik etkiye sahip olabileceği önerilmiştir.

Giersch (73), 20 erkek birey arasında rs762551 polimorfizminin etkisine iki adet 3km'lik bisiklet çalışması ile baktığı çalışmada; 8 bireyin (%40) AA genotipine sahip olduğu ve 12 bireyin (%60) ise C allelini taşıdığı gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, C alel taşıyıcılarının bir saat sonra AA homozigotlardan daha yüksek serum kafeini olduğunu ve bu da C alel taşıyıcılarının kafeini yavaş metabolize ettiği iddiasıyla uyumlu olduğunu iddia etmektedir.

Ryan ve ark. (64), rs762551 alel bölgesinde 10 birey (%50) AA genotipi ve 10 birey (%50) C alel taşıyıcısı olmak üzere 20 yeni bisikletçi üzerinde 3 aşamalı laboratuvar çalışması yapmış ve bu gen polimorfizminin akut egzersiz sırasında dolaşımdaki kafein konsantrasyonlarını etkilemediğini öne sürmüşlerdir.

Fitzgerald (75), rs762551 alel bölgesinde 12 sağlıklı erkek bireyle bir bisiklet ergometresi üzerinde artırılmış bir maksimal egzersiz testi gerçekleştirmiş ve C (n=6, %50) alleli taşıyıcılarının AA (n=6, %50) homozigotlarına kıyasla kafein araştırması sırasında Algılanan Egzersiz Ölçeği'nde (RPE) daha fazla düşüş sergilediği gösterilmiştir. Ayrıca AA homozigotlarının, kafein alımından sonra daha fazla kardiyovasküler iş yükü ve gelişmiş merkezi sinir sistemi eksitabilitesi nedeniyle RPE'de azalma yaşamadığı varsayılmaktadır.

Genel olarak literatür taramasından elde edilen sonuçlara göre C alel taşıyıcı birey sayısı daha fazladır (5, 71, 72, 73). Bununla birlikte çalışmamızda ele aldığımız spor branşlarıyla ilgili benzer çalışmalarla karşılaştırma imkanına çok sahip olamasa da genel olarak yapılan diğer çalışmalarla benzerlikler göstermektedir. Diğer yapılan

çalışmalarla dayanıklılık sporcularında rs762551 polimorfizmiyle ilgili veriler karşılaştırıldığında; bizim araştırma grubumuzda yer alan uzun mesafe koşucularının sonuçları Soutward ve ark. (11) atletlerle yaptığı çalışmadan elde edilen genotip verileriyle ve Salinero ve ark. (70) sonuçlarıyla güçlü bir benzerlik göstermektedir.

Bir futbolcu simülasyon protokolü süresince sprint performansı ve kafein metabolitlerinin üzerine CYP1A2 rs762551 polimorfizminin etkisini araştıran çalışmaya göre; katılan 10 iyi antrene olmuş futbol oyuncusundan 5'i (%50) AA homozigotu ve 5'i (%50) C allel taşıyıcısıdır. Çalışmadan 60 dk öncesinde verilen 3 mg/kg kafeinin sprint performansını geliştirdiği ancak genotipin bu durumu etkilemediği bulunmuştur. Sprint performansı ile ilişkilendirilen kısa mesafe koşucularıyla Kingsley ve ark. (76) rs762551 polimorfizmiyle ilgili verileri karşılaştırıldığında; AA genotipi ile C allel taşıyıcılarının dağılım yüzdeleri arasında benzerlik ilişkisi kurulamamıştır. Futbolcularda yapıldığı ve bu sporun dayanıklılık gerektirdiği için karşılaştırma yapılması çok sağlıklı değildir.

Atletlerle ilgili çok fazla çalışmaya rastlanmadığı için karşılaştırma yapıldığında sağlıklı sonuçlar elde edilememiştir. Özellikle rs2069514 allel bölgesiyle ilgili daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Henüz yayınlanmayan bir çalışmada kolej mesafe koşucularında CYP1A2 geni rs762551 polimorfizminin, kafein tüketim alışkanlığını ve performansı etkileme durumuna bakılmaktadır (77).

CYP1A2 gibi genlere bakılarak, kafeinin sporcularda ergojenik etkisi üzerinde çalışmalar yapılmış olup bunun ne derecede olduğu anlaşılamamıştır. Ancak yapılan bir çalışmada ağızda çalkalamanın, daha avantajlı olduğu ve kafeinin ergojenik etkisinin hepatic klirensten etkilenmeyerek genetik dezavantajları önleyebileceği gösterilmiştir (36).

Kafein takviyesi, sporcuların performansını daha uzun süre sürdürmesi açısından önem taşımaktadır. Kafeinin performansını artırıcı etkileri dışında bazı olumsuz özellikleri de bulunduğuna dair çalışmalar yapılmıştır. Sindirim sekresyonlarını arttırarak, mide rahatsızlığına neden olabilir ve bu nedenle performansı engelleyebilir. Diüretik bir ajan olması neddeniyle fazla idrara çıkışı teşvik ederek, dehidrasyona yol açabilir. Aşırı idrara çıkmaya bağlı olarak, iyi bir performans için gerekli vitamin ve minerallerin kaybına neden olabilir. (1, 78).

Hidrasyonun sporcunun bilişsel ve fiziksel performansı için önemli olduğu bilinmektedir. Kafeinin en fazla dayanıklılık sporcularında ergojenik etkiye sahip olduğu ve kas dayanıklılığını olumlu yönde etkilediği yönünde çalışmalar yapılmıştır (11, 27). Bu bilgiye dayanarak özellikle dayanıklılık sporlarında, sporculara verilen fazla doz kafein takviyesinin vücutta su kaybıyla birlikte performans düşüşüne ve dehidratasyona neden olabileceği düşünülmektedir.

Kafein, vücutta yakıt olarak yağları kullanmaya teşvik ederek glikojenin tükenmesini geciktirmesi ile birlikte vücudun yağ yakma verimini artırır ve buna bağlı olarak glikojen tüketimini azaltmaktadır (11, 34). Vücutta insulin, anabolik etkisiyle birlikte yağ depolamaya yönelik çalışmaktadır. Kafein ile birlikte karbonhidrat alımı, vücutta lipolitik aktiviteye karşı olarak insülin salınımıyla beraber rekabet oluşturabileceği düşünülmektedir. Ancak yapılan bir çalışmada antrenman sonrası karbonhidrat ile birlikte kafein tüketiminin, sadece karbonhidrat tüketimine karşın egzersiz sonrası kas glikojen depolarının yenilenmesindeki olumlu etkiler göstermiştir. Bununla birlikte bir sonraki yüksek yoğunluklu aralıklı çalışma kapasitesini geliştirdiği ortaya konulmuştur (32). Buradan anlaşılacağı üzere kafeinin öğünlerde alımında, yanında tüketilen besin öğelerinin kompozisyonunun da önemli olduğu vurgulanmaktadır. Amaca yönelik olarak sporcularda kafein kullanımı hem doz hem de birlikte tüketilen öğün kompozisyonu ayarlanmalıdır.

Kafein tüketiminin egzersiz performansı üzerindeki olumlu etkisine rağmen, bireyler arasında genetiğe bağlı büyük farklılıklar gösterilebilmektedir. Bu nedenle genetik, bir kişinin egzersiz sırasında kafein takviyesi yanıtlarında önemli bir rol oynamaktadır (11, 34). Bu çalışmadan çıkan sonuçlara göre, uzun mesafe koşucularında, kafeini yavaş metabolize eden polimorfizmlerin görülmesi, yüksek

dozda kafein alımının anlamlı olmadığını ve kafein alım zamanının antrenmandan çok daha önce olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışma sonucunda, kısa mesafe koşucularında genel olarak yavaş kafein metabolizörleri daha fazla görülmüştür. Sporcuların antrenman yaşlarının ne olduğu bilinmediği için çok fazla yorum yapılamamaktadır. Kısa mesafe koşucularında enerjinin büyük çoğunluğunun kreatin fosfat ve anaerobik solunumdan gelmesi nedeniyle çok fazla yağ asitlerinin yıkımı söz konusu değildir. Ancak reaksiyon zamanının önemli olduğu bu branşta kafeinle birlikte adrenalin salınımının artması performansta artışa neden olmaktadır. IOC tarafından idrarda 12 µg/ml' den fazla kafein görülmesi durumunda sporcular yarışmadan men edilmektedir. Ayrıca düşük-orta dozlarda (3-6 mg.kg⁻¹) susuz kafein desteğinin, antrenmanlı atletlerde spor performansını arttırdığını, ancak daha yüksek dozlarda alındığında ek faydalar görülmediğini belirtmiştir (≥ 9 mg.kg⁻¹) (25). Bu durumda kafeini vücutta metabolize etme hızı önem arz etmektedir. Burada doz miktarının hangi üst sınırlarda olabileceği ile ilgili daha fazla genetik bazlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sporcuların koşu mesafe derecelerinin tam olarak bilinmemesi, birey sayısının azlığı ve CYP1A2 gen bölgesi üzerindeki kafein metabolizmasıyla ilgili olabilecek farklı mutasyon ve polimorfizmlerin ölçülememesi bu çalışmayı sınırlandıran durumlardır. Ayrıca sporcuların kafein tüketim alışkanlıklarına dair veriler alınmadığı ve sporculara kafein verilemediği için genotip durumlarıyla karşılaştırma yapılamamıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; Türk popülasyonunda yapılan diğer çalışmalar ile araştırmamız genel genotip dağılımı açısından benzerlik göstermektedir.

Bu araştırma, CYP1A2 geni ve kafein ilişkisinin Türk sporcularında çalışıldığı ve kafeini metabolize eden 2 polimorfizmin kısa ve uzun mesafe koşucularında ayrı ayrı bakıldığı ilk çalışmadır. Böylelikle çalışmamızın genetik bilgi havuzuna katkıda bulunacak ve bu alanda yapılan diğer çalışmalara destek olacaktır. Ayrıca sporcularda kafein kullanımına ilişkin araştırmalara ışık tutacağı düşünülmüştür.

8. KAYNAKLAR

1. Weinberg BA, Bealer BK. The world of caffeine: the science and culture of the world's most popular drug. Psychology Press, p.2-179, 2001.
2. Walton C, Kalmar J, Cafarelli E. Caffeine increases spinal excitability in humans. *Muscle & Nerve*, 28(3), 359-364, 2003.
3. Rush JW, Spriet LL. Skeletal muscle glycogen phosphorylase kinetics: effects of adenine nucleotides and caffeine. *J Appl Physiol*, 91(5), p.2071-2078, 2001.
4. Sachse C, Brockmüller J, Bauer S, Roots I. Functional significance of a C→A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine *British journal of clinical pharmacology*, Wiley Online Library, 47, 445-449, 1999.
5. Womack CJ, Saunders MJ, Bechtel MK, Bolton DJ, Martin M, Luden ND, Dunham W, Hancock M. The influence of a CYP1A2 polymorphism on the ergogenic effects of caffeine. *J Int Soc Sport Nutr*. 9(1)-7, 2012.
6. Thomas RM, Algrain HA, Ryan EJ, Popojas A, Carrigan P, Abdulrahman A, Carrillo AE. Influence of a CYP1A2 polymorphism on post-exercise heart rate variability in response to caffeine intake: a double-blind, placebo-controlled trial. *Irish J Med Sci*. 186(2), p.285-291, 2017.
7. Bozkaya ÖG. Klinisyenler İçin Mutasyon ve Polimorfizm. *Türkiye Klinikleri J Pediatr*, 18(2), 47-53, 2009.
8. Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ. Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Med J*. 21(3), 282-295, 2008.
9. Ashihara H, Kato M, Crozier A. Distribution, biosynthesis and catabolism of methylxanthines in plants p. 11-31. In: Fredholm BB, editör. *Methylxanthines*. Stockholm. Springer Berlin Heidelberg, 2011.
10. Rivers WHR, Webber HN. The action of caffeine on the capacity for muscular work. *J. Physiol*. 36(1) 33-47, 1907.
11. Southward K. Effect of caffeine ingestion on aspects of endurance performance and cognition in CYP1A2 heterozygous A/C male recreational athletes. Massey University, Master Thesis of Science in Sport and Exercise Science, New Zealand, 2016.

12. Safranow K, Machoy Z. Methylated purines in urinary stones. *Clinical Chem* 51(8), 1493–8, 2005.
13. Heckman MA, Weil J, Mejia D, Gonzalez E. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *J Food Sci.* 75(3), 2010.
14. Dulloo AG, Seydoux J, Girardier L. Potentiation of the thermogenic antiobesity effects of ephedrine by dietary methylxanthines: adenosine antagonism or phosphodiesterase inhibition. *Metabolism*, 41(11), 1233-1241, 1992.
15. De Mejia, EG. Ramirez-Mares MV. Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends Endocrin Met.* 25, 489-492, 2014.
16. Spriet LL. Caffeine and exercise performance p. 313-323. In: Maughan RJ, editor. *The Encyclopaedia of Sports Medicine. An IOC Medical Commission Publication.* New Delhi, Volume 19, 2014.
17. McCall AL, Millington WR, Wurtman RJ. Blood-brain barrier transport of caffeine: dose-related restriction of adenine transport. *Life Sci.* 31(24);2709-2715, 1982.
18. Gelber RP, Petrovitch H, Masaki KH, Ross GW, White LR. Coffee intake in midlife and risk of dementia and its neuropathologic correlates. *J Alzheimers Dis.* 23(4):607-15, 2011.
19. Temple JL, Bernard C, Lipshultz SE, Czachor JD, Westphal JA, Mestre MA. The Safety of Ingested Caffeine: A Comprehensive Review. *Front Psychiatry.* (8), 2017.
20. Leathwood PD, Pollet P. Diet-induced mood changes in normal populations. *J Psychiatr Res.* 17(2):147-5, 1982.
21. Harpaz E, Tamir S, Weinstein A, Weinstein Y. The effect of caffeine on energy balance. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 28(1), 1-10, 2017.
22. James J. Critical review of dietary caffeine and blood pressure: a relationship that should be taken more seriously. *Psychosom Med.* 66(1):63-71, 2004.
23. Fredholm BB, Bättig K, Holmén J, Nehlig A, Zwartau EE. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Rev.* 51(1);83-13, 1999.

24. Nawrot P, Jordan S, Eastwood J, Rotstein J, Hugenholtz A, Feeley M. Effects of caffeine on human health. *Food Addit Contam.* 20(1):1-30, 2003.
25. Goldstein ER, Ziegenfuss T, Kalman D, et al. International Society of Sports Nutrition position stand: caffeine and performance. *Int J Sport Nutr.* 7(1);5, 2010.
26. WADA: WADA- World Anti Doping Agency, 2018.
27. Da Silva VL, Messias FR, Zanchi NE, Gerlinger-Romero F, Duncan MJ, Guimarães-Ferreira L. Effects of acute caffeine ingestion on resistance training performance and perceptual responses during repeated sets to failure. *J Sports Med Phys Fitness.* 55(5), 383-389, 2015.
28. Pesta DH, Angadi SS, Burtcher M, Roberts CK. The effects of caffeine, nicotine, ethanol, and tetrahydrocannabinol on exercise performance. *Nutr Metab.* 10(1);71, 2013.
29. Biaggioni ITALO, Paul SUBI, Puckett ANDR, Arzubiaga CARM. Caffeine and theophylline as adenosine receptor antagonists in humans. *J Pharmacol Exp Ther.* 258(2), 588-593, 1991.
30. Spriet LL, MacLean DA, Dyck DJ, Hultman E, Cederblad G, Graham TE. Caffeine ingestion and muscle metabolism during prolonged exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 262(6);891-898, 1992.
31. Umemura T, Ueda K, Nishioka K, Hidaka T, Takemoto H, Nakamura S, Yoshizumi M. Effects of acute administration of caffeine on vascular function. *Am J Cardiol.* 98(11), 1538-1541, 2006.
32. Taylor C, Higham D, Close GL, Morton JP. The effect of adding caffeine to postexercise carbohydrate feeding on subsequent high-intensity interval-running capacity compared with carbohydrate alone. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 21(5);410-416, 2011.
33. Endo M. Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. *Am Physiological Soc.* 57(1);71-108, 1977.
34. Pickering C, Kiely J. Are the Current Guidelines on Caffeine Use in Sport Optimal for Everyone? Inter-individual Variation in Caffeine Ergogenicity, and a Move Towards Personalised Sports Nutrition. *Sports Med.* 1-10, 2017.

35. Ganio MS, Klau JF, Casa DJ, Armstrong LE, Maresh CM. Effect of caffeine on sport-specific endurance performance: a systematic review. *J Strength Cond Res*, 23(1);315-324, 2009.
36. Pataky MW. The Influence of the CYP1A2 Polymorphism on the Effect of Caffeine Ingestion and Mouth Rinsing on 3KM Cycling Performance. James Madison University, Master Thesis, Department of Kinesiology. Virginia, 2015.
37. Algrain HA, Thomas RM, Carrillo AE, Ryan EJ, Kim CH, Lettan RB, Ryan EJ. The Effects of a Polymorphism in the Cytochrome P450 CYP1A2 Gene on Performance Enhancement with Caffeine in Recreational Cyclists. *J Caffeine Res*. 6(1);34-39, 2016.
38. El-Soheily A, Cornelis MC, Kabagambe EK, Campos H. Coffee, CYP1A2 genotype and risk of myocardial infarction. *Genes Nutr*. 2(1);155-156, 2007.
39. Palatini P, Ceolotto G, Ragazzo F, Dorigatti F, Saladini F, Papparella I, Santonastaso M. CYP1A2 genotype modifies the association between coffee intake and the risk of hypertension. *J Hypertens*. 27(8), 1594-1601, 2009.
40. Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, Gunsalus IC. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenet Genomics*. 6(1);1-42, 1996.
41. Poulos TL, Johnson EF. Structures of Cytochrome P450 Enzymes p.87-111. In: Ortiz de Montellano PR, editor. *Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry*. Springer Science & Business Media, San Francisco, 2005.
42. Özerol E. Sitokrom P450 Monooksijenaz Enzim Sistemleri. *J Turgut Ozal Med Cent*. 3(3);257-275, 1996.
43. Nebert DW, Adesnik M, Coon MJ, Estabrook RW, Gonzalez FJ, Guengerich FP et al. The P450 gene superfamily: recommended nomenclature. *Dna*. 6(1);1-11, 1987.
44. Van der Weide J, Steijns LS. Cytochrome P450 enzyme system: genetic polymorphisms and impact on clinical pharmacology. *Ann Clin Biochem*. 36(6);722-729, 1999.

45. Wijnen P, Op Den Buijsch R, Drent M, Kuipers P, Neef C, Bast A, Bekers O, Koek G. Review article: the prevalence and clinical relevance of cytochrome P450 polymorphisms. *Aliment Pharmacol Ther.* 26(2);211-219, 2007.
46. Gonzalez FJ, Idle JR. Pharmacogenetic phenotyping and genotyping- present status and future potential. *Clin Pharmacokinet.* 26(1);59-70, 1994.
47. Zhou Y, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM. Worldwide distribution of cytochrome P450 alleles: A meta-analysis of population-scale sequencing projects. *Clin Pharmacol Ther.* 2017.
48. Thorn CF, Aklillu E, McDonagh EM, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: caffeine pathway. *Pharmacogenet Genomics.* 22(5);389, 2012.
49. Gunes A, Dahl ML. Variation in CYP1A2 activity and its clinical implications: influence of environmental factors and genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics.* 9(5);625-637, 2008.
50. Sansen S, Yano JK, Reynald RL, Schoch GA, Griffin KJ, Stout CD, Johnson EF. Adaptations for the oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons exhibited by the structure of human P450 1A2. *J Biol Chem.* 282(19);14348-14355, 2007.
51. Wang H, Zhang Z, Han S, Lu Y, Feng F, Yuan J. CYP1A2 rs762551 polymorphism contributes to cancer susceptibility: a meta-analysis from 19 case-control studies. *BMC cancer, BioMed Central.* 12(1);528, 2012.
52. Ueda R, Iketaki H, Nagata K, Kimura S, Gonzalez FJ, Kusano K, Yoshimura T, Yamazoe Y. A common regulatory region functions bidirectionally in transcriptional activation of the human CYP1A1 and CYP1A2 genes. *Mol Pharmacol.* 69(6);1924-1930, 2006.
53. Zhang ZY, Kaminsky LS. Characterization of human cytochromes P450 involved in theophylline 8-hydroxylation. *Biochem Pharmacol.* 50(2);205-211, 1995.
54. Schweikl H, Taylor JA, Kitareewan S, Linko P, Nagorney D, Goldstein JA. Expression of CYP1A1 and CYP1A2 genes in human liver. *Pharmacogenet Genomics.* 3(5);239-249, 1993.
55. Kalow W, Tang BK. Use of caffeine metabolite ratios to explore CYP1A2 and xanthine oxidase activities. *Clin Pharmacol Ther.* 50(5-1);508-519, 1991.

56. Lane JD, Steege JF, Rupp SL, Kuhn CM. Menstrual cycle effects on caffeine elimination in the human female. *Eur J Clin Pharmacol.* 43(5);543-546, 1992.
57. Faber MS, Jetter A, Fuhr U. Assessment of CYP1A2 activity in clinical practice: why, how, and when?. *Basic & clinical pharmacology & toxicology,* 97(3), 125-134, 2005.
58. Gündüz N. Antrenman Bilgisi, 1. Baskı. Saray Medikal Yayıncılık San. ve Tic. Ltd. Şti. Saray Tıp Kitapevi. İzmir, 1995.
59. Thompson MA. Physiological and biomechanical mechanisms of distance specific human running performance. *Integr Comp Biol.* 57(2);293-300, 2017.
60. Noakes T. Physiological capacity of the elite runner p.19-49. In: Larsen HB, Bangsbo J, editors. *Running & Science: In an Interdisciplinary Perspective.* University of Copenhagen, 2000.
61. Saunders PU, Pyne DB, Telford RD, Hawley JA. Factors affecting running economy in trained distance runners. *Sport Med.* 34(7);465-485, 2004.
62. Bushnell TD. A biomechanical analysis of sprinters vs. distance runners at equal and maximal speeds. Brigham Young University. Department of Exercise Sciences, Master Thesis p.5-18. Provo, 2004.
63. Moustafa F, Feldman SR. A review of phosphodiesterase-inhibition and the potential role for phosphodiesterase 4-inhibitors in clinical dermatology. *Dermatol Online J.* 20(5), 2014.
64. Daly JW, Butts-Lamb P, Padgett W. Subclasses of adenosine receptors in the central nervous system: interaction with caffeine and related methylxanthines. *Cell. Mol. Neurobiol.* 3(1), 69-80, 1983.
65. Djordjevic N, Ghotbi R, Jankovic S, Aklillu E. Induction of CYP1A2 by heavy coffee consumption is associated with the CYP1A2-163C> A polymorphism. *Eur J Clin Pharmacol.* 66(7);697-703, 2010.
66. Ghotbi R, Christensen M, Roh HK, Ingelman-Sundberg M, Aklillu E, Bertilsson L. Comparisons of CYP1A2 genetic polymorphisms, enzyme activity and the genotype-phenotype relationship in Swedes and Koreans. *Eur J Clin Pharmacol.* 63(6);537-546, 2007.

67. Altayli E, Gunes S, Yilmaz AF, Goktas S, Bek Y. CYP1A2, CYP2D6, GSTM1, GSTP1, and GSTT1 gene polymorphisms in patients with bladder cancer in a Turkish population. *Int. Urol. Nephrol.* 41;259–266, 2009.
68. Gunes A, Ozbey G, Vural EH, Uluoglu C, Scordo MG, Zengil H, Dahl ML. Influence of genetic polymorphisms, smoking, gender and age on CYP1A2 activity in a Turkish population *Pharmacogenomics, Future Medicine.* 10(5), 769-778, 2009.
69. Arici M, Ozhan G. The genetic profiles of CYP1A1, CYP1A2 and CYP2E1 enzymes as susceptibility factor in xenobiotic toxicity in Turkish population. *Saudi Pharm. J.* 25(2);294-297, 2017.
70. Salinero JJ, Lara B, Ruiz-Vicente D, Areces F, Puente-Torres C, Gallo-Salazar C, Del Coso J. CYP1A2 Genotype Variations Do Not Modify the Benefits and Drawbacks of Caffeine during Exercise: A Pilot Study. *Nutrients.* 9(3);269, 2017.
71. Klein CS, Clawson A, Martin M, Saunders MJ, Flohr JA, Bechtel MK, Womack CJ. The effect of caffeine on performance in collegiate tennis players. *J Caffeine Res.* 2(3);111-116, 2012.
72. Klein C. The Efficacy of Caffeine Supplementation in Collegiate Tennis Players and the Magnitude of Improvement in Tennis Skill Mediated by Caffeine Influenced by a Polymorphism of the CYP1A2 Gene. James Madison University, Kinesiology, Master Thesis. Virginia, 2010.
73. Giersch GE. The Effect of the CYP1A2-163 C>A Polymorphism on the Metabolism of Caffeine and Effect on Performance. James Madison University, Kinesiology, Master Thesis. Virginia, 2016.
74. Ryan EJ, AlGrain HA, Thomas RM, Carrillo AE. The Effects of a Polymorphism in the CYP1A2 Gene on Serum Caffeine Concentrations during Exercise. In *International Journal of Exercise Science: Conference Proceedings.* 9(3) p.78, 2015.
75. Fitzgerald L. The effect of CYP1A2 gene variants and caffeine on ratings of perceived exertion. Ball State University, Master Thesis. Muncie, 2014.

76. Kingsley M, Devlin B, Belski R, Leveritt M, Chan CK. CYP1A2 polymorphism does not modulate caffeine's effects on sprint performance or its metabolites during a soccer match simulation. *J Sci Med Sport*. 20, e10, 2017.
77. Ye JJ, Nagy EE, Millard JT. The Influence of CYP1A2 Genotype on Caffeine Consumption Habits and Athletic Performance Enhancement in Collegiate Distance Runners. *The FASEB Journal*, 31(1 Supplement), 1b738-1b738, 2017.
78. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance*. p.557-561, 7th ed. Lippincott Williams & Wilkin, 2010.



9. EKLER

EK.1: Genetik Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Türk profesyonel uzun ve kısa mesafe koşucularında genetik (kalıtsal) faktörlerin kafein metabolizmasına etkisini analiz etmek üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Profesyonel Sporcularda Kafein Metabolizması İle İlişkili CYP1A2 rs2069514 ve rs762551 Allel Dağılımlarının Belirlenmesi” dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni sizin başarılı bir sporcu olmanızdır. İstanbul Medipol Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı’nda bu durumun nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir. Kendinizde bir şikayet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Çalışmamıza önceki araştırmalar için alınan 10 uzun mesafe, 10 kısa mesafe koşucusu olmak üzere 20 profesyonel atletin DNA örnekleri kullanılacaktır.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Prof. Dr. Nesrin Emekli, Doç. Dr. Korkut Ulucan ve ekibi tarafından ilgili analizler yapılacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için sizden normal biyokimyasal analizler için alınacak olan kandan 1 cc. kadar almamız gerekmektedir. Bu kandan moleküler biyoloji

laboratuvarımızda genetik materyal, DNA elde edilecek ve üzerinde herhangi bir isim, kimlik, vs belirtilmeden -20°C’de saklanacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya kan alma bölgesinde morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. **Her ne kadar kan alım işlemi tarafımızdan gerçekleştirilmeyecek olsa da bilmenizde fayda olacağını düşünerek sizleri bilgilendirmek istedik.**

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, herhangi bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Ancak bu çalışma da herhangi bir hastalık ile ilişkili bir analiz yapılmayacaktır. Bu analizler isteğe bağlıdır, isteğiniz dışında hiçbir analiz yapılmayacaktır. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne ya da babanın biyolojik kimliğinin de saptanmasıdır. Bu durumlarda gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır. Ancak tekrar belirtmeliyiz ki yukarıda size adı verilen genetik analizler dışında hiç bir analiz için kullanılmayacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da

sahipsiniz. Eğer 6rneğinizin imha edilmesine karar verirsiniz, bu isteğinizden 6nce 6retilmiş her t6rl6 veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama s6resinin sonunda 6rneğin imha edilmesinden destekleyici/araştırıcı sorumludur.

Doç. Dr. Korkut Ulucan tarafından Marmara ve 6sk6dar 6niversitesi Molek6ler Biyoloji ve Genetik B6l6m6nde yapılacak olan araştırma belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra b6yle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam araştırmacı ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da b6y6k 6zen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amağlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli g6ven verildi.

Projenin y6r6t6lmesi sırasında herhangi bir sebep g6stermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi 6nceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir 6deme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her t6rl6 tıbbi m6dahalenin sağlanacağı konusunda gerekli g6vence verildi. (Bu tıbbi m6dahalelerle ilgili olarak da parasal bir y6k altına girmeyeceğim).

Bana yapılan t6m açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir d6ř6nme s6resi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti b6y6k bir memnuniyet ve g6n6ll6l6k içerisinde kabul ediyorum.

Gönüllülerden elde edilen biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunda (BGOF):

‘Profesyonel Sporcularda Kafein Metabolizması İle İlişkili CYP1A2 rs2069514 ve rs762551 Allel Dağılımlarının Belirlenmesi’ çalışması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.);

- Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.”

şeklinde gönüllünün konu ile ilgili rızası, Etik Kurul onayı ve Sağlık Bakanlığı izni alınmak suretiyle yapılması gerekmektedir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI ve SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin		İMZASI
ADI ve SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI ve SOYADI		
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI ve SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

10.ETİK KURUL ONAYI



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 10840098-604.01.01-E.6793
Konu : Etik Kurulu Kararı

10/03/2017

Sayın Begüm Yücesoy

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “Profesyonel Sporcularda Kafein Metabolizması İle İlişkili CYP1A2 geninin rs2069514 ve rs762551 Allel Dağılımlarının Belirlenmesi” isimli başvurumuz incelenmiş olup, etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Ek:
-Karar Formu (2 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 10.03.2017 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağımızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden 381DF70FX8 kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi
Kavacak Mah. Ekinciler Cad.No:19 Kavacak Kavşağı 34810
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ÇALIŞMALAR
ETİK KURUL KARAR FORMU

BAŞURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Profesyonel Sporcularda Kafein Metabolizması İle İlişkili CYP1A2 geninin rs2069514 ve rs762551 Allel Dağılımlarının Belirlenmesi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Begüm Yücesoy			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Beslenme ve Diyetetik			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ X	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI	01.03.2017		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	01.03.2017		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
Karar Bilgileri	Karar No: 90	Tarih: 08/03/2017		
	Yukarıda bilgileri verilen Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın etik ve bilimsel yönden uygun olduğuna "oybirliği" ile karar verilmiştir.			

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK	Eczacılık	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK	Farmakoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Sibel DOĞAN	Psiko-onkoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Devrim TARAKCI	Ergoterapi	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. İknur KESKİN	Histoloji ve Embriyoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Mehmet Hikmet ÜÇİŞİK	Biyoteknoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

* :Toplantıda Bulunma

11.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Begüm	Soyadı	Yücesoy
Doğum Yeri	Üsküdar	Doğum tarihi	31/03/1993
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	
E-mail	begum.yucesoy@gmail.com	Tel	

Eğitim Düzeyi

	Mezun olduğu kurumuna adı	Mezuniyet yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	İstanbul Medipol Üniversitesi	2017
Lisans	İstanbul Medipol Üniversitesi	2011
Lise	Edremit Aandolu Lisesi	2007

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
1. Diyetisyen	Özel İbni Sina Tıp Merkezi	2017-
2. Diyetisyen	Özel Kardelen Tıp Merkezi	2016-2016

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma	Yökdil puanı
İngilizce	İyi	Orta	Orta	63,75
Almanca	Zayıf	Zayıf	Zayıf	

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
Ales puanı	78,80	69,67	79,02
KPSS-3 puanı	73,80		

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
Microsoft Office Programları	İyi
SPSS	İyi
Bebis	İyi