



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**FUTBOL HAKEMLERİNDE DÜZENLİ AEROBİK
EGZERSİZİN HEPSİDİN VE HEMATOLOJİK
PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ VE TMRSS6
RS855791 POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

Yüksek Lisans Tezi

Cansu KAHRAMAN

Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**FUTBOL HAKEMLERİNDE DÜZENLİ AEROBİK
EGZERSİZİN HEPSİDİN VE HEMATOLOJİK
PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ VE TMRSS6
RS855791 POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

Cansu KAHRAMAN

Danışman
Doç. Dr. Faruk TURGAY

Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı

İzmir
2019

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

Değerlendirme Kurulu Üyeleri :

Adı Soyadı :

Başkan(Danışman)

: Doç.Dr.Faruk TURGAY

Üye / İmza

:Dr.Öğr.Üyesi Pınar TATLIBAL

Üye / İmza

:Dr.Öğr.Üyesi Faik VURAL

Üye / İmza :

Üye / İmza :

Tezin Kabul Edildiği Tarih

:22.05.2019

Önsöz

Bu çalışmada düzenli aerobik egzersiz yapan sporcuların, egzersizin hepsidin ve hematolojik parametreler üzerine etkisi ve TMPRSS6 Rs855791 polimorfizminin rolü'nü inceledim. Sporcularda aneminin en önemli nedenlerinden biri de demir eksikliğidir, hepsidin hormonu da demir metabolizmasını düzenleyen bir hormondur. Bu sebeplerden dolayı hem sportif performansın hem de sporcu anemisi üzerinde hepsidinin önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir. TMPRSS6 RS855971 polimorfizminin demir düzeyleri ve aerobik performans ile ilişkili olduğu da bilinmektedir. Bu ilişkinin hem spor performansı hem de sporcuların genel sağlık durumları açısından önemli sonuçları olabilmektedir. Polimorfizm göze alınmadan yapılan bir antrenman hem sporcu sağlığını hem de performansını etkileyebilmektedir. Çalışmamı belirlerken detaylı bir literatür taraması yaptım, ancak TMPRSS6 RS855791 polimorfizmi ve sporcu performansı üzerine yapılan bir çalışma bulamadım. Hepsidin ve sporcu performansı ile yapılan çalışmalar ve TMPRSS6 RS855791 polimorfizmi ile yapılan çalışmaları harmanlayarak tezimi bilimsel bilgiler ışığında şekillendirdim.

Tezimin yapılandırılmasında, geliştirilmesinde, işleyişinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini gösteren, yüce bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel bilgiler ışığında inşa etmemeye yardımcı olan çok değerli ve sayın danışman hocam Doç. Dr. Faruk TURGAY'a

Laboratuvar ölçümlerinde, verilerin toplanmasında ve analizlerimde yardımları olan Doktora öğrencisi Oya YİĞİTTÜRK'e,

Çalışmama katılan katılımcılara,

Çalışmam boyunca manevi desteklerini benden esirgemeyen ve her zaman yanımda olan, çok değerli ,biricik Annem Cemile KAHRAMAN, Babam Recep KAHRAMAN, Yeğenim Emir KAHRAMAN 'a

Teşekkürü bir borç bilirim

İzmir, 30.04.2019

Cansu KAHRAMAN

Özet

Futbol Hakemlerinde Düzenli Aerobik Egzersizin Hepsidin ve Hematolojik Parametreler Üzerine Etkisi ve TMRP RS855791 Polimorfizminin Rolü

Giriş ve Amaç: Hepsidin, demir metabolizmasının kontrolünü yapan temel hormon olup ilişkili geni TMRP RS855791 polimorfizmi (TMRP)'nin birçok hematolojik parametrenin düzeyini etkilediği belirtilmektedir. Ancak egzersizin hepsidin ve hematolojik parametreler üzerine etkisi ve TMRP'nin muhtemel rolü belirsizdir. Bu çalışmanın amacı, aerobik antrenmanların hepsidin ve bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi ve TMRP'nin rolünün araştırılmasıdır.

Yöntem: Bu çalışmaya 46 sağlıklı antrene erkek futbol hakemi (Sporcu Grubu, SG) (23.3±2.8 yaş) ve 43 sedanter (Kontrol Grubu, KG) (23.2±3.3 yaş) katıldı. Gönüllülere dayanıklılığın kriteri olarak maksimale kadar devam eden bir egzersiz olan yo-yo aralıklı dinlenmelerden oluşan (seviye 2) egzersiz testi uygulandı. Tokluk venöz kan örneklerinden; hepsidin ve okside düşük dansiteli lipoprotein (oksLDL) düzeyleri ELISA yöntemiyle, total antioksidan/oksidan statüsü (TAS ve TOS), hemogram, ferritin, demir ve demir bağlama kapasitesi, tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddeler (TBARS) spektrofotometrik ve standart biyokimyasal yöntemlerle belirlendi. TMRP genotiplemesi, periferik kandan elde edilen genomik DNA'lardan polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi (PCR-RFLP) analizi ile belirlendi.

Bulgular: Genotip gruplar dahil tüm sporcu grupların aerobik kapasitesi (YOYO testi değeri) kontrol gruplarınınkinden anlamlı olarak daha büyüktü. SG'nin demir ve ortalama eritrosit hacmi (MCV) ($p = 0.000$) değerleri KG'ninkilerden anlamlı olarak daha küçüktü ($p = 0.018$). SG'nin TAS değerleri KG'ninkinden anlamlı olarak daha büyük ($p = 0.000$), fakat oksLDL ($p = 0.011$), OSİ (TOS/TAS oranı) değeri ($p = 0.08$), MCV ($p = 0.045$) ve demir ($p = 0.000$) değerleri daha küçüktü. Diğer oksidatif stres parametreleri için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). Sporcularda ($n = 46$); T taşıyıcı grubunun ($T_t, T_t = TC + TT$), MCV ($p = 0.035$) değerleri kontrolünkinden anlamlı olarak daha küçük; eritrosit sayısı ($p = 0.004$) ve TAS değeri ($p = 0.001$) ise TMRP'ye bağlı olarak daha büyüktü. Kontrol genotip grubunda ($n = 43$) homozigot CC grubunun eritrosit ($p = 0.027$) sayısı Tt grubununkinden anlamlı olarak daha büyüktü. Hepsidin için gruplar arasında anlamlı

bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). Sporcu genotip gruplarından, Tt grubunun TBARS değerleri homozigot CC grubununkinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p = 0.00$). Kontrol genotip gruplarında, Tt grubunun Demir, Eritrosit değerleri homozigot CC grubununkinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p < 0.05$).

Sonuçlar: Bu bulgular aerobik egzersiz antrenmanlarının;

- a) Sporcuların aerobik ve antioskidan kapasitesini arttırdığını;
- b) Tt grubunun eritrosit sayısını TMRP'ye bağlı olarak (hepsidinde anlamlı bir artış olmaksızın) arttırdığını,
- c) Sporcularda demir düzeylerini düşürdüğünü ve hepsidin düzeyleri üzerinde anlamlı bir farklılık yaratmadığını gösterir.

Sporcu ve kontrol genotip gruplarının kendi aralarındaki karşılaştırmalarda gözlenen farklılıklarda, belirtilen polimorfizmin rolü olabilir. Sporcuların anemi riskine karşı diyetlerinde demir içeriği zengin besinleri almaları önerilir.

Anahtar kelimeler: Aerobik egzersiz; hepsidin; hematolojik parametreler; TMRSS6 RS855791 polimorfizmi

Abstract

The Effect of Regular Aerobic Exercise on Hepcidin and Hematological Parameters in Football Referees and The Role of Tmprss6 RS855791 Polymorphism

Introduction and aims: Hepcidine is a main hormone that controls iron metabolism. The effects of rs 855791 polymorphism (TMRP) of Tmprss6 gene associated with hepcidine and the effects of exercise on the level of hepcidine and main hematological parameters is unclear. The aim of this study was to investigate the effect of aerobic exercise on hepcidine and some hematological parameters and the role of TMRP.

Method: 46 healthy trained male soccer referee (23.3±2.8 years) and 43 sedantary (23.2±3.3 years) participated to this study. The yo-yo intermittent (maximal) exercise (level 2) test was performed as an endurance criterion. Using postprandial of venous blood samples; hepcidine and oxidized low density lipoprotein (oxLDL) levels (by ELISA method), total antioxidant/oxidant status (TAS and TOS), hemogram, ferritin, iron and iron binding capacity, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were determined by standard methods; (TMRP) was determined by restriction fragment length polymorphism analysis after polymerase chain reaction from genomic DNAs isolated from periferic blood samples.

Results: The aerobic capacity (yo-yo test value) of all athletes including genotype groups was significantly greater than that of the control groups. The iron and mean erythrocyte volume (MCV) ($p = 0.000$) values of athletes were significantly lower than control ($p = 0.018$). TAS values of athletes were significantly greater ($p = 0,000$) than control, but the value of OxLdL ($p = 0,011$), OSI (TOS / TAS ratio) ($p=0,008$), MCV ($p = 0.045$) and iron ($p = 0.000$) values were lower than the control. No significant difference was found between the groups for other oxidative stress parameters ($p > 0.05$). At athletes ($n=46$); MCV values of T carrier group ($T_c = TT + TC$) were significantly lower than the controls ($p = 0.035$); whereas the number of erythrocytes ($p = 0.004$) and TAS ($p = 0.001$) (depending on TMRP) was greater than the control ($n=30$). No significant difference was found between the groups for hepcidin ($p > 0.05$). At the athletic groups; TBARS values of Tc group were significantly greater than those of the homozygous CC group ($p = 0.00$). At

control genotype groups, iron, erythrocyte values of Tc group were significantly greater than that of the homozygous CC group ($p < 0.05$).

Conclusion: These findings show that, the regular aerobic exercise;

- a) Increased the capacity of aerobic and antioxidant at athletic group.
- b) Increased the number of erythrocytes in the Tc group depending on the TMRP (without a significant change at the hepcidine levels).
- c) Decreased athletic groups's iron levels and didn't change hepcidin levels.

In the differences found between each genotype groups of the control and the athletic groups may be role of the TMRP. It is recommended that the athletes should take iron-rich foods.

Key Words; Aerobic exercise; hepcidin, hematological parameters; TMRSS6 rs855791 polymorphism

İçindekiler

Önsöz.....	II
Özet.....	II
Abstract.....	V
İçindekiler	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.II
Tablolar Dizini	X
Kısaltma Listesi	XII
Giriş	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	2
1.2. Araştırmanın Sorusu	3
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	3
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	3
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	4
1.6. Araştırmanın Tanımları	4
1.7. Araştırmanın Amacı	4
Genel Bilgiler	5
2.1. Egzersizde Enerji Sistemleri	5
2.1.1. Anaerobik Enerji Metabolizması	5
2.1.1.1. ATP-PC (Fosfojen Sistem)	5
2.1.1.2. Laktik Asit (LA) Sistemi.....	5
2.1.2. Aaerobik Enerji Metabolizması.....	6
2.2. Egzersiz ve Kan	6
2.2.1. Demir Metabolizması.....	6
2.2.1.1. Demir Metabolizması ve Egzersiz.....	7
2.2.2. Hepsidin	7
2.2.2.1. Hepsidin Yapısı	7
2.2.2.2. Hepsidin Etki Mekanizması	7
2.2.2.3. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi	8
2.2.2.3.1. Hepsidin Sentezinin Anemi ve Hipoksi ile Düzenlenmesi	8
2.2.2.3. Hepsidin ve Egzersiz	8

2.2.3. Egzersiz ve Hematolojik Parametreler	8
2.3. Performans ve Genetik	9
2.3.1. Polimorfizm	9
2.3.1.1. TMRP Polimorfizmi.....	10
Gereç ve Yöntem	122
3.1. Araştırmanın Tipi	12
3.2. Araç ve Gereçler.....	12
3.2.1. Biyokimya Analizlerinde Kullanılan Cihazlar	12
3.2.2. Biyokimya Analizlerinde Kullanılan Kitler ve Maddeler	13
3.3. Yöntem	13
3.3.1. Örneklemin Seçimi.....	13
3.3.2. Yapılan Testler	14
3.2.2.1. Fiziksel Ölçüm Yöntemleri Boy ve Vücut Ağırlığı.....	14
3.3.2.2. Fizyolojik Ölçümler	14
3.3.3. Kan Numunelerinin Alınması, Saklanması ve Analizleri.....	14
3.3.3.1. Hemogram Analizi	15
3.2.3.2. Hepsidin, oksLDL ve IL-6 Analizi.....	15
3.2.3.3. TMRP RS855791 Polimorfizmi	15
3.2.4. Biyokimyasal Analizler	16
3.2.4.1. Total Antioksidan Statüsü (TAS)'nün Belirlenmesi	16
3.2.4.2. Total Oksidan Statüsü (TOS)'nün Belirlenmesi	16
3.2.4.3. Tiyoarbutirik asit ile reaksiyona giren maddeler (TBARS) Ölçümü	16
3.2.4.4. Nitrik Oksit (NO) Ölçümü	17
3.2.5. İstatistiksel Analizler	18
Bulgular.....	19
TMRP'ye İlişkin Bulgular	19
TMRP Genotiplemesine Göre Sporcu ve Sedanter Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	23
Sporcuların Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları.....	26
Kontrol Grubunun Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları	28

Tartışma	37
Sonuç ve Öneriler	41
Kaynaklar	42

Ekler

EK 1: Etik Kurul Onayı

EK 2: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Teşekkür

Özgeçmiş



Tablolar Dizini

- Tablo 1.** Katılımcıların fiziksel ve fizyolojik parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 2.** Sporcu ve kontrol grubunun oksidatif stres ve antioksidan parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 3.** Sporcu ve kontrol grubunun biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 4.** Sporcu ve kontrol grubunun hemogram parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 5.** Sporcu ve kontrol grubunun lipid ve lipoprotein parametreleri karşılaştırılması
- Tablo 6.** TMRSS6 polimorfizmlerinin genotip ve allelik frekansları
- Tablo 7.** Total (T) genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 8.** Total (T) genotip gruplarına ait oksidatif stres ve antioksidan parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 9.** Total genotip gruplarına ait biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 10.** Total genotip gruplarına ait hemogram parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 11.** Total genotip gruplarına ait KKH risk faktörleri değerlerinin karşılaştırılması
- Tablo 12.** TMRSS6 sporcu ve sedanter genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçüm değerleri ile biyokimyasal ve hematolojik parametrelerin karşılaştırılması
- Tablo 13.** TMRP sporcu ve sedanter genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametrelerin karşılaştırılması
- Tablo 14.** Sporcu grubunun fiziksel ve fizyolojik ölçüm değerleri ile biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi (n=46)
- Tablo 15.** Sporcuların biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi
- Tablo 16.** Kontrol grubunun fiziksel ve fizyolojik parametreleri ile biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi (n=43)
- Tablo 17.** Kontrol grubunun biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi

Kısaltma Listesi

ALB	: Albümin
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
CP	: Kreatin Fosfat
Dcytb	: Duodenal Ferrik Redüktaz
DMT 1	: Divalent Metal Transporter 1
Fe²⁺	: Ferröz
Fe³⁺	: Ferrik
FNP	: Ferroportinin
GLU	: Glukoz
HAMP	: Hepsidin Antimikrobiyal Peptid
Hb	: Hemoglobin
HCT	: Hematokrit
HCC	: Hepatasellüler Karsinoma
HDL-K	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
HFE	: Hemakromatoz Proteini
HIF	: Hipoksi ile İndüklenen Faktör
HJV	: Hemojuvelin
IRIDA	: Demire Tedavisine Dirençli Demir Eksikliği Anemisi
IL-6	: İnterlökin 6
IL-6r	: IL-6 Reseptörü
KG	: Kontrol Grubu
LDL-K	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
MCV	: Ortalama Alyuvar Hacmi
MCH	: Ortalama Eritrosit Hacmi
NO	: Nitrik Oksit
oksLDL	: Okside LDL
OSI	: Oksidatif Stres İndeksi

PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PLT	: Platelet (Trombosit)
RA	: Referans Aralığı
RBC	: Kırmızı Kan Hücresi
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SG	: Sporcu Grubu
TAS	: Total Antioksidan Statüsü
TBARS	: Tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddeler
TDBK	: Total Demir Bağlama Kapasitesi
TfR 2	: Transferrin Reseptör 2
TG	: Trigliserid
TK	: Total kolesterol
TMRP	: Tmprss6 RS855719 Polimorfizmi
TOS	: Total Oksidan Statüsü
WBC	: Lökosit
VA	: Vücut Ağırlığı
VKI	: Vücut Kitle İndeksi

Giriş

Egzersiz; iskelet kaslarının kasılmasıyla enerji tüketimini bazal düzeyin üzerine çıkaran bedensel harekettir. Fiziksel kapasitesinin artırılması veya sürdürülebilmesini hedefleyen, planlı, istemli, fiziksel uygunluğun bir veya birkaç unsurunu geliştirmeyi amaçlayan aktivitelerdir (Caspersen, Powell ve Christenson, 1985). Uzun süreli düzenli aerobik egzersiz yapan sporcularda hemoglobin (Hb) ve hematokrit (Hct) değerlerinde azalma olmaktadır ve bu durum sporcu anemisi olarak tanımlanmıştır. Hematolojik parametrelerde egzersizin tipine, şiddetine ve süresine bağlı olarak değişiklikler olabilir. Bu değişimler, egzersiz yapan bireylerin; yaşları, cinsiyetleri, antrenman düzenleri, gibi faktörlerden kaynaklanabilir (İbiş, Hazar ve Gökdemir, 2010). İnterval antrenmanların erkek sporcular üzerindeki kronik etkilerini inceleyen bir çalışmada, 8 hafta süren aerobik egzersizden sonra, hemoglobin değerlerinde egzersiz öncesine göre anlamlı artışlar tespit edilmiştir (Günay ve Cicioglu, 2013). Kısa süreli anaerobik kick-boks yapan sporcularda, fiziksel aktivitenin kan hücrelerinin dağılımını doğrudan etkilediği; egzersizden hemen sonra beyaz kan hücresi (WBC), lenfosit (LYM) ve platelet (PLT)'in belirgin olarak arttığını ama, kırmızı kan hücresi (RBC), Hb ve Hct anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir (Azarbayjani, Fathi, Dalou, Abdı, Fatolah, 2014). Bu çalışmadan farklı olarak düzenli aerobik egzersiz programı sonrası kan parametreleri egzersiz öncesiyle karşılaştırıldığında ; RBC, MCH (Ortalama Hemoglobin Hacmi), Hb ve Ortalama Hücre Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC) değerlerinde anlamlı değişiklik bulunurken ; WBC, Hct, Ortalama Alyuvar Hacmi (MCV), kırmızı kan hücrelerinin dağılım genişliği (RDW), PLT, platelet hücrelerinin yüzde olarak oranı (PCT) değerlerinde değişiklik olmadığı saptanmıştır (Temur, 2018). Demir; hemoglobin, miyoglobin ve sitokromların elzem bir elementidir ve eritropoez, oksidatif metabolizma, hücre sel enerjide yer almaktadır, bu nedenle demir eksikliği egzersiz kapasitesini sınırlandırabilir. (Jankowska , Rozentryt, Witkowska, Nowak, Hartmann,, Ponikowska..., 2011). Demir eksikliği, sporcuların kariyerinde sık görülen bir durumdur, dayanıklılık performansına ve egzersiz sırasında oksijen kullanımında negatif etkilere neden olabilir (Domínguez, Sánchez-Oliver, Ordoñez, Madueño, Puyana, Álvaro López-Samanes, ..., 2018). Hepsidin, demir metabolizmasını regüle eden bir hormondur, duodenal demir emilimini, makrofajlardan demirinin salınımını önler ve organizmada demir seviyesini azaltarak vücutta demir metabolizmasını düzenler (Uysal, 2007). Plazmadaki demir seviyesinin ve dokulardaki demir depolarının artması ile sentezi uyarılan hepsidin, makrofajlarda ve duodenal enterositlerde yer alan demirin salınımını azaltmaktadır (Başol G., Barutçuoğlu B., Bozdemir A. E., 2007). Bu

döngü, plazmada yer alan demirin optimal aralıkta tutulmasını sağlarken, fazla demir emilimini ve dokularda demir birikmesini önlemektedir (Anderson, Darshan, Wilkins, Frazer., 2007). Hepsidin, egzersizden dolayı oluşan demir eksikliğinde önemli bir unsur olabileceği öne sürülmüştür. (Peeling, Dawson, Goodman ve ark. 2008) Egzersiz sonrası toparlanmanın 3. saatinde hepsidin seviyesinin pik yaptığı birçok çalışmada belirtilmiştir (Roecker L, Meier-Buttermilch R, Brechtel L,.. 2005).. Elit kürek sporcular ile yapılan bir çalışmada, 2000 m kürek ergometresi testi sonrasında kan örneklerinde hepsidin seviyelerinde egzersiz öncesine göre artışlar gözlemlenmiştir (Newlin, Williams, McNamara, Tjalsma, Swinkels, Haymes, 2012). Hepsidin hormonu aynı zamanda, hematolojik parametrelerle ilgilidir (Mahajan, Sharma, Chandra, Nangia, 2017). Bir diğer çalışmada dayanıklılık egzersizinin idrar ve kan hepsidin düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (Aalto, Honkanen, 2011). Matriptaz-2, TMPRSS6 genin kodladığı serin proteazdır, hepsidin ekspresyonunda ve vücuttaki demir dengesinin korunmasında rol oynar (Delphini, Vaja, Graziadei, Duca, Nava, Refaldi, Cappellini, 2010). TMPRSS6 mutasyonları, hepsidin seviyelerinin artmasına ve demir emiliminin azalmasına yol açmaktadır (Du ve ark., 2008). Literatürde yapılan hayvan çalışmalarında bu genin mutasyonun hepsidin seviyesini yükselttiğini gösterilmiştir (Dulundu ve Turgut, 2016). Bu nedenle spocularda gözlenen anemi vakalarında hepsidinin ve dolayısıyla hepsidin geninde gözlenen bir polimorfizmin de rolü olabilir. TMPRSS6 genindeki RS855791 tek nükleotid polimorfizmi (SNP)'nin hepsidin ve serum demir seviyeleri üzerinde etkisi bulunmaktadır (Meynard, Vaja, Sun, Corradini, Chen, López-Otín..., 2011). İnsanlarda yapılan çalışmalarda TMPRSS6 genindeki delasyonların demir eksikliği anemisi ile ilgili olduğunu gösterilmiştir (Pellegrino ve ark., 2012). RS855791 polimorfizmi hemoglobin, MCV ve MCH değerleriyle ilişkili bulunmuştur ve bu polimorfizmin genel erişkin popülasyonlarında daha düşük transferrin saturasyonu, hemoglobin ve MCV seviyeleri ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur, eritropoez ve demir homeostazında TMPRSS6 polimorfizmi (TMRP)'nin rolü olabileceği de belirtilmiştir (Poggiali, Andreozzi, Nava , Delbini, Duca, Forti... , 2013).

1.1 Araştırmanın Problemi

Sporcularda aneminin en önemli nedenlerinden biri demir eksikliğidir ve hepsidin de demir metabolizmasını düzenleyen bir hormondur. Bu nedenle hepsidinin hem sportif performans hem de sporcu anemisi üzerinde önemli bir etkisi olduğu belirtilmektedir. TMRP'nin kan hepsidin düzeyleri ve aerobik performansla ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Böyle bir etkinin varlığı farklı fenotipte kişilerin olabileceğine işaret eder. O zaman bu durumun hem spor performansı hem de sporcu sağlığı açısından önemli sonuçları olabilir. Bu nedenle

polimorfizm dikkate alınmadan yapılan bir antrenman bazı insanlara yarar gösterirken bazılarında da zarar verebilir. Bunu bilmek ve bu doğrultuda uygun antrenman programları hazırlamak olması gereken bir bilimsel yaklaşımdır. Literatürde düzenli aerobik egzersizin hepsidin ve hematolojik parametreler üzerine etkisinde TMRP'nin rolüne ilişkin bir çalışmaya rastlanmadı. Bu çalışma bildiğimiz kadarıyla literatürde bir ilk olacaktır. Futbol hakemleri meslekleri gereğince antrenmanlarında bu tip egzersizleri yoğun bir şekilde kullanmaktadırlar. Ancak bu antrenmanların sağlıkları açısından nasıl bir etkide bulunduğu tam olarak bilinmemektedir. Bu meslek grubunda olan binlerce kişi göz önüne alındığında, futbol hakemlerinin bu konuda bilgi edinmeleri de bu çalışma kapsamında mümkün olacaktır.

1.2. Araştırmanın Sorusu

1. Düzenli aerobik egzersizin futbol hakemlerinde hepsidin ve hematolojik parametreler üzerinde etkisi var mıdır?

2. Düzenli aerobik egzersizin bu olası etkilerinde TMRP'nin rolü var mıdır?

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

Sağlıklı erkek futbol hakemlerinde:

1. Düzenli aerobik egzersiz hepsidin ve demirle ilişkili parametrelerin düzeylerini artırır.

2. Hepsidin ve demirle ilişkili parametreler üzerindeki bu etkide TMRP'nin modifiye edici rolü vardır.

3. Bu polimorfizmin, bazal hepsidin ve demirle ilişkili parametreler üzerine etkisi vardır.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

1. Katılımcıların verdikleri beyana göre kan demir düzeylerini etkileyecek ilaç, vitamin vb. maddeler almadıkları varsayılmıştır.

2. Katılımcıların verdikleri beyana göre kan demir düzeylerini etkileyecek herhangi bir rahatsızlığı olmadığı varsayılmıştır.

3. Katılımcılara önceki verilen bilgilere uydukları varsayılarak, biyokimyasal analizlere 3-4 saatlik açlıktan sonra katıldıkları varsayılmıştır.

4. Önceden uyarılarımız doğrultusunda testler öncesindeki en az 1 hafta boyunca diyetlerini değiştirmedikleri varsayılmıştır.

5. Testleri uygulamadan önce yaptığımız uyarılara göre, kan alımı ve performans testlerinin 2-3 gün öncesinden itibaren antrenmanlara ara verdikleri varsayılmıştır.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Katılımcı sayısının daha fazla olmaması ve belli bir diyet kontrolünde olmamaları araştırmayı sınırlandırmıştır.

1.6. Araştırmanın Tanımları

Hepsidin: Vücut demir depolarının ana düzenleyicisi, makrofaj ve duodonal enterosit bazolateral membranlarındaki ana demir taşıyıcısı.

Hematolojik parametreler: Kan ve ilişkili parametreler

TMPRSS6 RS855791 T>C Polimorfizmi: Hamp geninde, T yerine C gelen tek nokta mutasyonu.

Gen: Kalıtımın temel birimidir. Karakteri, özelliği veya niteliği aktarabilen, DNA'nın en minik anlamlı birimidir.

Gen lokusu: Kromozomlarda belirli karakterlere ait genetik kodların yer aldığı lokasyondur.

Allel: Bir gen lokusundaki genetik bilginin değişik biçimleridir. Alleller heterozigot ve homozigot formlarında bulunabilirlik durumlarna göre ikiye ayrılırlar (Kaman, 2018).

1.7. Araştırmanın Amacı

Çeşitli toplumlarda TMRP'nin plazma hepsidin konsantrasyonu ve anemi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Elmahdy, Elhakeemi, Gaber, 2018). Egzersize hepsidin yanıtı, özellikle endurans antrenmanları sırasında sporcularda sıklıkla gözlenen anemi ve demir eksikliğini açıklamaya yardımcı olabilir (Fung ve Nameth, 2013). Ancak aerobik egzersizin hematolojik parametreler üzerine etkisinde hepsidin düzeyi üzerine etkisi ve TMRP'nin rolüne ilişkin literatürde bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenlerle bu çalışmanın temel amacı; düzenli aerobik egzersiz yapan futbol hakemlerinde aerobik egzersiz antrenmanlarının hepsidin ve hematolojik parametreler üzerine etkisi ve TMRP'nin rolünün incelenmesidir.

Vücuttaki fazla demir hücrelere zarar verebilir. Çünkü hem hücre zarındaki hem de kandaki lipid ve lipoproteinleri okside edebilir. Bu nedenle demir ateroskleroz risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Çavuşoğlu, Altay, Çetiner, Güvenç, Temizhan, Ural, Yeşilbursa, 2017). Düzenli aerobik egzersiz yapan futbol hakemlerinde aerobik egzersiz antrenmanlarının lipid ve lipoprotein metabolizması parametrelerinin incelenmesi bu çalışmanın ikincil amacını oluşturmaktadır.

Genel Bilgiler

2.1. Egzersizde Enerji Sistemleri

Kas kimyasal enerjiyi mekanik enerjiye çevirmektedir (Akgün, 1994). Enerjinin kaynağı kasta bulunan organik fosfat bileşikleri ve karbonhidrat depolarıdır. Proteinler egzersiz esnasında enerji kullanımına çok fazla katkıda bulunmazlar (Ganong, 1995).

Organizma için gerekli olan enerjinin oksijen bulunmayan koşullarda çeşitli kimyasal reaksiyonlarla sentezlenmesine “anerobik”, oksijenli koşulda elde edilmesine “aerobik” metabolizma denmektedir (Ergen ve ark., 1993).

2.1.1. Anaerobik Enerji Metabolizması

2.1.1.1 ATP-PC (Fosfojen Sistem)

Acil enerji sistemi olarak tanımlanmaktadır, kasların bir işi yapması için gerekli olan enerjiyi en hızlı sağlayan yoldur. Yan ürün olarak laktik asit oluşmaz ve enerji, kaslarda yer alan ATP'den karşılanır. Şiddeti yüksek ve kısa süren egzersizlerde kas kasılması için gerekli olan enerji ATP'den sağlanır. CP yolu direkt ATP gibi kullanılmaz, aktivite halinde hidrolize olarak fosfatını ADP (Adenozin Difosfat)'ye verir, ATP yapımını sağlar ve bu şekilde acil enerji ihtiyacı karşılanmış olur (Kaman, 2018).

2.1.1.2. Laktik Asit (LA) Sistemi

Bu yolla enerji üretiminde sadece glikoz kullanılır (Ergen ve ark, 1993). Kasın içinde depolanan glikojen, glikoza parçalanarak glikozdan enerji açığa çıkar. Glikozun parçalanmasıyla iki adet pürivik asit molekülü oluşmaktadır. Ortamda oksijen bulunmadığı için sitrik asit döngüsüne giremeyen pürivik asit laktik aside dönüşür ve aynı zamanda 3 mol ATP oluşur. Son ürün olarak laktik asit çıkmasından dolayı bu sisteme laktik asit sistemi denmektedir. Laktik asit daha sonra kas hücrelerinden intertisyel sıvıyla kana karışır (Guyton, 1989). Anaerobik glikoliz sırasında üretilen ATP miktarı, aerobik yola oranla %5'dir (Ergen ve ark.,1993). Anerobik metabolizmada, aerobik metabolizmaya göre 2,5 kat daha hızlı ATP üretimi olmaktadır (Guyton, 1989). Glikoz ihtiyacı, sindirimi tamamlanan karbonhidratlardan ve karaciğerde depoalanan glikojenden sağlanmaktadır. Glikojen, glikojenolizle glikozdan sentez edilmektedir. Karaciğer ve kaslarda depo edilir. Glikoz ihtiyacı olduğunda, kas ve karaciğerde depo edilen glikojen ‘glikojenolisiz’ yoluyla glikoz-1-fosfata indirgenir (Wilmore ve Costil, 1994). Glikoza olan ihtiyacın devamında glikoneojenesiz ile karbonhidrat dışı maddelerden glikoz üretimi olur.

2.1.2. Aerobik Enerji Metabolizması

Oksijenin ortamda bulunmasıyla karbonhidrat ve yağların su ve karbondioksite parçalanması sonucu enerji elde edilmesini sağlamaktadır. Ortamda oksijen varlığında, glikoz tamamen CO₂ ve H₂O'ya kadar parçalanır ve 38-39 mol ATP üretilir. Aerobik enerji yolundaki basamakları, anaerobik glikoliz ile aynıdır ve bir mol glikojen 2 mol pürivik aside çevrilir. Bu basamak sarkoplazmada gerçekleşir. Oluşan pürivik asit mitekondride Asetil Coa'ya çevrilerek trikarboksilikasit (TCA) siklusuna girer ve devamında solunum zincirinden oksidatif fosforilasyon sonucu ATP üretilir. (Günay, Tamer ve Cicioğlu, 2013).

2.2. Egzersiz ve Kan

Egzersiz sırasında vücudun oksijen ihtiyacını karşılamak kanın işlevidir. Egzersizle birlikte artan ihtiyacı karşılamak için kalp hızı, hacmi ve debisi artar ve böylece dokulara fazlaca kan gönderilir. Egzersizde arteriovenöz oksijen farkının artışı, venöz oksijen içeriğinin azalmasına ve kasa kandan daha çok oksijen bırakılmasına neden olur. Uzun süreli egzersizlerde terle ya da diğer yollarla sıvı kaybı nedeniyle plazma hacmi azalır. Hidrostatik basınç ve kan basınçları artar (Günay, Tamer ve Cicioğlu, 2013). Uzun süreli aerobik egzersizlerde plazma volümü artar bu nedenle hemodilüsyon meydana gelir; yani hematolojik parametrelerin konsantrasyonu rölatif olarak daha düşük görülür, bu da sporcu anemisi olarak ifade edilebilir (Peeling, 2008).

2.2.1. Demir Metabolizması

Demir, vücut için esansiyel olan ancak fazla bulunduğunda vücutta hasara yol açan bir elementtir. Metabolizma için gerekli olan demir farklı mekanizmalarla sağlanmakta, vücutta toksisiteye yol açmayacak şekilde saklanmakta ve ihtiyaç halinde kullanılmaktadır. (Wilson, 2009). Demir, oksijen taşınması, hücre solunumu, DNA sentezi, vb. gibi çeşitli işlevler için vazgeçilmez olan temel bir besin maddesidir (Cairo G, Bernuzzi F, Recalcati S., 2006). Vücut demir içeriği erişkin bireylerde 3-5 gramdır. Vücut demirinin %60-70'i hemoglobinde bulunur. %20-30 kadarı ise ferritin ve hemosiderin olarak hepatositlerde ve retiküloendotelial sistem makrofajlarında yedek demir olarak depolanır. Depolanmayan demir, miyogloblin olarak kaslarda veya enzimlerde bulunur. Transferine bağlanan demir miktarı 3 mg'dır ancak bu demir taşıyan bölüm değişkendir ve günde yaklaşık 10 kez değişim gösterebilmektedir (Tandara ve Salamunic, 2012). Demir metabolizmasında +2 değerlikli ferröz (Fe²⁺) ve +3

değerlikli ferrik (Fe³⁺) yapısında bulunur ve bu yapılar arasında kolay bir şekilde geçiş yapılabilir (Politou ve Papanikolau, 2004). Demir, Fe²⁺ iyonu halinde duodenumdan ve proksimal jejunumdan absorbe olmaktadır. Transmembranda bulunan protein olan ferroportin ise hepsidin reseptörüdür (Schone, Escourrou, Robertson, Nilson, Parsons ve Smith, 1983).

2.2.1.1 Demir Metabolizması ve Egzersiz

Anemi, antrenman yapan kaslarda oksijen taşınmasında düşüğe neden olduğundan egzersiz performansını etkileyen çok önemli bir unsurdur. Yoğun fiziksel egzersiz, atletelerde demir eksikliğine yol açmaktadır (Bauper, Zeissler, Walscheid, Frech ve Hillebrecht, 2018). Koşucuların yoğun antrenmanlar yapması vücuttaki demir dengesini bozabilir, koşmanın etkisiyle ayakların yere sıkça vurması sonucu alyuvaraların yıkılması (hemoliz) ve terle demir kayıpları oluşur, bu durum koşucularda demir eksikliğine neden olabilmektedir (Weave ve Rajaram, 1992). İnsan vücudunda oksijen kullanımı kanın oksijen taşıma kapasitesiyle ilgilidir (Basset ve Howley, 2000).

2.2.2 Hepsidin

2.2.2.1. Hepsidin Yapısı

Hepsidin, hepatositler tarafından üretilen ve peptid yapıda olan bir hormondur (Kroot , Tjalsma, Fleming, Swinkels, 2011). Hepsidin üç izoformu vardır, hepsidin dört adet disülfüt bağı bulunmaktadır: biri 25 amino asit (hepsidin-25) (Schranz, Bakry, Creus, Bonn, Vogel ve Zoller , 2009) ve iki küçük izoform olan hepsidin-22, 22 ve 20 amino asit ihtiva eden hepsidin-20'dir (Pigeon , Ilyin , Courselaud , Leroyer , Turlin ve Brissot, 2001). İnsanlarda hepsidin 19. kromozomda yer alan hepsidin antimikrobiyal peptid (HAMP) geni tarafından kodlanmaktadır. Hepsidin-20 ve hepsidin-22'nin kan ve idrar konsantrasyonları genel olarak düşüktür (Ganz , 2003).

2.2.2.2 Hepsidin Etki Mekanizması

Hepsidin, demir emilimini engelleyerek demir metabolizmasını düzenlemektedir (Ganz, 2003). Hepsidin düzeyinin artması, demir emilimini azaltır, düzeyinin düşmesi ise demir emiliminin arttırır (Uysal, 2017). Demir döngüsün merkezini hepatik kupffer hücreleri, kemik iliği ve dalakta yer alan makrofajlar tarafından yaşlanan eritrositlerin yıkımı oluşturmaktadır. Vücuttaki demir seviyelerine göre hepatositler hepsidin salınımını arttırır veya azaltır. Hepsidin ferroportin ile etkileşime geçer, hücre salınımını düzenler (Sarıkaya, 2014).

2.2.2.3. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi

Hepsidin ekspresyonu, eritropoez hızı ,demir depoları, enflamasyon gibi farklı uyarılar belirlemektedir. Bu uyarılar, hepatositlerin hücre yüzeyindeki transferrin reseptör 2 (TfR 2), Matriptaz 2 ,hemakromatoz proteini (HFE), hemojuvelin (HJV), ve IL-6 reseptörü (IL-6r) gibi proteinlerin düzeyleriyle hepsidin sentezini düzenlemektedir. Bu proteinler, BMP-SMAD, JAK-STAT ve HIF 1 gibi sinyal iletim yollarını aktive ederek, hepsidini kodlayan (hepsidin antimikrobiyal peptid) HAMP geninin transkripsiyonunu düzenlemektedir (Ganz, 2005).

2.2.2.3.1. Hepsidin Sentezinin Anemi ve Hipoksi ile Düzenlenmesi

Anemi ve hipoksinin hepsidin üretimini baskılamadaki mekanizmalar net olarak bilinmemektedir. Anemide, hepsidin iki yol ile düzenlenmektedir. Bunlar; eritropoezi uyarak indirekt hepsidin sentezini baskılayan transferrin saturasyonunun azalması ve hipoksi ile indüklenen faktörün (HIF) yer aldığı doku hipoksisidir (Nemeth, Valore, Territo, Schiller, Lichtenstein ve Ganz, 2003).

2.2.2.3. Hepsidin ve Egzersiz

Egzersiz sonrası toparlanma sırasında serbest demir düzeylerinin arttığı iyi bilinmektedir (Mettler ve Zimmermann, 2010). Sporcular ergojenik etki sağlaması içinde demir kullanabilmektedirler (Fisher, 2006). İnflamasyon, hepsidine aracılık eden faktörlerden biridir. Bu cevap egzersiz sitokin düzeylerini doğrudan etkiler (Peeling, Dawson, Goodman Landers ve Trinder, 2008).Egzersiz motilitesi ve süresine bağlı olarak plazmada ve idrarda hepsidin düzeyleri başlangıç değerlerine göre değişiklik göstermektedir (Banzet, Sanchez, Chapot, Bigard, Vaulont ve Koulmann, 2012). Egzersize yanıt olarak hepsidin gen ekspresyonundaki artıştan IL-6'nın sorumlu olduğu öne sürülmüştür (Dominguez, Vicente, Campos ve Chicharro, 2014). Egzersiz süresi ve yoğunluğu aynı zamanda hepsidin yanıtını etkilemektedir, egzersiz süreleri arttıkça yüksek hepsidin konsantrasyonları gözlemlenmiştir. Serum hepsidin düzeylerinin antenmana olası adaptasyonlarını inceleyen çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bunun nedeni, hepsidin regülasyonu üzerinde etki gösteren diğer değişkenlerinde (diyet, demir durumu) etkili olmasıdır (Pedersen ve ark., 2003).

2.2.3. Egzersiz ve Hematolojik Parametreler

Son yıllarda egzersizle IL-6 seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Jonsdottir, Schjerling, Ostrowski, Asp, Richter ve Pedersen, 2000). Egzersizde kasılan iskelet kaslarıyla dolaşım sisteminde artan IL-6'nın tarafından sentezlendiği bilinmektedir (Osrowski ve ark, 2000 , Banzet ve ark., 2005). Egzersizle IL-6 azalıyor gibi gözüksede, IL-6 reseptörleri egzersiz

sayesinde artmaktadır (Peeling, Dawson, Goodman, Landers ve Trinder, 2008). Hb ve kan volümünün aerobik performans üzerindeki etkisini inceleyen çalışmada, total kan Hb ve kan volümünü V02 max ve fiziksel performansı üzerinde anahtar rol oynadığının sonucuna varılmıştır (Kanstnıp ve Ekblom, 1982). Aerobik egzersizin, sağlıklı bireylerde RBC (Kırmızı kan hücresi), Hb ve HCT artışı ile ilgili olduğu belirtilmiştir (Pasricha, Low, Thompson, Farrell ve De-Regil, 2014). Egzersizin vücuda etkilerini inceleyen bir çalışmada, egzersiz sonrası alyuvar hücresi parametrelerinde düşüş olduğu saptanmıştır (Magazanik, Weinstein, Dlin, Derin, Schwartzman ve Allalouf, 1988). Egzersiz sırasında kan plazması miktarı düştüğünden dolayı Hb, HCT ve RBC değerlerinde artış görülmektedir (Sawka, Convertino ve Eichner, 2000).

2.3. Performans ve Genetik

Sporcuların performansını etkileyen genetik parametrelerin tespit edilmesi, biyolojik mekanizmaların daha net aydınlatılmasını sağlamış, yeni hipotezlerin oluşturulmasına imkan vermiş ve farklı egzersiz çeşitlerine olan yatkınlıklar arasında ilişkilerin belirlenmesinde aydınlatıcı olacağı ileri sürülmüştür (Ulucan, Göle, Altında ve Güney, 2013). İnsan genomunda atletik performansla ilişkili yaklaşık olarak 250 genetik bölge olduğu keşfedilmiştir (Santos ve ark, 2015).

2.3.1. Polimorfizm

Grekçe “poly” ve “morphos” kelimelerinden oluşur ve farklı form anlamında kullanılır. Farklı formlar ise şu açıklamalar ile ifade edilebilir;

1) Tüm birey düzeyindeki polimorfizm, fenotipik farklılıklardan sorumludur, fenotipik polimorfizm olarak isimlendirilir; farklı fizik özellikleri, farklı yüz biçimi, deri rengi, boy uzunluğu, göz rengi gibi.

2) Birçok genetik farklılık bilinmemektedir. Çünkü bu farklılıklar fenotip olarak gözlemlenememekle birlikte laboratuvar teknikleriyle belirlenebilir. Değişime uğrayan proteinler, antijenler veya enzimler biyokimyasal polimorfizm olarak adlandırılır.

3) Kromozomların morfolojik özelliklerindeki farklılıklar kromozomal polimorfizm'dir.

4) DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları, DNA polimorfizmi'dir (Nussbaum ve ark, 2001).

Polimorfizmi mutasyondan ayıran temel fark görülme sıklığıdır. Mutasyonlar polimorfizmlere nazaran çok daha enderdir (Bozkaya, 2009).

2.3.1.1. TMRP Polimorfizmi

RNA-seq verilerini analizi yapılarak dört farklı insan TMPRSS6 izoformunu tanımlanmıştır. TMPRSS6 standart izoformu olarak bilinen TMPRSS6 izoformu 1 (TMPRSS6-1) insan karaciğerinde tespit edilmemiştir. Proteinin N-terminal sitoplazmik kuyruğunda 9 amino asit bulunmamasından dolayı TMPRSS6-1'den farklı olan TMPRSS6-2, karaciğerde, hipofiz ve testiste en çok ifade edilen izoformdur. (Dion, Béliveau, Désilets, Ghinet ve Leduc, 2018). Veriler, katalitik bir alanı olmayan ve dolayısıyla proteolitik olarak aktif olmayan bir izoform olan TMPRSS6-3'ün insan karaciğerinde ihmal edilebilir seviyelerde ifade edildiğini göstermektedir. Son olarak, katalitik alanına bir ekleme içeren ve proteolitik olarak etkin olmayan TMPRSS6-4, insan karaciğerinde tespit edilen diğer formlara göre daha fazla bulunan izoformdur. Hepatasellüler Karsinoma (HCC) hücre hatlarında TMPRSS6 izoform ekspresyonunu değerlendirirken, Hep3B ve HepG2 hücrelerinde altı adet TMPRSS6 homozigot SNP tanımlanmıştır. Her iki hücre hattında üç SNP tanımlandı. Bunlardan biri, tüm izoformlarda bulunan sessiz bir mutasyona (P33P, rs11704654) yol açmıştır ve diğer ikisi, özellikle TMPRSS6 izoformu 3'ü etkileyen sessiz bir mutasyon (C459C, rs2543520) ve yanlış anlam mutasyonuna sahiptir (Dion, Béliveau, Morency, Désilets, Najmanovich, Leduc, 2018). TMPRSS6 polimorfizmleri, demir eksikliği anemisinin yaygın formları için risk faktörleri olabilir ve mutasyonları, ailesel demir eksikliği ile ilişkili olabilmektedir (Finberg ve ark., 2008). TMPRSS6 eksikliği olan hücre kültürlerinde yapılan son çalışmalar, matriptaz-2'nin hepsidin ekspresyonunun negatif düzenleyicisi olarak işlev gördüğünü göstermiştir (Du ve ark., 2008, Folgureas ve ark., 2008). TMPRSS6 mutasyonları demir tedavisine dirençli demir eksikliği anemisi (IRIDA)'ne neden olurken, artmış hepsidin konsantrasyonları bağırsaktaki ferroportin dengesini bozmakta ve normal demir emilimine izin vermemektedir (Finberg ve ark., 2008). Hepsidin, demir metabolizmasının çekirdeğidir ve çeşitli arabulucular tarafından salınımı düzenlenir. Matriptaz-2, membrana bağlı hemojuvelini parçalayarak, hepsidin ekspresyonunu düzenler ve hepsidin transkripsiyonunu artırabilir (Hentze, Muckenthaler, Galy ve Camaschella, 2010). Genom çalışmalarında, bazı tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır. Bu SNP'ler arasında RS855791, genel popülasyonda kırmızı kan hücresi indeksleri ve demir parametreleri ile güçlü ilişkiye sahiptir (Benyamin ve ark., 2009). Bu SNP TMPRSS6 ve RS855791 (2321 C>T)'in işlevsel bölümünde bulunmaktadır. TMPRSS6 geni tarafından kodlanan membrana bağlı serin proteazın, hepsidinin fizyolojik bir baskılayıcısı olduğu da bir diğer çalışma tarafından saptanmıştır. (Beutler, Lee, Gelbart, Du ve Beutler, 2007). TMPRSS6 veya matriptaz-2, tip II

transmembran serin proteazları olarak tanımlanan hücre yüzeyi proteolitik enzim olan ailesinin bir üyesidir (Park, Lee , Kim, Park ve Park, 2005). Mevcut kanıt, TMRSS6 yokluğunda, artmış hepsidin konsantrasyonlarının bağırsak ferroportini düşürdüğünü ve normal demir absorpsiyonunu engellediğini düşündürmektedir (Beutler, Lee, Gelbart, Du ve Beutler, 2007). TMRP'nin kişilerde demir eksikliği anemisine olan eğiliminde etkili olabildiği görülmektedir (Dulundu ve Turgut, 2016).



Gereç ve Yöntem

3.1 Araştırmanın Tipi

Futbol hakemlerinde düzenli aerobik egzersizin hepsidin ve hematolojik parametreler üzerine etkisi ve TMRP'nin rolünü konu alan bu çalışma kesitsel bir laboratuvar çalışmasıdır. Araştırma yapısının “İnsanlar Üzerinde Yapılan Tıbbi Araştırmalarda Etik İlkeler Helsinki Deklerasyonu”na uyumlu olduğu Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (18-3/41).

3.2 Araç ve Gereçler

3.2.1. Biyokimya Analizlerinde Kullanılan Cihazlar

Cihaz Adı	Marka
Spektrofotometre	Shimadzu UV 1700 (Japan)
Otomatik Hematoloji Analizörü	Sysmax XN-2000 (Japan)
Santrifüj	Nüve NF 200 (Turkey)
Vortex	Elektro-mag M16 (Turkey)
Distilasyon Cihazı	Nüve NS 103 (Turkey)
Oto analizör	Sysmax XN-2000 (Japan)
Analizör	Sysmax XN-2000 (Japan)
Mikroplate Okuyucu	Dialab EL X800G (Austria)
Dikey Derin Dondurucu	Uğur UFR 370 SD (Turkey)

Tüpler

Plastik kapaklı Eppendorf tüpü	K3 EDTA'lı cam Vacutainer tüpü
Antikoagülanssız jelli vacutainer tüp (8,5 cc)	K3-EDTA' lı vacutainer cam tüp (2,5cc)
Heparinli kapiler Htc tüpü	Heparinli vacutainer tüp (2,5cc)

Otomatik Pipetler

0.1 ml - 0.2 ml - 1.0 ml (Brand, Germany)

3.2.2 Biyokimya Analizlerinde Kullanılan Kitler ve Maddeler

Madde	Firma
Nitrik Oksit ELISA kiti (96 TEST)	(Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd., China)
Hepsidin ELISA kiti (96 TEST)	(Elabscience biotechnology Co..Ltd.,China)
TOS kiti (100 test)	Rel Assay Diagnostics, Turkey)
TAS kiti (100 test)	Rel Assay Diagnostics, Turkey)
Okside LDL ELISA kiti (96 test)	(Elabscience biotechnology Co..Ltd.,China)

Pipet Uçları

Sarı otomatik pipet ucu

Mavi otomatik pipet ucu

Diğer Malzemeler

Steril vakutainer iğnesi (yeşil)

3.3 Yöntem

3.2.1 Örneklem Seçimi

Çalışmaya kabul edilecek katılımcılar, herhangi bir sakatlığı, hastalığı olmayan, alkol, sigara, veya herhangi bir ilacı ve antioksidan bir maddeyi düzenli olarak kullanmayan, obez olmayan (vücut kütle indeksi (VKİ) <30) ve 18-35 yaş arası kişilerdi.

Çalışma grubu en az 3-4 aydır düzenli olarak aerobik egzersiz yapmaktan olan sağlıklı erkek futbol hakemleri (sporcu grubu) ile düzenli olarak aerobik egzersiz yapmayan (sedanter) kişilerden (kontrol grubu) oluşturuldu. Çalışmaya gönüllü olarak katılacak yaklaşık 100 kişiye çalışmanın yararı, amacı, olası riskler, yapılacak testler hakkında bilgi verildi ve biyokimyasal parametrelerine bakıldı, boy, kilo ve beden kitle indeksi belirlendi. Yukarıda belirtilen testler ve sağlık kontrolleri sonucunda sağlıklı olduğu belirlenen 89 kişi çalışmaya dahil edildi. Katılımcılardan öğlen 12.00 de yemek yemeleri ve 16.00-17.00 arasında kol venasından kan vermek üzere laboratuvara gelmeleri istendi. Katılımcıların dayanıklılık düzeylerini belirlemek için saha koşullarında maksimal istemli tükenme düzeyine kadar sürdürülen yo-yo dinlenmeler içeren aralıklı dayanıklılık (koşu) testi (level 2) yapıldı. Test sonrası alınan kanlardan araştırma amacıyla; Hemogram, biyokimyasal parametreler; hepsidin, interlökin -6 (IL-6), kreatinin, total kolesterol (TK), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDLK),

düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K), trigliserid (TG), tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddeler (TBARS),okside LDL, nitik oksit (NO) düzeyleri, alanin amino transferaz (ALT) ve aspartat amino transferaz (AST) aktivitesi gibi biyokimyasal parametreler analiz edildi.

Çalışmaya dahil edilen 89 kişi aşağıda belirtilen şekilde seçilerek 2 farklı deney grubu oluşturuldu:

Sporcu Grubu (SG) (n=46) en az 3-4 aydır aerobik egzersiz yapan kişilerden oluştu.

Kontrol Grubu (KG) (n=43) fiziksel olarak egzersiz grubuna benzer nitelikteki spor yapmayan bireylerden oluştu. Kontrol grubundaki kişilerin en az 3-4 aydır egzersiz yapmıyor olmaları koşulu istendi.

3.3.2 Yapılan Testler

3.2.2.1 Fiziksel Ölçüm Yöntemleri Boy ve Vücut Ağırlığı:

Şortla ve ayakkabısız olarak elektronik medikal tartı aleti (Seca 769, Germany) kullanılarak ölçüldü.

Vücut Kütle İndeksi (VKİ): Boy ve vücut kütlelerinden aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$VKİ = \text{Ağırlık (kg)} / (\text{boy, m}^2)$$

3.2.2.2 Fizyolojik Ölçümler:

Katılımcıların dayanıklılık düzeylerini belirlemek için saha koşullarında yo-yo (level-2) aralıklı dayanıklılık (koşu) testi yapıldı.

Yo-Yo testinde katılımcılara başlama, dönme ve bitiş çizgileri arasında ileri ve geriye doğru yapılan kademeli olarak artan hızlardaki 2X20 metrelik mekik koşuları yaptırıldı. Her mekik koşusu arasında 5 metrelik bir alan içinde katılımcının yürüme ya da jog olarak yaptığı 10 saniyelik aktif bir toparlanma dönemi bulunmaktaydı. Test anındaki koşu hızı, CD çalardan otomatik olarak kontrol edilen uyarı sesleri ile belirlendi. 2 m genişliğinde ve 20 m uzunluğundaki koşu şeritlerini belirlemek için huniler kullanıldı. Her şerit, başlangıç çizgisinin 5 m arkasına yerleştirilen diğer bir huniye sahipti ve bu alan aktif toparlanma bölgesini göstermekteydi. Yo-yo testi Saunders, Sunderlans, (2012) çalışması referans alınarak yapıldı.

3.2.3 Kan Numunelerinin Alınması, Saklanması ve Analizleri

Gönüllülerden, soğutulmuş vakumlu, biri EDTA'lı tüpe olmak üzere 2 tüpe toplam 7,5 mL, diğeri 9 ml jelli 2 adet serum tüpüne venöz kan örnekleri alındı. Serum düz kan örnekleri 20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000g'de 15 dk santrifüjlenerek serumları ayrıldı.

EDTA'lı 1.tüpteki kan aynı gün içerisinde hemogram, diğer EDTA'lı tüpteki kan örneklerinden elde edilen lökositlerden izole edilen DNA numunelerinden TMPRSS6 RS855791 polimorfizmi (TMRP) belirlendi. Serum örneklerinden; hepsidin ve IL-6 düzeyi fakültemize ait Egzersiz Biyokimyası Laboratuvarında laboratuvar sorumlusu Doç. Dr. Faruk Turgay tarafından analiz edildi. Serum ve plazma numuneleri analizler yapıncaya kadar derin dondurucuda (-82 °C de) saklandı. Analizler 1 ay içerisinde gerçekleştirildi.

3.2.3.1 Hemogram Analizi

EDTA'lı tüpteki kandan hemogram analizi, aynı gün 3-4 saat içerisinde kan sayım cihazı (Sysmax XN-2000,JAPAN) ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında yapıldı. Hemogram ölçümü; eritrosit, lökosit, hematokrit, hemoglobin, trombosit ve ortalama eritrosit hacmi gibi parametreleri içermektedir.

3.2.3.2 Hepsidin, oksLDL ve IL-6 Analizi

Serum örneklerinden: Hepsidin, oksLDL ve IL-6 düzeyi enzim bağlantılı immüno sorbent analiz (ELISA) yönteminin kullanıldığı ticari kitlerle (Elabscience biotechnology Co.,Ltd.,China) mikrolate okuyucu (Dialab EL X800G, Austria) kullanılarak kit içeriklerindeki prosedürlere göre gerçekleştirildi.

Yöntemin ilkesi: Antijen-antikor reaksiyonu ile birlikte ilişkili bir enzimin aktivasyonu sayesinde meydana gelen renk şiddetinin ölçülmesidir.

3.2.3.3 TMPRSS6 RS855791 Polimorfizmi:

EDTA'lı hemogram tüplerine alınan kandan bir otoanalizör (Promega Maxwell® RSC-AS4500, USA) ile izolasyon kiti (Maxwell® RSC Blood DNA Kit-AS1400) kullanılarak yapıldı. İzole edilen DNA spektrofotometrik olarak kalite değerlendirilmesi yapıldı. Kan lökosit örneklerinden DNA izolasyonu ticari bir kit kullanılarak gerçekleştirildi. İzole edilen DNA spektrofotometrik ve elektroforezle kalite değerlendirilmesi yapıldıktan sonra her örnek için 50ng olacak şekilde polimeraz zincir reaksiyonuna alındı. TMPRSS6 genotipleme için PCR-RFLP tekniği kullanıldı. PCR işleminde kullanılan primer dizileri ve özgül restriksiyon enzimi aşağıda verilmiştir:

TMPRSS6 RS855791 polimorfizmi için aşağıdaki primerler kullanıldı:

5'-TAGAGAACAGGGGCTCCAGG-3' (f)
5'-ATGTGGGCAGCATCCTTTC-3' (r)

Restriksiyon enzimi: stul

3.2.4 Biyokimyasal Analizler

Serum örneklerinden: TK, TG, HDL-K, LDL-K, AST, ALT, kan şekeri, kreatinin, albumin, ve hemogram analizleri standart enzimatik-kinetik yöntemlerle Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında yapıldı. TAS, TOS ve NO ticari kitlerle TBARS ise manuel bir yöntemle gerçekleştirildi.

3.2.4.1 Total Antioksidan Statüsü (TAS)'nün Belirlenmesi:

Serum TAS düzeyleri, bir ticari kit (Rel Assay Diagnostics, Turkey) kullanılarak kromojenik metotla spektrofotometrik olarak bir mikrotabak okuyucuda (Dialab EL X800G, AUSTRIA) bir ay içerisinde gerçekleştirildi. Bu metotta; serumdaki antioksidan moleküller kullanılan kromojen madde ile yeni bir renk meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbansı serumdaki antioksidan miktarı ile orantılıdır. Sonuçlar (mmol Trolox equiv./L) olarak ifade edilmişti.

3.2.4.2 Total Oksidan Statüsü (TOS)'nün Belirlenmesi:

Serum TOS düzeyleri bir ticari kit kullanılarak (Rel Assay Diagnostics, Turkey) kromojenik metotla spektrofotometrik olarak bir mikrotabak okuyucuda (Dialab EL X800G, AUSTRIA) bir ay içerisinde gerçekleştirildi. Bu metotta; serumdaki oksidan moleküller kullanılan kromojen madde ile yeni bir renk meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbansı serumdaki oksidan miktarı ile orantılıdır. Sonuçlar; ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv./L) olarak ifade edilmiştir. Serum TOS miktarının TAS'a yüzde olarak oranı (TOS/TAS), oksidatif stres indeksi (OSİ) olarak kabul edilmektedir.

3.2.4.3 Tiyoarbütirik asit ile reaksiyona giren maddeler (TBARS) Ölçümü

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılan plazma TBARS ölçümü Erwin ve ark.'nın kullandığı yöntemle gerçekleştirildi.

Yöntemin ilkesi: tiyobarbütirik asid (TBA), asidik bir tampon içinde plazma örneği ile ısıtıldığında örnekteki TBA ile reaksiyon veren maddeler pembe renkli bir kompleks oluştururlar. Oluşan rengin şiddeti örnekteki TBARS konsantrasyonu ile ilişkilidir. Oluşan rengin absorbansı 532 nm de Ege Üniversitesi Egzersiz Biyokimya Laboratuvarımızda mevcut olan (Shimadzu UV 1700, JAPAN) spektrofotometre ile ölçüldü. Standart ile kıyaslanarak örnekteki TBARS konsantrasyonları belirlendi. Sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

3.2.4.4.Nitrik Oksit (NO) Ölçümü

NO 'ya özel antikorlarla çevrili mikro tabaklar ile enzim bağlı imminosorbent assay (ELISA) metodu kullanılan ticari kit ile (Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd., China) mikro tabak okuyucuda belirlendi. Sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

Yöntemin ilkesi: Antijen-antikor reaksiyonuyla beraber ilgili bir enzimin aktivasyonu sayesinde oluşan renk şiddetinin ölçülmesi. NO analizleri serum örneklerinden ticari bir kit kullanılarak ELISA yöntemiyle micro plate reader aletinde (Dialab EL X800G, AUSTRIA) yapıldı.

3.2.5 İstatistiksel Analizler

Verilerin analizinde ilk önce değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadığını sınamak için Shapiro-Wilk normallik testi uygulandı. Değişkenlere ait egzersiz ve kontrol gruplarından elde edilen ölçüm değerleri arasında anlamlı farklılığın olup olmadığının belirlenmesi için parametrik olan verilerde ‘T-Test’, nonparametrik olan verilerde ise ‘Mann Whitney U Testi’ uygulandı. Her iki grubun biyokimyasal parametreleri ve fiziksel ölçüm değerleri arasındaki ilişkiler “Spearman ve Pearson Korelasyon Analizleri” ile belirlendi. Genotip ve allel frekansları Hardy-Weinberg eşitliği kullanılarak hesaplandı. Gruplar arası genotip frekansları arasındaki farklılıklar ki-kare testi ile hesaplandı. Bağımlı değişkenler için genotip ve egzersiz arasındaki etkileşimler 2 x 2 (ana grup x genotip alt grupları) iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ile bulundu. İstatistiksel analizlerde $p < 0.05$ seviyesi anlamlılık düzeyi kabul edildi. İstatistiksel analizler, SPSS 22 paket programıyla gerçekleştirildi.

Bulgular

Sporcu grubunun (SG) yo-yo testi değeri kontrol grubununkinden (KG) anlamlı olarak daha büyüktü. Diğer fiziksel ve fizyolojik parametreler için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 1).

Tablo 1. Katılımcıların fiziksel ve fizyolojik parametreleri parametrelerinin karşılaştırılması

GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKİ (kg/m ²)	Yo-Yo Mesafe (m)
SG (n=46)	23,16±3,23	179,72±6,4	74,11±8,1	22,75±2.06	1640,86±615,9
KG (n=43)	24±2,09	177,32±6,37	75,48±7,95	24±2.09	690,2±300,3
Fark	p=0.403	p=0.083	p=0.423	p=0.006	p=0.00

SG: sporcu grubu, KG: kontrol grubu, VKİ; Vücut Kütle İndeksi, VA: Vücut Ağırlığı, Yo-Yo: aralıklı dayanıklılık testi

SG'nin TAS değeri KG'ninkinden anlamlı olarak daha büyüktü. KG'nin oksLDL değeri ise SG'ninkinden anlamlı olarak daha büyük bulundu. KG'nin OSİ değeri SG'ninkinden anlamlı olarak daha büyüktü. Diğer oksidatif stres ve antioksidan parametreleri için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 2).

Tablo 2: Sporcu ve kontrol grubunun oksidatif stres ve antioksidan parametreleri (Ort ±.SD) karşılaştırılması

GRUPLAR	SG (n=46)	KG (n=43)	Fark
NO (µmol/L)	454,25±563,24	322,92±352,15	p=0.414
Hepsidin (ng/mL)	13,73±4,89	13,61±3,22	p=0.889
OksLDL (pg/mL)	1239,73±306,84	1398,01±266,79	p=0.011
TAS (mmol Trolox eşdeğeri/L)	1,283±0,19	1,280±0,19	p=0.000
TOS (µmol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	5,96±2,4566	6,79±3,14	p=0.164
OSİ	4,21±2,02	4,71±2,05	p=0,008
TBARS (µmol/L)	9,98±8,071	9,163±6,58	p=0.223
IL-6 (pg/mL)	61,93±84,60	93,84±140,62	p=0.105

SG: sporcu grubu, KG: kontrol grubu NO:Nitrik Oksit, oksLDL:Okside LDL, TAS: Total Antioksidan Statüsü, TOS: Total Oksidan Statüsü, TBARS: Tiyobütirik asit ile rekasyona giren maddeler IL-6: İnterlökin OSİ: Oksidatif Stres İndeksi 6, RA:Referans Aralığı

KG'nin demir değeri SG'ninkinden anlamlı olarak daha büyüktü. Diğer biyokimyasal parametreleri için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 3).

Tablo 3. Sporcu ve kontrol grubunun biyokimyasal parametreleri karşılaştırılması (Ort \pm SD)

GRUPLAR	GLU (mg/dl)	KREATİNİN (mg/dL)	ALB (g/dL)	ALT (U/dL)	AST (U/L)	FERRİTİN (ng/mL)	DEMİR (gr/dl)	TDBK (ug/dL)
SG (n=46)	84,47 \pm 8,24	0,87 \pm 0,15	5,22 \pm 0,22	20,30 \pm 9,91	20,282 \pm 5,84	76,34 \pm 60,19	81,34 \pm 28,57	355,36 \pm 52,29
KG (n=43)	84,69 \pm 7,60	0,94 \pm 0,17	5,10 \pm 0,26	20,86 \pm 12,26	25,93 \pm 33,15	77,13 \pm 57,55	99,51 \pm 41,78	340,58 \pm 36,45
Fark	p=0.897	p=0.054	p=0.20	p=0.977	p=0.259	p=0.967	p=0.018	p=0.124
RA	60-110	0,7-1,3	3,5-5,2	0-45	0-40	22-232	70-180	225-480

SG: sporcu grubu, KG: kontrol grubu, GLU: glukoz, ALB: Albümin, ALT: Alanin Aminotransferaz, AST: Aspartat Aminotransferaz, TDBK: Total Demir Bağlama Kapasitesi, RA: Referans aralığı.

KG'nin MCV değeri SG'ninkinden anlamlı olarak daha büyüktü. SG'nin lökosit değeri KG'ninkinden anlamlı olarak daha büyüktü. Diğer hemogram parametreleri için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 4).

Tablo 4. Sporcu ve kontrol grubunun hemogram parametrelerinin karşılaştırılması

GRUPLAR	HB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	PLT (10 ³ / μ L)	WBC (10 ³ / μ L)	RBC (10 ⁶ / μ L)
SG (n=46)	15,67 \pm 1,08	46,12 \pm 2,41	85,56 \pm 4,35	270,02 \pm 60,72	8,53 \pm 1,68	5,40 \pm 0,36
KG (n=43)	15,45 \pm 1,01	46,69 \pm 3,44	89,24 \pm 8,55	261,53 \pm 59,3	6,56 \pm 2,05	5,26 \pm 0,46
Fark	P=0.321	P=0.372	P=0.045	P=0.507	P=0.000	P=0.111
RA	12,5-18	38-54	80-99	140-450	4.5-11	4.3-.5.7

SG: sporcu grubu, KG: kontrol grubu, HB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama alyuvar hacmi, PLT (Platelet): Trombosit, WBC: Lökosit, RBC: Kırmızı kan hücresi (eritrosit), RA: Referans Aralığı

Lipid ve lipoprotein parametreleri için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 5).

Tablo 5. Sporcu ve kontrol grubunun lipid ve lipoprotein parametrelerinin karşılaştırılması

GRUPLAR	TK (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	TRIG (mg/dL)
SG (n=46)	156,02 \pm 22,54	47,13 \pm 11,84	85,41 \pm 20,02	122,45 \pm 94,19
KG (n=43)	154,04 \pm 30,72	45,72 \pm 9,23	83,83 \pm 27,17	126,83 \pm 80,61
Fark	P=0.729	P=0.536	P=0.755	P=0.588
RA	<200	<130	>55	<150

SG: sporcu grubu, KG: kontrol grubu, TK: Total Kolesterol, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, TRIG: Trigliserit, RA: Referans aralığı.

TMRP'ye İlişkin Bulgular

TMPRSS6 RS855791 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekanslarının sporcu, sedanter ve total gruplar arasındaki dağılımı tablo 6'da verildi. Bazı genotip grupların sayısı çok küçük olduğu için ilişkili genotip gruplarda birleştirme yapıldı taşıyıcı gruplar oluşturuldu ve hesaplamalar bu veriler üzerinden yorumlandı. Tmprss6 Rs855791 genotip frekansları sporcularda; CC, CT, TT için sırasıyla %14, %25, %7, sedanterlerde; %15, %22, %6, tüm grupta ise %29, %47, %13 bulundu. **TMRP genotip** ve allel frekansları açısından sporcu ve sedanter gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($\chi^2=0,202$, $p=0,904$; $\chi^2=0.046$, $p=0.829$). Bu analizler neticesinde bulunan C ve T homozigotlarının frekans değerlerinin,, Mendelian kuralına" göre "Hardy-Weinberg eşitliği (Passarge, Lüleci, Sakızlı, & Alper, 2009)'ni çalışmamızda total genotiplemede saptadığımız frekans değerleri Hardy-Weinberg eşitliğini sağlamıştır.

Tablo 6. TMRP genotip ve allelik frekansları

Polimorfizm	Frekanslar	Gruplar	Sporcu	Sedanter	Total
TMPRSS6 Rs855791	Genotip frekanslar	CC	14 (%30.4)	15 (%34.9)	29 (%32.6)
		CT	25 (%54.3)	22 (%51.2)	47 (%52.8)
		TT	7 (%15.2)	6 (%14.0)	13 (%14.6)
	Allel frekansları	C	0.304	0.349	0.326
		T	0.696	0.651	0.674

CC: Total C homozigot grubu, TC: TC heterozigot grubu, TT: Total T homozigot grubu

Total TMPRSS6 RS855791 genotiplemesine göre; total C homozigot grubu (CC), total T heterozigot grubu (TC), total TT homozigot grubu (TT) incelendiğinde; aşağıda verilen tablolardaki (Tablo7,8,9,10,11) parametreler açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Tablo 7. Total (T) genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik parametreleri (Ort \pm SD) karşılaştırılması

GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKİ (kg/m ²)	YOYO (m)
CC(n=29)	22,83 \pm 0,84	178,9 \pm 0,99	74,37 \pm 0,77	23,00 \pm 0,66	1106,2 \pm 0,64
TC(n=13)	23,00 \pm 0,84	178,3 \pm 0,99	75,41 \pm 0,77	23,66 \pm 0,66	1188,9 \pm 0,64
TT(n=47)	23,51 \pm 0,84	178,42 \pm 0,99	73,36 \pm 0,77	23,02 \pm 0,66	1323,07 \pm 0,64

CC: Total C homozigot grubu, TC: TC heterozigot grubu, TT: Total T homozigot grubu VA: Vücut Ağırlığı, VKI: Vücut Kitle İndeksi, YO-YO; Aralıklı dayanıklılık testi(level -2)

Tablo 8. Total (T) genotip gruplarına ait oksidatif stres ve antioksidan parametrelerinin karşılaştırılması

GRUPLAR	NO (μ mol/L)	HEPSİDİN (ng/ml)	oksLDL (μ mol/L)	TAS (mmol Trolox eşdeğeri/L)	TOS (μ mol H2O2 eşdeğeri/L)	OSİ	TBARS (μ mol/L)	İL-6 (pg/mL)
CC(n=29)	510,6 \pm 0,19	13,07 \pm 0,36	1307,2 \pm 0,99	1,20 \pm 0,54	5,91 \pm 0,9	4,65 \pm 0,37	9,22 \pm 0,30	60,49 \pm 0,84
TC(n=13)	355,1 \pm 0,19	13,74 \pm 0,36	1324,0 \pm 0,99	1,19 \pm 0,54	6,26 \pm 0,9	4,89 \pm 0,37	9,00 \pm 0,30	69,2 \pm 0,84
TT(n=47)	252,4 \pm 0,19	14,91 \pm 0,36	1307,6 \pm 0,99	1,26 \pm 0,54	7,71 \pm 0,9	5,84 \pm 0,37	12,49 \pm 0,30	144,22 \pm 0,84

CC: Total C homozigot grubu, TC: TC heterozigot grubu, TT: Total T homozigot grubu NO:Nitrik Oksit, oksLDL:Okside LDL, TAS: Total Antioksidan Statüsü, TOS: Total Oksidan Statüsü, TBARS: Tiyobütirik asit ile rekasyona giren maddeler İL-6: İnterlökin 6 OSİ: Oksidatif Stres İndeksi

Tablo 9. Total genotip gruplarına ait biyokimyasal parameterlerinin karşılaştırılması

GRUPLAR	GLU (mg/dL)	KREATİNİN (mg/dL)	ALB (g/dL)	ALT (U/L)	AST (U/L)	FERRİTİN (ng/mL)	DEMİR (mg/dL)	TDBK (ug/dL)
CC(n=29)	86,31 \pm 0,47	0,90 \pm 0,90	5,16 \pm 0,97	19,4 \pm 0,26	22,6 \pm 0,11	62,7 \pm 0,54	95,9 \pm 0,26	357,8 \pm 0,5
TC(n=13)	83,89 \pm 0,47	0,92 \pm 0,90	5,17 \pm 0,97	20,0 \pm 0,26	20,0 \pm 0,11	86,6 \pm 0,54	89,8 \pm 0,26	342,1 \pm 0,5
TT(n=47)	83,23 \pm 0,47	0,89 \pm 0,90	5,14 \pm 0,97	24,9 \pm 0,26	34,5 \pm 0,11	82,9 \pm 0,54	77,9 \pm 0,26	348,8 \pm 0,5

CC: Total C homozigot grubu, TC: TC heterozigot grubu, TT: Total T homozigot grubu GLU:glukoz, ALB:Albümin, ALT: Alanin Aminotransferaz, AST:Aspartat Aminotransferaz TDBK:Total Demir Bağlama Kapasitesi

Tablo 10. Total genotip gruplarına ait hemogram parametreleri (Ort \pm SD) karşılaştırılması

GRUPLAR	HB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	PLT (μ L)	WBC ($10^3/\mu$ L)	RBC ($10^6/\mu$ L)
CC(n=29)	15,30 \pm 0,36	46,67 \pm 0,69	86,55 \pm 0,86	268103,4 \pm 0,5	7,97 \pm 0,13	5,40 \pm 0,68
TC(n=13)	15,67 \pm 0,36	46,39 \pm 0,69	87,99 \pm 0,86	260404,2 \pm 0,5	7,12 \pm 0,13	5,30 \pm 0,68
TT(n=47)	15,77 \pm 0,36	45,80 \pm 0,69	86,76 \pm 0,86	260404,2 \pm 0,5	8,36 \pm 0,13	5,28 \pm 0,68

CC: Total C homozigot grubu, TC: TC heterozigot grubu, TT: Total T homozigot grubu HB:Hemoglobin, HCT: Hemotokrit, MCV: Ortalama alyuvar hacmi PLT (Platelet): Trombosit WBC: Lökosit, RBC: Kırmızı kan hücresi (eritrosit) RA: Referans Aralığı

Tablo 11. Total genotip gruplarına ait KKH klasik risk faktörleri parametrelerinin karşılaştırılması

GRUPLAR	TK (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	TRIG (mg/dL)
CC(n=29)	148,1 \pm 0,11	43,86 \pm 0,34	86,37 \pm 0,75	110,7 \pm 0,24
TC(n=13)	156,7 \pm 0,11	48,6 \pm 0,34	84,04 \pm 0,75	124,7 \pm 0,24
TT(n=47)	164,5 \pm 0,11	44,3 \pm 0,34	89,69 \pm 0,75	155,0 \pm 0,24

CC: Total C homozigot grubu, TC: TC heterozigot grubu, TT: Total T homozigot grubu TK: Total Kolesterol, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein. LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein TRIG: Trigliserit

Sporcu Genotip Gruplarının Karşılaştırıldığında: TMRP göz önüne alındığında: t taşıyıcı (Tt, Tc=tt+tc) grubunun TBARS değerleri homozigot cc grubununkinden anlamlı olarak da daha büyüktü) Kan lipid ve lipoprotein düzeyleri dahil diğer parametreler için grup içinde anlamlı bir fark bulunmadı.

Kontrol Genotip Gruplarının Karşılaştırıldığında; TMRP göz önüne alındığında: t taşıyıcı (Tt, Tc=tt+tc) grubunun Demir, Eritrosit, değerleri homozigot cc grubununkinden anlamlı olarak da büyüktü ($p < 0.05$). Kan lipid ve lipoprotein düzeyleri dahil diğer parametreler için grup içi anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

TMRP Genotiplemesine Göre Sporcu ve Sedanter Genotip Gruplarının Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular

Sporcu CC homozigot grubu endurans kapasitesi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha büyük bulundu. TMRP 'nin sporcu Tt heterozigot grubu TAS, lökosit, eritrosit ve endurans kapasitesi değerikontrol grubuna göre anlamlı olarak daha büyük bulundu. Sporcu Tt

heterozigot grubu Rbc (eritrosit) değeri kontrol Tt heterozigot grubunkinden anlamlı olarak büyüktü ($p=0,005$) , Bu farklılık **TMRP** ile ilişkilidi ($(F(1,85)= 6,001; p=0,016)$).



Tablo 12. TMRP sporcu ve sedanter genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort. ±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG			KG		
	SCC (n=14)	STT (n=7)	STC (n=25)	KCC(n=14)	KTT(n=7)	KTC(n=22)
YAŞ (yıl)	23,64 ±3,7	23,39±2,9	22,84±2,4	22,64±2,70	21,71±1,38	23,95±3,93
BOY (cm)	179,8±5,7	178,43±8,8	179,6±6,17	177,5±7,34	176,21±6,09	177,56±6,06
VA (kg)	74,2±8,6	75,14±6,6	73,48±8,4	76,38±8,77	68,96±5,65	76,99,1±7,25
VKI (kg/m ²)	22,52±2,0	23,56±1,2	22,68±2,32	24,21±1,98	22,19±1,29	24,44±2,12
Hepsidin(ng/ml)	13,0±4,9	13,17±4,32	14,40±5,1	13,24±3,80	14,60±2,22	13,53±3,17
IL-6(pg/mL)	73,7±69,9	33,58±20,6	63,26±101,7	63,9±111,16	156,42±192,53	92,99±139,30
NO(µmol/L)	655,46±790,6	206,44±301,6	390,3±440,0	373,68±419,3	247,43±292,87	314,63±333,1
oksLDL(pg/mL)	1153,8±305,7	1280,26±268,8	1287±317,5	1433,8±333,4	1392,09±369,68	1377,09±182,14
TBAR (µmol/L)	13,7±12,2	8,87±4,38	7,32±2,53	7,5±5,2	7,72±3,36	10,6 ±7,87
TAS (mmol Trolox eşdeğeri/L)	1,25±0,2	1,36±0,09	1,25±0,2 ^a	1,14±0,17	1,12±0,11	1,12±0,18
TOS (µmol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	6,39±2,2	6,60±1,42	5,43±2,65	6,14±2,86	5,94±3,80	7,48±3,08
AST (U/L)	20,8±6,6	19,28±4,68	19,9±5,86	26,92±29,6	45,14±71,51	19,18±4,76
ALT (U/L)	21,6±10,9	24,0±16,7	18,1±6,5	21,28±11,5	24,14±21,11	19,54±9,25
ALB(g/dL)	5,2±0,2	5,17±0,24	5,24±0,24	5,07±0,23	5,18±0,10	5,09±0,31
GLU(mg/dL)	86,7±7,5	85,28±6,92	82,7±8,93	88,2±8,86	84,42±6,34	82,54±6,50

SG: Sporcu grubu, KG: Kontrol grubu, SCC: Sporcu grubuna ait CC genotipi, STT: Sporcu grubuna ait AG genotipi, KCC: Kontrol grubuna ait CC genotipi, KTT: Kontrol grubuna ait TT genotipi, VA: Vücut Ağırlığı, VKI: Vücut Kitle İndeksi, IL-6: İnterlökin 6, NO: Nitrik Oksit, OksLDL: Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, TBARS: Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, TAS: Total Antioksidan Statüsü, TOS: Total Oksidan Statüsü, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, Alb: Albümin, GLU: Glukoz

Tablo 13. TMRP sporcu ve sedanter genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametrelerin karşılaştırılması

Parametreler	SG			KG		
	SCC (n=14)	STT (n=7)	STC (n=25)	KCC(n=14)	KTT(n=7)	KTC(n=22)
TRIG(mg/dL)	161,1±147,12	102,85±42,75	104,40±56,63	104,07±29,3	96,14±35,14	151,09±404,09
HDL-K (mg/dL)	41,9±11,8	47,71±8,90	50,64±12,42	42,1±6,41	47,00±8,66	47,40±10,61
LDL-K (mg/dL)	88,0±21,4	88,14±12,34	84,24±19,71	85,64±36,13	91,42±22,24	80,27±22,19
TK(mg/dL)	159,0±22,5	156,57±12,36	155,68±23,59	148,92±37,45	157,71±27,04	156,13±28,01
DEMİR(mg/dL)	73,5±28,6	61,71±16,26	92,16±27,19	116,9±53,2	98,14±38,89	89,04±31,6
TDBK(ug/dL)	369,9±51,5	370,71±66,41	339,48±45,61	343,57±46,89	349,71±44,5	335,77±25,92
Kreatinin (mg/dL)	0,90±0,15	0,92±0,12	0,86±0,15	0,90±0,26	0,92±0,11	0,97 ±0,12
FERRİTİN (ng/mL)	66,4±43,3	63,25±41,74	86,01±71,42	65,99±42,37	83,03±50,10	82,34±68,3
WBC (10 ³ /μL)	8,7±1,30	8,90±1,46	8,37±1,91 ^b	6,68±1,68	8,58±1,59	5,84±2,01
RBC (10 ⁶ /μL)	5,40±0,3	5,47±0,25	5,42±0,39 ^b	5,49±0,51	5,19±0,19	5,13±0,45
Hb (g/dL)	15,4±0,9	15,97±1,52	15,74±1,06	15,15±1,29	15,75±0,76	15,54±0,87
Hct (%)	45,9±2,5	46,47±2,11	46,24,2±2,47	47,51±3,70	45,42±1,45	46,56±3,69
MCV (fL)	85,7±2,5	85,4,87±2,16	85,59±5,48	86,9±8,90	87,54±3,14	91,25±9,26
PLT (10 ³ /μL)	250642,8±64810,5	275600±5953,8	268652,17,3±61566,6	270571,42±57532,2	268428,57±90258,62	253590,9±50310,1
Yo-Yo(m)	1594,28±618,650 ^b	1697,14±825,5	1640,86±615,90 ^b	648,57±302,26	857,14±174,13	663,63±322,52

SG: Sporcu grubu, KG: Kontrol grubu, SCC: Sporcu grubuna ait CC genotipi, STT: Sporcu grubuna ait AG genotipi, KCC: Kontrol grubuna ait CC genotipi, KTT: Kontrol grubuna ait TT genotipi, TRIG: Trigliserit, HDL-K:Yüksek yoğunluklu lipoprotein , LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein, TK: Total Kolesterol WBC: Lökosit, RBC: Kırmızı kan hücresi(eritrosit) , Hb: Hemoglobün Hct: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosithacmi, PLT (Platelet): Trombosit, a: p<0.05 SG'nin KG ile karşılaştırılması, b: p<0.01 SG'nin KG ile karşılaştırılması.

Sporcuların Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları;

Vücut ağırlığı (VA) ile demir arasında ve ALT arasında ; vücut kitle indeksi (VKİ) ile ALT arasında, total kolesterol (TK) arasında ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) arasında anlamlı ilişki bulundu (Tablo 14).

Hepsidin ile Total demir bağlama kapasitesi (TDBK) arasında ve ferritin arasında ; Demir ile HDL arasında ,albümin arasında ve TOS arasında ; Total demir bağlama ile ferritin arasında (; IL-6 ile ALT arasında, AST arasında , TK arasında, HDLK arasında ve TOS arasında; ALT ile TK arasında, HDLK arasında hemoglobin (Hb) arasında , Hematokrit (Hct) arasında MCV arasında ve eritrosit (RBC) arasında ve TAS arasında; AST ile MCV arasında, WBC arasında , RBC arasında ;TK ile LDLK arasında ve oksLDL arasında ; HDLK ile TBARS arasında (ve TOS arasında ;LDL ile oksLDL arasında ve TBARS arasında ; Hb ile Hct arasında ve RBC (eritrosit) arasında; Hct ve RBC arasında; MCV ve RBC arasında; WBC ile PLT arasında; TBARS ve TOS arasında ; kreatin ve TAS arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. (Tablo 15)

Tablo 14. Sporcu grubunun fiziksel ve fizyolojik parametreleri ile biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi (n=46)

	YAŞ	BOY	VA	VKİ	yo-yo
Demir	-,218	-,101	-,293*	-,284	,082
ALT	,340*	-,127	,325*	,445**	-,135
TK	,191	-,229	,110	,388**	-,190
LDL-K	,126	-,267	,026	,303*	-,097
Alb	-,065	-,066	-,349*	-,419**	,042
TOS	,139	,116	,336*	,363*	,025
KRE	,098	,051	,424**	,476**	,130

VA: Vücut Ağırlığı **VKİ:** Beden Kitle İndeksi **ALT:** Alanin amino transferaz, **TK:** Total Kolesterol **LDL-K:** Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, **Alb:** albümin **TOS:** Total Oksidan Statüsü, **KRE:** Kreatinin *p < 0.05. ** p < 0.001.

Tablo 15. Sporcuların biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi

	Hepsidin	TDBK	Ferritin	ALT	AST	TK	HDLK	LDLK	oksLDL	Hb	Hct	MCV	WBC	RBC	PLT	Alb	TBARS	TAS	TOS
Hepsidin		-,619**	,873**	,018	-,093	-,039	-,155	,115	,060	,009	-,031	,083	,191	,018	,018	-,147	-,104	-,013	-,062
DEMİR		,076	,203	-,185	-,067	-,007	,391**	-,007	-,065	,178	,148	,096	-,172	-,194	-,194	,444**	-,183	-,246	-,398**
TDBK			-,437**	,126	,183	,030	,014	,022	-,026	,218	,211	-,123	-,056	,016	-,056	,436**	,045	,005	,055
IL-6				,361*	,343*	,425**	-,495**	,195	,018	,113	,110	-,066	,131	,102	,182	-,013	,006	,004	,450**
NO				-,129	-,073	-,087	,076	-,105	-,058	-,094	-,126	-,005	-,025	,034	,006	-,236	,047	-,013	-,126
ALT					,697*	,294*	,336*	,106	-,030	,442**	,336*	,347*	,106	,447**	,025	-,036	,131	,300*	,190
AST						,045	-,264	-,094	-,176	,045	,068	-,540**	-,293*	,499**	-,137	,005	,131	,205	,164
TK							-,009	,818**	,320*	,103	,149	-,084	-,135	,158	,016	-,069	-,053	,163	,045
HDLK								-,135	,059	-,019	,045	-,028	-,126	,054	-,160	,164	-,528**	,088	-,386**
LDLK									,348*	-,057	-,035	-,153	-,138	,072	-,032	-,009	-,316*	-,168	-,013
oksLDL										,085	-,081	,228	,011	-,257	,021	,199	-,058	-,244	,081
Hb											,833**	,309*	,126	,371*	,095	,208	,263	,092	-,052
Hct												,184	-,003	,598**	,120	,155	,212	-,020	,068
MCV													,122	-,673**	,049	-,052	,101	-,194	,102

TDBK: Total Demir Bağlama Kapasitesi **Fe:** Demir, **IL-6:** İnterlökin 6, **ALT:** Alanin amino transferaz, **AST:** Aspartat amino transferaz, **TK:** Total Kolesterol, **HDLK:** Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, **LDLK:** Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, **oksLDL:** Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, **Hb:** Hemoglobin, **Hct:** Hematokrit, **MCV:** Ortalama eritrosit hacmi, **WBC:** Lökosit, **RBC:** Kırmızı kan hücresi (eritrosit), **PLT:** Trombosit, **Alb:** Albümin, **TBARS:** Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, **GLU:** Glukoz **KRE:** Kreatinin, **TAS:** Total Antioksidan Statüsü, **TOS:** Total Oksidan Statüsü

Kontrol Grubunun Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları; Boy ile RBC arasında; VKİ ile Hct arasında;YOYO ile albümin arasında anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 16).Hepsidin ile total demir bağlama arasında ve TK arasında ; Demir ile ferritin arasında ;Total demir bağlama ile ferritin arasında ; IL-6 ile TK arasında; NO ile PLT arasında; AST ile TK arasında ; TK ile LDLK arasında ve TBARS arasında; HDL ile TRIG arasında ve Alb arasında; LDL ile PLT arasında ; TRIG ile MCV arasında , TBARS arasında ve TOS arasında ; Hb ile Hct arasında, Alb arasında ve MaxVo2 Arasında ; Hct ile Rbc arasında ve TAS arasında ; MCV ile WBC arasında ve RBC arasında ; WBC ile RBC arasında ve TAS arasında; Alb ile MaxVo2 arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur (Tablo.17).

Tablo 16. Kontrol grubunun fiziksel ve fizyolojik parametreleri ile biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi (n=43)

	YAŞ	BOY	VA	VKİ	YOYO
HCT	-,061	-,034	,228	,314*	-,173
Alb	-,174	-,019	-,179	-,181	,434**
KRE	-,363*	,066	,132	,108	,137
RBC	-,006	-,382*	-,185	,092	-,033

VA: Vücut Ağırlığı, **VKI:** Beden Kütle İndeksi, **Hct:** Hematokrit, **Alb:** Albümin, **KRE:** Kreatinin, **RBC:**Kırmızı kan hücresi(eritrosit

Tablo 17. Kontrol Grubunun biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi

	TDBK	Ferritin	NO	AST	TK	LDLK	TRIG	Hct	MCV	WBC	RBC	PLT	Alb	TBARS	GLU	TAS	TOS	YOYO
Hepsidin	-,355*	,657**	-,020	-,046	,323*	,276	,174	,015	,079	,083	-,077	,009	,060	,165	,011	-,128	,133	-,132
Demir	-,245	,304*	,312*	-,055	033,	,108	-,247	,066	-,122	,068	,289	,162	,250	-,100	-,093	,085	-,179	-,052
TDBK		-,343*	,177	,000	-,023	-,015	-,021	-,218	,006	,047	-,163	,172	,034	-,014	,155	-,158	,209	,070
IL-6			,099	-,098	,339*	,215	,158	-,119	,097	,087	-,196	,104	,119	,066	-,144	-,171	,104	,104
NO				,097	-,104	-,043	-,150	,040	-,252	,028	,187	,408**	-,016	,063	,029	,123	-,021	-,032
ALT				,630**	-,125	-,118	,081	,085	,058	-,269	,061	-,263	-,155	-,025	,218	,077	,169	-,157
AST					-,374*	-,268	-,054	-,080	-,059	-,101	,095	-,226	-,072	,044	,161	,063	,239	,122
TK						,890**	,292	,191	,247	-,010	-,158	,269	,021	,339*	-,029	-,008	,203	,123
HDLK						-,058	-,334*	-,078	-,163	,099	,094	-,206	,369*	-,121	-,068	-,089	-,072	,012
LDLK							,002	,179	,168	,079	-,064	,363*	-,118	,099	,016	,067	,027	,043
TRIG								,052	,411**	-,195	-,274	,112	-,040	,742**	-,022	-,096	,425**	,044
Hb								,324*	,118	,211	,015	-,087	,502**	,180	-,164	,120	,016	,306*
Hct									,298	-,233	,301*	-,052	,032	-,032	-,073	,603**	-,152	-,109
MCV										-,494**	-,700**	,022	-,105	,315*	-,190	,110	-,202	,129
WBC											,364*	,229	,293	-,118	-,042	-,309*	-,085	,199
RBC												-,035	,160	-,293	,202	,247	-,035	-,071
PLT													-,130	,082	-,067	-,180	-,176	-,147
Alb														,101	,030	,065	,048	,406**
TBARS															-,069	-,062	,306*	,181

TDBK: Total Demir Bağlama Kapasitesi, **IL-6:** İnterlökin 6, **ALT:** Alanin amino transferaz, **AST:** Aspartat amino transferaz, **TK:** Total Kolesterol, , **HDL:**Yüksek yoğunluklu lipoprotein , **LDL-K:** Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, **OksLDL:** Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, **Hb:** Hemoglobin, Hct: Hematokrit, **MCV:** Ortalama eritrosit hacmi, **WBC:** Lökosit, **RBC:** Kırmızı kan hücresi (eritrosit), **PLT:** Trombosit, **Al:** Albümin, **TBARS:**Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, **GLU:** Glukoz **KRE:** Kreatinin, **TAS:** Total Antioksidan Statüsü, **TOS:** Total Oksidan Statüsü

Tartışma

Hepsidin peptid yapıda bir hormondur, bağırsaklardaki demir emiliminin,hepatik depolardan demir salınımının ve makrofajlardaki demir döngüsünün homeostatik düzenleyicisidir (Başol, Barutçuoğlu ve Bozdemir, 2007). Yapılan bir çalışmada kürek sporu yapan kişilerdehepsidin, IL-6 ve demir metabolizması parametrelerinde egzersizin önemli değişiklikler yarattığı belirtilmektedir (Skarpan'ska-Stejnborn, Basta, Trzeciak ve Pilaczyn'ska, 2015). Tmprss6 geninin insanlarda sistemik demir homeostazı için gerekli olduğu ve hepsidin seviyelerini düzenlediği bildirilmektedir. (Finberg ve ark., 2008). Bu nedenle aerobik egzersizin hepsidin düzeyleri üzerindeki muhtemel etkisinde belirtilen polimorfizmin (TMRP)'nin rolü olabilir. Ancak literatürde buna ilişkin benzer bir çalışmaya rastlanmadı. Bu nedenle bu çalışmada düzenli aerobik egzersiz yapan futbol hakemlerinin hepsidin ve hematolojik parametreler üzerine etkilerini ve bu muhtemel etkilerde TMRP'nin rolünü araştırmayı planladık.

Aerobik Antrenmanların Hepsidin ve Hematolojik Parametreler Üzerine Etkileri

Bu çalışmanın temel bulguları; genotip gruplar dahil tüm sporcu grupların aerobik kapasitesi (YOYO testi değeri) kontrol gruplarınınkinden anlamlı olarak daha büyüktü. SG'nin demir (p = 0.018) ve MCV (p = 0.000) değerleri KG'ninkilerden anlamlı olarak daha küçüktü SG'nin TAS (p=0,08) ve oksLDL (p = 0.011) değerleri KG'ninkinden daha büyük ve fakat OSİ (p=0,08) değeri daha küçüktü. Diğer oksidatif stres parametreleri için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (p > 0.05). Sporcularda (n= 46); T taşıyıcı grubunun (Tt, Tt=TC+TT), MCV (p = 0.035) değerleri kontrol (n=43)'ünkinden anlamlı olarak daha küçük; eritrosit sayısı (p=0,004) ve TAS değeri (p=0,001)ise TMRP'ye bağlı olarak daha büyüktü Kontrol genotip grubunda (n=43) homozigot CC grubunun eritrosit (p=0,027) sayısı Tt grubununkinden anlamlı olarak daha büyüktü. Hepsidin için gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (p > 0.05).

Bu bulgular,aerobik antrenmanların futbol hakemlerinde, aerobik ve antioksidan sistemin kapasitesiniarttırdığını gösterir.

Bu bulgular aerobik antrenmanların hakemlerde demir düzeylerini düşürdüğünü ve demir eksikliği anemi riski yarattığını gösterir (Magazanik ve ark., 1988). Diğer hematolojik ve biyokimyasal parametreler için genotip gruplar dahil tüm gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (p > 0.05) (Tablo 3., Tablo 4., Tablo 5.).

Magazanik ve ark.'nın çalışmasında, yoğun antrenmanların demir eksikliğine yol açabileceği belirtilmektedir (Magazanik ve ark. 1988), bu bulgular çalışmamızı desteklemektedir.

Bizim çalışmamızdan farklı olarak Skarpan'ska-Stejnborn ve ark.'nın çalışmasında, yüksek yoğunluklu kürek egzersizi sonrasında hepsidin seviyeleri, IL-6 ve demir metabolizması parametrelerinde başlangıç seviyelerine göre anlamlı değişiklikler olduğunu , toparlanma döneminde ise başlangıç değerlerine geri döndüğünü, serum demir düzeylerinin, toparlanma sırasında egzersiz öncesi seviyelerine göre anlamlı derecede azaldığını bildirmişlerdir. (Skarpan'ska-Stejnborn, Basta, Trzeciak ve Pilaczyn'ska, 2015). Bu çalışma bulguları, demir parametresi hariç diğer parametreler açısından bizimkinden farklılık göstermektedir.

Bir diğer çalışmada; bizim çalışmamızdan farklı olarak egzersizden 3 saat sonra hepsidin ve IL-6'da belirgin artışlar görüldüğü, egzersizden 9 saat sonra hepsidin ve demir seviyelerinin başlangıç seviyelerine göre belirgin düşüşler gözlemlendiği belirtilmiştir (Newlin, Williams, McNamara, Tjalsma, Swinkels ve Haymes., 2012)

Bir başka çalışmada ise; submaksimal bir bisiklet egzersizi sonrası hepsidin değerlerinde bizim çalışmamıza benzer olarak herhangi bir anlamlı farklılık görülmemiştir (Trodec ve ark, 2009).

TMRP Gözönüne Alındığında:

TMRP'nin sporcu CC homozigot grubu endurans kapasitesi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p=0,000$) . Sporcu Tt heterozigot grubunun TAS ($p = 0.001$), eritrosit ($p = 0.005$) ve endurans kapasitesi ($p = 0.000$) değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha büyük bulundu. Eritrosit parametresi için iki grup arasında bulunan bu farklılık TMRP ile ilişkiliydi $F(1,85) = 6,001$; $p = 0.016$). SG ve KG arasında demir parametresi için bulunan farklılık homozigot CC grubu için bulunmadı.

Çalışmamızda, gerek sporcu ve kontrol grupları, gerekse sporcu ve kontrol genotip gruplarının kendi içinde veya sporcu ve kontrol genotip grupları arasında hepsidin parametresi için anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Sporcu genotip gruplarında, TMRP göz önüne alındığında: t taşıyıcı (Tt, $Tc=tt+tc$) grubunun TBARS değerleri homozigot cc grubununkinden anlamlı olarak da daha büyüktü ($p=0,00$). Kan lipid ve lipoprotein düzeyleri dahil diğer parametreler için grup içinde anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Grup içindeki bu farklılıkların belirtilen polimorfizmden kaynaklandığı söylenebilir.

Kontrol genotip gruplarında, TMRP göz önüne alındığında: Tt grubunun Demir, Eritrosit değerleri homozigot CC grubununkinden anlamlı olarak büyüktü ($p < 0.05$). Kan lipid ve lipoprotein düzeyleri dâhil diğer parametreler için grup içi anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Grup içindeki bu farklılıkların belirtilen polimorfizmlerden kaynaklandığı söylenebilir.

Bizim çalışmamızdan farklı olarak;

Benyamin ve ark.'nın (2009) çalışmasında; Adölesan ve yetişkinlerde TMRP mutasyonu ve demir eksikliği anemisi arasındaki ilişkileri incelenmiştir; adölesan grubunda düşük kan Hb ve MCV değerleri saptanmıştır. Çalışmanın verilerine göre adölesan grubunda anemide; TMRP'nin rolü saptanmıştır: Bu polimorfizm ile Hb ve MCV arasında güçlü bir ilişki tespit etmişlerdir.

Erika ve ark (2013) çalışmasında; TMRP düşük hemoglobin, MCV ve MCH değerleriyle ilişkili bulunmuştur. Ve bu polimorfizmin genel erişkin popülasyonlarında daha düşük transferrin saturasyonu, Hb ve MCV seviyeleri ile ilişkili olduğunu ortaya konulmuştur. Belirtilen çalışmada, eritropoez ve demir homeostazında TMRP'nin rolü olabileceği öne sürülmüştür. Bu çalışmaya benzer olarak; bir diğer çalışmada TMRPSS6 (RS855791) genlerindeki yaygın DNA varyantlarının serum demir, transferrin doygunluğu ve eritrosit özellikleri ile ilişkisinin sadece hepsidine bağlı olmadığı belirtilmiştir (Nai et al., 2011).

Başka bir çalışmada; TMRP ile; Hb, MCV, MCH ve MCHC ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuştur. (Kamatani, Matsuda Okada ve ark., 2010). Bazı popülasyonlarda TMRP Hb seviyesi, MCV, MCH, serum demir seviyesi ve transferrin doygunluğu gibi eritrosit ve demir parametrelerindeki değişikliklerle ilişkilendirilmiştir (Finberg ve ark., 2010).

Bizim çalışmamızdan farklı olarak bir diğer çalışmada TMRP'nin hepsidin ve serum demir seviyeleri üzerinde önemli bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Gung, Ma, You ve Fu, 2014).

Gan ve ark. ,(2012) çalışmasında, TMRP ile plazma ferritin, ve hemoglobin düzeylerini önemli ölçüde ilişkili bulmuşlardır .

Nai ve diğ. (2011), TMRP'nin in vitro olarak HAMP ekspresyonunu doğrudan modüle ettiğini ve homozigot sağlıklı bireylerin düşük serum hepsidin, yüksek serum demiri ve yüksek transferrin doygunluğuna sahip olduğunu göstermiştir.

Bir diğer çalışmanın sonuçlarına göre, TMRPSS6 polimorfizmlerinin rs855791 ve rs4820268'in demir eksikliği ve demir eksikliği anemisi için genetik risk faktörleri olduğunu göstermektedir (An ve ark., 2011).

Chambers ve ark. (2009), çalışmasında bizim çalışmamıza benzer olarak TMRP, eritrosit ortalama hücre hacmi (MCV), farklı olarak; ortalama hücre hemoglobini (MCH) ve ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonunu (MCHC), hemoglobin((Hb) ile güçlü bir şekilde ilişkili bulunmuştur. Melis ve ark. (2008) çalışmasında hastaların fenotipleri ile demir metabolizmasında yer aldığı bilinen birkaç insan geni arasında bağlantı bulunamamıştır (DMT1, TF, TFRC, ZIRT1, HAMP, HJV).

Literatürde,Sağlıklı kişilerde, egzersizin hematolojik parametreler üzerindeki etkisinde Tmprss6 polimorfizminin rolünü inceleyen bir çalışma bulunamadığından tartışmamız sınırlı kalmıştır.



Sonuç ve Öneriler

Bu bulgular aerobik egzersiz antrenmanlarının;

- a) Sporcuların aerobik ve antioskidan kapasitesini arttırdığını;
- b) Tt taşıyıcı grubunun eritrosit sayısını TMRP'ye bağlı olarak arttırdığını,
- c) Sporcularda demir düzeylerini düşürdüğünü ve hepsidin düzeyleri üzerinde anlamlı bir farklılık yaratmadığını gösterir.
- d) Sporcul genotip gruplarında, Tt grubunun TBARS değerleri homozigot CC grubununkinden anlamlı olarak da daha büyüktü ($p = 0.00$).
- e) Kontrol genotip gruplarında, Tt grubunun Demir, Eritrosit değerleri homozigot CC grubununkinden anlamlı olarak büyüktü ($p < 0.05$).
- f) Sporcu ve kontrol genotip gruplarının kendi aralarındaki karşılaştırmalarda gözlenen farklılıklarda, belirtilen polimorfizminin rolü olabilir.
- g) Sporcuların anemi riskine karşı diyetlerinde demir içeriği zengin olan besinleri almaları önerilir.

Kaynaklar

Akgün N. (1994): Egzersiz Fizyolojisi Cilt 1,5. Baskı.

An P., Wu Q., Wang H., Guan Y. Mu M., Liao Y., Zhou D. ... (2011). Tmprss6,

but not Tf, Tfr2 or Bmp2 variants are associated with increased risk of iron-deficiency anemia. *Human Molecular Genetics*, 2012, Vol. 21, No. 9 2124–2131 doi:10.1093/hmg/ddc028 Advance Access published on February 8, 2012

Anderson GJ, Darshan D, Wilkins SJ, Frazer DM. (2007). Regulation of systemic

iron homeostasis: how the body responds to changes in iron demand. *Biometals* 2007; 20: 665-74.

Azarbayjani M, Fathi R. , Dalou A. , Abdi A. , Fatolah H. (2014). Acute

Hematological Profile Response to One Session of Aerobic and Anaerobic Exercise among Young Male Kickboxers. *Turk J Phys Med Rehab*;60:92-7.

Baltacı AK, Moğulkoç R, Üstündağ B, Koç S, Özmerdivenli R . A study on some

hematological parameters and the levels of plasma proteins and serum zinc, calcium and phosphorus in young female athletes, *Gazi J. Phys. Educ. Sport Sci.*, 1998; 3(2): 21-28

Banzet, S., Koulmann, N., Simler, N., Birot, O., Sanchez, H., Chapot, R.,

Peinnequin, A., and Bigard, X. (2005). Fibre-type specificity of interleukin-6 gene transcription during muscle contraction in rat: association with calcineurin activity. *The Journal of Physiology*, 566 (3), 839-847.

Banzet, S., Sanchez, H., Chapot, R., Bigard, X., Vaulont, S., and Koulmann, N.

(2012). Interleukin-6 contributes to hepcidin mRNA increase in response to exercise. *Cytokine*, 58 (2), 158-161.

Basset JRDR, Howley ET (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and

- determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc*, 32:70-84.
- Başol G., Barutçuoğlu B., Bozdemir A. E.,(2007). Hpcidin, A New Regulator of Iron Homeostasis. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2007; 5(3): 117-125
- Benyamin B, Ferreira MA, Willemsen G, Gordon S, Middelberg RP, McEvoy BP. et al.(2009). Common variants in *TMPRSS6* are associated with iron status and erythrocyte volume. *Nat Genet.* ;41:1173–5.
- Beutler E, Lee P, Gelbart T, Du X, Beutler B. (2007).The Mask mutation identifies *TMPRSS6* as an essential suppressor of hepcidin gene expression required for normal uptake of dietary iron. *Blood* 110 (Suppl 1): 110:3,.
- Buono MJ, Barrak MT, Bouton-Sander F, Bradley P, Cottorno K. (2005) Effect of exercise-induced hyperthermia on serum iron concentration. *Biological Trace Element Research*, 108:61-63.
- Bozkaya G.,Ö. (2009).Mutation and Polymorphism fot Clinicians: Medical Education *Medical Education, Peditr*;18(2).
- Can İ., Cihan H.(2013). Yoyo Arlıklı Toparlama Testleri Toparlanma Testleri ve Sportif Performans Üzerine Genel Bir Değerlendirme. *Ankara Üniv Spor Bil Fak*, 2013, 11 (2), 81-94
- Cairo G, Bernuzzi F, Recalcati S.(2006). A precious metal: iron, an essential nutrient for all cells. *Genes Nutr.* 2006;1(1):25–39.
- Caspersen, C.J., Powell, K.E., and Christenson, G.M. (1985). Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Reports*, 100 (2), 126–131.

- Chambers C., Zhang W., Li Y., Sehmi J., Wass M., Zabaneh D., Hoggaert C. (2009). Genome wide association study identifies variants in *TMPRSS6* associated with hemoglobin levels. *Nature Genetics* 41, 1170. <https://www.nature.com/articles/ng.462>
- Che L-L, Liu S-J, Xu H-X, Xiad D-S (2007). Influence of long-term exercise on iron distribution in the brain region of rats. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 11:49, 9933-9936.
- Darshan, D., and Anderson, G.J. (2009). Interacting signals in the control of hepcidin expression. *Biometals: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry and Medicine*, 22 (1), 77-87.
- Delbini, P. et al. (2010). Genetic variability of *TMPRSS6* and its association with iron deficiency anaemia. *Br J Haematol* 151, 281–284.
- Dion, S. P., Béliveau, F., Désilets, A., Ghinet, M. G. & Leduc, R. (2018). Transcriptome analysis reveals *TMPRSS6* isoforms with distinct functionalities. *J Cell Mol Med* 22, 2498–2509 .
- Dion, S. P., Béliveau, F., Morency P. Désilets, A., Najmanovich R., M & Leduc, R. (2018). Functional diversity of *TMPRSS6* isoforms and variants expressed in hepatocellular carcinoma cell lines. *Scientific Reports* 8:12562 | DOI:10.1038/s41598-018-30618-z
- Dominguez R., Vicente D., Campos D. Chicharro J. (2014). Hepcidin Response to Exercise: A Review *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*. 18(3):84-91 · September doi: 10.4274/tjem.2438
- Domninguez R., Sanchez A., Ordonez F., Puyana M, Lopez (2018). Effects of an Acute Exercise Bout on Serum Hepcidin Levels. *Nutrients* Feb;10(2). Doi:10.3390/nu10020209

- Du, X., She, E., Gelbart, T., Truksa, J., Lee, P., Xia, Y., ... (2008) The serine protease TMPRSS6 is required to sense iron deficiency. *Science*, 320, 1088–1092. deficiency anaemia (IRIDA). *Nature Genetics*, 40, 569–571.
- Egan LM, Watts PB, Silta BC.(1987). Changes in serum haptoglobin as an acute response to a marathon road race. *J Sports Sci*;5:55-60.
- Elmahdy M, Mourad F., Elhakeemi H.,Gaber F,(2018) TMPRSS6 Gene Polymorphism and Serum Heparin in Iron Deficiency Anemia *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* (October 2018) Vol. 73 (7), Page 7090-7103. https://ejhm.journals.ekb.eg/article_1_7507_7c062159fe452e4d2d5f8349710699f8.pdf
- Ergen E. *Ve Dig.*(1993); Spor Fizyolojisi, Anadolu Üniv. Yayını, No:584, Eskişehir.
- Finberg K., Heeney M., Campagna D., Aydınok Y., Pearson H., Hartman K. Mayo M. ... (2008) Mutations in TMPRSS6 cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA) *Nat Genet.* 2008 May ; 40(5): 569–571. doi:10.1038/ng.130.
- Finberg KE, Whittlesey RL, Fleming MD, Andrews NC.(2010) Down-regulation of Bmp/Smad signaling by Tmprss6 is required for maintenance of systemic iron homeostasis. *Blood*;115:3817-3826.
- Fisher CP.(2006). Interleukin-6 in acute exercise and training: What is the biological relevance? *Exerc Imm Rev*;12:6-33.
- Folgueras, A.R., Martin de Lara, F., Pendas, A.M., Garabaya, C., Rodriguez, F., Astudillo, A., Bernal, T...(2008) The membrane-bound serine protease matriptase-2 (Tmprss6) is an essential regulator of iron homeostasis. *Blood*, 112, 2539–2545.
- Fung E., Nemeth E.(2013) Manipulation of the hepcidin pathway for therapeutic purposes *Department of Medicine, David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, US.*
- Jing, Yu et al.(2012) Association of TMPRSS6 polymorphisms with ferritin,

hemoglobin, and type 2 diabetes risk in a Chinese Han population. Am J Clin Nutr. Mar;95(3):626-32. doi: 10.3945/ajcn.111.025684.

Ganong, F. W. (1995): Tıbbi Fizyoloji, Barış Kitabevi, İstanbul, (Çeviri Editörü: A. Doğan).

Ganz T. (2003). Hcpidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of

anemia of inflammation. Blood;110(3): 783-8.

Ganz T (2005). Hcpidin-a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling

by macrophages. Best Practice & Research Clinical Haematology; 18 (2): 171-82.

Gun C. (1991) Comparison of Ergometric Performance Level of 8-10 and 11-13

Years of Age Group Swimmers. Master Thesis, Unpublished.

Günay M, Tamer, K., Cicioğlu, İ. (2013). Spor Fizyolojisi ve Performans Ölçümü,

Gazi Kitabevi, Baran Ofset, Ankara. 219,225,227

Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. (2010).Two to tango:

regulation of Mammalian iron metabolism. Cell. ;142:24–38.

Hiscock, N., Chan, M.H., Bisucci, T., Darby, I.A., and Febbraio, M.A. (2004).

Skeletal myocytes are a source of interleukin-6 mRNA expression and protein release during contraction: evidence of fiber type specificity. Federation of American Societies for Experimental Biology Journal, 18 (9), 992-994.

İbiş, S., Hazar, S., Gökdemir, K., (2010). Aerobik ve anaerobik egzersizlerin

hematolojik parametrelere akut etkisi. Uluslararası İnsan Bilimleri Dergisi
<http://www.insanbilimleri.com>

Jankowska, E.A., Rozentryt, P., Witkowska, A., Nowak, J., Hartmann, O.,

- Ponikowska... (2011). Iron deficiency predicts impaired exercise capacity in patients with systolic chronic heart failure. *Journal of Cardiac Failure*, 17 (11), 899-906.
- Jonsdottir, I.H., Schjerling, P., Ostrowski, K., Asp, S., Richter, E.A., and Pedersen, B.K. (2000). Muscle contractions induce interleukin 6 mRNA production in rat skeletal muscles. *The Journal of Physiology*, 528 (1), 157-163.
- Kaman T.(2018) Milli bisikletçilerde dayanıklılık ile ilişkili ACTN3 rs1815739, ACE rs1799752, IL-6 rs1800795, MCT1 rs1049434 gen polimorfizimlerinin dağılımının araştırılması (Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi).
- Kamatani Y, Matsuda K, Okada Y, et al (2010). Genome-wide association study of hematological and biochemical traits in a Japanese population. *Nat Genet* ;**42**(3):210-215.
- Kanstrup, E. Ekblom (1982): Acute hypervolemia, cardiovascular performance and aerobic power during exercise. *Journal of Applied Physiology*. 52: 1086-1119 J.
- Karacabey K, Peker I, Paşaoğlu A,(2004). Voleybolcularda farklı egzersiz uygulamalarının akut kortizol insülin ve glikoz metabolizması üzerine etkileri. *Spor ve Tıp Dergisi*. 12(1), 7-12.
- Kortunay S. (2005) The pharmacogenetics of central nervous system drugs. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005;1(44):76-8.
- Kroot JJ, Tjalsma H, Fleming RE, Swinkels DW (2011). Hcpidin in human iron disorders: diagnostic implications. *Clin Chem*;57:1650-1669.
- Londeann R. (1978). Low hematocrits during basic training athletes anemia. *New England J. Med.*, 299: 1191-2
- Magazanik, A., Weinstein, R.A. Dlin, M. Derin, S. Schwartzman, and D. Allalouf.(1988) Iron deficiency caused by 7 weeks of intensive physical exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.* ;57:198–202.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3349987>

Mahajan G., Sharma S., Chandra J. Nangia A. (2017) Heparin and iron parameters in children with anemia of chronic disease and iron deficiency anemia, *Blood Research*, Volume 2 Number 3, (s. 212-217)

Melis M.,Cau M., Congiu R.,Sole G., Barella S., Cao A., Westerman M.,...(2008). A

Mutation In The *TMPRSS6* Gene, Encoding A Transmembrane Serine Protease That Suppresses Heparin Production, In Familial Iron Deficiency Anemia Refractory To Oral Iron.*Haematologica* October 93: 1473-1479; Doi:10.3324/haematol.13342*Eur J Clin Nutr*;64:490-494.

Nathan DF(2012). Effects of acute exercise bouts on heparin in women. *J. Sport*

Nutr Exercise Metab. ;22 (2):79

Nai A., Pagani A., Mandelli G., Lidonnici M. R., Silvestri L., Ferrari G., et al.

(2012). Deletion of *TMPRSS6* attenuates the phenotype in a mouse model of beta-thalassemia. *Blood* 119 5021–5029 10.1182/blood-2012-01-401885

Nai A, Pagani A, Silvestri L, Campostrini N, Corbella M, Girelli D. et al. (2011)

.*TMPRSS6* rs855791 modulates heparin transcription in vitro and serum heparin levels in normal individuals. *Blood.* ;118:4459–62.

Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. (2003)

Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*; 101(7): 2461-3. Iron Regulatory Peptide. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*; 29(3) Nov/Dec:327–335.

Newlin MK, Willimans S., Mcnamara T., Tjalsma H., Swinkles DW, Haymes EM

(2012) . The effects of acute exercise bouts on heparin in women *J Spors Nutr Exerc Metab.* 22(2):79-88

Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S.(2002).

Heparin,A New Iron Regulatory Peptide. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*; 29(3) Nov/Dec:327–335.

- Ostrowski, K., Schjerling, P., and Pedersen, B.K. (2000). Physical activity and plasma interleukin-6 in humans-effect of intensity of exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 83 (6), 512-515.
- Park TJ, Lee YJ, Kim HJ, Park HG, Park WJ (2005) . Cloning and characterization of TMPRSS6, a novel type 2 transmembrane serine protease. *Mol Cells* ;19:223–7.
- Pasricha SR, Low M, Thompson J, Farrell A, De-Regil LM.(2014). Iron supplementation benefits physical performance in women of reproductive age: A systematic review and meta-analysis. *J Nutr.* ;144:906–14
- Pedersen, B.K., Steensberg, A., Keller, P., Keller, C., Fischer, C., Hiscock, N., van Hall, G., Plomgaard, P., and Febbraio, M.A. (2003). Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. *European Journal of Applied Physiology*, 446 (1), 9-16
- Peeling P, Dawson B, Goodman C, Landers G, Trinder D. (2008).Athletic induced iron deficiency: new insights into the role of inflammation, cytokines and hormones. *Eur J Appl Physiol*;103:381-391.
- Pellegrino RM, Coutinho M, D'Ascola D, Lopes AM, Palmieri A, Carnuccio F, Costa M, ... (2012) Two novel mutations in the tmprss6 gene associated with iron-refractory iron deficiency anaemia (irida) and partial expression in the heterozygous form *Br J Haematol.* 2012 Sep;158(5):668-72. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09198.x
- Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P. (2001). A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 276:7811-7819.
- Poggiali E., Andreozzi F., Nava I., Delbini P., Duca L., Forti S. ... (2013). Domenica Domenica Cappellini. Analysis Of TMPRSS6 Polymorphisms Patients With

Iron Deficiency Anemia Partially Responsive To Oral Iron Treatment .Blood 2013 V:122
p:3438

Politou M, Papanikolaou G.(2004). Hecpidin: A key iron regulator involved in the
pathogenesis of anaemia of chronic disease. Haema; 7(2): 165-174. 31.

Poggiali E., Andreozzi F., Nava I., Delbini P., Duca L., Forti S. ... (2013).

Domenica Domenica Cappellini. Analysis Of TMPRSS6 Polymorphisms In Patients With
Iron Deficiency Anemia Partially Responsive To Oral Iron Treatment .Blood 2013 V:122
p:3438

Politou M, Papanikolaou G.(2004). Hecpidin: A key iron regulator involved in the
pathogenesis of anaemia of chronic disease. Haema; 7(2): 165-174. 31.

Roecker L, Meier-Buttermilch R, Brechtel L,.. (2005). Iron-regulatory protein

hepcidin is increased in female athletes after a marathon. Eur J Appl
Physiol. 2005;95(5-6):569-571.

Rossi E.(2005). Hecpidin--the iron regulatory hormone. Clin1.Biochem Rev; 26(3): 47-9.

Sarikaya B. (2014) Uzun süreli antrenman yapmış sıçanlarla, akut olarak koşturulan
sıçanlarda tüketici egzersiz sonrası kalp dokusunda hepsidin ve interlökin-6
ekspresyonu değişiklikleri (Yüksek Lisans Tezi ,Gazi Üniversitesi).

Santos, C.G., Pimentel-Coelho, P.M. Budowle, B., de Moura-Neto, R.S., Dornelas

Ribeiro, M., Pompeu, F.A., Silva, R. (2015). The heritable path of human physical
performance: from single polymorphisms to the "next generation". Scandinavian
Journal of Medicine and Science in Sports, 26(6), 600-12.

Saunders B., Sunderland C., Harris R. ve Sale C. (2012). B-alanine supplementaton improves

yo-yo intermittent recovery test performance. Journal of the International Society of
Sports Nutrition 9:39. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-9-39>

Sawka MN, Convertino VA, Eichner ER et al.(2000). Blood volume: Importance

and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma sickness. *Medicine and Science in Sports and Exercise*,;32(2): 332-348

Schranz M, Bakry R, Creus M, Bonn G, Vogel W, Zoller H.(2009) Activation and inactivation of the iron hormone hepcidin: biochemical characterization of prohepcidin cleavage and sequential degradation to N-terminally truncated hepcidin isoforms. *Blood Cell Mol Dis* 43:169-179.

Schone R, Escourrou P, Robertson HT, Nilson KL, Parsons JR, Smith NJ (1983) Iron

repletion decreases maximal exercise lactate concentrations in female athletes with minimal iron-deficiency anaemia. *J Lab Clin Med*, 102:306-312.,

Skarpan´ska-Stejnborn A.,Basta P., Trzeciak J. · Szczes´niak-Pilaczyn´ska L.

(2015).Effect of intense physical exercise on hepcidin levels and selected parameters of iron metabolism in rowing athletes. *Eur J Appl Physiol*. Feb;115(2):345-51. doi: 10.1007/s00421-014-3018-3.

Tandara, L., and Salamunic, I. (2012). Iron metabolism: current facts and future

directions. *Biochemia Medica*, 22 (3), 311-328.

Temur B. (2018) Investigation of the relationship of exercise with some blood

parameters , *Journal of Socaial and Humanities Sciens Research* Vol:5 Issu:17 pp.253-257

Troade MB, Lainé F, Daniel V, Rochcongar P, Ropert M, Cabillic F, Perrin M...

(2009).Daily regulation of serum and urinary hepcidin is not influenced by submaximal cycling exercise in humans with normal iron metabolism.*Eur J Appl Physiol*. 2009 Jun;106(3):435-43. doi: 10.1007/s00421-009-1031-8. Epub 2009 Mar 21.

Tuhkanen, H. et al. (2013). Matriptase-2 gene (TMPRSS6) variants associate with

breast cancer survival, and reduced expression is related to triple-negative breast cancer. *Int J Cancer* 133, 2334–2340.

- Ulucan, K., Göle, S., Altindas, N., Güney, AI. (2013). Preliminary findings of alphaactinin-3 gene distribution in Turkish elite wind surfers. *Balkan journal of medical genetics*, 1 6(1), 69- 72.
- Valenti L., Fracanzani A. L., Rametta R., Fraquelli M., Soverini G., Pelusi S., et al. (2012). Effect of the A736V TMPRSS6 polymorphism on the penetrance and clinical expression of hereditary hemochromatosis. *J. Hepatol.* 57 1319–1325
10.1016/j.jhep.2012.07.041
- Waern M, Fossum C, (1993). Effects of acute physical stress on immune competence in pigs. *Am J. Vet Res*, 54, 596-601.
- Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC, et al.(2011) Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev.* ;17:6–63.
- Wilson DB (2009). Disorders of Iron Metabolism and Sideroblastic Anemia. In:

Ekler

EK 1: Etik Kurul Onayı

f.c.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel:0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34
e-mail: aetik@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Futbol Hakemlerinde Düzenli Aerobik Egzersizin Hepsidin Ve Hematolojik Parametreler Üzerine Etkisi Ve TMRSS6 Rs855791 Polimorfizminin Rolü			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Faruk TURGAY			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Spor Sağlık Bilimleri			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>	FAZ 4 <input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>		ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>
	Gözlemsel İlaç Çalışması <input type="checkbox"/>		Tıbbi Cihaz klinik Araştırması <input type="checkbox"/>		
İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları <input type="checkbox"/>		İlaç Dışı Klinik Araştırma <input checked="" type="checkbox"/>		Diğer ise belirtiniz	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	09.10.2017	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	15.02.2018	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	15.02.2018	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/> İma tarihi: 15.02.2018				
Diğer	<input type="checkbox"/>					

Karar Nu: 18-3/43 Tarih: 06.03.2018

Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, **araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda** araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Ayşe EROL

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayşe EROL Başkan	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Mine HEKİMGİL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Patoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşe EROL	İMZA	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu: 22	Rev. Tarihi / No.su: 17.10.2017/06	Sayfa: 1/2
--	------	----------------------------------	----------------	------------------------------------	------------





T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel:0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34
e-mail: aetikk@mail.ege.edu.tr www.aekf.med.ege.edu.tr



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Futbol Hakemlerinde Düzenli Aerobik Egzersizin Hepsidin Ve Hematolojik Parametreler Üzerine Etkisi Ve TMRPSS6 Rs855791 Polimorfizminin Rolü
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 18-3/43				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayça Arzu SAYINER Üye	Mikrobiyoloji	D.E.Ü. Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Tıbbi Viroloji BD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Şebnem PIRILDAR Üye	Ruh Sağlığı Ve Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı Ve Hastalıkları AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Mine DÜNDAR ÇOMLEKÖĞLU Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Nevin ORUÇ Üye	Gastroenteroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E.Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Sema KALKAN UÇAR Üye	Çocuk Metabolizma Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Aynur UYSAL TORAMAN Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	E.Ü. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yard. Doç. Dr. Candide ŞENTÜRK	Ceza ve Ceza Muhakemesi Hukuku	Yaşar Üniversitesi Hukuk Fakültesi	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekil	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

AKLIĞI
CUMHURBAŞKANLIĞI
EĞİTİM, KÜLTÜR VE
ETİK KURULU BAŞKANLIĞI

Etik Kurul Başkanının İmzası/İmza/Çevresi	İMZA	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
--	------	----------------------------------	------------	----------------------	-------

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17)

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

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Aerobik dayanıklılık antrenmanları, başta ayakların sıklıkla yere teması nedeniyle eritrositlerin yıkılmasına ve terle demir kaybına neden olmaktadır. Sonuç olarak sporcu anemisi dediğimiz durumlar oluşabilmektedir. Futbol hakemleri de haftada en az 3 gün aerobik egzersiz antrenmanı yapmaktadırlar. Bu kişilerde aerobik egzersizin demir metabolizmasına etkisi ve TMRSS6 rs855791 polimorfizminin rolü belirsizdir. Bu çalışmada 18-35 yaş arası 40-50 sağlıklı erkek futbol hakeminde aerobik egzersizin hepsidin ve hematolojik parametreler üzerine etkisi ve belirtilen polimorfizminin rolü araştırılacaktır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

18 – 35 yaş arası sağlıklı 40-50 erkek futbol hakemleri ve aynı yaş aralığında olan 40-50 sağlıklı sedanter bireyler çalışmaya kabul edilecektir

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Gönüllüler önce tıbbi muayeneleri yapıp boy, kilo ve vücut kitlesi belirlenecektir. Araştırmanın toplam süresi 19 aydır. Çalışmaya kabul edilecek katılımcılar, herhangi bir hastalığı veya sakatlığı olmayan, herhangi bir ilacı veya antioksidan bir maddeyi düzenli olarak kullanmayan ve obez olmayan (vücut kitle indeksi (VKİ) <30 olması), en az 3 aydır düzenli olarak antrenmanlarını yapan 18-35 yaş arası antrene erkek futbol hakemi (Sporcu grubu) ve benzer sayı ve özelliklerde düzenli olarak en az 3 aydır egzersiz yapmayan sağlıklı erkeklerden (Kontrol grubu) oluşturulacaktır. Bu çalışmaya katılacak sağlıklı yaklaşık 80-100

kişinin seçimi için yaklaşık 100 kişinin önce tıbbi muayeneleri yapıp bazı biyokimyasal parametrelerine bakılarak, boy, kilo ve VKİ belirlenecektir. Sağlıklı olduğu ve kriterlerimize uyduğu belirlenen kişiler çalışmaya dahil edilecektir.

Yapılacak Diğer Fizyolojik Testler:

Katılımcıların dayanıklılık düzeylerini belirlemek için saha koşullarında YOYO aralıklı dayanıklılık testi yapılacaktır. Bu testlerden en az 3 gün sonra katılımcılardan yemekten en az 3-4 saatlik bir yemek sonrası kol venasından tokluk kanı alınacaktır. Alınan kanlardan araştırma amacıyla aşağıda belirtilen biyokimyasal parametreler bakılacaktır.

Yapılacak Testler/Laboratuvar Tetkikleri:

Kan Numunelerinin Alınması, Saklanması ve Analizleri: Gönüllülerden soğutulmuş, vakumlu, mor kapaklı EDTA'lı 2 tüpe toplam 7,5 mL, diğeri 9 ml jelli 2 adet jelli sarı serum tüpüne toplam 18 cc venöz kan örnekleri alınacaktır. Serum düz kan örnekleri 20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000g'de 15 dk santrifüjlenerek serumları ayrılacaktır. EDTA'lı 1.tüpteki kan aynı gün içerisinde hemogram, diğeri EDTA'lı tüpteki kan örneklerinden elde edilen lökositlerden izole edilen DNA numuneleri TMRSS6 rs855791 polimorfizmi belirlemede kullanılacaktır. Serum örneklerinden; hepsidin, interlekin-6 (IL-6) ve okside düşük dansiteli lipoprotein (okLDL) ticari kitlelerle okulumuzdaki Egzersiz Biokimyası laboratuvarında yapılacaktır. Ferritin, demir ve demir bağlama kapasitesi, nitrik oksit(NO), total kolesterol (TK), trigliserid (TG), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol(LDL-K), total antioksidan statüsü (TAS), total oksidan statüsü (TOS), tiyobarbitürikasitle reaksiyona giren maddeler(TBARS), kan şekeri, kreatinin, albumin, alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz enzim aktiviteleri ve hemogram analizleri standart enzimatik-kinetik yöntemlerle dışarıdaki bir laboratuvara hizmet alımı şeklinde yaptırılacaktır.

Serum ve plazma numuneleri analizler yapılncaya kadar derin dondurucuda (-82 °C de) saklanacaktır. Analizler 1-2 ay içerisinde gerçekleştirilecektir.

Hemogram:EDTA'lı tüpteki kandan hemogram analizi, aynı gün 3-4 saat içerisinde kan sayım cihazı ile (dışarıdaki bir özel laboratuardan hizmet alımı şeklinde) yaptırılacaktır. Hemogram ölçümü; eritrosit, lökosit, hematokrit, hemoglobin, trombosit ve ortalama eritrosit hacimlerini ihtiva edecektir.

Serum örneklerinden: TK, TG, HDL-K, LDL-K, AST, ALT, kan şekeri, kreatinin, albumin, ve hemogram okLDL düzeyleri enzim bağlantılı immüno sorbent analiz (ELİSA) yöntemiyle, NO, TAS ve TOS düzeyleri kitleler kullanılarak, TBARS düzeyi manuel yöntemle;

Fakültemiz bünyesindeki Egzersiz Biyokimyası Laboratuvarında laboratuvar sorumlusu, Doç.Dr. Faruk Turgay nezaretinde gerçekleştirilecektir.

Total Antioksidan Statüsü (TAS)'nın Belirlenmesi: Serum TAS düzeyleri, bir ticari kit kullanılarak kromojenik metotla spektrofotometrik olarak bir mikrotabak okuyucuda (Dialab EL X800G, AUSTRIA) bir ay içerisinde gerçekleştirilecektir. Bu metotda; serumdaki antioksidan moleküller kullanılan kromojen madde ile yeni bir renk meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbansı serumdaki antioksidan miktarı ile orantılıdır. Sonuçlar; mmol/L olarak verilecektir.

Total Oksidan Statüsü (TOS)'nın Belirlenmesi: Serum TOS düzeyleri bir ticari kit kullanılarak kromojenik metotla spektrofotometrik olarak bir mikrotabak okuyucuda (Dialab EL X800G, AUSTRIA) bir ay içerisinde gerçekleştirilecektir. Bu metotda; serumdaki oksidan moleküller kullanılan kromojen madde ile yeni bir renk meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbansı serumdaki oksidan miktarı ile orantılıdır. Sonuçlar; H₂O₂ eşdeğeri olarak verilecektir. Serum TOS miktarının TAS'a yüzde olarak oranı (TAS/TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ) olarak kabul edilmektedir.

TBARS Ölçümü: Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılan plazma TBARS ölçümü Erwin ve ark.'nın kullandığı yöntemle gerçekleştirilecektir. Teknik; tiobarbütirik asid (TBA), asidik bir tampon içinde plazma örneği ile ısıtıldığında örnekteki TBA ile reaksiyon veren maddeler pembe renkli bir kompleks oluştururlar. Oluşan rengin şiddeti örnekteki TBARS konsantrasyonu ile ilişkilidir. Oluşan rengin absorbansı 532 nm de ölçülür. Standart ile kıyaslanarak örnekteki TBARS konsantrasyonları belirlenecektir. TBARS ölçümleri EDTA'lı plazma örneklerinden gerçekleştirilecektir. (Bu analiz laboratuvarımızda önceden kalan mevcut imkanlar kullanılarak ücretsiz olarak gerçekleştirilecektir).

Serum NO ölçümü: NO analizleri serum numunelerinden bir ticari kitle spektrofotometrik olarak gerçekleştirilecektir.

TMPRSS6 rs855791 polimorfizminin belirlenmesi: Hemogram tüplerine alınan EDTA'lı kandan tuzla çöktürme yöntemi ile DNA izolasyonları yapılacak. İzole edilen DNA spektrofotometrik olarak kalite değerlendirilmesi yapıldıktan sonra her örnek için 50ng olacak şekilde polimeraz zincir reaksiyonuna alınacaktır. PCR için özgül primerler ile çoğaltılan gen bölgeleri polimorfizme uygun restriksiyon enzim kesimine tabi tutulacak ve reaksiyon sonrası Agoroz jel elektroforezi ile değerlendirilerek örneklerin polimorfizm açısından homozigot veya heterozigot olduğu saptanacaktır. Daha sonra bu verilere göre polimorfizm açısından risk analizi değerlendirmesi yapılacaktır. Bu polimorfizimler Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Genetik Anabilim dalı laboratuvarında Laboratuvar yetkililerinin nezaretinde gerçekleştirilecektir.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma kapsamındaki ölçüm ve testlere dinlenmiş olarak gelmek, en az 3 saat önce yemek yemiş olmak, son üç gün fast food tarzı besinlerle, alkol, sigara, antioksidan madde ya da diğer ilaçlardan kesinlikle kullanmamak sizin sorumluluğunuzdur. Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 80-100 kişi'dir.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre yaklaşık 4-6 saat'tir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Araştırmalarımıza göre düzenli aerobik egzersizin hepsidin ve hematolojik parameterler üzerine etkisi ve TMPRSS6 rs855791 polimorfizminin rolüne ilişkin literatürde bir çalışmaya rastlanmamıştır. Literatürde bu konuya ilişkin ilk çalışma olacaktır.

Futbol hakemlerinde aerobik egzersizin; hepsidin düzeyleri üzerine etkisi ve bu etkide TMPRSS6 rs855791 polimorfizminin rolü hakkında literatüre katkı sağlayacaktır.

Belirtilen polimorfizmin bazal hematolojik parametrelerin düzeyleri üzerindeki etkileri hakkında bilgi verecektir

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında nadiren bayılma, kan alınan yerlerde ağrı ve/veya morarma sayılabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma süresince fast food tarzı besinlerle, alkol, sigara, antioksidan madde ya da diğer ilaçlar kesinlikle kullanılmamalıdır.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

1. Araştırma kapsamında yapılacak çalışmaların tamamına katılamıyor olmak
2. Test ve ölçümler için gerekli protokollere uyum sağlayamamak
3. Ölçümler sırasında hastalanmak veya sakatlanmak
4. Alınan kan örneklerinden yapılan biyokimyasal analizlerin sonuçlarının belirlenen aralıkların dışında çıkması

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu olduğunda ortaya çıkan masraflar araştırmacılar tarafından karşılanacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Uygulama süresi boyunca, zorunlu olarak araştırma dışı ilaç almak durumunda kaldığınızda Sorumlu Araştırmacıyı önceden bilgilendirmek için, araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için için (+90) 5324670712 no.lu telefondan Uzm. Dr. Onur Oral ve (+90) 5385260425 no.lu telefondan da Doç. Dr. Faruk TURGAY'a başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir. Giderler araştırmacılar tarafından ve daha önce gerçekleştirilmiş araştırma projelerinden kalan malzemelerden sağlanacaktır.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

Ege Üniversitesi BAP'a başvurulacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Araştırıcı, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle isteğiniz dışında ancak bilginiz dahilinde sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 4 sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		1.1.1. İMZASI
1.1.1.1. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin		1.1.2. İMZASI
1.1.2.1. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		1.1.3. İMZASI
1.1.3.1. ADI & SOYADI	Doç. Dr. Faruk Turgay	
1.1.3.2. TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		1.1.4. İMZASI
1.1.4.1. ADI & SOYADI	Cansu Kahraman	
1.1.4.2. GÖREVİ		
1.1.4.3. TARİH		

1.1.5.



Teşekkür

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini gösteren, yüce bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında inşa etmeme yardımcı olan çok değerli ve sayın hocam Doç. Dr. Faruk TURGAY'a

Laboratuvar ölçümlerinde, verilerin toplanmasında ve analizlerimde yardımları olan Doktora öğrencisi Oya YİĞİTTÜRK'e,

Çalışmama katılan katılımcılara,

Çalışmam boyunca manevi desteklerini benden esirgemeyen ve her zaman yanımda olan, çok değerli ve biricik Annem Cemile KAHRAMAN, Babam Recep KAHRAMAN, Yeğenim Emir KAHRAMAN'a

sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İzmir, 2019

Cansu KAHRAMAN

Özgeçmiş

Adı Soyadı: Cansu Kahraman

Doğum Tarihi: 07.04.1993

Yazışma Adresi: İzmir

Telefon :05423952289

e-mail:diyetisyencansukahraman@gmail.com

Eğitim Bilgileri

Lisans: Şifa Üniversitesi: Sağlık Bilimleri Fakültesi-Beslenme ve Diyetetik Bölümü 2015

Akademik-Meslekte Deneyim

Özel Park Tıp Merkezi 2015-2017

Mistral Carrera Fitness&Spa 2017-2018