

BÖLÜM I

GİRİŞ

Fiziksel performans; kassal kuvvet, kassal dayanıklılık, esneklik, denge, kardiyopulmoner fonksiyonlar vb. çok sayıda fenotipten meydana gelir. Antrenman gibi çevresel faktörlerin yanı sıra genetik faktörler de kişiler arası fiziksel performans farklılıklarının bir kısmını açıklayabilir. Aynı antrenmanı yapan kişilerin aynı sportif performansını elde edemedikleri sıklıkla gözlemlenmektedir.

Dayanıklılık sporlarında performans; fizik, biyomekanik, fizyolojik, metabolik, psikolojik ve sosyal özellikler gibi bir çok faktöre bağlıdır. Dayanıklılık performansını etkileyen çevresel faktörler bilinmektedir, fakat ikiz ve aile çalışmaları dayanıklılıkta altın standart olarak kabul edilen maksimal oksijen kullanım kapasitesinin (maxVO_2) genetik faktörlere de bağlı olabileceğini göstermiştir. Örneğin, monozigotik ikizlerde (tek yumurta ikizleri) yapılan deneylerde standart maxVO_2 antrenman programına yanıtın, ikiz çiftleri arasında, her bir ikiz çiftin kendi arasındaki farktan 6 ile 9 kat daha büyük farklılık gösterdiği ortaya konulmuştur (6). Aynı şekilde sedanter gruplarda kardiorespiratör endürans fenotiplerinin benzerliği, monozigotlarda (tek yumurta ikizi) dizigotlardan (çift yumurta ikizleri) daha yüksek bulunmuş ve bu benzerlikte kalıtımın etkisinin % 25 ile % 66 arasında olduğu hesaplanmıştır (8, 17, 30, 57). Aile çalışmaları, kalıtımın maxVO_2 üzerine etkilerinin % 25-40 seviyelerinde olduğunu göstermiştir (27, 29, 36). Kalıtımın spor yapmayanlarda maxVO_2 düzeyleri üzerine etkisinin % 51 (7) ve 20 hafta dayanıklılık antrenmanı yapanlarda ise % 47 olduğu (5) gözlemlenmiştir.

Performansla ilişkili olabileceği ifade edilen genler şunlardır; myostatin geni, eritropoetin geni, büyüme hormonu üreten genler, nitrik oksit sentaz (NOS) geni,

vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF) geni, anjiotensin dönüştürücü enzim (*ACE*) geni, anjiotensinojen (AGT) geni, anjiotensin II tip 1 reseptör (AT1) geni, monositrik (MCT-1) geni, insüline benzer büyüme faktörü-1 – (IGF-1) geni, peroksizom proliferatör aktif reseptör – (PPAR) genleri, α -aktinin-3 (ACTN3) geni vb.

Bunlar arasında performansla ilişkisi en çok inceleneni *ACE* genidir. *ACE* geni ile üstün sportif performans arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların çoğu homojen olmayan gruplar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Gen-performans ilişkisini cinsiyet, ırk, lokal orijin, sportif geçmiş, atletik statü gibi açılardan homojen olmayan gruplarda incelemek hatalı sonuçlar verebilir (64). Bu ilişkinin homojen ve büyük bir grupta incelenmesi sonucunda hem yetenekli sporcu seçimleri hem de sporcuların antrenman programlarının düzenlenmesinde kullanılabilecek sağlıklı bilgiler elde edilebilir.

Bu çalışmanın amacı, geniş bir homojen sedanter grupta antrenman programına yanıt olarak *ACE* gen polimorfizmine göre kişiler arasında farklı düzeyde aerobik dayanıklılık gelişimi olup olmadığını incelemektir. Bu amaçla, Türk Silahlı Kuvvetleri'ne başvuran sözleşmeli subay adayları çalışmaya alındı.

GENEL BİLGİLER

ACE geninin koşu, yüzme ve bisiklet sporlarındaki performansı nasıl etkileyebileceğini anlamak için, Renin-Angiotensin Sistemini (RAS) ve Anjiotensin Dönüştürücü Enzimin (*ACE*) bu sistem içindeki rolünü anlamak gerekmektedir. RAS dolaşım sal homeostazis'i kontrol etmede önemli bir endokrin sistemdir (25). Renin, anjiotensinojen'i (AGT) parçalayarak, non-presör dekapeptit anjiotensin I'i (Ang I) oluşturur. Daha sonra Ang I, dolaşımda veya bir integral membran proteini olarak bulunan *ACE*'nin (4, 69) etkisiyle vazokonstrüktör bir madde olan oktapeptit anjiotensin II'ye (Ang II) çevrilir. Bir çinko metalloproteaz olan *ACE* aynı zamanda bradikinin ve taşikininleri inaktive eder. Ang II, vazokonstriksiyon, hipertrofi, hücre sel büyüme, katekolamin salınımı ve aldosteron sekresyonu gibi bilinen etkilerinin çoğunu, iki reseptöründen biri olan anjiotensin tip 1 reseptörü (AT1) yoluyla gösterir (31, 37, 59). Son zamanlarda lokal renin-anjiotensin sistemlerinin değişik insan dokularında bulunduğu anlaşılmıştır.

1.1 Lokal renin-anjiotensin sistemi:

Lokal RAS sisteminin varlığı dokuda RAS bileşenlerinin gen ekspresyonlarının belirlenmesi ve bu gen ekspresyonlarına fizyolojik yanıtların saptanması ile ortaya çıkar. Ayrıca, fizyolojik olarak aktif olan Ang II reseptörlerin varlığı da lokal RAS'ın saptanmasında önemlidir. Değişik dokular bu kriterleri karşılamış ve lokal RAS yağ doku (24) iskelet kası (16), kalp (12, 14, 53), akciğer

(44), beyin (1) ve pankreas (28, 54) gibi farklı insan dokularında saptanmıştır. Bunlar farklı hücrel etkiler ortaya koyabilir.

Danser ve ark.(12), lokal Ang II üretiminin hem tüm RAS bileşenlerinin (renin, anjiotensinojen ve ACE'nin) doku içinde sentezine, hem de bu maddelerin dolaşımdan dokuya alınmasına veya her ikisinin kombinasyonuna bağlı olduğunu ortaya koymuşlardır. İskelet kasında bu kombinasyona rastlanmaktadır.

1.1.1. İskelet kasında ACE:

İnsan iskelet kasında ACE varlığı ilk olarak ACE kas aktivitesinin serum ACE ile ilişkisi olmadığını gösteren biyopsi örneği incelemeleriyle ortaya konulmuştur (48). Ratların ve köpeklerin iskelet kası hücre membranlarının incelenmesi sonucunda ACE varlığı saptanmıştır (16). İskelet kası miyoblastlarının ACE aktivitesi sergilediği (16) ve tavşan iskelet kası membranlarının Ang II üretiminin yanı sıra ACE'nin bradikinin (BK) yıkımında etkisi olduğu gösterilmiştir (63). Lokal ACE kas fonksiyonunu belirlemede önemlidir (62). ACE gen ekspresyonundaki değişimlerin Ang II üretimini ve BK yıkımını etkilemesi beklenir. ACE gen ekspresyonu değişkendir ve seviyesi ACE-mRNA transkriptlerinin sayısı ile belirlenir. ACE gen ekspresyonu seviyesi de kas fibril alanı ile damarsal düz kasta ve kapiller yoğunluk ile ters ilişki gösterir (52).

1.2. ACE gen polimorfizmi ve sportif performans:

Plazma ACE düzeylerinin belirlenmesinde ACE geninin önemi büyüktür ve kontrolü vardır. ACE geni, 17. kromozomda (17q23) yer alan 21 kilobazlık, 26 ekzon

ve 25 introndan oluşan bir gendir. *ACE* geninin sık görülen bir mutasyonu, 287 baz çift'lik bir insertion/deletion polimorfizmidir. Bu polimorfizmin DD, ID ve II alelleri bulunmaktadır. *ACE* geninin 16. intronunda, serum *ACE* seviyelerinde önemli değişimlere neden olan 287-bp fragmanın varlığı - insertion (I alel) ve yokluğu - deletion (D alel) polimorfizmini oluşturur.

Serumda (55) ve dokuda (13) en yüksek *ACE* seviyelerine *ACE* geni D alel homozigozlu (DD genotipli) kişilerde rastlanırken, en düşük *ACE* seviyeleri *ACE* geni I alel homozigozlularda (II genotiplilerde) görülmüştür (55). *ACE* geninin serum *ACE* seviyeleri üzerine etkilerinden dolayı ve *ACE* damarsal uyumla ilgili maddelerin metabolizmasında yer aldığından *ACE* I ve D polimorfizmlerinin kişilerin aynı antrenmana farklı yanıtlar vermesini açıklayabileceği varsayılmıştır. Yüksek *ACE* aktivitesi Ang II üretiminin fazla olmasına neden olur (49). Bu da daha şiddetli vazokonstriksiyona neden olarak doku kanlanmasını azaltır.

Egzersize uyum gösterebilme kan damarlarının sorumluluğu içerisindedir. Bir kaç ay düzenli antrenman yapıldığında, kan damarları egzersiz esnasında daha rahat gevşer ve kaslara daha fazla kan akışı sağlar. Hızlı kan akışı kan liflerine daha fazla oksijen taşır. Bu damar genişlemesi damar endotelinden salgılanan nitrik oksit (NO) tarafından koordine edilir. NO vazodilatasyonu başlatır ve egzersizde kas hücrelerine yeterli kan akışı sağlar. Nitrik oksidin (NO) sentezlenmesinden sorumlu madde olan nitrik oksit sentaz enzimi (NOS) nitrik oksit sentaz geni tarafından kontrol edilir.

Egzersiz sırasında endotelial fonksiyonun gelişim mekanizması henüz tam olarak açıklanamamasına rağmen, NO'in endotelial NOS gen ekspresyonunun artması, VEGF'nin neden olduğu anjiogenez (damarlanma) ve süper oksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPO) gibi antioksidanların artışının NO inaktivasyonunu azaltması, nikotinamid adenin dinükleotid / nikotinamid adenin

dinükleotid fosfat (NAD/NADPH) oksidaz aktivitesi gibi faktörler NO'nun üretimini arttırır (21). Ancak D alel'li kişilerde artan ACE aktivitesi NO salınımını etkileyerek bradikinini azaltır (3). Bununla ACE DD genotipine sahip kişilerde artan Ang II üretimi (26, 65) NADH/NADPH oksidaz aktivitesinin artışı nedeniyle süperoksit konsantrasyonunun artması NO üretimini azaltır (20).

Bunlardan dolayı, ACE DD genotipli kişilerde artan vazokonstriksiyon nedeniyle kas dokusuna yeterince kan akımının sağlanamayacağı, bunun da bu kişilerde maxVO₂ gelişiminin ve dayanıklılık performansının düşük olacağı hipotezi ortaya atılmıştır.

ACE geninin I alel'i dayanıklılık performansı ile olabileceğini gösteren bulgular vardır (38, 45, 64, 65). Elit mesafe koşucuları (38), ve dağcılarda (45, 64, 65) I alel frekansı yüksek bulunmuştur ve bunun dolaylı olarak kas hücrelerine enerji maddelerinin bırakılma veya kullanma mekanizmalarını değiştirerek arttırmış olabileceği düşünülmüştür (35). Bir araştırmada uzun süreli aerobik dayanıklılık için çok önemli kriterlerden biri olan hareket ekonomisinin de (aynı submaksimal işte daha az oksijen tüketiminin) II genotiplilerde daha fazla geliştiği ortaya konmuştur (66). Nazarov ve ark., (40) bir dakikanın altında maksimal eforlar sergilenen anaerobik branşlarda yarışan elit Rus sporcularda aşırı D alel frekansına (0.72)(tüm tekste), 1 – 20 dakika arasında maksimal eforlar sergilenen branşlarda yarışan sporcularda ise aşırı I alel frekansına (0,63) rastlamışlardır. Bunun aksine ACE genotipi ile sportif performans arasında ilişki olmadığı sonucuna varılan çalışmalar da mevcuttur (46, 55). Montgomery ve ark., (35) belli bir kassal dayanıklılık antrenmanı süreci sonunda ACE II genotipinde kassal dayanıklılık yeteneğinin ACE DD genotipine göre on bir kat daha büyük bir gelişim gösterdiğini saptamışlar ve ACE ID genotiplilerde gelişim düzeyini diğer iki grubun arasında bulmuşlardır (35).

D alel frekansı yüksek olanlarda ise antrenmanla kuvvet gelişiminin daha fazla olduğu ve güç odaklı performansın ACE ve aynı zamanda bir büyüme faktörü olan Ang II ile dolaylı olarak ilişkisi bulunduğu iddia edilmektedir (23). Benzer kuvvet antrenmanları sporcularının bazılarında ortaya çıkan sol ventrikül hipertrofisinin DD genotiplerde görüldüğü, II genotiplerde rastlanmadığı aynı zamanda DD genotiplerde antrenmanla yağsız vücut kütlelerinde aşırı bir artış olduğu saptanmıştır (34, 39).

1.3. ACE geni - performans ilişkisini inceleyen araştırmalarda dayanıklılık kriterine süre/mesafeye göre sınıflandırılmasının önemi:

Sporda aerobik dayanıklılık kriteri belirlenmiş süre aralıkları boyunca sergilenen maksimal eforları ifade eder. Bu kriter sürelerine göre üç ayrı sınıfta incelenir; *kısa süreli aerobik dayanıklılık* (2-8 dakika sürdürülebilir efor düzeyleri), *orta süreli aerobik dayanıklılık* (8-30 dakika sürdürülebilir efor düzeyleri) ve *uzun süreli aerobik dayanıklılık* (30 dakikadan uzun sürdürülebilir efor düzeyleri) (15, 56).

Kısa süreli aerobik dayanıklılıkta (2-8 dakika) ikinci - dördüncü dakikalar arasında laktik asit tolerans (LAT) daha önemliken, dördüncü ve sekizinci dakikalar arasındaki performansı belirlemede maxVO₂ dominant hale gelir. Orta süreli aerobik dayanıklılıkta (8-30 dakika) sekiz ile 15. dakikalar arasında maxVO₂ önemliken, 15. dakikadan sonra anaerobik dayanıklılık dominant olur. Uzun süreli aerobik dayanıklılıkta ise (30 dakika üzeri) anaerobik eşik, anaerobik eşikte kullanılabilen oksijen miktarı, aerobik eşik, hareket ekonomisi gibi performans faktörleri önemli hale gelir.

Bu nedenle, *ACE* geni – dayanıklılık performansı ilişkisi sportif statü (elit, non-elit) ele alınarak inceleniyorsa deneklerin katıldıkları müsabakaların ne kadar sürdüğü (örneğin elit 5000 m koşusu 13 dakika civarı sürdürülürken, elit maraton koşusu 2 saat 10 dakika civarında tamamlanır) göz önünde bulundurulmalıdır. Eğer ele alınan denek grubunda 800 m koşudan maratona kadar değişik disiplinlerde yarışan sporcular yer almakta ise deneklerin *ACE* geni performans ilişkisi, koştukları mesafe veya süreler göre sınıflandırılarak incelenmelidir.

Belirli bir dayanıklılık antrenmanı periyodu öncesinde ve sonrasında yapılan testlerde fizyolojik (anaerobik eşik, maxVO_2 vb.) değil performans süresi veya mesafesine göre elde edilen dereceleri göz önünde bulunduruluyor ise sonuçlar yine deneklerin koştukları mesafe veya süreler göre değerlendirilmelidir.

ACE I alel (veya II genotipi) ile aerobik dayanıklılıkta üstün performans arasında ilişkisini inceleyen çalışmaların çoğunda denekler branş veya mesafe ayırımı yapılmaksızın yüzücü, kürekçi, bisikletçi, atlet, hentbol oyuncusu ve koşucuların (değişik mesafelerden) tek bir grup olarak ele alınmıştır (2, 19, 38, 40).

Örneğin, Alvarez ve ark., (2), 60 elit erkek sporcuyla incelemiş ve *ACE* II genotipi ile dayanıklılık performansı arasında pozitif bir ilişki bulmuşlardır. Fakat, bu 60 sporcudan 25'i bisikletçi (mesafeleri belirtilmemiş), 20'si uzun mesafe koşucusu (mesafeleri belirtilmemiş) ve 15'i hentbol oyuncusudur. Açık ki, bu sporcular mesafeleri ve branşlarının özgün ihtiyaçlarına göre farklı önem seviyelerinde maxVO_2 , anaerobik eşik, kassal dayanıklılık, hareket ekonomisi gibi kriterlere ihtiyaç duyarlar ve antrenmanları bu ihtiyaçlara göre düzenlenir. Bu sebeple Alvarez'in çalışma grubu hem homojen değildir, hem de *ACE* II genotipi ile hangi dayanıklılık kriterinin ilişkisi olduğunu açıklamada yetersizdir.

Gayagay ve ark., (19) ise 64 kürekçide II genotipi ile dayanıklılık performansı arasında ilişki bulmuş fakat bu sporcuların müsabaka eforlarının ne kadar sürdüğü, tüm sporcuların aynı mesafede yarışıp yarışmadığı ve performans düzeyleri açıklanmamış ve tümü tek bir grup olarak incelenmiştir.

Nazarov ve ark., (40) farklı disiplinlerden sporcuları branşlarına göre gruplara ayırmadan, sürelerine göre sınıflamış ve bunları; a) bir dakikadan kısa süreli, b) 1 – 20 dakika süreli ve c) 20 dakikadan uzun süren müsabakalarda yarışan sporcular olarak sınıflamıştır. Ancak bu sporcular yüzme, atletizm, mukavemet kayağı ve triatlon branşlarında yarıştıklarından, lokal kassal dayanıklılık, aerobik ve anaerobik eşikler, max VO₂ ve hareket ekonomisi gereksinimleri farklıdır.

Myerson ve ark., (38) ise 19 spor branşından toplam 404 deneği incelediklerinde ACE I alele frekansının bu sporcularda kontrol grubundan farklılık göstermediğini saptamışlar ve ACE I alel ile sportif performans arasında ilişki olmadığını sonucuna varmışlardır.

Yukarıda bahsedilen çalışmalar (2, 19, 40), ACE I alel ile dayanıklılık performansı arasında bir ilişki olduğunu iddia eden ilk çalışmalardan olduklarından değerlidir. Bu çalışmalar, benzeri denek grubu özellikleri taşıyan diğer çalışmalarla birlikte, ACE I alel ile dayanıklılık performansı arasında bir ilişki olduğu görüşünün yaygınlaşmasına neden olmuşlardır. Ancak, hangi fizyolojik parametrelerin (maxVO₂, anaerobik eşik gibi) veya hangi aerobik dayanıklılık sınıfının (kısa süreli, orta süreli veya uzun süreli) ACE genotipleri (veya alelleri) ile ilişkili olabileceğini açıklayamazlar.

1.4. Çalışma grubu homojenliğinin önemi:

ACE gen polimorfizmi ve sportif performans arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların çoğunda denek grupları ırk, coğrafi orijin, cinsiyet, spor branşı, sportif statü (elit, non-elit), antrenman geçmişi, efor süresi ve şiddeti açısından homojen değillerdi. Grup homojenliğinin, *ACE* I/D polimorfizmi ile sportif performans ilişkilerinin daha doğru bir şekilde ortaya konulmasında önemli olduğunu pek çok yazar vurgulamıştır (23, 40, 64).

Yapılan az sayıda homojen çalışmada, *ACE* DD genotipli kişilerin gelişmiş bir maxVO₂ gerektiren kısa süreli aerobik dayanıklılıkta daha iyi performansa (9) veya daha yüksek maxVO₂ düzeylerine (46, 68,) sahip olduğu saptanmıştır. Rankinen ve ark., (46) homojen alt gruplara sahip olan çalışmalarında ise beyaz ve siyah ırktan oluşan 203 ailelik büyük bir heterojen grubun (N=724) içinde yer alan beyaz ebeveynlerden (n=182), *ACE* DD genotipine sahip olanların antrenmana yanıt olarak daha büyük bir maxVO₂ artımı gösterdikleri saptanmıştır. Benzer şekilde, (68) *ACE* DD genotipli erkek üniversite öğrencilerinde, antrenmana yanıt olarak daha fazla maxVO₂ artımı gözlemişlerdir. Benzer antrenman geçmişi sahip homojen bir grupta (n=88), *ACE* DD genotipine sahip olanların daha iyi kısa-süreli (6 - 8 dakika) aerobik dayanıklılık gelişimine sahip olduğu tespit edilmiştir (9).

Yine homojen bir denek grubunda (n=99) yüksek hacimli-düşük şiddetli kuvvet antrenmanlarında *ACE* II genotipinin, düşük hacimli-yüksek şiddetli kuvvet antrenmanlarında ise *ACE* DD genotipinin avantajlı olduğu saptanmıştır (11).

1.5. Kısa süreli aerobik dayanıklılıkta güç gereksinimi ve ACE D alel ilişkisi:

MaxVO₂ 10 – 12 dakika süren eforlarda performansın en önemli belirleyicisidir (32). Bu süreli maksimal bir eforda, anaerobik metabolizma katılımı oldukça yüksektir. MaxVO₂ eforlarından sonra kan laktat konsantrasyonu 8 - 12 milimolar (mM) seviyelerindedir (33). Bu tip bir eforda daha iyi performans için yüksek güç üretimi gereklidir. Hızlı kasılan (tip II) fibrillerin işe katılım oranı yüksektir. Zhang ve ark. (67), I alel ile yavaş kasılan fibriller (tip I) ve D alel ile de tip II fibriller arasında ilişki olduğunu saptamışlardır. Orta mesafecilerin tip II oranı (% 48 – 55) haltercilerinkine (% 51 – 56) çok yakındır (42).

Yüksek ACE D alel frekansına sahip denek gruplarında anaerobik performansın yüksek olduğu (38, 40, 64), antrenmanla yağsız vücut kütlelerinde daha fazla artış olduğu (34, 39) ve direnç antrenmanı sonucunda daha büyük kassal kuvvet gelişimi gösterdikleri (11, 18) ortaya konmuştur.

Bu nedenle, 2 – 8 dakika arasında süren maksimal eforlarda anaerobik kapasite ve aerobik güç (maxVO₂) en önemli parametrelerdir.

Homojen non-elit denek gruplarıyla yapılan bir kaç araştırmada, ACE DD genotipine sahip kişilerin daha yüksek maxVO₂ düzeylerine sahip olduğu (46, 68) ve antrenmana yanıt olarak daha iyi bir kısa süreli aerobik dayanıklılık gelişimi gösterdikleri (9) saptanmıştır.

1.6. Hipotez:

Önceki bölümlerde (1.2.- 1.4.) arasında ortaya konulan gerekçelerle, homojen gruplarda kısa süreli aerobik dayanıklılık ile ACE DD genotipi arasında ilişki olabileceği varsayımı ile bu tez çalışması başlatıldı.

BÖLÜM II

GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. Örneklerin Seçimi ve Kan Alımı:

Türk Silahlı Kuvvetlerine başvuran sözleşmeli subay adaylarından 186 sedanter beyaz erkek çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya katılan bütün bireylerin yazılı onayları alındı. Çalışma Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu tarafından onaylandı. Deneklerin yaş ortalaması 25 ± 1.6 , ağırlıkları 72 ± 2.1 kg ve boy uzunlukları 174 ± 3.4 cm idi.

Onayları alınan hastaların periferik venöz kanları K_2EDTA 'lı tüplere toplandı ve DNA izolasyonunda kullanılmaya kadar -20 °C de saklandı. Tüm moleküler analizler Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Moleküler Tıp Araştırma laboratuvarında yapıldı.

2.2. Antrenman programı:

Tüm denekler altı ay boyunca, haftada 6 gün ve günde iki seans olmak üzere benzer antrenman programına alındı. Antrenman programı; esneklik egzersizleri, dairesel antrenmanlar, 2400 metre ve 3000 metre koşular, 1000 – 3000 metre arası askeri teçhizatla koşular, engelli parkur koşuları, aerobik eşik ve anaerobik eşik antrenmanlarından oluştu. Dairesel antrenmanlar; halata tırmanma, bomba atma ve engelli koşu parkurundan oluşuyordu. İlk iki hafta boyunca hafta içi her gün 30 dakikalık esneklik ve dairesel antrenmanlar ve haftanın altı günü değişimli olarak 30 – 45 dakikalık anaerobik eşik koşuları ve 45 – 60 dakikalık aerobik eşik koşuları yapıldı. Üçüncü haftadan itibaren, haftada bir defa engelli koşu parkuru çalışması, bir veya iki defa 1000 – 3000 metre arasında değişen teçhizatlı koşular ve/veya 2400 – 3000 metre düz koşu eşik koşularından birinin yerine konuldu.

2.3. Egzersiz testleri:

Denekler başlangıç performans testleri yapıldıktan sonra altı aylık egzersiz programlarını takip ettiler ve bu süreç sonunda son testleri tamamlandı. 2400 metre orta mesafe koşu performansı ölçümleri atletizm sahasında gerçekleştirildi. Performans zamanları 0.01 saniye hassasiyete sahip dijital zaman ölçerlerle gerçekleştirildi.

2.4. GENETİK ANALİZ

2.4.1. Kullanılan Kimyasallar ve Araçlar:

2.4.1.1. Kimyasallar:

Çalışmanın her aşamasında moleküler grade kalitesinde kimyasallar ve tip-1 kalitesinde ddH₂O (çift distile su) (18 megaohm/cm) kullanıldı.

- Agaroz (Sigma, A 9539)
- Borik Asit (Sigma, B 6768)
- Bromfenol mavisi (Sigma, 5525)
- dNTP karışımı (Boehringer Mannheim, 1277049)
- EDTA (etilendiamintetraasetikasit, disodyum) (Sigma E 5134)
- Etanol (Riedel de Haen, 24103)
- Etidium Bromid (Sigma,E 7637)
- KCl (Sigma, P 9327)
- N-Laurol Sarkozin (Sigma, L 9150)
- Moleküler Ağırlık Marker'ı (Hae III,Fermentas)
- Nucleospin DNA izolasyon kiti (Macherey-Nagel, No:740 951.250)
- PCR tampon seti (Boehringer Mannheim, 1699121)
- Sukroz (Sigma, S 0389)
- Taq DNA Polimeraz (Boehringer Mannheim, 1146165)

2.4.1.2. Araçlar:

- GeneAmp PCR System 9700 (PE Applied Biosystems)
- Elektroforez sistemi EC105 (EC Apparatus Corporation,<500mA), OWL, Heidelberg, Germany
- Sorvall RMC 14 Mikrosantrifüj.
- Pharmacia Biotech Ultraspec 2000. UV / Visible Spektrofotometre.
- UVP BioDoc-It™ Transillüminatör
- Grant LTD 6 G (-20 to 100 °C) Su banyosu.

2.5. ACE I/D Polimorfizminin Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

2.5.1. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu:

Hastalardan EDTA'lı tüpe alınan 1 ml periferik kandan 200 µl alınarak genomik DNA elde edildi. Bu amaçla tuzsuz DNA ekstraksiyon yöntemi kullanıldı. Bu yöntem için Nucleospin DNA izolasyon kiti kullanıldı. Ekstraksiyon işlemleri kit prospektüsüne göre yapıldı.

2.5.1.1. Uygulanan Protokol:

DNA Ekstraksiyonu (NucleoSpin)

1. 1,5ml mikrosantrifüj tüplerine **200µl kan** ve **25µl proteinase K** eklendi.
2. **200µl lysis buffer B3** her bir karışımın üzerine eklendikten sonra 10-20 saniye kadar vortekslendi.
3. 70°C' de 10 dakika beklendi.
4. Her bir örneğin üzerine **%96-98'lik etanolden 210µl** konulup, vortekslendi.
5. Örneklerin her biri **NucleoSpin Blood column**'lara aktarıldı.
6. 12.000 rpm'de 1dk. santrifüj edildi.
7. **NucleoSpin Blood column**'lar 2ml'lik yeni tüplere aktarılır ve her birine **500µl BW** eklendi.
8. 12.000 rpm'de 1dk. santrifüj edildi.

9. *NucleoSpin Blood column*'lar yeni tüplere aktarılır ve her birine **600µl B5** eklendi.
10. 12.000 rpm'de 1dk. santrifüj edildi.
11. *NucleoSpin Blood column*'lar yeni tüplere aktarıldı ve üzerine solüsyon koymadan boş, 14.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi.
12. *NucleoSpin Blood column*'lar 1,5 ml'lik mikro santrifüj tüplerinin içine konuldu. Üzerine önceden **70°C'de bekletilmiş olan elution buffer (BE)**' dan **100 µl** eklendi. Oda ısısında yaklaşık 3 dakika beklendi.
13. 12.000 rpm'de 1dk. santrifüj edildi.
14. *NucleoSpin Blood column*'lar atıldı. Mikro santrifüj tüplerinin dibinde biriken miktarla PCR çalışıldı.

Tüplerin ağızları kapatıldı ve parafinlenerek -20°C'ye kaldırıldı.

2.5.2. PCR Amplifikasyonu :

2.5.2.1. Amplifikasyonda Kullanılacak Primerlerin Seçimi:

ACE gen polimorfizmi PCR yöntemi ile belirlendi (50). Kullanılacak primerler, yapılan literatür taraması sonucuna göre belirlendi (Tablo 1). Belirlenen primerler HPLC ile saflaştırılmış olarak Oncoor Appligene'e sentezletirildi. Liyofilize halde gelen primerler 10 pmol / µl konsantrasyonda olacak şekilde ddH₂O ile çözüldü.

2.5.2.2. Uygulanan PCR Protokolü:

PCR reaksiyonunda yer alan bütün bileşenler (PCR tamponu, dNTP, Primerler, Taq DNA Polimeraz) ve PCR siklus sıcaklık profilleri tek tek kontrol edilerek standardizasyonları yapıldı. Sonuçta PCR reaksiyonunda kullanılan karışım aşağıdaki miktar ve konsantrasyonlarda hazırlandı (Tablo 2). Her bir DD genotipi, insersiyon sekansına spesifik primer kullanarak ikinci bir PCR analizi ile doğrulandı (51).

Tablo 1. Kullanılan Primerler.

Forward Primer ; 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3'
Revers Primer ; 5'-ATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'

Tablo 2. 15 µl hacim içerisinde gerçekleştirilen PCR reaksiyonunda kullanılan maddeler ve son konsantrasyonları.

Kullanılan Madde	ACE
ddH ₂ O	Tamamlayacak kadar
10xPCR tamponu	2.5 µl
dNTP karışımı	200µM
Primer F	10 pmol/µl
Primer R	10 pmol/µl
Taq DNA Pol.	1ünite
Kalıp	1.0 µl

Thermal Cycler'da tabloda gösterilen PCR sıcaklık profili (Tablo 3) kullanılarak amplifikasyon gerçekleştirildi.

Tablo 3. Kullanılan PCR Sıcaklık Profili

95°C	5 dakika	35 Çevrim
94°C	30 saniye	
50°C	30 saniye	
72°C	1 dakika	
72°C	7 dakika	

2.5.2.3 PCR Ürünlerinin Elektroferezde Değerlendirilmesi:

Elde edilen 2 µl (100ng) DNA molekülü %1'lik Agaroz jelde elektroforeze tabii tutuldu. Moleküler Biyolojide kullanılan Agarozdan 1g. Tartılarak, üzerine 100 µl 10XTBE ve 10 µg/ml konsantrasyonlu Etidyum Bromür solüsyonları ilave edilip karıştırıldı. Önceden hazırlanmış elektroforez tankına taraklar yerleştirildi ve bu agaroz solüsyonu kamerasına döküldü, sertleşinceye kadar bekletildi. Üzerine 1XTBE tamponu eklendikten sonra taraklar çıkarıldı. 2µl DNA ve 2 µl Orange G karıştırılarak jele yüklendi. Elektroferez 100mV, 80 mA koşullarında kullanılarak 30-40 dakika arasında uygulandı.

Jeldeki DNA ultraviyolede, baz çift sayısı bilinen standart olarak kullanılan DNA markeri (Hae III, Fermentas) ile karşılıklı olarak görüntülendi. Kontrol edilen bu DNA'dan tüm genotipleme reaksiyonları yapıldı.

2.6. İstatiksel Analizler

İstatiksel analizler SPSS for Windows 12.0 versiyonu (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) ile gerçekleştirildi. Frekans analizleri, çapraz-tablolar (cross-tabulations), betimleyici istatistikler ve ortalamalar kullanıldı. $p < 0.05$ seviyesi istatistiki anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Finetti istatistik programı ile bir χ^2 testi kullanılarak gözlenen genotip frekansları arasında Hardy-Weinberg denkliği olup olmadığı incelendi. ACE II, ID ve DD genotip grupları arasındaki dayanıklılık performansı başlangıç düzeyi ve gelişim oranı farklılıkları varyans analizi (ANOVA) ve post-hoc Bonferroni testi ile analiz edildi. Genotip dağılımlarının performans iyileştikçe II>ID>DD'ye veya tam tersi yönde lineer bir trend gösterip göstermediği χ^2 testi ile incelendi. Antrenman programı başlangıcı ve bitiminde ACE genotipi arasındaki farklar t-testi ile analiz edildi.

BÖLÜM III

BULGULAR

Tüm denek grubunun (N=186) genotip dağılımları (%16.7 II, n=31; %46.2 ID, n=86; % 37.1 DD n=69) Hardy-Weinberg denkliği gösterdi. Deneklerin alel frekansları I ve D aleller için sırasıyla 0.398 ve 0.602 idi. 2400 metre koşu performansı başlangıç değerleri açısından genotip grupları arasında farklılık yoktu (Tablo 4).

Tablo 4. ACE genotipleri arası 2400 metre başlangıç, bitiş performansları ve gelişim farkları.

	<i>ACE II</i> (n=31)	<i>ACE ID</i> (n=86)	<i>ACE DD</i> (n=69)	ANOVA	
				χ^2	p
Başlangıç (sn)	599.1 ± 33.0	591.9 ± 33.9	601.0 ± 40.3	1.305	0.274
Antrenman Sonrası (sn)	541.0 ± 25.4	532.5 ± 28.0	529.6 ± 28.7	1.809	0.167
p (T-test)	0.0001**	0.0001**	0.0001**		
Değişim ^a (%)	9.59 ± 3.64	9.94 ± 3.7	11.6 ± 3.4	6.669	0.02*

*: p<0.05; **: p<0.01; ^a: {1-[son değer / başlangıç değeri]} *100

Tüm *ACE* genotipi grupları antrenman programı sonrasında 2400 metre performansında başlangıç seviyesine göre $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı gelişimler gösterdi. *ACE* DD genotipli deneklerin 2400 metre performans gelişimi, ID ($p < 0.01$) ve II ($p < 0.05$) genotip gruplarından anlamlı olarak daha fazlaydı (Tablo 4 ve 5).

2400 metre performans gelişim oranları (değişim yüzdeleri) *ACE* DD $>$ *ACE* ID $>$ *ACE* II şeklinde lineer bir trend gösterdi (Pearson $\chi^2 = 0.461$; lineer trend için p değeri = 0.001).

Tablo 5. *ACE* genotip grupları arasında 2400 metre performans gelişimi farklılıkları.

	<i>ACE</i> II	<i>ACE</i> ID	<i>ACE</i> DD
	(n=31)	(n=86)	(n=69)
<i>ACE</i> II	—	1.000	0.013*
<i>ACE</i> ID	1.000	—	0.004**
*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$ (Bonferroni test)			

BÖLÜM III

TARTIŞMA

Daha önce homojen grupla yapılan çalışmalarda *ACE* D alel'in kısa süreli aerobik dayanıklılıkta (2000 metre) daha yüksek performans ile (9) ve *ACE* I alel'in ise aerobik antrenmana yanıt olarak orta süreli aerobik dayanıklılık performansında (30 dakika sürdürülebilir efor) daha iyi bir gelişim ile ilişkili olabileceği gözlenmiştir (10).

Bu araştırmanın bulguları, *ACE* DD genotipinin antrenmana yanıt olarak kısa süreli aerobik dayanıklılık gelişiminde avantajlı olduğunu ortaya koydu. Bu bulgular yukarıda bahsedilen çalışma sonuçlarıyla beraber değerlendirildiğinde, *ACE* I alel'in maksimal eforlar esnasında dayanıklılık performansı üzerine etkinliğinin 10 ile 30 dakika arasında bir eşiğe sahip olduğunu düşündürmektedir.

Kısa süreli aerobik dayanıklılık, yüksek güç üretimi, maxVO_2 ve anaerobik kapasite gerektirmektedir (32). MaxVO_2 'ye denk gelen efor şiddetlerinde egzersiz 10-12 dakika sürdürülebilir (32). Deneklerimizin başlangıç 2400 metre performansları 10 dakika civarında ve antrenman periyodu sonrasında bundan daha iyi performans elde ettiklerinden testleme sırasında deneklerin ortaya koyduğu eforlar en azından maxVO_2 'ye denk veya biraz daha şiddetliydi.

MaxVO_2 'ye denk gelen ve 10 dakika civarında süren koşular sonrasında kan laktat konsantrasyonları 8 – 12 mM civarında gözlenmektedir (41). Ohkuwa ve ark. (43), atletlerde bitkin duruma getirici 3000 metre koşusundan sonra zirve kan laktat seviyelerini 12 mM civarında bulmuşlardır. Bu da 3000 metre koşu performansına anaerobik metabolizmanın katkısının oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

Dolayısıyla daha kısa olan 2400 metre performansı için anaerobik metabolizma katılımının daha da yüksek olacağı söylenebilir.

Bazı çalışmalarda, ACE D alel'inin yüksek maxVO₂ düzeyleri ile (46, 68) ve orta ve uzun mesafe yüzmede üstün performansla (60) ilişkili olduğu saptanmıştır. ACE DD genotiplilerin antrenmanlara yanıt olarak kas kuvveti gelişimi II genotipine göre daha fazladır (11, 18) ve anaerobik kapasiteleri daha yüksektir (64). DD genotiplilerin yüksek oranda tip-II kas fibrillerine sahip olması da (67) bu bulguları desteklemektedir. Orta mesafe koşucuları (800 – 3000 metre) yüksek oranda (% 48 – 55) tip-II fibrile sahiptirler (42). Bu nedenle, ACE DD genotipine sahip bireylerin yüksek maxVO₂ düzeylerinin performansta önemli olduğu için duyulan kısa süreli aerobik dayanıklılıkta avantajlı olabileceği düşünülebilir.

ACE I/D polimorfizmlerinin egzersiz performansları ile ilişkisi olup olmadığı üzerine son zamanlarda yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Çok sayıda araştırmada sportif performans ile ACE I/D polimorfizm arasında ilişki olduğu açıklanmışken, Rankinen ve ark., (47) elit dayanıklılık sporcularında böyle bir ilişki olmadığı sonucuna varmışlardır. Aynı şekilde Taylor ve ark., (58) her iki cinsiyette de böyle bir ilişki olmadığı sonucuna varmışlardır. Bununla beraber, Taylor ve ark., (58) erkeklerde DD genotipi ile performans arasında bir trend olduğunu gözlemişler, fakat aynı sonuca bayanlarda rastlamamışlardır. Sonna ve ark. (55)' da ACE genotipinin maxVO₂ ve kassal dayanıklılık performanslarıyla güçlü bir ilişki göstermediğini bildirmişlerdir.

ACE gen polimorfizmi ve sportif performans arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların sonuçlarının güvenilir olabilmesi için çalışma grubunu oluşturan deneklerin ırk, coğrafi orijin, cinsiyet, spor branşı, sportif statü (elit, non-elit), antrenman geçmişi, branşlarının gerektirdiği efor süresi ve şiddeti açılarından

homojen olmaları gerekir. Pek çok araştırmacı homojen olmayan gruplarla yaptıkları çalışmaların sonuçlarını yorumlarken çalışma grubu homojenliğinin, *ACE I/D* polimorfizmi ile sportif performans ilişkilerinin daha doğru bir Şekilde ortaya konulmasında önemli olduğu görüşünü ortaya koymuşlardır (23, 40, 64).

Homojen olmayan gruplarla yapılan bu çalışmaların çoğunda *ACE I* alel ve *II* genotipi ile dayanıklılık performansı arasında elit sporcularca (2, 19, 38, 40) ve non-elitlerde (35, 46) ilişki olduğu ve aynı submaksimal efor düzeyinde daha az oksijen kullanımı (hareket ekonomisi) (35), kassal dayanıklılık (46) gibi dayanıklılıkla ilişkili diğer parametrelerin bu kişilerde daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Örneğin, Rankinen ve ark., (46) maxVO_2 seviyeleri 75 ml/kg/dk'nın üzerinde olan elit düzeyde 192 sporcu üzerinde yaptıkları çalışmada, *ACE I/D* polimorfizmi ile sportif performans arasında bir ilişki olmadığı sonucuna, heterojen bir denek grubu kullanarak ulaşmışlardır. MaxVO_2 düzeylerine göre elit sporcu statüsünü belirlerken bu özellik açısından homojen bir grup oluşturmuşlar fakat, genetik özellikleri etkileyebilen farklı coğrafik orijinden gelen, farklı laktat eşikleri, koşu ekonomisi ve/veya kassal dayanıklılık düzeyleri gerektiren altı farklı spor branşından heterojen bir sporcu grubu ile çalışmışlardır.

Diğer taraftan, Woods ve ark., (64) aynı ırk ve spor branşından (yüzme) sporcularda sportif başarı ve *ACE I/D* polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Ancak alışma grupları yzlen mesafe, coğrafik orijin, sportif başarı düzeyi ve cinsiyet açısından heterojendi. Yazarlar tümü tek bir grup olarak incelenen deneklerini Almanya, Finlandiya, ABD, Kanada, ve diğer İngiliz Topluluğu yesi ülkelerin elit veya non-elit, bay veya bayan sporcularından seçmişlerdi ve sporcuların branşları 400 metre altı ve üstü olmak üzere kabaca iki gruba ayrılmıştı. Araştırmacılar 400 metre üzerindeki disiplinlerde yarışan elit ve non-elit tüm

yüzücüler ile kontrolleri karşılaştırdıklarında I/D alel frekansları arasında fark saptamamışlar fakat, 400 metre altı yarışan elit düzeydeki yüzücülerde, D alel frekansının kontrollere göre anlamlı düzeyde fazla bulmuşlardır. Açıkça elitlik ve non-elitlik ve mesafe farklılığı değişik sonuçlar vermiştir.

Myerson ve ark., (38) yapılan bir çalışmada İngiliz Olimpiyat Komitesi tarafından seçilmiş 19 farklı spor dalından olimpik düzeyde sporculardan oluşan büyük bir denek grubunda (N=495), *ACE* I/D frekanslarını ve genotip dağılımlarını incelemişlerdir. Bu sporcuların 91'i, 12 farklı mesafede yarışan (100 metre – 100 km arası) (48 erkek, 43 bayan; 79'u beyaz ırk diğerleri siyah ırktan) koşucu iken geri kalanı (n=404) 19 farklı spor dalından seçilmiştir (219 erkek, 185 bayan). Araştırmacılar, 91 koşucunun alt grup olarak analizinde mesafe arttıkça I alel frekansının kontrollere göre arttığını ve II genotip dağılımının kontroller ile anlamlı bir farklılık gösterdiğini saptamışlardır. Daha homojen bir grup elde etmek için siyah ırktan sporcuları grup dışında bırakarak geri kalan 79 beyaz atleti incelemeye almışlar, fakat grup yine de cinsiyet açısından heterojen kalmıştır. Bu alt grupta (n=79) sadece I alel frekanslarının mesafe arttıkça kontrollere göre farklılaştığını, ancak genotip dağılımlarının anlamlı bir fark göstermediğini gözlemişlerdir. Myerson ve ark., bu çalışmalarında cinsiyetler arası *ACE* genotip dağılımı veya alel frekansı farklılığı olmadığını iddia etmişlerdir.

Nazarov ve ark., (40) *ACE* I/D polimorfizmi ve dayanıklılık performansı ilişkilerini, elit ve non-elit, bayan ve erkek (N=217), yüzme (n=66), atletizm (n=81), mukavemet kayağı (n=52) ve triatlon (n=18) sporcularında incelemişlerdir.

Tüm grubu müsabakanın süresine göre: kısa (< 1 dakika), orta (1 – 20 dakika) ve uzun (> 20 dakika) mesafe olarak üçe ve sportif başarı düzeyi olarak: elit ve vasat olmak üzere ikiye ayırmışlardır. Hem tüm deneklerin (N=217) hem de elit sporcu

(n=141) alt grubunun *ACE* genotip dağılımı ve alel frekansları sedanter kontrollerle benzer bulmuşlardır. Elit sporcuların (n=141) alt gruplarının analizinde kısa mesafe sporcularında (n=40) D alel, orta mesafe sporcularında (n=35) ise I alel frekansları yüksek olduğunu saptamışlardır. Elit ve elit olmayan yüzücüler mesafe ayırımı yapılmaksızın aynı grupta (n=66) incelendiğinde ise sportif başarı düzeyinin genotiple bir ilişkisi olmadığını, fakat tüm branşların (N=217) sporcularını sportif düzeye bakılmaksızın aynı gruba alarak mesafeye göre incelediklerinde, kısa mesafecilerde (n=65) D alel frekansının, orta mesafecilerde (n=61) ise I alel frekansının yüksek olduğunu gözlemişlerdir. Elit kısa mesafe koşucusu atletlerde (n=14) yüksek D alel frekansı ve DD genotipi oranı görülürken, non-elitlerde böyle bir bulguya rastlamamışlardır. Tüm atletler tek bir grup olarak incelendiğinde (n=81) DD genotipi dağılımını ve D alel frekansını kontrole göre yüksek bulmuşlardır. Nazarov ve ark.'nın bu çalışmalarının sonuçları da grubun mesafe, sportif başarı düzeyi ve branş açısından homojen olup olmasının sonuçları ne kadar değiştirebileceğini göstermektedir. Zaten yazarlar da, sportif performans ile *ACE* genotipi arasında ilişkinin incelenmesinde değişik spor branşlarından ve sportif başarı düzeylerinden sporcuların aynı grupta ele alınmasının hatalı sonuçlar doğurabileceği sonucuna varmışlardır.

Taylor ve ark., (58) da değişik spor branşlarından erkek ve bayanların aynı grupta incelendiği çalışmalarında *ACE* genotipi ve elit sportif performans arasında ilişki bulamamışlardır. Tüm grup cinsiyete göre alt gruplara ayrıldığında erkeklerde performans düzeyi arttıkça DD genotip oranında artma eğilimi görmüşler, fakat bayanlarda böyle bir eğilim saptamamışlardır. Myerson ve ark.'nın (38) tersine Taylor ve ark., (58) *ACE* genotip dağılımının erkekler ve bayanlar arasında farklılık gösterebileceği sonucuna varmışlardır.

BÖLÜM V

SONUÇ

ACE I/D polimorfizminin sportif performans üzerine etkilerini inceleyen çalışmalarda denek grubu homojenliğinin önemi bazı araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (23, 40, 64). Bizim çalışma grubumuz, ırk, cinsiyet, coğrafi orijin, sportif başarı düzeyi, antrenman benzerliği ve yaşam tarzı açılarından oldukça homojendi. Bu nedenle, ACE gen polimorfizmi ve performans arasındaki ilişkinin anlaşılmasına önemli katkılar sağlayacağı düşünüldü.

Bu çalışmanın sonuçları, altı aylık aerobik dayanıklılık ve kassal dayanıklılık antrenmanı sonucunda kısa süreli aerobik performans gelişiminde, ACE DD genotipli deneklerin ID ve II genotipine sahip bireylere göre daha avantajlı olduğunu göstermektedir.

Aynı zamanda performans gelişiminde ACE DD > ID > II şeklinde doğrusal bir eğilim saptanmıştır.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, maxVO₂'nin baskın olduğu ve sekiz - on dakika civarında tamamlanan maksimal eforlarda ACE DD genotipine sahip kişilerin, benzer antrenmana yanıt olarak daha fazla performans gelişimi sağlayabileceklerini ortaya koymaktadır.

Bu bilgiler, yetenekli sporcu seçiminde, sporcu adaylarının uygun branşlara yönlendirilmesinde ve her yaşta sporcu için antrenman programlarının doğru bir şekilde yapılandırılmasında kullanılabilir.

BÖLÜM VI

ÖZET

Amaç: Bu tezin amacı; aynı antrenman programına yanıt olarak kısa-sürelili aerobik dayanıklılık performansı gelişim oranlarının ile *ACE* genotiplerine göre farklılıklarını homojen bir grupta incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya, Türk Silahlı Kuvvetleri (TSK) mensubu beyaz ırktan yaklaşık 186 erkek sedanter katıldı. Tüm denekler altı ay süresince, haftada altı gün ve günde iki defa benzer antrenman programına alındılar. Kısa süreli aerobik dayanıklılık performansını değerlendirmek için atletizm sahasında, antrenman periyodu öncesinde ve sonrasında 2400 metre koşu testi uygulandı. *ACE* geni polimorfizmi PCR analiz yöntemi kullanılarak incelendi.

Bulgular: Tüm grubun genotip dağılımları II genotipi için %16.7 (n=31); ID genotipi için %46.2 (n=86); DD genotipi için %37.1 (n=69) şeklindeydi. *ACE* DD genotipli deneklerde (p<0.01) ID ve II genotip gruplarına oranla daha yüksek aerobik dayanıklılık gelişimi gözlemlendi. 2400 metre performans gelişimi, *ACE* DD > *ACE* ID > *ACE* II (Pearson $\chi^2 = 0.461$ ve lineer trend p değeri = 0.001) şeklinde lineer bir trend gösterdi.

Sonuç: Kısa süreli aerobik dayanıklılık gelişiminde *ACE* DD genotipi daha avantajlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: genetik, dayanıklılık, insertion/deletion, antrenman

SUMMARY

Aims: In the present thesis it was aimed to study the variation in the short-duration aerobic performance development amongst *ACE* genotypes in response to identical training programs in a homogeneous population.

Material and Methods: The study group consisted of 186 male Caucasian non-elite Turkish army recruits. All subjects had undergone an identical training program consisting of a double training session per day and six days a week for six months. Performances for middle distance runs (2,400 m) were evaluated on the athletics track before and following the training period. *ACE* gene polymorphisms were studied by PCR analysis.

Results: The distribution of genotypes in the whole group was 16.7 % II, $n=31$; 46.2 % ID, $n=86$; 37.1 % DD, $n=69$. Subjects with *ACE* DD genotype had significantly higher enhancement than the ID ($p<0.01$) and II ($p<0.05$) genotype groups. Around 2,400 m performance enhancement ratios showed a linear trend as *ACE* DD > *ACE* ID > *ACE* II (p value for Pearson $\chi^2 = 0.461$ and p value for linear by linear association = 0.001).

Conclusion: *ACE* DD genotype seems to have an advantage in the development of short-duration aerobic performance.

Key words: genetics, endurance, insertion/deletion, training

BÖLÜM VII

KAYNAKLAR

1. Allen, A. M., MacGregor, D. P., McKinley, M. J., Mendelsohn, F. A. O. (1999). Angiotensin II receptors in the human brain. *Regulatory Peptides*, 79, 1–7.
2. Alvarez, R., Terrados, N., Ortalano, R., Iglesias, Cubero, G., Requero, J, R., Batalla, A., and Cortina, A. (2000). Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. *Eur J Appl Physiol*, 82(1-2): 117-120
3. Agerholm, Larsen, B., Nordestgaard, B, G., Tybjaerg, Hansen, A.,(2000). ACE gene polymorphism in cardiovascular disease, Meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 484 – 492.
4. Beldent, V., Michaud, A., Wei, L., Chauve, M, T., Corvol, P. (1993). Proteolytic release of human angiotensin-converting enzyme. Localisation of the cleavage site. *Journal of Biological Chemistry*, 268: 26428–26434.
5. Bouchard, C, An P., Rice, T., Skinner, J, S., Wilmore, J, H., Gagnon, J., Perusse, L., Leon, A, S., and Rao, D, C. (1999). Familial aggregation of $\dot{V}O_2$ max response to exercise training, results from the heritage study. *J Appl Physiol*, 87: 1003-1008.
6. Bouchard, C., Dionne, F, T., Simoneau, J, A., Boulay, M, R. (1992). Genetics of aerobic and anaerobic performances. *Exerc Sport Sci Rev*, 20:27-58.
7. Bouchard, C., Daw, E, W., Rice, T., Perusse, L., Gagnon, J., Province, M, A., Leon, A, S., Rao, D, C., Skinner, J, S., and Wilmore, J, H. (1998) Familial resemblance for $\dot{V}O_2$ max in the sedentary state. The HERITAGE family study, *Med Sci Sports Exerc*, 30: 252-258.

8. Bouchard, C., Lesage, R., Lortie, G., Simoneau, J. A., Hamel, P., Boulay, M., R., Perusse, L., Theriault, G., and Leblanc, C. (1986). Aerobic performance in brothers, dizygotic and monozygotic twins. *Med Sci Sports Exerc*, 18: 639-646.
9. Cam, S., Colakoglu, M., Sekuri, C., Colakoglu, S., Sahan, Ç., Berdeli, A. (2005). Association Between the ACE I/D Polymorphism and Physical Performance in a Homogeneous Non-elite Cohort. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30(1): 74-86.
10. Cam, S., Colakoglu, M., Colakoglu, S., Sekuri, C., Berdeli, A. (2006). ACE I/D gene polymorphism and aerobic endurance development in response to training in a non-elite female cohort. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, (Accepted for publication 16 March 2006) DOI: 10.1111/j.1600-0838.2006.00590.x
11. Colakoglu, M., Cam, F. S., Kayitken, B., Cetinoz, F., Colakoglu, S., Turkmen, M., Sayin, M. (2005). ACE Genotype May Have an Effect on Single vs Multiple Set Preferences in Strength Training. *European Journal of Applied Physiology*, 95: 20-27.
12. Danser, A., Saris, J. J., Schuijt, M. P., van Kats, J. P. (1999). Is there a local renin–angiotensin system in the heart? *Cardiovascular Research*, 44, 252–265.
13. Danser, A. H. J., Schalekamp, M. A. D. H., Bax, V. A., van den Brink, A. M., Saxena, P. R., Reigger, G. A. J., Schunkert, H. (1995). Angiotensin converting enzyme in the human heart , effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation*, 92: 1387-1388.

14. De Mello, W, C., Danser, A, H. (2000). Angiotensin II and the eart, On the intracrine renin–angiotensin system. *Hypertension*, 35, 1183–1188
15. Dick, F,W. (1992). Sports Training Principals. A&C Black, London, UK.
16. Dragovic, T., Minhall, R., Jackman, H, L., Wang, L, X., Erdos, E, G. (1996). Kininase II type enzymes: Their putative role in muscle energy metabolism. *Diabetes*, (Suppl.1): S34-S37.
17. Fagard, R, Bielen, E., and Amery, A. (1991). Heritability of aerobic power and anaerobic energy generation during exercise. *J Appl Physiol*, 70: 357-362.
18. Folland, J., Leach, B., Little, T., Hawker, K., Myerson, S., Montgomery, H., Jones, D. (2000). Angiotensin-converting enzyme genotype affects the response of human skeletal muscle to functional overload. *Exp Physiol*, 85: 575-579.
19. Gayagay, G., Yu, B., Hambly, B., Boston, T., Hahn, A., Celermajer, D, S., Trent, R, J. (1998). Elite endurance athletes and the ACE I allele-the role of genes in athletic performance. *Hum Genet*, 103: 48-50.
20. Harrison, D, G. (1997). Endothelial function and oxidant stress. *Clin Cardio*, 11997; 20: 2–7.
21. Higashi, Y., Yoshizumi, M. (2004). Exercise and endothelial function: Role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacol Ther*, 102: 87–96.
22. Hopkinson, N, S., Nickol, A, H., Payne, J., Hawe, E., Man, W, D,C., Moxham, J., Montgomery, H., Polkey, M, I. (2004). Angiotensin converting enzyme genotype and strength in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 170: 395-399

23. Jones, A., Montgomery, H, E., Woods, D, R. (2002). Human performance: a role for the ACE genotype. *Exerc Sport Sci Rev*, 30(4):184–190
24. Jonsson, J, R., Game, P, A., Head, R, J., and Frewin, D, B. (1994). The expression and localisation of the angiotensin-converting enzyme mRNA in human adipose tissue. *Blood Pres*, 3: 72-75.
25. Kem, D, C., Brown, R, D. (1990). Renin From beginning to end. *N Engl J Med*, 323: 1136-1137.
26. Lachurie, M, L., Azizi, M., Guyene, T, T., Alhenc, Gelas, F., Menard, J. (1995). Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism has no influence on the circulating renin-angiotensin-aldosterone system or blood pressure in normotensive subjects. *Circulation*, 91: 2933 – 942.
27. Lesage, R., Simoneau, J, A., Jobin, J., Leblanc, J., and Bouchard, C. (1985). Familial resemblance in maximal heart rate, blood lactate and aerobic power. *Hum Hered*, 35: 182-189.
28. Leung, P, S., Carlsson, P, O. (2001). Tissue renin angiotensin system: Its expression, localization, regulation and potential role in the pancreas. *Journal of Molecular Endocrinology*, 26, 155–164.
29. Lortie, G., Bouchard, C., Leblanc, C., Tremblay, A., Simoneau, J, A., Theriault, G., and Savoie, J, P. (1982). *Familial similarity in aerobic power. Hum Biol*, 54: 801-812.
30. Maes, H, H., Beunen, G, P., Vlietinck, R, F., Neale, M, C., Thomis, M., Vanden, Eynde, B., Lysens, R., Simons, J., Derom, C., and Derom, R. (1996). Inheritance of physical fitness in 10 yr old twins and their parents. *Med Sci Sports Exerc*, 28: 1479-1491.

31. Matsubara, H. (1998). Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases. *Circulation Research*, 83: 1182–1191.
32. Martin, D, E. (1990). Training and performance of women distance runners. a contemporary perspective *New Studies in Athletics*, 5 (2) 45-68.
33. Martin, D, E., Coe, P, N. (1991). Training Distance Runners. Champaign, Illinois, Leisure Press.
34. Montgomery, H, E., Clarkson, P., Dollery, C, M., Prasad, K., Lost, M, A., Hemingway, H., Statters, D., Jubb, M., Girvain, M., Varnava, A., World, M., Deanfield, J., Talmud, P., McEwan, J, R., McKenna, W, J., Humphries, S. (1997). Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation*, 96 (3): 741-747.
35. Montgomery, H, E., Marshall, R., Hemingway, H. (1998). Human gene for physical performance. *Nature*, 393:221-222.
36. Montoye, H, J., and Gayle, R. (1978). Familial relationships in maximal oxygen uptake. *Hum Biol*, 50: 241-249.
37. Munzenmaier, D., Greene, A, S. (1996). Opposing actions of angiotensin II on microvascular growth and arterial blood pressure. *Hypertension*, 27: 760–765.
38. Myerson, S., Hemingway, H., Budget, R., Martin, J., Humphries, S., Montgomery, H. (1999). Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *Journal of Applied Physiology*, 87 (4): 1313-1316.
39. Myerson, S, G., Montgomery, H, E., Whittingham, M., World, M, J., Humphries, S, E., Pennell, D, J.(2001). Left ventricular hypertrophy with

- exercise and ACE gene insertion/deletion polymorphism A randomized controlled trial with losartan. *Circulation*, 103 (2): 226-230.
40. Nazarov, I, B., Woods D, R., Montgomery, H, E., Shneider, O, V., Kazakov, V, I., Tomilin, N, V., Rogozkin, V, A. (2001). The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes. *Eur J Hum Genet*, 9(10): 797-801.
41. Noakes, T,D. (1988). The implications of exercise testing for prediction of athletic performance. a contemporary perspective, *Med Sci Sports Exerc*, 21 (4) 319-330.
42. Noakes, T, D. (1991). *Lore of Running*. 3 rd edition, Leisure Press/Human Kinetics,ampaign, IL.
43. Ohkuwa, T., Yoshinobu, K., Katsumata, K., Nakao, T., Miyamura, M. (1984). Blood lactate and glycerol after 400m and 3000m runs in sprint and long distance runners. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 53: 213-218.
44. Pieruzzi, F., Abassi, Z, A., and Keiser, H, R. (1995). Expression of renin-angiotensin system components in the heart, kidneys, and lungs of rats with experimental heart failure. *Circulation*, 92: 3105-3112.
45. Pahsa, M, A, Q., Khan, A, P., Kumar, R., Grover, S, K., Ram, R, B., Norboo, T., Serivastava, K, K., Selvamurthy, W., Brahmachari, S, K. (2001). Angiotensin converting enzyme insertion allele in relation to high altitude adaptation. *Annals of Human Genetics*, 65: 531-536 Part 6.
46. Rankinen, T., Perusse, L., Gagnon, J., Chagnon, Y, C., Leon, A, S., Skinner, J, S., Wilmore, J, H., Rao, D, C., Bouchard, C. (2000a). Angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and fitness phenotype in the Heritage family study. *J Appl Physiol*, 88:1029-1035.

47. Rankinen, T., Wolfarth, B., Simoneau, J. A., Maier, Lenz, D., Rauramaa, R., Rivera, M. A., Boulay, M. R., Chagnon, Y. C., Perusse, L., Keul, J., Bouchard, C.(2000b). No association between angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *J Appl Physiol*, 88 (5): 1571-1575.
48. Reneland, R., Lithell, H. (1994). Angiotensin-converting enzyme in human skeletal muscle. A simple in vitro assay of activity in needle biopsy specimens. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 54, 105–111.
49. Rigat, B., Hubert, C., Alhenc, Gelas, F., Cambien, F., Corvol, P., Soubrier, F. (1990). An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*, 86: 1343– 1346.
50. Rigat, B., Hubert, C., Corvol, P., Soubrier, F. (1992). PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res*, 20:1433.
51. Shanmugam, V., Sell, K. W., Saha, B. K. (1993). Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Methods Appl*, 3: 120–121.
52. Schaufelberger, M., Drexler, H., Schieffer, E., Swedberg, K. (1998). Angiotensin-converting enzyme gene expression in skeletal muscle in patients with chronic heart failure. *Journal of Cardiac Failure*, 4, 185–191.
53. Seneri, G. N., Boddi, M., Copo, M., Chechi, T., Zarone, N., Moira, M., Poggesi, L., Margheri, M., and Simonetti, I. (1996). Evidence for the

- existence of a functional cardiac renin-angiotensin system in humans. *Circulation* 94: 1886-1893.
54. Sernia, C. (2001). A critical appraisal of the intrinsic pancreatic angiotensin-generating system. *Journal of Pancreas*, 2, 50–55.
55. Sona, L, A., Sharp, M, A., Knapik, J, J., Cullivan, M., Angel, A, C., Patton, J, F., Lilly, C, M. (2001). Angiotensin-converting enzyme genotype and physical performance during US Army basic training. *J Appl Physiol* , 91 (3): 1355-63.
56. Sunderland, D. (1996). Progression and methods of training for 800 meter runners. *New Studies in Athletics*, 1 (4): 65 – 70.
57. Sundet, J, M., Magnus, P., and Tambs, K. (1994). The heritability of maximal aerobic power: a study of Norwegian twins. *Scand J Med Sci Sports* 4: 181-185.
58. Taylor, R, R., Mamotte, C, D., Fallon, K., van Bockxmeer, F, M. (1999). Elite athletes and gene for angiotensin-converting enzyme. *J Appl Physiol*, 87: 1035-1037.
59. Timmermans, P, B, M, W, M., Wong, P, C., Chiu, A, T., Herblin, W, F., Benfield, P., Carini, D, J., Lee, R, J., Wexler, R, R., Saye, J, M., Smith, R, D.(1993). Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacological Review*, 45: 205–251.
60. Tsianos, G., Sanders, J., Dhamrait, S., Humphries, S., Grant, S., Montgomery, H. (2004). The ACE gene insertion/deletion polymorphism and elite endurance swimming. *Eur J Appl Physiol*, 92(3):360–362.
61. Ueda, S., Elliott, H, L., Morton, J, J., Connell, J, M. (1995). Enhanced pressor response to angiotensin I in normotensive men with the deletion

- genotype (DD) for angiotensin-converting enzyme. *Hypertension*, 25: 1266–1269.
62. Vicaut, E, H, X. (1993). Arteriolar constriction and local renin–angiotensin system in rat microcirculation. *Hypertension*, 21, 491–497.
63. Ward, P, E., Russell, J, S., Vaghy, P, L. (1995). Angiotensin and bradykinin metabolism by peptidases identified in skeletal muscle. *Peptides*, 16, 1073–1078.
64. Woods, D, R., Montgomery, H, E. (2001). Angiotensin-converting enzyme and genetics at high altitude. *High Altitude Medicine and Biology*, 2 (2): 201–210.
65. Woods, D, R., Pollard, A, J., Collier, D,J., Jamshidi, Y., Vassiliou, V., Humphries, S, E., Montgomery, H. (2002a). Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene and arterial oxygen saturation at high altitude. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166 (3): 362–366.
66. Woods, D, R., World, M., Rayson, M, P., Williams, A, G., Jubb, M., Jamshidi, Y., Hayward, M., Humphries, D, S., Montgomery, H, E. (2000b). Endurance enhancement related to the human angiotensin I-converting enzyme I-D polymorphism is not due to differences in the cardiorespiratory response to training. *European Journal of Applied Physiology*, 86 (3): 240–244.
67. Zhang, B., Tanaka, H., Shono, N., Miura, S., Kiyonaga, A., Shindo, M., Saku, K. (2003). The I allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with an increased percentage of slow-twitch type I fibers in human skeletal muscle. *Clin Genet*, 63(2): 139–144.

68. Zhao, B., Mochhala, S. M., Tham, S., Lu, J., Chia, M., Byrne, C., Hu, Q., Lee, L, K, H. (2003). Relationship between angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and VO₂max of Chinese males. *Life Sciences*, 73: 2625–2630.
69. Zisman, L, S. (1998). Inhibiting tissue angiotensin-converting enzyme. A pound of flesh without the blood? *Circulation*, 98: 2788–2790.

ÖZGEÇMİŞ

01.03.1967 yılında doğduğum Ankara’da ilk, orta ve lise tahsilini tamamladım. 1984 yılında, ODTÜ Beden Eğitimi ve Spor Bölümünde Türk Silahlı Kuvvetleri (TSK) adına öğrenimimi devam ettirdim. 1990 yılında Öğretmen Teğmen olarak ODTÜ’den mezun oldum

1990-2003 yılları arasında İzmir Maltepe Askeri Lisesinde görev yaptım. Maltepe As.Lisesi Beden Eğitimi öğretmenliği ve Atletizm takımı antrenörlüğü yaptığım süre zarfında birçok milli ve rekortmen atlet yetiştirdim.

1996 yılında Almanya’da organize edilen Dünya Ordular Arası Sporlar Konseyi (CISM)’nin “Sports For All” konulu Uluslararası Sempozyumu’na “Sağlıklı Yaşam ve Sportif Aktiviteler” başlıklı sunumla katıldım.

1999 yılında basımı yapılan “Beden Eğitimi ve Sporun Fizyolojik Temelleri” adlı kitabın çevirisini yaptım.

1999-2000 yıllarında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hareket ve Antrenman Anabilimi Dalında yüksek lisans öğrenimime başladım.

2000-2001 bahar döneminde Azerbaycan/Bakü Kara Harp Okulu’nda Savaş Beden Eğitimi Öğretim Görevlisi olarak bulundum. 2002 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladım.

2003 yılında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hareket ve Antrenman Anabilim Dalının açmış olduğu doktora sınavını kazandım. Aynı yıl içerisinde Kara Harp Okulu Komutanlığına, Savaş Beden Eğitimi Öğretim Görevlisi olarak (Ankara) atandım ve görev yaptığım süre içerisinde Askeri Pentatlon Takımı antrenörlüğü yaptım.

2005 yılında Genelkurmay Başkanlığına tayin oldum. Halen, Genelkurmay. Eğitim Daire Başkanlığı, Beden Eğitimi ve Spor Şube Proje Subayı olarak TSK’nin Spor Konsepti ve Sürekli Gelişim Faaliyet Planı (SGFP) doğrultusunda, TSK spor vizyonunun oluşturulması yönünde, TSK’nde icra edilen Beden Eğitimi ve Spor Faaliyetlerinin planlanması ve koordinesinde görevime devam etmekteyim. Ayrıca, Dünya Ordular Arası Sporlar Konseyi (CISM)’nin faaliyetleri içerisinde TSK CISM delegesi olarak da görev yapmaktayım.

Öğ.Bnb.Mesut CERİT