



**TRİATLON SPORCULARINDA İNTERLÖKİN-6 GENİNİN 3'
KODLAMA YAPMAYAN BÖLGESİNDEKİ SEKANS
VARYANTLARININ FREKANSLARININ VE BAĞLANTI
DENGESİZLİĞİ KALIPLARININ ARAŞTIRILMASI**

Hasan Faruk NİŞ



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TRİATLON SPORCULARINDA İNTERLÖKİN-6 GENİNİN 3' KODLAMA
YAPMAYAN BÖLGESİNDEKİ SEKANS VARYANTLARININ
FREKANSLARININ VE BAĞLANTI DENGESİZLİĞİ KALIPLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Hasan Faruk NİŞ
0000-0002-6665-9874

Doç. Dr. Dilek PİRİM
(Danışman)
0000-0002-0522-9432

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

BURSA– 2023

Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TRİATLON SPORCULARINDA İNTERLÖKİN-6 GENİNİN 3' KODLAMA YAPMAYAN BÖLGESİNDEKİ SEKANS VARYANTLARININ FREKANSLARININ VE BAĞLANTI DENGESİZLİĞİ KALIPLARININ ARAŞTIRILMASI

Hasan Faruk NİŞ

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Dilek PİRİM

Spor genetiği çalışmaları son zamanlarda dünya çapında artmıştır ve yapılan araştırmalar genetik faktörlerin atletik performansta önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır. *IL-6* (İnterlökin-6) geni de atletik performansa etki eden önemli genlerden biridir. *IL-6* geninin kodladığı protein olan interlökin-6, kas hipertrofisi ve kas iyileşmesinin de dahil olduğu sporla ilişkili birçok moleküler yolakla ilişkilendirilmiştir. *IL-6* geninin sekans varyantlarının ise atletik performansı etkilediği farklı çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmada Türkiye Triatlon Federasyonu'nun düzenlediği yarışlara katılan triatlon sporcularında (n=50) ve genel popülasyondan seçilen sedanter bireylerde (n=50) *IL-6* geninin mikroRNA'lar da dahil olmak üzere gen regülasyonunda önemli olan molekülün bağlandığı 3' kodlama yapmayan bölgesi (3'UTR) (592 bp) sanger sekanslama yöntemi ile sekanslanmıştır. İki grupta gerçekleştirilen sanger sekans verileri analiz edilerek tespit edilen varyantların kapsamlı fonksiyonel önemleri *in silico* yöntemlerle araştırılmıştır. Çalışma sonucunda sekanslanan gen bölgesinde $0.005 \geq \text{MAF} \geq 0.002$ olmak üzere toplam 4 adet sekans varyant (rs13306435, rs747302620, rs2069849, rs13306436) tespit edilmiştir. Tespit edilen sekans varyantlarının biyoinformatik araçlarla analizi gerçekleştirilmiş ve varyantların gen regülasyonunda önemli olabileceği gözlemlenmekle beraber rs13306436 (MAF=0.016) sadece triatlet grubunda tespit edilmiştir. Araştırmanın sonuçlarına göre *IL-6* geninin 3'UTR varyantlarının atletik performans açısından önemli düzenleyici bölgeler olabileceğini işaret eden bulgular vardır. Çalışmamızın sonuçları daha fazla sporcu ile ve farklı spor branşlarında doğrulanıp spor genetiği alanındaki translasyonel yaklaşımlara ışık tutma potansiyelindedir.

Anahtar Kelimeler: İnterlökin-6, *IL-6*, 3'UTR, DNA sekanslama, biyoinformatik, triatlon, SNP, spor genetiği

2023, vii +58 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF FREQUENCIES AND LINKAGE DISEQUILIBRIUM BLOCKS OF SEQUENCE VARIANTS LOCATED IN THE 3' UNTRANSLATED REGION OF THE INTERLEUKIN-6 GENE IN TRIATHLETES

Hasan Faruk NİŞ

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Dilek PİRİM

Recently, research in sports genetics have increased worldwide in recent times and it has been revealed that genetic factors are important in athletic performance. The *IL-6* (Interleukin-6) gene is one of the important genes that affect athletic performance. Interleukin-6, the protein encoded by the *IL-6* gene, has been associated with many sport-related molecular pathways, including muscle hypertrophy and muscle healing. Sequence variants of the *IL-6* gene have been shown to affect athletic performance in various studies. In this study, the 3' non-coding region (3'UTR) (592 bp) of the *IL-6* gene, which is important in gene regulation, including microRNA binding, was resequenced in triathlon athletes (n=50) participating in the races organized by the Turkish Triathlon Federation and sedentary individuals selected from the general population (n=50) by sanger sequencing. Sequence variants detected by Sanger sequence data analysis conducted in two groups were comprehensively investigated by *in silico* methods to reveal their functional significance. As a result, a total of 4 sequence variants (rs13306435, rs747302620, rs2069849, rs13306436) with $0.005 \geq \text{MAF} \geq 0.002$ were detected in the sequenced gene region. Multiple bioinformatic tools were used to analyse which reveal their possible roles in gene regulation however rs13306436 (MAF=0.016) was detected only in the triathlete group. Our results indicate that the 3'UTR variants of the *IL-6* gene may be important regulatory regions for athletic performance. Validation of the results with more athletes and in different sports branches has the potential to shed light on the translational approaches in the field of sports genetics.

Key words: Interleukin-6, *IL-6*, 3'UTR, DNA sequencing, bioinformatics, triathlon, SNP, sport genetics

2023, vii +58 pages.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans yaptığım dönem içerisinde desteğini esirgemeyen ve gerçek bilim sevgisini aşılayıp tüm çalışmalarım boyunca bana güvenip tecrübeleri ile en iyisini hedeflemeyi öğreten ve her zaman yardımcı olan sevgili danışman hocam Sayın; Doç. Dr. Dilek Pirim'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamızın yapılabilmesi için Triatlon sporcularına ulaşmamızda destek sağlayan ve ülkemizdeki spor bilimi çalışmalarına her zaman destek olan Türkiye Triatlon Federasyonu Başkanı Sayın; Bayram YALÇINKAYA'ya ve Türkiye Triatlon Federasyonu Eğitim Komitesi Yönetim Kurulu Üyesi Doç. Dr. Selçuk Bora ÇAVUŞOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

TUBİTAK 2244 bursu, bursiyer öğrencisi olarak yüksek lisans eğitimim boyunca beni destekleyen TUBİTAK kurumuna teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tez projesinin gerçekleşmesine destek sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine ve Bursa Uludağ Üniversitesi rektörlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

Bursa Uludağ Üniversitesi Omik Analiz ve Araştırma Laboratuvar'ı ekibindeki arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmaya katılan tüm gönüllülere teşekkürlerimi sunarım.

Değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Hasan Faruk NİŞ
.../.../.....

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	2
2.1. Spor ve Genetik.....	2
2.1.1. Triatlon sporu ve genetik.....	4
2.2. <i>IL-6</i> Geni.....	6
2.3. <i>IL-6</i> Geni Varyantları.....	9
2.3.1. <i>IL-6</i> geni varyantlarının sınıflandırılması.....	9
2.3.2. <i>IL-6</i> geni varyantlarının fenotiple ilişkileri.....	12
2.4. <i>IL-6</i> Proteini.....	14
2.5. <i>IL-6</i> ve Atletik Performans.....	20
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması.....	24
3.2. DNA İzolasyonu.....	25
3.3. Dizi Analizi.....	26
3.4. Veri Analizi.....	28
3.4.1. Varyantların belirlenmesi ve sıklığının analizi için kullanılan araçlar.....	29
3.4.2. Tespit edilen varyantların işlevsel analizleri ve önemleri.....	30
4. BULGULAR.....	34
4.1. Minör Alel Frekansı (MAF) Hesaplanması.....	34
4.2. Varyantların Veri Tabanları Kullanılarak Kategorize Edilmesi.....	36
4.3. miRNA Bağlanma Bölgelerinin Analizi.....	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	39
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	58

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

rpm

r^2

$\geq$

$>$

$=$

g

χ^2

$\leq$

$<$

μ L

mL

sn

$^{\circ}$ C

α

%

Açıklama

1 dakika içerisinde gerçekleştirilen devir sayısı

Belirleme katsayısı

Büyük eşittir

Büyüktür

Eşittir

Gram

Ki-kare

Küçük eşittir

Küçüktür

Mikrolitre

Mililitre

Saniye

Santigrat derece

Tip 1 hata

Yüzde

Kısaltmalar

dbSNP

DisGeNET

gnomAD

DNA

gp130

IL-6

IL-6R

LD

MAF

miRNA

mirSNP

mRNA

OMIM

PCR

PP2

SIFT

SNP

UTR

VO2max

Açıklama

Tek Nükleotid Polimorfizm Veritabanı

A database of gene-disease associations
(Gen-Hastalık ilişkileri veritabanı)

Genom agregasyon veri tabanı

Deoksiribo nükleik asit

Glikoprotein 130

İnterlökin-6

İnterlökin-6 reseptörü

Linkage Disequilibrium

(Bağlantı Dengesizliği)

Minör alel frekansı

mikroRNA

mikroRNA ile ilişkili tek nükleotid polimorfizmleri

Mesajcı RNA

Online Mendelian Inheritance in Man

(İnsanlarda Mendel Kalıtımı Online)

Polymerase Chain Reaction

PolyPhen-2

Sorting intolerant from tolerant

Tek Nükleotid Polimorfizmi

Kodlama Yapmayan Bölge

Maksimum oksijen kapasitesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. İnterlöki-6 geninin kromozom üzerinde gösterimi.....	7
Şekil 2.2. İnterlökin-6 geni ekzon ve UTR görünümü.....	7
Şekil 2.3. İnterlöki-6 geninin 3'UTR referans sekans dizisi.....	9
Şekil 2.4. Moleküler etkiye göre IL6 geni dizi varyantlarının sınıflandırılması.	10
Şekil 2.5. Varyant türüne göre <i>IL-6</i> geni dizi varyantlarının sınıflandırılması..	11
Şekil 2.6. Varyant türüne göre <i>IL-6</i> geni 3'UTR Varyantları.....	11
Şekil 2.7. IL-6 kristal yapısı 4 ana sarmal halindeki yapısının şerit gösterimi..	15
Şekil 2.8. IL-6-IL6R-gb130 kompleksi.....	16
Şekil 2.9. IL-6 Trans ve Klasik sinyal yolaklarının etkileri.....	18
Şekil 2.10. IL-6 trans yolunun farklı reseptörler üzerine etkisi.....	18
Şekil 2.11. IL-6 Klasik ve trans sinyal yolaklarının gösterimi.....	19
Şekil 2.12. Egzersiz sırasında ve egzersiz sonrasında IL-6 olası etkileri.....	21
Şekil 3.1. DNA'dan tükürük toplama işlemi.....	25
Şekil 3.2. Gen sekans verilerinin oluşturulma aşamaları.....	28
Şekil 3.3. Varyantların belirlenmesi ve sıklığının analizi için kullanılan araçlar.	30
Şekil 3.4. Tespit edilen varyantların işlevsel analizleri ve önemleri.....	33
Şekil 4.1. Tespit edilen varyantların LD plot analizi.....	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Sporla ilişkili örnek gen varyasyonları.....	3
Çizelge 2.2. Sporla ilişkili örnek gen varyasyonları ve ilişkili fenotipler.....	4
Çizelge 2.3. Çalışma kapsamında PCR ile çoğaltılmış gen bölgesindeki toplumsal veri tabanlarında tespit edilen varyantlar.....	9
Çizelge 2.4. <i>IL-6</i> gen varyantlarının ilişkili olduğu hastalıklar.....	12
Çizelge 2.5. <i>IL-6</i> geni ve ilişkili hastalıklar.....	13
Çizelge 3.1. PCR amplifikasyonu için tasarlanan primerlerin bilgisi.....	26
Çizelge 3.2. PCR’da kullanılan bileşenler ve oranları.....	27
Çizelge 3.3. PCR için uygulanan reaksiyon şartları.....	27
Çizelge 3.4. RegulomeDB Skorlama sistemi.....	32
Çizelge 4.1. Çalışmada tespit edilen varyantlar ve Haploview analizi sonuçları (n=94).	34
Çizelge 4.2. Tespit edilen varyantların tüm örnek grubunda (n=94) minör alel frekansları.....	35
Çizelge 4.3. Tespit edilen varyantların triatletlerde(n=47) minör alel frekansları.	35
Çizelge 4.4. Tespit edilen varyantların sedanterlerde(n=46) minör alel frekansları	35
Çizelge 4.5. Triatlet ve Sedanter Gruplar Arasındaki Alel Frekanslarının karşılaştırılması.....	36
Çizelge 4.6. Farklı veri tabanları ile tespit edilen varyantların işlevsel analizi.....	36
Çizelge 4.7. DisGeNET veri tabanında tespit edilen varyantların fenotip ilişkileri.	37
Çizelge 4.8. rs13306436G>A’nin olası miRNA hedef bölgelerindeki etkisi.....	37
Çizelge 4.9. miRNASNP v3 ile belirlenen miRNA’ların mirDIP skorlanması.....	38

1. GİRİŞ

Son yıllarda yapılan araştırmalar genetik faktörlerin, atletik fenotipte ve performansta önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır. Atletik performans güç, dayanıklılık ve psikoloji gibi farklı etmenlerin birleşimi ile oluşan bir özelliktir ve elit sporcu başarısı ile ilişkilidir. İkizlerle yapılan çalışmalarda atletik performansın genetik faktörlerle %66 gibi büyük bir oranla ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (De Moor vd., 2007). Atletik performansla ilişkili genetik profillerin ortaya çıkartılması, kişiselleştirilmiş antrenman programları geliştirilmesi ve sporcu sağlığına yönelik uygulamalar açısından önem arz etmektedir. Bunun yanı sıra, yapılan çalışmalarla genetik profile göre antrenman yapılmasının da sporcu sağlığı ve performans gelişimi için daha verimli olduğu gösterilmiştir (Ostrander vd., 2009). Bu nedenlerden dolayı, atletik performansla ilişkili genetik çalışmalar artmış (Appel vd., 2021; Ulucan vd., 2014) ve son yıllardaki araştırmalar atletik fenotiple ilişkili omik verilerin aydınlatılması adına yeni bir alan olan sporomik (Bongiovanni vd., 2019) çalışmalarına yoğunlaşmıştır. Bu araştırmalar sporcu fenotipinde etkin rol oynayan genetik bileşenlerin aydınlatılması, erken yaşta spor branşına yönlendirme, sporcu sağlığının değerlendirilmesi ve profesyonel sporculara yönelik kişisel antrenman yaklaşımlarının uygulanabilirliği açısından çok önemlidir.

Bu tez çalışmasında da Türkiye Triatlon Federasyonunun 2022 faaliyet yılındaki yarışlarda triatlon sporcularından ve genel popülasyondaki sedanter bireylerden toplanan örneklerde kas onarımı, metabolizma ve bağışıklık gibi farklı moleküler yollarda pleiotropik etkiye sahip olan ve sporla ilişkili olduğu çalışmalarla desteklenmiş İnterlök-6 (*IL-6*) geninin, 3' kodlama yapmayan bölgesi (UTR) varyantları incelenmiştir. Gittikçe önemi daha da anlaşılan genin kodlama yapmayan 3'UTR'ını hedef alan biyoinformatik analizlerin de içerisinde bulunduğu bu sporomik çalışmasıyla sporomik çalışmalar için yeni pilot bir çalışma örneği oluştururken gelecek sporomik çalışmalar için de ön veri elde edilmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Spor ve Genetik

Spor farklı tanımları olmakla birlikte genellikle belirli kurallar çerçevesinde, fiziksel ve zihinsel performans ile birlikte estetiğin de ön plana çıktığı toplu veya bireysel olarak yapılmasının yanı sıra barış, toplumsal beraberlik gibi sosyal özellikleri de barındırıp geliştiren çok yönlü, çok çeşitli ve çok boyutlu rekabetçi yarış faaliyetleri olarak tanımlanabilmektedir (Fişek, 1998:34; Fişek, 1998:35; Orkunoğlu, 1985:5; Erkal, 1982:119).

Sporda gelişim için ve elit bir yarışçı seviyesine ulaşmak için en önemli kavramlardan biri ise atletik performanstır. Atletik performans güç, dayanıklılık ve psikoloji gibi farklı etmenlerin birleşimi ile oluşan bir özelliktir. Sporcuların antrenman ve yarış kapasitesini arttırmak adına atletik performans üzerine birçok farklı bilim dalı çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Özellikle DNA'nın (Deoksiribo nükleik asit) ve kalıtım mekanizmalarının keşfi gibi genetik çalışmaların gelişmesinin ardından genetiğin insan fizyolojisi için önemi daha çok anlaşılmış ve bu bilgiler ışığında atletik performans ile gen arasındaki ilişkiyi inceleyen ve bu genlerin moleküler mekanizmalarını araştıran spor genetiği alanı gittikçe önem kazanmıştır (Kaman vd., 2017). Spor genetiğinde üzerinde durulan atletik performans kavramı, genetik ile büyük oranda ilişkilidir. Örneğin ikizlerle yapılan çalışmalarda atletik performansın genetik faktörlerle %66 oranında ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (De Moor vd., 2007). Ayrıca, genetik profile göre antrenman yapılmasının sporcu sağlığı ve atletik performans gelişimi için daha verimli olduğu gösterilmiştir (Ostrander vd., 2009). Bu nedenlerden dolayı yapılan birçok çalışma ile atletik performans ve genetik arasındaki ilişki incelenmiş ve incelenmeye devam edilmektedir (Dinç ve Gökmen, 2019; Kasap ve Tutkun, 2020; Ilgun vd., 2020). İnterlökin-6, anjiotensin I dönüştürücü enzim, Alfa Aktinin 3, Nitrik oksit Sentaz 3 gibi genlerinin de içinde bulunduğu yaklaşık 250 gen bölgesi atletik performans ile ilişkili bulunmuştur (Ulucan vd., 2015). Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2 de spor için önem arz eden genlerin bir listesi verilmiştir (Malsagova vd. 2021). Spor genetiği çalışmaları 2015 yılında "Athlome Project Consortium" tarafından ortak bir ilerleme ile yönlendirilmeye karar verilmiş ve 2019 yılına kadar aktif bir çalışma izlenilmiştir (Pitsiladis vd., 2016). Atletik performans ve genetik hakkında halen birçok

çalışma devam etmektedir. Son yıllarda ise Atletik performans ve spor genetiği daha kapsamlı çalışmalar ile omik verilerin iç içe geçtiği bir çalışma alanı olarak sporomik üzerinden ilerlemeye devam etmektedir (Bongiovanni vd., 2019; Sellami vd., 2022). Sporomik veya atlomik olarak adlandırılan bu alan, atletik performans ile ilişkili tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) dahil olmak üzere genetik dataları analiz edip yetenek taraması, yaralanma riski gibi özellikleri inceleyen spor genomu, epigenetik değişiklikleri inceleyen spor epigenomu, egzersizle ilişkili değişiklik gösteren proteinleri inceleyen spor proteomu gibi farklı süper uzmanlık alanlarının oluşturduğu bir alan olarak büyük ve heterojen olan veri zenginliğini açıklamak, incelemek ve stratejiler geliştirmek için önem arz etmektedir (Sellami vd., 2022). Farklı etkileri araştırmak adına şu ana kadar birkaç başarılı sporomik çalışması gerçekleştirilmiştir (Coelho vd., 2016; Marttinen vd., 2020; Monnerat vd., 2020). Tüm bu gelişmeler ile birlikte, spor genetiği alanı büyük bir hızla gelişmeye ve öncü bir bilim alanı olmaya devam etmektedir.

Çizelge 2.1. Sporla ilişkili örnek gen varyasyonları

GEN	İlişkili Varyasyon	İŞLEVİ	İLİŞKİLİ EGZERSİZ TİPİ
AGT	rs699	Kan basıncının düzenlenmesi, kalp fonksiyonu, vasküler düz kas büyümesi, nöromusküler sistemler	Kuvvet Egzersizleri
ACE	rs4340	Kan basıncı ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi	Kuvvet Egzersizleri
ACTN3	rs1815739	Yapısal ve metabolik değişiklikler yoluyla egzersiz sırasında iskelet kasının kasılması	Hız ve Kuvvet Egzersizleri
PPARA	rs4253778	Yağ asidi metabolizması	Dayanıklılık Egzersizleri
PPARGC1A	rs8192678	Mitokondriyal biyogenez	Dayanıklılık Egzersizleri
VEGFA	rs2010963	İskelet gelişimi, vasküler endotelial büyüme faktörünün düzenlenmesi	Aerobik Egzersiz
VDR	rs2228570	Kalsiyum homeostazı	Kuvvet Egzersizleri
BDKRB2	rs5810761	Vasküler geçirgenlik, hipotansiyon, düz kas kasılması ve glukoz homeostazı	Dayanıklılık Egzersizleri
NFE2L2	rs12594956	Mitokondriyal biyogenez	Aerobik Egzersiz
MSTN	rs1805086	Miyoblast hücre çoğalması	Kuvvet Egzersizleri
FTO	rs9939609	Enerji değişimi	Ağırsiklet Sporlar
AMPD1	rs17602729	ADP'den ATP oluşumunun düzenlenmesi	Kuvvet Egzersizleri
NOS3	rs2070744	Miyokardın restorasyonu ve rejenerasyonu, glukoz metabolizması, ATP sentezi ve iskelet kasları tarafından oksijen tüketimi	Aerobik Egzersiz, Kuvvet Egzersizleri

Çizelge 2.2. Sporla ilişkili örnek gen varyasyonları ve ilişkili fenotipler

GEN	İlişkili Varyasyon	İŞLEVİ	İLİŞKİLİ FENOTİP
TNC	rs2104772	İnflamatuvar süreçlerin düzenlenmesi	Tendonların zayıflığı, travma ve tendinopatiler
IGF2	rs680	Mikro hasarların restorasyonu/yenilenmesi	Erkeklerde kas hasarı
MMP3	rs679620, rs650108	Tendonların ve bağların yapısal ve biyolojik bütünlüğünü modüle ederek hücre dışı matris homeostazı	Temassız ön çapraz bağ kopma riski, aşıl tendinopati riski
TRHR	rs7832552	Tiroid uyarıcı hormonun kana ekzositozunu	Kas dokusunun büyümesi ve gelişmesi
IL-6	rs1800795	Enflamasyon sırasında salgılanan hücreler arası etkileşimlerin düzenlenmesi	Uyarlanabilir eğitim yanıtları, kas lifi kurtarma
ADRB2	rs1042713, rs1042714	Katekolamin reseptörleri, enerji harcamasının düzenlenmesi	Diyete ve fiziksel aktiviteye bireysel yanıt.
COL1A1	rs1107946	Kemik matrisinin ana organik bileşini	Yaralanma koruması ve kurtarma
COL5A1	rs12722, rs3196378	Tendonların ve diğer bağ dokularının yapısal bileşeni, tendinopatinin etiyopatogenezi	Tendinopati etiyopatogenezi
GDF5	rs143383	Eklem oluşumuna katılım	Kemik dokusunun, eklemlerin ve kıkırdığın restorasyonu, eklemlerin osteoartriti riski

2.1.1. Triatlon sporu ve genetik

Triatlon branşı ilk defa 2000 Sydney Olimpiyat Oyunlarında olimpik sporlar arasına dahil edilmiştir. Triatlon; Yüzme, bisiklet ve koşu branşlarının birlikte gerçekleştirildiği dayanıklılık temelli bir spordur. Triatlon branşı yüksek dayanıklılık düzeyinde bir atletik performans gerektirdiği için birçok spor genetiği çalışmasında temel alınan branşlardan biri olmuştur.

Türkiye’de ironman triatlon sporcuları ile örnek bir genetik çalışma yapılmış bu çalışmada İnterlökin-6 (rs1800795), Hipoksi-indüklenebilir faktör 1 alfa (rs11549465), Monokarboksilat taşıyıcı 1 (rs1049434), Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (rs4253778) genotiplerinin dağılımları belirlenmiştir ve triatlon sporu ile ilişkili genler olduğu istatistiksel olarak gösterilmiştir (Akkoç vd., 2020).

Yapılan diğer triatlon genotipleme çalışmalarında genellikle ironman triatlon sporcuları üzerine odaklanılmıştır. Uluslararası düzeyde katılım gösterilen ve triatlon branşında yüksek seviye antrenman ve tecrübe gerektiren Kona ironman triatlonu ve Güney Afrika ironman triatlonu yarışlarında farklı araştırma ekipleri tarafından sporculardan örnekler toplanılarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Hawaii (Kona) ironman triatlon yarışmasına katılan sporcular üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda Harvey ve arkadaşları 115

ironman triatlon sporcusunu genotiplemiş ve çalışmada 6 farklı gen bölgesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Harvey vd., 2020). Grealı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise kona triatlon şampiyonasına katılan 196 elit ironman triatlon sporcusu genotiplenmiş ve çalışmada Gerly ve arkadaşları Alfa-aktinin-3 (R577X) varyantının sıklığının dayanıklılıkla ilişkili olduğunu desteklemiş ancak varyantın yarışı bitirme süresi ile ilişkili olmadığını vurgulamıştır (Grealı vd., 2013). Yine, Grealı ve arkadaşlarının aynı örnek grubu ile yaptığı bir başka çalışmada ise dayanıklılıkla ilişkili 7 farklı polimorfizm bölgesi genotiplenerek, yarışı bitirme süresi gibi parametreler ile ilişkisi incelenmiş ve daha karmaşık genetik modellerin gerekliliğı bildirilmiştir (Grealı vd., 2015). Ironman triatlon yarışları için başka bir uluslararası organizasyon olan Güney Afrika ironman triatlon yarışmasında da birçok çalışma grubu spor genetiğı üzerine araştırma gerçekleştirmiştir. Saunders ve arkadaşları Güney Afrika ironman triatlon yarışmasına katılan 443 triatletle yaptıkları çalışmada Nitrik oksit sentaz 3 ve Bradykinin reseptörü B2 genlerini gerçek performans ile ilişkilendirmiştir (Saunders vd., 2006). Yine aynı çalışma ekibinin yaptığı bir araştırmada Anjiyotensin dönüştürücü enzim (I/D) polimorfizminin Güney Afrika ironman triatlonunda yarışan sporcularda performans ile ilişkili olduğı göstermiştir (Collins vd., 2004).

Güney Afrika ironman triatlon yarışına katılan sporcular ile yapılan başka bir çalışmada da Arginin vazopressin reseptörü 2 geni SNP haplotip yapılarının ironman triatlonda serum sodyum konsantrasyonları ve/veya vücut ağırlığındaki değışiklikle ilişkili olduğı gösterilmiştir (De Milander vd., 2012). Güney Afrika ironman triatlon yarışına katılan sporcularla yapılan bir çalışmada da Walpole ve arkadaşları Büyüme hormonu 1 geni ile rektal sıcaklık ve yarışı performansı ilişkisine incelemiştir. Bu çalışmada Büyüme hormonu 1 (A/T) polimorfizmi yarışı performansı ile ilişkilendirilemese de rektal sıcaklık ve büyüme hormonu seviyesi açısından triatletlerde ilişkili bulunmuştur (Walpole vd., 2006). Güney Afrika ironman triatlon yarışına katılan sporcularla yapılan başka bir çalışmada ise Uncoupling protein 3 geni polimorfizmi incelenmiş ancak atletik performans ve yarışı süresi ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (Hudson vd., 2004). Saunders ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada yine Güney Afrika ironman triatlon yarışında alınan örneklerde *Aquaporin 1* gen varyantı incelenmiş ve yapılan çalışmada polimorfizmin yarışçıların koşu performansı ile ilişkili olduğı gösterilirken, triatletler

arasında alel sıklığı olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Saunders vd., 2015). Güney Afrika ironmantriathlonu yarışında toplanılan örneklerle yapılan bir başka çalışmada da Kollajen tip 6 alfa 1 zincirigenin triatlon performansı ile ilişkili olduğu özellikle koşu ve yüzme branşlarının bitirilme süreleri ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (O'Connell vd., 2011).

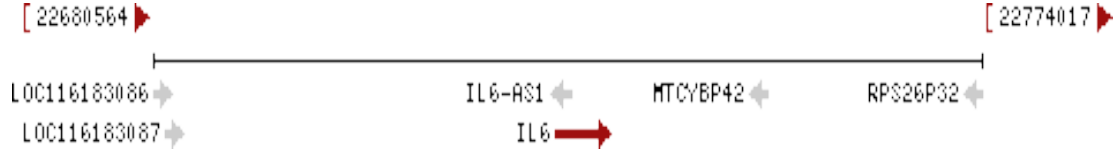
Şili'li triatletler üzerine yapılan ilgi çekici bir çalışmada ise kaygı ile ilgili polimorfizmler genotiplenmiş ve 5 polimorfizmin atletik performans ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Sanhueza vd., 2016). Ayrıca, bazı başka çalışmalarda da triatlon sporcularının transkriptomuna bakılarak egzersizle ilişkili gen ifade değişiklikleri değerlendirilmiştir (Bácsi vd., 2022; Światowy vd., 2023). Triatlon branşı dayanıklılık özelliği açısından güzel bir örnek grubu teşkil etse de içerisinde bulundurduğu çoklu branşlar nedeniyle daha karmaşık bir genetik ilişkisi barındırmaktadır. Bu yüzden triatletler üzerine çalışmalar sporomik verilerle birlikte daha kapsamlı bir şekilde ilerlemeye devam etmektedir.

2.2. IL-6 Geni

IL-6 (NCBI# 3569) geni 1986 yılında Hirano ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (Hirano vd., 1986). *IL-6* geninin sitogenetik lokasyonu 7p15.2, genomik lokasyonu ise 7:22727200-22731998'dir (GRCh38.p14). *IL-6* geninin alternatif kesim ile birlikte değişebilen 5 veya 4 ekzonu bulunurken 63 bazlık 5'UTR bölgesine ve 425 bazlık 3'UTR bölgesine sahiptir (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2). *IL-6* ayrıca, literatürde *IFNB2*, *BSF2*, *HGF*, *HSF*, *B-Cell Stimulatory Factor 2* gibi isimlerle de bulunmaktadır.

Bu gen vücutta bağışıklık, metabolizma ve doku rejenerasyonu gibi çeşitli biyolojik yollarda pleiotropik etki gösteren IL-6sitokinini kodlamaktadır. Bu sitokin akut faz yaralanma sürecinde doğuştan gelen bağışıklık sistemi üzerinden rol oynarken aynı zamanda B hücrelerinin olgunlaşmasını sağladığı için adaptif immün yanıtta da önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, diabetes mellitus ve sistemik juvenil romatoid artrit gibi farklı inflamasyonla ilişkili hastalık durumları *IL-6* geninin işleyişi ile ilişkilendirilmiştir. Bunun yanı sıra, *IL-6* geninin aşırı ekspresyonu başta otoimmün hastalıkları olmak üzere plazmasitoma/multipl miyelom ve Castleman hastalığı gibi hastalıklarla da ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kishimoto, 2006).

IL-6 (MIM#147620), Romatoid artrit sistemik juvenil (RASH) (MIM# 604302) ile OMIM (İnsanlarda Mendel Kalıtımı Online) veri tabanında ilişkili bulunmuştur.



Şekil 2.1. *İnterlökin-6* geninin kromozom (Chr7:NC_000007.14) üzerinde gösterimi (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3569>)



Şekil 2.2. *İnterlökin-6* geni ekzon ve UTR görünümü. Koyu yeşil kutucuklar kodlanan ekzonu belirtirken açık renkli kutucuklar UTR kısımlarını göstermektedir. Ayrıca, düz çizgiler de intron bölgelerini sembolize etmektedir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3569>)

Ayrıca, genlerin 3'UTR'ları gen ekspresyonunun düzenlenmesinde, Mesajcı RNA (mRNA) stabilitesinde ve protein fonksiyonunun regülasyonunda önemli rol oynayan diziler içerirler (Matoulkova vd., 2012). 3'UTR bölgelerinde bulunan SNP'ler, poliadenilasyon ve düzenleyici protein-mRNA ve mikro RNA-mesajcı RNA (miRNA-mRNA) etkileşimleri üzerindeki etkiler yoluyla mRNA stabilitesine ve translasyonuna etki eder (Gong vd., 2012). 3'UTR bölgesi mRNA'ların stabilizasyonu, lokalizasyonu ve translasyonu için önemli bir bölgedir (Mayr vd., 2019; Matoulkova vd., 2012). Ayrıca, protein-protein etkileşimlerinin gerçekleştiği düzenleyici protein komplekslerinin bağlandığı sekansları içerirler. Birçok post-transkripsiyonel modifikasyonlar bu bölge aracılığı ile gerçekleşmekte ve bu bölgedeki varyasyonlar yüzünden gen baskılanma veya daha aktif olma özelliğine sahip olabilmektedir. Ek olarak, bir post-transkripsiyonel düzenleyici aracı olan miRNA'lar da 3'UTR'ları hedef alarak genlerin ifade olmasını baskılayabilir. Özellikle son günlerde araştırmalarla önemi daha çok görülmeye başlanan mirSNP'ler (mikroRNA ile ilişkili tek nükleotid polimorfizmleri) bir gene miRNA bağlanma etkisi kazandırabilir veya tam tersi bir bağlanma bölgesi kaybettirebilir (Gong vd., 2012). Son yıllarda miRNA'ların egzersiz

ile ilişkili ekspresyon değişikliğini gösteren çalışmalarda da artış gözlenmiştir (Massart vd., 2021; Zhou vd., 2020; Li vd., 2018; De Gonzalo-Calvo vd., 2015).

Literatür incelendiğinde atletik performansla ilişkili olabilecek farklı genlerin 3'UTR bölgesinde bilinen SNP'lerin atletlerde taramaları yapılarak fenotip genotip ilişkilerine dair sınırlı sayıda araştırmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalara örnek olarak Heffernan ve arkadaşlarının çalışması verilebilir. Rugby Gene Project projesi kapsamında yapılan bu çalışmada Kollajen tip 5 alfa 1 zinciri (*COL5A1*) genin 3'UTR'ında bulunan rs12722-C ve rs3196378-C SNP'lerinin kombine etkisinin Elit Rugby sporcularında performans ve yumuşak doku hasarına direnç ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Heffernan vd., 2017). *COL5A1* geninin atletik performans ile etkisinin araştırıldığı farklı çalışmalarda da bu genin 3'UTR'ında bulunan varyantların *COL5A1* mRNA stabilitesini değiştirerek egzersiz ile ilgili fenotipler ve aşıl tendinopatisi ile ilişkiler saptanmıştır (O'Connell vd., 2014). Benzer bir şekilde Aquaporin 1 geninin 3'UTR'ında bulunan rs1049305 varyantı da maraton koşucularında ve triatletlerde koşu performansı ile ilişkilendirilmiştir (Rivera vd., 2020). Atletik performans ile ilişkili 3'UTR varyantına sahip bir başka gen ise kardiyovasküler tepkilerle ilişkili Adrenoceptor Alpha 2A genidir. Bu gende bulunan indel polimorfizminin dayanıklılık sporcularında daha fazla frekansta gözlemlendiği saptanmıştır (Wolfarth vd., 2000). Ayrıca, Angiotensin II Receptor Type 2 ve Thyroid Stimulating Hormone Receptor gibi atletik performansta önemli olan reseptör proteinlerini kodlayan genlerin de 3'UTR'larında atletik performansla ilişkili sekans varyantları tespit edilmiştir (Mustafina vd., 2014; Ahmetov vd., 2015). Ironman triatlon sporcularında 3'UTR varyantlarının atletik performans ile ilişkilerinin kapsamlı literatür araştırmasında Kreatin kinaz izoenzim *MM* geninin 3'UTR varyantının (rs8111989) maksimum oksijen tüketimi oranı (VO_{2max}) performansını olumlu etkileyerek dayanıklılık sporcularına fayda sağladığı gözlemlenmiştir (Grealay vd., 2015).

Bu sebeple, bu tez çalışmasında da üzerinde durulan *IL-6* geni 3'UTR sekansı Şekil 2.3'te verilmiştir.

NCBI Reference Sequence: NC_000007.14

[GenBank](#) [Graphics](#)

```
>NC_000007.14:22731406-22731998 Homo sapiens chromosome 7, GRCh38.p14 Primary Assembly
GCAAGAATCTAGATGCAATAACCACCCCTGACCAACCACAAATGCCAGCTGCTGACGAAGCTGCAGG
CACAGAACCAGTGGCTGCAGGACATGACAACCTCATCTCATTCTGCGCAGCTTTAAGGAGTTCTCTGCAAGTC
CAGCCTGAGGGCTCTTCGGCAAATGTAGCATGGGCACCTCAGATTGTTGTTGTTAATGGGCATTCTTCT
TCTGGTCAGAAACCTGTCCACTGGGCACAGAACCTTATGTTGTTCTCTATGGAGAACTAAAAGTATGAGCG
TTAGGACACTATTTTAATTATTTTAATTTATTAATATTTAAATATGTGAAGCTGAGTTAATTTATGTAA
GTCATATTTATATTTTAAAGAAAGTACCCTTGAAACATTTTATGTATTAGTTTGAATAATAATGGAAA
GTGGCTATGCAGTTTGAATATCCTTTGTTTCAGAGCCAGATCATTCTTGAAAGTGTAGGCTTACCTCA
AATAAATGGCTAAGTTATACATATTTTAAAGAAATATTTATATTGTATTATATAATGTATAAATGGTT
TTTATACCAATAAATGGCATTTTAAAAAATTCA
```

Şekil 2.3. *İnterlökin-6* geninin 3'UTR referans sekans dizisi (Chr7:NC_000007.14) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/568815591?from=22731406&to=22731998&report=fasta>)

Bu tez çalışması kapsamında çoğaltılan gen bölgesinde daha farklı popülasyonlarda tespit edilmiş sekans varyantları ve özellikleri Çizelge 2.3'te sunulmuştur.

Çizelge 2.3. Çalışma kapsamında PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile çoğaltılmış gen bölgesindeki toplumsal veri tabanlarında tespit edilen varyantlar

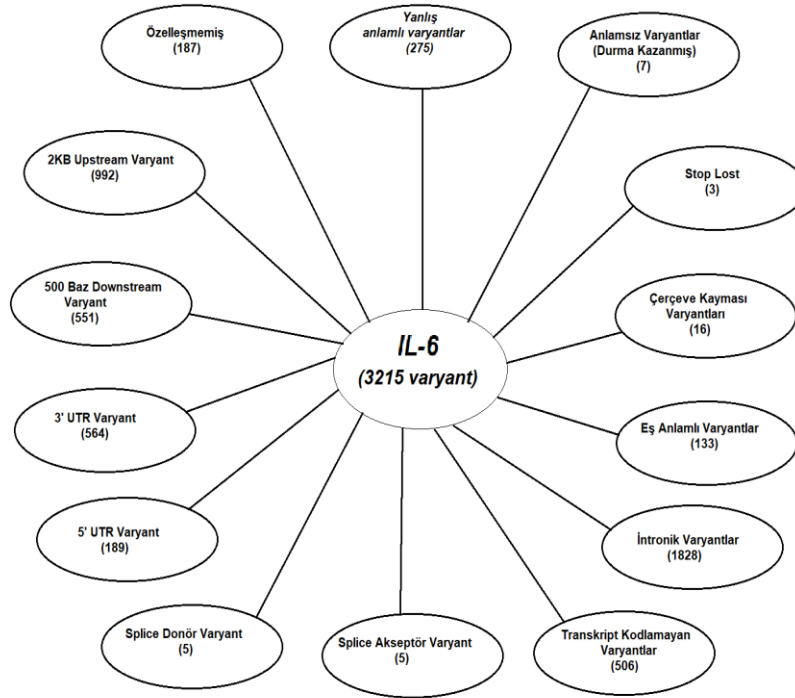
RS ID	Kromozomal Lokasyon	Minör Alel	Avrupa Popülasyonu Frekansı	MAF	Varyasyonun Sınıfı
rs2069849	7:22731537	T	0.0219	0.070	Yanlış anlamlı varyant
rs2069861	7:22732035	T	0.0706	0.022	İntergenik Varyant
rs13306435	7:22731420	A	0.0169	0.020	Yanlış anlamlı varyant
rs13306436	7:22731677	A	0	0.005	3' UTR varyant
rs2069850	7:22731610	T	0.0136	0.004	3' UTR varyant
rs2069860	7:22731419	T	0.005	0.003	Yanlış anlamlı varyant
rs199606490	7:22731767	G	0	0.001	3' UTR varyant
rs531722398	7:22732018	A	0	< 0.001	Genler arası varyant
rs2069851	7:22731685	A	0	< 0.001	3' UTR varyant
rs199619831	7:22731618	C	0	< 0.001	3' UTR varyant
rs183160679	7:22731953	C	0	< 0.001	3' UTR varyant
rs568984181	7:22732004	C	0	< 0.001	Genler arası varyant
rs529245167	7:22731949	G	0	< 0.001	3' UTR varyant
rs55773150	7:22731785	G	0.002	< 0.001	3' UTR varyant
rs541464782	7:22731432	T	0	< 0.001	Eş anlamlı varyant

2.3. *IL-6* Geni Varyantları

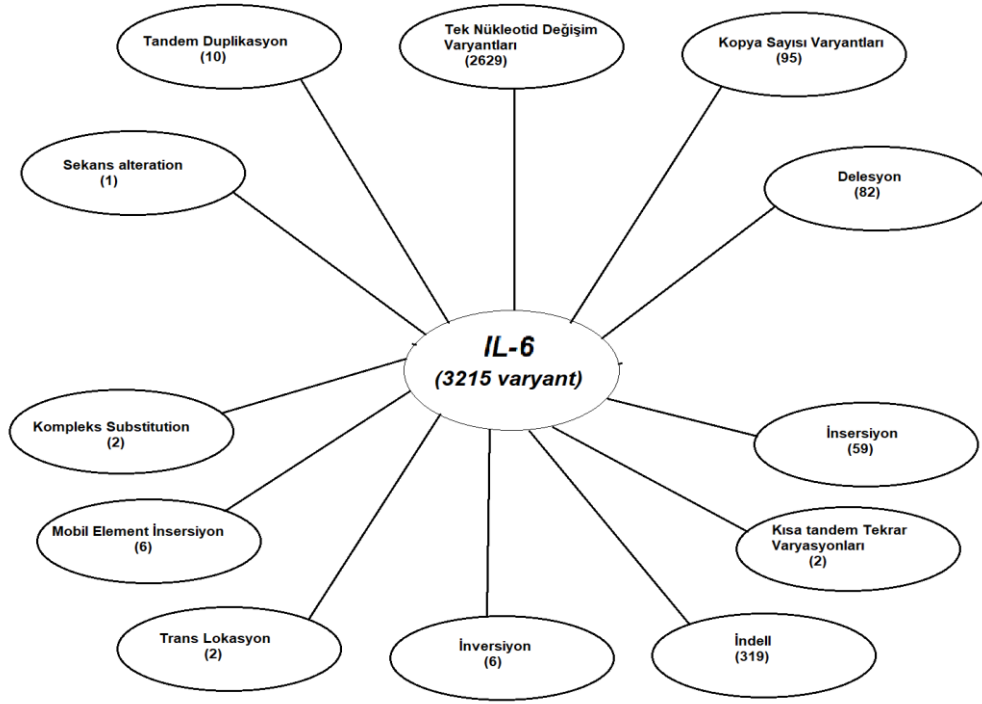
2.3.1. *IL-6* geni varyantlarının sınıflandırılması

IL-6 geni Tek Nükleotid Polimorfizmi Veri Tabanı'nda (dbSNP) 3215 dizi varyantına sahiptir <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/view> (Erişim Tarihi 19.11.2022). Bu varyantlardan 60 tanesi ClinVar'da tanımlanırken 47 varyant patojenik olarak raporlanmıştır. Varyantlar 1000 Genom Projesi'ndeki Minör Alel Frekansı'na (MAF) göre sınıflandırıldığında 2981 tane sınıflandırılmamış varyant, 177 tane nadir varyant,

28 tane yaygın olmayan varyant, 29 tane yaygın varyanta sahiptir. Varyantlardan 150 tanesi hakkında yayınlanmış çalışma bulunmaktadır. Gen varyantlarının sınıflandırılması Şekil 2.5'te ve Şekil 2.6'da verilmiştir.

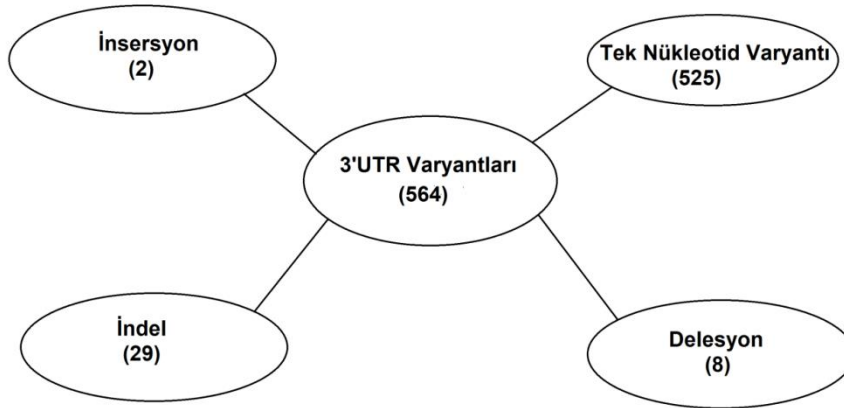


Şekil 2.4. Moleküler etkiye göre *IL-6* geni dizi varyantlarının sınıflandırılması



Şekil 2.5. Varyant türüne göre *IL-6* geni varyantlarının sınıflandırılması

Ayrıca, *IL-6* geni 3'UTR varyantlarına bakıldığında 564 adet varyant olduğu gözlemlenmektedir. Bu varyantlardan 4 tanesi yaygın varyant, 2 tanesi yaygın olmayan varyant, 35 tanesi nadir varyant ve 523 tanesi ise sınıflandırılmamış varyanttır. 7 varyant hakkında ise yayın bulunmaktadır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Varyant türüne göre *IL-6* geni 3'UTR Varyantları

2.3.2. IL-6 geni varyantlarının fenotiple ilişkileri

IL-6 geni varyantlarının fenotipik etkilerini göstermek adına halka erişimi açık olan DisGeNET (A database of gene-disease associations, Gen-Hastalık ilişkileri veritabanı) platformu kullanılmıştır (<http://disgenet.org/home/>). DisGeNET hayvan modelleri, bilimsel yayınlar, Genom Wide Association Study (Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları) çalışmaları gibi birçok kaynak ile entegre verileri alarak varyant-hastalık ilişkisi, Gen-hastalık ilişkisi olmak üzere fenotip-genotip ilişkilerini açıklamak adına ölçüm araçları sağlar (Piñero vd., 2021; Piñero vd., 2019; Piñero vd., 2016; Piñero vd., 2015). DisGeNET platformu 2021 yılında güncellenmiştir ve 17.000'den fazla genin hastalıklarla ilişkisini içeren veri tabanı sunar. DisGeNET ilişkileri değerlendirmek için Gen Hastalık İlişkisi Skorunu (GDA Score) metriğini kullanır ve bu metrik bir hastalık ile bir genin ilişkisinin gücünü yansıtır. GDA skoru, hastalık ve gen arasındaki ilişkiyi destekleyen kaynak sayısı, kalitesi, hastalık prevalansı gibi faktörlere dayanarak hesaplanır. GDA skoru 0 ile 1 arasında hesaplanır. 0 herhangi bir ilişki olmadığını gösterirken skorun 1 olması ise hastalık ve gen arasında güçlü bir bağlantı olduğunu gösterir. DisGeNET'te IL-6 geni varyantlarının fenotip ile ilişkisine bakıldığı zaman toplam 16 dizi varyantının toplam 96 fenotiple ilişkili olduğu gösterilmiştir (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4. IL-6 gen varyantlarının ilişkili olduğu hastalıklar

RS ID	Kromozomal Lokasyon	Gen Bölgesi	Allel	İlişkili Hastalık
rs2069832	22727814	Intron 1	A/G;T	Malignant neoplasm of breast, Systemic Inflammatory Response Syndrome, Breast Carcinoma, Asthma
rs1474348	22728289	Intron 1	C/G	Eosinophil count procedure, Cervix carcinoma, Malignant tumor of cervix, cervical cancer
rs2069837	22728408	Intron 1	A/C;G	Leukomalacia, Tuberculosis, Chronic Periodontitis, Primary malignant neoplasm, Secondary malignant neoplasm of colon and/or rectum, Tuberculosis, Papillary thyroid carcinoma, Malignant Neoplasms, Pulmonary, Periventricular, Neoplasms, Cerebral Palsy, Malignant tumor of cervix, Diabetic Nephropathy, cervical cancer, Cervix carcinoma, Takayasu Arteritis, Hypertensive disease, Longevity, Spastic Quadriplegia
rs1474347	22728505	Intron 1	C/A	Rheumatoid Arthritis
rs1524107	22728600	Intron 1	C/T	Malignant neoplasm of endometrium, Endometrial Carcinoma, Trichohepatoenteric Syndrome, Lumbar disc disease, Diabetes Mellitus, Non-Insulin-Dependent, Kidney Diseases
rs2066992	22728630	Intron 1	G/T	Cerebral Palsy, Endometrial Carcinoma, Coronary Artery Disease, Malignant neoplasm of endometrium, Adenocarcinoma of lung (disorder), Papillary thyroid carcinoma
rs77790630 2	22728782	Exon 2	A/G;T	Urinary tract infection, Recurrent urinary tract infection, Crohn Disease

Çizelge 2.4. *IL-6* gen varyantlarının ilişkili olduğu hastalıklar (devam)

RS ID	Kromozomal Lokasyon	Gen Bölgesi	Allel	İlişkili Hastalık
rs74712600 3	22728790	Exon 2	A/G;T	Infantile nystagmus syndrome, Nephrotic Syndrome, Minimal Change, Malignant Head and Neck Neoplasm, Primary malignant neoplasm of lung, Coronary Arteriosclerosis, Helicobacter pylori (H. pylori) infection in conditions classified elsewhere and of unspecified site, Head and Neck Carcinoma, Osteosarcoma of bone, Childhood Osteosarcoma, Obesity, Septicemia, Osteosarcoma, Infection in children, Severe Sepsis, Carcinoma of lung, Sepsis, Idiopathic Nephrotic Syndrome, Malignant neoplasm of lung
rs2069840	22728953	Intron 2	C/G	Lumbar disc disease, Malignant neoplasm of lung, Adenocarcinoma of lung (disorder), Cervix carcinoma, Systemic Scleroderma, Cardiovascular Diseases, Primary malignant neoplasm of lung, Malignant tumor of cervix, Carcinoma of lung, Coronary heart disease, Pain, cervical cancer, Diabetic Nephropathy
rs1554606	22729088	Intron 2	T/A;G	Osteoporosis, Obesity
rs2069843	22730375	Exon 3 kodlanm ayan	G/A	Glossitis, Benign Migratory
rs2069845	22730530	Exon 3 kodlanm ayan	G/A	Malignant tumor of cervix, Abnormal behavior, Cervix carcinoma, Malignant neoplasm of prostate, Benign Prostatic Hyperplasia, Prostate carcinoma, Mental disorders, cervical cancer
rs36995311 2	22731416	Exon 4 kodlana n	T/C	Metabolic Syndrome X
rs13306435	22731420	Exon 4 kodlana n	T/A;C	Colorectal Carcinoma
rs2069849	22731537	Exon 4 kodlana n	C/G;T	Obesity, Osteoporosis, Selective immunoglobulin A deficiency
rs13306436	22731677	3'UTR	G/A	Serum HDL cholesterol measurement, Serum total cholesterol measurement, High density lipoprotein measurement

Bununla birlikte, DisGeNET'te *IL-6* geni ile ilişkilerine bakıldığı zaman 72 hastalığın yüksek oranda *IL-6* ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5. *IL-6* geni ve ilişkili hastalıklar

Gen	Fenotip	Disease_id
<i>IL6</i>	Fever	C0015967
<i>IL6</i>	Asthma	C0004096
<i>IL6</i>	Cachexia	C0006625
<i>IL6</i>	Mental Depression	C0011570
<i>IL6</i>	Depressive disorder	C0011581
<i>IL6</i>	Heart failure	C0018801
<i>IL6</i>	Congestive heart failure	C0018802
<i>IL6</i>	Obesity	C0028754
<i>IL6</i>	Unipolar Depression	C0041696
<i>IL6</i>	Hyperalgesia	C0020429
<i>IL6</i>	Inflammation	C0021368
<i>IL6</i>	Diabetes Mellitus, Experimental	C0011853
<i>IL6</i>	Hyperglycemia	C0020456
<i>IL6</i>	Reperfusion Injury	C0035126
<i>IL6</i>	Shock, Hemorrhagic	C0036982
<i>IL6</i>	Infarction, Middle Cerebral Artery	C0740392
<i>IL6</i>	Alzheimer's Disease	C0002395
<i>IL6</i>	Rheumatoid Arthritis	C0003873
<i>IL6</i>	Atherosclerosis	C0004153
<i>IL6</i>	Autoimmune Diseases	C0004364
<i>IL6</i>	Bipolar Disorder	C0005586

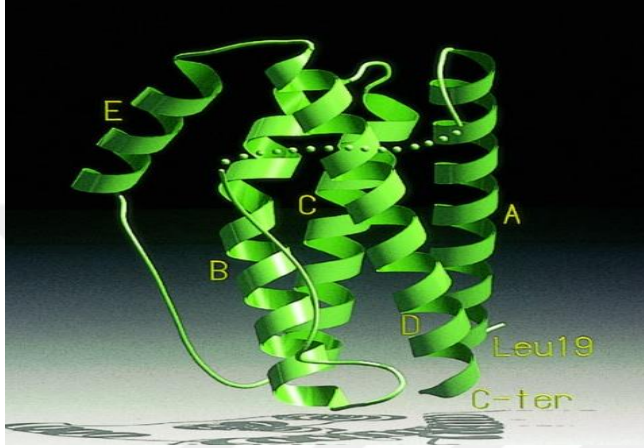
Çizelge 2.5. IL-6 geni ve ilişkili hastalıklar (devam)

Gen	Fenotip	Disease_id
IL6	Malignant neoplasm of breast	C0006142
IL6	Renal Cell Carcinoma	C0007134
IL6	Squamous cell carcinoma	C0007137
IL6	Colitis	C0009319
IL6	Crohn Disease	C0010346
IL6	Delirium	C0011206
IL6	Dermatitis, Atopic	C0011615
IL6	Diabetes Mellitus, Insulin-Dependent	C0011854
IL6	Edema	C0013604
IL6	Angiolymphoid hyperplasia	C0017531
IL6	Hypertensive disease	C0020538
IL6	Inflammatory Bowel Diseases	C0021390
IL6	Kidney Failure, Acute	C0022660
IL6	Kidney Failure, Chronic	C0022661
IL6	Chronic Lymphocytic Leukemia	C0023434
IL6	Liver Cirrhosis	C0023890
IL6	Chronic Obstructive Airway Disease	C0024117
IL6	Lung Neoplasms	C0024121
IL6	Lupus Erythematosus, Systemic	C0024141
IL6	Malignant neoplasm of stomach	C0024623
IL6	Multiple Myeloma	C0026764
IL6	Myocardial Infarction	C0027051
IL6	Neoplasm Metastasis	C0027627
IL6	Osteoporosis	C0029456
IL6	Parkinson Disease	C0030567
IL6	Pneumonia	C0032285
IL6	Prostatic Neoplasms	C0033578
IL6	Psoriasis	C0033860
IL6	Pulmonary Fibrosis	C0034069
IL6	Kaposi Sarcoma	C0036220
IL6	Schizophrenia	C0036341
IL6	Seizures	C0036572
IL6	Cerebrovascular accident	C0038454
IL6	Cholangiocarcinoma	C0206698
IL6	Fibrosis, Liver	C0239946
IL6	Malignant neoplasm of lung	C0242379
IL6	Conventional (Clear Cell) Renal Cell Carcinoma	C0279702
IL6	Malignant neoplasm of prostate	C0376358
IL6	Acute Coronary Syndrome	C0948089
IL6	Malignant neoplasm of ovary	C1140680
IL6	Major Depressive Disorder	C1269683
IL6	Systemic onset juvenile chronic arthritis	C1384600
IL6	Mammary Neoplasms	C1458155
IL6	Liver carcinoma	C2239176
IL6	Mechanical Allodynia	C2936719
IL6	Pneumonitis	C3714636
IL6	Breast Carcinoma	C0678222
IL6	Middle Cerebral Artery Occlusion	C0740391
IL6	Arteriovenous Malformations, Cerebral	C0917804
IL6	ovarian neoplasm	C0919267
IL6	Metabolic Syndrome X	C0524620

2.4. IL-6 Proteini

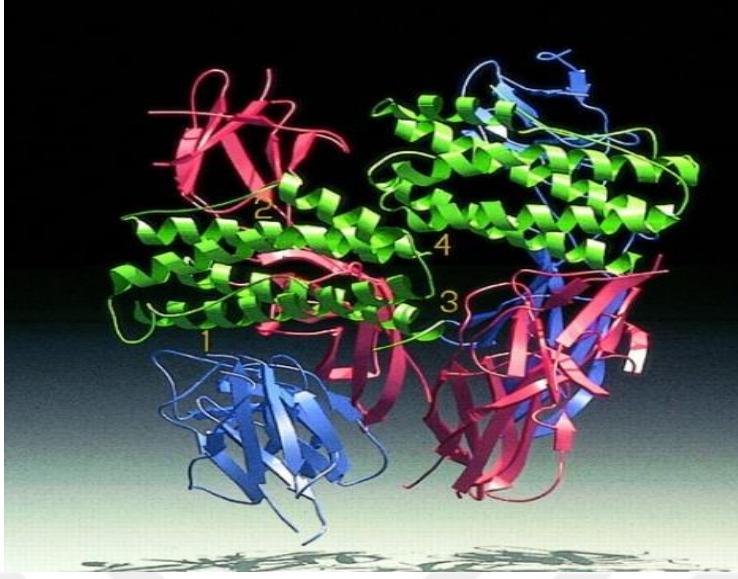
İnterlökin-6 proteini insanda 7p15.3 kromozom bölgesinde bulunan 5 ekzondan oluşan, IL-6 geni tarafından kodlanan ve 212 amino asitten oluşup 28 amino asitlik bir sinyal sekansı ve 184 amino asitlik olgun segment kısmı içeren multifonksiyonel sitokinlerden

biridir (Kaynar vd., 2020; Zilberstein vd., 1986). IL-6 proteini 21kDa ila 28kDa arasında değişen moleküler kütleye sahiptir. Bu farklılık fosforilasyon, N-/O-glikosilasyon ve hücrenel kaynağa bağlı olması gibi nedenlerle post-translasyonel modifikasyonların etkisinden kaynaklanmaktadır. IL-6 sarmal sitokin yapısı yukarı-yukarı-aşağı sarmalın dört adet olduğu demet topolojisine sahiptir (Simpson vd., 1997). IL-6 kristal yapısı 4 ana sarmaldan oluşur (şekil 2.7).



şekil 2.7. IL-6 kristal yapısı 4 ana sarmal halindeki yapısının şerit gösterimi (Somers vd., 1997)

IL-6, IL-6R (İnterlökin-6 Reseptörü) ve gp130 (Glikoprotein 130) etkileşimi bu proteinin sinyal aktarımı için önem teşkil etmektedir. Bu etkileşimin oluşturduğu heksamere yapı şekil 2.8'daki gibi gösterilmiştir.



Şekil 2.8. IL-6-IL6R-gp130 kompleksi. IL-6 yeşil, IL-6R mavi ve gp130 ise kırmızı renkle renklendirilmiştir. Ayrıca, bağlanma noktaları numaralar ile gösterilmiştir (Somers vd., 1997)

IL-6 proteini B ve T lenfositleri, fibroblastlar, monositler, keratinositler, mezanjiyal ve endotelyal hücrelerinden üretilen pleiotropik etkiye sahip bir sitokindir (Ataie-Kachoe vd., 2013). Sitokinler bağışıklık sisteminde regülatör rolleri olan sinyal proteinleridir ve hedef hücre membranına bağlanarak etki gösterir. Otokrin, parakrin veya endokrin olarak hücreleri hedef alabilmektedirler (Sofu, 2019). Sitokinler ayrıca, regülatör olarak, bağışıklık hücrelerinin gelişmesini ve farklılaşmasını sağlayabilir (Nielsen vd., 2008). Kaslardan salgılanan sitokinelere ise miyokin adı verilmiştir (Nielsen vd., 2008). IL-6 da sadece sitokin değil, bunun yanında iskelet kası tarafından eksprese edilip salınan bir miyokindir (Raschke vd., 2013). Miyokinlerin egzersize bağlı olarak yağ dokusu, karaciğer ve kemik gibi diğer organlarda otokrin, parakrin ve endokrin etkileri vardır (Eckardt vd., 2014). IL-6 iskelet kasında gerçekleşen anti-inflamatuar süreçlerde önemli işlevi olduğu bilinmekle beraber egzersiz sonrası kas onarımı ve hipertrofinde de etkin rol oynar (Serrano vd., 2008; Pedersen vd., 2013; RosaNeto vd., 2009). Yapılan araştırmalarda IL-6'nın glikojenoliz ve lipoliz ile de ilişkili olarak karaciğer ve yağ dokusuna bir hormon gibi etki gösterebileceği düşünülmüştür (Steensberg vd., 2000). Farelerde yapılan deneylerle IL-6'nın eksikliğinin obezite ve enerji düşüklüğü ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (Wallenius vd., 2002). Ayrıca, yapılan başka bir çalışmada kontrollerde ve diyabetik hastalarda IL-6 tedavisi ile yağ asidi döngüsü arttırılmıştır

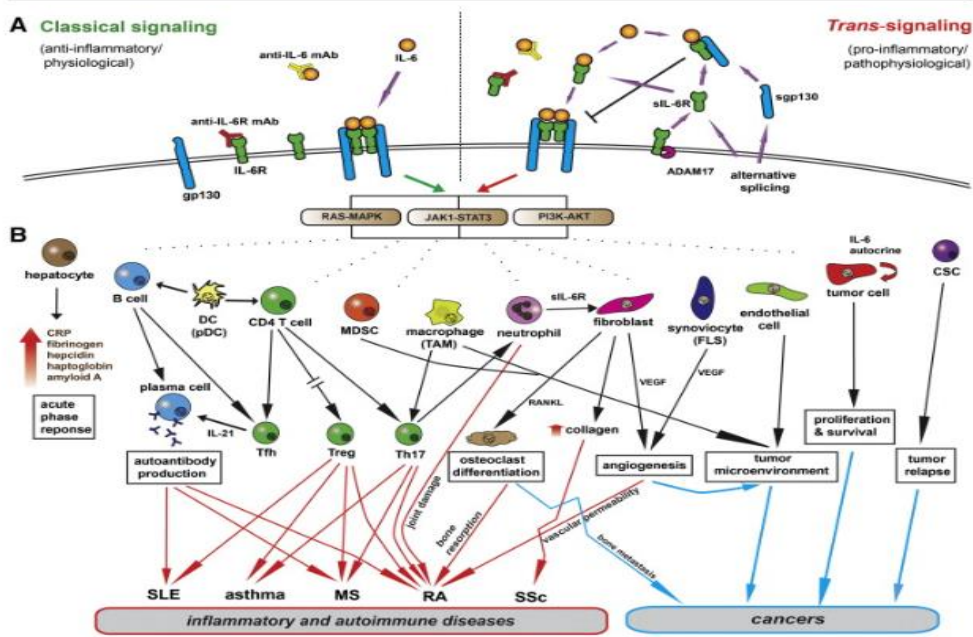
(Petersen vd., 2005). Bunun dışında, IL-6 vücutta kemik metabolizması, enerji metabolizması, glukoz metabolizması, lipid metabolizması, demir transferi, termogenesis gibi birçok farklı metabolizma üzerinde de etkiye sahiptir (Jones vd., 2018; Rohleder vd., 2012; Kraakman vd., 2015). Bu çok farklı etkiler IL-6'nın pleiotropik etkisi yüzündendir. Yapılan birçok çalışmada IL-6'nın hem doğuştan bağışıklıkta hem de adaptif bağışıklıkta önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Jones vd., 2018; Hoge vd., 2013; Van der Poll vd., 1997; Smith vd., 2014; Neveu vd., 2009). IL-6 en çok romatoid artrit, multipl skleroz, Crohn hastalığı, Castleman hastalığı, erişkin başlangıçlı Still hastalığı, Alzheimer hastalığı, juvenil idiyopatik artrit ve multipl skleroz gibi hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (Ataie-Kachoie vd., 2013).

IL-6 sitokini kanser moleküler yolları ile de ilişkilidir (Hunter vd., 2015; Jones vd., 2011; Jones vd., 2015) ve kanser hücrelerindeki çoğalma, göç ve yapışma gibi özellikler IL-6-JAK-STAT mekanizmasının bozulması ve düzensiz IL-6 üretimi ile ilişkili olup meme kanseri, mide kanseri, böbrek kanseri, prostat kanseri ve multipl miyelom olmak üzere birçok kanser türü ile ilişkilendirilmiştir (Gao vd., 2007; Grivennikov vd., 2008; Leslie vd., 2010; Kuroda vd., 2007; Ashizawa vd., 2005).

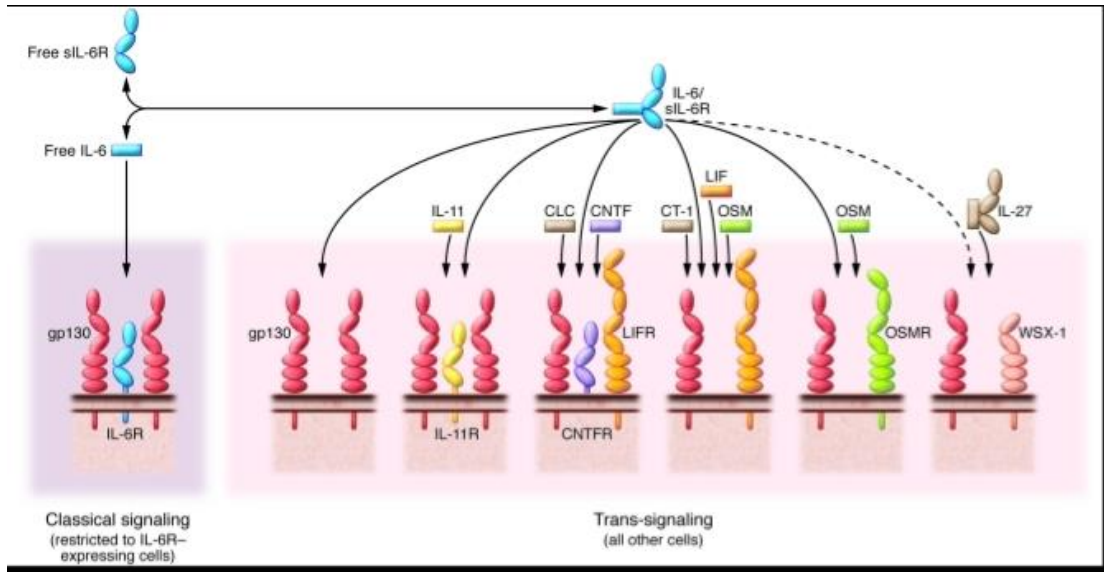
IL-6 proteini sinyal aktarımı için, IL-6 ailesinde de ortak olarak kullanılan hücre zarındaki ortak β -reseptör sinyal alt birimini kullanır (Jones vd., 2018). IL-6'nın sinyal aktarımını gerçekleştirmesi için IL-6'nın bağlanması gereken iki önemli protein bulunmaktadır. Bunlardan biri IL-6 reseptörü olan IL-6R, diğeri ise hücre zarı glikoproteini olan gp130 dur. Reseptör ve sitokinin etkileşimi Klasik sinyal yolu ve Trans sinyal yolu olarak adlandırılan iki yolla gerçekleşir (bkz. Şekil 2.11). Klasik yolda, IL-6 hücre zarındaki IL-6R'ye bağlanır. Daha sonra gp130 ile kompleks yapı oluşturan IL-6 proteini hücre içi sinyal yolunu başlatmış olur. JAK'ın yapısını etkileyerek JAK/STAT kaskadı başlar. Özellikle STAT3 aktivasyonu ile hücrede akut faz proteinleri ekspresyonu indüklenmiş olur. Bu sinyal yoluna ek olarak JAK-SHP2 MAP-K yolu aktive olarak çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu gerçekleşir (Farooqi vd., 2020; Hunter vd., 2015).

Bu IL-6 için klasik sinyal aktarım yoludur. Trans yolda ise trans yol aracılığı ile IL-6, hücre zarında IL-6R ifade edilmeyen hücrelerde de sinyal oluşturur (Jones vd., 2011).

Bu sinyal iletimini sağlamak için IL-6 serbest dolaşan IL-6R'lere bağlanır. Daha sonra gp130 ile etkileşime geçerek yine sinyal aktarım yolunu başlatmış olur. Trans ve klasik sinyal aktarım yollarının hücre içerisindeki etkileri Şekil 2.9'da verilmiştir. Ayrıca, IL-6 trans yolu farklı reseptörler ile çapraz bağ yaparak farklı hücre içi sinyal yollarını da etkileyebilir (Şekil 2.10).

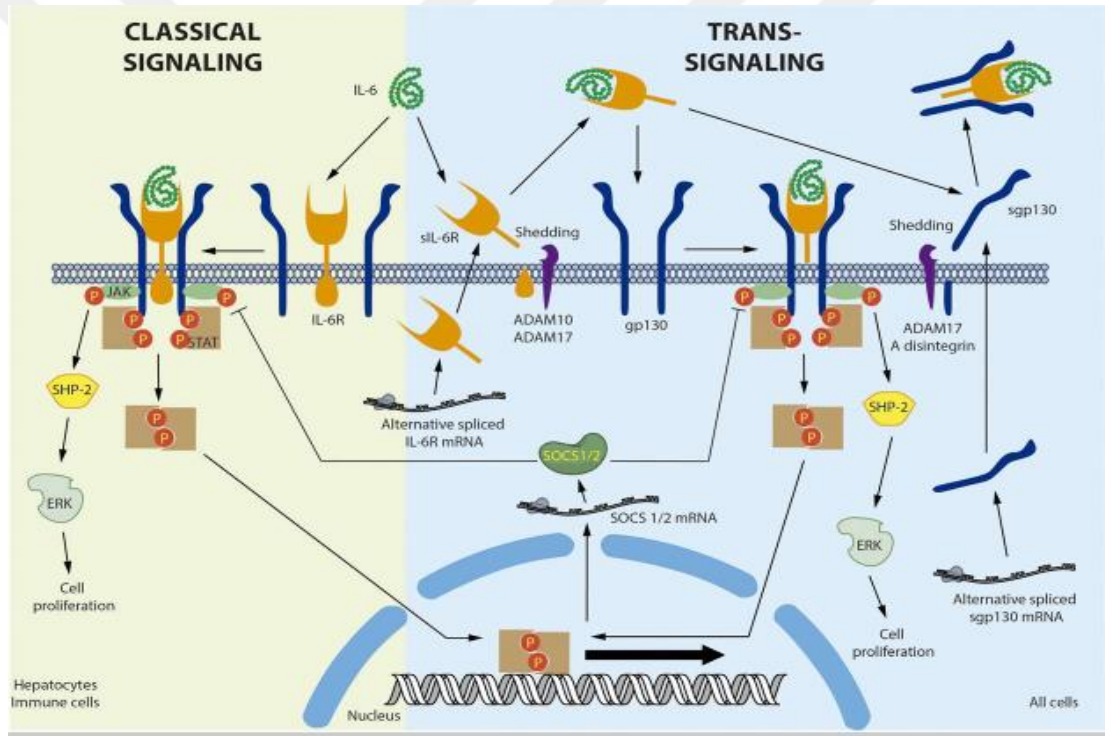


Şekil 2.9. IL-6 Trans ve Klasik sinyal yollarının etkileri (Yaovd.,2014)



Şekil 2.10. IL-6 trans yolunun farklı reseptörler üzerine etkisi (Jones vd., 2011)

IL-6 proteini sinyal aktarımında önemli olan başka bir mekanizma ise negatif geri beslemedir. Sinyal yolunun sürekli açık kalmasını önlemek adına miRNA aracılı transkripsiyonel baskılama, RNazlar, RNA bağlayıcı proteinler, sirkadiyen kontrol faktörleri ile baskılama gerçekleşebilirken, reseptörlerin içselleştirilmesi, reseptörlerin sinyal araçları tarafından devre dışı bırakılması gibi yollarla da gerçekleşebilir. Negatif geri beslemede en baskılayıcı yol ise SOCS (Sitokin sinyalleme 3) proteini tarafından gerçekleşir (Şekil 2.11) (Villarino vd., 2017; Heinrich vd., 2003; Masuda vd., 2013; Sugimoto vd., 2014; Viswanathan vd., 2009). Bu yolaktaki eksiklikler kanser ve kronik hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (Jenkins vd., 2007; Jones vd., 2015).



Şekil 2.11. IL-6 klasik ve trans sinyal yollarının gösterimi (Villar-Fincheira vd., 2021)

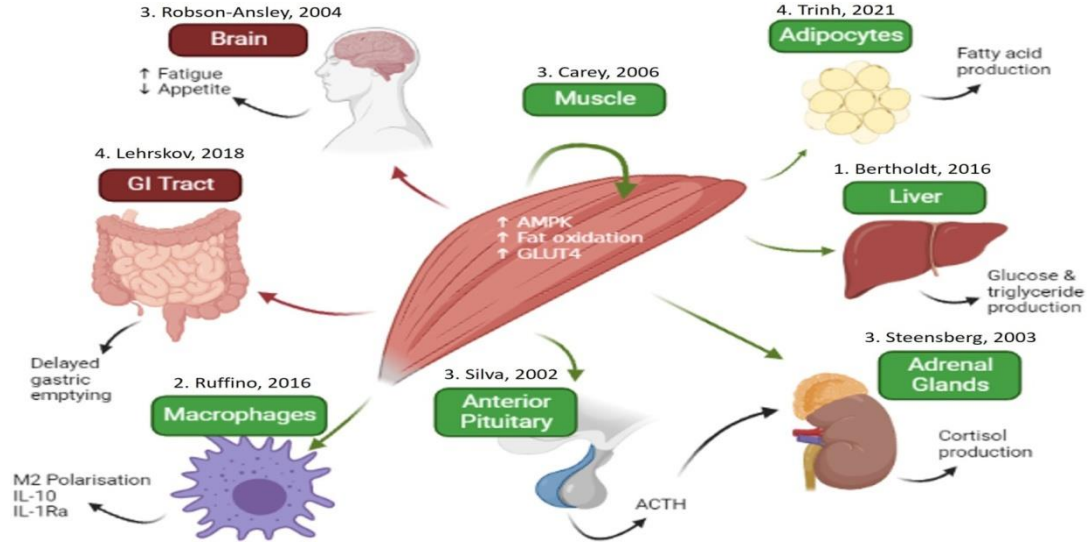
Ayrıca, Trans sinyal yolağında sIL-6R (Serbest interlökin-6 reseptörü) proteininin de tampon mekanizması bulunduğu düşünülmektedir. Hücrelerde gp130 da serbest halde salınıp sgp130 (Serbest glikoprotein 130) şeklinde bulunabilir (Şekil 2.11). sgp130'ların herhangi bir işlevi bulunmazken yapılan çalışmalar IL-6-sIL-6R kompleksine bağlanan

sgp130'ların birer antagonist olarak görev alabileceğini göstermiştir (Hunter ve junes, 2015).

IL-6 sinyal mekanizmasının keşfi birçok ilaç geliştirilmesi için kullanılmıştır. Otoimmün hastalıklar ve castleman gibi bazı hastalıklar için IL-6'nın moleküler yollarının işleyişinin anlaşılması üzerinden oluşturulmuş IL-6 inhibitör ilaçlar tasarlanmış ve tedavilerde kullanılmaktadır (Yao vd., 2014).

2.5. IL-6 ve Atletik Performans

Atletik performansa etki eden en özgün genlerden biri hem egzersiz hem de bağışıklık sistemiyle ilişkili olan *IL-6* genidir (Villar-Fincheira vd., 2021). Yapılan çalışmalarda bağışıklık sistemi ve egzersiz arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (Şenışık, 2015). Kaslar egzersizlerin etkilerine göre uyum sağlarlar. Özellikle tekrarlayan kas kasılmaları için egzersize uyum sağlanması çok önemlidir. Kasılmaların devamlılığını sağlamak için farklı türde sitokinler salgılanarak kaslarda hasar onarımı sağlanıp kaslar tekrardan kasılma işlemine hazır hale getirilir (Arica vd., 2018). Özellikle, IL-6'nın hipertrofi ve egzersiz ile ilişkili hasara yanıt olarak kas onarımında görev aldığı bilinmektedir (Serrano vd., 2008) ve IL-6'nın hipertrofi ve kas iyileşmesinin yanında yağ asitlerinin, egzersiz sırasında kas için kullanılabilir hale gelmesinde de etkili olduğu gösterilmiştir (Catoire ve Kersten, 2015). İskelet kası ve beyaz yağ doku arasındaki ilişki incelenirken IL-6 de üzerine çok çalışılan sitokinlerden olmuştur. IL-6'nın yağ asidi oksidasyonunu ve lipolizi indüklediği gösterilmiştir (Carey vd., 2006; Yang vd., 2008). Bununla birlikte, IL-6 'nın kahverengi yağ dokusu ile de ilişkili olabileceği tahmin edilmektedir (Knudsen, 2014). Ayrıca, IL-6 egzersize bağlı vasküler yeniden şekillenme ile de ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Villar-Fincheira vd., 2021). Egzersiz sırasında ve sonrasında IL-6'nın olası etki süreçleri Şekil 2.12'te verilmiştir.



Şekil 2.12. Egzersiz sırasında ve egzersiz sonrasında IL-6 olası etkileri (Nash D, vd. 2023)

Şekil 2.12’te görüldüğü gibi IL-6 egzersizle birlikte farklı doku ve hücrelere etki sağlayabilir. Özellikle IL-6’nın sinyal aktarımındaki klasik yolak egzersizle ilişkili etkilerde önem arz etmektedir (Nash D, vd. 2023).

Yapılan egzersiz çalışmalarında IL-6 seviyesi akut olarak egzersiz sonrası arttığı gözlemlenmiştir. Bu artış egzersize, kasın büyüklüğü ve yoğunluğuna bağlıdır (Catoire ve Kersten, 2015). Sağlıklı bireylerde bazal plazma IL-6 seviyesi, 1 ila 10 pg/ml arasındadır (Baran vd., 2018). Plazma IL-6 seviyelerinin uzun süreli egzersizle orantılı olarak yükselmesine dair yeterli kanıt olmamakla beraber araştırmalar IL-6 seviyesinin egzersiz sonrası akut dönemde arttığını göstermektedir (Leggate vd., 2012; Isaksen vd., 2019; Catoire ve Kersten, 2015). Egzersiz sonrası IL-6 seviyesi bazal seviyenin 100 katına kadar artış gösterip 24 saat içerisinde bazal seviyeye döner (Sabaratnam vd., 2018; Petersen ve pedersen 2005; Pedersen vd., 2007). IL-6’nın akut seviyede artmasının en büyük etkenlerinden biri egzersiz yoğunluğu ve süresidir. (Robson-Ansley vd., 2009; Eaton vd., 2018). Bu sebeple, bu artışın en belirgin hali dayanıklılık sporcularında görülür (Catoire ve Kersten, 2015; Wallberg vd., 2011). İlgi çekici olarak egzersize bağlı IL-6 seviyesi değişiklikleri geçici olurken inflamasyona bağlı IL-6 seviyesindeki değişiklikler daha kalıcı görülmektedir (Robson-Ansley vd., 2009).

IL-6 geninin egzersiz sırasında gerçekleşen metabolik süreçlerdeki önemli rolünden kaynaklı günümüzde spor genetiği çalışmalarında *IL-6* genindeki tek nükleotid polimorfizmlerine (SNP) odaklanılmıştır. En çok çalışılan SNP ise 5' kodlanmayan bölgesinde (5'UTR) bulunan rs1800795 G>C dönüşümüdür. *IL-6*/rs1800795-G alelinin yüksek *IL-6* ekspresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Bennermo vd., 2004). *IL-6*/rs1800795-C aleli ise artan kas hasarı ile ilişkilendirilmiş ve yapılan çalışmalarda rs1800795-C alelinin sporcularda yeterince temsil edilmediği görülmüştür (Yamin vd., 2008). Türk Ironman Triatlon sporcularında yapılan bir çalışmada ise triatletler arasında G aleli ile ilişki gözlemlenmiştir (Akkoç vd., 2020). Bunun yanı sıra Cenikli ve arkadaşlarının 92 Türk atlet ile yaptığı çalışmada G alelinin elit sporcularda yaygın olduğu belirtilmiştir (Cenikli vd., 2016). Arica ve arkadaşlarının 40 Türk sporcusu ile yaptığı çalışmada ise G aleli sporcularda %80 olarak gösterilmiştir (Arica vd., 2018). Bir başka çalışmada da Türk koşu kayağı sporcuları üzerine yapılmış G aleli spor yapmayan bireylere göre spor yapanlarda daha çok görülmesine rağmen istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunamamış (Kaynar vd., 2020). Türk koşu kayağı sporcularında yapılan bir başka çalışmada ise CC genotipi özellikle daha hızlı gruplarda görülürken, C aleli koşukayağı sporu ile ilişkilendirilmiştir (Kazancı vd., 2021). Türk futbolcular üzerine yapılan bir çalışmada da G aleli anlamlı olarak sporcularda fazla bulunurken CC genotipine rastlanılmamıştır (Sofu, 2019). Türk yüzücüler üzerine yapılan güncel bir çalışmada ise yüzücülerde daha sık G aleline rastlanırken kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiş (Tuna vd., 2022). Kotowska ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise *IL-6* polimorfizminin inflamatuvar biyobelirteçlerini bazal seviyesini ve antrenman sonrası değişimini etkilediği gösterilmiştir (Kotowska vd., 2022). Bununla birlikte koşucular üzerine yapılan bir araştırmada ise *IL-6* polimorfizminin egzersiz sonrası antioksidan tedaviye yanıtı etkilediği ve en iyi tedavi sonucunu heterozigot genotipin verdiği gösterilmiştir (Miranda-Vilela vd., 2016).

Yapılan diğer çalışmalarla da G alelinin sporcu fenotipi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ruiz vd., 2010). Ancak yapılan kapsamlı bir çalışmada ise İsrailli güç sporcuları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Eynon vd., 2011). Bu çalışmalar dışında yüzücüler üzerine yapılan bir çalışmada yüzücülerde C aleline daha

çok rastlandığı görülmüştür ve bunun da spor spesifik veya su ile ilgili koruyucu mekanizmalar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Ben-Zaken vd., 2015). Ayrıca, yapılan bir başka çalışma ile de yüzücüler arasında gruplandırılma yapılmış bu gruplandırma sonrası uzun mesafe yüzücülerinde kısa mesafe yüzücülerine göre C aleline daha sık rastlanılmıştır. (Ben-Zaken vd., 2017) Bununla birlikte Ben-Zaken ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüzücülerin *IL-6* G/C polimorfizmlerinin belirlenmesinin yanı sıra üst düzey yüzme antrenörleri tarafından sporcuların toparlanma ve aerobik kapasitelerinin puanlandırılması istenmiş. Puanlandırma ile genotip sonuçları birbiri ile uyumlu olarak bulunmuştur. Bu da kişiselleştirilmiş antrenman programları için spor genetiği ile uyumlu çalışmanın önemi vurgulanmıştır (Ben-Zaken vd., 2022).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması

Bu tez çalışması Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik kurulunun 05 Ocak 2022 tarihli 2022-1/18 nolu kararı ile çalışma onaylanmış ve etik açıdan uygun bulunmuştur. Sedanter bireylerin ve triatlon sporcularının *IL-6* gen polimorfizmini inceleyen bu çalışmada triatlon sporcularından ve düzenli spor yapmayan sedanter bireylerden bir tükürük tüpüne tükürmeleri istenerek tükürük örnekleri toplanmıştır.

Çalışma için 18 yaş üstü ve çalışmaya dahil olma kriterlerine göre seçilmiş, ulusal /uluslararası resmi triatlon yarışlarında dereceye girmiş 50 triatlon sporcusudan ve genel popülasyondan seçilen 50 sedanter bireyden olmak üzere 100 gönüllüden örnek toplanmıştır. Çalışmanın güç analizi G-power (3.1v) yazılımı ile gerçekleştirmiş ve güç analizine göre çalışmada 100 örnek ile Cohen etki büyüklüğü sınıflandırılmasına göre orta etki düzeyinde ($MAF > 0.01$) varyantları $\alpha = 0,05$ ve %80 güç ile tespit edebileceği gösterilmiştir.

Triatlon sporcularından toplanılacak çalışma örnekleri Türkiye Triatlon Federasyonu onayı ve Türkiye Triatlon Federasyonu Eğitim Komitesi Yönetim Kurulu Üyesi Doç. Dr. Selçuk Bora ÇAVUŞOĞLU'nun izni ve gözetimi ile Triatlon Federasyonu'nun 2022 yılında düzenlediği Gelibolu Triatlon yarışında ve Balıkesir Avlu Triatlon yarışında, aydınlatılmış onam belgelerinin onaylanılmasının ardından gönüllülerden toplanmıştır. Sedanter bireylerden toplanılacak örnekler ise sözel yolla bilgilendirilme sonrası genel popülasyondaki bireylerden aydınlatılmış onam belgeleri imzalandıktan sonra Bursa Uludağ Üniversitesi Omik Analiz ve Araştırma Laboratuvar'ında alınmıştır.

Gönüllülere tükürük toplama tüpleri verilerek (Şekil 3.1 a, b), tüpte belirtilen işarete kadar (1 tüp (2mL)) prosedüre uygun olarak tükürük örneği vermeleri talep edilmiştir. Ardından örnekler izolasyon işlemine kadar -20 °C'de saklanmıştır.



Şekil 3.1. DNA'dan tükürük toplama işlemi.

A) Tükürük toplama tüpü **B)** Tükürük toplama prosedürü

3.2. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, izolasyon kiti ile temin edilen özel tükürük toplama tüplerinde toplanan tükürük örneklerden, Tükürükten DNA izolasyon Kiti (Hibrigen) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bu kit tükürükten DNA izolasyonunu fenol/kloroform gerekmeden basit ve hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesini sağlar. Kontaminantlardan ve enzim inhibitörlerinden arındırılmış, A260/A280 değeri 1.7 ila 1.9 olan DNA elde edilebilir ve pürifiye DNA dizileme, enzim kesimi, PCR, Southern Hibridizasyonu gibi uygulamalarda kullanıma uygundur. DNA izolasyonunun temel basamakları aşağıda verilmiştir ve tüm protokol kit üreticisi firmanın önerdiği protokole uygun olarak sürdürülmüştür.

Protokolün temel basamakları:

- 1- İçerisinde tükürük bulunan numune tüplerinin içerisine 40µL Proteinaz K ekledi ve tüpler 10-15sn vortekslendi.
- 2- Numune tüpleri 55°C'de 2,5 saat inkübe edildi. İnkübe edilen karışımlardan 500'er µL alındı ayrı mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
- 3- Tüplere DT Tamponu eklenerek vortekslendi ve örnekler 10dk Buzda inkübasyon yapıldı.
- 4- İnkübasyondan alınan örnekler maksimum hızda (yaklaşık 14.000 rpm) 6dk santrifüj edildi.

- 5- Tüplerdeki süpernatantlar farklı mikrosantrifüj tüplerine aktararak üzerlerine 600µl soğuk etanol eklendi. Tüpler 10 defa alt-üst edildi (Bu aşamada DNA tüplerde toplanır) ve oda sıcaklığında 10dk inkübasyona bırakıldı. Ardından 14000 rpm’de 3dk santrifüj edildi ve süpernatant dikkatlice döküldü.
- 6- Tüpe %100’lük oda sıcaklığındaki 600µl etanol eklenerek yıkama aşaması ikinci kez gerçekleştirildi. 10dk inkübasyona bırakılan örnekler hemen ardından 14000 rpm’de 3dk santrifüj edildi ve süpernatant dikkatlice döküldü.
- 7- Tüplerde kalan DNA’ların üzerine 250µl DY Tamponu ilave edilerek 1dk oda sıcaklığında bekletildi. DY Tamponu DNA’ları kaldırmadan dikkatlice döküldü.
- 8- Tüpler iyice kuruduktan sonra tüplerin dibinde kalan DNA’ların üzerine 100µl DE Tamponu eklendi. DE Tamponu içinde çözünen DNA’lar saklanmak üzere - 20°C’ ye alındı.

İzole edilen DNA’ların kantitatif ölçümleri için A260/A280, A260/A230 değerleri Nano Drop Spektrofotometre kullanılarak hesaplanmıştır. Ayrıca, Qubit 2 (ThermoFisher) ile örneklerdeki DNA miktarları florometrik yöntemle de ölçülmüştür.

3.3. Dizi Analizi

Bu çalışmada *IL-6* geninin (NM_000600.5) PCR ile çoğaltılması ve hedef 3’UTR’ın sekanslanması için 5. ekzon bölgesinde 600bp uzunluğundaki fragmanı 3’UTR’ı kapsayacak şekilde NCBI primer hazırlama aracı (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) kullanılarak tasarlanmıştır. Primer dizisi Çizelge 3.1’deki gibi tasarlanmıştır.

Çizelge 3.1. PCR amplifikasyonu için tasarlanılan primerlerin bilgisi

Primerler	Primer Dizisi	Primer uzunluğu	Tm değeri	GC%
Forward Primer	5’-AGCATCCCTCCACTGCAAAG-3’	20	62,7	55
Reverse Primer	5’-TGGTGGCAGTGACAAGAAAC-3’	20	60,4	50

Belirtilen şartlarda PCR cihazında hedef fragmanın amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.3.).

Primerler için uygulanan PCR bileşenleri ve oranları Çizelge 3.2'deki gibidir. Ayrıca, PCR sonucu elde edilemeyen örnekler 20g/μl derişimli 0,125μl Sığır serum albümi (BSA) eklenerek amplifiye ürün başarıyla elde edilmiştir.

Çizelge 3.2. PCR'da kullanılan bileşenler ve oranları

Kullanılan Malzemeler	Miktar
DNA	(2-5) μl
PCR Buffer	2,5μl
MgCl	2μl
dNTP'ler	0,5μl
F Primer	0.5μl
R Primer	0.5μl
Taq polimeraz	(0.15 -0.3) μl
Ultrapure Water	Değişken

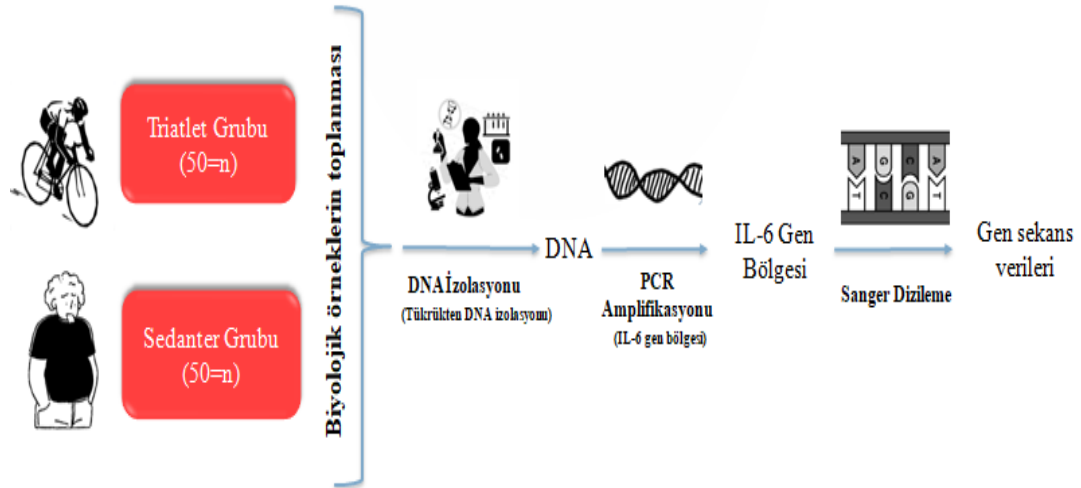
Çizelge 3.3. PCR için uygulanan reaksiyon şartları

Aşama	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Ön denatürasyon	95°C	10 dk	1 döngü
Denatürasyon	95°C	15 sn	40 döngü
Bağlanma	55°C	30 sn	
Uzama	72°C	1 dk	
Son uzama	72°C	5 dk	1 döngü

PCR amplifikasyonun analizi için PCR ürünleri %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek hedef bölgeye ait bantlar incelendi. PCR ürünü kaliteli olan örnekler Sanger Dizileme için hizmet alımı yapılacak firmaya gönderilmek üzere -20°C'de saklanmak üzere kaldırıldı.

Gönüllülerden elde edilen DNA'lardan hedef bölgenin amplifikasyonu gerçekleştirilmiş PCR ürünleri hizmet alımı için Bursa Genetik Tanı merkezine soğuk zincir halinde gönderilerek ABI DNA Analyzer cihazında sanger sekanslama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada biyoinformatik analizler öncesi sekans verilerinin elde edilmesine kadarki aşamaları içeren iş akışı Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Gen sekans verilerinin oluşturulma aşamaları

3.4. Veri Analizi

Sanger Sekanslama analizine ait “.ab1” uzantılı ham veri dosyaları Sekans/Kromatogram analiz programı kullanılarak (Uniproger) analiz edilmiştir. Elde edilen genotiplerin Hardy-Weinberg dengesine uyumunun değerlendirilmesi, alel frekanslarının hesaplanması, bağlantı Dengesizliği (Linkage disequilibrium, LD) analizi ve gruplar arası alel frekanslarındaki farklılığın istatistiksel analizi için Haploview programı kullanılmıştır. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Sonuçlar GnomAD ve 1000 genome projesinin verileri ile karşılaştırılarak minoralet frekanslarındaki farklılıklar analiz edilmiştir.

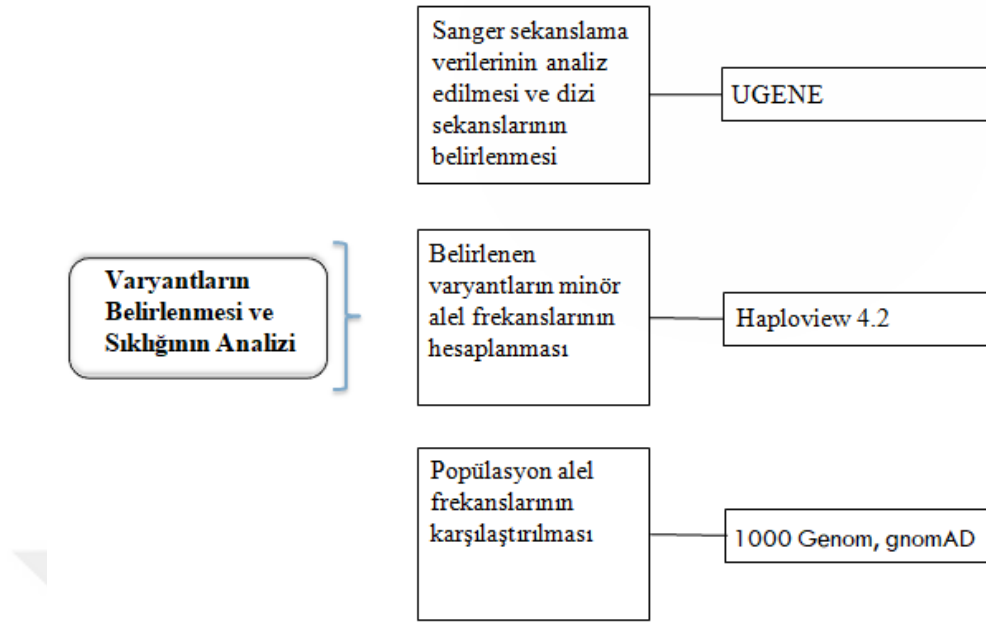
Tespit edilen varyantların fonksiyonel *in silico* analizi için farklı veri tabanları kullanılmıştır. Ayrıca, sekanslanan 3'UTR gen bölgesi önemli regülatör dizilerini ve proteinlerin bağlanma bölgelerini içerdiği için varyantların miRNA bağlanma bölgelerine etkileri miRNAsnp-v3 veri tabanı ile araştırılmıştır. Kodlama yapan gen bölgesinden tespit edilen varyantların ise *in silico* fonksiyonel analizleri ve protein üzerine etkileri diğer veri tabanlarına ek olarak SIFT, Polyphen ve MutationTaster web tabanlı programlar kullanılarak değerlendirilmiştir. Buna ek olarak, varyantların farklı regülatör ve fonksiyonel özelliklerinin *in silico* değerlendirilmesi için regulomeDB ve 3DSNP veri tabanları kullanılmıştır.

3.4.1. Varyantların belirlenmesi ve sıklığının analizi için kullanılan araçlar

Uniprogene (UGENE): Uniprogene DNA ve protein dizileri ile çalışmak, sekans verilerini analiz etmek, filogenetik ağaçlar oluşturmak gibi farklı biyoinformatik analizlerin yapılabildiği Rusya'daki Unipro şirketi tarafından biyoinformatik araştırmaları kolaylaştırıp birleşik bioinformatik araç seti sunma amacı ile geliştirilmiş ilk sürümü 2008 yılında yayımlanan ücretsiz ve açık kaynaklı biyoinformatik yazılım programıdır (Okonechnikov vd., 2012). Araştırmada sanger sekans dizilemesi sonrası gelen ab.1 uzantılı verilerin Sekans/Kromatogram analizi Uniprogene programı ile gerçekleştirilmiştir.

Haploview 4.2: Haploview, LD (linkage disequilibrium, bağlantı dengesizliği) bilgileri, haplotip blokları ve tek değişkenli ilişkilendirme istatistiklerinin elde edilebildiği, haplotip analizleri için bir araç paketi sunan bir programdır (Barrett vd., 2005). Çalışmada tespit edilen varyantların frekans hesaplamaları Haploview (4.2) programı ile yapılmıştır.

1000 Genom, GenomAD: İnsan genetik varyasyon analizi için iki büyük veri tabanı olan 1000 Genom ve GenomAD insan genetik varyasyonlarının daha iyi anlaşılıp hastalıklarla ilişkili mutasyonların tanımlanması yanı sıra ilaç hedefi belirleme gibi pek çok farklı işlev için yardım sağlayabilecek veri tabanlarıdır. Çalışmada tespit edilen varyantların MAF değerlerini diğer popülasyonlarla karşılatırmak için 1000 Genom ve GenomAD veri tabanlarını kullanılmıştır.



Şekil 3.3. Varyantların belirlenmesi ve sıklığının analizi için kullanılan araçlar

3.4.2. Tespit edilen varyantların işlevsel analizleri ve önemleri

Clinvar: ClinVar, halka açık bir veri tabanı olarak ücretsiz bir şekilde insanlarda gözlenen fenotipler ve varyantlar arasındaki ilişkileri gösteren çalışmaları gösteren bir veri tabanıdır (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>).

DisGeNET: DisGeNET hayvan modelleri, bilimsel yayınlar, GWAS çalışmaları gibi birçok kaynak ile entegre verileri alarak varyant-hastalık ilişkisi, Gen-hastalık ilişkisi olmak üzere fenotip-genotip ilişkilerini açıklamak adına ölçüm araçları sağlar (Piñero vd., 2021; Piñero vd., 2019; Piñero vd., 2016; Piñero vd., 2015).

Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT): Genlerde protein kodlayan bölgelerin aminoasit değişimlerini tanımlamak üzere 2003 yılında Ng PC ve Henikoff tarafından oluşturulmuş bir algoritmadır (<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>). SIFT, proteinlerde değişen aminoasitlerin proteinde herhangi bir fonksiyonu etkileyip etkilemediğini öngören programdır (Ng PC ve Henikoff 2003). SIFT, Tolerated ve Damaging olmak üzere iki sonuç verebilir. Tolerated sonucu amino asit değişiminin etkisinin tolere edilebilir olduğunu gösterirken Damaging ise bu amino asit değişiminin hasar verici olduğunu gösterir.

Mutation Tester: MutationTester DNA dizisi varyantlarının hastalık yapıcı potansiyelini tahmin etmek için hem protein hem de DNA seviyesinde *in silico* testler kullanılan Schwarz ve arkadaşları tarafından genetik varyasyonları ve hastalıkla ilişkili mutasyonları tanımlayıp sınıflandırmak amacı ile 2014 yılında oluşturulmuş ücretsiz ve web tabanlı bir uygulamadır (<http://www.mutationtaster.org>). Ayrıca, mutation Tester aminoasit değişimlerinin yanı sıra intron bölgesindeki değişikliklerin ve eş anlamı değişimlerinde etkilerinin fonksiyonel sonuçlarını vererek daha detaylı bir analiz elde edilmesini sağlar.

Polyphen-2: Polyphen-2 (PP2) 2010 yılında Harvard üniversitesi genetik bölümünde Adzhubei ve arkadaşları tarafından amino asitlerin değişiminin insan proteinlerindeki işlevsel ve yapısal değişiklikler üzerine olası etkilerini tahminleyen bir web arayüzlü araç olarak oluşturulmuştur (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/bgi.shtml>). PP2' nin verdiği sonuçlar şunlardır; Probably damaging: Amino asit değişimi proteine hasar verecek bir etki yaratır. Possibly damaging: Amino asit değişimi proteine hasar verebilecek bir etki yaratır. Benign: Amino asit değişimi proteinin etkisini değiştirmez.

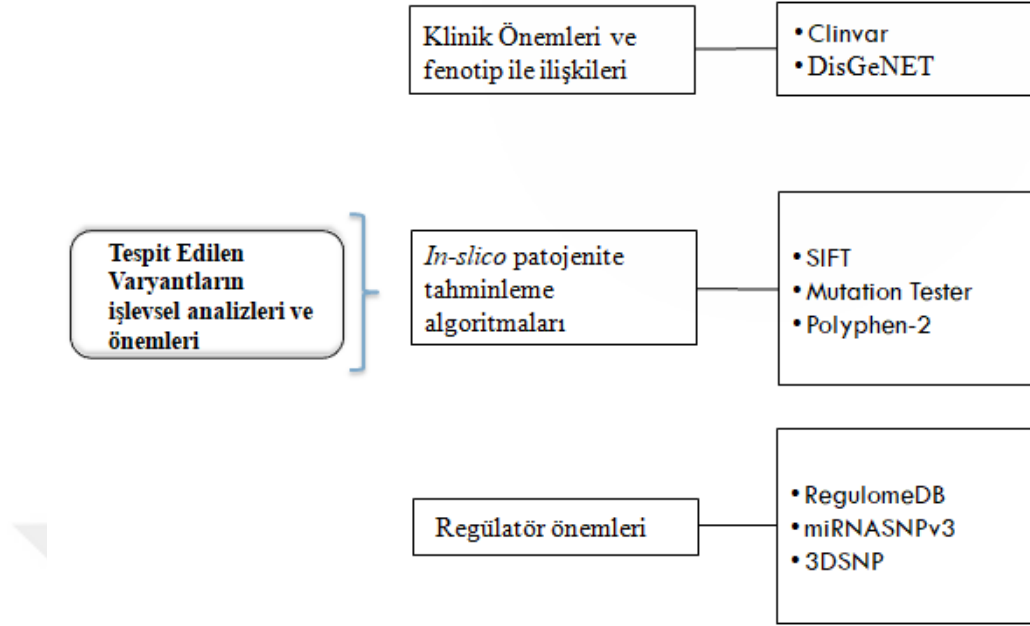
RegulomeDB: RegulomeDB Boyle ve arkadaşları tarafından gen düzenlenmesinde insan genomundaki varyasyonların etkilerini tahminlemek için 2012 yılında oluşturulmuştur (Boyle vd., 2012). GWAS, ve yayınlanmış literatür verilerinden yararlanan RegulomeDB kodlama yapmayan gen bölgeleri dahil olmak üzere genlerdeki varyasyonların promotor bölgelerin, DNaz duyarlı bölgelerin, transkripsiyon faktörleri bağlanma bölgeleri gibi farklı düzenleyici ilişkileri üzerine skorlama yapmaktadır (Çizelge 3.4) (<http://www.regulomedb.org/>).

Çizelge 3.4. RegulomeDB Skorlama sistemi

RegulomeDB Skoru	Açıklama
1a	eQTL + TF binding + matched TF motif + matched DNase Footprint + DNase peak
1b	eQTL + TF binding + any motif + DNase Footprint + DNase peak
1c	eQTL + TF binding + matched TF motif + DNase peak
1d	eQTL + TF binding + any motif + DNase peak
1e	eQTL + TF binding + matched TF motif
1f	eQTL + TF binding / DNase peak
2a	TF binding + matched TF motif + matched DNase Footprint + DNase peak
2b	TF binding + any motif + DNase Footprint + DNase peak
2c	TF binding + matched TF motif + DNase peak
3a	TF binding + any motif + DNase peak
3b	TF binding + matched TF motif
4	TF binding + DNase peak
5	TF binding or DNase peak
6	Diğer

miRNASNP-v3: Huazhong Bilim ve Teknoloji Üniversitesi tarafından insan genetik varyasyonlarının miRNA ve miRNA hedefleri ile ilişkilerini tahminlemek için kullanılan bir veri tabanıdır (<http://bioinfo.life.hust.edu.cn/miRNASNP#!/>). miRNASNP-v3 dbSNP, GWAS Catalog ve ClinVar gibi veri tabanlarından entegre ettiği veriler ile miRNA ile ilişkili hastalıkları ve miRNA işlevini anlamak için kaynaklar sunar (Liu vd., 2021). TargetScan algoritması kullanarak tek nükleotid değişimlerinin miRNA hedef bağlanmasını etkileyip etkilemediğini skorlayabilir.

3DSNP: 2016 yılında Huazhong Bilim ve Teknoloji Üniversitesi tarafından kurulan 3DSNP 1000 Genom Projesi'nden aldığı veriler ile genlerin varyasyonlarının 3D kromotin etkileşimleri bağlantı dengesizliği ve genomda düzenleyici etkilere sahip bölge olup olmadığını TargetScan algoritması kullanarak skorlar (<https://omic.tech/3dsnpv2/>).



Şekil 3.4. Tespit edilen varyantların işlevsel analizleri ve önemleri

4. BULGULAR

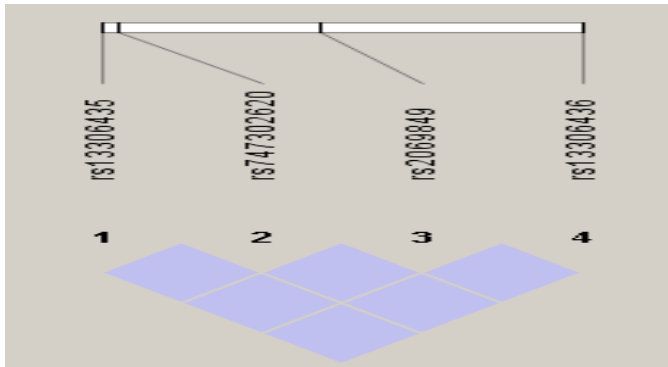
PCR amplifikasyonu ve Sanger sekanslama sonucu başarılı şekilde gerçekleşen 47 triatlet ve 46 sedanter birey olmak üzere 93 kişinin genotip verisi çalışmaya dahil edildi. Çalışmanın sonunda *IL-6* geninin analiz edilen hedef bölgesinde 4 adet varyant tespit edildi. Bulunan varyantların 3 tanesi ekzonik bölgede bulunurken 1 tanesi ise 3’kodlama yapmayan gen bölgesinde bulundu (rs13306436). Ekzonik bölgede bulunan varyantların 2 tanesi yanlış anlamlı varyant olarak belirlenirken (rs13306435, rs747302620), 1 tanesi eş anlamlı varyant olarak tespit edilmiştir (rs2069849). Çalışmada herhangi bir novel varyant keşfedilememiştir.

4.1. Minör Alel Frekansı (MAF) Hesaplanması

Haploview analizi sonucu minör alel frekansları hesaplanmıştır. Varyantlardan 1 tanesi nadir ($MAF < 0.01$) varyant iken diğer 3 tanesi yaygın olmayan varyant ($0.01 \leq MAF < 0.05$) olarak belirlenmiştir. Haploview sonucu Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmada tespit edilen varyantlar ve Haploview analizi sonuçları (n=94)

Rs ID	Minör Alel	Kromozomal Lokasyon	Hardy-Weinberg Pvalue	%Geno	MAF	Alel değişimi
rs13306435 T>A	A	22731420	1.0	98.9	0.016	T:A
rs747302620 A>C	C	22731430	1.0	100.0	0.005	A:C
rs2069849 C>T	T	22731537	1.0	100.0	0.022	C:T
rs13306436 G>A	A	22731677	1.0	100.0	0.016	G:A



Şekil 4.1. Tespit edilen varyantların LD plot analizi

Ayrıca, çalışma kapsamında tespit edilen varyantların Haploview programında $r^2=0$ olarak hesaplandı ve varyantlar arasında anlamlı bir bağlantı dengesizliği bulunamamıştır (Şekil 4.1).

Ayrıca, tespit edilen varyantların MAF değerleri 1000G ve gnomAD veri tabanları ile karşılaştırılmış ve Çizelge 4.2 de gösterilmiştir. Veri tabanı ile haploview sonuçlarında genel benzerlik görülürken özellikle triatletlerde rs13306436G>A ve rs2069849C>T varyantları daha sık görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamışlardır.

Çizelge 4.2. Tespit edilen varyantların tüm örnek grubunda (n=94) minör alel frekansları

Rs ID	Kromozomal Lokasyon	MAF	1000 GenomeMAF	GnomAD MAF	1000 Genome Avrupa Frekansı
rs13306435	22731420	0.016	0.02	0.019	0.017
rs747302620	22731430	0.005	NA	NA	NA
rs2069849	22731537	0.022	0.070	0.060	0.022
rs13306436	22731677	0.016	0.005	0.001	0

Çizelge 4.3. Tespit edilen varyantların triatletlerde (n=47) minör alel frekansları

Rs ID	Kromozomal Lokasyon	MAF	1000 Genome MAF	GnomAD MAF	1000 Genome Avrupa Frekansı
rs13306435	22731420	0.011	0.02	0.019	0.017
rs747302620	22731430	0	NA	NA	NA
rs2069849	22731537	0.032	0.070	0.060	0.022
rs13306436	22731677	0.032	0.005	0.001	0

Çizelge 4.4. Tespit edilen varyantların sedanterlerde (n=46) minör alel frekansları

Rs ID	Kromozomal Lokasyon	MAF	1000 Genome MAF	GnomAD MAF	1000 Genome Avrupa Frekansı
rs13306435	22731420	0.022	0.02	0.019	0.017
rs747302620	22731430	0.011	NA	NA	NA
rs2069849	22731537	0.011	0.070	0.060	0.022
rs13306436	22731677	0	0.005	0.001	0

Varyantların iki grup arasındaki alel frekanslarındaki farklılıklar χ^2 testi ile Haploview programında analiz edilmiştir. Dört varyantın da alel frekanslarının iki grup arasında istatistiksel olarak bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir ($p>0.05$). Fakat, örnek grubunun küçük olmasını göze aldığımızda rs13306436 G>A varyantının sadece

triatlet grupta görülmesi ilgi çekici bulunmuş ve istatistiksel anlamlılığa meyilli trend gösteren p-value (0.08) tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Triatlet ve sedanter gruplar arasındaki minör alel frekanslarının karşılaştırılması

Rs ID	MinorAlel	Triatlet Minör Alel Dağılım Oranı (n=47)	Sedanter Minör Alel Dağılım Oranı (n=46)	Triatlet Birey Alel Frekans Dağılımı (n=47)	Sedanter Birey Alel Frekans Dağılımı (n=46)	χ^2	P Değeri
rs13306435	A	1:93	2:88	0.011	0.022	0.385	0.5351
rs747302620	C	0:94	1:91	0	0.011	1.027	0.3108
rs2069849	T	3:91	1:91	0.032	0.011	0.979	0.3225
rs13306436	A	3:91	0:92	0.032	0	2.984	0.0841

4.2. Varyantların Veri Tabanları Kullanılarak Kategorize Edilmesi

Tespit edilen varyantlar bir sonraki analiz aşamasında ise işlevsel özelliklerine göre farklı *in-silico* veri tabanlarında incelenmiştir (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

Çizelge 4.6. Farklı veri tabanları ile tespit edilen varyantların işlevsel analizi

Rs ID	Kromozom Lokasyonu (NG_011640.1)	Gen Lokasyonu	Amino Asit Değişimi	MAF	3DSNP Score	RDB	SIFT	MT	PP2	eQTL	Clinvar
rs13306435	g.9274T>A	Exon	D>E	0.016	32.26	2a	T	B	B	Yok	NA
rs747302620	g.9284A>C	Exon	T>P	0.005	34.11	4	T	B	PD	Yok	NA
rs2069849	g.9391C>T	Exon	F>F	0.022	33.94	4	T	B	PD	Yok	NA
rs13306436	g.9531G>A	UTR		0.016	6.21	5	NA	B	NA	Yok	NA

(B, Benign; PP2, Polyphen2; PD, ProbablyDamaging; RDB, RegulomeDB; MAF, Minör AlleleFrequency; MT, mutationTaster; NA, Not Available)

Tespit edilen varyant farklı veri tabanları üzerinde araştırılmıştır. Genlerin regülatör özelliklerini skorlayan 3DSNP veri tabanı üzerinde rs13306435, rs747302620, rs2069849 orta önemde regülasyona etki ederken rs13306436 çok düşük bir regülasyon önemine sahip çıkmıştır. Bir başka regülasyon skorlayıcı veri tabanı olan RegulomeDB ise rs13306435 varyantını önemli bir regülatör varyant olarak gösterirken diğer varyantları ise orta derecede önemli olarak belirtilmiştir. Ayrıca, kodlanan kısımda bulunan 3 varyant üzerinde SIFT ve MutationTaster veri tabanlarında protein üzerine değişikliklerin etkileri incelenirken tüm varyantlar için tolere edilebilir ve zararsız dönüşümler olarak sınıflandırılmıştır. Ancak, PolyPhen-2 veri tabanında ise

rs747302620 ve rs2069849 muhtemel hasar verici dönüşümler olarak gösterilmiştir. Tüm bunlara ek olarak, ClinVar’da 4 varyant için de sonuç bulunamamıştır. Sonuç olarak, bu varyantlar regülasyonda etkili olabilecek varyantlar olarak gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. DisGeNET veri tabanında tespit edilen varyantların fenotip ilişkileri

DisGeNET Veri Tabanında Varyasyonların Hastalıkla İlişkisi			
Rs ID	Kromozomal Lokasyon	Minör Alel	İlişkili Hastalık
rs2069849	22731537	T	Osteoporoz
rs13306436 (3 UTR)	22731677	A	Serum HDL kolesterol Seviyesi Serum total kolesterol Seviyesi

DisGeNET veri tabanında belirtilen çalışmalarda rs2069849 C>T dönüşümünün osteoporoz riskini arttırdığı, rs13306436 G>A dönüşümünün ise serum kolesterol seviyelerini yükselttiği gözlemlenmiştir.

4.3. miRNA Bağlanma Bölgelerinin Analizi

Proje kapsamında analiz edilen 3’UTR gen bölgesi miRNA bağlanması açısından potansiyel bir regülatör bölgedir. Bu kapsamda tespit edilen varyantlardan 3’UTR varyantı rs13306436’ın miRNA bağlanma bölgesinde bulunarak miRSNP özelliğinin araştırılması için miRNASNPv3 veri tabanı kullanılmıştır. miRNASNP v3 veri tabanına göre tespit edilen varyantlardan bir varyant (rs13306436) miRNA bağlanma bölgeleri ile ilişkili bulunmuştur. miRNASNP v3 sonucuna göre rs13306436G>A 4 miRNA bağlanma bölgesi kaybederken 2 miRNA bağlanma bölgesi kazanmıştır. miRNA’ların (hsa-miR-539-3p, hsa-miR-5003-3p, hsa-miR-1-5p, hsa-miR-85-3p, hsa-miR5007-3p, hsa-miR-1279) bağlanma bölgesinde bulunmaktadır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. rs13306436G>A’nin olası miRNA hedef bölgelerindeki etkisi

miRNA ID	Fonksiyonu
hsa-miR-539-3p	Hedef miRNA bölgesini bozar
hsa-miR-5003-3p	Hedef miRNA bölgesini bozar
hsa-miR-1-5p	Hedef miRNA bölgesini bozar
hsa-miR-85-3p	Hedef miRNA bölgesini bozar
hsa-miR-5007-3p	Yeni miRNA bölgesi oluşturur
hsa-miR-1279	Yeni miRNA bölgesi oluşturur

Ayrıca, miRNASNP v3 ile belirlenen bu miRNA'lar MicroRNA Veri Entegrasyon Portalı (mirDIP) veri tabanı kullanılarak hedefledikleri genler incelenmiştir. mirDIP 11 farklı hedef tahmin algoritması kullanarak miRNA hedeflerini skorlar (Tokar vd., 2018). Yapılan analiz sonrası miRNASNP v3 ile belirlenen miRNA'lardan sadece hsa-miR-1-5p'nin IL-6'yı hedeflediği gösterilmiştir. İki farklı algoritma tarafından hedeflenmiş ve hedef etkileşim kalitesi açısından yüksek etkileşim olarak sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. miRNASNP v3 ile belirlenen miRNA'ların mirDIP skorlanması

Gen	Uniprot ID	microRNA	Entegre Edilmiş Skor	Skorlanma Sayısı	Skorlanma Sınıfı
<i>IL6</i>	P05231	hsa-miR-1-5p	0.0972	2	Yüksek

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmanın amacı sanger sekanslama yöntemi ile Türk triatlon sporcuları ve sedanter bireyler arasındaki *IL-6* geni 3' kodlama yapmayan gen bölgesindeki varyantların tespit edilerek varyantların biyoinformatik yöntemlerle analizlerini gerçekleştirip atletik performans ile ilişkilendirilmesidir. *IL-6* geni farklı metabolik süreçlerde etkin olan bir sitokin kodlayan gen olarak önemli bir role sahipken aynı zamanda, egzersiz sonrası toparlanma ve hipertrofi gibi süreçlerde de görev alarak atletik performans için de önemli bir gendir. Bu tez projesi sonucunda 4 sekans varyant saptanmıştır. Bu varyantlar 2 adet yanlış anlamlı varyant (rs13306435, rs747302620), 1 adet eş anlamlı varyant (rs2069849) ve 1 adet 3' kodlama yapmayan bölge varyantıdır (rs13306436).

Çalışmada sanger sekans verileri sonucu minör alel frekansları incelenip çizelge olarak sunulmuştur (bkz. Çizelge 4.2, Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4). Bu çizelgelerde 1000 Genome ve GnomAD projelerinden genel popülasyon frekansları verilirken aynı zamanda 1000 Genom projesinin Avrupa popülasyonunun da minör alel frekansları verilerek karşılaştırmalar yapılmıştır. Sedanter ve triatlet gruplarının dahil olduğu Çizelge 4.2'ye bakıldığında tüm örnek grubunun minör alel frekanslarından rs13306435 (MAF=0.016) ve rs2069849 (MAF=0.022) varyantlarının minör alel frekansı genel popülasyonun rs13306435 (1000 Genom MAF=0.02, GnomAD MAF=0.019) ve rs2069849 (1000 Genom MAF=0.070, GnomAD MAF=0.060) minör alel frekanslarıyla ve 1000 genom projesi avrupa popülasyonu ile benzerlik gösterirken (rs13306435 MAF=0.017, rs2069849 MAF=0.022), rs13306436 varyantı örnek grubunda (MAF=0.016) daha sık rastlanılmıştır (rs13306436; 1000 Genom MAF=0.005, GnomAD MAF=0.001, 1000 Genom Avrupa MAF=0). Ayrıca, örnek grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde triatlet grubunda rs13306435 (MAF=0.011), rs747302620 (MAF=0) ve rs2069849 (MAF=0.032) varyantları 1000 Genom projesi Avrupa popülasyonun frekansı (rs13306435 MAF=0.017, rs747302620 MAF=NA, rs2069849 MAF=0.022) ile benzerlik gösterirken rs13306436 varyantının triatlet grubundaki frekansı (MAF=0.032), 1000 genom (MAF=0.005) ve GenomAD (MAF=0.001) frekansları ile farklılık gösterirken 1000 Genom projesi Avrupa popülasyonunda bu varyanta rastlanılmaması ilgi çekicidir (MAF=0) (bkz. Çizelge 4.3). Sedanter grup içerisindeki minör alel frekanslarına bakıldığında ise (rs13306435 MAF=0.022,

rs2069849 MAF=0.011, rs13306436 MAF=0) 1000 genom projesi Avrupa popülasyonu minör alel frekansları (rs13306435 MAF=0.017, rs2069849 MAF= 0.022, rs13306436 MAF=0) ile benzerlik gözlemlenirken rs747302620 (MAF=0.011) varyantına sedanter grupta nadir varyant olarak rastlanılmıştır (bkz. Çizelge 4.4). Çalışmanın sonuçlarına göre örnek grupları 1000 Genom projesi Avrupa popülasyonu ile benzerlik gösterirken triatlet grubunda rs13306436 (MAF= 0.032) varyantının frekansının 1000 Genom (MAF=0.005), GenomAD (MAF=0.001) ve 1000 Genom Avrupa popülasyonunun (MAF=0) frekansından farklı olması bu varyantın sporla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Çizelge 4.5'teki gruplar arası minör alel frekanslarının istatistiksel olarak karşılaştırılması ile de rs13306436 istatistiksel olarak anlamlılığa meyilli trend gösteren p-value (0.08) sahip bir varyant olarak bulunmuştur. Bu sonuç da rs13306436'nın sporla ilişkili bir varyant olabileceğini desteklemektedir.

Sporla ilişkili olabileceği düşünülen rs13306436G>A varyantı üzerine literatürde bazı çalışmalara rastlanılmaktadır. Örneğin avrupalı olmayan bireyler üzerinde yapılan bir araştırmada rs13306436 A alelinin total bilirubin seviyesinde 0.06 birimlik bir düşüşe sebebiyet verdiği gösterilmiştir (Sakaue vd., 2021). Son güncel araştırmalarda normalde karaciğer hasarının bir belirtisi olan bilirubin yüksekliğinin aynı zamanda egzersiz ile birlikte de yükseldiği gösterilmiştir (Thomas vd., 2022). Bu ilişki egzersizle indüklenen adaptasyonlar sayesinde bir endokrin hormon ve antioksidan olarak kabul edilen bilirubinin yağ yakım metabolizması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Flack vd., 2023). Yapılan çalışmalarda bilirubin seviyesindeki yükseklik elit atletlerde daha fazla gözlemlenirken özellikle aerobik egzersizlerde bilirubin seviyelerinde artış olduğu görülmüş ve bunun da sporla gelen oksidatif stres ile başa çıkmak ve yağ asidi metabolizasyonu gibi süreçler ile atletik performansa destek sağlayacağı düşünülmektedir (Flack vd., 2023). Araştırmadaki verilerle sporcu grubun bilirubin değerleri ve alel ilişkileri arasında ilişki kurulacak bir değerlendirme yapılamamakla beraber, triatletlerde farklı çalışmalarla bilirubin seviyeleri ve rs13306436 A arasındaki ilişki daha kapsamlı araştırılmalı ve rs13306436 A aleline bağlı olabilecek bilirubin seviyesindeki düşüşün atletik performansa etkisi değerlendirilmelidir.

Dayanıklılık sporcuları üzerine yapılan bir araştırmada ise Chen ve arkadaşları rs13306436 varyantının sporculardaki ve sedanter bireylerdeki frekansını ve plazma IL-

6 seviyesi ile ilişkisini incelemiş ancak anlamlı bir farklılık bulamamıştır (Chen vd., 2018). rs13306436 varyantının genotiplendiği bir başka çalışmada da tüberküloz ile ilişki incelenmiş ancak herhangi bir anlamlılık bulunamamıştır (Zhang vd., 2012).

Ayrıca, rs13306436 G>A varyantı regülatör önemi skorlayan *in-silico* araçlar ile orta ve düşük derecede önemli bir varyant olarak skorlanmıştır. Tüm bunların yanı sıra rs13306436 G>A varyantı miRNA bağlanma bölgesi olarak miRNASNP-v3 aracı ile incelendiğinde, 4 mikroRNA'ya bağlanma bölgesi kaybettirirken 2 mikroRNA'ya ise bağlanma bölgesi kazandırması açısından gen regülasyonunda önemli bir bölge olarak görülebilir.

Hedef bölgesi bozulan miRNA'lardan biri hsa-miR-539-3p'dir. Aşırı ekspresyonu *LRP-6*'yı hedef alarak osteogenezi bozduğu gösterilmiştir (Tripathi vd., 2022). Bununla birlikte başka bir çalışmada hsa-miR-539-3p'nin *SOX-9* genini hedef alarak adipoz kök hücrelerinin kondrojenik farklılaşmasını engellediği ve eklem kıkırdığının bozulması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Qin vd., 2022). Aynı şekilde bir başka çalışmada hsa-miR-539-3p'nin *WNT5A*'yı hedefleyerek kemik kırıklarının iyileşmesi için gerekli olan mezankimal kök hücre farklılaşmasını baskıladığı gözlemlenmiştir (Hu vd., 2019). Yapılan çalışmalara göre hsa-miR-539-3p farklı genleri hedef alarak kemik oluşumunu ve sağlığını negatif yönde etkiler. Bu tez projesinde ise hsa-miR-539-3p, sadece sporcularda gözlemlenen rs13306436 A aleli varyantı bulunan bireylerde bağlanma bölgesi kaybeder. Sporcu gruplarda kemik sağlığı ve toparlanması önem arz eder. İlerki çalışmalar için bu varyanta sahip olan sporcuların kemik mineral yoğunlukları ve sakatlık geçmişleri incelenebilir. Bunun yanı sıra hsa-miR-539-3p'nin *IL-6*'yı etkin bir şekilde hedefleyip hedefleyemediği ve hsa-miR-539-3p'in *IL-6* geni üzerinden bu süreçleri başlatıp başlatamayacağı farklı deneysel çalışmalarla araştırılabilir.

rs13306436 A aleli ile birlikte bir başka bağlanma etkisi kaybeden miRNA ise hsa-miR-5003-3p'dir. hsa-miR-5003-3p genelde kanserde metastaz ile ilişkilendirilmiştir (Kwak vd., 2016; Yang vd., 2022).

Bağlanma bölgesini kaybeden diğer miRNA ise hsa-miR-1-5p'dir. Ayrıca, bu miRNA mirDIP veri tabanı ile araştırıldığında *IL-6*'yı mirDIP veri tabanına göre yüksek

skorlama sınıfı ile hedefleyebileceği desteklenmiştir (Çizelge 4.9.). miR-1 kas hücrelerinde ekspresyon seviyesi yüksek olan korunmuş bir (kaslarda zenginleşmiş ekspresyon düzeyine sahip miRNA'lar) MyomiR'dir (Safa vd., 2020). Bunun yanı sıra, gelişim sürecinde de iskelet kasının farklılaşmasını sağlar (Koutsoulidou vd., 2011). Yapılan çalışmalarda akut egzersiz ve dayanıklılık egzersizlerinde miR-1 seviyelerinin arttığı gözlemlenirken (Russell vd., 2013; Nielsen vd., 2014) akut direnç egzersizi ve kronik direnç egzersizlerinde miR-1'in aşığı regüle edildiği gözlemlenmiştir (Nielsen vd., 2010). Yapılan bir çalışmada ise aerobik egzersiz sonrası miR-1-5p'nin azaldığı gözlemlenmiştir (Massart vd., 2021). 61 dayanıklılık sporcusu ve 61 kontrol üzerine yapılan bir çalışmada ise dayanıklılık sporcularında daha fazla mir-1 bulunurken aerobik antrenman sonrası kontrol grubunda mir-1'in azaldığı gözlemlenmiştir (Denham ve Prestes 2016). Başka bir çalışmada ise mir-1'in egzersizin şiddetine bağlı olarak artan bir ekspresyon vereceği gösterilmiştir (Ramos vd., 2018). 21 maraton koşucusu ile yapılan bir çalışmada da mir-1'in yarış sonrası arttığını ancak 24 saat içerisinde bazal seviyeye döndüğü gösterilmiştir (Baggish vd., 2014). rs13306436 A aleli ile *IL-6*'ya bağlanma bölgesi kaybeden miR-1 egzersiz ile birlikte artsa da sporcularda bulunan varyant yüzünden *IL-6*'ya bağlanması azalabilir. *IL-6* seviyesinin egzersiz sonrası akut dönemde arttığını bilinmektedir (Leggate vd., 2012; Isaksen vd., 2019; Catoire ve Kersten, 2015). Bu artış egzersize, kasın büyüklüğü ve yoğunluğuna bağlıdır (Catoire ve Kersten, 2015). Egzersiz sonrası *IL-6* seviyesi bazal seviyenin 100 katına kadar artış gösterip 24 saat içerisinde bazal seviyeye döner (Sabaratnam vd., 2018; Petersen ve pedersen 2005; Pedersen vd., 2007). *IL-6*'nın akut seviyede artmasının en büyük etkenlerinden biri egzersiz yoğunluğu ve süresidir. (Robson-Ansley vd., 2009; Eaton vd., 2018). Bu sebeple, bu artışın en belirgin hali dayanıklılık sporcularında görülür (Catoire ve Kersten, 2015; Wallberg vd., 2011). Tüm bunlarla birlikte, dayanıklılık ile artan mir-1 seviyesine rağmen *IL-6*'yı hedefleyemeyebilir. Bu yüzden, rs13306436 dayanıklılık sporcularında akut egzersiz ile daha fazla *IL-6* miktarına rastlanılabilir. Yapılacak deneysel çalışmalar ile *IL-6* seviyesi ve miR-1 seviyesi arasında ilişki incelenerek rs13306436'nın olası etkisi gözlemlenebilir.

rs13306436A varyantının değişikliği yüzünden bağlanma bölgesi kaybeden ve kazanan diğer miRNA'lar hakkında literatürde sporla ilişkili olabilecek bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Tespit edilen diğer varyantların 3 tanesi ise kodlama yapan bölgede bulunmaktadır. Bu üç varyanttan rs13306435 regulomeDB'de 2a skoru ile önemli bir regülatör varyant olarak gözlemlenirken diğer varyantlar orta derecede önemli olarak skorlanmıştır. rs13306435 varyantı her iki örnek grubumuzda da gözlemlenirken iki örnek grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte varyant Avrupa popülasyonunun minör alel frekansı ile uyumlu bir şekilde bu çalışmanın örnek gruplarında da tespit edilmiştir. Rs13306435 varyantı yanlış anlamlı bir varyanttır. Yapılan *in-silico* analizlerle birlikte tolere edilebilir bir protein değişikliğine sebebiyet verdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, rs13306435 varyantı üzerine ilişkilendirilme çalışmaları literatürde bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada rs13306435 A alelinin siyatik ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Nojonen-Hietala vd., 2005). Ayrıca, yapılan bir çalışmada da pediatrik akut lenfoblastik lösemi'de hematolojik toksisiteye atfedilen tiopurin intoleransı ile rs13306435 ilişkili olarak bulunmuş ve *IL-6*'nın tiopürin intoleransının genetik belirleyicilerinden biri olduğu öne sürölmüş (Kim vd., 2021). Bu alışmalar haricinde yapılan diğer çalışmalarda obezite, COVID-19 ve dang humması üzerine ilişkilendirme yapılmaya çalışılsa da rs13306435 ile anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır (Maculewicz vd., 2021; Dos Santos vd., 2023; Mahmood vd., 2022).

Bir diğer tespit edilen varyant rs747302620 ise *in-silico* analizlerde orta derecede etkili bir regülatör bölge olarak gözlemlenmiş bir yanlış anlamlı varyanttır. Literatürde üzerine herhangi bir çalışma bulunmayan bu varyant, yapılan bu çalışmada da gruplar arasında herhangi bir anlamlılık ifade etmemekteydi.

Kodlama bölgesinde rastlanılan ve sporcu grubunda da sedanter grupta da gözlemlenen eş anlamlı bir varyant ise rs2069849'dur. Avrupa popülasyonu ile benzer frekansta tespit edilen varyant *in-silico* analizlerde orta derecede regülatör öneme sahip bulunurken protein yapısında tolere edilebilen bir değişim göstermiştir. Rs2069849 T aleli yapılan bir çalışmada osteoporoz riskini arttırdığı gösterilmiştir (Ji vd., 2019). İmmünoglobulin-A eksikliği üzerine yapılan bir çalışmada ise rs2069849 T alelinin

hastalıktan koruyucu bir etki yapabileceği gösterilmiştir (López-Mejías vd., 2008). rs2069849 T aleli başka bir çalışmada ortodontik mini implant kaybı ile ilişkilendirilmiştir (Reichow vd., 2016). Yapılan bir başka çalışmada ise rs2069849 T alelinin ağız yanması sendromu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Lima, 2014).

Yapılan çalışmamızda tespit edilen 3'UTR varyantı rs13306436 G>A sporcularda daha sık görülmesi ve etki ettiği miRNA bağlanma bölgeleri açısından dikkat çekmiştir. İleri çalışmalar ile bu bölgedeki miRNA bağlanma bölgelerinin etkisini destekleyecek çalışmalar yapılabilir. Bununla birlikte sporla ilişkili önemli genlerin 3'UTR varyantlarının sporcular arasındaki frekanslarının incelenmesinin atletik performansta etkisi olabilecek miRNA'lar ile ilişkili metabolik süreçleri aydınatabilecek yeni yolların keşfedilmesi için önemli olabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç yakalanmamasının nedenleri farklı limitasyonlara bağlı olabilir. Bunlardan birine örnek alınan sporcuların performans değerlendirilmesindeki limitasyon sayılabilir. Sporcuların performans derecelerinin daha da yüksek tutulması, örneğin çalışma grubuna sadece olimpiik seviyede sporcuların dahil edilmesi sporcu örnek grubunda minör alel frekansını arttırabilir. Ayrıca, örnek grubu hedeflenen varyantların tespiti için yeterli olsa da örnek grubu sayısının arttırılması daha anlamlı ilişkiler bulmak açısından çalışmayı güçlendirebilirdi.

Sonuç olarak tespit edilen varyantların hiçbirisi anlamlı olarak sporcu ve sedanter grup arasında farklılık göstermezken rs13306436 G>A 3'UTR varyantının istatistiksel anlamlılığa meyilli trend gösteren p-value (0.08) değerinde bulunması yapılacak sonraki çalışmalar için önem arz etmektedir. Ayrıca, sporla ilişkili genlerde 3'UTR bölgesinin incelenmesi regülatör öneme sahip ve mirSNP içeren atletik performans ile ilişkili yeni metabolik yollar bulunması açısından önem taşıyabileceği bu tez çalışması ile gösterilmiştir.

FİNANSAL DESTEK

Bu tez projesi FYL-2022-807 kodu ile Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından destek alınarak yürütülmüştür.

KAYNAKLAR

- Ahmetov, I., Kulemin, N., Popov, D., Naumov, V., Akimov, E., Bravy, Y., Egorova, E., Galeeva, A., Generozov, E., Kostryukova, E., Larin, A., Mustafina, L.j, Ospanova, E., Pavlenko, A., Starnes, L., Żmijewski, P., Alexeev, D., Vinogradova, O., & Govorun, V. (2015). Genome-wide association study identifies three novel genetic markers associated with elite endurance performance. *Biology of sport*, 32(1), 3–9. <https://doi.org/10.5604/20831862.1124568>
- Akkoç, O. , Birlik, A. , Sercan Doğan, C. , Ulucan, K. & Kırandı, Ö. (2020). Türk Ironman Triatlon Sporcularında IL-6, HIF1A, MCT1, PPAR-a Polimorfizm Dağılımının Belirlenmesi . *Spor Eğitim Dergisi* , 4 (1) , 1-7 . Erişim adresi:<https://dergipark.org.tr/tr/pub/seder/issue/52104/631849>
- Appel, M., Zentgraf, K., Krüger, K., & Alack, K. (2021). Effects of Genetic Variation on Endurance Performance, Muscle Strength, and Injury Susceptibility in Sports: A Systematic Review. *Frontiers in physiology*, 12, 694411. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.694411>
- Arica, S., Solgun, H. A., Demirel Dengi, A. S., Bakmaz, E., Akçay, T., Kapici, S., Sercan, C., & Ulucan, K. (2018). -174 G/C polymorphism of interleukin 6 gene is not significantly different in Turkish professional short and long distance runners. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, 64(11), 85–87. <https://doi.org/10.21597/jist.1107271>
- Ataie-Kachoeie, P., Pourgholami, M. H., & Morris, D. L. (2013). Inhibition of the IL-6 signaling pathway: a strategy to combat chronic inflammatory diseases and cancer. *Cytokine & growth factor reviews*, 24(2), 163–173. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2012.09.001>
- Bácsi, A., Penyige, A., Becs, G., Benkő, S., Kovács, E. G., Jenei, C., Pócsi, I., Balla, J., Csernoch, L., & Balatoni, I. (2022). Whole blood transcriptome characterization of young female triathlon athletes following an endurance exercise: a pilot study. *Physiological genomics*, 54(11), 457–469. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00090.2022>
- Baggish, A. L., Park, J., Min, P. K., Isaacs, S., Parker, B. A., Thompson, P. D., & Chan, S. Y. (2014). Rapid upregulation and clearance of distinct circulating microRNAs after prolonged aerobic exercise. *Journal of applied physiology*, 116(5), 522–531. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01141.2013>
- Baran, P., Hansen, S., Waetzig, G. H., Akbarzadeh, M., Lamertz, L., Huber, H. J., Ahmadian, M. R., Moll, J. M., & Scheller, J. (2018). The balance of interleukin (IL)-6, IL-6-soluble IL-6 receptor (sIL-6R), and IL-6·sIL-6R·sgp130 complexes allows simultaneous classic and trans-signaling. *The Journal of biological chemistry*, 293(18), 6762–6775. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.001163>
- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. D. M. J., & Daly, M. J. (2005). Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21(2), 263–265. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth457>
- Bennermo, M., Held, C., Stemme, S., Ericsson, C. G., Silveira, A., Green, F., & Tornvall, P. (2004). Genetic predisposition of the interleukin-6 response to

- inflammation: implications for a variety of major diseases?. *Clinical chemistry*, 50(11), 2136–2140. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.037531>
- Ben-Zaken, S., Eliakim, A., Nemet, D., Rabinovich, M., Kassem, E., & Meckel, Y. (2015). ACTN3 Polymorphism: Comparison Between Elite Swimmers and Runners. *Sports medicine - open*, 1(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s40798-015-0023-y>.
- Ben-Zaken, S., Meckel, Y., Nemet, D., Kassem, E., & Eliakim, A. (2017). Increased Prevalence of the IL-6-174C Genetic Polymorphism in Long Distance Swimmers. *Journal of human kinetics*, 58, 121–130. <https://doi.org/10.1515/hukin-2017-0070>
- Ben-Zaken, S., Meckel, Y., Nemet, D., Kaufman, L., Kassem, E., & Eliakim, A. (2022). Evaluation of swimmers by coaches in relation to IL-6 G/C rs56588968 Polymorphism: an Exploratory Study. *Journal of Physical Education and Sport*, 22(1), 115-120. <https://doi.org/10.7752/jpes.2022.01014>
- Bongiovanni, T., Pintus, R., Dessì, A., Noto, A., Sardo, S., Finco, G., Corsello, G., & Fanos, V. (2019). Sportomics: metabolomics applied to sports. The new revolution?. *European review for medical and pharmacological sciences*, 23(24), 11011–11019. https://doi.org/10.26355/eurrev_201912_19807
- Boyle, A. P., Hong, E. L., Hariharan, M., Cheng, Y., Schaub, M. A., Kasowski, M., Karczewski, K. J., Park, J., Hitz, B.C., Weng, S., Cherry, J. M., & Snyder, M. (2012). Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome Research*, 22(9), 1790-1797. <https://doi.org/10.1101/gr.137323.112>
- Carey, A. L., Steinberg, G. R., Macaulay, S. L., Thomas, W. G., Holmes, A. G., Ramm, G., Prelovsek, O., Hohnen-Behrens, C., Watt, M. J., James, D. E., Kemp, B. E., Pedersen, B. K., & Febbraio, M. A. (2006). Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP-activated protein kinase. *Diabetes*, 55(10), 2688–2697. <https://doi.org/10.2337/db05-1404>
- Catoire, M., & Kersten, S. (2015). The search for exercise factors in humans. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 29(5), 1615–1628. <https://doi.org/10.1096/fj.14-263699>
- Cenikli, A., Nursal, A. F., Tural E., Polat, Y., Tasmektepligil, M. Y., & Serbulent, Y. (2016). The Correlation between Rs1800795 Variant of IL-6 and Sports Performance among Turkish Elite Athletes. *International Journal of Humanities, Social Sciences and Education*, cilt.3, sa.11. <http://dx.doi.org/10.20431/2349-0381.0311001>
- Chen, J. F., Yan, Y., Guo, J. J., Sun, M. X., Tang, Q., & Xie, M. H. (2018). Association of interleukin-6 polymorphism with serum level of interleukin-6 in endurance athletes. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 22(32), 5215. <https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.0853>
- Chiu, Y. H., Lai, J. I., Tseng, C. Y., Wang, S. H., Li, L. H., Kao, W. F., How, C. K., Chang, W. H., & Hsieh, C. Y. (2019). Impact of angiotension I converting enzyme gene I/D polymorphism on running performance, lipid, and biochemical parameters in ultra-marathoners. *Medicine*, 98(29), e16476. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016476>
- Coelho, W. S., Viveiros de Castro, L., Deane, E., Magno-França, A., Bassini, A., & Cameron, L. C. (2016). Investigating the Cellular and Metabolic Responses of

- World-Class Canoeists Training: A Sportomics Approach. *Nutrients*, 8(11), 719. <https://doi.org/10.3390/nu8110719>
- Collins, M., Xenophontos, S. L., Cariolou, M. A., Mokone, G. G., Hudson, D. E., Anastasiades, L., & Noakes, T. D. (2004). The ACE gene and endurance performance during the South African Ironman Triathlons. *Medicine and science in sports and exercise*, 36(8), 1314–1320. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000135779.41475.42>
- de Gonzalo-Calvo, D., Dávalos, A., Montero, A., García-González, Á., Tyshkovska, I., González-Medina, A., Soares, S. M., Martínez-Camblor, P., Casas-Agustench, P., Rabadán, M., Díaz-Martínez, Á. E., Úbeda, N., & Iglesias-Gutiérrez, E. (2015). Circulating inflammatory miRNA signature in response to different doses of aerobic exercise. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 119(2), 124–134. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00077.2015>
- de Milander, L., Kun, M. A., September, A. V., Schwellnus, M. P., Noakes, T. D., & Collins, M. (2012). AVPR2 gene and weight changes during triathlons. *International journal of sports medicine*, 33(1), 67–75. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1285865>
- De Moor, M. H., Spector, T. D., Cherkas, L. F., Falchi, M., Hottenga, J. J., Boomsma, D. I., & De Geus, E. J. (2007). Genome-wide linkage scan for athlete status in 700 British female DZ twin pairs. *Twin research and human genetics : the official journal of the International Society for Twin Studies*, 10(6), 812–820. <https://doi.org/10.1375/twin.10.6.812>
- Denham, J., & Prestes, P. R. (2016). Muscle-enriched microRNAs isolated from whole blood are regulated by exercise and are potential biomarkers of cardiorespiratory fitness. *Frontiers in genetics*, 7, 196.
- Dinç, N. & Gökmen, M. H. (2019). Atletik Performans ve Spor Genetiği . Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi , 6 (2) , 127-137 . DOI: 10.34087/cbusbed.529159
- Dos Santos, B. R. C., Melo Dos Santos, A. C., Magalhaes Bastos, D., Silva Santos, L. D., de Souza Praxedes, F. A., Sathio Bessoni Tanabe, I., Fireman de Farias, K., & Martins de Souza Figueiredo, E. V. (2023). No Association Between Interleukin 6 and Inducible Nitric Oxide Synthase Polymorphisms and Dengue Infection: A Case-Control Study. *Immunological investigations*, 52(2), 154–161. <https://doi.org/10.1080/08820139.2022.2140671>
- Eaton, M., Granata, C., Barry, J., Safdar, A., Bishop, D., & Little, J. P. (2018). Impact of a single bout of high-intensity interval exercise and short-term interval training on interleukin-6, FNDC5, and METRNL mRNA expression in human skeletal muscle. *Journal of sport and health science*, 7(2), 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2017.01.003>
- Eckardt, K., Görgens, S. W., Raschke, S., & Eckel, J. (2014). Myokines in insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabetologia*, 57, 1087-1099 . <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3224-x>
- Erkal, M. (1982). *Sosyolojik Açıdan Spor. Filiz Kitabevi*
- Eynon, N., Ruiz, J. R., Meckel, Y., Santiago, C., Fiuza-Luces, C., Gómez-Gallego, F., Oliveira, J., & Lucia, A. (2011). Is the -174 C/G polymorphism of the IL6 gene associated with elite power performance? A replication study with two different Caucasian cohorts. *Experimental physiology*, 96(2), 156–162. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2010.055442>

- Farooqi, F., Dhawan, N., Morgan, R., Dinh, J., Nedd, K., & Yatzkan, G. (2020). Treatment of severe COVID-19 with tocilizumab mitigates cytokine storm and averts mechanical ventilation during acute respiratory distress: a case report and literature review. *Tropical medicine and infectious disease*, 5(3), 112. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed5030112>
- Fişek, K. (1998). Türkiye’de ve Dünya’da Spor Yönetimi. Bağırhan Yayınları.
- Flack, K. D., Vitek, L., Fry, C. S., Stec, D. E., & Hinds, T. D., Jr (2023). Cutting edge concepts: Does bilirubin enhance exercise performance?. *Frontiers in sports and active living*, 4, 1040687. <https://doi.org/10.3389/fspor.2022.1040687>.
- Gong, J., Tong, Y., Zhang, H. M., Wang, K., Hu, T., Shan, G., Sun, J., & Guo, A. Y. (2012). Genome-wide identification of SNPs in microRNA genes and the SNP effects on microRNA target binding and biogenesis. *Human mutation*, 33(1), 254–263. <https://doi.org/10.1002/humu.21641>
- Greal, R., Herruer, J., Smith, C. L., Hiller, D., Haseler, L. J., & Griffiths, L. R. (2015). Evaluation of a 7-Gene Genetic Profile for Athletic Endurance Phenotype in Ironman Championship Triathletes. *PloS one*, 10(12), e0145171. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145171>
- Greal, R., Smith, C. L., Chen, T., Hiller, D., Haseler, L. J., & Griffiths, L. R. (2013). The genetics of endurance: frequency of the ACTN3 R577X variant in Ironman World Championship athletes. *Journal of science and medicine in sport*, 16(4), 365–371. <https://doi.org/10.1016/j.jsams.2012.08.013>.
- Harvey, N. R., Voisin, S., Dunn, P. J., Sutherland, H., Yan, X., Jacques, M., Papadimitriou, I. D., Haseler, L. J., Ashton, K. J., Haupt, L. M., Eynon, N., & Griffiths, L. R. (2020). Genetic variants associated with exercise performance in both moderately trained and highly trained individuals. *Molecular genetics and genomics* : MGG, 295(2), 515–523. <https://doi.org/10.1007/s00438-019-01639-8>
- Heffernan, S. M., Kilduff, L. P., Erskine, R. M., Day, S. H., Stebbings, G. K., Cook, C. J., Raleigh, S.M., Bennett, M. A., Wang, G., Collins, M., Pitsiladis, Y.P., & Williams, A. G. (2017). COL5A1 gene variants previously associated with reduced soft tissue injury risk are associated with elite athlete status in rugby. *BMC genomics*, 18(8), 29-37. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4187-3>
- Heinrich, P. C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H. M., Müller-Newen, G., & Schaper, F. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *The Biochemical journal*, 374(Pt 1), 1–20. <https://doi.org/10.1042/BJ20030407>
- Hirano, T., Yasukawa, K., Harada, H., Taga, T., Watanabe, Y., Matsuda, T., Kashiwamura, S., Nakajima, K., Koyama, K., & Iwamatsu, A. (1986). Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*, 324(6092), 73–76. <https://doi.org/10.1038/324073a0>
- Hoge, J., Yan, I., Jänner, N., Schumacher, V., Chalaris, A., Steinmetz, O. M., Engel, D.R., Scheller, J., Rose-John, S., & Mittrücker, H. W. (2013). IL-6 controls the innate immune response against *Listeria monocytogenes* via classical IL-6 signaling. *The Journal of Immunology*, 190(2), 703-711. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201044>
- Hu, L., Liu, Y., Wang, B., Wu, Z., Chen, Y., Yu, L., Zhu, J., Shen, W., Chen, C., Chen, D., Li, G., Xu, L., & Luo, Y. (2019). MiR-539-5p negatively regulates migration of rMSCs induced by Bushen Huoxue decoction through targeting Wnt5a.

- International journal of medical sciences, 16(7), 998–1006.
<https://doi.org/10.7150/ijms.33437>
- Hudson, D. E., Mokone, G. G., Noakes, T. D., & Collins, M. (2004). The -55 C/T polymorphism within the UCP3 gene and performance during the South African Ironman Triathlon. *International journal of sports medicine*, 25(6), 427–432.
<https://doi.org/10.1055/s-2004-815850>
- Hunter, C. A., & Jones, S. A. (2015). IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature immunology*, 16(5), 448–457.
<https://doi.org/10.1038/ni.3153>
- İlgün, F., Günay, V., Yıldırım, D. S., & Cerit, M. (2020). Atletik Performans Genleri ve Atletik Yeteneğin Belirlenmesine İlişkin Yaklaşımlar.
<http://hdl.handle.net/20.500.12591/416>
- Isaksen, K., Halvorsen, B., Munk, P. S., Aukrust, P., & Larsen, A. I. (2019). Effects of interval training on inflammatory biomarkers in patients with ischemic heart failure. *Scandinavian cardiovascular journal : SCJ*, 53(4), 213–219.
<https://doi.org/10.1080/14017431.2019.1629004>
- Jenkins, B. J., Roberts, A. W., Greenhill, C. J., Najdovska, M., Lundgren-May, T., Robb, L., Grail, D., & Ernst, M. (2007). Pathologic consequences of STAT3 hyperactivation by IL-6 and IL-11 during hematopoiesis and lymphopoiesis. *Blood*, 109(6), 2380–2388.
<https://doi.org/10.1182/blood-2006-08-040352>
- Ji, Y. F., Jiang, X., Li, W., & Ge, X. (2019). Impact of interleukin-6 gene polymorphisms and its interaction with obesity on osteoporosis risk in Chinese postmenopausal women. *Environmental health and preventive medicine*, 24(1), 48.
<https://doi.org/10.1186/s12199-019-0803-y>
- Jones, S. A., & Jenkins, B. J. (2018). Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer. *Nature reviews immunology*, 18(12), 773–789.
<https://doi.org/10.1038/s41577-018-0066-7>
- Jones, S. A., Fraser, D. J., Fielding, C. A., & Jones, G. W. (2015). Interleukin-6 in renal disease and therapy. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 30(4), 564–574.
<https://doi.org/10.1093/ndt/gfu233>
- Jones, S. A., Scheller, J., & Rose-John, S. (2011). Therapeutic strategies for the clinical blockade of IL-6/gp130 signaling. *The Journal of clinical investigation*, 121(9), 3375–3383.
<https://doi.org/10.1172/JCI57158>
- Kaman, T. , Kapıcı, S. , Serca, C. , Konuk, M., & Ulucan, K. (2017). Türk Milli Bisikletçilerde Alfa- Aktinin-3 R577X Polimorfizm Dağılımının Belirlenmesi . *Marmara Üniversitesi Spor Bilimleri Dergisi* , 2 (1) , 41-47 .
<https://dergipark.org.tr/tr/pub/musbd/issue/30825/333553>
- Kasap, M. & Tutkun, E. (2020). Türkiye’deki atletik performans-genetik çalışmaları; 2010-2019, Atatürk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi, 22(1).
<https://dergipark.org.tr/en/pub/ataunibesyo/issue/53142/684630>
- Kaynar, Ö., Ulucan, K., Yuksel, I., Sercan Dogan, C., & Kavas, N. (2020). Interleukin-6 rs1800795 polymorphism is not considered as a genetic biomarker in turkish national kiing running athlete cohort. *Fresenius Environmental Bulletin* .
<https://doi.org/10.33808/clinexphealthsci.904524>
- Kazancı, D. , Polat, T. , Sercan Doğan, C. , Tacal Aslan, B. , Oktay, Ş. , Bilici, M. F. , Kaynar, Ö. , Eken, B. F. & Ulucan, K. (2021). The Determination of IL-6 rs1800795 Polymorphism Distribution in Turkish National Cross-Country Skiing Athletes Sub-groups Created Referring to the 1km CCSTAs . *Clinical and*

- Experimental Health Sciences , 11 (4) , 782-786 .
<https://doi.org/10.33808/clinexphealthsci.904524>
- Kim, H., You, S., Park, Y., Choi, J. Y., Ma, Y., Hong, K. T., Koh, K. N., Yun, S., Lee, K. H., Shin, H. Y., Lee, S., Yoo, K. H., Im, H. J., Kang, H. J., & Kim, J. H. (2021). Interplay between IL6 and CRIM1 in thiopurine intolerance due to hematological toxicity in leukemic patients with wild-type NUDT15 and TPMT. *Scientific reports*, 11(1), 9676. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88963-5>.
- Kishimoto, T. (2006). Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. *Arthritis research & therapy*, 8, 1-6. <https://doi.org/10.1186/ar1916>
- Knudsen, J. G., Murholm, M., Carey, A. L., Biensø, R. S., Basse, A. L., Allen, T. L., Hidalgo, J., Kingwell, B. A., Febbraio, M. A., Hansen, J.B., & Pilegaard, H. (2014). Role of IL-6 in exercise training-and cold-induced UCP1 expression in subcutaneous white adipose tissue. *PloS one*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084910>
- Kotowska, J., Jówko, E., Cieśliński, I., Gromisz, W., & Sadowski, J. (2022). IL-6 and HSPA1A Gene Polymorphisms May Influence the Levels of the Inflammatory and Oxidative Stress Parameters and Their Response to a Chronic Swimming Training. *International journal of environmental research and public health*, 19(13), 8127. <https://doi.org/10.3390/ijerph19138127>
- Koutsoulidou, A., Mastroiannopoulos, N. P., Furling, D., Uney, J. B., & Phylactou, L. A. (2011). Expression of miR-1, miR-133a, miR-133b and miR-206 increases during development of human skeletal muscle. *BMC developmental biology*, 11, 34. <https://doi.org/10.1186/1471-213X-11-34>
- Kraakman, M. J., Kammoun, H. L., Allen, T. L., Deswaerte, V., Henstridge, D. C., Estevez, E., Matthews, V. B., Neill, B., White, D. A., Murphy, A. J., Peijs, L., Yang, C., Risis, S., Bruce, C. R., Du, X. J., Bobik, A., Lee-Young, R. S., Kingwell, B. A., Vasanthakumar, A., Shi, W., & Febbraio, M. A. (2015). Blocking IL-6 trans-signaling prevents high-fat diet-induced adipose tissue macrophage recruitment but does not improve insulin resistance. *Cell metabolism*, 21(3), 403–416. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.02.006>
- Kwak, S. Y., Yoo, J. O., An, H. J., Bae, I. H., Park, M. J., Kim, J., & Han, Y. H. (2016). miR-5003-3p promotes epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells through Snail stabilization and direct targeting of E-cadherin. *Journal of molecular cell biology*, 8(5), 372–383. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw026>
- Leggate, M., Carter, W. G., Evans, M. J., Vennard, R. A., Sribala-Sundaram, S., & Nimmo, M. A. (2012). Determination of inflammatory and prominent proteomic changes in plasma and adipose tissue after high-intensity intermittent training in overweight and obese males. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 112(8), 1353–1360. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01080.2011>
- Li, Y., Yao, M., Zhou, Q., Cheng, Y., Che, L., Xu, J., Xiao, J., Shen, Z., & Bei, Y. (2018). Dynamic Regulation of Circulating microRNAs During Acute Exercise and Long-Term Exercise Training in Basketball Athletes. *Frontiers in physiology*, 9, 282. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00282>
- Lima, E. D. N. D. A. (2014). Análise de fatores clínico-demográficos, psicológicos, hormonais e genéticos na síndrome da ardência bucal e ardor bucal secundário. Erişim adresi: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/17165>
- Liu, C. J., Fu, X., Xia, M., Zhang, Q., Gu, Z., & Guo, A. Y. (2021). miRNASNP-v3: a comprehensive database for SNPs and disease-related variations in miRNAs and

- miRNA targets. *Nucleic acids research*, 49(D1), D1276-D1281. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa783>
- López-Mejías, R., Martínez, A., Del Pozo, N., Fernández-Arquero, M., Ferreira, A., Urcelay, E., Fontán, G., de la Concha, E. G., & Núñez, C. (2008). Interleukin-6 gene variation in Spanish patients with immunoglobulin-A deficiency. *Human immunology*, 69(4-5), 301–305. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2008.02.002>
- Maculewicz, E., Antkowiak, B., Antkowiak, O., Mastalerz, A., Białek, A., Cywińska, A., Borecka, A., Humińska-Lisowska, K., Garbacz, A., Lorenz, K., Szarska, E., Michałowska-Sawczyn, M., Dziuda, Ł., & Ciężczyk, P. (2021). IL-6 Polymorphisms Are Not Related to Obesity Parameters in Physically Active Young Men. *Genes*, 12(10), 1498. <https://doi.org/10.3390/genes12101498>
- Mahmood, A. A., Gheni, D. A., Ibrahim, M. I., Abdullabass, H. K., & Hayyawi, A. R. (2022). Role of SNPs of IL6 gene in the incidence and progression of COVID19 patients in Wasit province. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 537-545. <https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.S01.66>
- Malsagova, K. A., Butkova, T. V., Kopylov, A. T., Izotov, A. A., Rudnev, V. R., Klyuchnikov, M. S., Stepanov, A. A., & Kaysheva, A. L. (2021). Molecular Portrait of an Athlete. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(6), 1095. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11061095>
- Martinen, M., Ala-Jaakkola, R., Laitila, A., & Lehtinen, M. J. (2020). Gut Microbiota, Probiotics and Physical Performance in Athletes and Physically Active Individuals. *Nutrients*, 12(10), 2936. <https://doi.org/10.3390/nu12102936>
- Massart, J., Sjögren, R. J. O., Egan, B., Garde, C., Lindgren, M., Gu, W., Ferreira, D. M. S., Katayama, M., Ruas, J. L., Barrès, R., O'Gorman, D. J., Zierath, J. R., & Krook, A. (2021). Endurance exercise training-responsive miR-19b-3p improves skeletal muscle glucose metabolism. *Nature communications*, 12(1), 5948. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26095-0>
- Massart, J., Sjögren, R. J., Egan, B., Garde, C., Lindgren, M., Gu, W., ... & Krook, A. (2021). Endurance exercise training-responsive miR-19b-3p improves skeletal muscle glucose metabolism. *Nature Communications*, 12(1), 5948.
- Masuda, K., Ripley, B., Nishimura, R., Mino, T., Takeuchi, O., Shioi, G., Kiyonari, H., & Kishimoto, T. (2013). Arid5a controls IL-6 mRNA stability, which contributes to elevation of IL-6 level in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(23), 9409-9414. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307419110>
- Matoulkova, E., Michalova, E., Vojtesek, B., & Hrstka, R. (2012). The role of the 3' untranslated region in post-transcriptional regulation of protein expression in mammalian cells. *RNA biology*, 9(5), 563–576. <https://doi.org/10.4161/rna.20231>
- Mayr C. (2019). What Are 3' UTRs Doing?. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 11(10), a034728. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a034728>
- Miranda-Vilela, A. L., Ribeiro, I. F., & Grisolia, C. K. (2016). Association between interleukin 6 -174 G/C promoter gene polymorphism and runners' responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) oil: a before-after study. *Genetics and molecular biology*, 39(4), 554–566. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2015-0299>
- Monnerat, G., Sánchez, C., Santos, C., Paulucio, D., Velasque, R., Evaristo, G., Evaristo, J., Nogueira, F., Domont, G. B., Serrato, M., Lima, A. S., Bishop, D., Campos de Carvalho, A. C., & Pompeu, F. (2020). Different Signatures of High

- Cardiorespiratory Capacity Revealed With Metabolomic Profiling in Elite Athletes. *International journal of sports physiology and performance*, 1–12. Advance online publication. <https://doi.org/10.1123/ijsp.2019-0267>
- Mustafina, L. J., Naumov, V. A., Cieszczyk, P., Popov, D. V., Lyubaeva, E. V., Kostyukova, E. S., Fedotovskaya, O. N., Druzhevskaya, A. M., Astratenkova, I. V., Glotov, A. S., Alexeev, D. G., Mustafina, M. M., Egorova, E. S., Maciejewska-Karłowska, A., Larin, A. K., Generozov, E. V., Nurullin, R. E., Jastrzębski, Z., Kulemin, N. A., Ospanova, E. A., ... Ahmetov, I. I. (2014). AGTR2 gene polymorphism is associated with muscle fibre composition, athletic status and aerobic performance. *Experimental physiology*, 99(8), 1042–1052. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2014.079335>.
- Nash, D., Hughes, M. G., Butcher, L., Aicheler, R., Smith, P., Cullen, T., & Webb, R. (2023). IL-6 signaling in acute exercise and chronic training: Potential consequences for health and athletic performance. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 33(1), 4-19. <https://doi.org/10.1111/sms.14241>
- Neveu, W. A., Allard, J. B., Dienz, O., Wargo, M. J., Ciliberto, G., Whittaker, L. A., & Rincon, M. (2009). IL-6 is required for airway mucus production induced by inhaled fungal allergens. *The Journal of Immunology*, 183(3), 1732-1738. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802923>
- Ng, P. C., & Henikoff, S. (2003). SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic acids research*, 31(13), 3812-3814. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg509>
- Nielsen, S., Åkerström, T., Rinnov, A., Yfanti, C., Scheele, C., Pedersen, B. K., & Laye, M. J. (2014). The miRNA plasma signature in response to acute aerobic exercise and endurance training. *PloS one*, 9(2), e87308. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087308>
- Nielsen, S., Scheele, C., Yfanti, C., Åkerström, T., Nielsen, A. R., Pedersen, B. K., & Laye, M. (2010). Muscle specific microRNAs are regulated by endurance exercise in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*, 588(20), 4029-4037. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.189860>
- Nielsen, S., & Pedersen, B. K. (2008). Skeletal muscle as an immunogenic organ. *Current opinion in pharmacology*, 8(3), 346–351. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.02.005>
- Noponen-Hietala, N., Virtanen, I., Karttunen, R., Schwenke, S., Jakkula, E., Li, H., Merikivi, R., Barral, S., Ott, J., Karppinen, J., & Ala-Kokko, L. (2005). Genetic variations in IL6 associate with intervertebral disc disease characterized by sciatica. *Pain*, 114(1-2), 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.12.015>
- O'Connell, K., Posthumus, M., & Collins, M. (2014). Collagen gene interactions and endurance running performance. *South African Journal of Sports Medicine*, 26(1), 9-14. <https://doi.org/10.17159/2413-3108/2014/v26i1a404>
- O'Connell, K., Posthumus, M., & Collins, M. (2011). COL6A1 gene and Ironman triathlon performance. *International journal of sports medicine*, 32(11), 896–901. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1277181>
- Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., & Ugene Team. (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28(8), 1166-1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Orkunoglu, O. (1985). Voleybol Antrenörünün El Kitabı. Voleybol Federasyonu Yayını.

- Ostrander, E. A., Huson, H. J., & Ostrander, G. K. (2009). Genetics of athletic performance. *Annual review of genomics and human genetics*, 10, 407–429. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-082908-150058>.
- Pedersen B. K. (2013). Muscle as a secretory organ. *Comprehensive Physiology*, 3(3), 1337–1362. <https://doi.org/10.1002/cphy.c120033>
- Pedersen, B. K., Akerström, T. C., Nielsen, A. R., & Fischer, C. P. (2007). Role of myokines in exercise and metabolism. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 103(3), 1093–1098. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00080.2007>.
- Petersen, A. M., & Pedersen, B. K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 98(4), 1154–1162. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00164.2004>.
- Petersen, E. W., Carey, A. L., Sacchetti, M., Steinberg, G. R., Macaulay, S. L., Febbraio, M. A., & Pedersen, B. K. (2005). Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans in vivo and in tissue culture in vitro. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 288(1), E155–E162. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00257.2004>
- Piñero, J., Bravo, A., Queralt-Rosinach, N., Gutiérrez-Sacristán, A., Deu-Pons, J., Centeno, E., Garcia-Garcia, J., Sanz, F., & Furlong, L. I. (2016). DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants. *Nucleic acids research*, gkw943. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw943>
- Piñero, J., Queralt-Rosinach, N., Bravo, A., Deu-Pons, J., Bauer-Mehren, A., Baron, M., Sanz, F., & Furlong, L. I. (2015). DisGeNET: a discovery platform for the dynamical exploration of human diseases and their genes. *Database : the journal of biological databases and curation*, 2015, bav028. <https://doi.org/10.1093/database/bav028>
- Piñero, J., Ramírez-Anguita, J. M., Saüch-Pitarch, J., Ronzano, F., Centeno, E., Sanz, F., & Furlong, L. I. (2020). The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 update. *Nucleic acids research*, 48(D1), D845–D855. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1021>
- Piñero, J., Saüch, J., Sanz, F., & Furlong, L. I. (2021). The DisGeNET cytoscape app: Exploring and visualizing disease genomics data. *Computational and structural biotechnology journal*, 19, 2960–2967. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.05.015>.
- Pitsiladis, Y. P., Tanaka, M., Eynon, N., Bouchard, C., North, K. N., Williams, A. G., Collins, M., Moran, C. N., Britton, S. L., Fuku, N., Ashley, E. A., Klissouras, V., Lucia, A., Ahmetov, I. I., de Geus, E., Alsayrafi, M., & Athlome Project Consortium (2016). Athlome Project Consortium: a concerted effort to discover genomic and other "omic" markers of athletic performance. *Physiological genomics*, 48(3), 183–190. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00105.2015>
- Qin, F., Wang, F., Wang, X. P., Chen, J., Zeng, F. H., Sun, C. L., Mao, J. P., & Li, C. L. (2022). MiR-539-3p inhibited chondrogenic differentiation in human adipose stem cells by targeting Sox9. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 17(1), 168. <https://doi.org/10.1186/s13018-022-03053-0>.
- Ramos, A. E., Lo, C., Estephan, L. E., Tai, Y. Y., Tang, Y., Zhao, J., & Baggish, A. L. (2018). Specific circulating microRNAs display dose-dependent responses to variable intensity and duration of endurance exercise. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 315(2), H273–H283. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00741.2017>

- Raschke, S., & Eckel, J. (2013). Adipo-myokines: two sides of the same coin--mediators of inflammation and mediators of exercise. *Mediators of inflammation*, 2013, 320724. <https://doi.org/10.1155/2013/320724>.
- Reichow, A. M., Melo, A. C., de Souza, C. M., Castilhos, B. B., Olandoski, M., Alvim-Pereira, C. C., Alvim-Pereira, F., & Trevilatto, P. C. (2016). Outcome of orthodontic mini-implant loss in relation to interleukin 6 polymorphisms. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 45(5), 649–657. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2015.11.012>.
- Rivera, M. A., Fahey, T. D., López-Taylor, J. R., & Martínez, J. L. (2020). The Association of Aquaporin-1 Gene with Marathon Running Performance Level: a Confirmatory Study Conducted in Male Hispanic Marathon Runners. *Sports medicine - open*, 6(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s40798-020-00243-0>
- Robson-Ansley, P., Barwood, M., Canavan, J., Hack, S., Eglin, C., Davey, S., Hewitt, J., Hull, J., & Ansley, L. (2009). The effect of repeated endurance exercise on IL-6 and sIL-6R and their relationship with sensations of fatigue at rest. *Cytokine*, 45(2), 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.11.006>
- Rohleder, N., Aringer, M., & Boentert, M. (2012). Role of interleukin-6 in stress, sleep, and fatigue. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1261, 88–96. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06634.x>
- Rosa Neto, J. C., Lira, F. S., Oyama, L. M., Zanchi, N. E., Yamashita, A. S., Batista, M. L., Jr, Oller do Nascimento, C. M., & Seelaender, M. (2009). Exhaustive exercise causes an anti-inflammatory effect in skeletal muscle and a pro-inflammatory effect in adipose tissue in rats. *European journal of applied physiology*, 106(5), 697–704. <https://doi.org/10.1007/s00421-009-1070-1>.
- Ruiz, J. R., Buxens, A., Artieda, M., Arteta, D., Santiago, C., Rodríguez-Romo, G., Lao, J. I., Gómez-Gallego, F., & Lucia, A. (2010). The -174 G/C polymorphism of the IL6 gene is associated with elite power performance. *Journal of science and medicine in sport*, 13(5), 549–553. <https://doi.org/10.1016/j.jsams.2009.09.005>.
- Sabaratnam, R., Pedersen, A. J. T., Kristensen, J. M., Handberg, A., Wojtaszewski, J. F. P., & Højlund, K. (2018). Intact regulation of muscle expression and circulating levels of myokines in response to exercise in patients with type 2 diabetes. *Physiological reports*, 6(12), e13723. <https://doi.org/10.14814/phy2.13723>.
- Safa, A., Bahroudi, Z., Shoorei, H., Majidpoor, J., Abak, A., Taheri, M., & Ghafouri-Fard, S. (2020). miR-1: A comprehensive review of its role in normal development and diverse disorders. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 132, 110903. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110903>.
- Sakaue, S., Kanai, M., Tanigawa, Y., Karjalainen, J., Kurki, M., Koshiba, S., Narita, A., Konuma, T., Yamamoto, K., Akiyama, M., Ishigaki, K., Suzuki, A., Suzuki, K., Obara, W., Yamaji, K., Takahashi, K., Asai, S., Takahashi, Y., Suzuki, T., Shinozaki, N., ... Okada, Y. (2021). A cross-population atlas of genetic associations for 220 human phenotypes. *Nature genetics*, 53(10), 1415–1424. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00931-x>
- Sanhueza, J. A., Zambrano, T., Bahamondes-Avila, C., & Salazar, L. A. (2016). Association of Anxiety-Related Polymorphisms with Sports Performance in Chilean Long Distance Triathletes: A Pilot Study. *Journal of sports science & medicine*, 15(4), 554–561.

- Saunders, C. J., Posthumus, M., O'Connell, K., September, A. V., & Collins, M. (2015). A variant within the AQP1 3'-untranslated region is associated with running performance, but not weight changes, during an Ironman Triathlon. *Journal of sports sciences*, 33(13), 1342–1348. <https://doi.org/10.1080/02640414.2014.989535>
- Saunders, C. J., Xenophontos, S. L., Cariolou, M. A., Anastassiades, L. C., Noakes, T. D., & Collins, M. (2006). The bradykinin beta 2 receptor (BDKRB2) and endothelial nitric oxide synthase 3 (NOS3) genes and endurance performance during Ironman Triathlons. *Human molecular genetics*, 15(6), 979–987. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl014>.
- Sellami, M., Elrayess, M. A., Puce, L., & Bragazzi, N. L. (2022). Molecular Big Data in Sports Sciences: State-of-Art and Future Prospects of OMICS-Based Sports Sciences. *Frontiers in molecular biosciences*, 8, <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.815410>
- Serrano, A. L., Baeza-Raja, B., Perdiguero, E., Jardí, M., & Muñoz-Cánoves, P. (2008). Interleukin-6 is an essential regulator of satellite cell-mediated skeletal muscle hypertrophy. *Cell metabolism*, 7(1), 33–44. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.11.011>
- Simpson, R. J., Hammacher, A., Smith, D. K., Matthews, J. M., & Ward, L. D. (1997). Interleukin-6: structure-function relationships. *Protein science : a publication of the Protein Society*, 6(5), 929–955. <https://doi.org/10.1002/pro.5560060501>
- Smith, K. A., & Maizels, R. M. (2014). IL-6 controls susceptibility to helminth infection by impeding Th2 responsiveness and altering the Treg phenotype in vivo. *European journal of immunology*, 44(1), 150–161.
- Sofu, M. (2019). Futbolcularlarda Dayanıklılık Ve Kas İyileşmesi İle İlişkili İnterlökin-6 (IL-6) rs1800795 Polimorfizm Dağılımının Belirlenmesi. Erişim adresi: <https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/376426>
- Somers, W., Stahl, M., & Seehra, J. S. (1997). 1.9 A crystal structure of interleukin 6: implications for a novel mode of receptor dimerization and signaling. *The EMBO journal*, 16(5), 989–997. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.5.989>
- Steensberg, A., van Hall, G., Osada, T., Sacchetti, M., Saltin, B., & Klarlund Pedersen, B. (2000). Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *The Journal of physiology*, 529 Pt 1(Pt 1), 237–242. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00237.x>
- Sugimoto, T., Morioka, N., Zhang, F. F., Sato, K., Abe, H., Hisaoka-Nakashima, K., & Nakata, Y. (2014). Clock gene Per1 regulates the production of CCL2 and interleukin-6 through p38, JNK1 and NF-κB activation in spinal astrocytes. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 59, 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2014.01.003>
- Światowy, W. J., Zieliński, J., Osielska, M. A., Kusy, K., Wieliński, D., Pławski, A., & Jagodziński, P. P. (2023). No dynamic changes in the expression of genes related to the epigenetic mechanism during acute exercise. *Journal of Applied Genetics*, 64(1), 81–87. <https://doi.org/10.1007/s13353-022-00736-6>
- Şenışık, S. Ç. (2015). Egzersiz ve Bağışıklık Sistemi. *Spor Hekimliği Dergisi*, 50(1), 011–020.
- Thomas, D. T., DelCimmuto, N. R., Flack, K. D., Stec, D. E., & Hinds, T. D. (2022). Reactive Oxygen Species (ROS) and Antioxidants as Immunomodulators in

- Exercise: Implications for Heme Oxygenase and Bilirubin. *Antioxidants*, 11(2), 179. <https://doi.org/10.3390/antiox11020179>
- Tokar, T., Pastrello, C., Rossos, A. E., Abovsky, M., Hauschild, A. C., Tsay, M., Lu, R., & Jurisica, I. (2018). mirDIP 4.1—integrative database of human microRNA target predictions. *Nucleic acids research*, 46(D1), D360-D370. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1144>
- Tripathi, A., John, A. A., Kumar, D., Kaushal, S. K., Singh, D. P., Husain, N., Sarkar, J., & Singh, D. (2022). MiR-539-3p impairs osteogenesis by suppressing Wnt interaction with LRP-6 co-receptor and subsequent inhibition of Akap-3 signaling pathway. *Frontiers in endocrinology*, 13, <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.977347>
- Tuna, G., Polat, T., Yilmaz, Ö. Ö., Kapici, S., Doğan, C. S., Sağiroğlu, I., Savaşan, M., Erdil, N.G., & Ulucan, K. (2022). The Relationship between Swimming Styles and IL-6 Rs1800795 Polymorphism in Professional Swimmers. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, 16(07), 444-444. <https://doi.org/10.53350/pjmhs22167444>
- Ulucan, K. & Göle, S., (2014). ACE I/D Polymorphism Determination in Turkish Elite Wind- surfers. *Sports Science Review*, XXIII(1-2), 79-84. <https://doi.org/10.2478/ssr-2014-0005>
- Ulucan, K., ToPAI, E. S., AKSUIU, B. K., YAmAn, B., ÇİftÇİ, İ. C., & Bıyıklı, T. (2015). Atletik performans, genetik ve gen dopingi. *İstanbul Kanuni Sultan Süleyman Tıp Dergisi*, 7(2), 58-62. <https://doi.org/10.5222/iksst.2015.058>
- van der Poll, T., Keogh, C. V., Guirao, X., Buurman, W. A., Kopf, M., & Lowry, S. F. (1997). Interleukin-6 gene-deficient mice show impaired defense against pneumococcal pneumonia. *Journal of Infectious Diseases*, 176(2), 439-444. <https://doi.org/10.1086/514062>
- Villar-Fincheira, P., Sanhueza-Olivares, F., Norambuena-Soto, I., Cancino-Arenas, N., Hernandez-Vargas, F., Troncoso, R., Gabrielli, L., & Chiong, M. (2021). Role of Interleukin-6 in Vascular Health and Disease. *Frontiers in molecular biosciences*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.641734>
- Villarino, A. V., Kanno, Y., & O'Shea, J. J. (2017). Mechanisms and consequences of Jak–STAT signaling in the immune system. *Nature immunology*, 18(4), 374-384.
- Viswanathan, S. R., Powers, J. T., Einhorn, W., Hoshida, Y., Ng, T. L., Toffanin, S., O'Sullivan, M., Lu, J., Philips, L. A., Lockhart, V.L., Shah, S.P., Tanwer, P.S., Mermel, C.H., Beroukhim, R., Azam, M., Teixeira, J., Meyerson, M., Hughes, T. P., Llovet, J.M., ... & Daley, G. Q. (2009). Lin28 promotes transformation and is associated with advanced human malignancies. *Nature genetics*, 41(7), 843-848. <https://doi.org/10.1038/ng.392>
- Wallberg, L., Mikael Mattsson, C., Enqvist, J. K., & Ekblom, B. (2011). Plasma IL-6 concentration during ultra-endurance exercise. *European journal of applied physiology*, 111(6), 1081–1088. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1737-7>.
- Wallenius, V., Wallenius, K., Åhrén, B., Rudling, M., Carlsten, H., Dickson, S. L., Ohlsson, C., & Jansson, J. O. (2002). Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nature medicine*, 8(1), 75–79. <https://doi.org/10.1038/nm0102-75>.
- Walpole, B., Noakes, T. D., & Collins, M. (2006). Growth hormone 1 (GH1) gene and performance and post-race rectal temperature during the South African Ironman

- triathlon. *British journal of sports medicine*, 40(2), 145–150. <https://doi.org/10.1136/bjsm.2005.020669>
- Wolfarth, B., Rivera, M. A., Oppert, J. M., Boulay, M. R., Dionne, F. T., Chagnon, M., Gagnon, J., Chagnon, Y., Perusse, L., Keul, J., & Bouchard, C. (2000). A polymorphism in the alpha2a-adrenoceptor gene and endurance athlete status. *Medicine and science in sports and exercise*, 32(10), 1709–1712. <https://doi.org/10.1097/00005768-200010000-00008>.
- Yamin, C., Duarte, J. A., Oliveira, J. M., Amir, O., Sagiv, M., Eynon, N., Sagiv, M., & Amir, R. E. (2008). IL6 (-174) and TNFA (-308) promoter polymorphisms are associated with systemic creatine kinase response to eccentric exercise. *European journal of applied physiology*, 104(3), 579–586. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0728-4>.
- Yang, M., Hu, H., Wu, S., Ding, J., Yin, B., Huang, B., Li, F., Guo, X., & Han, L. (2022). EIF4A3-regulated circ_0087429 can reverse EMT and inhibit the progression of cervical cancer via miR-5003-3p-dependent upregulation of OGN expression. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 41(1), 165. <https://doi.org/10.1186/s13046-022-02368-4>.
- Yang, Y., Ju, D., Zhang, M., & Yang, G. (2008). Interleukin-6 stimulates lipolysis in porcine adipocytes. *Endocrine*, 33(3), 261–269. <https://doi.org/10.1007/s12020-008-9085-7>
- Yao, X., Huang, J., Zhong, H., Shen, N., Faggioni, R., Fung, M., & Yao, Y. (2014). Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers. *Pharmacology & therapeutics*, 141(2), 125-139. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.09.004>
- Zhang, G., Zhou, B., Wang, W., Zhang, M., Zhao, Y., Wang, Z., Yang, L., Zhai, J., Feng, C. G., Wang, J., & Chen, X. (2012). A functional single-nucleotide polymorphism in the promoter of the gene encoding interleukin 6 is associated with susceptibility to tuberculosis. *The Journal of infectious diseases*, 205(11), 1697–1704. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis266>.
- Zhou, Q., Shi, C., Lv, Y., Zhao, C., Jiao, Z., & Wang, T. (2020). Circulating microRNAs in Response to Exercise Training in Healthy Adults. *Frontiers in genetics*, 11, 256. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00256>
- Zilberstein, A., Ruggieri, R., Korn, J. H., & Revel, M. (1986). Structure and expression of cDNA and genes for human interferon-beta-2, a distinct species inducible by growth-stimulatory cytokines. *The EMBO journal*, 5(10), 2529–2537. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1986.tb04531.x>