

Serbest Mitokondriyal DNA'nın Sistemik Dolaşımdaki Rolü ve Hastalıkların Patogeneze Etkisi

Ayşe Tülay Aydınöğlü¹, Evrim Aksu Mengeş¹, Burcu Balcı Hayta¹

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara,
Türkiye

Ayşe Tülay Aydınöğlü
Evrim Aksu Mengeş, MSc
Burcu Balcı Hayta, Doç.Dr

İletişim:

Doç. Dr. Burcu Balcı Hayta
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
Tel: +90 312 305 25 41
E-Posta: burcub@hacettepe.edu.tr

Gönderilme Tarihi : 01 Kasım 2018
Revizyon Tarihi : 10 Aralık 2018
Kabul Tarihi : 18 Aralık 2018

ÖZET

Mitokondri, oksidatif fosforilasyon ile ATP üretiminin yanı sıra üstlendiği görevler ile hücre canlılığının sürdürülebilmesinde merkezi öneme sahip çok işlevli bir organeldir. Organelin hücre canlılığına katkıda bulunmasında rol oynayan en temel özelliklerinden biri de kendine özgül genetik sistemidir. Mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın normal fizyolojik koşullarda organelin matris kısmında bulunduğu, fakat gerek organel gerekse hücre hasarı olduğu durumda hücre dışı matrise salınarak serbest dolaşıma katıldığı belirtilmiştir. Özellikle son yıllarda mtDNA'ya ilişkin yapılan çalışmalar, organel genomunun dolaşımda üstlendiği roller ve hastalıklarla ilişkisi üzerine yoğunlaşmıştır. Sistemik dolaşımda serbest halde bulunan mtDNA'lar [circulating cell free mtDNA (ccf-mtDNA)] bağışıklık sisteminde görevli Kalıp Tanıma Reseptörleri [Pattern Recognition Receptors (PRRs)] tarafından Hasarla İlişkili Moleküler Yapılar [Damage Associated Molecular Patterns (DAMPs)] olarak algılanarak pro-inflamatuar yanıt oluşumunda temel bir rol üstlenmektedir. Bu derlemede, ccf-mtDNA'nın sistemik dolaşıma katılma mekanizmaları ve etkileşimde bulunduğu yolların detayına inilerek, bağışıklık sisteminin bir uyararı olarak görev almasına ve hastalıklarla ilişkisine dair bilgiler özetlenmiştir.

Anahtar sözcükler: ccf-mtDNA, sistemik dolaşım, inflamasyon

THE ROLE OF CIRCULATING CELL-FREE MITOCHONDRIAL DNA IN SYSTEMIC CIRCULATION AND ITS EFFECT ON DISEASES PATHOGENESIS

ABSTRACT

Mitochondria are multi-functional organelles with many essential roles in the maintenance of cell viability as well as ATP production by oxidative phosphorylation. One of the most important features of this organelle that contributes to cell viability is its own genetic system. Mitochondrial DNA (mtDNA), which is located in the mitochondrial matrix under normal physiological conditions, is released into the extracellular matrix and enters the systemic circulation in case of an organelle and/or a cellular damage. Recent studies have focused on the role of mtDNA in circulation and its association with diseases. Circulating cell-free mtDNA (ccf-mtDNA) is regarded as a Damage Associated Molecular Pattern (DAMP) and recognised by the Pattern Recognition Receptors (PRRs). They play a fundamental role in initiating the pro-inflammatory response. In this review, the mechanisms of ccf-mtDNA-induced inflammatory pathways in systemic circulation and the effect of ccf-mtDNA on diseases pathogenesis will be discussed.

Keywords: ccf-mtDNA, systemic circulation, inflammation

Mitokondri

Evrimsel geçmişi yaklaşık iki milyon yıl önce bir alfa-proteobakteriye dayanan ve ökaryotik hücrelerin tamamında bulunan mitokondri, kendine özgül genetik sistem içeren yarı-özzerk bir organel olmakla birlikte, hücre içinde dinamik bir yapı

sergilemektedir. Temelde hücresel metabolik faaliyetlerin devamı için gerekli ATP üretiminden sorumlu olmakla birlikte, hücre içi Ca^{+2} dengesinin korunması, demir (Fe) - sülfür (S) biyogenez, apoptoz, nükleotit, aminoasit ve lipit metabolizması gibi birçok hücresel aktivitede rol aldığı bilinmektedir (1,2). Yüksek miktarda organel stresine ve genom hasarına maruz kalan bu organelin işlevsel ve yapısal bütünlüğü; katlanmamış protein cevabı (UPRmt), biyogenez, mitokondriyal füzyon ve fisyon, mitofaji gibi birçok farklı mitokondriyal kalite kontrol mekanizmasının koordineli bir şekilde çalışması ile kontrol edilmektedir (3). Gelişmekte olan genombilim teknolojileri, birçok hastalığın başlangıcı ve ilerlemesinin altında yatan temel nedenlerden birinin de; hücresel stres artışına bağlı olarak mitokondriyal kalite kontrol mekanizmalarının işlevini doğru olarak yerine getirememesi ve organelin işlevini yitirmesi olduğunu ortaya koymaktadır (4). Organelde meydana gelen işlev kaybının kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok farklı patolojik durum ile ilişkisi olduğu bilinmektedir (5).

Hücre canlılığı ve ölümü için temel işlevleri olan bu organelin, bilinen işlevlerini korumaya ve hücre içerisinde farklı mekanizmalardaki rollerini aydınlatmaya yönelik birçok bilimsel çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalar sayesinde, her geçen gün organelin hücre içerisindeki bilinmeyen işlevlerine ilişkin edinilen bilgiler artmakta ve yeni araştırma alanları doğmaktadır. Özellikle 2010 yılından bu yana ağırlık kazanmış olarak, mitokondrinin çeşitli sinyal yollarına eşlik ederek inflamasyon aracılığıyla doğal bağışıklık sistemini harekete geçirmede anahtar rol oynadığı ortaya çıkmıştır (2,6,7).

Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Çift zincirli ve halkasal yapıda olan mtDNA, 16.569 baz çifti (bç) uzunluğunda olup 37 gen içermekte ve yaklaşık 1200 kadar proteinden oluşan mitokondriyal proteomun yalnızca %1'ini kodlamaktadır. Elektron transport zinciri (ETZ)'nde görevli temel proteinlerin yanısıra, ATP sentaz enziminin bazı alt üniteleri olacak şekilde toplam 13 polipeptit ve mitokondriye özgül 22 tRNA ve 2 rRNA sentezinden sorumludur (8). Mitokondriyal proteomun %99'u ise nükleer DNA (nDNA) tarafından kodlanmakta ve transkripsiyon sonrasında translokaz proteinleri yardımıyla sیتozolden mitokondriye taşınmaktadır (9).

Memeli somatik hücrelerinde bulunan mitokondri sayısı ~80-2000 (10) arasında değişmekle birlikte, organelde bulunan mtDNA kopya sayısı da değişkenlik göstermektedir. Kas, sinir, karaciğer gibi enerji ihtiyacı fazla olan

hücrelerde fazla sayıda olacak şekilde mitokondri başına düşen mtDNA sayısı ~2-10 civarındadır (11). Organel genomunun kopya sayısı, hücresel veya çevresel streslere cevap olarak değişkenlik gösterebilmektedir (12). Birçok hücre ve dokuda mtDNA miktarının oksidatif fosforilasyonun devamlılığı için gerekli olandan fazla bulunmasının, mtDNA'nın sinyal iletimi ve/veya bağışıklık sistemindeki olası işlevleriyle ilişkili olabileceği belirtilmiştir (7).

mtDNA'da meydana gelen mutasyonlar oksidatif fosforilasyon ile enerji üretimini sekteye uğratarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi, oksidatif stres, hücre ölümü gibi durumlara sonuçlanarak birçok hastalığın patogenezinde etkin rol oynamaktadır (13). nDNA'dan farklı olarak mtDNA'da intronların olmayışı genomu yapısal olarak daha kompakt bir hale getirmekle birlikte, histon proteinlerinin eksikliğinin organel genomundaki mutasyon hızını arttırdığı öne sürülmüştür (8). Ancak yapılan araştırmalarda, histon proteinleri olmasa da mtDNA'nın tamamen çıplak yapıda olmadığı, mitokondriyal transkripsiyon faktör A (TFAM) proteininin temel bileşeni olduğu protein-DNA kompleksleri (nükleoid) şeklinde paketli halde bulunduğu tespit edilmiştir (12). Buna rağmen, nDNA için var olan birçok gelişmiş tamir mekanizmasının mtDNA'da olmaması sebebiyle, organel genomunun mutasyon birikimine açık olduğu bilinmektedir (14). Buna ek olarak, mitokondride gerçekleşen ROS üretimine bağlı oksidatif stres kaynaklı hasar mtDNA'nın nDNA'ya kıyasla mutasyonlara daha açık olmasının altında yatan temel etken olarak gösterilmektedir. Ayrıca, lipofilik katyon yapısındaki tedavi ajanlarının, mitokondri iç zarındaki negatif zar potansiyeli nedeniyle mitokondri içinde birikmesi de, organeli hasara açık hale getirmektedir (15). Negatif iç zar potansiyeli sebebiyle yüksek miktarda lipofil katyon mitokondri içerisine alınmakta ve burada birikebilmektedir (16). Tedavi amaçlı kullanılan lipofilik katyon yapıdaki bazı kimyasallar da mitokondride birikip mtDNA hasarına sebep olabilmektedir (17).

Mitokondrinin bakteriden köken alması sebebiyle, mtDNA'da bakteri genomuna benzer nitelikte hipometile CpG motifleri bulunduğu; buna karşın memeli nDNA'sının yaygın olarak metile olmuş CpG motifleri içerdiği bulunmuştur. İki genom arasında bulunan bu farkın, mtDNA'nın yabancı bir DNA molekülü olarak tanınmasına yol açarak bağışıklık sistemini uyardığı ifade edilmektedir (18,19). mtDNA'daki metilasyon oranını anlamak üzere memeliler üzerinde farklı araştırmalar yapılmıştır. 2013 yılında insan hücre hatları ve kan örnekleri üzerinde yapılan bir araştırmada, mtDNA'daki CpG adacıklarında metilasyon olmadığı sonucuna ulaşılrken, aynı sene içerisinde yapılmış bir başka araştırmada gerek insan gerekse fare kökenli hücre

hatları ve primer kültür örneklerinde mtDNA'da metillenmiş CpG adacıkları tespit edilmiştir (20,21). 2016 yılında ise insan mtDNA'sında metillenmiş CpG adacıklarının varlığı bir başka çalışma grubu tarafından da desteklenmiştir (22). Ancak, 2017 yılına ait bir derlemede mtDNA'da metilasyon varlığının netlik kazanması yönündeki araştırmaların öneme vurgu yapılırken, mtDNA'nın metilasyon seviyesinin düşük veya yüksek olmasının bağışıklık sistemini uyarması yönünde bir etki yaratmadığı ileri sürülmüştür (7).

Serbest mtDNA (ccf-mtDNA) ve Sistemik Dolaşımdaki Rolü

Normal fizyolojik koşullarda mitokondri matriksinde bulunan mtDNA'nın, bazı durumlarda organelden sitoplazmaya ve buradan da hücre dışı matrise sızarak kan, idrar, tükürük, eklem sıvısı, beyin-omurilik sıvısı gibi çeşitli vücut sıvılarına katıldığı daha önce yapılmış olan çeşitli çalışmalarda ifade edilmiştir (7,23-26). Vücut sıvılarında bulunan organel DNA'sı, **serbest mtDNA (circulating cell-free mtDNA/ccf-mtDNA)** olarak adlandırılmaktadır. Son yıllarda ccf-mtDNA'nın özellikle sistemik dolaşımda üstlendiği roller üzerine çok fazla sayıda araştırma yapılmaktadır.

mtDNA'nın sistemik dolaşıma çıkma mekanizması henüz net olarak bilinmese de, günümüze kadar yapılmış olan araştırmalarda salınma sebep olan birçok farklı fizyolojik durum ortaya konmuştur. Dolaşımdaki mtDNA'nın kaynağı doku hasarından etkilenen hücreler veya inflamatuvar mekanizmalarda görevli olan çeşitli hücreler olabilir. Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, travma ve hemorajik şok sonrası dokuda meydana gelen hasara bağlı olarak hücre yapısının ve mitokondrilerin zarar görmesi sebebiyle mtDNA'nın dolaşıma salındığı belirlenmiştir. Hücresel hasar ve/veya nekroz sonucunda, hasarlı mitokondrilerden hücre dışı matrise N-formilpeptit, TFAM gibi moleküllerin salınımının yanı sıra, mtDNA salınımı da gerçekleşmektedir (2,27). Ayrıca, mitokondri morfolojisi ve dinamiğinde meydana gelen değişimlerin ve mitokondriyal strese bağlı organel hasarının da mtDNA'nın sistemik dolaşıma salınma sebepleri arasında sayıldığı bilinmektedir (2). Bu mekanizmaların yanı sıra, makrofajlar üzerinde yapılmış bir çalışmada otofaji mekanizmasında görev alan proteinlerin eksikliğinde de sitozole mtDNA salınımının gerçekleştiği gösterilmiştir (28). Farklı bir çalışmada ilginç bir bulgu olarak, apoptoz sırasında *BCL-2 like protein 4* (BAX) ve *BCL-2 homologous antagonist/killer* (BAK) aracılı mitokondri dışı zar geçirgenliğinin artması nedeniyle sitoplazmaya çıkan iç zardan mtDNA'nın salındığı tespit edilmiştir (29). Yapılan bir başka araştırmada ise, dokuda hasarın oluştuğu bölgeye göç eden polimorfonükleer

lökositler (PMN), trombositler ve kök hücreler tarafından da nekroz durumundan bağımsız şekilde sekonder olarak mtDNA aktif salınımının gerçekleşme olasılığından bahsedilmiştir (30). Sağlıklı bireylerden elde edilen örneklerde de ccf-mtDNA'nın varlığının gösterilmesi, mtDNA'nın normal fizyolojik durumda da düzenli olarak sitoplazmaya geçerek hücre dışı matrise ve buradan da sistemik dolaşıma katılmasına yol açan bir mekanizmanın var olabileceğini düşündürmektedir (7,31).

ccf-mtDNA'nın çift zincirli uzun ve kısa fragmanlar halinde serbest olarak veya boyutları birbirinden farklı mikropartiküller içerisinde dolaşıma katıldığı bilinmektedir (7,32,33). Doku hasarının devamındaki nekroz sürecinde fragmanlar halinde pasif taşıma ile dolaşıma katılırken; inflamatuvar cevapta görevli hücrelerden ise aktif taşıma aracılığıyla mikropartiküller içerisinde salındığı gösterilmiştir (34,35). mtDNA'nın fragmantasyon mekanizması tam olarak bilinmese de, yapılan çalışmalarla serbest radikaller tarafından indüklenen oksidatif stresin organel DNA'sının hidrolizine neden olduğu gösterilmiştir (36). Mitokondriyal stres ve/veya apoptoz sırasında mitokondri permeabilite geçişi (MPT) porlarının açılmasıyla 700 bç. uzunluğa kadar lineer mtDNA fragmanlarının organelden dışarı çıkabildiği saptanmıştır (37,38). Bunun yanı sıra, hasarlı mitokondrinin mitofaji aracılığıyla ortadan kaldıramadığı durumlarda ise hücre homeostazının korunması amacıyla, sitozolde biriken okside haldeki mtDNA'nın mikropartiküllerce paketlenerek hücreden uzaklaştırıldığı düşünülmektedir (30,35,39).

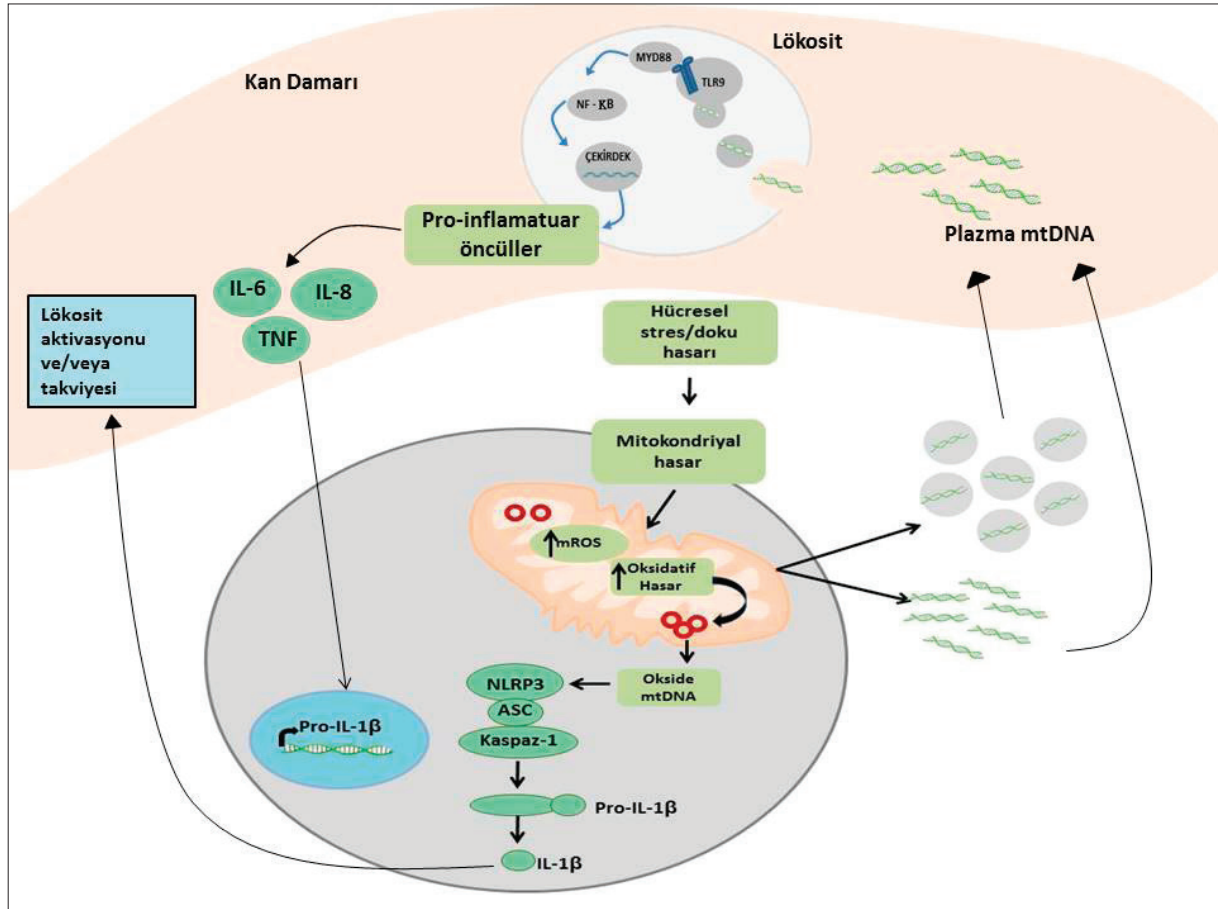
Gerek serbest halde, gerekse mikropartiküller içinde olsun, ccf-mtDNA doğal bağışıklık sistemi tarafından tanıyan kuvvetli bir tehlike sinyali olup inflamatuvar cevabı ayarlamada önemli bir işleve sahiptir. ccf-mtDNA'nın sistemik inflamasyon ve mitokondriyal hasar arasındaki bağlantıda merkezi rol üstlenebileceği gösterilmiştir (40). Doku hasarı sonrasında hücrelerden sızarak dolaşıma katılan ve doğal bağışıklık sistemini uyaran moleküller **Hasarla İlişkili Moleküler Yapılar [Damage Associated Molecular Patterns (DAMPs)]** olarak adlandırılmaktadır. Hücresel strese bağlı olarak mitokondriyal kalite kontrol mekanizmalarının başarısız olduğu durumda, ayrıca apoptotik ve nekrotik hücre ölümlerinde, hücreden dışarı çıkarak sistemik dolaşıma çıkan ccf-mtDNA'nın DAMP olarak görev aldığı bilinmektedir (6,32,41). ccf-mtDNA, içerdiği hipometile CpG motifleri ile, membrana bağlı ya da sitoplazmik DNA sensörleri olan ve patojen ilişkili cevapta görev alan **Kalip Tanıma Reseptörleri [Pattern Recognition Receptors (PRRs)]**'ne bağlanarak inflamatuvar cevabı aktive ederler (27). Bu yolakta görevli PRR reseptörleri; *Toll-like*

reseptör (TLR), *Nucleotide-binding oligomerization domain-Like* reseptör (NLR) ve sitozolik *cyclic GMP-AMP synthase-stimulator of interferon genes* (cGAS-STING) olmakla beraber, üzerinde en çok çalışılmış olan yolak **TLR9** aracılı olmaktadır (42).

Dokuda gelişen patolojiye bağlı olarak dolaşıma katılan ccf-mtDNA, lökositler içerisine internalize olur ve endolizozomal kompartmanda TLR9- *myeloid differentiation primary response protein 88* (MYD88)- *nuclear factor-κB* (NF-κB) sinyal yolağını uyarır. Bu yolak, *tumour necrosis factor* (TNF), *interleukin* (IL)-6, *interleukin* (IL)-8 ve adhezyon molekülleri gibi pro-inflamatuar araçların üretimini artırarak lökosit farklılaşmasına ve dokuya sızmasına sebep olur ve patolojinin gelişmiş olduğu doku hücrelerinde inflamazom oluşumunu tetikler (Şekil 1) Bunun yanı sıra, hücreden salınan mikropartiküller içindeki ccf-mtDNA'nın da dokuda dinlenme halinde bulunan makrofajlardaki TLR9 tarafından tanınarak NFκB sinyal yolağı aktivasyonu ile pro-inflamatuar yanıtı başlattığı gösterilmiştir (7). ccf-mtDNA'nın TLR9 aracılı pro-inflamatuar cevap aktivasyonu

hayvan modellerinde yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir (43,44). ccf-mtDNA dışında, oksidatif hasar içeren mtDNA'nın sitoplazmaya çıkmasının da ***Nod-like receptor family pyrin domain-containing 3* (NLRP3)** inflamazomunun oluşumunda anahtar rol üstlendiği belirtilmiştir (28,45). Oligomerize olan NLRP3 inflamazomu, adaptör bir protein olan *Apoptosis-associated speck like protein with a CARD* (ASC) aracılığı ile kaspaz-1 ile etkileşime girerek IL-1β ve IL-18'in kesimini ve salınımını tetikler ve farklı bir yolakla daha inflamatuvar cevabı aktive eder (Şekil 1) (7). Devamında, aktifleşen NLRP3 inflamazomunun pozitif geri besleme döngüsü ile daha çok ccf-mtDNA'nın dolaşıma çıkmasına sebep olduğu öne sürülmektedir (46).

TLR9 ve NLRP3 yollarına ek olarak mtDNA'nın aktive ettiği diğer bir yolak ise **cGAS-STING** yolağıdır. TFAM eksikliği ve çeşitli enfeksiyonların nükleoid kaybına sebep olarak mtDNA paketlenmesini/stabilitesini bozduğu ve mtDNA'nın fragmanlara ayrılmasına neden olarak bu yolağı aktive ettiği bilinmektedir (47). Sitozolik DNA sensörü olan cGAS, mitokondriden sitoplazmaya çıkmış olan



Şekil 1. Dolaşıma katılan ccf-mtDNA ve pro-inflamatuar yanıt oluşumundaki rolü (West ve Shadel, 2017'den uyarlanmıştır.)

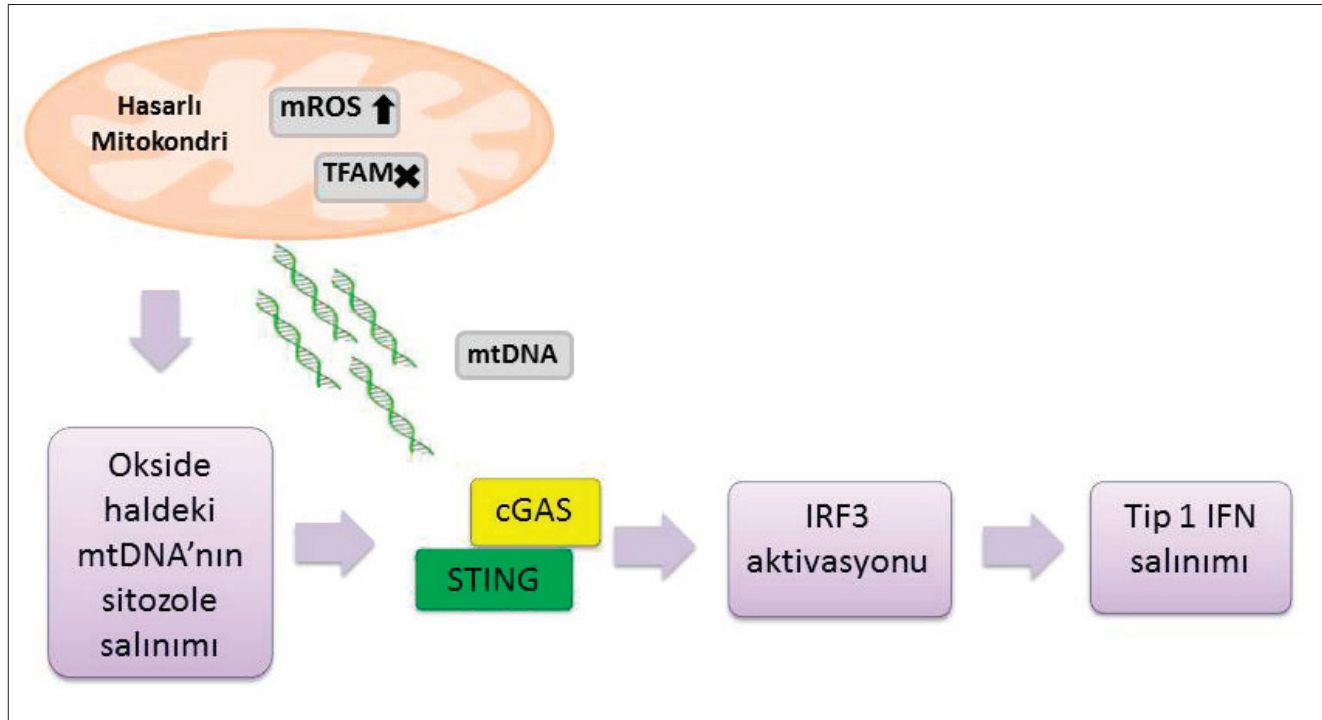
mtDNA fragmanlarının bağlanmasıyla aktive olur ve ikincil mesajcı olarak görev yapan *cyclic GMP-AMP dinucleotide* (cGAMP) sentezini katalizleyerek, endoplazmik retikulumda yerleşim gösteren STING'i aktive eder (48). Aktif STING, protein kinazlar aracılığı ile transkripsiyon faktörleri olan NF- κ B ve *Interferon Regulatory Factor 3* (IRF3)'ü aktive eder. Bu sayede, Tip 1 interferon (IFN1) ve *Interferon-stimulated genes* (ISG)'lerin ifadesi artar ve antiviral doğal bağışıklık sistemi harekete geçmiş olur (Şekil 2) (47). Ayrıca, apoptotik kaspazların inaktif olduğu mitokondri hasarı durumunda da BAX ve BAK aracılı mtDNA salınımının cGAS-STING yolağını uyardığı belirtilmiştir (49,50). Bu çalışmalara ek olarak, aktif nötrofillerden salınan mtDNA'nın da cGAS-STING yolağıyla etkileşimi bulunmaktadır (35,51,52,). Son yıllarda yapılan çalışmalarda Nötrofil ekstraselüler tuzak (NET) oluşumlarının mtDNA içerdiği saptanmış ve Sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarında NET aracılı salınmış olan ccf-mtDNA'nın IFN1 salınımını tetikleme potansiyeli olduğu öne sürülmüştür (52,53). Bu nedenle, ccf-mtDNA'nın benzer patolojik zemini olan diğer otoimmün hastalıklarda da rolü olabileceği düşünülmektedir (7).

ccf- mtDNA ve Hastalıklarla İlişkisi

Mitokondri, hücre içerisinde üstlendiği pek çok anahtar rolün yanı sıra, kendine özgül DNA'sı aracılığıyla çeşitli sinyal yollarını uyararak hastalıkların patogeneze etki etmektedir. Son yıllarda, sistemik dolaşıma katılan ccf-mtDNA'nın da, mitokondriyal hasar ve sistemik inflamasyon arasındaki bağlantıda merkezi bir rol üstlendiği ve birçok farklı hastalık grubunda doğal bağışıklık sisteminin agonisti olarak inflamatuvar patolojiyi etkilediği saptanmıştır (Tablo 1). Bu nedenle, organel DNA'sının bir otopatojen olarak işlev gördüğü ve bağışıklık sisteminin uyarıcı olduğu ileri sürülmektedir (54,55). Birçok farklı hastalığın yanı sıra, enfeksiyonlardan bağımsız olarak yaşlanma sürecinde görülen kronik inflamasyon tablosunda da (*inflammaging*) ccf-mtDNA'nın DAMP olarak işlev gördüğü, dolayısı ile yaşlanma sürecinin otoimmün hastalık benzeri bir yolak olarak değerlendirilebileceği öne sürülmüştür (40). Ayrıca, ccf-mtDNA gibi dolaşımda serbest halde bulunan DNA'lar, hastalıkların erken tanısında doku biyopsilerine nazaran elde edilmesi daha kolay olan *'liquid biopsy'*ler olarak işlev görebilmektedir (56). Birçok farklı kanser türünde, ccf-mtDNA'nın invaziv olmayan diyagnostik ve prognostik biyobelirteç olma potansiyeli ortaya çıkmıştır (57). Buna ek olarak, ccf-mtDNA miktarının kanser dışındaki farklı hastalıklarda da kontrol bireylere oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde değişiklik göstermesi (Tablo 1), ccf-mtDNA'nın bu hastalıklarda da rutin tanı amaçlı kullanılabileceğini göstermiştir.

Tablo 1. Farklı hastalık gruplarına ait vücut sıvılarından elde edilen örneklerde ccf-mtDNA miktarındaki değişimler. (West & Shadel 2017 ve Boyapati vd., 2017'den uyarlanmıştır.)

Hastalık Kategorisi	Hastalık	Analiz Edilen Vücut Sıvısı	ccf-mtDNA (artış/azalış)
Otoimmün Hastalıklar	Romatoid ve İnflamatuvar Artrit	Plazma, Eklem Sıvısı	Artış
	Granülomatozisli polianjiit	Serum	Artış
Kardiyovasküler Hastalıklar	Hipertansiyon	Plazma	Artış
	Ateroskleroz	Plazma	Artış
	Miyokard İnfarktüsü	Plazma	Artış
	Koroner Kalp Hastalığı	Plazma	Artış
Karaciğer Hastalıkları	İskemik Kalp Hastalığı	Serum	Artış
	Akut Karaciğer Yetmezliği	Serum	Artış
	Nonalkolik Steatohepatit (NASH)	Plazma	Artış
Travma	Asetaminofen Doz aşımına Bağlı Olarak Gelişen Karaciğer Yetmezliği	Serum	Artış
	Travma	Plazma	Artış
	Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS)	Plazma	Artış
Enfeksiyon	Çoklu Organ Yetmezliği Sendromu (MODS)	Plazma	Artış
	Sepsis	Plazma	Artış
Kanser	Meme Kanseri	Plazma	Azalış
	Yumurtalık Kanseri	Plazma	Artış
	Akciğer Kanseri	Plazma	Artış
	Germ Hücreli Testis Kanseri	Serum	Artış
	Ewing Sarkomu	Serum	Azalış
	Prostat Kanseri	Plazma	Artış
	Ürolojik malignite	Serum	Artış
	Adenokarsinom	Plazma	Artış
	Renal Hücreli Karsinom	Plazma	Artış
Hepatoselüler Karsinom	Serum	Azalış	
Nörodegeneratif Hastalıklar	Alzheimer	Beyin- Omurilik Sıvısı	Azalış
	Parkinson	Beyin-Omurilik Sıvısı	Azalış
Yaşlanma ile İlişkili Hastalıklar	Kronik İnflamasyon	Plazma	Artış
	Otizm	Serum	Artış
Diğer	Bipolar	Serum	Artış
	Hemodiyalize Bağlı Kronik İnflamasyon	Plazma	Artış
	Aşındırıcı Yaralanma	Plazma	Artış
	Friedreich Ataksisi	Plazma	Azalış
	Majör Depresif Bozukluk	Plazma	Artış
	Egzersiz	Plazma	Azalış



Şekil 2. Hasarlı mtDNA tarafından cGAS-STING yolğunun aktivasyonu ve immün cevabın oluşumu

Hastalıklarla ilişkili yapılan araştırmalar, ccf-mtDNA aracılı inflamasyonun, farklı genetik ve çevresel kökenleri olan hastalık gruplarında ortak bir tedavi hedefi olma potansiyelini ortaya çıkarmış ve transkripsiyonel bir yaklaşımla yeni tedavi stratejilerinin (sitozolik mtDNA salınımının önlenmesi, mitokondriyal kalite kontrol mekanizmalarının aktive edilmesi, mtDNA'nın inflamatuvar potansiyelinin azaltılması, ccf-mtDNA aracılı inflamatuvar yolğunun aktivasyonunun

engellenmesi vb.) önerilmesini sağlamıştır (46). Gerek otoimmün, gerekse sekonder inflamasyon bulgularının saptanmış olduğu tüm hastalıklarda ccf-mtDNA'nın patogeneze etki eden potansiyel bir faktör olup olmadığı halen bilinmemektedir. Evrimsel geçmişi olan bu organel DNA'sının doğal bağışıklık sistemine detaylı etkilerini ve hastalıkların tedavisine yön verebilme potansiyelini anlayabilmek için yapılan çalışmalar günümüzde halen devam etmektedir.

Kaynaklar

- Ernster L, Schatz G. Mitochondria: A Historical Review. *The Journal of Cell Biology* 1981;91:227-55.
- West AP, Shadel GS, Ghosh S. Mitochondria in Innate Immune Responses. *Nat Rev Immunol* 2011;11:389-492.
- Anzell AR, Maizy R, Przyklenk K, Sanderson TH. Mitochondrial Quality Control and Disease: Insights into Ischemia-Reperfusion Injury. *Mol Neurobiol* 2018;55:2547-64.
- Aksu E. Megakoniyal Konjenital Müsküler Distrofi Hastalığında Mitokondri Dinamiğinin İncelenmesi. (Yayınlanmamış tez) Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2017.
- Piecznik SR ve Neustadt J. Mitochondrial Dysfunction and Molecular Pathways of Disease. *Experimental and Molecular Pathology* 2007;83:84-92.
- Weinberg SE, Sena LA, Chandel NS. Mitochondria in Regulation of Innate and Adaptive Immunity. *Immunity* 2015;17:406-17.
- West AP, Shadel GS. Mitochondrial DNA in Innate Immune Responses and Inflammatory Pathology. *Nat Rev Immunol* 2017;17:363-75.
- Luft R. The Development of Mitochondrial Medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:8731-8.
- Endo T ve Yamano K. Multiple Pathways for Mitochondrial Protein Traffic. *Biological Chemistry* 2009;390:8.
- Cole LW. The Evolution of Per-cell Organelle Number. *Front. Cell Dev. Biol.* 2016;4:85.
- Wiesner RJ, Rugg JC, Morano I. Counting Target Molecules by Exponential Polymerase Chain Reaction: Copy Number of Mitochondrial DNA in Rat Tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;183:553-9.
- Bonawitz ND, Clayton DA, Shadel GS. Initiation and beyond: Multiple Functions of the Human Mitochondrial Transcription Machinery. *Molecular Cell.* 2006;24:813-25.
- Wallace DC. A Mitochondrial Paradigm of Metabolic and Degenerative Diseases, Aging, and Cancer: A Dawn for Evolutionary Medicine. *Annu. Rev. Genet* 2005;39:359-407.
- O'Rourke TW, Doudican NA, Mackereth MD, Doetsch PW, Shadel GS. Mitochondrial Dysfunction Due to Oxidative Mitochondrial DNA Damage is Reduced Through Cooperative Actions of Diverse Proteins. *Mol. Cell. Biol.* 2002;22:4086-93.
- Kang D ve Hamasaki N. Alterations of Mitochondrial DNA in Common Disease States: Aging, Neurodegeneration, Heart Failure, Diabetes and Cancer. *Current Medical Chemistry* 2005;4:429-41.

16. Singer TP ve Ramsay RR. Mechanism of the Neurotoxicity of MPTP. An Update. *FEBS Lett.* 1990;274:1-8.
17. Bandy B ve Davison AJ. Mitochondrial Mutations May Increase Oxidative Stress: Implications for Carcinogenesis and Aging? *Free Radical. Biol. Med.* 1990;8:523-39.
18. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, Matsumoto M, Hoshino K, Wagner H, Takeda K, Akira S. A Toll-like Receptor Recognizes Bacterial DNA. *Nature* 2000;408:740-45.
19. Barbalat R, Ewald SE, Mouchess ML, Barton GM. Nucleic Acid Recognition by the Innate Immune System. *Annual Review of Immunology* 2011;29:185-214.
20. Hong EE, Okitsu CY, Smith AD, Hsieh CL. Regionally Specific and Genome-Wide Analyses Conclusively Demonstrate the Absence of CpG methylation in Human Mitochondrial DNA. *Mol. Cell. Biol* 2013;33:2683-90.
21. Bellizzi D, D'Aquila P, Scafione T, Giardano M, Riso V, Riccio A, Passarino G. The Control Region of Mitochondrial DNA Shows an Unusual CpG and Non-CpG Methylation Pattern. *DNA Research. An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes.* 2013;20:537-47.
22. Liu B, Du Q, Chen L, Fu G, Li S, Fu L, Zhang X, Ma C, Bin, C. CpG Methylation Patterns of Human Mitochondrial DNA. *Scientific Reports* 2016;6:23421.
23. Jiang WW Increased Mitochondrial DNA Content in Saliva Associated with Head and Neck Cancer. *Clinical Cancer Research*, 2005;11:2486-91.
24. Ho PWL, Pang WF, Luk CCW, Ng JKC, Chow KM, Kwan BCH, Li PKT, Szeto CC. Urinary Mitochondrial DNA Level as a Biomarker of Acute Kidney Injury Severity. *Kidney Diseases* 2017;3:78-83
25. Hajizadeh S, DeGroot J, TeKoppele JM, Tarkowski A, Collins LV. Extracellular Mitochondrial DNA and Oxidatively Damaged DNA in Synovial Fluid of Patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Research & Therapy* 2003;5:R234-40.
26. Pyle A, Anugraha H, Kurzawa-Akanbi M, Yarnall A, Burn D, Hudson G: Reduced Mitochondrial DNA Copy Number is a Biomarker of Parkinson's Disease. *Neurobiol Aging* 2016;38:216.e7-216.e10.
27. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ. Circulating Mitochondrial DAMPs Cause Inflammatory Responses to Injury. *Nature* 2010;464:104-7.
28. Nakahira K, Haspel JA, Rathinam VA, Lee SJ, Dolinay T, Lam HC, Englert JA, Rabinovitch M, Cernadas M, Kim HP, Fitzgerald KA, Ryter SW, Choi AM. Autophagy Proteins Regulate Innate Immune Responses by Inhibiting the Release of Mitochondrial DNA Mediated by the NALP3 Inflammasome. *Nat. Immunol* 2011;12:222-30
29. Riley JS, Quarato G, Cloix C, Lopez J, O'Prey J, Pearson M, Chapman J, Sesaki H, Carlin LM, Passos JF, Wheeler AP, Oberst A, Ryan KM, Trait SWG. Mitochondrial Inner Membrane Permeabilization Enables mtDNA Release During Apoptosis. *The EMBO Journal.* 2018;37:e99298
30. Thurairajah K, Briggs GD, Balogh ZJ. The Source of Cell-free Mitochondrial DNA in Trauma and Potential Therapeutic Strategies. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery* 2018;44:325-34.
31. Lichtenstein AV, Melkonyan HS, Tomei LD, Umansky SR. Circulating Nucleic Acids and Apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006;945:239-49.
32. Chiu RW, Chan LY, Lam NY, Tsui NB, Ng EK, Rainer TH, Lo YM. Quantitative Analysis of Circulating Mitochondrial DNA in Plasma. *Clin Chem* 2003;49:719-26.
33. Chandrananda D, Thorne NP, Bahlo M. High-Resolution Characterization of Sequence Signatures Due to Non-random Cleavage of Cell-free DNA. *BMC Med Genomics* 2015;8:29.
34. Wilkins HM, Weidling IW, Ji Y, Swerdlow RH. Mitochondriaderived Damage-Associated Molecular Patterns in Neurodegeneration. *Front Immunol.* 2017;8:508.
35. Caielli S, Athale S, Domic B, Murat E, Chandra M, Banchereau R, Baisch J, Phelps K, Clayton S, Gong M, Wright T, Punaro M, Palucka K, Guiducci C, Banchereau J, Pascual V. Oxidized Mitochondrial Nucleoids Released by Neutrophils Drive Type I Interferon Production in Human Lupus. *J Exp Med* 2016;213:697-713.
36. García N, García JJ, Correa F, Chávez E. The Permeability Transition Pore as a Pathway for the Release of Mitochondrial DNA. *Life Sci.* 2005;76:2873-80.
37. García N ve Chávez E. Mitochondrial DNA Fragments Released Through the Permeability Transition Pore Correspond to Specific Gene Size. *Life Sci.* 2007;81:1160-6.
38. Patrushev M, Kasymov V, Patrusheva V, Ushakova T, Gogvadze V, Gaziev A. Mitochondrial Permeability Transition Triggers the Release of mtDNA Fragments. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004;61:3100-3
39. Gyorgy B, Szabo TG, Pasztoi M, Pal Z, Misjak P, Aradi B, Laszlo V, Pallinger E, Pap E, Kittel A, Nagy G, Falus A, Buzas EI. Membrane Vesicles, Current State-of-the-Art: Emerging Role of Extracellular Vesicles. *Cell Mol Life Sci* 2011;68:2667-88.
40. Picca A, Lezza AMS, Leeuwenburgh C, Pesce V, Calvani R, Landi F, Bernabei R, Marzetti E. Fueling Inflamm-Aging Through Mitochondrial Dysfunction: Mechanisms and Molecular Targets. *Int J Mol Sci* 2017;18:pii:E933.
41. Nakahira K, Hisata S, Choi AMK. The Roles of Mitochondrial Damage-Associated Molecular Patterns in Diseases. *Antioxid Redox Signal* 2015;23:1329-50.
42. Chunju F, Xiawei W, Yuquan W. Mitochondrial DNA in the Regulation of Innate Immune Responses. *Protein Cell* 2016;7:11-6.
43. Wei X, Shao B, He Z, Ye T, Luo M, Sang Y, Liang X, Wang W, Luo S, Yang S, Zhang S, Gong C, Gou M, Deng H, Zhao Y, Yang H, Deng S, Zhao C, Yang L, Qian Z, Li J, Sun X, Han J, Jiang C, Wu M, Zhang Z. Cationic Nanocarriers Induce Cell Necrosis Through Impairment of Na⁺/K⁺-ATPase and Cause Subsequent Inflammatory Response. *Cell research* 2015;25:237-53.
44. Julian MW, Shao G, VanGundy ZC, Papenfuss TL, Crouser ED. Mitochondrial Transcription Factor A, an Endogenous Danger Signal, Promotes TNF α Release via RAGE- and TLR9- Responsive Plasmacytoid Dendritic Cells. *PLoS ONE* 2013;8(8):e72354.
45. Shimada K, Crother TR, Karlin J, Dagvadorj J, Chiba N, Chen S, Ramanujan VK, Wolf AJ, Vergnes L, Ojcius DM, Rentsendorj A, Vargas M, Guerrero C, Wang Y, Fitzgerald KA, Underhill DM, Town T, Arditi M. Oxidized Mitochondrial DNA Activates the NLRP3 Inflammasome During Apoptosis. *Immunity* 2012;36:401-14.
46. Boyapati RK, Tamborska A, Doward DA, Ho GT. Advances in the Understanding of Mitochondrial DNA as a Pathogenic Factor in Inflammatory Diseases. *F1000Research.* 2017;6:169.
47. West AP, Khoury-Hanold W, Staron M, Tal MC, Pineda CM, Lang SM, Bestwick M, Duguay BA, Raimundo N, MacDuff DA, et al. Mitochondrial DNA Stress Primes the Antiviral Innate Immune Response. *Nature* 2015; 520:553-7.
48. Gao D, Wu J, Wu YT, Du F, Aroh C, Yan N, Sun L, Chen ZJ. Cyclic GMP-AMP Synthase is an Innate Immune Sensor of HIV and Other Retroviruses. *Science* 2013;341:903-6.
49. Rongvaux A, Willinger T, Martinek J, Strowing T, Gearty SV, Teichmann LL, Saito Y, Marches F, Halene S, Palucka AK, Manz MG, Flavell RA. Apoptotic Caspases Prevent the Induction of Type I Interferons by Mitochondrial DNA. *Cell* 2014;159:1563-77.
50. White MJ, McArthur K, Metcalf D, Lane RM, Cambier JC, Herold MJ, Van Deft MF, Bedoui S, Lessene G, Ritchie ME, Huang DC, Kile BT,. Apoptotic Caspases Suppress mtDNA-induced STING-Mediated Type I IFN Production. *Cell* 2014;159:1549-62.
51. Wang H, Li T, Chen S, Gu Y, Ye S. Neutrophil Extracellular Trap Mitochondrial DNA and Its Autoantibody in Systemic Lupus Erythematosus and A Proof-of-Concept Trial of Metformin. *Arthritis Rheumatol* 2015;67:3190-200.

52. Lood C, Blanco LP, Purmalek MM, Carmona-Rivera C, De Ravin SS, Smith CK, Malech HL, Ledbetter JA, Elkon KB, Kaplan MJ. Neutrophil Extracellular Traps Enriched in Oxidized Mitochondrial DNA are Interferogenic and Contribute to Lupus-like Disease. *Nat. Med* 2016;22:146-53.
53. McIlroy DJ, Jarnicki AG, Au GG, Lott N, Smith DW, Hansbro PM, Balogh ZJ. Mitochondrial DNA Neutrophil Extracellular Traps are Formed After Trauma and Subsequent Surgery. *J. Crit Care* 2014;29:1133.e1-5.
54. Zhang B, Asadi S, Weng Z, Sismanopoulos N, Theoharides TC. Stimulated Human Mast Cells Secrete Mitochondrial Components That Have Autocrine and Paracrine Inflammatory Actions. *PLoS ONE* 2012;7:12,e49767.
55. Boudreau LH, Duchez AC, Cloutier N, Soulet D, Martin N, Bollinger J, Paré A, Rousseau M, Naika GS, Lévesque T, Laflamme C, Marcoux G, Lambeau G, Farndale RW, Pouliot M, Hamzeh-Cognasse H, Cognasse F, Garraud O, Nigrovic PA, Guderley H, Lacroix S, Thibault L, Semple JW, Gelb MH, Boilard E. Platelets Release Mitochondria Serving as Substrate for Bactericidal Group IIA-Secreted Phospholipase A2 to Promote Inflammation. *Blood* 2014;124: 2173-83.
56. Diaz LA JR, Bardelli A. Liquid biopsies: Genotyping Circulating Tumor DNA. *J Clin Oncol.* 2014; 32:579-86.
57. Elshimali YI, Khaddour H, Sarkissyan M, Wu Y, Vadgama JV. The Clinical Utilization of Circulating Cell Free DNA (CCFDNA) in Blood of Cancer Patients. *International journal of molecular sciences,* 2013;14:18925-58.