



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HEPATİT C HASTALARINDA mtDNA
MUTASYONLARI ve TELOMER UZUNLUĞU
ANALİZİ**

EBUBEKİR DİRİCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TİBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2025

**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**HEPATİT C HASTALARINDA MTDNA MUTASYONLARI VE
TELOMER UZUNLUĞU ANALİZİ**

Ebubekir DİRİCAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kezban Tülay YALÇINKAYA

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Ekrem KİREÇCİ

KAHRAMANMARAŞ-2025

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ebubekir DİRİCAN



Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2024/3-7 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu araştırma, 2024/3-7 YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle yaklaşan her sorun yaşadığımda çekinmeden sorabildiğim, anlayışlı, güler yüzünü, hoş görüsünü ve samimiyetini benden esirgemeyen çok kıymetli, çok değerli ve kıymetli bir bilim insanı olan danışman hocam Prof. Dr. Kezban Tülay YALÇINKAYA'ya çok teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilimsel birikimini kıymetli bilgilerini benimle paylaşan ve yardımcı olan, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen çok kıymetli bilim insanı Prof. Dr. Murat ARAL hocama,

Bu çalışmanın yapılmasında doğrudan çok önemli katkısı olan, özellikle hastaların toplanması ve verilerin analizinde bize yardımcı olan Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Evrim GÜLDEREN KUŞÇU hocama teşekkür ederim.

Örneklerin ve klinik verilerin toplanması başta olmak üzere birçok konuda katkısı olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim elemanlarından Arş. Gör. Dr. Burak KÜÇÜK, Arş. Gör. Dr. Mehmet İlker TOSUN ve Arş. Gör. Dr. Emine Nur EGE'ye ayrı ayrı teşekkür ederim.

İlk yüksek lisansa başladığımda görev yapmış olan, yüksek lisans eğitimim boyunca yardım, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji bölümünde kıymetli bir bilim insanı Prof. Dr. Mustafa GÜL hocama geçmişteki değerli emekleri için teşekkür ederim.

İlk yüksek lisansa başladığımda görev yapmış olan, yüksek lisans eğitimim boyunca yardım, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji bölümünün kıymetli asistanlarından Arş. Gör. Abdullah KARADAĞ, Arş. Gör. İsmihan Ece AKKÖK (PAKÖZ) ve Arş. Gör. Dr. Serpil ŞERİBAN DOĞAN geçmişteki değerli emekleri için teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardım, bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji bölümünde Doç. Dr. Özlem KİRİŞÇİ başta olmak üzere diğer tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Koray ŞİMŞEK, Hediye ŞİMŞEK, İlyas ARDIÇ başta olmak üzere tüm sağlık personeline teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının yapılmasına destek olan Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğüne ve ekibine teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sabırlı ve fedakâr eşime ve esin kaynağım oğlum Umut Akif'e ve aileme sonsuz teşekkürler ederim.

Tarih:10/07/2025

Ebubekir DİRİCAN

HEPATİT C HASTALARINDA mtDNA MUTASYONLARI ve TELOMER UZUNLUĞU ANALİZİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Ebubekir DİRİCAN

ÖZET

Hepatit C virüsü (HCV) hepatotropik bir virüs olup dünya çapında kronik hepatit ve karaciğer hastalıklarının başlıca nedenidir. İnsan mitokondriyal DNA'sı (mtDNA), mitokondrilerin adenozin trifosfat (ATP) sentezi sırasında ROS üretmesi nedeniyle oksidatif hasara eğilimlidir. Telomerler, kromozomların terminal kısımlarında görev alarak bilgi taşıyan DNA'nın bütünlüğünü korur. Bu tez çalışmasında HCV pozitif hasta ve HCV negatif bireylerde ATPase6 (MT-ATP6) geni mtDNA mutasyonlarının taranması ve telomer uzunluğunun analiz edilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla 28 HCV pozitif hasta ve 30 HCV negatif bireyden alınan kanlardan DNA izolasyonları gerçekleştirildi. ATPase6 geni mtDNA mutasyonları için hedeflenen gen bölgesi PCR ile amplifiye edildi, sonra ise Sanger DNA dizi analizi yapıldı. RT-PCR yöntemi ile telomer uzunluğu analizi yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, 30 HCV negatif bireyde 55 ve 28 hepatit C hastasında ise 43 tane ATPase6 geni mutasyonu saptandı. HCV negatif bireylerde 16 farklı ve HCV pozitif hasta bireylerde 12 farklı ATPase6 geni mutasyonu ve toplamda ise her iki grupta 21 farklı mutasyon çeşidi saptandı. Diğer taraftan hepatit C hastaları ve HCV negatif bireylerin telomer boyları karşılaştırıldığında hasta bireylerin telomer boyunun kısa olduğu saptandı, fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenemedi ($p=0,7369$). Ayrıca telomer boyunun ATPase6 geni mtDNA mutasyon çeşitlerine ve biyokimyasal test sonuçlarına dağılımına bakıldığında anlamlı bir fark taşımamaktaydı ($p>0,05$).

Sonuç olarak hepatit C hastalarında ATPase6 geni mtDNA mutasyonlarının frekansının yüksek olduğu ve telomer boyunun kısa olduğu görülmüştür, fakat bu genetik değişikliklerin daha geniş hasta popülasyonlarında çalışılması tanı, tedavi ve hastalığın prognozundaki önemini anlaşılması için değerli olacaktır.

Anahtar Kelimeler: HCV, mtDNA, RT-PCR, Sanger, Telomer

Sayfa Adedi: 80

Danışman: Prof. Dr. Kezban Tülay YALÇINKAYA

**mtDNA MUTATIONS AND TELOMERE LENGTH ANALYSIS IN
HEPATITIS C PATIENTS
(Master Thesis)**

Ebubekir DİRİCAN

ABSTRACT

Hepatitis C virus (HCV) is a hepatotropic virus and the leading cause of chronic hepatitis and liver disease worldwide. Human mitochondrial DNA (mtDNA) is prone to oxidative damage as mitochondria produce reactive oxygen species during the synthesis of adenosine triphosphate (ATP). Telomeres protect the integrity of information-carrying DNA by acting at the terminal parts of chromosomes. In this thesis, we aimed to screen mtDNA mutations in ATPase6 (MT-ATP6) gene and analyze telomere length in HCV positive patients and HCV negative individuals.

For this purpose, DNA was isolated from blood samples of 28 HCV positive patients and 30 HCV negative individuals. The targeted gene region of ATPase6 gene for mtDNA mutations was amplified by PCR and then Sanger DNA sequence analysis was performed. Telomere length analysis was performed by RT-PCR method.

According to the results, 55 ATPase6 gene mutations were detected in 30 HCV negative individuals and 43 in 28 hepatitis C patients. There were 16 different ATPase6 gene mutations in HCV negative individuals and 12 different ATPase6 gene mutations in HCV positive individuals and 21 different mutation types in total in both groups. On the other hand, when the telomere lengths of hepatitis C patients and HCV negative individuals were compared, it was found that the telomere lengths of the patients were shorter, but no statistically significant difference was determined ($p=0.7369$). In addition, there was no significant difference in the distribution of telomere length according to ATPase6 gene mtDNA mutation types and biochemical test results ($p>0.05$).

In conclusion, the frequency of ATPase6 gene mtDNA mutations is high and telomere length is short in hepatitis C patients, but it would be valuable to study these genetic alterations in larger patient populations to understand their importance in diagnosis, treatment and prognosis.

Keywords: HCV, mtDNA, RT-PCR, Sanger, Telomere

Page Number: 80

Supervisor: Prof. Dr. Kezban Tülay YALÇINKAYA

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	I
ÖZET.....	III
İNGİLİZCE ÖZET.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hepatit C Virüsü.....	4
2.1.1. Hepatit enfeksiyonu epidemiyoloji ve seyri.....	7
2.1.2. Risk faktörleri	8
2.1.3. HCV enfeksiyonunun tanısı.....	9
2.1.4. Tedavisi	10
2.2. Mitokondrinin Yapısal ve Fonksiyonel Özellikleri	10
2.2.1. Mitokondriyal genomun genel özellikleri	12
2.2.2. Mitokondriyal bozukluklar ile ilişkili bazı hastalıklar	13
2.2.3. Mitokondri ve hepatit C	16
2.3. Telomer ve Genel Özellikleri	18
2.3.1. Telomer uzunluğu analiz yöntemleri	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler	26
3.2. Cihazlar	26
3.3. HCV RT-PCR	28
3.4. DNA İzolasyonu	30
3.5. ATP6 Geni Sekans PCR Aşaması	31
3.6. Agaroz Jel Elektroforez Süreci	33
3.7. Sanger DNA Dizi Analizi	33
3.8. Telomer Uzunluğu Analizi	33
3.9. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. Hepatit C Hasta ve HCV Negatif Bireylerin Klinik ve Demografik Verilerinin Dağılımı.....	36
4.2. ATPase6 Genin Sekans PCR Sonuçlarının Jel Elektroforezi ile	

Doğrulanması	38
4.3. ATPase6 geni mtDNA Mutasyonlarının Sanger DNA Dizi Analiz	
Sonuçları	38
4.4. ATPase6 Mutasyonlarının Klinik Önemi (<i>in silico</i> analizi).....	43
4.5. Hepatit C Hastalarında ve HCV Negatif Bireylerde Telomer Uzunluğu	
Analizi	44
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKLAR.....	52
8. ŞEKİLLER DİZİNİ.....	78
9. TABLOLAR DİZİNİ.....	79
10. EKLER DİZİNİ.....	80
11. ÖZGEÇMİŞ.....	81

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFP	: Alfa Fetoprotein
ALB	: Albümin
ALP	: Alkalin Fosfataz
ALT	: Alanin Transaminaz
Apo	: Apolipoproteinler
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
ATPaz	: ATP sentaz
bç	: Baz Çifti
cDNA	: Komplementer DNA
CL	: Kardiolipin
CO	: Sitokrom C Oksidaz
Cyt b	: Sitokrom b
DEA	: Doğrudan Etkili Antiviraller
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EIA	: Enzim İmmün Testi
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ER	: Endoplazmik Retikulum
ETS	: Elektron Taşıma Zinciri
FADH2	: Flavin Adenin Dinükleotidi
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GGT	: Gama-Glutamil Transferaz
HAV	: Hepatit A Virüsü
HB	: Hemoglobin
HBV	: Hepatit B Virüsü
HCC	: Hepatosellüler Karsinoma
HCV	: Hepatit C Virüsü
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
IFN	: İnterferon
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler
mRNA	: Mesajcı RNA
MS	: Multipl skleroz
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
NANBH	: Non-A, Non-B Hepatiti
NAT	: Nükleik Asit Testi
ND	: NADH dehidrogenaz
nDNA	: Nükleer DNA
NO	: Nitrik Oksit
NS	: NS influenza proteini
ORF	: Açık Okuma Çerçevesi

OSB	: Otizm Spektrum Bozukluğu
OXPHOS	: Oksidatif Fosforilasyon
PD	: Parkinson hastalığı
PLT	: Trombosit
PT/INR	: Protrombin Zamanı/Uluslararası Normalleştirilmiş Oran
qPCR	: Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RdRp	: RNA bağımlı RNA polimeraz
RNA	: Ribonükleik asid
RNS	: Reaktif Azot Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RT-PCR	: Real Time/Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
STELA	: Tek telomer uzunluğu analizi
T-bilirubin	: Total bilirubin
TEN1	: Telomer uzunluğu düzenleme proteini 1
TERRA	: Telomerik Tekrar İçeren RNA
TeSLA	: Telomer en kısa uzunluk testi
TRF	: Terminal Restriksiyon Parçaları
UTR	: Kodlanmayan Bölge
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler
WBC	: Beyaz Kan Hücresi
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yaklaşık 130-170 milyon insanın hepatit C virüsü (HCV) ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir (1). 1989'daki ilk keşfinden bu yana, HCV'nin virolojisi, epidemiyolojisi, doğal tarihi, tanısı ve tedavisi hakkındaki anlayışımızda hızlı bir ilerleme kaydedildi (2). Önümüzdeki birkaç on yıl içinde, daha fazla ilerleme kaydedildikçe, üstün tedavi seçenekleri mevcut hale gelecektir (2). Kronik HCV enfeksiyonu, karaciğerle ilişkili ölümün önde gelen nedenlerinden biridir ve birçok ülkede karaciğer naklinin birincil nedenidir (1). HCV enfeksiyonu sıklıkla karaciğer sirozu ve hepatosellüler karsinomaya (HCC) ilerleyebilen kronik hepatite yol açar (3). Antiviral tedavinin temel amacı virüsü ortadan kaldırmaktır (1).

Telomerler, kromozomların uçlarında bulunan ve kromozomları füzyon ve degradasyondan koruyan nükleoprotein yapılarıdır (4). HCV enfeksiyonunda hepatosit hücre döngüsü dönüşümünün telomer kısalmasının birincil mekanizması olabileceği ve fibrozis ile hücre yaşlanmaya yol açabileceği rapor edilmiştir (4). Viral hepatitlerde inflamasyon, DNA hasarına ve yukarıda da belirttiğimiz gibi HCC gelişimine yol açan biyolojik olaylardan biri olan kronik oksidatif stresle ilişkilidir (5). HCV enfeksiyonunun farklı evrelerindeki hastalarda, telomeraz ters transkriptaz mesajcı RNA (mRNA) ekspresyonu ile telomer uzunluğu arasında bir korelasyon vardır ve bu korelasyonun malign transformasyon riski ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (6). HCV enfeksiyonu, çeşitli virüs proteinlerinin aracılık ettiği oksidatif stres indüksiyonuna yol açar (7).

Kronik HCV enfeksiyonu hücresel strese, fibroza neden olur ve hepatokarsinogeneze yatkınlık yaratır (8). Mitokondriler, biyoenerjetik, inflamasyon ve apoptozu düzenleyerek stres tepkilerini düzenlemede önemli roller oynarlar (8). Mitokondrilerin, viral tümör oluşumda önemli rolleri vardır. Mitokondriyal genomlar, konakçının genetik geçmişine katkıda bulunur. Virüsler hücreye girdikten sonra, mitokondriyal işlevi düzenler ve böylece biyoenerjetik ve retrograd sinyal yollarını değiştirirler (9). HCV mitokondriyal hasara neden olur (3). HCV enfeksiyonu, nitrik oksit (NO) aracılığıyla hücresel DNA hasarına ve mutasyonlara neden olur (10). Mitokondri ile ilişkili oksidatif stres ve mitokondriyal DNA mutasyonları yaşlanma sürecinde ve bazı nükleozid analogu ters transkriptaz inhibitörlerinin kullanımıyla artmaktadır (11). Kronik hepatit C hastalarında karaciğer dokusunda mtDNA mutasyon oranının yüksek olmasının, multisentrik hepatokarsinogenez ve hiperkarsinojenik

durumla ilgili olabileceğinden bahsedilmiştir (12). HCV çekirdek proteini hem endoplazmik retikulum (ER)'da hem de mitokondride yer alır ve her iki bölgede de etki gösterir. Ortaya çıkan mitokondriyal etkiler kronik hepatit C'de görülen karaciğer hasarı ve oksidatif stres gibi olaylara katkıda bulunabilir (13). HCV, mitokondriyal disfonksiyonu tetikleyen ve konakçı metabolik değişikliklerini destekleyen hücre içi olayları tetikler (14). Bir başka çalışmada ise, HCV hastalarında mtDNA'daki mutasyon oranının azalmasıyla interferon tedavi arasında güçlü bir ilişkisi olduğu rapor edilmiştir (15).

Çalışmamızda, kronik hepatit C hastası bireylerde HCV negatif olan bireylere kıyasla telomer uzunluğunun nasıl etkilendiği ve mtDNA mutasyonlarının frekasının belirlenmesi ve bu genetik değişikliklerin klinik-demografik verilerle olan ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

HCV hepatotropik bir virüs olup dünya çapında kronik hepatit ve karaciğer hastalıklarının başlıca nedenidir (16). HCV, dünya çapında 70 milyondan fazla enfekte insanla birlikte morbidite, mortalite ve ekonomik maliyetler açısından önemli bir küresel etkiye sahiptir (17). 2014'ten beri, doğrudan etkili antiviral ajanlara dayalı, tamamen oral, kısa süreli, iyi tolere edilen ve son derece etkili ilaç rejimlerinin yaygın olarak bulunması, HCV tedavisini önemli ölçüde değiştirmiştir. Bir zamanlar uzun ve ciddi yan etki eğilimli bir tedaviyle hastaların yalnızca bir kısmında başarı elde edilebilirken, günümüzde neredeyse tüm hastalarda, önemli yan etki olmadan, günde bir ila üç hap alınarak 8-12 haftada kalıcı olarak tedavi edilebilen bir hastalığa dönüşmüştür (17, 18). Bu çığır açıcı gelişmeye ve HCV viremik hastaların sayısının 2007'den beri azalmakta olmasına rağmen, HCV enfeksiyonu hala küresel bir endişe kaynağıdır (17, 19). Son raporlara göre, milyonlarca kişi HCV ile enfekte olup, küresel yaygınlık oranı %1,0'dir (17, 19). Dünya Sağlık Örgütü, HCV'nin 2030 yılına kadar küresel olarak ortadan kaldırılmasını hedeflemektedir (20). Terapötik gelişmenin benzeri görülmemiş hızı ve doğrudan etkili antivirallere erişimin artması, enfeksiyonu tamamen ortadan kaldırmayı mümkün kılmıştır. Ancak, şu anda enfekte olanları teşhis ve tedavi etmek için yüz milyonlarca kişinin taranması gerekmektedir (20).

Serokonversiyondan sonra hastada anti-HCV antikorlarını tespit eden serolojik analizler, HCV enfeksiyonu tanısında ilk basamak test olarak kullanılmaktadır (21). Nitel ve nicel moleküler analizler, tanıyı doğrulamak, viral yükü belirlemek ve genotipleme için kullanılır (21). Viral yük ve genotip bilgileri, uygun tedaviyi yönlendirmek ve takip için kullanılır (21). Anti-HCV antikorlarını taramak için Enzim İmmün Testi (EIA) veya hızlı tanı testleri kullanılabilir. Hızlı tanı testleri serum ve plazma dahil olmak üzere çeşitli matrisler kullanır ve ayrıca venipunktür, numune santrifüjleme, dondurma ve kalifiye işgücüne ihtiyaç duymadan taramayı kolaylaştırmak için parmak ucu kılcal tam kan veya oral sıvıyı kullanabilir. Anti-HCV antikorları için hızlı tanı testler, özel enstrümantasyon veya kapsamlı eğitim olmadan oda sıcaklığında kolayca yapılabilir. EIA'lara kıyasla mükemmel duyarlılık ve özgüllüğe sahip oldukları gösterilmiştir (22–27).

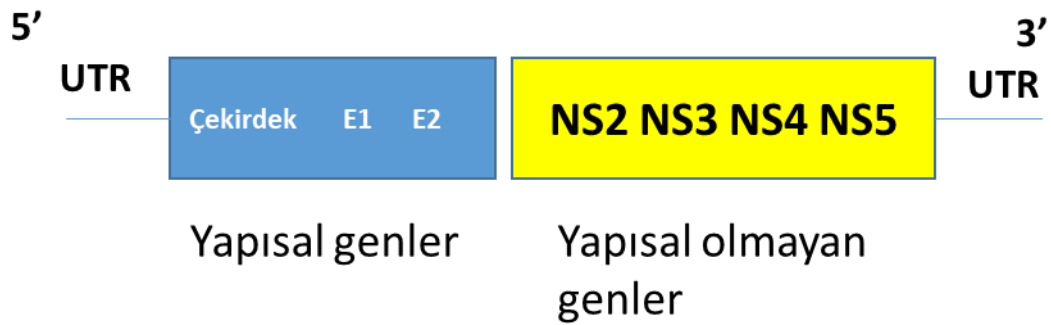
HCV tedavisinde Türkiye’de sofosbuvir/ledispavir, sofosbuvir/velpatasvir, Sofosbuvir/Velpatasvir/Voksilaprevir ve Glekaprevir/Pibrentasvir kombine ilaç uygulamaları kullanılmaktadır (28).

2.1. Hepatit C Virüsü

1970'lerin ortalarında, hepatit A virüsü (HAV) ve hepatit B virüsünden (HBV) farklı bir viral hepatit etkeninin transfüzyon sonrası hepatite neden olduğu ortaya çıktı ve bu klinik tabloya non-A, non-B hepatiti (NANBH) adı verildi (29–31). Daha önce mikroskopik olarak görülmemiş ve bilinen yöntemlerle saptanamamış olan virüs, genom yapısı ve dolaşımdaki antikoları bilinmeden, NANBH vakalarından elde edilen cDNA (komplementer DNA) klonları kütüphanesi aracılığı ile tespit edilmiştir (30, 32). 1989'da keşfedilen (32, 33) HCV, *Flaviviridae* ailesi içinde bulunan ve tek sarmallı bir RNA virüsüdür. GBV-B virüsü ve yakın zamanda tanımlanan kemirgen ve yarasa hepasivirüsleriyle birlikte *Hepacivirus* cinsinde gruplandırılmıştır (33–37).

HCV, yukarıda da bahsedildiği gibi *Flaviviridae* ailesi içinde *Hepacivirus* cinsi içinde yer alan küçük (55-65 nm boyutunda), zarflı bir RNA virüsüdür (38, 39). HCV genomu, yaklaşık 3000 amino asit uzunluğunda bir proteini kodlayan tek bir açık okuma çerçevesi içeren pozitif polariteli tek iplikli bir RNA molekülüdür. Bu açık okuma çerçevesi, her biri virüs proteininin translasyonu ve genom replikasyonu için gerekli olan korunmuş RNA yapıları içeren 5' ve 3' kodlamayan bölgelerle (UTR) çevrilidir. HCV'nin yapısında, yapısal (çekirdek protein, zarf proteinleri) ve yapısal olmayan proteinler (NS'ler) bulunmaktadır (38–40) (Şekil 1). HCV öncül proteini, on yapısal ve yapısal olmayan protein elde etmek için konak hücre ve virüs proteazları tarafından işlenir: üç yapısal protein, kapsid proteini (çekirdek) iki glikoprotein (E1 ve E2) virion birleşimi için gerekli iki protein (p7 ve NS2) ve viral replikasyon kompleksini oluşturan beş protein (NS3, NS4A, NS4B, NS5A ve NS5B) dahil olmak üzere yedi yapısal olmayan protein (41). Virionun yapısal bileşenleri çekirdek protein ve zarf glikoproteinleri (E1 ve E2) konak hücre peptidazları tarafından öncüden ayrılır. Bu bölge, çekirdek protein (C), zarf glikoproteinleri (E1 ve E2) ve iyon kanalı viroporini (p7) dahil olmak üzere yapısal proteinler için kodlama dizilerinden önce gelir (38, 39, 42, 43). HCV çekirdek proteini çok işlevli bir proteindir, ancak virüs açısından ana işlevi, virüs bir hücreden diğerine geçerken genomik RNA'yı çevrelemek ve korumak için viral kapsidi oluşturmaktır (44). HCV genomunun son segmenti, viral replikasyon ve poliprotein işlenmesi için gerekli olan NS proteinlerini kodlar (38, 43, 45). Sistein proteazı olan NS2

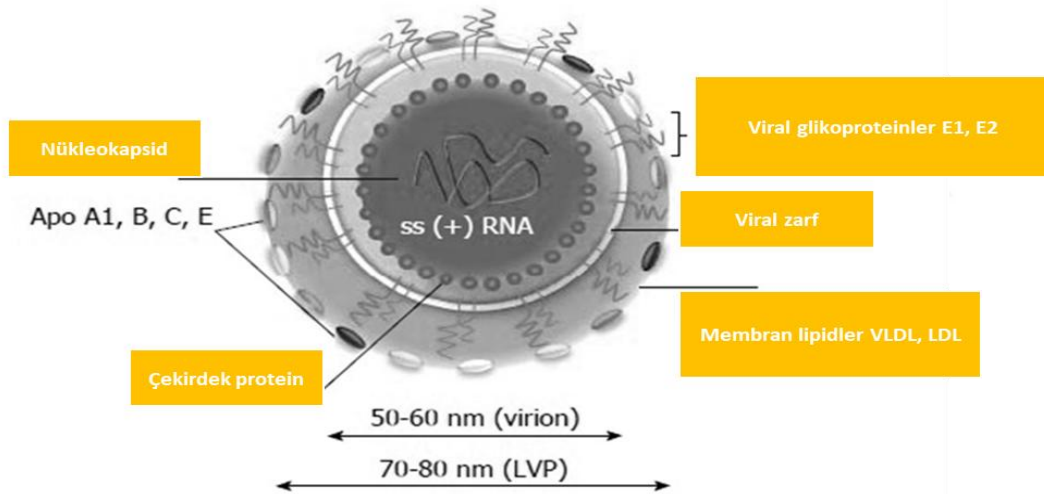
proteini, NS3'ün NS2–NS3 bağlantısından ayrılmasını kolaylaştırır (43, 46). NS3, NS4A ile birlikte, sonraki NS proteinlerinin ayrılması için gerekli olan serin proteaz kompleksini oluşturur ve viral proteomun sıralı işlenmesini düzenler (43, 47). NS4B, viral replikasyon kompleksi için bir membran çapası görevi görürken, NS5A, NS4B ile birlikte, viral replikasyon dinamikleri için gerekli bir yapı olan ER membranöz ağının oluşumuna katkıda bulunur (43, 47, 48). Son olarak, NS5B, viral RNA genomunu sentezleyen ve HCV'nin merkezi replikasyon faktörü olarak hareket eden bir RNA bağımlı RNA polimeraz olarak hareket eder (43, 49, 50). HCV RNA polimerazı (RdRp) bir düzeltme yeteneğine sahip değildir ve bu nedenle önemli bir genetik çeşitlilik oluşturur. HCV, nükleotid dizisinde birbirinden %30'a kadar farklılık gösteren altı genotipe ve çok sayıda ve artan sayıda alt tipe ayrılır (38, 39). Genotipin HCV enfeksiyonunun sonucunu etkilediğine dair tutarlı bir kanıt yoktur. Fakat tedaviye yanıtın genotip ile ilişkili olabileceği bilinmektedir. Majör ve minör genotiplere ek olarak, HCV bireyler içinde yakından ilişkili ancak farklı genetik varyantların bir "quasispecies=yarı türü" olarak evrimleşir. Yarı türlerin hastalığın patogenezindeki rolü tartışmaya devam etmektedir, ancak insan immün yetmezlik virüsünde (HIV) olduğu gibi, çeşitlilik oluşturma kapasitesinin konakçıda varlığını sürdürmesi için gerekli olduğu düşünülmektedir (39).



Şekil 1. Hepatit C virüsü genomunun yapısı (38, 39)'den uyarlanmıştır. 5' kodlamayan bölge (UTR), dört yüksek oranda korunmuş RNA alanı ve bir dahili ribozom giriş bölgesi içerir. Yapısal proteinler, viral kapsidi oluşturan çekirdek ve zarf glikoproteinleri olan E1 ve E2'yi içerir. Yapısal proteinler, kısa bir peptit olan P7 ile yapısal olmayan (NS) proteinlerden ayrılır. NS4 ve NS5, her biri A ve B olmak üzere iki alt birime daha işlenir. NS2, NS2–NS3 bağlantısının kesilmesini otokatalize eden NS2–NS3 metaloproteazının bir bileşenidir; NS3, NS2–NS3 proteazına katkıda bulunur ve kalan NS proteinlerini serbest bırakmak için

yardımcı faktör NS4A ile birlikte hareket eden ayrı bir serin proteaz içerir. NS3'ün C-terminal bölgesi, virüs replikasyonu için gerekli olan bir RNA helikaz ve nükleotid trifosfataz aktivitesi içerir. NS5B, RNA'ya bağımlı bir RNA polimerazdır. NS4B ve NS5A'nın virüs yaşam döngüsündeki işlevleri tam bilinmemektedir. 3'-NCR, bir dizi kararlı RNA kök-loop yapısı ve genom replikasyonu için gerekli olan bir polipirimidin yolu içerir.

Hücre dışı HCV parçacıklarının popülasyonu heterojendir (51). Parçacıklar pleomorfiktir ve boyut, yüzer yoğunluk ve enfeksiyözlük önemli ölçüde farklılık gösterebilir (51–53). Parçacıkların büyük çoğunluğu enfeksiyöz değildir. İlginç bir şekilde, serumdan ve hücre kültürü ortamından izole edilen enfeksiyöz parçacıkların yüzer yoğunlukları farklıdır. Parçacıkların önemli bir miktarı hücreli lipoproteinlerle ilişkilidir ve HCV'ye özgü bir özelliktir (54-55). Bunlar düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL) ve apolipoproteinler (Apo) A1, B, C ve E'dir (51, 56) (Şekil 2). Lipoproteinlerle ilişkili viral parçacıklara “lipoviral parçacıklar (LVP)” denir (51, 57).



Şekil 2. Hepatit C virüsü lipoviral partikülünün bir modeli (51, 52, 57)'den uyarlanmıştır. Virion yüzeyinde LDL ve VLDL tarafından oluşturulan lipid membran gösterilmiştir. Viral çekirdek ve viral RNA şematize edilmiştir. Glikoprotein E1 ve E2'nin heterodimerleri kısmen lipid çift katmanına gömülüdür ve virion yüzeyinde 6 nm uzunluğunda sivri uçlar (çıkıntılar) oluşturmaktadır. LDL ve VLDL ile ilişkisinden dolayı, virionun morfolojisi ikozahedral değildir.

HCV'nin genotiplemesi için altın standart genom analizidir (58). Özellikle NS5B gibi genomu korunan bölgeleri tercih edilmektedir (58-59). Bugüne kadar, HCV'nin altı farklı genotipi bildirilmiştir. Yüksek mutasyon oranı nedeniyle, altı genotip de kendi içinde birçok

farklı alt tipe sahiptir. HCV genomunun farklı bölgelerinde nükleotid ve amino asit dizilerinde önemli farklılıklar vardır (60). HCV genotipleri arasındaki genomlar birbirlerinden yaklaşık %30-%35 oranında farklılık gösterirken, alt tipler arasında %15-%20 oranında farklılık göstermektedir. Bunlardan dört alt tip 1a, 1b, 2a ve 3a dünya genelinde en sık bildirilen alt tiplerdir (61, 62). HCV genotiplerinin yaygınlığı coğrafi bölgelere göre değişmektedir: HCV genotip 1, Kuzey Amerika ve Avrupa gibi gelişmiş bölgeler de dâhil olmak üzere dünya çapında bulunmaktadır (63). Genotip 2, Orta ve Batı Afrika'nın yanı sıra bazı batı ülkelerinde yüksek yaygınlığa sahipken, genotip 3 ağırlıklı olarak Uzak Doğu ülkelerinde ve Hindistan alt kıtasında bulunmaktadır (63-64). Bu arada, genotip 4 esas olarak Mısır ve Sahra Altı Afrika'da, genotip 5 Güney Afrika'da (65) ve genotip 6 Güney Çin ve Güneydoğu Asya ülkelerinde (66-67) yaygın olarak bulunmaktadır (63, 67-68). Genotip 4, ayrıca Suudi Arabistan ve Orta Afrika dahil olmak üzere Orta Doğu ülkelerinde oldukça yaygın genotip olarak bildirilmiştir, ancak bölgedeki alt tip düzeyinde pandemi geçmişi hakkında çok az şey bilinmektedir (62, 69). Bununla birlikte, HCV ile ilgili yakın tarihli iki virolojik raporda, filogenetik olarak 4a genotipi Mısır prototip suşu ile, 1a izolatları ise Kuzey Amerika ve Avrupa ülkeleriyle yakından ilişkili bulunmuştur (62, 70).

Genotip 1b, Türkiye'de en sık görülen HCV genotipidir (71). Yaşlılarda HCV prevalansı artmaktadır. Bu grupta baskın alt tip 1b'dir (%75'ten fazla), özellikle genç vakalarda kalan %20'lik kısım ise 1a alt tipinden oluşmaktadır (72). Fakat Genotip 1b baskınlığı olmasına rağmen HCV genotiplerinin dağılım ve prevalansının esas olarak göç ve intravenöz ilaç kullanımı gibi risk faktörlerine sahip hastaların frekansının artması sebebiyle farklılık gösterdiği belirtilmiştir (73).

2.1.1. HCV enfeksiyonu epidemiyolojisi ve seyri

Genel olarak, gelişmekte olan ülkelerdeki HCV epidemiyolojisi oldukça heterojen bir profil sergilemektedir (74); Afrika ve Orta Doğu'da yüksek yaygınlık ve Asya'da düşük yaygınlık (Asya'da büyük HCV salgınları meydana gelmesine rağmen) görülmektedir. Kronik hepatit C, halk sağlığının başlıca sorunlarından biridir. Hastalığın şiddeti, karaciğer sirozu ve HCC dahil olmak üzere hafiften şiddetliye kadar değişmektedir (75).

HCV enfeksiyonunun yıllara göre insidansı değişkenlik göstermektedir. Dünya çapında yaklaşık 115 milyon kişi (%1,6) kronik HCV enfeksiyonuna sahiptir (76). 2015 yılında HCV'nin küresel insidansı 100.000 kişi başına 23,7 vakaydı ve 1,75 milyon yeni HCV enfeksiyonu teşhis edildi (77). Dünya genelinde HIV ile yaşayan tahmini 37,7 milyon kişinin

yaklaşık 2,3 milyonunda (%6,2), şu anda veya geçmişte HCV enfeksiyonuna dair serolojik bulgular bulunmaktadır (78). Küresel olarak en yaygın HCV genotipleri 1 (%44), 3 (%25) ve 4 (%15)'tür (77). Bir başka raporda ise Dünyada 2020 yılı itibariyle, 56,8 milyon viremik HCV enfeksiyonu olduğu bildirilmiştir (79).

Kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalarda 20 yıl içinde enfeksiyon kaynaklı siroz geliştirme riski %15-30'dur (80). Dünya Sağlık Örgütü'nün küresel sağlık stratejisi kapsamındaki yeni eylemlerinin hedefi, 2030 yılına kadar viral hepatitleri ortadan kaldırmak, daha spesifik olarak yeni enfeksiyonları ve ölümleri sırasıyla %90 ve %65 oranında azaltmaktır (81). Bu da kronik enfeksiyonu olan kişilerin belirlenmesini gerektirmektedir.

Ülkemizde yapılan incelemelerde anti-HCV prevalansı %1,5-2,5 arasında saptanırken (82, 83), sağlıklı genç bireylerde oran %0- 0,1 arasında (84, 85) olduğu ve genel prevalansın ise %0,3'ün biraz altında olduğu belirtilmiştir (79). Eskiden anti-HCV pozitif kişilerin %80'inin HCV RNA'sının pozitif olduğu rapor edilmişse de zamanla giderek bu oranın %50-60 olduğu bildirilmiştir (83, 86, 87).

HCV enfeksiyonunun cinsiyete göre dağılımı ile ilgili yapılan çalışmalarda tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. Bazı çalışmalarda HCV enfeksiyonu erkeklerde yüksek iken, bazılarında ise cinsiyete göre bir farklılık görülmemiştir (88–92).

2.1.2. Risk Faktörleri

HCV enfeksiyonu için iki büyük risk faktörü bilinmektedir: bunlardan biri HCV için test edilmemiş kan veya kan ürünlerinin transfüzyonu ve diğeri ise intravenöz uyuşturucu kullanıcılarının kontamine şırınga paylaşımıdır. Daha düşük risk faktörleri arasında tıbbi müdahale sırasında kontamine kana maruz kalma (hastane içi bulaşma); cinsel, perinatal (anneden bebeğe) veya ev içi temas; ve kontamine kanla gizli veya gizli olmayan perkütan temas dâhil olmak üzere tanımlanamayan kaynaklar yer almaktadır (93). Kontamine (veya güvenli olmayan) ekipmanla enjekte edilen ilaçlarla tedavi ve hemodiyaliz diğer risk faktörleri içinde yer almaktadır (94–98).

Emziren kişilerde Hepatit C enfeksiyonu olması durumunda emzirmenin kesilmesi önerilmez. Çünkü anne sütü doğrudan HCV virüsü taşımaz (99). Diğer vücut sıvılarının HCV yönünden infektivite potansiyeli kısıtlıdır (100).

Yukarıda bahsedilen risk faktörleri dışında, toplum içinde HCV bulaşmasında yeterince hijyen ve sağlıklı olmayan ekipmanlarla yapılan işlemler (dövme, piercing, akupunktur ve hacamat gibi), diş tedavilerinin, kan kardeşliği gibi ritüellerin ve berberlerin de etkisi olabileceğinden bahsedilmiştir (101).

2.1.3. HCV enfeksiyonunun tanısı

Hepatit C tanısı için anti-HCV ELISA testi kullanılmaktadır. Ayrıca kemillüminesans testler de kullanılabilir. Kemilüminesans testler, bir antikor testidir ancak daha az sıklıkta kullanılmaktadır (102–104). Üçüncü nesil anti-HCV testlerinin duyarlılığı yaklaşık %98'dir (110–112). Bu testlerin %99'dan daha büyük bir özgüllüğü olduğu bildirilmiştir (107, 111). Bu testler rekombinant antijenlerine karşı antikor ölçümü ile gerçekleştirilir. Bu testler genotip değişikliklerinden çok az etkilenir. Anti HCV testinin pozitif çıktığında hastaların hepatit C enfeksiyonu (akut / kronik aktif enfeksiyon / geçirilmiş) bulgularının olduğunu ortaya koyar. Fakat anti-HCV antikor testlerinin hiçbiri enfeksiyonun yeni (akut), kronik veya artık mevcut olmadığını ayırt edemez (104). Son geliştirilen testlerde yalancı pozitiflik oranı çok azdır. HCV RNA negatif olduğu halde anti-HCV pozitif olduğu zaman yalancı pozitifliği netleştirmek için farklı bir anti-HCV testi yapılabilir. Teyit için yapılan test de eğer pozitif ise aktif enfeksiyonu tanımak için HCV RNA testi ile beraber HCV core antijeni de kontrol edilebilir ama hassasiyeti düşük olduğu bilinmektedir. HCV RNA tayini için kantitatif RT-PCR testleri önerilmektedir. Bu testler, kan örneğindeki HCV kopyalarının sayısını saptar ve IU/mL olarak miktarını gösterir. Bu testlerin hassasiyeti ≤ 15 IU/ml olması istenmektedir. Klinik olarak, bu testler HCV'yi teşhis etmek ve tedaviye yanıtı izlemek için kullanılır (105, 106). Anti-HCV pozitif olan bireylerdeki HCV RNA pozitifliği, popülasyonlara göre değişkenlik göstermektedir. Prevalansı $< 2\%$ olan yerlerde anti-HCV pozitiflerdeki HCV RNA pozitiflik oranı daha düşük olduğu belirtilmiştir. Bizim ülkemizde de bu oran zamanla azalmaktadır. Yıllara kıyasla giderek %50'nin altına düştüğü rapor edilmiştir.

HCV RNA test sonucu pozitif çıkanlar tedaviye yönlendirilmektedirler. Test sonucu negatif çıkanlar ise eğer son 6 ay içinde HCV enfeksiyonu düşündüren belirti ve bulguları taşıyorsa HCV RNA testi yeniden yapılır.

2.1.4. Tedavisi

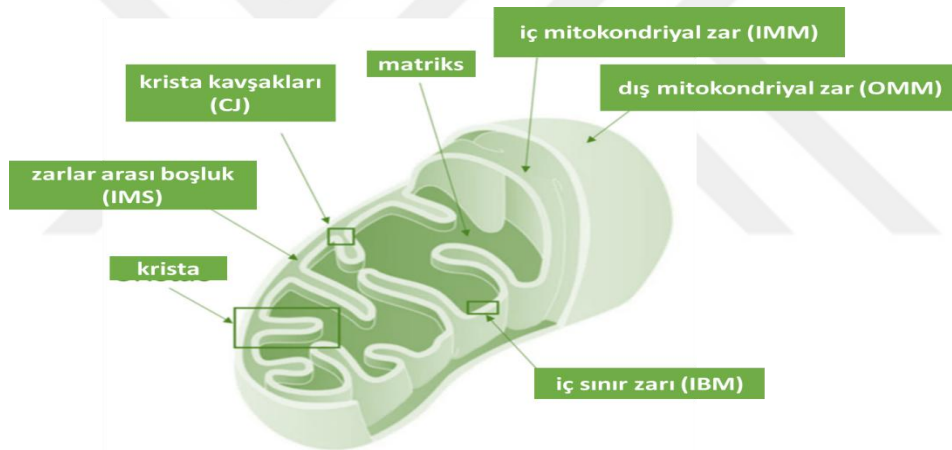
HCV tedavisinde doğrudan etkili antivirallerin (DEA) kullanımıyla beraber enfeksiyonla mücadelede önemli gelişmeler sağlanmıştır. DEA ilaçların yan etkileri azdır ve tedavi süresini

8-12 haftaya kadar kısaltabilmiştir. DEA ilaçlar, interferon tedavisinin yerini almıştır. DEA ilaçlar sayesinde HCV ile ilişkili olan bazı hastalıkların (siroz ve hepatosellüler kanser) ortaya çıkma durumunun azaldığı saptanmıştır. Ayrıca kompanse ve dekompanse sirotik hastalarda mortalitenin azaldığı belirlenmiştir (107).

Türkiye’de HCV tedavisinde sofosbuvir/ledispavir, sofosbuvir/velpatasvir, Sofosbuvir/Velpatasvir/Voksilaprevir ve Glekaprevir/Pibrentasvir kombine ilaç uygulamaları kullanılmaktadır (28).

2.2. Mitokondrinin Yapısal ve Fonksiyonel Özellikleri

Mitokondriler, yarı geçirgen mitokondriyal dış zar (OMM), sulu zarlar arası boşluk (IMS), geçirgen olmayan mitokondriyal iç zar (IM) ve sulu matris olmak üzere dört alt bölmeden oluşan endosimbiyotik organelerdir (Şekil 3) (108-112).



Şekil 3. Mitokondri yapısının şematik gösterimi (111-112)’den uyarlanmıştır.

Mitokondri, ökaryotik bir hücreye dahil olan ve milyarlarca yıl boyunca endosimbiyont olarak evrimleşen α -proteobakterilerden köken almıştır (113). Mitokondriler, çok sayıda biyolojik süreç için kritik öneme sahip hücresel organelerdir. Hücrenin enerji santrali olarak tanımlanırlar ve enerji üretimi, reaktif oksijen türleri (ROS) metabolizması, kalsiyum homeostazı, apoptotik hücre ölümünün düzenlenmesi, sinaptik plastisite ve nörogenezdeki katılımları yoluyla metabolik homeostazın korunmasında temel roller oynarlar, böylece nöronal aktiviteyi düzenler ve nöronal hasarı önlerler (114). Mitokondriler hemen hemen tüm ökaryotik hücrelerde bulunur. Endosimbiyotik teoriye göre, mitokondriler simbiyotik bir ilişki oluşturan iki prokaryottan kaynaklanmıştır. Bir bakteri fagosite edilmiş

ve oksidatif fosforilasyon yoluyla enerji üretmeye odaklanmış ve sonunda bir mitokondri haline gelmiştir. Artan kanıtlar, apoptozdaki rollerinin besin bulunabilirliği ve solunum verimliliği ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (115-116). Mitokondriyal protein import mekanizmasının, kümeleşmeye yatkın proteinleri mitokondriye taşıyarak ve bunların bozunmasını kolaylaştırarak sitozolik kalite kontrolünde rol oynadığı öne sürülmüştür (109).

Hücrel enerji metabolizmasının sürdürülmesinde, son derece dinamik hücre içi organeller olan mitokondriler önemli bir rol oynarlar (117). Mitokondriler, hücrel solunum, metabolik süreçler, kalsiyum dönüşümü ve öncelikli olarak ROS'ların üretimi yoluyla apoptozis düzenlenmesini kapsayan çok yönlü işlevlere sahip temel hücrel organelleri temsil eder (118). Mitokondriler enerji metabolizmasının temel organelleridir ve aynı zamanda kalsiyum homeostazisi, redoks dengesi ve sinyal iletiminde hayati rol oynarlar (119). Stres koşulları altında mitokondriyal dinamikler ve mitokondriyal ROS üretimi artar, bu da mitokondriyal membran potansiyelinin azalmasına, kalsiyum homeostazisinin dengesizleşmesine ve mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneginin aktivasyonuna yol açar (120).

Ana işlevleri, besinlerin oksidatif metabolizması yoluyla ATP formunda enerji üretimidir. Enerji üretimine ulaşmak için, öncelikle glikoliz sırasında NADH ve flavin adenin dinükleotidi (FADH₂) üretilir ve yağ asitlerinin β -oksidasyonunun Krebs döngüsü, elektron taşıma sistemi (ETS) aracılığıyla oksitlenir. Daha sonra, ATP, oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) tarafından üretilir (116, 121).

Yaşlanma sürecinde mitokondriler işlevini kaybeder ve mitokondriyal iletişim yolları bozulur (122). Bu nedenle, mitokondriyal işlevi koruma ve mitokondrilerin etkili iletişimini teşvik etme stratejileri sağlıklı yaşam süresini ve uzun ömürlülüğü artırabilir ve bu da yaşa bağlı bozukluklar için yeni bir tedavi paradigması olabilir (122).

2.2.1. Mitokondriyal genomun genel özellikleri

Mitokondriler, ETS'nin alt birimleri olan 13 proteini, 22 tRNA'yı ve iki rRNA'yı kodlayan 37 gen içeren mitokondriyal DNA (mtDNA) adlı kendi DNA'larını içerir (123) (Şekil 4). Nükleer DNA (nDNA), mitokondriyal proteinlerin geri kalanını kodlar (124). Her mitokondri, maternal olarak miras alınan 800-1000 arasında mtDNA kopyası içerir (121). nDNA'nın aksine, mtDNA, ROS'a sürekli maruz kalma nedeniyle ikincil DNA hasarına karşı savunmasızdır (125). Halkasal DNA yapısına sahiptir. Bu genom, mitokondrinin bağımsız bir

sınırlı tedavi seçeneklerine sahiptir. mtDNA mutasyonları için, mutant-yabanıl tip mtDNA oranını (heteroplazmi kayması) azaltmak umut vadeden bir tedavi seçeneğidir, ancak mevcut yaklaşımlar önemli zorluklarla karşı karşıyadır (127). Mitokondriyal işlev bozuklukları, hem nükleer hem de mitokondriyal DNA'daki mutasyonlardan kaynaklanabileceği gibi, stres faktörleri veya replikasyon hatalarından da kaynaklanabilir (129).

İnsan mtDNA'sı, yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklar ve karmaşık kas bozukluklarıyla bağlantılı temel mutasyonları barındırır. Tek ebeveynli ve haploid kalıtımından dolayı mtDNA, popülasyon ve tıbbi genetikte önemli bir rol oynayan maternal evrimsel yörüngeleri yakalar (130).

Mitokondriler, endojen ve ekzojen faktörlere bağlı olarak özelliklerini, aktivitelerini, işlevlerini ve davranışlarını dinamik olarak yeniden düzenleyebilen çok işlevli organellerdir (131). Mitokondriyal bozukluklar ve adaptif yeniden düzenlemeler, hücre yaşlanma ile yakından bağlantılıdır ve genellikle yaşlanmanın ve yaşa bağlı hastalıkların temel itici güçleri olarak hareket etmek üzere bir geri bildirim döngüsü içinde birbirlerini etkilerler (132).

mtDNA'daki yaşa bağlı mutasyonların ATP'nin hızlı tükenmesine neden olduğuna ve kromozom ayrışmasında hatalara yol açtığına inanılmaktadır (133-134).

Mitokondriyal solunumun yan ürünleri olan ROS, organizmaların sağlığını ve homeostazını korumada kritik sinyal molekülleri olarak işlev görür (135); ancak aşırı ROS üretimi sitotoksik ve mutajenik serbest radikaller oluşturarak ciddi riskler oluşturabilir (136–138).

Lökoensefalopatinin varlığı birçok birincil mitokondriyal hastalıkta önemli bir özellik olarak kabul edilir ve hem mtDNA'daki (mitokondriyal ensefalomiyopati, laktik asidoz ve felç benzeri ataklar gibi klasik sendromlar; düzensiz kırmızı lifli miyoklonik epilepsi [RRF'ler]; Leigh sendromu; ve Kearns-Sayre sendromu) hem de nükleer DNA'daki (POLG, MPV17 ve TYMP gibi bakım genlerindeki mutasyonlar; Leigh sendromu; ve mitokondriyal aminoasil-tRNA sentaz bozuklukları) mutasyonların bir göstergesi olabilir (139).

Diyabetik böbrek hastalığında mitokondriyal hasar, enerji üretiminin azalmasına ve oksidatif stresin artmasına yol açarak doku hasarını şiddetlendirir. mtDNA hasarı, bu işlev bozukluğunun önemli bir etkisidir ve çalışmalar, mtDNA kopya sayısındaki değişikliklerin hastalığın ilerlemesi için biyobelirteç görevi olabileceğini öne sürmektedir (140).

Mitokondriler, metabolik substratları kullanarak ve oksijen tüketimi yoluyla ATP sentezleyerek hücrel süreçleri desteklemede merkezi bir rol oynar. Dalgalandan hücrel talepleri karşılamak için mitokondrilerin biyoenerjetik kapasite, biyogenez, füzyon ve fisyonun altında yatan adaptif plastisite sergilemesi gerekir. Sepsiste indüklenen mitokondriyal değişikliklerin önemli patofizyolojik ve klinik sonuçlar üzerinde etkili olabileceği düşünölmektedir (141).

mtDNA mutasyonlarına neden olan temel mekanizmalar ROS hasarı, replikasyon hataları, mitokondriyal DNA onarım eksiklikleri, replikatif ayrışma ve genetik sürüklenme, yaşa bağlı mutasyon birikimi ve çevresel faktörlerdir (142).

Yukarıda da örnek verilen anormalliklerden biri olan mitokondriyal ensefalopati, laktik asidoz ve felç benzeri ataklar (MELAS) sendromu, çok çeşitli sistemik belirtilerle karakterize karmaşık bir mitokondriyal hastalıktır. Ana klinik özellikler arasında tekrarlayan felç benzeri ataklar, nöbetler, laktik asidoz, kas güçsüzlüğü, egzersiz intoleransı, sensörinöral işitme kaybı, diyabet ve ilerleyici nörolojik gerileme bulunur (143).

mtDNA, solunum zinciri komplekslerinin temel bileşenlerini kodlar ve mitokondriyal solunum fonksiyonunun temeli olarak hizmet eder. mtDNA'daki mutasyonlar öncelikle enerji metabolizmasını bozar ve özellikle yaşlanma bağlamında hücrel fizyoloji üzerinde geniş kapsamlı etkiler oluşturur. mtDNA'nın içsel kırılğanlığı, yaşlanmanın başlamasında ve bununla ilişkili hastalıkların ilerlemesinde giderek daha fazla bir anahtar itici güç olarak kabul edilmektedir (144).

ROS, kanserde hem tümör büyümesini destekleyen sinyal molekülleri olarak hem de sitotoksik etkiler yoluyla tümör ilerlemesini engelleyebilen ajanlar olarak görev yaparak ikili bir rol oynar (145).

Artan kanıtlar, mitokondriyal disfonksiyonun lösemi patogenezinde önemli bir mekanizma olduğunu ve lösemnin mitokondriyal genom varyasyonlarıyla yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (146).

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), davranış, sinir sistemi ve bağışıklık sistemindeki çoklu işlev bozukluklarıyla karakterize bir nörogelişimsel bozukluktur (147). Mitokondriyal disfonksiyon ve ardından artan oksidatif stres, OSB patogenezinde rol oynamaktadır (148). mtDNA genlerindeki genetik varyantlar, beyindeki normal enerji metabolizmasını ve

üretimini kesintiye uğratabilir ve bu da beyinde OSB ile sonuçlanan çok çeşitli yapısal ve işlevsel değişikliklere yol açabilir (149). Otizmlı çocuklarda mtDNA kopya sayısı da önemli ölçüde artmıştır (150). Mitokondriyal işlev bozukluğu, bağışıklık ve bukkal hücrelerde, fibroblastlarda, kas ve gastrointestinal dokuda ve OSB'li bireylerin beyinlerinde tanımlanmıştır (151). OSB'li hastaların %16,6'sında (10/60) mtDNA delesyonları saptanmıştır (152).

m.1555A>G mutasyonunu taşıyan hücre hatlarında, azalmış membran potansiyeli olduğu ve ROS üretiminin artırdığı saptanmıştır. OXPHOS'un anormal bir araya gelmesi ve biyogenezisi, anormal mitokondriyal morfoloji ve bozulmuş mitofaji ile artan fisyon yoluyla mitokondriyal dinamiklerin dengesizliği de dahil olmak üzere mitokondriyal kalite kontrollerini etkilediği gözlenmiştir (153).

Son araştırmalar, mtDNA'nın multipl skleroz (MS) hastalığının gelişiminde ve ilerlemesinde önemli rol oynayabileceğini ortaya koymuştur. mtDNA değişiklikleri nöronları ve oligodendrositleri inflamatuvar ve oksidatif strese karşı daha duyarlı hale getirebilir, MS hastalarında demiyelinizasyona ve aksonal dejenerasyona neden olabilir (154).

Trombositlerdeki mitokondrilerin ROS ve reaktif azot türleri (RNS) ile etkileşimleri sonucu hasar görmesi, hücrede hipoksi veya hiperoksi süreçleriyle ilişkili çok sayıda iskemik olaya yol açabilir (155).

Parkinson hastalığı (PD) olan bireyler üzerinde yapılan çalışmalar, beyin çeşitli bölgelerinde artan inflamasyon olduğunu ortaya koymuştur. Dahası, mitokondriyal disfonksiyon PD patofizyolojisinin temel parçasıdır. Mitokondriyal çekirdeğin bileşenleri, membranı veya iç sinyal yolları ve mitokondriyal homeostaz ile ve periferik hücrelerdeki morfolojik değişiklikler PD ile ilişkilendirilmiştir (156).

nDNA ile karşılaştırıldığında, mtDNA kanser de dahil olmak üzere birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. nDNA'ya benzer şekilde, mtDNA da onarım süreçlerinden geçer, ancak bu mekanizmalar daha az anlaşılmıştır (157). Somatik veya germ hücre kaynaklı farklı tümör tiplerinde mtDNA mutasyonları gözlemlenmiş olsa da, glioblastoma ile bağlantılı mtDNA mutasyonları üzerine araştırmaların hala yetersiz olduğu vurgulanmıştır (158).

İnsan kanserlerindeki mtDNA varyantlarının analizleri ile yetişkin kanserlerinin yaklaşık %60'ının somatik mtDNA varyantları taşıdığı ortaya konmuştur (159-160). Patojenik

mtDNA mutasyonları yüksek seviyelerde mevcut olduğunda (>%50) hücresel enerji üretimi ve redoks durumunu etkilediği ve %20 ila %30 kadar düşük alel frekanslarında mevcut olduğunda ise epigenetik ve transkripsiyonel olaylarda değişikliklere neden olabildiği belirtilmiştir (161). Son yıllardaki yapılan çalışmalarla elde edilen bilgilere ve gelişmelere rağmen, kanserdeki mtDNA varyantlarının fonksiyonel karakterizasyonu ve bunların ilaç yanıtını modüle etme olasılığı hala büyük ölçüde bilinmemektedir (162).

Özofagus kanseriyle ilgili bir çalışmada, özellikle mitokondrinin D-loop bölgesinde kemoterapiden sonra hastada mtDNA mutasyonlarında artış olduğu bildirilmiştir. Ayrıca hiperdeğişken 1D-loop segmentindeki mutasyonlar, daha düşük mtDNA kopya sayısı, kemoterapiye daha zayıf yanıt ve beş yıllık sağkalım oranlarının azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular, kemoterapiden sonra edinilen mutasyonların, özofageal kanserli hastalarda tedavi direncine ve daha zayıf klinik sonuçlara katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (163).

2.2.3. Mitokondri ve hepatit C

mtDNA delesyonların frekansının HCC'lerde ve diğer kötü huylu karaciğer tümörlerinde normal karaciğere kıyasla az olduğu bildirilmiştir. Bu mtDNA delesyon sıklığının karaciğer sirozu varlığı, hastanın cinsiyeti, HBV yüzey antijeni durumu ve HCV antikoru durumu ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (164).

mtDNA haplogrupları, HIV ve HCV ile birlikte enfekte olan hastalarda ileri karaciğer fibrozu ve siroz hastalığıyla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada mitokondriyal haplogruplarının kronik HCV'nin doğal seyri etkileyebileceği vurgulanmıştır (165). Hem HIV hem de HCV enfeksiyonlarında yüksek virüs replikasyon seviyelerinden kaynaklanan metabolik stres, eş zamanlı enfekte hastalarda daha da artmış gibi görünen mitokondriyal DNA tükenmesine neden olduğu rapor edilmiştir (166). HCV enfeksiyonu, lipoperoksidasyonun artmasıyla ilişkilidir ve bu anormal artış ise mtDNA'nın tükenmesine ve mitokondriyal fonksiyonun bozulmasına yol açabilir (167).

Bir çalışmada, somatik mtDNA D-loop mutasyonlarının HBV ile ilişkili hepatokarsinogenezin ortaya çıkmasında önemli rolü olabileceği vurgulanmıştır (168).

HCV enfeksiyonunun mitokondriyal disfonksiyona yol açabileceği belirtiliyor ancak mekanizması henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir (169). HCV enfeksiyonu mitokondri sayısını ve dinamiklerini etkileyebileceği ve bir hepatik mitokondriyal hasarla ilişkili olduğu

belirtilmiştir (170). Mitokondriyal bozukluklar, karaciğer hastalığının ilerlemesinde rol oynayan oksidatif hasarı tetikler (170). Sonuç olarak kronik HCV enfeksiyonunun, ilerleyici karaciğer hastalığına aracılık edebilecek belirgin bir mitokondriyal hasarla ilişkili olduğu görülmüştür (170).

HCV, mitokondriyal disfonksiyonla güçlü bir şekilde ilişkilidir ve karaciğer mtDNA'sındaki genetik çeşitliliğin hastalığın ilerlemesiyle bağlantılı olduğu görülmüştür (171). Terapiye bağlı HCV temizliğinden sonra gözlemlenen mtDNA genetik çeşitliliğindeki hızlı azalma, etkinin geri dönüşümlü olduğunu düşündürmekte ve HCV ile mitokondri arasında dinamik genetik ilişkilerin olabileceğini vurgulamaktadır (171).

HCV ile enfekte hastalarda yapılan bir çalışmada 33 hastanın 10'unda mtDNA'da üç veya daha fazla, 15'inde iki veya daha az mutasyon saptanırken hiçbir hastada multisentrik HCC saptanmamıştır (12).

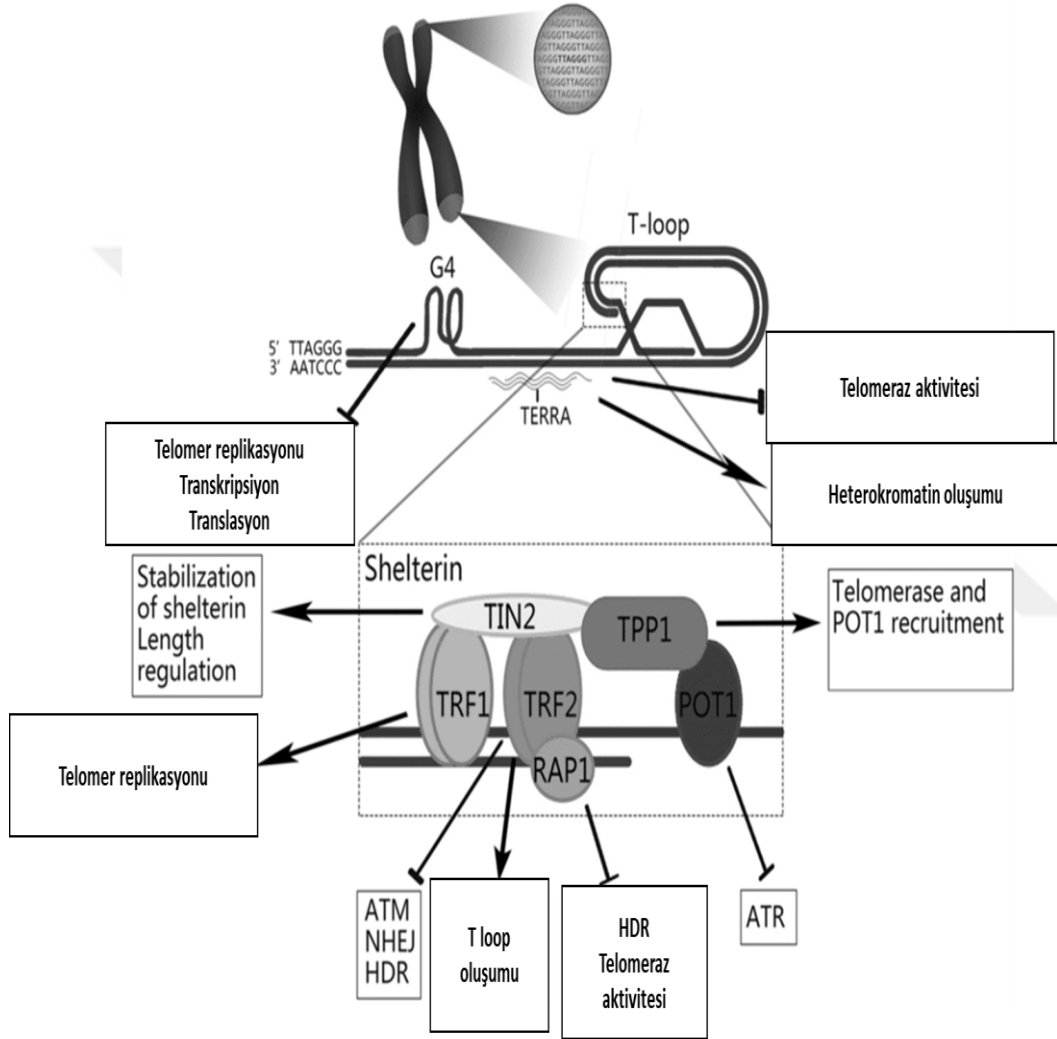
Kronik viral hepatit ile ilişkili karaciğer dokusunun tekrarlanan yıkımı ve rejenerasyonunun mtDNA mutasyonlarının birikmesine yol açtığı düşünülmektedir (172).

2.3. Telomer ve Genel Özellikleri

Telomerler ökaryotik kromozomların uçlarında bulunan nükleoprotein yapılardır (173). 1930-1940'lı yıllarda Muller ve McClintock tarafından telomerlerin alışılmadık yapısı ve özellikleri incelendi. Drosophila'daki kromozomal yeniden düzenlemeleri incelerken, iç delesyonlara sahip kromozomların aksine silinmiş uçlara sahip kromozomların kurtarılamayacağını buldu (174). Daha sonra McClintock, telomerlerden yoksun kromozomların kaynaşabileceğini ve oldukça kararsız disentrik kromozomlar oluşturabileceğini tespit etti (175). Telomerler, hücre bölünmesi sırasında kromozomların bozulmasını ve kaynaşmasını önleyen koruyucu olarak görev yapan karmaşık yapılardır (176).

Telomerlerik DNA, 50 ila 300 nükleotid arasında değişen G-zengin ipliğin ucu C-zengin nükleotidlerin ucundan oluşur (177-178). Telomerler binlerce kez tekrarlanan "TTAGGG" 6 nükleotitlik DNA dizisinden oluşurlar ve 'shelterin' kompleksi olarak bilinen özel proteinlerden oluşan bir kompleks tarafından bağlanırlar (179). İnsanlarda bu tekrarlayan diziler doğumda 15-20 kb uzunluğunda ve yetişkinlerde yaklaşık 8-10 kb uzunluğundadır. Bu tekrarlayan diziler insanlar, hücreler ve hatta çeşitli kromozomlar arasında farklı uzunluklara sahiptir (177). Her kromozomun 3' ucu tek zincirlidir, tamamlayıcı bir zincire sahip değildir

ve yaklaşık 200 nükleotid uzunluğundadır (180). Telomerler TRF1, TRF2, TIN2, POT1, TPP1 ve RAP1 altı proteinden oluşan özel DNA yapılarıdır (181–183) (Şekil 5). Her kromozomun her iki tek zincirli 3' ucu geriye doğru döner, çift zincirli parçaya bağlanır ve çift zincirli bölümün bir kısmıyla bir T loop (halka) oluşturur (184). T loop, DNA onarım mekanizmalarının bunları yanlışlıkla çift zincirli DNA kırıkları olarak tanımlamasını önleyerek telomerleri korumada kritik bir rol oynar (185).



Şekil 5. Telomer yapısı ve işlevi ((183)'den uyarlanmıştır). Telomerler, tekrarlayan TTAGGG 6 nükleotid dizisi ve ilişkili koruyucu proteinler sheltherin'den oluşur. Telomerik DNA, telomerlerin çift sarmallı bölgesini istila ederek lariat benzeri koruyucu bir T loop oluşturan tek sarmallı çıkıntılarla sonlanır. Telomerik DNA tekrarlayan dizileri ayrıca kanonsal olmayan ikincil yapılarla, G-dörtlü plekslere katlanabilir ve telomerik tekrar içeren RNA'ya (TERRA) transkripsiyona uğrayabilir. Telomerik DNA, TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, TPP1 ve

POT1'den oluşan telomere özgü proteinler, shelterin tarafından bağlanır. Değişen telomer yapısı ve shelterin kompleksi, kromozom uçlarının bakımı ve bütünlüğü için gereklidir.

Kromozomların uçlarında koruyucu kapaklar olarak görev yapan telomerler, kromozom uçlarının DNA hasarıyla karıştırılmasını önleyerek genomik stabiliteyi korumada kritik bir rol oynar (176). Ancak, telomerler "uç replikasyon problemi" nedeniyle her hücre bölünmesinde kısalır. Bu durum, DNA replikasyonundan sorumlu enzim olan DNA polimerazın doğrusal kromozomların uçlarını tam olarak replike edememesi nedeniyle meydana gelir (186).

Sonuç olarak, telomerin küçük bir kısmı her DNA replikasyon sırasında kaybolur. DNA replikasyonu, genetik faktörler, yaşam tarzı faktörleri, oksidatif stres, hücrel stres ve inflamasyon gibi birçok çeşitli faktörler zamanla telomerin kısalmasına katkıda bulunur (176). DNA replikasyonu sırasında, DNA polimeraz enzimi senteze başlamak için bir primere ihtiyaç duyar. Fakat telomerin olduğu bölgede DNA sentezi için gerekli olan primer yoktur ve bu durum kromozomun en sonunun replikasyonunun yapılamamasına yol açar ve her hücre bölünmesiyle birlikte telomerin kademeli olarak kısalmasına neden olur (187). Telomer bakımında rol oynayan genlerdeki varyasyonlar telomer kısalma hızını etkileyebilir (176). Örneğin, telomeraz genindeki mutasyonlar daha hızlı telomer erozyonuna ve ilgili bozukluklara yol açabilir (188).

Sigara içme, kötü beslenme, egzersiz eksikliği ve psikolojik stres gibi çevresel ve yaşam tarzı faktörleri hızlandırılmış telomer kısalmasıyla ilişkilendirilmiştir (176). Bu faktörler oksidatif stresi ve inflamasyonu artırarak telomer erozyonuna katkıda bulunur (189). Hücrel metabolizma sırasında üretilen ROS, telomerik DNA'ya zarar vererek telomer kısalmasını hızlandırabilir. Telomerik bölgeler, yüksek guanin içerikleri nedeniyle oksidatif hasara karşı özellikle hassastır (190). Kronik inflamasyon ve hücrel stres telomer aşınma hızını artırabilir (176). Buna karşılık, DNA hasarı kaynaklı yaşlanma, senesensle ilişkili salgısal fenotipin bir parçası olarak sitokinleri indükleyebilir (191). Bu kısalma hücrel yaşlanmanın bir özelliğidir ve hem yaşlanma hem de kanser için derin etkileri vardır (186).

Telomerler kritik bir noktada kısa bir uzunluğa ulaştığında, kalıcı bir DNA hasarı tepkisini tetikler ve bu da hücrel senesens veya apoptozla sonuçlanır. Replikatif senesens olarak bilinen bu süreç, hücre çoğalmasını sınırlayarak bir tümör baskılayıcı görevi görür ve

böylece kanserin kontrolsüz büyüme özelliğini önler (179). Telomerler her hücre döngüsünden sonra doğal olarak kısalır (192). Daha sonra, kritik derecede kısa telomerlere sahip hücreler genellikle apoptozla sonlanan replikatif yaşlanmaya uğrar (192). Telomer uzunluklarındaki kritik kısalma düzeyi “Hayflick sınırı” ile tanımlanır (193, 194). Yani her hücrenin bölünme sayısı sınırlıdır. Belli bir bölünme sayısından sonra bölünme durur. Yapılmış bazı çalışmalarda, kısalmış telomer uzunluğunun kardiyovasküler hastalık, nörodejeneratif hastalık, kanser ve metabolik sendrom gibi bir dizi yaşa bağlı klinik tabloyla ilişkili olduğunu göstermiştir (192, 195–197). Telomer kısalmasının, oksidatif stres ve TNF- α , IFN- γ ve IL-6 gibi medyatörleri içeren inflamatuvar süreçler tarafından indüklendiği gösterilmiştir (197, 198). Telomer DNA'sının serbest radikal maruziyetinden kaynaklanan oksidatif hasara karşı hassas olduğu gözlemlenmiştir (192, 199). Telomer uzunluğu, biyomedikal, epidemiyoloji, ekoloji ve biyoloji gibi çeşitli alanlarda umut vadeden bir sağlık ve uzun ömür biyobelirteci olarak ortaya çıkmıştır (200).

Telomeraz aktivitesi, tandem RNA şablonlarını taşıyarak ve ekleyerek telomer uzunluğunu koruyan bir ribonükleoproteindir (201–203). Telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi yaşa bağlı hastalıklar ve ölüm oranında önemli bir rol oynayabilir, telomerde aşınmanın nedenleri içinde arka planda genetik faktörler, diyet ile yaşam tarzından etkilenir ve telomer aşınmasının muhtemelen değiştirilebilir bir faktör olabileceğinden bahsedilmiştir (204).

Kök hücrelerde ki, daha yüksek telomeraz aktivitesi, telomer uzunluğunun korunmasına yardımcı olarak sürekli bölünmeye ve doku rejenerasyonuna olanak tanır (205, 206). Ancak zamanla kök hücrelerdeki telomer kısalması rejeneratif kapasitelerini azaltır, yaşlanmaya ve yaşa bağlı hastalıklara katkıda bulunur (186, 207).

Telomer fonksiyonu genomik stabilite açısından kritik öneme sahiptir; işlevsel bir TP53 yanıtı bağlamında, telomer erozyonu G1/S hücre döngüsünün durmasına ve uzun ömürlü türlerde yaşlanma sürecinin temelini oluşturduğu düşünülen replikatif senesensin indüklenmesine yol açar (208). Oksidatif strese bağlı telomer erozyonu yaşa bağlı hastalıkların sık görülen bir sonucudur (209). Telomer uzunluğu ve daha kısa telomerler yaşa bağlı hastalıklarla ilişkilidir. Telomer kısalmasını azaltan yaşam tarzı değişiklikleri, yaşa bağlı hastalıkların önlenmesi için önemlidir (210). Kısa telomerler, hipertansiyon, diyabet, obezite, hareketsizlik ve sigara içme gibi risk faktörlerinin yanı sıra kardiyovasküler hastalıkla da

bağlantılıdır. Birçok çalışma, telomer uzunluğunun kalp hastalıklarında etkisi olduğunu iddia etmiştir (211).

Majör depresif bozukluklar veya psikotik bozuklukları olan kişilerde, telomer uzunluğunun kısa ve mtDNA değişiklikleri ile kendini gösterdiği ve aynı zamanda erken biyolojik yaşlanma ile bağlantılı olabileceği bildirilmiştir. Telomer uzunluğunun yıpranması, majör depresif veya psikotik sendromu olan HCV ile enfekte uyuşturucu alan kişilerle önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur (212).

Telomeraz eksikliği, telomer kısalmasını ve işlev bozukluğunu hızlandırarak genomik instabiliteyi (kararsızlığı) ve onkogenezi kolaylaştırır (213). Periferik kan lökositlerinde ölçülen telomer uzunluğunun, yüksek kanser riskini belirlemede yararlı bir biyobelirteç olabileceği rapor edilmiştir (214). Telomerler kanser ilerlemesi için çok önemlidir. Tümör mikroçevresindeki bağışıklık sinyalinin kanser prognozunda çok önemli olduğu gösterilmiştir. Ancak, telomerlerin tümör bağışıklık yanıtını nasıl etkileyebileceği mekanizmaları henüz yeterince anlaşılmamıştır (215). Kısa telomerler bazı kanser türlerinde artan ölüm oranıyla ilişkilendirilmiştir (216–220). Ancak, akciğer kanseri üzerine yapılan çalışmalarda telomer uzunluğu değişiminin etkileri belirsizdir, çünkü farklı çalışmalarda artan risk veya artan ölüm oranının hem kısa (221–223) hem de uzun telomerlerle (169, 224–227) ilişkili olduğu bulunmuştur.

Telomer uzunluğu bilişsel işlev, gerileme ve bunama ile ilişkilendirilmiştir. Fakat bir çalışma ise Avrupa kökenli yaşlı yetişkinlerde telomer uzunluğu ile bilişsel performans (başlangıç ve zaman içindeki değişim) arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığını ama yaşa bağlı ve alana özgü zayıf bir ilişkinin olduğunu göstermektedir (228).

Dengeli beslenme, düzenli egzersiz ve zararlı alışkanlıklardan kaçınma gibi sağlıklı bir yaşam tarzını benimsemek, telomer uzunluğunu korumaya yardımcı olur. Bu nedenle, telomer uzunluğunun korunması hastalıkların önlenmesi ve yaşlanma sürecinin yavaşlatılması için önemlidir (229).

CMV, EBV ve HBV gibi DNA virüsleri, p16, p21 ve p53 senesense ilişkili genlerin ifadesini arttırırken; bunlarda inflamasyona, enfekte hücrelerin metabolik yeniden programlanmasına, replikatif senesense ve telomer kısalmasına neden olur. HCV ve HIV gibi RNA virüsleri, ROS oluşumuna, DNA hasarına, senesense ilişkili salgısal fenotipin indüklenmesine, enfekte hücrelerin metabolik yeniden programlanmasına, G1 hücre

döngüsünün durmasına, telomer kısalmasına ve DNA ile histonların epigenetik modifikasyonlarına neden olur (230).

Kronik HCV veya HIV enfeksiyonu sırasında ortaya çıkan erken T hücre yaşlanması ve hücre işlev bozukluğunun, TRF2 inhibisyonuna bağlı telomerik DNA hasarına neden olan kronik bağışıklık uyarımı, T hücresi aşırı aktivasyonu ve/veya çoğalmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (231, 232).

Kronik/gizli viral enfeksiyonlar, özellikle HIV pozitif olan kişilerde immünolojik yaşlanmayı hızlandırabilir (233). HIV, akut ve kronik enfeksiyon fazı sırasında kronik bağışıklık aktivasyonu, oksidatif stres, inflamasyon ve bağışıklık hücrelerinde telomer uzunluğunun hızla azalmasına yol açar (234). Telomer kısalması, HIV enfeksiyonunun ilk evrelerinden itibaren meydana gelmektedir (235-236). HIV enfeksiyonu ve siroz, telomer uzunluğunun azalmasına neden olan yaşlılık fenotipi ile ilişkilidir (236).

HCV enfeksiyonu, yaşlanma belirteçlerinin aşırı ekspresyonuna yol açar ve bu durum ise telomerlerin aşınmasıyla ilişkilendirilmiştir (235, 237). Özellikle, hepatit C hastalarında naif CD4 T hücrelerinin, TRF2 korumasının kaybindan kaynaklanan telomer DNA hasarıyla birlikte telomer aşınması ve yaşlanma belirteçlerinin aşırı ekspresyonu ile gösterildiği gibi senesens olduğunu ve böylece hücre apoptozunun artmasına katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (238).

Kronik HCV enfeksiyonu olan kişilerden alınan CD4+ T hücrelerinin, T hücre reseptörü uyarımı üzerine PI3K/Akt/mTOR (fosfoinozid3-kinaz/Akt/memeli rapamisin) hedefi sinyallemesinin hiperaktivasyonunu gösterdiğini, bunun da proinflamatuvar efektör hücre farklılaşması, telomerik DNA hasarı ve hücre apoptozu tetiklediğini ortaya koymuştur (239).

HCV ile ilişkili sirotik hastalarda DNA telomer uzunluğunun tedavi öncesinde, tedavi bitiminden 12 hafta sonrasına kıyasla önemli ölçüde kısalmış olduğu gösterilmiştir (240).

2.3.1. Telomer uzunluğu analiz yöntemleri

Telomer uzunluğunu ölçmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (241). Araştırmalarda yaygın olarak kullanılan telomer uzunluğunu ölçme yöntemleri şunlardır:

a. Southern blotting, terminal restriksiyon parçalarının (TRF) dağılımı yoluyla ortalama telomer uzunluğunu değerlendiren bir tekniktir. DNA izolasyonundan sonra DNA bütünlüğü açısından incelenir, kesim yapılır, jel elektroforezi ile ayrıştırılır, bir membrana aktarılır, işaretli problarla hibridize edilir ve kemilüminesans kullanılarak X-ışını filmine maruz bırakılır (242). DNA terminal restriksiyon parça uzunluklarının Southern blotting analizi, ortalama telomer uzunluğunu ölçmek için altın standarttır (243).

b. Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qPCR), telomer tekrarının tek kopya gen sayısına oranını değerlendirir. Kantitatif PCR ile göreceli telomer uzunluklarını belirleme stratejisi, her DNA örneği için, örneğin telomer tekrar kopya sayısının tek kopya gen kopya sayısına oranında referans DNA örneğinden farklılaştığı faktörü ölçülmektedir (244).

c. Tek telomer uzunluğu analizi (STELA), belirli kromozom telomerlerinin PCR yoluyla çoğaltıldığı ve uzunluklarının jel elektroforezi yoluyla belirlendiği bir tekniktir. STELA çok zahmetli ve Southern hibridizasyon yöntemine dayalı bir yöntemdir ve bu nedenle büyük hasta gruplarının analizi veya klinik laboratuvar uygulamaları için uygun değildir (245).

d. Telomer en kısa uzunluk testi (TeSLA): En kısa olanlar da dahil olmak üzere tüm telomerlerin uzunluklarını, interstisyel telomerik dizileri tanımlamadan değerlendirir. Luminex sisteminde QuantiGene kimyasını kullanan yeni bir PCR dışı test oluşturulmuştur ve bu test çeşitli dokulardaki ortalama telomer uzunluklarının izlenmesini sağlar (246). Küçük miktarda DNA kullanarak <1 kb'den 18 kb'ye kadar tüm kromozom uçlarından telomerleri tespit eden bir tekniktir. TeSLA, bant boyutlarını otomatik olarak tespit edip, ortalama telomer uzunluğunu ve en kısa telomerlerin yüzdesini hesaplamak gibi çeşitli kolaylıklar sağlayan bir tekniktir (247).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasının amacı kronik hepatit C tanısı almış olan hastalarda ATPase6 mtDNA mutasyonlarının taranması ve telomer uzunluğunun analizi ile bu genetik değişikliklerin klinik verilerle olan ilişkisinin araştırılmasıdır.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi (KSÜ) Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniğinde 2023-2024 yılları arasında hepatit C şüphesiyle PCR testi yapılan ve HCV PCR sonucu pozitif çıkan 28 hasta örneği ile HCV PCR sonucu negatif çıkan 30 hepatit C tanısı almamış olan bireylerden tanı amaçlı alınan kanlardan artakalan örnekleri KSÜ Tıbbi Araştırmalara Etik Kurulu 21.11.2023 tarihli 22. Oturumda 6 nolu karardaki etik kurul onayıyla bu çalışmaya dâhil edildi.

HCV RNA pozitif bulunan bireylerin hasta kayıtlarından bazı biyokimyasal test sonuçlarına erişebildi. Bu testler içinde arasında Protrombin Zamanı (PT)/Uluslararası Normalleştirilmiş Oran (INR) (referans aralıkları 0,8-1,2), Kreatin (referans aralıkları 0,5-0,9 mg/dL), Aspartat Aminotransferaz (AST) (referans aralıkları 0-40 U/L), Alanin Transaminaz (ALT) (referans aralıkları 0-41 U/L), Alkalın Fosfataz (ALP) (referans aralıkları 40-129 U/L), Gama-Glutamil Transferaz (GGT) (referans aralıkları 8-61), Total Bilüribin (T-bilüribin) (referans aralıkları 0,3-1,2 mg/L), Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFR) (ml/dk), Albümin (ALB) (referans aralıkları 39,7-49,4 g/dl), Alfa Fetoprotein (AFP) (referans aralıkları 0,5-5,5 IU/ml), Beyaz Kan Hücresi (WBC) (referans aralıkları 3,8-8,76 $10^9/L$), Hemoglobün (HB) (referans aralıkları 13,2-16,6 g/dl) ve Trombosit (PLT) (referans aralıkları 150-400 $10^9/L$) yer almaktaydı.

ATPase6 mtDNA mutasyonları ile telomer uzunluğu analizinden önce bu çalışma için toplanmış olan tüm sağlıklı ve hasta bireylerin rutin HCV enfeksiyonu tanısı için kullanılan kan örneklerinden artan kanlardan DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Saflaştırılan DNA örnekleri daha sonra yapılacak diğer deneysel süreçlere kadar eksi 20°C'de saklanmıştır.

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar, kitler, cihazlar, HCV RT-PCR, DNA izolasyonu, ATPase6 mtDNA mutasyonlarının analizi ve telomer uzunluğu analizlerinin detayları aşağıda verilmiştir.

3.1. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler

- EcoPURE Genomic DNA Kiti (EcoBGD-50x, Cat No: E1075)
- 2X Master Mix, 200 reaksiyon (Ecotech)
- Absolute ethanol
- SYBR green mix (Ecotech, SMM1)
- Plastik DNA saklama kutusu
- Pipet ucu
- PCR tüpleri
- PCR plate
- Plate seal
- Eppendorf tüpler
- Primerler (ATPase6, 36B4, Telo genleri)
- Agaroz
- Etidyum bromür
- Marker
- TAE (10x)

3.2. Cihazlar

DeneySEL süreçlerde kullanılan cihazların marka ve model bilgileri aşağıdaki Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 1. Kullanılan cihazlar ve marka modelleri.

Cihaz	Marka model
Hassas terazi	BİLİMMED, OHRUS, PR SERIES
Santrifüj	NUVE, NF048
Vorteks	Reax Top
Nanodrop	Shimadzu
Thermal-cycler	ABI, REF A24812
RT-PCR	LC96, ROCHE
Kuru buz makinası	MaxiLab Biotechnology, MS2-Maxiflake60
Jel elektroforez sistemi	BIORAD
UV görüntüleme sistemi	GeneSys
Isı bloğu	MaxTable, Dathan Scientific
Magnetik ısıtmalı karıştırıcı	Heidolph
Distile su cihazı	Mikrolab, MDS serisi
Mikro spin cihazı	Inovialab, Inomino-7K

3.3. HCV RT-PCR

Rutin HCV tanısı amaçlı Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına yollanan tam kan örnekleri hepatit C tanısı açısından RT-PCR yöntemi ile incelendi. UNIO Viral DNA/RNA izolasyon Kiti ile RNA izolasyonu yapıldı. PCR için Bosphore HCV Quantification Kiti kullanıldı (Tablo 2-5).

Tablo 2. PCR karışımı.

Bileşen	Hacim
PCR Master Mix	24 µL
İnternal Kontrol**	0,2 µL
Örnek RNA (Negatif / Pozitif Kontrol /Standart)	16 µL
Toplam Hacim	40 µL

**İnternal kontrol izolasyon aşamasında eklendi.

Tüplere 24 µL PCR Master Mix pipetlendi ve 16 µL örnek (örnek/pozitif veya negatif kontrol/standart) eklenip tüplerin kapakları sıkıca kapatıldı.

Tablo 3. Hepatit C tanısı için thermal cycler programı.

Adım	Sıcaklık	Süre
Revers Transkripsiyon	50 °C	30:00 dk
İlk Denatürasyon	95 °C	14:30 dk
Denatürasyon	97 °C	00:30 dk

Bağlanma (Floresans Veri Alma)	55 °C	01:20 dk	50 döngü
Sentez	72 °C	00:15 dk	
İnkübasyon	32 °C	01:00 dk	

Bosphore HCV Quantification Kiti'nin internal kontrolü ve pozitif kontrolü ve standartları doğru sonuç analizi için gereklidir. İnternal kontrol ve pozitif kontrol ve standartlar için kabul kriterleri aşağıda listelenmiştir:

Tablo 4. Hepatit C tanısı için internal kontrol ve pozitif kontrol ve standartlar için kabul kriterleri.

Bileşen / Parametre	Eşik Döngüsü (CT)
Standart 1	22±4
Standart 2	25±4
Standart 3	28,5±4
Standart 4	31±4
Pozitif Kontrol	30±4

Tablo 5. Ticari kitin yönergelerine göre aşağıdaki tablo, olası sonuçları ve anlamlarını göstermektedir.

PCR Master Mix	HCV (FAM)	İnternal Kontrol (HEX)	Sonuç
	+	+/-	Örnek HCV pozitif
	-	+	Örnek negatif
	-	-	Test tekrarlanmalı!

3.4. DNA İzolasyonu

HCV RNA negatif ve hepatit C hastası bireylerin tam kan örneklerinden EcoPURE Genomic DNA Kiti ile DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Ticari kitin üretici firmasının önerilerine göre tüm işlemler gerçekleştirildi. DNA izolasyon aşamaları aşağıda özetlenmiştir;

1. 1,5 mL steril mikrosantrifüj tüpüne 200 µl tam kan örneği ve 200 µl EcoPURE Lizis Tamponu eklendi. İyice karıştırıldı.
2. Birinci aşamadaki karışıma 20 µl EcoPURE RNase A eklendi ve iyice karıştırıldı. Oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi.
3. Karışıma 20 µl EcoPURE Proteinase K eklendi ve iyice karıştırıldı. 55°C'de 25 dakika inkübe edildi.
4. 400 µl EcoPURE Bağlayıcı Tamponu eklendi ve iyice karıştırıldı.
5. Bir Toplama Tüpüne bir EcoPURE Kolonu yerleştirildi ve 4. adımdaki örnek EcoPURE Kolonuna aktarıldı. Oda sıcaklığında 1 dakika boyunca santrifüjde maksimum hızda santrifüj edildi.
6. Toplama tüpü boşaltıldı ve EcoPURE Kolonuna 400 µl EcoPURE Yıkama Tamponu 1 eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika boyunca bir santrifüjde maksimum hızda santrifüjlendi.

7. Toplama tüpü boşaltıldı ve EcoPURE Kolonuna 500 µl EcoPURE Yıkama Tamponu 2 eklendi. Oda sıcaklığında 30 saniye boyunca santrifüjde maksimum hızda santrifüjlendi.
8. Toplama tüpü boşaltıldı ve EcoPURE Kolonuna 200 µl EcoPURE Yıkama Tamponu 2 eklenip 2 dakika maksimum hızda santrifüjlendi.
9. EcoPURE Kolonunu temiz bir 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
10. EcoPURE Kolon membranının ortasına 50 µL EcoPURE Elüsyon Tamponu eklendi ve kolon oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
11. Santrifüjde oda sıcaklığında 30 saniye maksimum hızda santrifüj edildi.
12. Mikrosantrifüj tüpüne aktarılan saflaştırılmış DNA -20°C'de saklandı.

DNA izolasyonu gerçekleştirildikten sonra DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu Shimadzu marka nanodrop cihazında ölçüldü. 1-2 µL DNA örneği Nanodrop'un örnek okuma yüzeyine koyuldu. 260/280 oranında ölçüm yapıldı ve 1,8 değeri genel olarak DNA için saf kabul edildi.

3.5. ATPase6 Geni Sekans PCR Aşaması

mtDNA ATPase6 geni mutasyonlarını tüm bireylerde Sanger DNA dizi analiz yöntemiyle tarama yapabilmek için önce sekans PCR işlemi gerçekleştirildi. Sekans PCR işleminde EcoTaq 2x PCR Master Mix (Cat No: ET-5) kullanıldı. Ticari kitin üretici firmasının önerilerine göre tüm işlemler gerçekleştirildi (Tablo 7-8). ATPase6 geni için önceki yapılmış bir çalışmadan primerler hedeflediğimiz bölgeye göre teyit edilip sipariş edildi (248). Bu primerlerle 675 bp'lik bir gen bölgesinin amplifiye edilmesi amaçlandı.

ATPase6 geni için kullanılmış olan primerlerin dizileri;

İleri primer: 5'-AACGAAAATCTGTTCGCTTCAT-3'

Geri primer: 5'-ATGTGTTGTCGTGCAGGTAGAG-3'

PCR reaksiyonu ticari kitin üretici firmasının talimatlarına göre aşağıdaki gibi hazırlandı.

Tablo 6. Sekans PCR için PCR karışımı.

Bileşen	Hacim
EcoTaq 2x PCR Master Mix	25 µl
İleri primer, 10 µM	2 µl
Geri primer, 10 µM	2 µl
Kalıp DNA	10 pg-500 µg
ddH ₂ O	Toplam hacim su ile 50 µl'ye tamamlandı.

Sekans PCR programı aşağıdaki gibi hazırlandı.

Tablo 7. Sekans PCR programı.

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
98°C	30 saniye	1
94°C	10 saniye	35
59°C	15 saniye	
72°C	15 saniye	
72°C	1 dakika	1
4°C	∞	1

3.6. Agaroz Jel Elektroforez Süreci

ATPase6 geni PCR ile amplifikasyonu gerçekleştirildikten sonra 675 bç'lik hedef bölgesinin doğru şekilde çoğaldığını teyit etmek için %1'lik agaroz jel ile BIORAD marka elektroforez sisteminde yürütme yapıldı. 675 bç uzunluğunda bantlar belirlendi ve PCR işleminin başarılı olduğu gösterildi.

Agaroz jel elektroforez işlemi için 100 ml TAE (1X) ve 1 gr agaroz bir beherde homojen bir karışım oluşturacak şekilde bir araya getirildi ve ısıtılmalı magnetik karıştırıcıda kaynayınca kadar bekletildi. Sonra üzerine 3-4 µl ethidiyum bromür (10 mg/ml) eklendi ve jel tarakların olduğu jel tankına dökülüp donmaya bırakıldı. Jel oda ısısında katılaştıkça içinde TAE olan tanktaki jelin her bir kuyucuğuna PCR örnekleri 5'şer µl kondu ve ayrıca tanımlama için 50 bç'lik marker kullanıldı. 100 W'ta 30 dk yürütme işlemi gerçekleştirildi.

3.7. Sanger DNA Dizi Analizi

DNA dizi analizi için KSÜ ÜSKİM Merkez Laboratuvar'ından hizmet alımı yapıldı. PCR ürünleri ilgili laboratuvara yollandı. KSÜ ÜSKİM Merkez Laboratuvar'ından alınan ham sekans verilerinden Chromas Lite 2.1 ve DNA Baser Heracle Biosoft version 5.21.0BT programlarının demo geçici sürümleriyle kromatogram analizi yapıldı.

3.8. Telomer Uzunluğu Analizi

Telomer uzunluğu analizi için ClearPeak 2x SYBR Master Mix kullanıldı. Ticari kitin üretici firmasının önerilerine göre tüm işlemler gerçekleştirildi (Tablo 8-9). Telomer uzunluğu analizinde asidik ribozomal fosfoprotein P0 (36B4) tek kopya referans geni ve telomer geni primerleri daha önceki yapılmış çalışmalardan (249, 250) teyit edilerek sipariş edildi.

- *Tek kopya gen 36B4'ün primerleri;*

İleri (forward) primer: 5'-CCCATTCATCATCAACGGGTACAA-3'

Geri (reverse) primer: 5'-CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC-3'

- *Telomer geni primerleri;*

İleri primer: 5'-CGGTTTGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT-3'

Geri primer: 5'-GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT-3'

Telomer uzunluğu için her bir örneğin $2^{-\Delta\Delta Ct}$ hesaplaması ile belirlendi (244, 249–252). Tüm örneklerde T ve S için kantitatif PCR yapıldı.

PRC karışımı ticari kit üreticisinin önerisine göre aşağıdaki gibi hazırlandı.

Tablo 8. Telomer uzunluğu için PCR karışımı.

Bileşen	Hacim
ClearPeak 2x SYBR Master Mix	10 µl
Forward Primer	0,2 µM
Reverse Primer	0,2 µM
Kalıp DNA (4 ng/µl)	2-5 µl
ddH ₂ O	Toplam hacim 20 µl'ye tamamlandı.

PCR programı aşağıdaki gibi hazırlandı.

Tablo 9. Telomer uzunluğu analizi için PCR programı.

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
95°C	30 saniye	1
95°C	10 saniye	40
60°C	30 saniye	

3.9. İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel analizlerinin değerlendirmesinde GraphPad 8.0.2 programının demo sürümü kullanılmıştır. Gruptaki örnek sayımız 50'nin altında olduğu için değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile belirlenmiştir. Hepatit C tanısı almış ve almamış bireylerde yaşların dağılımını kıyaslamak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Hasta ve sağlıklı bireylerin cinsiyetlerinin frekanslarının karşılaştırılması için Chi-square testi kullanıldı.

Biyokimyasal parametrelere göre telomer uzunluğunun dağılımını göstermek için Mann-Whitney U (AST, ALT, GGT ve WBC için) testi, t testi (kreatin için) ve Kruskal-Wallis testi (ALP, HB ve PLT için) kullanıldı.

Ayrıca hasta ve sağlıklı bireylerin ATPase6 mtDNA geni mutasyonlarının dağılımının belirlenmesi için Chi-square testi kullanıldı.

Hasta ve sağlıklı bireylerde telomer uzunluğunun analizi için Mann-Whitney U testi tercih edildi. ATPase6 mutasyon çeşidine göre telomer uzunluğu dağılımının analizi için Kruskal-Wallis testi tercih edildi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hepatit C hasta ve HCV Negatif Bireylerin Klinik ve Demografik Verilerinin

Dağılımı

Bu çalışmada 30 HCV negatif birey ve 28 Hepatit C hastasından alınan tam kan örneklerinden ATPase6 mtDNA geni mutasyonları ve telomer uzunluğu incelenmiştir. Sağlıklı bireylerin 18 (%60)'i kadın, 12 (%40)'si erkek ve yaş ortalaması 31,3 (yaş aralığı 18-59) idi. Hasta bireylerin 4 (%14,29)'ü kadın, 24 (%85,71)'ü erkek ve yaş ortalaması 33,57 yıl (yaş aralığı; 22-72) idi. Hepatit C hastaları ve HCV negatif bireylerin cinsiyetlerinin dağılımını kıyasladığımızda istatistiksel açıdan fark vardı (p=0,0003). Fakat Hepatit C hastaları ve HCV negatif bireylerin yaşları arasında istatistiksel açıdan fark yoktu (p=0,46). Hepatit C hastalarının klinik ve demografik özellikleri Tablo 10'da verildi.

Tablo 10. HCV negatif bireylerin ve hepatit C hastalarının klinik ve demografik verilerinin dağılımı.

Değişkenler (referans aralıkları)	HCV negatif grup (n=30)			HCV pozitif grup (n=28)			p değeri
	ortalama±std	ortanca	Min-max.	ortalama±std	ortanca	Min-max.	
Yaş [#]	31,33±10,68	31	18-59	33,57±11,20	31	22-72	0,46
Cinsiyet ^ψ							
Kadın (n)	18	-	-	4			***0,0003
Erkek (n)	12			24			
PT-INR (0,8-1,2 sn)	-	-	-	0,99±0,12	0,96	0,84-1,52	-
Kreatin (0,5-0,9 mg/dL)	-	-	-	0,83±0,45	0,84	0,39-1,08	-
GFR (mL/dk)	-	-	-	108,92±56,96	107	86-149	-
AST (0-40 U/L)	-	-	-	53,57±38,38	40	18-161	-
ALT (0-41 U/L)	-	-	-	93,25±86,11	59,5	15-323	-
ALP (40-129 U/L)	-	-	-	82,07±33,03	77,5	13-189	-
GGT (8-61 U/L)	-	-	-	49,96±35,49	35,5	12-147	-
T-bilirubin (0,3-1,2 mg/dL)	-	-	-	0,56±0,42	0,47	0,19-2,42	-
ALB (3,97-4,94 g/L)	-	-	-	4,50±0,37	4,56	3,74-5,26	-
AFP (0,5-5,5 IU/mL)	-	-	-	2,34±1,52	2	0,6-7,4	-
WBC (3,8-8,76x 10 ⁹ /L)	-	-	-	7,82±2,43	7,39	3,46-15,97	-
HB (13,2-16,6 g/dL)	-	-	-	14,92±2,37	15,6	8,5-17,9	-
PLT (150-400x 10 ⁹ /L)	-	-	-	260.500±111.26	250.000	124.000-653.000	-

#: Mann-Whitney U testi; Ψ : Chi-square testi; *** p<0.005

Hepatit C hastalarının biyokimyasal test sonuçlarını incelediğimizde; PT-INR seviyesinin minimum-maksimum değeri 0,84-1,52 sn (ortalama 0,99 ve standart sapması 0,12), kreatin 0,39-1,08 mg/dL (ortalama 0,83 ve standart sapması 0,45), GFR 86-149 mL/dk (ortalama 108,92 ve standart sapması 56,96), AST 18-161 U/L (ortalama 53,57 ve standart sapması 38,38), ALT 15-323 U/L (ortalama 93,25 ve standart sapması 86,11), ALP 13-189 U/L (ortalama 82,07 ve standart sapması 33,03), GGT 12-147 U/L (ortalama 49,96 ve standart sapması 35,49), total bilirubin 0,19-2,42 mg/dL (ortalama 0,56 ve standart sapması 0,42), ALB 3,74-5,26 g/L (ortalama 4,50 ve standart sapması 0,37), AFP 0,6-7,4 IU/mL (ortalama 2,34 ve standart sapması 1,52), WBC 3,46-15,97x10⁹/L (ortalama 7,82 ve standart sapması 2,43), HB 8,5-17,9 g/dL (ortalama 14,92 ve standart sapması 2,37) ve PLT 124.000-653.000/L (ortalama 260.500 ve standart sapması 111.260) olarak tespit edildi.

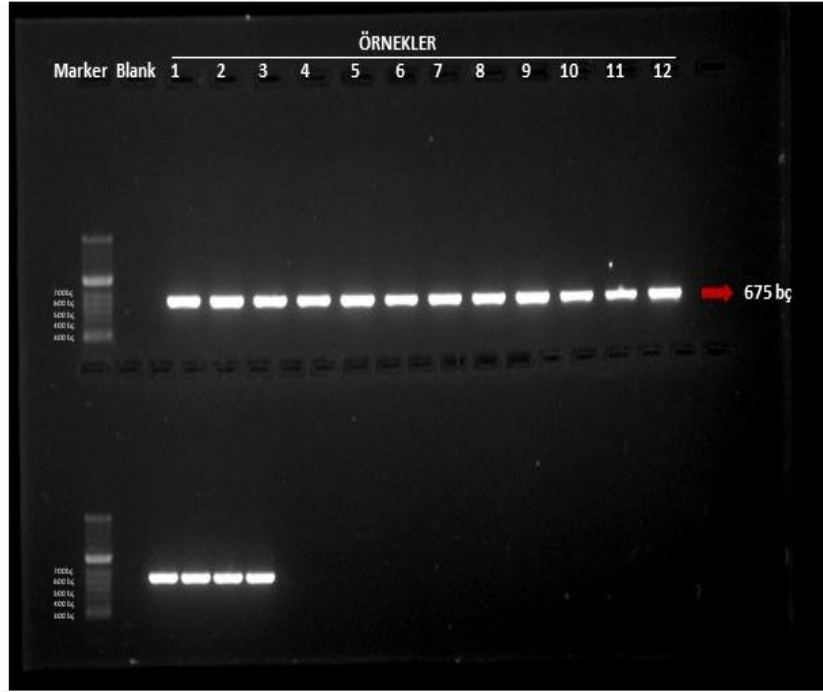
Hepatit C hastalarının HCV genotip dağılımlarını incelediğimizde frekansları genotip 1'in 2 (%7,14), 1a'nın 5 (%17,86), 1b'nin 5 (%17,86), 2'nin 1 (%3,57), 3'ün 9 (%32,14) ve 1a+ 3'ün 2 (%7,14) olduğu görüldü (Tablo 11). Dört hastanın ise hasta kayıtlarından genotip bilgilerine erişilemedi.

Tablo 11. Hepatit C hastalarının genotip dağılımları.

Genotip	n (%)
1	2 (7,14)
1a	5 (17,86)
1b	5 (17,86)
2	1 (3,57)
3	9 (32,14)
1a + 3	2 (7,14)
Tanımlanamayan	4 (14,29)

4.2. ATPase6 Genin Sekans PCR Sonuçlarının Jel Elektrofrez ile Doğrulanması

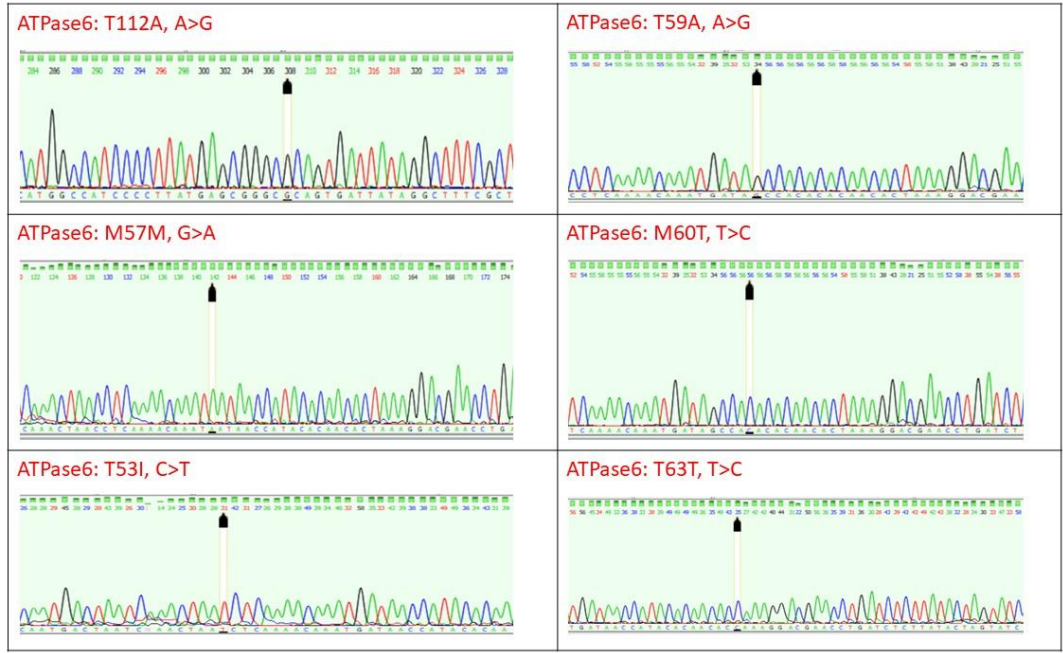
PCR aşaması sonrası %1'lik jelde 50 bç'lik marker kullanılarak jel elektrofrez işleminden sonra her PCR örneği için hedeflenen 675 bç'lik bantlar UV cihazında görüntülendi (Şekil 6).



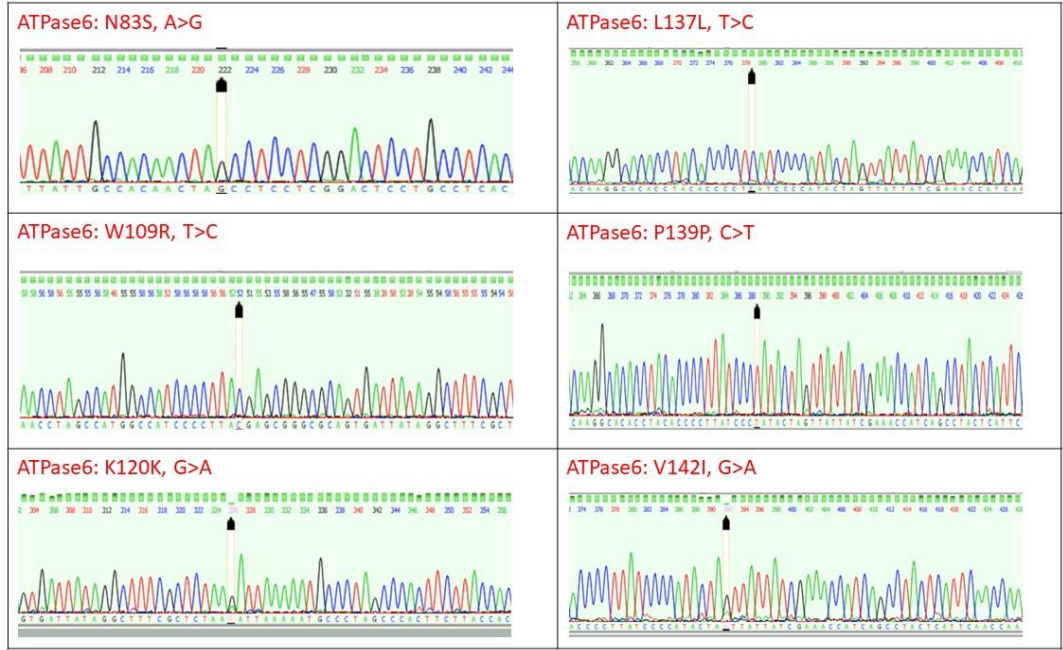
Şekil 6. ATPase6 geninin jel elektrofrez analizi.

4.3. ATPase6 geni mtDNA Mutasyonlarının Sanger DNA Dizi Analiz Sonuçları

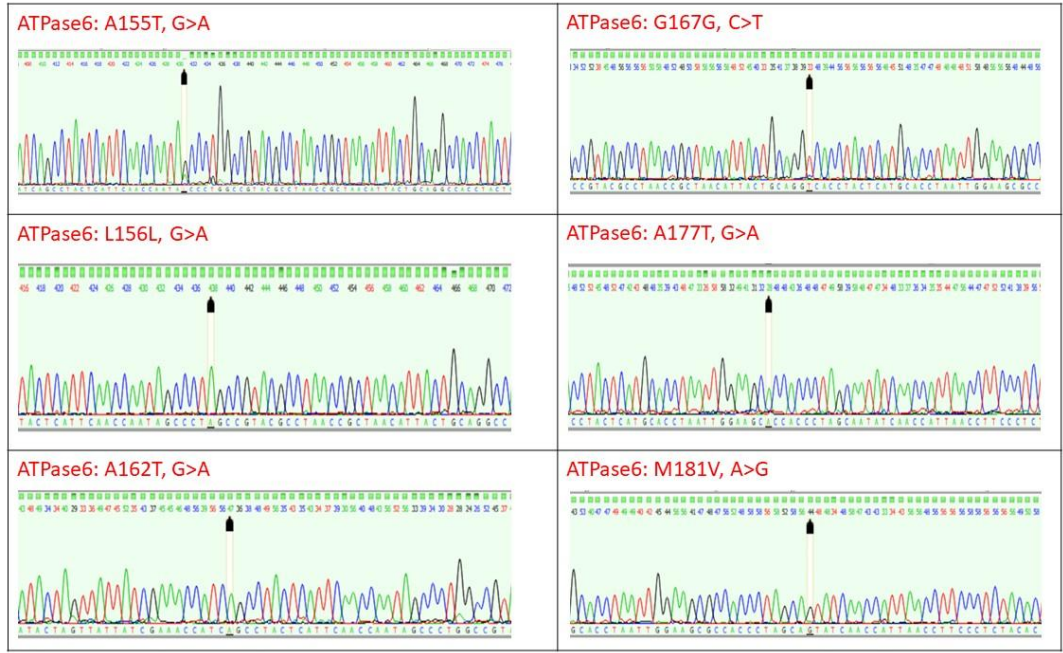
Sekans PCR işlemi sonuçları jel elektrofrezinde yürütme ve UV ile ilgili bantlar gösterildikten sonra Sanger DNA dizi analizi için tüm örnekler hizmet alımı için ilgili laboratuvara gönderildi. İki farklı programla kromatogram analizi yapıldı. Kromatogram analizi Chromas Lite 2.1 ve DNA Baser Heracle Biosoft version 5.21.0BT programlarının demo geçici sürümleriyle gerçekleştirildi. Bulunmuş olan mutasyonlar NCBI veritabanında doğrulandı (Şekil 7A-D).



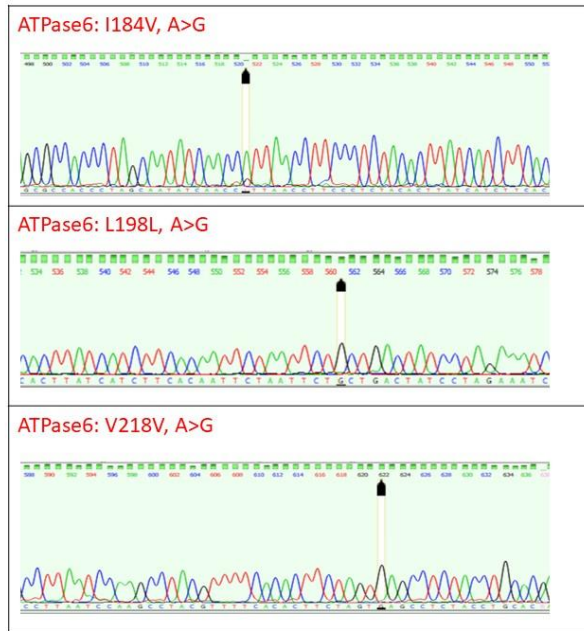
Şekil 7A. ATPase6 geni mutasyonların kromatogram analizi (T112A, M57M, T53I, T59A, M60T ve T63T mutasyonları).



Şekil 7B. ATPase6 geni mutasyonların kromatogram analizi (N83S, W109R, K120K, L137L, P139P ve V142I mutasyonları).



Şekil 7C. ATPase6 geni mutasyonların kromatogram analizi (A155T, L156L, A162T, G167G, A177T ve M181V mutasyonları).



Şekil 7D. ATPase6 geni mutasyonların kromatogram analizi (I184V, L198L ve V218V mutasyonları).

Sekans sonuçları analiz edildiğinde 30 HCV negatif bireyde ve 28 Hepatit C hastasında toplam 98 ATPase6 mtDNA mutasyonu belirlendi (Tablo 12). Bu mutasyonların 55'i sağlıklı ve 43'ü hasta bireylerde tanımlandı.

HCV negatif bireylerde 55 mutasyon içinde 16 farklı ATPase6 mtDNA mutasyon çeşidi görüldü. Bazı bireylerde birden fazla ATPase6 mtDNA mutasyonu vardı. HCV negatif bireylerin 11'inde 1 mutasyon çeşidi, 13'ünde 2 ve 6'sında 3 mutasyon çeşidi belirlendi. Tanımlanan mutasyon çeşitleri içinde m.8684 C>T (T53I), m.8697 G>A (M57M), m.8701 A>G (T59A), m.8705 T>C (T63T), m.8774 (N83S), m.8860 A>G (T112A), m.8886 G>A (K120K), m.8937 T>C (L137L), m.8950 G>A (V142I), m. 8989 G>A (A155T), m.8994 G>A (L156L), m.9010 G>A (A162T), m.9027 C>T (G167G), m.9055 G>A (A177T), m.9076 A>G (I184V) ve m.9180 A>G (V218V) bulunmaktaydı. m.9027 C>T (G167G) ve m.9076 A>G (I184V) mutasyonlarına NCBI veri tabanında rastlanmamıştır. ATPase6 mtDNA mutasyonların 9 tanesi missense (yanlış anlamlı) ve 7 tanesi synonymous (eş anlamlı) veya silent (sessiz) mutasyonlardı (nükleotid değişikliği farklı bir amino asidin sentezlenmesine yola açıyorsa yanlış anlamlı mutasyonlar/missense, eğer sentezlenen amino asitte değişiklik yoksa eş anlamlı mutasyon /synonymous/silent) olarak adlandırılmaktadır). 30 HCV negatif bireyin tümünde saptanan mutasyon çeşidi m.8860 A>G (T112A) idi. Diğer saptanan mutasyonların frekanslarının dağılımı şu şekildeydi; T53I (n=2), M57M (n=6), T59A (n=2), T63T (n=1), N83S (n=1), K120K (n=2), L137L (n=2), V142I (n=1), A155T (n=1), L156L (n=2), A162T (n=1), G167G (n=1), A177T (n=1), I184V (n=2) ve L198L (n=1).

Hepatit C hastalarında tanımlanan 43 mutasyonun içinde 12 farklı ATPase6 mtDNA mutasyon çeşidi görüldü. Hepatit C hastalarının 12'sinde 1 mutasyon çeşidi, 12'sinde 2; 1'inde 3 ve 1'inde de 4 mutasyon çeşidi belirlendi. Tanımlanan mutasyon çeşitleri içinde m.8684 C>T (T53I), m.8697 G>A (M57M), m.8701 A>G (T59A), m.8705 T>C (M60T), m.8851 T>C (W109R), m.8860 A>G (T112A), m.8943 C>T (P139P), m.8950 G>A (V142I), m.8994 G>A (L156L), m.9067 A>G (M181V), m.9055 G>A (A177T), ve m.9180 A>G (V218V) bulunmaktaydı. Bu mutasyonların 8 tanesi missense (yanlış anlamlı) ve 4 tanesi synonymous (eş anlamlı) veya sessiz mutasyonlardı. 26 hastada tanımlanan mutasyon çeşidi m.8860 A>G (T112A) idi. Diğer saptanan mutasyonların frekanslarının dağılımı şu şekildeydi; T53I (n=1), M57M (n=4), T59A (n=4), M60T (n=1), W109R (n=1), P139P (n=1), V142I (n=1), L156L (n=1), A177T (n=1), M181V (n=1) ve V218V (n=1).

Hepatit C hastaları ve HCV negatif bireylerde mutasyonların görülme frekansları kıyasladığında istatistiksel açıdan bir fark yoktu ($p>0,05$).

Tablo 12. ATPase-6 mtDNA mutasyonlarının hepatit C hasta ve HCV negatif olan bireylerde dağılımı.

Gen	Nükleotit Pozisyonu ve rs kodu	Nükleotit değişimi	Amino asit değişimi	Mutasyon tipi	Mutasyon oranı		P değeri	Literatürde var /yok
					HCV-	HCV+		
ATPase-6	8684 (rs201336180)	C→T	T53I	Missense	2/30	1/28	>0,05	✓
ATPase-6	8697 (rs879233543)	G→A	M57M	Synonymous	6/30	4/28	>0,05	✓
ATPase-6	8701 (rs2000975)	A→G	T59A	Missense	2/30	4/28	>0,05	✓
ATPase-6	8705 (rs878959404)	T→C	M60T	Missense	0/30	1/28	>0,05	✓
ATPase-6	8715 (rs1556423525)	T→C	T63T	Synonymous	1/30	0/28	>0,05	✓
ATPase-6	8774 (rs1603221793)	A→G	N83S	Missense	1/30	0/28	>0,05	✓
ATPase-6	8851 (rs199476136)	T→C	W109R	Missense	0/30	1/28	>0,05	✓
ATPase-6	8860 (rs2001031)	A→G	T112A	Missense	30/30	26/28	>0,05	✓
ATPase-6	8886 (rs386829057)	G→A	K120K	Synonymous	2/30	0/28	>0,05	✓
ATPase-6	8937 (rs1603221921)	T→C	L137L	Synonymous	1/30	0/28	>0,05	✓
ATPase-6	8943 (rs1057520204)	C→T	P139P	Synonymous	0/30	1/28	>0,05	✓
ATPase-6	8950 (rs1556423574)	G→A	V142I	Missense	1/30	1/28	>0,05	✓
ATPase-6	8989 (rs587776444)	G→A	A155T	Missense	1/30	0/28	>0,05	✓
ATPase-6	8994 (rs28358887)	G→A	L156L	Synonymous	2/30	1/28	>0,05	✓
ATPase-6	9010 (rs1556423589)	G→A	A162T	Missense	1/30	0/28	>0,05	✓
ATPase-6	9027	C→T	G167G	Synonymous	1/30	0/28	>0,05	X
ATPase-6	9055 (rs193303045)	G→A	A177T	Missense	1/30	1/28	>0,05	✓
ATPase-6	9067 (rs1603222028)	A→G	M181V	Missense	0/30	1/28	>0,05	✓
ATPase-6	9076	A→G	I184V	Missense	2/30	0/28	>0,05	X
ATPase-6	9120 (rs2298009)	A→G	L198L	Synonymous	1/30	0/28	>0,05	✓
ATPase-6	9180 (rs2298011)	A→G	V218V	Synonymous	0/30	1/28	>0,05	✓
Toplam mutasyon sayısı					55	43		
1 mutasyon taşıyan birey sayısı					11	12		
2 mutasyon taşıyan birey sayısı					13	12		
3 mutasyon taşıyan birey sayısı					6	1		
4 mutasyon taşıyan birey sayısı					0	1		

* $p<0,05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Chi-square testi kullanıldı.

4.4. ATPase6 Mutasyonlarının Klinik Önemi (*in silico* analizi)

Hepatit C hastalarında ve HCV negatif bireylerde saptanmış olan ATPase6 mtDNA mutasyonları çeşitli *in silico* analiz programlarıyla değerlendirildi. ATPase6 mtDNA mutasyonlarından bazılarının gnomAD, PolyPhen2, SIFT, PANTHER ve PROVEAN beş farklı *in silico* analiz veri tabanında çeşitli klinik etkileri benign, nötral, zararlı vs. tespit edildi. Bunlar aşağıdaki Tablo 13’te verildi.

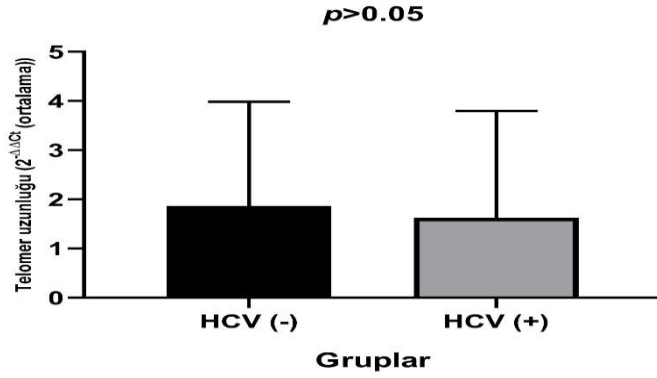
Tablo 13. ATPase-6 mtDNA mutasyonlarının klinik önemi.

Gen	Nükleotit Pozisyonu	Nükleotit değişimi	gnomAD	PolyPhen2	SIFT	PANTHER	PROVEAN
ATPase-6	8684	C→T	Benign	Benign	Nötral	Nötral	Toleranslı
ATPase-6	8697	G→A	-	-	-	-	-
ATPase-6	8701	A→G	Benign	Benign	Nötral	-	Toleranslı
ATPase-6	8705	T→C	Benign	Benign	Nötral	-	Toleranslı
ATPase-6	8715	T→C	-	-	-	-	-
ATPase-6	8774	A→G	-	Muhtemelen zarar verici	Zararlı	-	Zararlı
ATPase-6	8851	T→C	Belirsiz önem	Muhtemelen zarar verici	Zararlı	-	Zararlı
ATPase-6	8860	A→G	Benign	Benign	Nötral	-	Zararlı
ATPase-6	8886	G→A	Muhtemelen benign	-	-	-	-
ATPase-6	8937	T→C	-	-	-	-	-
ATPase-6	8943	C→T	Muhtemelen benign	-	-	-	-
ATPase-6	8950	G→A	Benign	Benign	Nötral	-	Toleranslı
ATPase-6	8989	G→A	Muhtemelen benign	Muhtemelen zarar verici	Nötral	Nötral	Zararlı
ATPase-6	8994	G→A	-	-	-	-	-
ATPase-6	9010	G→A	Muhtemelen benign	Muhtemelen zarar verici	Zararlı	-	Zararlı
ATPase-6	9027	C→T	-	-	-	-	-
ATPase-6	9055	G→A	Benign	Muhtemelen zarar verici	Nötral	Disease	Zararlı
ATPase-6	9067	A→G	Benign	Benign	Nötral	-	Toleranslı
ATPase-6	9076	A→G	-	Benign	Nötral	-	Toleranslı
ATPase-6	9120	A→G	-	-	-	-	-
ATPase-6	9180	A→G	-	-	-	-	-

gnomA: <https://gnomad.broadinstitute.org/>, **Polyphen2:** <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>, **PANTHER:** <http://pantherdb.org/>, **SIFT :** <https://sift.bii.a-star.edu.sg/>, **PROVEAN :** <https://www.jcvi.org/research/provean>

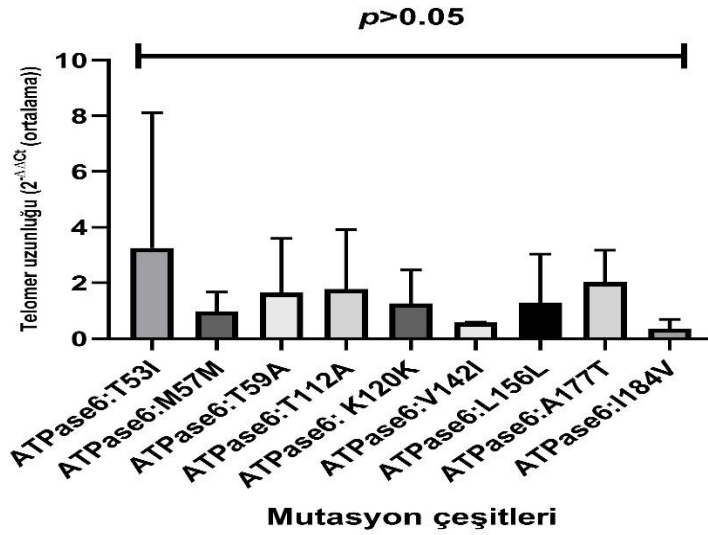
4.5. Hepatit C Hastalarında ve HCV Negatif Bireylerde Telomer Uzunluğu Analizi

Hepatit C hastaları ve HCV negatif bireylerin telomer boyları karşılaştırıldığında hasta bireylerde telomer boyunun kısa olduğu saptandı, fakat istatistiksel açıdan bir fark yoktu ($p=0,7369$) (Şekil 8).



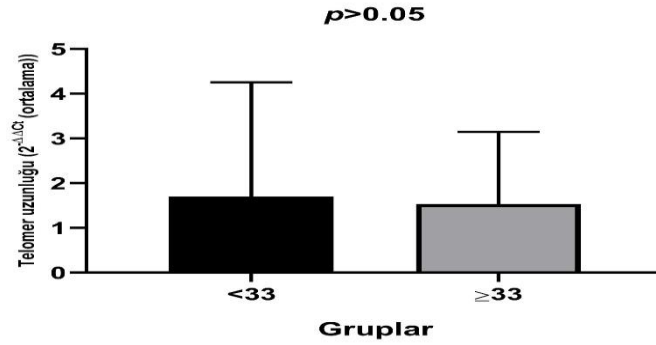
Şekil 8. Hepatit C hastaları ve HCV negatif bireylerin telomer uzunluğu.

İki ve daha fazla sayıda bireyde görülen mutasyon çeşitleri arasında telomer uzunluğu dağılımını incelendiğinde istatistiksel açıdan bir fark yoktu ($p>0,05$) (Şekil 9).



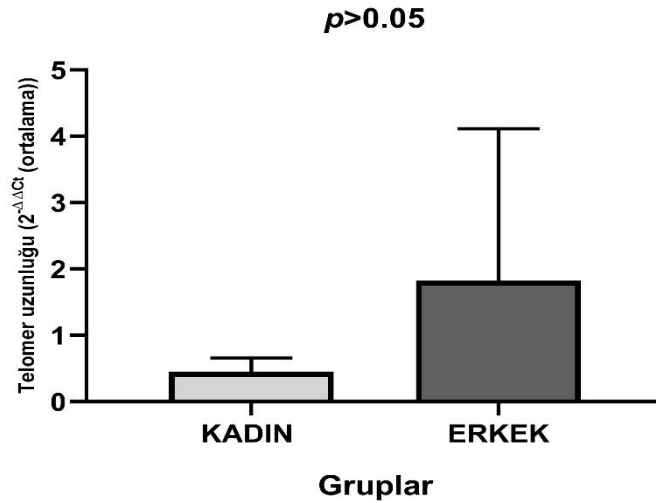
Şekil 9. ATPase6 geni mutasyonlarına göre telomer uzunluğu dağılımı.

Hepatit C hastalarında Tablo 11’de verilen 33,57 yaş ortalamasına göre; 33 yaş altındaki ve 33 yaş ve üzeri olan hastalar şeklinde gruplandırıldığımızda gruplarda telomer uzunluğu kıyaslandığında 33 yaş altı bireylerde telomer boyunun daha uzun olduğu saptandı. Fakat istatistiksel olarak fark yoktu ($p=0,5755$) (Şekil 10).



Şekil 10. Hasta grubunda yaşa göre telomer boyunun dağılımı.

Hepatit C hastalarının cinsiyet dağılımlarına baktığımızda 28 hastanın 4’ü kadın ve 24’ü erkekti. Ayrıca hasta grubunda cinsiyete göre telomer uzunluğunun dağılımında baktığımızda erkeklerin telomer boyunun daha uzun olduğu belirlendi. Ama istatistiksel olarak anlamlı fark görülemedi ($p=0,0964$) (Şekil 11).



Şekil 11. Hasta grubunda cinsiyete göre telomer boyunun dağılımı.

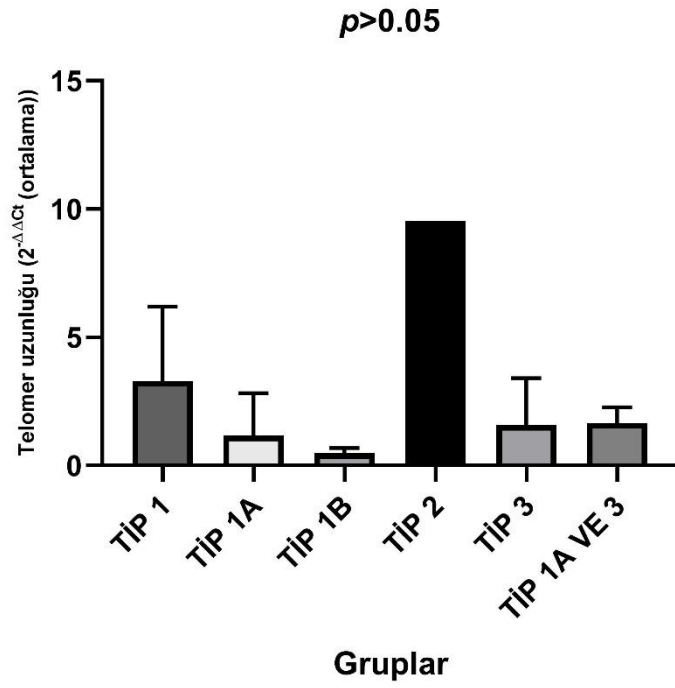
Hepatit C hastalarında biyokimyasal test sonuçları referans aralıklarına göre yüksek, düşük veya normal gruplandırıp telomer uzunlukları kıyasladığında istatistiksel açıdan bir fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 14).

Tablo 14. Hepatit C hastalarında telomer uzunluğu ve biyokimyasal parametreler.

Parametreler (referans aralıkları)	Telomer uzunluğu (ortalama $2^{-\Delta\Delta Ct}$)	P değeri
Kreatin (0,5-0,9 g/dL)[#]		0,2352
Normal	0,8744	
Yüksek	2,6141	
AST (0-40 U/L)^ψ		0,7594
Normal	1,5169	
Yüksek	1,7390	
ALT (0-41 U/L)^ψ		0,6719
Normal	1,2572	
Yüksek	1,8035	
ALP (40-129 U/L)^γ		0,7199
Normal	1,7431	
Yüksek	1,3683	
Düşük	0,6934	
GGT (8-61 U/L)^ψ		0,4862
Normal	1,3636	
Yüksek	2,1038	
WBC (3,8-8,76x10⁹/L)^ψ		0,8035
Normal	1,6898	
Yüksek	1,4422	
HB (13,2-16,6 g/dL)^γ		0,3078
Normal	2,1710	
Yüksek	1,5789	
Düşük	0,5247	
PLT (150-400x10⁹/L)^γ		0,1973
Normal	1,9325	
Yüksek	0,5962	
Düşük	0,4260	

#: t testi kullanıldı.; Ψ: Mann-Whitney U testi kullanıldı.; γ: Kruskal-Wallis testi kullanıldı.; * $p<0,05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Son olarak, hepatit C hastalarının HCV genotip çeşitlerine göre telomer uzunlukları karşılaştırdığında istatistiksel açıdan bir fark yoktu ($p=0,2845$) (Şekil 12).



Şekil 12. Hasta grubunda genotip çeşitlerine göre telomer boyunun dağılımı.

5. TARTIŞMA

HCV enfeksiyonu dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. HCV morbidite ve mortalitesinin azaltılması, çeşitli viral ve konak faktörlerine ait güncel bir zorluktur. Virüs moleküler evrimi, HCV bulaşmasında, hastalığın ilerlemesinde ve tedavi sonucunda önemli bir rol oynar (253). Kronik HCV enfeksiyonu siroz, hepatosellüler karsinom ve karaciğer yetmezliğinin önde gelen nedenidir. Dahası, kronik HCV enfeksiyonu karaciğer yağlanması ve metabolik bozukluklarla da ilişkilidir. Dünyada 130-150 milyon HCV ile kronik olarak enfekte insan bulunmaktadır (254). HCV biyolojisi, immünopatolojisi ve neden olduğu karaciğer hastalıklarının daha iyi bir anlaşılması, daha iyi tedavi stratejilerinin tasarlanmasına yardımcı olacaktır (255). Mevcut tedavi seçenekleri sınırlı olsa da, hepatit C'nin moleküler virolojisinin anlaşılmasındaki ilerleme, yeni antiviral hedeflerin tanımlanmasına yol açmıştır (256).

Mutasyonlar, mtDNA'da nükleer DNA'ya kıyasla daha fazla birikmektedir; bunun başlıca nedeni, mitokondrilerin histon benzeri nükleoproteinlerden yoksun olması ve önemli miktarda reaktif oksijen türü üretmesidir (257). HCV enfeksiyonuna eşlik eden oksidatif stresin mitokondriyal disfonksiyona yol açtığı düşünülmektedir (258). Bir çalışmada, HCV enfeksiyonunun karaciğerde mtDNA mutasyonunu artırdığını gösterilmiştir (15). HCV enfeksiyonu mtDNA genetik çeşitliliğini güçlü şekilde etkiler (171). Mitokondriyal ATPase6 geni, ATP sentezinde önemli bir rol oynadığı için, ATPase6'yı etkileyen mutasyonlar şüphesiz insanlarda çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir. Bununla birlikte, ATPase6 geninin hızlı evrimleşen bir gen olduğu bilinmektedir ve adli vaka çalışmaları için "kimliklendirme" araştırmalarına izin verecek kadar polimorfizm üretmiştir (259). ATP sentezinin alt birimi a'yı kodlayan mitokondriyal gende (ATPase6) düzinelerce patojenik mutasyon bulunmuştur. Alt birim a, özdeş alt birimler c halkasıyla birlikte, alt birim c halkasının dönüşü ve ATP senteziyle birleşerek protonları mitokondriyal iç zar boyunca hareket ettirir (260).

Biz bu çalışmada 28 hepatit C hastasında ve 30 HCV negatif bireyde ATPase6 mutasyonlarını inceledik. HCV negatif bireylerde 55 ve hasta bireylerde 43 ATPase6 geni mutasyonunu Sanger DNA dizi analiziyle saptadık. Ayrıca hasta bireylerde 12 farklı ATPase6 mutasyon çeşidi görüldü. Hepatit C hastalarının 12'sinde 1 mutasyon çeşidi, 12'sinde 2, birinde 3 ve birinde 4 ATPase6 geni mutasyon çeşidi belirlendi. Diğer taraftan, HCV negatif

bireylerde 16 farklı ATPase6 mutasyon çeşidi olduğu görüldü. HCV negatif bireylerin 11'inde 1 mutasyon çeşidi, 13'ünde 2 ve altısında 3 ATPase6 geni mutasyon çeşidi belirlendi. HCV negatif bireylerin tamamında (30/30) ve hasta bireylerin ise 26/28'inde m.8860 A>G (T112A) mutasyonu saptandı. Literatürde hepatit C hastalarında ATPase6 geni mutasyonu ile ilgili pek çalışma bulamadık. Fakat mitokondrinin diğer genleri ile ilgili HCV veya HCV ile ilişkili diğer hastalıklarda birkaç çalışmaya rastladık. HCV enfeksiyonu olan bireylerde D-loop'ta, kontrol grubundan çok daha fazla mtDNA mutasyonu olduğu tespit edilmiştir (2,8'e karşı 0,5; $p<0,01$) (172). Bir başka çalışmada ise 48 hastanın mtDNA'sında üç veya daha fazla mutasyon bulunan 33 hastanın 10'unda multisentrik HCC oluşumu saptanırken, mtDNA'sında iki veya daha az mutasyon bulunan 15 hastada multisentrik HCC görülmemiştir (12). Hepatit C'li 44 hasta ve kalıcı virolojik yanıtı olan 13 hasta ile yapılan bir çalışmanın bulgularına baktığımızda; ortalama mtDNA mutasyon sayısı HCV'li 44 HCC'de 4,2 ve kalıcı virolojik yanıtı olan 14 HCC'de 2,0 olarak tespit edilmiştir. mtDNA mutasyonu kalıcı virolojik yanıtı olan hastalardan alınan HCC'lerde HCV'li hastalara göre daha az sıklıkla tespit edilmiştir (261).

HCV enfeksiyonunda hızlandırılmış lenfosit telomer kısalması, DNA hasarı yanıtını indükleyen çift sarmallı DNA kırıkları üretir ve istenmeyen olumsuz klinik sonuçlarla ilişkilidir (262). Bir araştırmada benzer şekilde, aktif hepatit C'li hastaların hem sağlıklı kontrollerle hem de HCV enfeksiyonu ortadan kaldırılmış hastalara kıyasla daha kısa telomerlere sahip oldukları gösterilmiştir (4, 263). Hepatosit hücre döngüsü yenilenmesinin HCV enfeksiyonunda telomer kısalmasının birincil mekanizması olduğunu, fibrozis ve hücre yaşlanmayı indüklediğini öne süren kanıtlar mevcuttur (264, 265). HCV enfeksiyonunun farklı evrelerindeki hastalarda telomeraz ters transkriptaz mRNA ekspresyonu ile telomer uzunluğu arasında bir korelasyonun olduğu ve bu korelasyonun malign transformasyon riski ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (6). Bir başka araştırmada, HCV ile enfekte hücrelerde, nükleer telomer uzunluğu düzenleme proteininin (TEN1) seviyesinin azalmasının telomerin bütünlüğünü bozduğunu, telomer uzunluğunu azalttığı rapor edilmiştir (266). Telomer kısalması kronik hepatit C, kronik karaciğer hastalığı ve karaciğer sirozu gibi kronik hastalıklar tarafından kolaylaştırılabilir (4, 6, 267-268). Diğer bir araştırmada serum ALT düzeyi yüksek (>100 IU/L) olan hastaların telomer uzunluğunun, serum ALT düzeyi düşük olan hastalarından daha kısa olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada yüksek ROS düzeylerinin genellikle daha kısa telomerlerle ilişkili olduğunu gösterilmiştir (264). Özellikle kromozomal instabiliteye yol açan HCC'de, kronik HCV

enfeksiyonuna bağlı olarak hepatositlerde telomer uzunluklarının daha kısa olduğu bulunmuştur (269-271).

Bu mevcut çalışmada hepatit C hastalarında ATPase6 geni mtDNA mutasyonları ve telomer uzunluğu ilk kez birlikte analiz edilmiştir. Bu çalışmamızda literatürle uyumlu şekilde, hepatit C hastalarında telomer uzunluğunun HCV negatif bireylere kıyasla daha kısa olduğunu gösterdik. Fakat hasta ve sağlıklı gruplar arasında telomer uzunluğunda istatistiksel olarak bir fark belirlenemedi ($p>0,05$). Hasta bireylerin yaşı ortalaması 33,57 olduğu için, 33 yaşı üstü ve altı olan bireyler şeklinde 2 gruba ayırıp telomer boylarını kıyasladığımızda, 33 yaşı üstü hastalarda telomer boyunun daha kısa ama istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Hepatit C hastalarında erkeklerin telomer boyu kadınlardan daha uzundu. Fakat istatistiksel açıdan bir fark bulunamadı. Biyokimyasal test sonuçlarının normal, yüksek veya düşük olma durumları ile telomer boyu arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Telomer boyu m.8684 C>T (T53I) ATPase6 mtDNA mutasyonu taşıyan bireylerde en uzun ve m.9076 A>G (I184V) mutasyonu taşıyan bireylerde ise en kısaydı. İstatistiksel olarak mutasyon çeşitleri arasında telomer uzunlukları arasında bir fark görülmedi.

Bu çalışmada HCV pozitif hastalarda ve HCV negatif bireylerde telomer boyu ve ATPase6 geni mtDNA mutasyonları analiz edilmiştir. Yukarıda da bahsedildiği üzere, her iki grupta da çeşitli ATPase6 geni mtDNA mutasyonları saptanmıştır ve HCV pozitif bireyler HCV negatif olan bireylere kıyasla daha kısa telomer boyuna sahip oldukları görülmüştür. Mutasyon sıklığı ve telomer boyu arasında anlamlı bir fark görülememiştir. HCV pozitif hastaların biyokimyasal test sonuçlarına göre telomer uzunlukları arasında anlamlı bir fark belirlenemedi.

Bu çalışmada çeşitli kısıtlılıklar vardı. İlk olarak, bu çalışma kısıtlı bir bütçeyle gerçekleştirilmiştir. İkincisi, düşük bütçe sebebiyle az sayıda bireyde çalışma yapılmıştır. Üçüncüsü, hastalar arasında genotip çeşitlerine göre veya diğer demografik verilerin özelliklerine göre eşit veya birbirine yakın sayıda örnekle gruplama yapma şansı olmamıştır. Dördüncüsü, bu çalışmada sadece ATPase6 geni mtDNA mutasyonlarına bakılabilmıştır, mtDNA'nın diğer genlerindeki (CYB, ND1, D loop vs.) mutasyonlar araştırılamamıştır. Beşincisi, literatürde hepatit C hastalarında mtDNA mutasyonları çalışın pek fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Bu sebeple çok fazla sonuçlarımızı başka çalışmalarla karşılaştırma ve tartışma şansımız olmadı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada ilk kez hepatit C hastalarında ATPase6 mtDNA mutasyonları ve telomer uzunluğu birlikte analiz edilmiştir.
2. ATPase6 geni mtDNA mutasyonları hem hepatit C hastalarında hem de HCV negatif olan bireylerde çeşitli tipte ve farklı frekansta bulunmuştur.
3. Hepatit C hastalarında telomer uzunluğu HCV negatif olan bireylere kıyasla daha kısaydı.
4. Bulgularımız, gelecekte HCV enfeksiyonu olan hastalarda bu iki genetik mekanizma ile ilgili yapılacak çalışmalara temel oluşturmuştur ve yol gösterici olacağına inanıyoruz.
5. Gelecekte daha geniş hasta popülasyonlarında bu genetik değişikliklerin araştırılması hem bu çalışmanın bulgularının teyit edilmesini hem de önemini açığa çıkaracaktır.

7. KAYNAKLAR

1. González-Grande R. New approaches in the treatment of hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2016; 22:1421.
2. Cheney CP, Chopra S, Graham C. Hepatitis C. *Infect Dis Clin North Am* 2000; 14:633-667.
3. Hino K, Nishina S, Sasaki K, Hara Y. Mitochondrial damage and iron metabolic dysregulation in hepatitis C virus infection. *Free Radic Biol Med* 2019; 133:193-199.
4. Kitay-Cohen Y, Goldberg-Bittman L, Hadary R, Fejgin MD, Amiel A. Telomere length in Hepatitis C. *Cancer Genet Cytogenet* 2008; 187:34-38.
5. Piciocchi M, Cardin R, Cillo U, Vitale A, Cappon A, Mescoli C, et al. Differential timing of oxidative DNA damage and telomere shortening in hepatitis C and B virus-related liver carcinogenesis. *Transl Res* 2016; 168:122-133.
6. Biron-Shental T, Amiel A, Anchidin R, Sharony R, Hadary R, Kitay-Cohen Y. Telomere length and telomerase reverse transcriptase mRNA expression in patients with hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2013; 60:1713-6.
7. Ivanov A, Smirnova O, Petrushanko I, Ivanova O, Karpenko I, Alekseeva E, et al. HCV Core Protein Uses Multiple Mechanisms to Induce Oxidative Stress in Human Hepatoma Huh7 Cells. *Viruses* 2015; 7:2745-2770.
8. Duponchel S, Monnier L, Molle J, Bendridi N, Alam MR, Gaballah A, et al. Hepatitis C virus replication requires integrity of mitochondria-associated ER membranes. *JHEP Reports* 2023; 5:100647.
9. Song S, Gong S, Singh P, Lyu J, Bai Y. The interaction between mitochondria and oncoviruses. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* 2018; 1864:481-487.
10. Machida K, Cheng KT-H, Lai CK, Jeng K-S, Sung VM-H, Lai MMC. Hepatitis C virus triggers mitochondrial permeability transition with production of reactive oxygen species, leading to DNA damage and STAT3 activation. *J Virol* 2006; 80:7199-7207.

11. Lagathu C, Cossarizza A, Béréziat V, Nasi M, Capeau J, Pinti M. Basic science and pathogenesis of ageing with HIV. *AIDS* 2017; 31:105-119.
12. Kubo S. Multicentric occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with a somatic mutation of mitochondrial DNA and hepatitis C virus. *Hepatology* 2003; 25:78-82.
13. Wang T, Weinman SA. Causes and consequences of mitochondrial reactive oxygen species generation in hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21.
14. Kim S-J, Syed GH, Siddiqui A. Hepatitis C virus induces the mitochondrial translocation of parkin and subsequent mitophagy. *Ou JJ, editor. PLoS Pathog* 2013; 9:e1003285.
15. Nishikawa M, Nishiguchi S, Kioka K, Tamori A, Inoue M. Interferon reduces somatic mutation of mitochondrial DNA in liver tissues from chronic viral hepatitis patients. *J Viral Hepat* 2005; 12:494-498.
16. Zeisel MB, Felmlee DJ, Baumert TF. Hepatitis C Virus Entry. In 2013; 87-112.
17. Lombardi A, Mondelli MU. Hepatitis C: Is eradication possible? *Liver Int* 2019; 39:416-426.
18. Pawlotsky J-M, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dusheiko G, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *J Hepatol* 2020; 73:1170-1218.
19. Blach S, Zeuzem S, Manns M, Altraif I, Duberg A-S, Muljono DH, et al. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2:161-176.
20. Applegate TL, Fajardo E, Sacks JA. Hepatitis C virus diagnosis and the holy grail. *Infect Dis Clin North Am* 2018; 32:425-445.
21. Mukherjee R, Burns A, Rodden D, Chang F, Chaum M, Garcia N, et al. Diagnosis and management of hepatitis C virus infection. *SLAS Technol* 2015; 20:519-538.
22. Chevaliez S, Poiteau L, Rosa I, Soulier A, Roudot-Thoraval F, Laperche S, et al. Prospective assessment of rapid diagnostic tests for the detection of antibodies to hepatitis C virus, a tool for improving access to care. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22:459.e1-459.e6.

23. Khuroo MS, Khuroo NS, Khuroo MS. Diagnostic accuracy of point-of-care tests for hepatitis C virus infection: a systematic review and meta-analysis. Wong V, editor. PLoS One 2015; 10:e0121450.
24. Shivkumar S, Peeling R, Jafari Y, Joseph L, Pant Pai N. Accuracy of rapid and point-of-care screening tests for hepatitis C. *Ann Intern Med* 2012; 157:558.
25. Tang W, Chen W, Amini A, Boeras D, Falconer J, Kelly H, et al. Diagnostic accuracy of tests to detect hepatitis C antibody: a meta-analysis and review of the literature. *BMC Infect Dis* 2017; 17:695.
26. Pallarés C, Carvalho-Gomes Â, Hontangas V, Conde I, Di Maira T, Aguilera V, et al. Performance of the OraQuick Hepatitis C virus antibody test in oral fluid and fingerstick blood before and after treatment-induced viral clearance. *J Clin Virol* 2018; 102:77-83.
27. Chevaliez S, Pawlotsky J-M. New virological tools for screening, diagnosis and monitoring of hepatitis B and C in resource-limited settings. *J Hepatol* 2018; 69:916-926.
28. EKMUD. Hepatit C Klavuzu. 2023.
29. Manns MP, Maasoumy B. Breakthroughs in hepatitis C research: from discovery to cure. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2022; 19:533-550.
30. Houghton M. Hepatitis C virus: 30 years after its discovery. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2019; 9:a037069.
31. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland P V. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975; 292:767-770.
32. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* (80-) 1989; 244:359-362.
33. Dubuisson J, Cosset F-L. Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle - An update. *J Hepatol* 2014; 61:S3-S13.
34. Drexler JF, Corman VM, Müller MA, Lukashev AN, Gmyl A, Coutard B, et al. Evidence for novel hepaciviruses in rodents. Wang D, editor. PLoS Pathog 2013; 9:e1003438.

35. Kapoor A, Simmonds P, Gerold G, Qaisar N, Jain K, Henriquez JA, et al. Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci* 2011; 108:11608-11613.
36. Kapoor A, Simmonds P, Scheel TKH, Hjelle B, Cullen JM, Burbelo PD, et al. Identification of rodent homologs of hepatitis C virus and pegiviruses. Moscona A, editor. *MBio* 2013; 4.
37. Quan P-L, Firth C, Conte JM, Williams SH, Zambrana-Torrel CM, Anthony SJ, et al. Bats are a major natural reservoir for hepaciviruses and pegiviruses. *Proc Natl Acad Sci* 2013; 110:8194-8199.
38. Rosenberg S. Recent advances in the molecular biology of hepatitis C virus. *J Mol Biol* 2001; 313:451-464.
39. Thomson BJ and Finch RG. Hepatitis C virus infection. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:86-94.
40. Piñeiro D, Martínez-Salas E. RNA structural elements of hepatitis C virus controlling viral RNA translation and the implications for viral pathogenesis. *Viruses* 2012; 4:2233-50.
41. Li DK, Chung RT. Overview of direct-acting antiviral drugs and drug resistance of hepatitis C virus. *In* 2019; 3-32.
42. Niepmann M, Gerresheim GK. Hepatitis C virus translation regulation. *Int J Mol Sci* 2020; 21:2328.
43. Sallam M, Khalil R. Contemporary insights into Hepatitis C virus: A comprehensive review. *Microorganisms* 2024; 12:1035.
44. Polyak SJ, Klein KC, Shoji I, Miyamura T, Lingappa JR. Assemble and interact: pleiotropic functions of the HCV core protein. *Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology*. 2006.
45. Dubuisson J. Hepatitis C virus proteins. *World J Gastroenterol* 2007; 13:2406.
46. Boukadida C, Fritz M, Blumen B, Fogeron M-L, Penin F, Martin A. NS2 proteases from hepatitis C virus and related hepaciviruses share composite active sites and previously

unrecognized intrinsic proteolytic activities. Randall G, editor. PLOS Pathog 2018; 14:e1006863.

47. Scheel TKH, Rice CM. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. Nat Med 2013; 19:837-849.

48. Romero-Brey I, Merz A, Chiramel A, Lee J-Y, Chlanda P, Haselman U, et al. Three-dimensional architecture and biogenesis of membrane structures associated with Hepatitis C virus replication. Luo GG, editor. PLoS Pathog 2012; 8:e1003056.

49. Sesmero E, Thorpe I. Using the Hepatitis C Virus RNA-dependent RNA polymerase as a model to understand viral polymerase structure, function and dynamics. Viruses 2015; 7:3974-3994.

50. Ranjith-Kumar CT, Kao CC. Biochemical activities of the HCV NS5B RNA-dependent RNA polymerase. Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology. 2006.

51. Morozov VA, Lagaye S. Hepatitis C virus: Morphogenesis, infection and therapy. World J Hepatol 2018; 10:186-212.

52. Kaito M, Watanabe S, Tsukiyama-Kohara K, Yamaguchi K, Kobayashi Y, Konishi M, et al. Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopic study. J Gen Virol 1994; 75:1755-1760.

53. Gastaminza P, Dryden KA, Boyd B, Wood MR, Law M, Yeager M, et al. Ultrastructural and biophysical characterization of Hepatitis C virus particles produced in cell culture. J Virol 2010; 84:10999-11009.

54. Moriishi K, Matsuura Y. Exploitation of lipid components by viral and host proteins for hepatitis C virus infection. Front Microbiol 2012; 3:54.

55. Giannini C, Bréchet C. Hepatitis C virus biology. Cell Death Differ 2003; 10:27-38.

56. Vercauteren K, Mesalam AA, Leroux-Roels G, Meuleman P. Impact of lipids and lipoproteins on hepatitis C virus infection and virus neutralization. World J Gastroenterol 2014; 20:15975.

57. Grassi G. Hepatitis C virus relies on lipoproteins for its life cycle. World J Gastroenterol

2016; 22:1953.

58. Balkan Bozlak ÇE, Gümüş A, Yılmaz A. Hepatitis C genotype assay and sequence analysis at a University Hospital in Eastern Türkiye. *Kafkas J Med Sci* 2023; 13:279-286.

59. Kato N. Genome of human Hepatitis C virus (HCV): Gene organization, sequence diversity, and variation. *Microb Comp Genomics* 2000; 5:129-151.

60. Aktaş O, Özbek A, Aydın H, Özkülekçi MB. Distribution of HCV genotypes in patients of with chronic hepatitis C in the Eastern Anatolia Region. *Viral Hepatit Derg* 2014; 20:91-94.

61. Mostafa A, Shimakawa Y, Medhat A, Mikhail NN, Chesnais CB, Arafa N, et al. Excess mortality rate associated with hepatitis C virus infection: A community-based cohort study in rural Egypt. *J Hepatol* 2016; 64:1240-1246.

62. Butt F, Shahid M, Hassan M, Tawakkal F, Amin I, Afzal S, et al. A review on hepatitis C virus: role of viral and host-cellular factors in replication and existing therapeutic strategies. *Egypt Liver J* 2022; 12:71.

63. Thong VD. Hepatitis C virus genotype 6: Virology, epidemiology, genetic variation and clinical implication. *World J Gastroenterol* 2014; 20:2927.

64. Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus - 15 years on. *J Gen Virol* 2004; 85:3173-3188.

65. Antaki N, Craxi A, Kamal S, Moucari R, Van der Merwe S, Haffar S, et al. The neglected hepatitis C virus genotypes 4, 5 and 6: an international consensus report. *Liver Int* 2010; 30:342-355.

66. Mellor J, Holmes EC, Jarvis LM, Yap PL, Simmonds P. Investigation of the pattern of hepatitis C virus sequence diversity in different geographical regions: implications for virus classification. *J Gen Virol* 1995; 76:2493-2507.

67. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2007; 13:2436.

68. Nguyen LH, Nguyen MH. Systematic review: Asian patients with chronic hepatitis C

infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37:921-936.

69. Khan A, Al Balwi M, AlAyyar L, AlAbdulkareem I, Albekairy A, Aljumah A. Tracing the epidemic history of hepatitis C virus genotypes in Saudi Arabia. *Infect Genet Evol* 2017; 52:82-88.

70. AlMalki WH, Shahid I, Abdalla AN, Johargy AK, Ahmed M, and Hassan S. Virological surveillance, molecular phylogeny, and evolutionary dynamics of hepatitis C virus subtypes 1a and 4a isolates in patients from Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci* 2021; 28:1664-1677.

71. Ciccozzi M, Ciccaglione AR, Presti A Lo, Yalcinkaya T, Taskan ZP, Equestre M, et al. Reconstruction of the evolutionary dynamics of the hepatitis C virus 1b epidemic in Turkey. *Infect Genet Evol* 2011; 11:863-868.

72. Abacioglu YH, Davidson F, Tuncer S, Yap P -L., Ustacelebi S, Yulug N, et al. The distribution of hepatitis C virus genotypes in Turkish patients. *J Viral Hepat* 1995; 2:297-301.

73. Cetin Duran A, Kaya Cetinkaya O, Sayiner AA, Seydaoglu G, Ozkaratas E, and Abacioglu H. Changes on Hepatitis C virus genotype distribution in Western Turkey: Evaluation of twelve-year data. *Turkish J Gastroenterol* 2020; 31:128-135.

74. Hajarizadeh B, Grebely J, Dore GJ. Epidemiology and natural history of HCV infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10:553-562.

75. Hu W, Zhang C, Shi JJ, Zhang JY, Wang FS. Hepatitis C: milestones from discovery to clinical cure. *Mil Med Res* 2020; 7:59.

76. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014; 61:45-57.

77. Roudot-Thoraval F. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2021; 45:101596.

78. World Health Organization (WHO) (2022). Hepatitis C. 2022.

79. Blach S, Terrault NA, Tacke F, Gamkrelidze I, Craxi A, Tanaka J, et al. Global change in hepatitis C virus prevalence and cascade of care between 2015 and 2020: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2022; 7:396-415.

80. World Health Organization. Hepatitis C. 2023.
81. World Health Organization. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021. 2016.
82. Taskin MH, Gunal O, Arslan S, Kaya B, Kilic SS, Akkoyunlu GK, ve ark. Epidemiological findings on Hepatitis C infection in a tertiary level hospital in mid-northern Anatolia in Turkey: A four-year analysis. *Trop Biomed* 2020; 37:227-236.
83. Suntur BM, Kaya H, Eker HBS, Kara B, Bozok T, Unal N. A cross-sectional study of real life data of HCV from Turkey south region. *J Infect Dev Ctries* 2020; 14:380-386.
84. Acikgoz A, Cimrin D, Kizildag S, Esen N, Balci P, and Sayiner AA. Hepatitis A, B and C seropositivity among first-year healthcare students in western Turkey: a seroprevalence study. *BMC Infect Dis* 2020; 20:529.
85. Çınar Tanrıverdi E, Özkurt Z, Göktuğ Kadioğlu B, Alay H, Çalikoğlu O, Koca Ö, ve ark. Seroprevalence of hepatitis B, hepatitis C, and HIV in pregnant women from Eastern Turkey. *Turk J Gastroenterol* 2019; 30:260-265.
86. Balaban HY, Dag O, Alp A, Tseveldorj N, Vahabov C, Goktas MA, ve ark. Retrospective Evaluation of Hepatitis C awareness in Turkey through two decades. *Turkish J Gastroenterol* 2021; 32:88-96.
87. Sirin MC, Cicioglu Aridogan B, Sesli Cetin E, Sirin FB. Evaluation of biochemical, hematological, RIBA and PCR assays in predicting viremia in anti-HCV positive patients. *J Infect Dev Ctries* 2019; 13:736-743.
88. İnci A, Güven D, Okay M. HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV and Anti-HIV seroprevalence of the patients applied to Artvin State Hospital. *Viral Hepatit Derg* 2013; 19:41-44.
89. İnci H, Aşgın N, İnci F, Adahan D. Bir üniversite hastanesi Aile Hekimliği Polikliniğine başvuran bireylerde yaş gruplarına göre viral hepatit seroprevalansı. *Konuralp Tıp Derg* 2020; 12:34-38.
90. Demirpençe Ö, Işık Tezcan S, Değirmen E, Mert D, Gümüş A, Çelen MK. Batman Devlet Hastanesine başvuran kişilerde hepatit ve HIV serolojisinin sonuçları. *Viral Hepatit Derg* 2012; 18:6-10.

91. Duran A. Retrospective Analysis of Hepatitis B and Hepatitis C Viruses and HIV infections in patients presenting to the general surgery clinic and evaluated preoperatively. *J Contemp Med* 2022; 12:373-376.
92. Kaçmaz B. Ankara ilinde hepatit B ve hepatit C infeksiyonu seroprevelansı. *Viral Hepatit Derg* 2003; 2:101.
93. Delwaide J, Bourgeois N, Colle I, Robaeys G. Risk factors for hepatitis C: past, present and future. *Acta Gastroenterol Belg* 2002; 65:87-9.
94. Alter MJ. Prevention of spread of hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36:93-98.
95. Puro, V, Petrosillo N, Ippolito G. Risk of hepatitis C seroconversion after occupational exposures in health care workers. Italian study group on occupational risk of HIV and other bloodborne infections. *Am J Infect Control* 1995; 23:273-277.
96. Roberts EA, Yeung L. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2002; 36:106-113.
97. Terrault NA. Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36:99–105.
98. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR Recomm Rep* 1998; 1-39.
99. Mast EE. Mother-to-infant Hepatitis C virus transmission and breastfeeding. In 2004; 211-216.
100. Quer, J, Mur J. Hepatitis C virus: epidemiology and prevention. In: *Viral Hepatitis*. 2014; 246-265.
101. Ray, SC, Thomas D. Hepatitis C. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 2010; 2157-2185.
102. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L, and Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm reports Morb Mortal Wkly report Recomm reports* 2003; 52:1-13, 15; quiz CE1-4.

103. Dufour DR, Talastas M, Fernandez MDA, Harris B. Chemiluminescence assay improves specificity of Hepatitis C antibody detection. *Clin Chem* 2003; 49:940-944.
104. Corcorran, MA; MPH; David, H Spach M. Hepatitis C diagnostic testing. *Hepatitis C online*. 2024; 1-20.
105. Kamili S, Drobeniuc J, Araujo AC, Hayden TM. Laboratory diagnostics for Hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis* 2012; 55:43–48.
106. Hullegie SJ, GeurtsvanKessel CH, van der Eijk AA, Ramakers C, Rijnders BJA. HCV antigen instead of RNA testing to diagnose acute HCV in patients treated in the Dutch Acute HCV in HIV Study. *J Int AIDS Soc* 2017; 20.
107. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Hepatit C. 2025. Available from: URL: <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/hastaliklar/hepatit-c.html>
108. Chauhan VS. Post genomics identification of blood stage invasins of *Plasmodium Falciparum*. *Proc Indian Natl Sci Acad* 2017; 94.
109. Ruan L, Zhou C, Jin E, Kucharavy A, Zhang Y, Wen Z, et al. Cytosolic proteostasis through importing of misfolded proteins into mitochondria. *Nature* 2017; 543:443-446.
110. Shoshan-Barmatz V, Gincel D. The voltage-dependent anion channel: characterization, modulation, and role in mitochondrial function in cell life and death. *Cell Biochem Biophys* 2003; 39:279-292.
111. Protasoni M, Zeviani M. Mitochondrial structure and bioenergetics in normal and disease conditions. *Int J Mol Sci* 2021; 22:586.
112. Palade GE. An electron microscope study of the mitochondrial structure. *J Histochem Cytochem* 1953; 1:188-211.
113. Antolínez-Fernández Á, Esteban-Ramos P, Fernández-Moreno MÁ, Clemente P. Molecular pathways in mitochondrial disorders due to a defective mitochondrial protein synthesis. *Front Cell Dev Biol* 2024; 12:1410245.
114. Giménez-Palomo A, Dodd S, Anmella G, Carvalho AF, Scaini G, Quevedo J, et al. The role of mitochondria in mood disorders: from physiology to pathophysiology and to

treatment. *Front Psychiatry* 2021; 12: 546801.

115. Pintus F, Floris G, Rufini A. Nutrient availability links mitochondria, apoptosis, and obesity. *Aging (Albany NY)* 2012; 4:734-741.

116. Giménez-Palomo A, Andreu H, de Juan O, Olivier L, Ochandiano I, Ilzarbe L, et al. Mitochondrial Dysfunction as a biomarker of illness state in bipolar disorder: a critical review. *Brain Sci* 2024; 14:1199.

117. Huang A, Xue H, Xie T, Xiang L, Chen Z, Ma A, et al. A review of the pathogenesis of mitochondria in breast cancer and progress of targeting mitochondria for breast cancer treatment. *J Transl Med* 2025; 23:70.

118. Lerchner T, Jedlička J, Kripnerová M, Dejmeck J, Kuncová J. Influence of micro- and nanoplastics on mitochondrial function in the cardiovascular system: a review of the current literature. *Physiol Res* 2024; 685-695.

119. Liu A-M, Xu W-L, Xiao H, Dong E-D. Cardiac β -adrenergic receptor regulation of mitochondrial function in heart failure. *Sheng Li Xue Bao* 2024; 76:865-880.

120. Chen F, Xu K, Han Y, Ding J, Ren J, Wang Y, et al. Mitochondrial dysfunction in pancreatic acinar cells: mechanisms and therapeutic strategies in acute pancreatitis. *Front Immunol* 2024; 15.

121. Bhatti JS, Bhatti GK, Reddy PH. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders- A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* 2017; 1863:1066-1077.

122. Zhang M, Wei J, He C, Sui L, Jiao C, Zhu X, et al. Inter- and intracellular mitochondrial communication: signaling hubs in aging and age-related diseases. *Cell Mol Biol Lett* 2024; 29:153.

123. Raju R, Jian B, Hubbard W, Chaudry I. The mitoscriptome in aging and disease. *Aging Dis* 2011; 2:174-180.

124. Bansal Y and Kuhad A. Mitochondrial dysfunction in depression. *Curr Neuropharmacol* 2016; 14:610-618.

125. Cuperfain AB, Zhang ZL, Kennedy JL, Gonçalves VF. The complex interaction of mitochondrial genetics and mitochondrial pathways in psychiatric disease. *Complex Psychiatry* 2018; 4:52-69.
126. Temperley RJ, Wydro M, Lightowlers RN, Chrzanowska-Lightowlers ZM. Human mitochondrial mRNAs-like members of all families, similar but different. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg* 2010; 1797:1081-1085.
127. Pérez MJ, Colombo RB, Real SM, Branham MT, Laurito SR, Moraes CT, et al. Rewriting nuclear epigenetic scripts in mitochondrial diseases as a strategy for heteroplasmy control. 2024.
128. Zhang X, Zhang B, Tao Z, Liang J. Mitochondrial disease and epilepsy in children. *Front Neurol* 2025; 15:1499876.
129. Stańczyk M, Szubart N, Maslanka R, Zadrag-Tecza R. Mitochondrial dysfunctions: genetic and cellular implications revealed by various model organisms. *Genes (Basel)* 2024; 15:1153.
130. Luo L, Wang M, Liu Y, Li J, Bu F, Yuan H, et al. Sequencing and characterizing human mitochondrial genomes in the biobank-based genomic research paradigm. *Sci China Life Sci* 2025;68:1610-1625.
131. Monzel AS, Enríquez JA, Picard M. Multifaceted mitochondria: moving mitochondrial science beyond function and dysfunction. *Nat Metab* 2023; 5:546-562.
132. Chapman J, Fielder E, Passos JF. Mitochondrial dysfunction and cell senescence: deciphering a complex relationship. *FEBS Lett* 2019; 593:1566-1579.
133. Zhu Z, Xu W, Liu L. Ovarian aging: mechanisms and intervention strategies. *Med Rev* 2023; 2:590-610.
134. Charalambous C, Webster A, Schuh M. Aneuploidy in mammalian oocytes and the impact of maternal ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2023; 24:27-44.
135. D'Autréaux B and Toledano MB. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8:813-824.

136. May-Panloup P, Boucret L, Chao de la Barca J-M, Desquirit-Dumas V, Ferré-L'Hotellier V, Morinière C, et al. Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles. *Hum Reprod Update* 2016; 22:725-743.
137. Podolak A, Woclawek-Potocka I, Lukaszuk K. The role of mitochondria in human fertility and early embryo development: What can we learn for clinical application of assessing and improving mitochondrial DNA? *Cells* 2022; 11:797.
138. de Paula WBM, Lucas CH, Agip A-NA, Vizcay-Barrena G, and Allen JF. Energy, ageing, fidelity and sex: oocyte mitochondrial DNA as a protected genetic template. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 2013; 368:20120263.
139. Pizzamiglio C, Hanna MG, Pitceathly RDS. Primary mitochondrial diseases. In 2024; 53-76.
140. Yu S, Lu X, Li C, Han Z, Li Y, Zhang X, et al. TFAM and mitochondrial protection in diabetic kidney disease. *Diabetes, Metab Syndr Obes* 2024; 17:4355-4365.
141. Nedel W, Strogulski NR, Kopczynski A, Portela LV. Assessment of mitochondrial function and its prognostic role in sepsis: a literature review. *Intensive Care Med Exp* 2024; 12:107.
142. Kobayashi H and Imanaka S. Mitochondrial DNA damage and its repair mechanisms in aging oocytes. *Int J Mol Sci* 2024; 25.
143. Na J-H and Lee Y-M. Diagnosis and Management of mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes syndrome. *Biomolecules* 2024; 14:1524.
144. Chen J, Li H, Liang R, Huang Y, Tang Q. Aging through the lens of mitochondrial DNA mutations and inheritance paradoxes. *Biogerontology* 2025; 26:33.
145. Chauhan A, Kamal R, Bhatia R, Singh TG, Awasthi A. From bench to bedside: ROS-responsive nanocarriers in cancer therapy. *AAPS PharmSciTech* 2024; 26:10.
146. Zhang A, Liu W, Qiu S. Mitochondrial genetic variations in leukemia: a comprehensive overview. *Blood Sci* 2024; 6:e00205.
147. Rojas V, Carrasco-Gallardo C, Tenorio L, Olesen MA, Tapia V, Carrasco M, et al.

Analysis of mitochondrial DNA replisome in autism spectrum disorder: Exploring the role of replisome genes. *Autism Res* 2025;18:933-953.

148. Park CB, Choi V-N, Jun J-B, Kim J-H, Lee Y, Lee J, et al. Identification of a rare homozygous c.790C>T variation in the TFB2M gene in Korean patients with autism spectrum disorder. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 507:148-154.

149. Mahalaxmi I, Subramaniam MD, Gopalakrishnan AV, Vellingiri B. Dysfunction in mitochondrial electron transport chain complex I, pyruvate dehydrogenase activity, and mutations in ND1 and ND4 gene in autism spectrum disorder subjects from Tamil Nadu Population, India. *Mol Neurobiol* 2021; 58:5303-5311.

150. Feng C, Chen Y, Zhang Y, Yan Y, Yang M, Gui H, et al. PTEN regulates mitochondrial biogenesis via the AKT/GSK-3 β /PGC-1 α pathway in autism. *Neuroscience* 2021; 465:85-94.

151. Rose S, Niyazov DM, Rossignol DA, Goldenthal M, Kahler SG, Frye RE. Clinical and molecular characteristics of mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorder. *Mol Diagn Ther* 2018; 22:571-593.

152. Varga NÁ, Pentelényi K, Balicza P, Gézsi A, Reményi V, Hársfalvi V, et al. Mitochondrial dysfunction and autism: comprehensive genetic analyses of children with autism and mtDNA deletion. *Behav Brain Funct* 2018; 14:4.

153. He Y, Tang Z, Zhu G, Cai L, Chen C, Guan MX. Deafness-associated mitochondrial 12S rRNA mutation reshapes mitochondrial and cellular homeostasis. *J Biol Chem* 2025; 301:108124.

154. Rahimi Darehbagh R, Khanmohammadi S, Rezaei N. The role of mitochondrial DNA variants and dysfunction in the pathogenesis and progression of multiple sclerosis. *Mitochondrion* 2025; 81:102002.

155. Kowalczyk P, Krych S, Kramkowski K, Jęczyk A, Hrapkiewicz T. Effect of Oxidative Stress on Mitochondrial Damage and Repair in Heart Disease and Ischemic Events. *Int J Mol Sci* 2024; 25:12467.

156. Ebadpour N, Mahmoudi M, Kamal Kheder R, Abavisani M, Baridjavadi Z, Abdollahi N, et al. From mitochondrial dysfunction to neuroinflammation in Parkinson's disease:

Pathogenesis and mitochondrial therapeutic approaches. *Int Immunopharmacol* 2024; 142:113015.

157. Vodicka P, Vodenkova S, Danesova N, Vodickova L, Zobalova R, Tomasova K, et al. Mitochondrial DNA damage, repair, and replacement in cancer. *Trends in Cancer* 2025; 11:62-73.

158. Kurdi M, Bamaga A, Alkhotani A, Alsharif T, Abdel-Hamid GA, Selim ME, et al. Mitochondrial DNA Alterations in Glioblastoma and Current Therapeutic Targets. *Front Biosci* 2024; 29.

159. Ju YS, Alexandrov LB, Gerstung M, Martincorena I, Nik-Zainal S, Ramakrishna M, et al. Origins and functional consequences of somatic mitochondrial DNA mutations in human cancer. *Elife* 2014; 3.

160. Yuan Y, Ju YS, Kim Y, Li J, Wang Y, Yoon CJ, et al. Comprehensive molecular characterization of mitochondrial genomes in human cancers. *Nat Genet* 2020; 52:342-352.

161. Picard M, Zhang J, Hancock S, Derbeneva O, Golhar R, Golik P, et al. Progressive increase in mtDNA 3243A>G heteroplasmy causes abrupt transcriptional reprogramming. *Proc Natl Acad Sci* 2014; 111.

162. Boso D, Piga I, Trento C, Minuzzo S, Angi E, Iommarini L, et al. Pathogenic mitochondrial DNA variants are associated with response to anti-VEGF therapy in ovarian cancer PDX models. *J Exp Clin Cancer Res* 2024; 43:325.

163. Harino T, Tanaka K, Motooka D, Masuike Y, Takahashi T, Yamashita K, et al. D-loop mutations in mitochondrial DNA are a risk factor for chemotherapy resistance in esophageal cancer. *Sci Rep* 2024; 14:31653.

164. Yamanoshita O, Kubota T, Hou J, Ping YM, Zhang XL, Li XP, et al. DHPLC is superior to SSCP in screening p53 mutations in esophageal cancer tissues. *Int J Cancer* 2005; 114:74-79.

165. Aldámiz-Echevarría T, Resino S, Bellón JM, Jiménez-Sousa MA, Miralles P, Medrano LM, et al. European mitochondrial haplogroups predict liver-related outcomes in patients coinfecting with HIV and HCV: a retrospective study. *J Transl Med* 2019; 17:244.

166. de Mendoza C, Martin-Carbonero L, Barreiro P, de Baar M, Zahonero N, Rodriguez-Novoa S, et al. Mitochondrial DNA depletion in HIV-infected patients with chronic hepatitis C and effect of pegylated interferon plus ribavirin therapy. *AIDS* 2007; 21:583-588.
167. Barbaro G, Di Lorenzo G, Asti A, Ribersani M, Belloni G, Grisorio B, et al. Hepatocellular mitochondrial alterations in patients with chronic Hepatitis C: ultrastructural and biochemical findings. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:2198-2205.
168. He Y, Zhang H, Yin J, Xie J, Tan X, Liu S, et al. IkappaBalpha gene promoter polymorphisms are associated with hepatocarcinogenesis in patients infected with hepatitis B virus genotype C. *Carcinogenesis* 2009; 30:1916-1922.
169. Zhang X, Zhao Q, Zhu W, Liu T, Xie SH, Zhong LX, et al. The association of telomere length in peripheral blood cells with cancer risk: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2017; 26:1381-1390.
170. Elyamany A, Ghazala R, Fayed O, Hamed Y, El-Shendidi A. Mitochondrial DNA copy number in Hepatitis C virus-related chronic liver disease: impact of direct-acting antiviral therapy. *Sci Rep* 2023; 13:18330.
171. Campo DS, Roh HJ, Pearlman BL, Fierer DS, Ramachandran S, Vaughan G, et al. Increased mitochondrial genetic diversity in persons infected with Hepatitis C virus. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2016; 2:676-684.
172. Nishikawa M, Nishiguchi S, Shiomi S, Tamori A, Koh N, Takeda T, et al. Somatic mutation of mitochondrial DNA in cancerous and noncancerous liver tissue in individuals with hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2001; 61:1843-5.
173. Ilicheva N V., Podgornaya OI, Voronin AP. Telomere Repeat-Binding Factor 2 is responsible for the telomere attachment to the nuclear membrane. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2015; 101:67-96.
174. Muller HJ. An analysis of the process of structural change in chromosomes of *Drosophila*. *J Genet* 1940; 40:1-66.
175. McClintock B. The stability of broken ends of chromosomes in *Zea mays*. *Genetics* 1941; 26:234-282.

176. Boccardi V and Marano L. The telomere connection between aging and cancer: The burden of replication stress and dysfunction. *Mech Ageing Dev* 2025; 223:112026.
177. Eskandari-Nasab E, Dahmardeh F, Rezaeifar A, Dahmardeh T. Telomere and telomerase: from discovery to cancer treatment. *Gene, Cell Tissue* 2015; 2: e28084.
178. Wentzensen IM, Mirabello L, Pfeiffer RM, and Savage SA. The association of telomere length and cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20:1238-1250.
179. Blasco MA. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet* 2005; 6:611-622.
180. Lingner J, Cech TR. Purification of telomerase from *Euplotes aediculatus*: requirement of a primer 3' overhang. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93:10712-7.
181. Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature* 1991; 350:569-573.
182. Liu W, Chen S, Xie W, Wang Q, Luo Q, Huang M, et al. MCCC2 is a novel mediator between mitochondria and telomere and functions as an oncogene in colorectal cancer. *Cell Mol Biol Lett* 2023; 28:80.
183. Zhu Y, Liu X, Ding X, Wang F, Geng X. Telomere and its role in the aging pathways: telomere shortening, cell senescence and mitochondria dysfunction. *Biogerontology* 2019; 20:1-16.
184. Oeseburg H, de Boer RA, van Gilst WH, van der Harst P. Telomere biology in healthy aging and disease. *Pflügers Arch - Eur J Physiol* 2010; 459:259-268.
185. Loukopoulou C, Nikolouzakis T, Koliarakis I, Vakonaki E, Tsiaoussis J. Telomere length and telomerase activity as potential biomarkers for gastrointestinal cancer. *Cancers (Basel)* 2024; 16.
186. Liao P, Yan B, Wang C, Lei P. Telomeres: dysfunction, maintenance, aging and cancer. *Aging Dis* 2023; 15:2595-2631.
187. Li H, Durbin R. Genome assembly in the telomere-to-telomere era. *Nat Rev Genet* 2024; 25:658-670.
188. Martínez P, Blasco MA. Telomere-driven diseases and telomere-targeting therapies. *J*

Cell Biol 2017; 216:875-887.

189. Gürel S, Pak EN, Tek NA. Aging Processes Are affected by energy balance: focused on the effects of nutrition and physical activity on telomere length. *Curr Nutr Rep* 2024; 13:264-279.

190. Barnes RP, Fouquerel E, Opresko PL. The impact of oxidative DNA damage and stress on telomere homeostasis. *Mech Ageing Dev* 2019; 177:37-45.

191. Lin J, Epel E. Stress and telomere shortening: Insights from cellular mechanisms. *Ageing Res Rev* 2022; 73:101507.

192. Sawicki K, Matysiak-Kucharek M, Gorczyca-Siudak D, Kruszewski M, Kurzepa J, Kapka-Skrzypczak L, et al. Leukocyte telomere length as a marker of chronic complications in type 2 diabetes patients: A risk assessment study. *Int J Mol Sci* 2024; 26:290.

193. Gurung RL, MY, Liu S, Liu JJ, Lim SC. Short Leukocyte Telomere length predicts albuminuria progression in individuals with type 2 diabetes. *Kidney Int Reports* 2018; 3:592-601.

194. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961; 25:585-621.

195. Bonfigli AR, Spazzafumo L, Prattichizzo F, Bonafè M, Mensà E, Micolucci L, et al. Leukocyte telomere length and mortality risk in patients with type 2 diabetes. *Oncotarget* 2016; 7:50835-50844.

196. Zeng J, Liu H, Ping F, Li W, Li Y. Insulin treatment affects leukocyte telomere length in patients with type 2 diabetes: 6-year longitudinal study. *J Diabetes Complications* 2019; 33:363-367.

197. Chen Z, Shen YY, He J, Shen YY, Zhu W, Wu X, et al. Longer leukocyte telomere length increases cardiovascular mortality in type 2 diabetes patients. *J Diabetes* 2023; 15:325-331.

198. Bhatt SP, Misra A, Pandey RM, Upadhyay AD. Shortening of leucocyte telomere length is independently correlated with high body mass index and subcutaneous obesity (predominantly truncal), in Asian Indian women with abnormal fasting glycemia. *BMJ Open*

Diabetes Res Care 2022; 10:e002706.

199. Baltzis D, Meimeti E, Grammatikopoulou M, Roustit M, Mavrogonatou E, Kletsas D, et al. Assessment of telomerase activity in leukocytes of type 2 diabetes mellitus patients having or not foot ulcer: Possible correlation with other clinical parameters. *Exp Ther Med* 2018; 15:3420-3424.

200. Sanders JL, Newman AB. Telomere length in epidemiology: a biomarker of aging, age-related disease, both, or neither? *Epidemiol Rev* 2013; 35:112-131.

201. von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci* 2002; 27:339-344.

202. Blackburn EH. Telomeres and telomerase: the means to the end (Nobel Lecture). *Angew Chemie Int Ed* 2010; 49:7405-7421.

203. Armanios M. The role of telomeres in human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2022; 23:363-381.

204. Freitas-Simoes TM, Ros E, Sala-Vila A. Telomere length as a biomarker of accelerated aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2018; 21:430-436.

205. Brazvan B, Ebrahimi-Kalan A, Velaei K, Mehdipour A, Aliyari serej Z, Ebrahimi A, et al. Telomerase activity and telomere on stem progeny senescence. *Biomed Pharmacother* 2018; 102:9-17.

206. Lupatov AY, Yarygin KN. Telomeres and telomerase in the control of stem cells. *Biomedicines* 2022; 10:2335.

207. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* 2023; 186:243-278.

208. Baird DM. Telomere dynamics in human health and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2025;17: a041701.

209. Ma L, Liu C, Song R, Qian Y, Zhang F. Telomere length and oxidative damage in children and adolescents with autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *J Integr Neurosci* 2025; 24:24948.

210. De la Fuente B, Milagro FI, Cuervo M, Martínez JA, Riezu-Boj JI, Zalba G, et al. Beneficial effects of a moderately high-protein diet on telomere length in subjects with overweight or obesity. *Nutrients* 2025; 17:319.
211. Fragkiadaki P, Apetroaei M-M, Kouvidi E, Vakonaki E, Renieri E, Fragkiadoulaki I, et al. The association between short telomere length and cardiovascular disease. *Cytogenet Genome Res* 2024; 1-18.
212. Durand M, Nagot N, Michel L, Le SM, Duong HT, Vallo R, et al. Mental disorders are associated with leukocytes telomere shortening among people who inject drugs. *Front Psychiatry* 2022; 13.
213. Donaires FS, Scatena NF, Alves-Paiva RM, Podlevsky JD, Logeswaran D, Santana BA, et al. Telomere biology and telomerase mutations in cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma. Lustig AJ, editor. *PLoS One* 2017; 12:e0183287.
214. Zeng H, Wu H-C, Wang Q, Yang H-I, Chen C-J, Santella RM, et al. Telomere length and risk of hepatocellular carcinoma: a nested case-control study in Taiwan Cancer Screening Program Cohort. *Anticancer Res* 2017; 37:637-644.
215. Mukherjee AK, Dutta S, Singh A, Sharma S, Roy SS, Sengupta A, et al. Telomere length sensitive regulation of interleukin receptor 1 type 1 (IL1R1) by the shelterin protein TRF2 modulates immune signalling in the tumour microenvironment. *Elife* 2024; 13: RP95106.
216. Weischer M, Nordestgaard BG, Cawthon RM, Freiberg JJ, Tybjærg-Hansen A, Bojesen SE. Short Telomere length, cancer survival, and cancer risk in 47102 individuals. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2013; 105:459-468.
217. Rode L, Nordestgaard BG, Bojesen SE. Peripheral blood leukocyte telomere length and mortality among 64 637 individuals from the general population. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2015; 107: djv074.
218. Willeit P, Willeit J, Mayr A, Weger S, Oberhollenzer F, Brandstätter A, et al. Telomere length and risk of incident cancer and cancer mortality. *JAMA* 2010; 304:69.
219. Xu X, Qu K, Pang Q, Wang Z, Zhou Y, Liu C. Association between telomere length and survival in cancer patients: a meta-analysis and review of literature. *Front Med* 2016; 10:191-

203.

220. Molina-Pinelo S, Ferrer Sánchez I, Najarro P, Paz-Ares L, Fernández L, Castelló N, et al. Telomere-based risk models for the early diagnosis of lung cancer. *Heliyon* 2024; 10:e41040.

221. Jang JS, Choi YY, Lee WK, Choi JE, Cha SI, Kim YJ, *et al.* Telomere length and the risk of lung cancer. *Cancer Sci* 2008; 99:1385-1389.

222. Yang L, Qian Y, Ding T, Wei L, Cao S. Shorter telomere length of T-cells in peripheral blood of patients with lung cancer. *Onco Targets Ther* 2016;9:2675-2682.

223. Doherty JA, Grieshaber L, Houck JR, Barnett MJ, Tapsoba JDD, Thornquist M, et al. Telomere length and lung cancer mortality among heavy smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2018; 27:829-837.

224. Shen M, Cawthon R, Rothman N, Weinstein SJ, Virtamo J, Hosgood HD, et al. A prospective study of telomere length measured by monochrome multiplex quantitative PCR and risk of lung cancer. *Lung Cancer* 2011; 73:133-137.

225. Lan Q, Cawthon R, Gao Y, Hu W, Hosgood HD, Barone-Adesi F, et al. Longer telomere length in peripheral white blood cells is associated with risk of lung cancer and the rs2736100 (CLPTM1L-TERT) polymorphism in a prospective cohort study among women in China. Gorlova OY, editor. *PLoS One* 2013; 8:e59230.

226. Doherty JA, Grieshaber L, Houck JR, Barnett MJ, De Dieu Tapsoba J, Thornquist MD, et al. Nested case-control study of telomere length and lung cancer risk among heavy smokers in the β -Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Br J Cancer* 2018; 118:1513-1517.

227. Yuan J, Beckman KB, Wang R, Bull C, Adams-Haduch J, Huang JY, et al. Leukocyte telomere length in relation to risk of lung adenocarcinoma incidence: Findings from the Singapore Chinese Health Study. *Int J Cancer* 2018; 142:2234-2243.

228. Packer A, Habiballa L, Tato-Barcia E, Breen G, Brooker H, Corbett A, et al. Telomere length and cognitive changes in 7,877 older UK adults of European ancestry. *Front Aging* 2024; 5.

229. Lv J, Zhao X, Zhao L, Gong C, Zheng W, Guo L, et al. The notable role of telomere

length maintenance in complex diseases. *Biomedicines* 2024; 12:2611.

230. Ghamar Talepoor A, Doroudchi M. Immunosenescence in atherosclerosis: A role for chronic viral infections. *Front Immunol* 2022; 13:945016.

231. Nguyen LNT, Nguyen LN, Zhao J, Schank M, Dang X, Cao D, et al. TRF2 inhibition rather than telomerase disruption drives CD4T cell dysfunction during chronic viral infection. *J Cell Sci* 2022; 135:jcs259481.

232. Iliencko IM, Lyaskivska O V, Belayev OA, Pleskach OY, Shinkarenko VI, and Bazyka DA. Impact of chronic blood viral infection on lymphocyte telomere length in Chernobyl clean-up workers in a remote period after radiation exposure. *Probl radiatsiinoi medytsyny ta radiobiolohii* 2017; 22:372-381.

233. Yang NY, Hsieh AYY, Chen Z, Campbell AR, Gadawska I, Kakkar F, et al. Chronic and latent viral infections and leukocyte telomere length across the lifespan of female and male individuals living with or without HIV. *Viruses* 2024; 16:755.

234. Bellon M, Nicot C. Telomere dynamics in immune senescence and exhaustion triggered by chronic viral infection. *Viruses* 2017; 9:289.

235. Grady BPX, Nanlohy NM, van Baarle D. HCV monoinfection and HIV/HCV coinfection enhance T-cell immune senescence in injecting drug users early during infection. *Immun Ageing* 2016; 13:10.

236. Gonzalez-Serna A, Ajaykumar A, Gadawski I, Muñoz-Fernández MA, Hayashi K, Harrigan PR, et al. Rapid decrease in peripheral blood mononucleated cell telomere length after HIV seroconversion, but not HCV seroconversion. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2017; 76:29-32.

237. Yao ZQ, Moorman JP. Immune exhaustion and immune senescence: Two distinct pathways for HBV vaccine failure during HCV and/or HIV infection. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2013; 61:193-201.

238. Nguyen LN, Zhao J, Cao D, Dang X, Wang L, Lian J, et al. Inhibition of TRF2 accelerates telomere attrition and DNA damage in naïve CD4 T cells during HCV infection. *Cell Death Dis* 2018; 9:900.

239. Nguyen LN, Nguyen LNT, Zhao J, Schank M, Dang X, Cao D, et al. Immune activation induces telomeric DNA damage and promotes short-lived effector T cell differentiation in chronic HCV infection. *Hepatology* 2021; 74:2380-2394.
240. Demerdash HM, Elyamany AS, Arida E. Impact of direct-acting antivirals on leukocytic DNA telomere length in hepatitis C virus-related hepatic cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2019; 31:494-498.
241. Lai T-P, Wright WE, Shay JW. Comparison of telomere length measurement methods. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 2018; 373:20160451.
242. Kimura M, Stone RC, Hunt SC, Skurnick J, Lu X, Cao X, et al. Measurement of telomere length by the Southern blot analysis of terminal restriction fragment lengths. *Nat Protoc* 2010; 5:1596-1607.
243. Lincz LF, Scorgie FE, Garg MB, Gilbert J, Sakoff JA. A simplified method to calculate telomere length from southern blot images of terminal restriction fragment lengths. *Biotechniques* 2020; 68:28-34.
244. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res* 2002; 30:47e - 47.
245. Norris K, Walne AJ, Ponsford MJ, Cleal K, Grimstead JW, Ellison A, et al. High-throughput STELA provides a rapid test for the diagnosis of telomere biology disorders. *Hum Genet* 2021; 140:945-955.
246. Demanelis K, Jasmine F, Chen LS, Chernoff M, Tong L, Delgado D, et al. Determinants of telomere length across human tissues. *Science* 2020;369(6509):eaaz6876.
247. Lai T-P, Zhang N, Noh J, Mender I, Tedone E, Huang E, et al. A method for measuring the distribution of the shortest telomeres in cells and tissues. *Nat Commun* 2017; 8:1356.
248. Avcilar T, Kirac D, Ergec D, Koc G, Ulucan K, Kaya Z, et al. Investigation of the association between mitochondrial DNA and p53 gene mutations in transitional cell carcinoma of the bladder. *Oncol Lett* 2016; 12:2872-2879.
249. O'Callaghan NJ, Fenech M. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biol Proced Online* 2011; 13:3.

250. Bize P, Criscuolo F, Metcalfe NB, Nasir L, Monaghan P. Telomere dynamics rather than age predict life expectancy in the wild. *Proc R Soc B Biol Sci* 2009; 276:1679-1683.
251. Lin J, Smith DL, Esteves K, Drury S. Telomere length measurement by qPCR - Summary of critical factors and recommendations for assay design. *Psychoneuroendocrinology* 2019; 99:271-278.
252. Colella MP, Santana BA, Conran N, Tomazini V, Costa FF, Calado RT, et al. Telomere length correlates with disease severity and inflammation in sickle cell disease. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2017; 39:140-145.
253. Preciado MV, Valva P, Escobar-Gutierrez A, Rahal P, Ruiz-Tovar K, Yamasaki L, et al. Hepatitis C virus molecular evolution: Transmission, disease progression and antiviral therapy. *World J Gastroenterol* 2014; 20:15992.
254. Crouchet E, Baumert TF, Schuster C. Hepatitis C virus-apolipoprotein interactions: molecular mechanisms and clinical impact. *Expert Rev Proteomics* 2017; 14:593-606.
255. Davis GL, Krawczynski K, Szabo G. Hepatitis C virus infection—pathobiology and implications for new therapeutic options. *Dig Dis Sci* 2007; 52:857-875.
256. Moradpour D, Brass V, Gosert R, Wölk B, Blum HE. Hepatitis C: molecular virology and antiviral targets. *Trends Mol Med* 2002; 8:476-482.
257. Croteau DL, Bohr VA. Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells. *J Biol Chem* 1997; 272:25409-25412.
258. de Mendoza C, Soriano V. The role of hepatitis C virus (HCV) in mitochondrial DNA damage in HIV/HCV-coinfected individuals. *Antivir Ther* 2005; 10 Suppl 2:M109-15.
259. Tzen C, Wu T. Evolutional analysis in determining pathogenic versus nonpathogenic mutations of ATPase 6 in Human Mitochondriopathy. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1042:19-24.
260. Kucharczyk R, Dautant A, Gombeau K, Godard F, Tribouillard-Tanvier D, di Rago JP. The pathogenic MT-ATP6 m.8851T>C mutation prevents proton movements within the n-side hydrophilic cleft of the membrane domain of ATP synthase. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg* 2019; 1860:562-572.

261. Hayashi T, Tamori A, Nishikawa M, Morikawa H, Enomoto M, Sakaguchi H, et al. Differences in molecular alterations of hepatocellular carcinoma between patients with a sustained virological response and those with hepatitis C virus infection. *Liver Int* 2009; 29:126-132.
262. Hoare M, Shankar A, Shah M, Rushbrook S, Gelson W, Davies S, et al. γ -H2AX+CD8+ T lymphocytes cannot respond to IFN- α , IL-2 or IL-6 in chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2013; 58:868-874.
263. Hoare M, Gelson WTH, Das A, Fletcher JM, Davies SE, Curran MD, et al. CD4+ T-lymphocyte telomere length is related to fibrosis stage, clinical outcome and treatment response in chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2010; 53:252-260.
264. Sekoguchi S, Nakajima T, Moriguchi M, Jo M, Nishikawa T, Katagishi T, et al. Role of cell-cycle turnover and oxidative stress in telomere shortening and cellular senescence in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22:182-190.
265. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PLC, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994; 266:2011-2015.
266. Lim YS, Nguyen MTN, Pham TX, Huynh TTX, Park E-M, Choi DH, et al. Hepatitis C virus nonstructural 5A protein interacts with telomere length regulation protein: implications for telomere shortening in patients infected with HCV. *Mol Cells* 2022; 45:148-157.
267. Kitada T, Seki S, Kawakita N, Kuroki T, Monna T. Telomere shortening in chronic liver diseases. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 211:33-39.
268. Zender L, Klempnauer J, Flemming P, Franco S, Blasco MA, Manns MP, et al. Hepatocyte telomere shortening and senescence are general markers of human liver cirrhosis. *FASEB J* 2002; 16:935-942.
269. Hsieh YH. Genomic instability caused by hepatitis B virus: into the hepatoma inferno. *Front Biosci* 2011; 16:2586.
270. Zhang Y, Shen J, Lee YP-H, Santella RM. Telomere length in hepatocellular carcinoma and paired adjacent non-tumor tissues by Quantitative PCR. *Cancer Invest* 2007; 25:668-677.

271. Miura N, Horikawa I, Nishimoto A, Ohmura H, Ito H, Hirohashi S, et al. Progressive telomere shortening and telomerase reactivation during hepatocellular carcinogenesis. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 93:56-62.



8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

ŞEKİLLER

Şekil 1: Hepatit C virüsü genomunun yapısı	5
Şekil 2: Hepatit C virüsü lipoviral partikülünün bir modeli.....	6
Şekil 3: Mitokondri yapısının Şematik gösterimi.....	10
Şekil 4: Mitokondriyal DNA'nın yapısı.....	12
Şekil 5: Telomer yapısı ve işlevi.....	19
Şekil 6: ATPase6 geninin jel elektroforez analizi.....	38
Şekil 7: ATPase6 geni mutasyonlarının kromatogram analizi A. T112A, M57M, T53I, T59A, M60T ve T63T mutasyonları, B. N83S, W109R, K120K, L137L, P139P ve V142I mutasyonları,	39
C. A155T, L156L, A162T, G167G, A177T ve M181V mutasyonları, D. I184V, L198L ve V218V mutasyonları.....	40
Şekil 8: Hepatit C hastaları ve HCV negatif bireylerin telomer uzunluğu. 44	
Şekil 9: ATPase6 geni mutasyonlarına göre telomer uzunluğu dağılımı... 44	
Şekil 10: Hasta grubunda yaşa göre telomer boyunun dağılımı..... 45	
Şekil 11: Hasta grubunda cinsiyete göre telomer boyunun dağılımı..... 45	
Şekil 12: Hasta grubunda genotip çeşitlerine göre telomer boyunun dağılımı.....	47

9. TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Kullanılan cihazlar ve marka modelleri	27
Tablo 2: PCR karışımı	28
Tablo 3: Hepatit C tanısı için thermal cycler programı	28
Tablo 4: Hepatit C tanısı için internal kontrol ve pozitif kontrol ve standartlar için kabul kriterleri	29
Tablo 5: Ticari kitin yönergelerine göre aşağıdaki tablo, olası sonuçları ve anlamlarını göstermektedir	30
Tablo 6: Sekans PCR için PCR karışımı	32
Tablo 7: Sekans PCR programı	32
Tablo 8: Telomer uzunluğu için PCR karışımı	34
Tablo 9: Telomer uzunluğu analizi için PCR programı	34
Tablo 10: HCV negatif bireylerin ve hepatit C hastalarının klinik ve demografik verilerinin dağılımı	36
Tablo 11: Hepatit C hastalarının genotip dağılımları	37
Tablo 12: ATPase-6 mtDNA mutasyonlarının hepatit C hasta ve HCV negatif olan bireylerde dağılımı	42
Tablo 13: ATPase-6 mtDNA mutasyonlarının klinik önemi	43
Tablo 14: Hepatit C hastalarında telomer uzunluğu ve biyokimyasal parametreler	46

10.EKLER DİZİNİ

Sayfa No

Ek 10.1. Etik Kurulu Karar Formu.....80



11. ÖZGEÇMİŞ

