

Lizozomal Aktivite

Zeynep Büşra AKSOY, Ege SOYDEMİR

Ankara Üniversitesi Hepatoloji Enstitüsü, Ankara

Lizozom, membrana bağlı, tek zarla çevrili ve hayvansal hücrelerde bulunan bir organeldir. Lizozomun içerisinde her tipten biyolojik makromolekülün parçalanmasını sağlayan asit hidrolaz enzimleri bulunur, polisakkaritler, proteinler, yağlar ve nükleik asitler örnek olarak gösterilebilir. İçerdiği enzimler yalnızca dışarıdan alınan molekülleri sindirmekle kalmaz aynı zamanda hücre içinde üretilen moleküllerin yıkımını da gerçekleştirirler. Lizozom enzimleri hücre ölümlü gerçekleştikten sonra hücrenin kendini sindirmesini ve hücrenin gerektiğinde otolize uğramasını da sağlayacak yapıdadırlar. Bu enzimlerin organel içerisinde saklanması sağlayan, organeli çevreleyen, zar tek katlı fosfolipid yapıdadır. Lizozomlar enzim içeren dairesel yapıdaki keseler şeklinde düşünülebilir ancak morfolojileri hücrenin tipine ve işlevine göre değişiklik gösterir (1).

Lizozomda bulunan enzimlerin tamamı asit hidrolazdır. Yani asidik ortamda aktif hale gelirlerken bazık ya da nötral ortamda aktivite göstermezler. Lizozom enzimlerinin optimum asiditesi pH 5'tir. Bu sebeple lizozomun pH seviyesinin 5'te

sabit tutulması enzimlerin çalışması açısından oldukça önemlidir. Lizozom içi pH 5 zarda bulunan proton pompalarının sitoplazmadan lizozom içerisinde H⁺ pompalaması sayesinde sabit tutulur. Asit hidrolaz enzimlerinin asidik pH'da çalışması hücre açısından ekstra bir koruma yöntemidir. Nötral karaktere sahip olan sitoplazmaya lizozomdan kontrolsüz enzim salınması halinde lizozomal hidrolazlar inaktif halde kalacaklardır. Böylelikle hücrenin kontrolsüz biçimde otolize uğraması pH farklılığı sayesinde engellenmiş olacaktır (2).

Lizozom oluşumu da hücre içerisinde meydana gelen başlıca olaylardan bir tanesidir. Lizozom formasyonu, golgi cisimciğinin salgı yolağı ile endositoz yolağının kesişim noktasında başlar. Endositoz sonrası membranın vezikül halinde ayrılmasının ardından ekstrasellüler moleküller kltrin kaplı veziküller içerisinde hücreye alınırlar. Hücre içerisine giren bu vezikül erken endozom ile birleşir. Birleşmenin ardından kltrin kaplı vezikülde bulunan membran bileşikleri plazma membranına geri döner. Erken endozomun bu birleşmenin ardından geç endozoma olgunlaşması gerçekleşir.

Tablo 1. Genel hatlarıyla lizozomal enzimler

Enzim Grupları	Substratlar
Fosfat esterler	Asit fosfataz
Nükleazlar	DNaz, RNaz
Proteazlar	Kollajenaz, katepsin, diğer proteazlar
Karbohidrolazlar	β -glukosidaz, heksosaminidaz A, alfa manosidaz, alfa fukosidaz, siyalidaz
Lipazlar	Sfingomiyelinaz, esterazlar

Olgunlaşma sırasında meydana gelen en önemli olaylardan bir tanesi vezikül için pH düşerek yaklaşık 5.5 olur. Asit hidrolaz enzimlerinin bulunduğu, trans-golgiden ayrılan lizozomal vezikül, üzerinde bulunan mannoz-6-fosfat reseptörleri sayesinde geç endozomun üzerindeki mannoz-6-fosfat rezidülerini tanır, böylece lizozomal vezikül hedeflenmesi doğru şekilde gerçekleşmiş olur. Vezikül içi asidikliğin artması sayesinde trans-golgiden salgılanarak lizozomal vezikül içerisinde geç endozoma gelen asit hidrolaz enzimleri birleşmenin ardından yeni oluşan lizozomun lümenine salınır. Vezikülden asit hidrolazların salınımının ardından mannoz-6-fosfat reseptörleri golgi cisimciğine geri dönerler. En son durumda, yeni oluşan lizozomun içinde endositozla hücre içerisine alınmış ekstrasellüler molekül ve trans-golgiden gelen asit hidrolazlar bulunur; lizozom içerisinde ekstrasellüler molekülün sindirimi gerçekleşir (3).

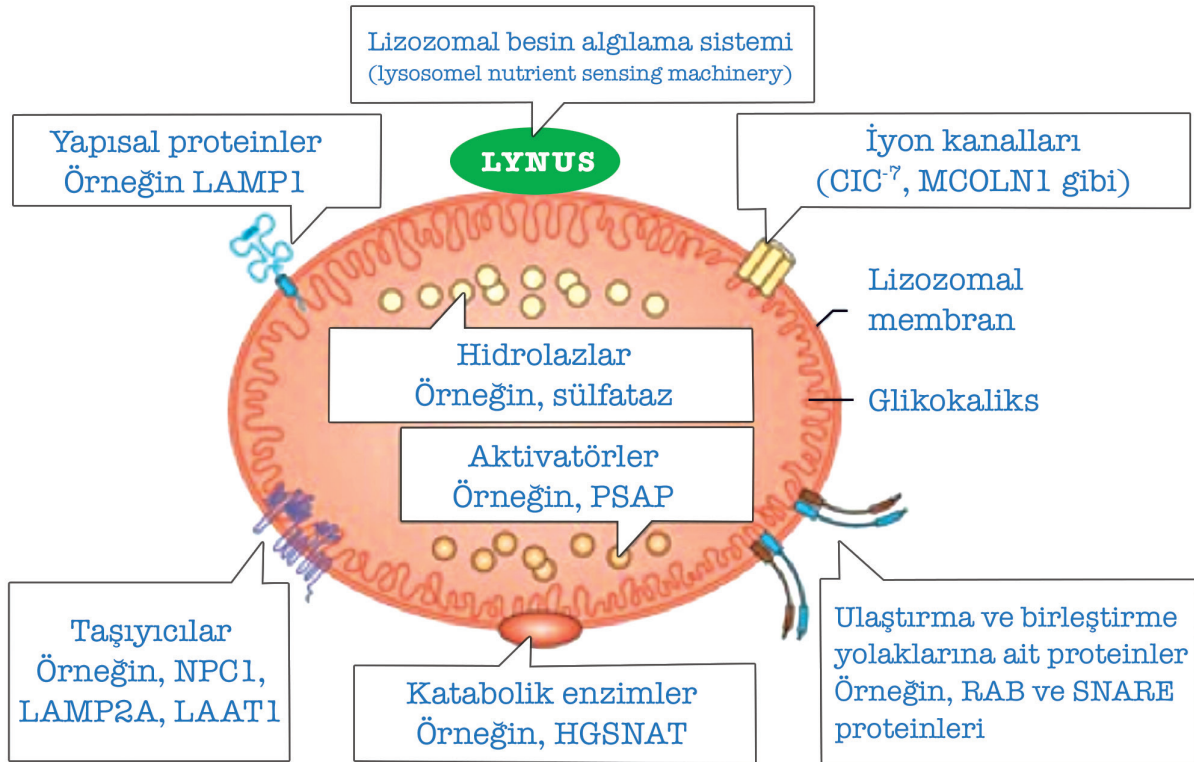
Lizozomun işlevleri ayrıntılandırılmadan dört ana başlıkta toplanabilir: ekzositoz, otofaj, heterofaj ve otoliz.

Lizozomal Ekzositoz

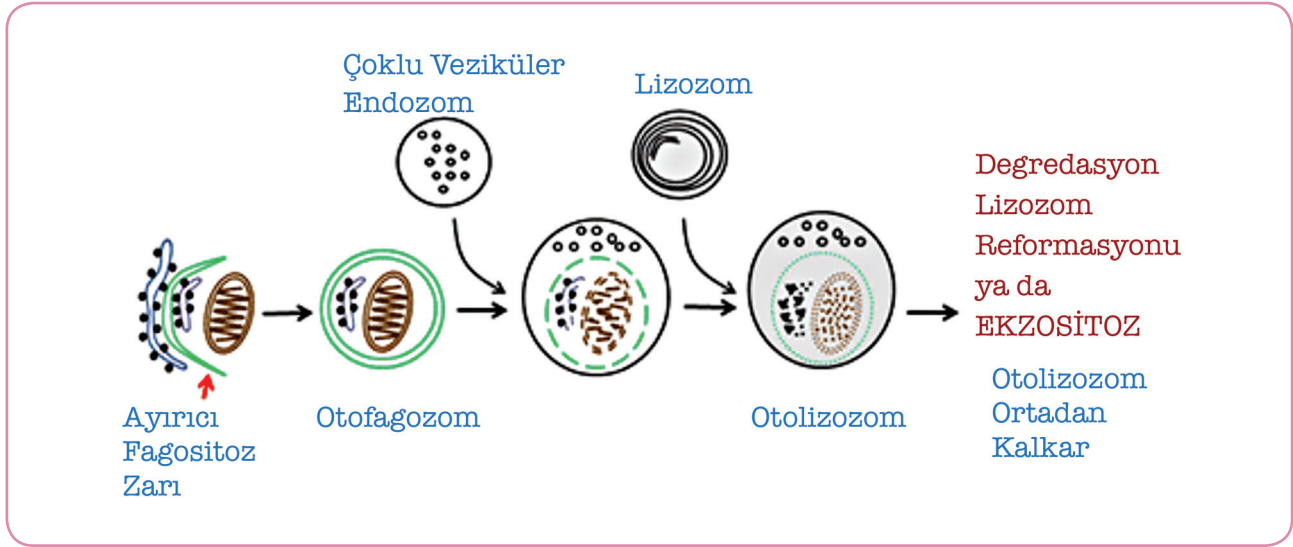
Konvensiyonel “alışıl gelmiş”, endoplazmik retikulum-golgi veziküler salgı yolağından farklı olarak “alışılmadık” salgı yolağı içerisinde değerlendirilir. Salgılayıcı lizozomların ekzositozu hematopoetik hücreler gibi özelleşmiş hücrelerde gözlemlenmektedir. Normal lizozomların ekzositozu ise tüm hücre tiplerinde gözlemlenmektedir. Stimüle edilmesinin ardından lizozomlar sitoplazmadaki lokasyonlarından mikrotübüller yardımıyla hücre zarına ulaştırılırlar. Membrana bağlanma gerçekleştikten sonra lizozomun kendi glikolipid yapılı membranı hücre zarına eklenir. Böylelikle lizozomal ekzositoz gerçekleşmiş olur. Bu yolla hem hücre dışına salgılama gerçekleşmiş olur hem de hücre zarı tamiri gerçekleştirilir (5).

Otofaj ve Heterofaj

Otofaj, evrimsel olarak korunmuş en temel lizozomal yollardan bir tanesidir. Sitoplazmik materyallerin veya organel-



Şekil 1. Lizozomun yapısı (4).



Şekil 2. Fagositoz gösterimi (10).

lerin lizozom tarafından gerçekleştirilen degradasyona verilen genel isim otofajdır ancak otofaj da kendi içerisinde üç gruba ayrılır: makrotofaj, mikrotofaj ve şaperon-kontrollü otofaj. Makrotofaj, sitoplazmanın belli bir bölgesinin otofagozom adı verilen organelin içine alınmasının ardından lizozomla birleşerek degradasyonun gerçekleştirilmesidir (6). Mikrotofajda lizozomal membran, fagozom ya da pinozomların hücre zarına yaptığına benzer biçimde sitoplazmadan belli bir bölgeyi ayırır ve degradasyonu gerçekleştirir (7). Şaperon-kontrollü otofaj ise spesifik sekans işaretine sahip proteinlerin sitoplazmada işaret sayesinde doğrudan lizozoma taşınmasının ardından gerçekleşir (8).

Heterofaj, hücre içerisine dışarıdan alınan moleküllerin lizozom içerisinde degradasyonudur. Yolağı makrotofajla benzerlik gösterir. Otofagozomun endozom ile birleşmesinin ardından amfizom denilen yapı oluşur. Amfizom lizozomal membrana tutunur ve birleşir, oluşan yapıya otolizozom denir. Otofagozom çift zarlı yapıdadır, otolizozomu oluşturmalarının ardından lizozomal asit hidrolazlar çift zarlı yapısını degrade eder böylelikle endozomla hücreye alınan moleküllerin degradasyonu mümkün olur (9).

Otoliz

En basit tabir ile hücrenin kendi kendini sindirmesidir. Bu süreç hücrenin yaşam döngüsündeki normal bir olaydır. Otolizin önemi yalnızca bireysel hücre biyolojisi için değil aynı zamanda organ ve doku oluşumu için de oldukça büyüktür.

Örneğin, el ve ayak parmaklarının oluşumu sırasında meydana gelen kontrollü hücre ölümü, apoptoz, lizozomların bulundurduğu asit hidrolazların sitoplazmaya salınımının ardından hücrenin otolize uğramasıyla gerçekleşir (11).

Lizozom membranında çok sayıda iyon kanalları ve moleküller taşıyıcıları vardır. Bu zar proteinleri sayesinde lizozom ve sitoplazma arasında H^+ , Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , ve Cl^- geçişi/taşıması gerçekleşir. İyon kanallarında meydana gelen defektler lizozom morfolojisinde anormalliklere, hücre içi veziküler taşıma yollarında ve otofaj sürecinde oluşan aksaklıklara bağlı olarak lizozomal depo hastalıklarına sebep olurlar (12). Son çalışmalar göstermiştir ki lizozomun, degradasyon görevlerine ek olarak, metabolik yollarda ve transkripsiyonel düzenlemelerde de rolü vardır. Lizozom enzimlerinin asidik ortamda çalıştıklarını düşünürsek, lizozom ve sitoplazma arasındaki pH dengesinin sağlanması hücrenin yaşam döngüsü için oldukça önemlidir. Başlıca iyonların görevlerinden bahsedecek olursak: Ca^{2+} veziküler taşıma için oldukça önemliyken Na^+ bazı lizozomal membran taşıyıcılarının fonksiyonellik kazanması açısından önemlidir, örneğin SLC38 ailesindeki taşıyıcı proteinler Na^+ varlığına ihtiyaç duyarlar (13). Lizozomal Ca^{2+} homeostazının stabil tutulması ve lizozom zar potansiyelinin ayarlanması için K^+ varlığı gereklidir; lizozomal membran potansiyelinin düzenlenmesinde Cl^- de görevlidir (14,15). Özellikle son yıllardan artan araştırmaların ardından neredeyse bahsi geçen tüm iyonlar için spesifik ve birden fazla taşıyıcı ya da kanal proteinleri karakterize edilmiştir.

Lizozom üzerindeki iyon kanallarının ve taşıyıcılarının çalışmasını düzenleyen ilk etmen membran potansiyelindeki değişikliklerdir. Membran potansiyelinde oluşan farklılıklar membranın geçirgenliğini bile etkileyebilecek önemdedir. Bu durum göz önüne alındığında otofaj/heterofaj esnasında lizozomla birleşen endozomların membranının bulunduruğu iyon kanalları/taşıyıcıları ve membranın potansiyelinin doğrudan veya dolaylı olarak lizozomal kanallara/taşıyıcılara fonksiyonel olarak etkileri bulunmaktadır. Kısacası fonksiyonel bir lizozomun kendi membranında bulundurduğu iyon kanalları/taşıyıcıları hem lizozomun faaliyetlerinin olması gerektiği gibi devam etmesi hem de hücrenin sağlıklı bir şekilde yaşam döngüsünü sürdürmesi konusunda elzemdirler.

H⁺ iyonu proton konsantrasyonu oluşturması açısından lizozom lümeninin pH dengesinin sağlanması açısından oldukça önemlidir. Lizozomal zar üzerinde bulunan H⁺-ATPaz (ya da V-ATPaz) bir ATP harcayarak lizozom lümenine iki adet H⁺ alır. Aynı zamanda Na⁺ ve Cl⁻ taşıyıcıları da lizozom içerisinde bulunan H⁺ gradientin ayarlanmasında rol alırlar. 1991 yılında yapılmış bir çalışmada inhibitör uygulanmasıyla V-ATPaz'ın bloklanmasının ardından lizozomun pH'ının 6'ya kadar yükseldiği ancak sitoplazmayla dengeye gelerek tamamen nötral pH'a yükselmediği gösterilmiştir. Bunun altında yatan sebebi ise V-ATPaz varlığına ek olarak bulunan asitliği düzenleyici sistemlerin varlığının olabileceği düşünülmüştür; 2015 yılında yayımlanmış bir çalışmada ise bu durumun H⁺ gradientinin korunmasında yardımcı diğer kanal proteinlerinin, TPC2 (two-pore channel 2) gibi, görev aldığı gösterilmiştir (16,17).

Ca²⁺ iyonunun lizozom içerisinde alınması pH derecesine bağlı bir olaydır. Ca²⁺-ATPazlar [PMCA, plasma membrane Ca²⁺ ATPase (plazma membran Ca²⁺ ATPaz)] kalsiyumu organel içerisine ATP kullanarak pompalar. Fare makrofajlarında yapılan çalışmalarda NH⁴Cl ile lizozom nötralizasyonu sonucunda hızlı bir şekilde Ca²⁺ salınımı olduğu, aynı şekilde ortamdan NH⁴Cl alındığında lizozom içerisine hızlı bir biçimde sitoplazmadan Ca²⁺ alımı olduğu gösterilmiştir. Bu durum H⁺ ve Ca²⁺ arasındaki homeostatik ilişkiyi göstermesine rağmen moleküler temelleri daha açığa kavuşturulamamıştır (18). Lizozomların Ca²⁺ alımından ziyade nasıl sitoplazmaya Ca²⁺ salınımı yaptığı daha net bilinmektedir. En çok çalışılan lizozomal Ca²⁺ salınım sinyal molekülü nikotinik asit adenin dinükleotit fosfattır (NAADP). NAADP Ca²⁺ mobilizasyonunda rol oynayan bir ajandır. NAADP ile indüklenen Ca²⁺

salınımı endoplazmik retikulum kalsiyum depolarının harcanmasından bağımsız olarak görev yapar. NAADP ve benzeri proteinlerin hücre ve organel içi yollarının üzerine yapılan çalışmalar sonucunda lizozom ve lizozom benzeri organellerin hücre içi NAADP gibi sinyal proteinlerinin kaynağı olduğu gösterilmiştir. NAADP ile indüklenmiş Ca²⁺ salınımında rol alan kanal proteinleri TPC ailesinin üyeleridir, memelilerde yaygın olarak TPC1 ve TPC2 olmak üzere iki izoform bulunur ancak omurgalılarda TPC3 izoformu da mevcuttur. 12 adet transmembran segmentinden oluşurlar. TPC'lerin viral enfeksiyon sürecinde, veziküler trafikle ilişkili endositozda ve otofajda rol aldığı bilinmektedir. TPC1 ve TPC2 kanallarının Ebola virüsünün endozomal vezikül içerisinde hücreye girişinde rol aldıkları gösterilmiştir. TPC1 ve TPC2 genleri düşürülmüş farelerden alınan embriyonik fibroblast hücrelerinde Ebola virüsüne karşı direnç varlığı gösterilmiştir, Ebola'ya yönelik antiviral tedavi geliştirilmesinde umut vaat eden bir strateji olarak düşünülmektedir (19). Membran potansiyelinin değişimiyle aktif hale gelen voltaj kapılı Ca²⁺ kanallarının aktivasyonunun ardından sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonunda artış gözlemlendiği, sinaptik elektrik iletiminin gerçekleştiği bilinmektedir, ancak yeni yapılan çalışmalarda *Drosophila melanogaster*'in ve farelerin lizozomlarında voltaj kapılı Ca²⁺ kanallarının alfa-1A altyapılarının bulunduğu gösterilmiştir. Alfa-1A altyapısında meydana gelen mutasyonun sonucunda otofajda, lizozomlar arası birleşmede ve lizozomların endozomlarla birleşmesi sırasında bozukluklar meydana geldiği görülmüştür (20). Bu durum lizozomal membran üzerinde voltaj kapılı kalsiyum kanallarının varlığının farklı hücre tiplerinde de olma ihtimalini artırıyor.

Diğer önemli kalsiyum kanal proteinleri endolizozom üzerinde bulunan, oldukça geniş TRP (transient receptor potential) ailesine ait TRPML1, TRPML2 ve TRPML3 proteinleridir. TRPML1, TRPML2 ve TRPML3 seçici olmayan katyon kanalları olarak görev yapan ve memelilerde mukolipin ailesini oluşturan proteinlerdir. Bu kanal proteinlerinin transmembran altyapıları 6-TM ünitesinden oluşmaktadır. TRPML1 özellikle lizozom membranında lokalize olurken TRPML2 endozomal membranda bulunmaktadır; TRPML3 ise hem lizozomal hem de endozomal membran üzerinde ifade edilmektedir. Burdan çıkarabileceğimiz sonuç ise TRPML1'in lizozom bulunduran tüm hücrelerde yaygın ifadesi bulunurken, TRPML2 ve TRPML3'nin doku spesifik ifadelerinin bulunduğudır.

(21). TRPML1'in keşfi nöral gelişimde aksaklıklara sebep olan mukopolidosis tip IV lizozomal depo hastalıkları [(LSD) lyso-somal storage disorders] ile olan bağlantısının bulunmasıyla olmuştur. Bu hastalıkta meydana gelen fonksiyon kaybı mutasyonunun TRPML1 üzerinde olduğu gösterilmiştir. TRPML1 proteinin ekzositozda, endositik veziküler trafikte ve vezikül birleşmesinde aldığı rolün TPC2'ye benzer olduğu gösterilmiştir (22). TRPML2 ve TRPML3 hakkında TRPML1 kadar çok bilgi bulunmasa da TRPML2 ifadesinin böbrek, immün organlarında ve dalak, timüs gibi dokularda yüksek olduğu bilinmektedir. Makrofajların toll benzeri reseptör antagonistleri ile aktive edilmesi sonucunda TRPML2 mRNA seviyesinin yükseldiği gösterilmiş ve TRPML2 geni silinen hayvan modellerinde doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinden olan makrofajların çalışmasında defektler olduğu kanıtlanmıştır (23). TRPML1 ve TRPML3 kanallarının birbiri ile örtüşen fonksiyonları olduğu gibi birlikte çalıştıkları durumlar da vardır; örneğin yeni doğan farelerde TRPML1 ve TRPML3'te aynı anda eksiklik bulunması durumunda büyüme bozuklukları gözlemlenmiştir ancak bu iki izoformdan yalnızca herhangi birinde eksiklik olması durumunda bozukluk varlığı söz konusu değildir. Bu durumun ayrıntılı incelenmesinin ardından yavru fareler için temel besin olan anne sütünde bulunan proteinin lizozomlar tarafından sindirilememesi olduğu bulunmuştur (24). TRPML3, diğer Ca^{2+} kanal proteinlerinin aksine nötral pH ortamında asidik ortama göre daha yüksek verimle çalışır. Stres altında ya da patojen varlığın asidik gradyenti bozulan lizozomda TRPML3 aktivasyonunun ardından Ca^{2+} salınımı meydana gelir, bu da hücre içi mekanizmada enfeksiyona karşı koruma sağlar. Örneğin, mesane epitelinde *Escherichia coli* enfeksiyonunun ardından lizozomal pH nötralizasyonu başlar, çalışma pH'ı optimuma ulaşan TRPML3 ise yüksek oranda sitoplazmaya Ca^{2+} salınımı yapar. Ca^{2+} konsantrasyonunun artmasıyla lizozomal ekzositoz başlar ve ekzozoma kapatılmış bakteriler artan ekzositoz aktivitesi ile hücre dışına atılır; böylelikle hücrel korunma gerçekleşmiş olur (25).

Na^+ lizozom içerisinde en çok bulunan katyondur. Lizozom içerisine Na^+ alınımının nasıl olduğu, varlığı ispat edilmiş Na^+/H^+ değiştirici ve NHE3, NHE5, NHE6 proteinlerine rağmen hala tam olarak bilinmemektedir (26). Sodyum iyonun lizozomda iki temel görevi vardır: ilki lizozomal membran potansiyelini düzenlemek, ikincisi ise SLC38 ailesine ait belirli amino asit taşıyıcıları ile fonksiyon tamamlayıcı olarak ortak

çalışmasıdır. Na^+ kanalları olarak görev yapan TPC1 ve TPC2 proteinlerinin fare genomundan düşürülmesi ile yapılan çalışmalar göstermiştir ki doku tipine ve hücre tipine bağlı olarak kanalların işlevleri değişmektedir (27).

Cl^- anyonu lizozomal lümen içerisinde konsantrasyonu en yüksek olan anyondur (28). ClC^{-7} tüm hücrelerde bulunan Cl^- kanal proteinidir ancak ClC^{-6} merkezi ve periferik sinir sisteminde bulunan bir diğer ifadesi yüksek Cl^- kanal proteindir (29). ClC kanal proteinin tüm izoformları Cl^-/H^+ değiştiricisi olarak görev yaparlar. İki Cl^- lümene alınırken karşılığında bir H^+ dışarı çıkartılır. İki anyon alınırken bir katyonun kaybı membran potansiyelinin düzenlenmesi adına V-ATPaz aktivitesi ile alınan H^+ iyonlarının dengelenmesini ve potansiyelin dengesi sağlar (30). ClC^{-6} ve ClC^{-7} kanalları genomlarından düşürülen farelerde lizozomal depo hastalıkları ile nörodejenerasyon geliştiği gözlemlenmiştir. Cl^- kanal proteinleri sağlıklı ve fonksiyonel hücreler için hayatidir (31).

Lizozomal membran üzerinde aynı zaman Fe^{2+} ve Zn^{2+} iyonları için de kanal proteinleri mevcuttur. Endolizozomal membran üzerinde en az iki adet K^+ kanalı olduğu belirlenmiştir (14). Bu kanalların lizozom lümeninin içine K^+ alınımını düzenledikleri karakterize edilmiştir, bu yolla membran hiperpolarizasyonu gerçekleşmektedir. Alfa1 altyapısının lizozomal membran proteinleri ile ilişkili olduğu gösterilmişse de K^+ iyonunun endolizozomlardan nasıl ayrıldığı konusu hala netlik kazanmamıştır (32).

HÜCRE METABOLİZMASI ve LİZOZOMAL İYON KANALLARI

Besin deprivasyonu sırasında hücrenin durum karşısında verdiği tepkiler incelendiğinde lizozom ve lizozomal iyon kanallarının içerisinde bulunduğu iki temel yolak ortaya çıkartılmıştır.

Besin yetersizliği durumunda hücrenin strese girmesi ile TRPML1 ifadesi yükselir ve lümeninden Ca^{2+} salınımı artar. Belirli bir konsantrasyon düzeyinin üzerine çıkan Ca^{2+} kalsinörin, transkripsiyon faktör EB (TFEB) fosforilasyonundan sorumlu fosfataz, aktivasyonuna sebep olur. TFEB lizozom biyogenezinden sorumlu ana faktördür. TFEB'nin aktif hale gelmesiyle lizozomal biyogenezde rol alan diğer genlerin, otofaj ile ilintili genlerin ve V-ATPaz gibi proteinlerin transkripsiyonu başlar. Lizozomal biyogenezin tamamlanmasının

ardından, hücre içerisinde gerekli olmayan moleküllerin lizozomal degradasyonu mümkün hale gelir (33,34). Diğer yolk ise TPC ailesinin inhibisyon ve aktivasyon süreci etrafında gelişmektedir. mTOR kompleks 1 besin, enerji ve redoks sensörü olarak işlev görmektedir olup ilgili proteinlerin sentezlenmesini kontrol eden protein kompleksidir. mTOR normal şartlarda TPC kanal proteinlerini inhibe eder; besin deprivasyonuna bağlı olarak inhibisyon ortadan kalkar, böylece TPC1 ve TPC2 kanalları aktif hale gelir. Daha önce de bahsi geçtiği gibi bu iki izoformun görevi stres altındaki hücrenin pH dengesinin ayarlanmasıdır (35). Otojafin erken zamanlarında lizozom lümeninde bulunan Na^+ 'un dağılmasının ardından lümeninde amino asit birikimi başlar, bunun ardından mTORC1 yeniden aktif hale gelerek otojafin terminasyon sürecini başlatır. Kısacası pH regülasyonu, stres altındaki hücrenin bu süreçte verdiği cevaba oldukça önemli bir etkiye sahiptir.

Hücrenin sağlıklı bir yaşam döngüsüne sahip olabilmesi hücre içerisinde yapının ve yıkımın dengede olmasına bağlıdır. Hücre içerisinde degradasyonu yani yıkımı sağlayan iki temel sistem vardır: Ubikutin proteozom sistemi [UPS (ubiquitin-proteasome system)] ve otofaj lizozom yolu [ALP (autophagy-lysosome pathway)]. Bu iki sistemde sıkıntı yaratan genetik ya da dış faktörler doğrudan hücrenin yaşam döngüsünü etkiler. Bu iki sistem, temel olarak, hücre içerisinde gereksiz, kullanılmayan, yanlış konformasyona sahip ya da zararlı moleküllerin degradasyonundan sorumludur. Aralarındaki fark ise degradasyonundan sorumlu oldukları moleküllerin tipleri ve kullandıkları degradasyon yöntemleridir. UPS adından da anlaşılacağı gibi proteozom bulunduran bir sistemdir. UPS ile degrade olması gereken moleküller ubikutin işaretlidir ve katlanmamış yapıdaki proteinlerdir; eğer sindirilecek molekül proteozom kovanın içerisine girebilecek büyüklükte ise degradasyonu UPS ile gerçekleştirilir. ALP sistemi ise yukarıda bahsedilmiş üç tip otofajı da kullanarak degradasyon görevini yerine getirir. ALP, UPS'in aksine hücre içerisinde daha uzun süredir bulunan ve zamanla işlevini yitirmiş proteinleri, organelleri ya da proteozom kovanının içine giremeyecek büyüklükteki molekülleri degrade eder (36,37).

Parkinson hastalığının sebebi sitoplazmik inklüzyonlardır; bunlara Lewy cisimleri denir. Lewy cisimleri, anormal yapılı ve katlanmamış proteinlerin degradasyonunun gerçekleşmemesine bağlı olarak oluşurlar. Lewy cisimleri çoğunlukla alfa-sinüklein proteininin birikmesi ile oluşur. Alfa-sinükle-

in proteinin ifadesinin en yüksek olduğu organ beyindir ve nöronların uç kısımlarında, presinaptik terminallerde, lokalize olurlar. Böylelikle fosfolipidler ve proteinlerle etkileşime girerler; nörotransmitter alışverişinde oldukça önemli rolleri vardır. Bazı genetik anomalilerde alfa-sinükleini kodlayan genin kopya sayısı üçe çıkar ve doğal fenotiple alfa-sinüklein ifadesi hücre içerisinde normalin üzerine çıkar. Alfa-sinüklein hem UPS hem de ALP ile degrade edilen bir protein; özellikle ALP ile degradasyonu sırasında şaperon-kontrollü otofaja uğrar. Hem doğal fenotipli hem de mutant fenotipli alfa-sinüklein varlığının Parkinson patogenizinde etkili olduğu gösterilmiştir (38,39). Ancak buna ek olarak başka mutasyonlar da patogenezi desteklemektedir: UCH-L1 ve parkin genlerindeki mutasyon, lizozomal ATPaz'da bulunan ATP13A2 mutasyonu. Birikmeye başlayan proteinlerin lizozomal ATPaz defekti sonucunda nörodejeneratif hastalık gelişimi gözlemlenmektedir (40,41).

Lizozomal depo hastalıkları (lysosomal storage diseases, LSD) yaklaşık 50 adet az raslantı metabolik hastalıkların genel sınıfıdır. Lizozomun fonksiyonelliğinde meydana gelen aksaklıklar ya da değişikliklerden kaynaklanan ve klinik bulgularında oldukça geniş varyasyona sahip hastalık grubudur. Dört ana tipi vardır: sfingolipidozisler, mukopolisakkaridozisler, oligosakkaridozisler ve glikoproteinozisler. Sfingolipidozislerde glikosfingolipid degradasyonu yapılamaz. Mukopolisakkaridozislerde ekzoglikosidaz ve sülfatazlar gibi lizozomal hidrolazlarda yapısal sıkıntılar bulunur ve dermatan sülfat, heparan sülfat gibi glikoamnglikanların birikimi görülür. Oligosakkaridozis ve oligosakkaridozislerde lizozomal enzim üretiminde meydana gelen defektler LSD'ye sebep olur (42,43).

LSD'lerin çoğunluğunda yüksek oranda klinik heterojenite vardır. Aynı mutasyona sahip olmalarına rağmen semptomlarda geniş varyasyon gözlemlenmiştir. İleri yaşlarda hastalığın etkilerinin görülmeye başlamasından doğum sonrası akut hastalık semptomlarına, ortalama yaşam süresinden erken ölüme kadar çok farklı klinik bulgular aynı mutasyona sahip farklı hastalarda kayda geçmiştir. Kısacası genetik analizlerde mutasyonun belirlenip semptom ve hastalığın seyri üzerine fikir sahibi olmak LSD'ler için geçerli değildir (44). Hatta monozigotik ikizlerin yalnızca bir bireyi semptomatikken diğerinde böyle bir durum olmadığı kayda geçmiştir (45). Yani aynı genom bile olsa çevresel etkiler ile epigenetik faktörler

sebebiyle hastalığın patogenezi farklı seyredebilmektedir. Buna rağmen LSD'ler arasında yaygın olarak görülen ortak biyokimyasal ve klinik karakterler vardır. Çoğunlukla geçen zamanla birlikte daha progresif semptomlar görülmeye başlanır. Ortak somatik değişiklikler ise karakteristik yüz ifadesi, sert yapılı saçlar, karaciğer ve dalakta büyüme, kemik ve iskelet sisteminde değişim, kısa boy, bulanık kornea, solunum ve kardiyak sistemde bozukluklar olarak listelenebilir. Ayrıca çoğu LSD nörodejenerasyona sebep olmaktadır (46).

Gaucher hastalığı (GH) bir lizozomal depo hastalığıdır; sfingolipidozislerin model hastalığı olarak düşünülebilir. β -glukoserebrozidaz (GCaz) enzimini kodlayan GBA geninde meydana gelen bir mutasyon sonucu glukozilseramidi doğru şekilde hidroliz edememesinin ardından lizozomda birikmesi bu hastalığa sebep olur (47). Çoğu LSDde olduğu gibi Gaucher'de de fenotipik heterojenite söz konusudur bu sebeple üç tipe ayrılmıştır. Yalnız tip 1 nöropatik değildir; tip 2 ve 3

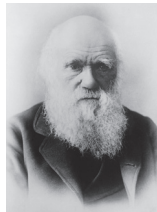
merkezi sinir sistemi üzerinde etkili oldukları için nöropatikler. Tip 2 ve 3 GH hastalarında nöroinflamasyon ve nekrotik hücre ölümleri gözlemlenir ancak bazı durumlarda tip 1 GH hastalarında Parkinson hastalığı da gelişim gösterebilir. Parkinson, GH hastaları ve taşıyıcıları arasında diğer insanlara göre daha yaygın görülür (48).

Lizozomun hücre içerisindeki rolü temelde hücresel sindirim olmasına rağmen hücre metabolizmasının yanı sıra pH dengelenmesi ve enzim aktivitesinin sağlanması konusunda da oldukça önemli bir organeldir. Lizozomal membran potansiyeli, hücre içi veziküler trafik düzenlenmesi açısından oldukça önemlidir. Aynı zamanda membran üzerinde bulunan iyon kanal proteinleri yalnızca lizozom için değil genel hücre iyon homeostazı açısından son derece kritiktir. Lizozomal enzim üretiminde ya da kanal proteinlerde meydana gelen defektler son derece ciddi prognozla seyreden 50den fazla lizozomal depo hastalığına sebep olmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Unit 3: How Are Eukaryotic Cells Organized into Smaller Parts? In: Essentials of Cell Biology. Nature Education.
2. Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky P V., Jackson RB. Campbell Biology. In: Campbell Biology. Ninth Edit. Pearson; :103-107.
3. Alberts B. The Cell. In: Molecular Biology of the Cell. Fifth Edit. Garland Science; :118-200.
4. Settembre C, Fraldi A. Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism. Nat Rev Mol Cell Biol. 2013;283-296.
5. Samie MA, Xu H. Lysosomal exocytosis and lipid storage disorders. J Lipid Res. 2014;55(6):995-1009. doi:10.1194/jlr.R046896.
6. Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007;8(11):931-937. doi:10.1038/nrm2245.
7. Ahlberg J, Marzella L, Glaumann H. Uptake and degradation of proteins by isolated rat liver lysosomes. Suggestion of a microautophagic pathway of proteolysis. Lab invest. 1982;523-532.
8. Cuervo AM, Wong E. Chaperone-mediated autophagy: roles in disease and aging. Cell Res. 2014;24(1):92-104. doi:10.1038/cr.2013.153.
9. Marzella L, Ahlberg J, Glaumann H. Autophagy, heterophagy, microautophagy and crinophagy as the means for intracellular degradation. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol. 1981;36:219-234. doi:10.1007/BF02912068.
10. Eskelinen E-L. Autophagy. Autophagy. <http://www.helsinki.fi/biosciences/biochemistry/eskelinen>.
11. Eskelinen E-L, Saftig P. Autophagy: a lysosomal degradation pathway with a central role in health and disease. Biochim Biophys Acta. 2009;1793(4):664-673. doi:10.1016/j.bbamcr.2008.07.014.
12. Xiong J, Zhu MX. Regulation of lysosomal ion homeostasis by channels and transporters. Sci China Life Sci. 2016. doi:10.1007/s11427-016-5090-x.
13. Mackenzie B, Erickson JD. Sodium-coupled neutral amino acid (System N/A) transporters of the SLC38 gene family. Pflugers Arch Eur J Physiol. 2004;447(5):784-795. doi:10.1007/s00424-003-1117-9.
14. Cang C, Aranda K, Seo YJ, Gasnier B, Ren D. TMEM175 Is an Organelle K⁺ Channel Regulating Lysosomal Function. Cell. 2015;162(5):1101-1112. doi:10.1016/j.cell.2015.08.002.
15. Kasper D, Planells-Cases R, Fuhrmann JC, et al. Loss of the chloride channel CIC-7 leads to lysosomal storage disease and neurodegeneration. EMBO J. 2005;24(5):1079-1091. doi:10.1038/sj.emboj.7600576.
16. Yoshimori T, Yamamoto A. Bafilomycin A1, a specific inhibitor of vacuolar-type H⁺-ATPase, inhibits acidification and protein degradation in lysosomes of cultured cells. J Bio Chem. 1991;17707-17712.
17. Lin P, Duann H. Lysosomal two-pore channel subtype 2 (TPC2) regulates skeletal muscle autophagic signaling. J Bio Chem. 2015;3377-3389.
18. Christensen KA, Myers JT, Swanson JA. pH-dependent regulation of lysosomal calcium in macrophages. 2002.
19. Sakurai Y, Kolokoltsov A. Two-pore channels control Ebola virus host cell entry and are drug targets for disease treatment. Science (80-).:995-998.
20. Tian X, Gala U. A voltage-gated calcium channel regulates lysosomal fusion with endosomes and autophagosomes and is required for neuronal meostasis. PLoS Biol. 2015;13.
21. Cheng X, Shen D. Mucolipins: intracellular TRPML1-3 channels. FEBS Lett. 2010;2013-2021.

22. Shen D, Wang X, Li X, et al. Lipid storage disorders block lysosomal trafficking by inhibiting a TRP channel and lysosomal calcium release. *Nat Commun.* 2012.
23. Cuajungco MP, Silva J, Habibi A, Valadez JA. The mu-colipin-2 (TRPML2) ion channel: a tissue-specific protein crucial to normal cell function. *Pflügers Arch.* 2016;177–192.
24. Remis NN, Wiwatpanit T, Castiglioni AJ, Flores EN, Cantú JA, García-Añoveros J. Mucolipin co-deficiency causes accelerated endolysosomal vacuolation of enterocytes and failure-to-thrive from birth to weaning. *PLoS Genet.* 2014.
25. Miao Y, Li G, Zhang X, Xu H, Abraham SN. A TRP channel senses lysosome neutralization by pathogens to trigger their expulsion. *Cell.* 2015;161:1306–1319.
26. Wang X, Zhang X, Dong X, et al. TPC proteins are phosphoinositide-activated sodium-selective ion channels in endosomes and lysosomes. *Cell.* 2012;151:372–383.
27. Grimm C, Holdt LM, Chen CC, et al. High susceptibility to fatty liver disease in two-pore channel 2-deficient mice. *Nat Commun.* 2014;5:4699.
28. Stauber T, Jentsch TJ. Chloride in vesicular trafficking and function. *Annu Rev Physiol.* 2013;75:453–477.
29. Graves AR, Curran PK, Smith CL, Mindell JA. The Cl⁻/H⁺ antiporter ClC-7 is the primary chloride permeation pathway in lysosomes. *Nature.* 2008;453:788–792.
30. Ishida Y, Nayak S, Mindell JA, Grabe M. A model of lysosomal pH regulation. *J Gen Physiol.* 2013;141:705–720.
31. Weinert M, Rademann J, Stauber T, Kornak U, Jentsch TJ. Lysosomal pathology and osteopetrosis upon loss of H⁺-driven lysosomal Cl⁻ accumulation. *Science (80-).* 2010;328:1401–1403.
32. Lin-Moshier Y, Keebler MV, Hooper R, et al. The two-pore channel (TPC) interactome unmasks isoform-specific roles for TPCs in endolysosomal morphology and cell pigmentation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111:13087–13092.
33. Medina DL, Di Paola S, Peluso I, et al. Lysosomal calcium signalling regulates autophagy through calcineurin and TFEB. *Nat Cell Biol.* 2015;17:288–299.
34. Settembre C, Di Malta C, Polito VA, et al. TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. *Science (80-).* 2011;332:1429–1433.
35. Cang C, Zhou Y, Navarro B, et al. mTOR regulates lysosomal ATP-sensitive two-pore Na⁺ channels to adapt to metabolic state. *Cell.* 2013;152:778–790.
36. Maraganore DM, Lesnick TG, Elbaz A, Chartier-Harlin MC, Gasser T, Kruger R. UCHL1 is a Parkinson's disease susceptibility gene. *Ann Neurol.* 2004;55:512–21.
37. Larsen KE, Sulzer D. Autophagy in neurons: a review. *Histol Histopathol.* 2002;17:897–908.
38. Zarranz JJ, Alegre J, Gomez-Esteban JC, Lezcano E, Ros R, Ampuero I. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol.* 2004;55:164–73.
39. Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R, Lansbury PT, Sulzer D. Impaired synuclein by chaperone-mediated autophagy: degradation of mutant. *Science (80-).* 2004;305:1292–5.
40. Di Fonzo A, Chien HF, Socal M, Giraudo S, Tassorelli C, Iliceto G. ATP13A2 missense mutations in juvenile parkinsonism and young onset Parkinson disease. *Neurology.* 2007;68:1557–62.
41. Ramirez A, Heimbach A, Grundemann J, Stiller B, Hampshire D. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet.* 2006;38:1184–91.
42. Futerman AH, Meier G. The cell biology of lysosomal storage disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004;5:554–565.
43. Ginzburg L, Kacher Y, Futerman AH. The pathogenesis of glycosphingolipid storage disorders. *Sem Cell Dev Biol.* 2004;15:417–431.
44. Maire I. Is genotype determination useful in predicting the clinical phenotype in lysosomal storage disease? *J Inher Metab Dis.* 2001;24:57–61.
45. Lachmann RH, Grant IR, Halsall D, Cox TM. Twin pairs showing discordance of phenotype in adult Gaucher's disease. *Q J Med.* 2004;97:199–204.
46. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, D. V, Childs B, Kinzler KW. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 2001.
47. Beutler E, Beutler L, West C. Mutations in the gene encoding cytosolic beta-glucosidase in Gaucher disease. *J Lab Clin Med.* 2004;144:65–68.
48. Rosenbloom B, Balwani M, Bronstein JM, et al. The incidence of Parkinsonism in patients with type 1 Gaucher disease: data from the ICGG Gaucher registry. *Blood Cells Mol Dis.* 2011;46:95–102.



**CHARLES DARWIN
(1809-1882)**

Hayatının bir dakikasını boşa harcamaya cüret edebilen biri, hayatın değerini anlamamıştır.