

Lizozomal Depo Hastalıklarının Tanı ve Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar

Dr. Dilek GELMEZ BEKER, Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, SAMSUN

- ✓ Doğumsal metabolizma bozuklukları spesifik bazı metabolitlerin dolaşımdaki konsantrasyonlarının ya da dokulardaki depo formlarının artması ile karakterize. genetik hastalıklar için kullanılan genel bir terimdir. Lizozomal depo hastalıkları normalde lizozomal hidrolitik enzimler tarafından yıkılması gereken fakat bu işlem gerçekleşmediği için lizozomlarda biriken metabolitler tarafından oluşturulur. Depo edilen metabolitin cinsine göre eksik enzim tespit edilir. Depo edilen metabolitler genellikle sfingolipidler ve glikozaminoglikanlardır.

Anahtar kelimeler: Lizozom, depo hastalığı, tanı, tedavi

- ✓ **New Approaches in Diagnosis and Treatment of Lysosomal Storage Diseases**
Inborn errors of metabolism is a general term that is applied to numerous genetic disorders whose pathology is usually attributable to excessive tissue stores or circulating concentrations of a specific undegraded metabolite. Lysosomal storage diseases result from accumulation in lysosomes of metabolites that would normally be degraded by one of the many hydrolytic enzymes which reside in subcellular organelles. These specific enzyme deficiencies of lysosomal storage diseases have been identified by products stored in tissues. The nature of these storage products are identified to be sphingolipids and glycosaminoglycans.

Key words: Lysosom, storage disease, diagnosis, treatment

GİRİŞ

Lizozomal depo hastalıkları genel populas-yonda çok nadir görülmekle birlikte kapalı toplumlarda insidans oldukça yüksektir. Bu toplumlarda klinik bulgular belirli bir lizozomal depo hastalığına işaret etmese de hastanın diğer lizozomal depo hastalıkları yönünden incelenmesi gerekir⁽¹⁾. Bazı lizozomal depo hastalıklarında enzim eksikliği serum örnekleri üzerinde yapılan çalışmalarla tespit edilirken diğerleri için lökosit, fibroblast, amniotik sıvı hücreleri gibi lizozom içeren hücreler gerekmektedir. Eritrositler lizozom içermedikleri için bu tip çalışmalar için uygun değildir⁽²⁾.

Lizozomal depo hastalıkları daha önceleri tedavisi olmayan bozukluklar olarak düşünülürken son yirmi yılda kemik iliği trans-

plantasyonu, enzim replasman tedavisi ve glikolipid inhibitörlerinin kullanımı gibi tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. Bu tedavi yöntemleri ile klinik bulgularda büyük ölçüde gerileme sağlanabilmektedir. Ayrıca son yıllarda lizozomal depo hastalıklarını taşıyan hayvan modelleri oluşturularak lizozomal enzimleri taşıyan pek çok gen klonlanmış ve gen transfer metodları denenmiştir. Fakat gen transferinin insanlarda uygulanabilmesi için daha çok araştırmaya ve zamana ihtiyaç bulunmaktadır⁽³⁾.

LİZOZOMLAR VE LİZOZOMAL ENZİMLER

Lizozomlar membranlarla çevrili veziküllerdir ve çok sayıda hidrolitik enzim içerirler

(Tablo). Bu enzimler endojen ve ekzojen makromoleküllerin yıkımından sorumludurlar. Lizozomlar çoğu hücrede bulunmasına rağmen özellikle fagositik aktivite gösteren hücrelerde çok sayıda bulunurlar. Hücre tipine bağlı olarak değişmekle birlikte en sık görülen lizozomal enzimler; Asit fosfataz, ribonükleaz, deoksiribonükleaz, katepsinler, sulfatazlar, lipazlar ve β -glukuronidazdır⁽⁴⁻⁶⁾.

Lizozomal enzimler granüllü endoplazmik retikulumda sentezlenir ve daha sonra golgi kompleksine taşınırlar. Burada modifiye edi-

lerek lizozomlara gönderilip paketlenirler. Bu enzimler, bir veya birden fazla mannozu 6. pozisyonda fosforillenmiş oligosakkarit grupları içerirler. Granüllü endoplazmik retikulum ve golgi kompleksinde mannoz-6- fosfat içeren proteinleri tanıyan reseptörler bulunur⁽⁵⁾.

Lizozomal membran, enzimlerin sitoplazma üzerindeki yıkıcı etkisini engeller. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı kimyasalların lizozomal membran yapısını bozarak enzimlerin sitoplazmaya geçmesine neden olduğu görülmüştür. Özellikle lizozomal enzimler-

Tablo. Önemli lizozomal enzimler ve substratları⁽⁶⁾.

	Substrat
Polisakkarit hidrolize edici enzimler	
α -Glukozidaz	Glikojen
α -Fukozidaz	Fukoz
β -Galaktozidaz	Galaktositler
α -Mannozidaz	Mannositler
β -Glukuronidaz	Glukuronitler
Hyaluronidaz	Hyaluronik asit ve kondroitin sülfatlar
Aril sulfataz	Organik sülfatlar
Lizozim	Bakteri hücre duvarı
Protein hidrolize edici enzimler	
Katepsinler	Proteinler
Kollajenaz	Kollajen
Elastaz	Elastin
Peptidazlar	Peptidler
Nükleik asit hidrolize edici enzimler	
Ribonükleaz	RNA
Deoksiribonükleaz	DNA
Lipid hidrolize edici enzimler	
Lipazlar	Trigliseritler ve kolesterol esterleri
Esteraz	Yağ asiti esterleri
Fosfolipaz	Fosfolipidler
Fosfatazlar	
Fosfataz	Fosfomonoesterler
Fosfodiesteraz	Fosfodiesterler
Sulfatazlar	Heparan sülfat, dermatan sülfat

den heksosaminidazın aktivitesi vücuttaki civa miktarından etkilenmektedir. Ayrıca di klorodifeniltrikloroetan gibi bazı pestisitlerinde β -glukuronidaz aktivitesini etkilediğine işaret edilmiştir⁽⁵⁾.

Bazı küçük moleküller lizozom membranından yüksüz olarak geçerler fakat lizozom lümenine geçtikten sonra asidik ortamda bir proton alarak hidrofilik özellik kazanırlar. Bu durumda lipid yapısında olan lizozom membranını tekrar geçmeleri güçleşir ve lizozom içinde bu moleküllerin konsantrasyonu artar. Antimalaryal bir ilaç olan klorokin bu prensiple laboratuvar koşullarında uygulandığında lizozomal fonksiyonların inhibisyonunu sağlar⁽⁷⁾.

Lizozomal enzimler asit pH'da aktiftirler. Şok ve hipoksi durumunda lizozomal enzimlerin yıkım potansiyeli artar. Yapılan çalışmalarda endotoksin uygulanan kobaylardan elde edilen lizozomlarda membran bütünlüğünün bozulduğu görülmüştür. Çok sayıda hayvan deneylerinden elde edilen sonuçlara göre kan, serum ve lenfteki lizozomal hidrolazların düzeyi şokun şiddeti ile orantılı olarak değişmektedir⁽⁸⁾.

LİZOMAL DEPO HASTALIKLARINDA TANI AMAÇLI KULLANILAN YÖNTEMLER

Lizozomal depo hastalıklarının çok nadir görülmesi ve klinik laboratuvarlarda bu konudaki teknik deneyimin yetersizliği nedeniyle, tüm lizozomal enzim eksiklikleri tespit edilememektedir. Laboratuvarlarda yapay substratlar kullanılarak yapılan enzim ölçümleri güvenilir değildir. Nadir bazı durumlarda enzim doğal substratlara karşı aktivite eksikliği gösterirken, yapay substratlar kullanıldığında normal aktivite gösterebilir. Bu durum total enzim eksikliğinden ziyade bazı ara formların prenatal tanısında önemlidir.

Resesif olarak kalıtılan bozukluklarda kli-

nik bulgular sadece homozigotlarda görülür. Fakat klinik bulgusu olmayan heterozigotlarda enzim ölçümü yapılacak olursa enzim düzeylerinin normal bireylerden daha düşük, homozigotlardan ise daha yüksek olduğu görülür. Genetik danışmanlık, taşıyıcı çiftlerin bilgilendirilmesi için gereklidir. Koryon villus biopsisi ve amnion sıvısı kültürleri ile prenatal tanı konulabilir. Gelecekte spesifik gen problemleri kullanılarak lizozomal depo hastalıkları bakımından taşıyıcı olanlar tespit edilebilecektir.

Lizozomal enzimlerin ölçümünde: Yapay glikozidler, 4-metilumbelliferon yada p-nitrofenolün sülfat türevleri substrat olarak kullanılır. 4-metilumbelliferon substrat olarak kullanıldığında floresans verir. Lizozomal depo hastalıklarının tanısında kullanılan pek çok spesifik enzim testinin yanısıra, idrarda artmış glikozaminoglikan düzeylerinin tayini ve kültürü yapılmış deri fibroblastlarında ³⁵S ile işaretlenmiş glikozaminoglikanların turnover hızının tayini kullanılır⁽¹⁾.

Mukopolisakkaridozların tanısında idrarda spesifik mukopolisakkarid atılımı kromatografi ile gösterilebilir. Sağlıklı bireylerde idrarda glikozaminoglikanların kreatinine oranı oldukça düşüktür fakat mukopolisakkaridozu olanlarda bu oranın arttığı görülür⁽⁹⁾.

Lizozomal enzimleri kodlayan genlerdeki mutasyonların PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile amplifikasyonu mümkündür. Bu yöntem kullanılarak Gaucher hastalığında, glukoserebrosidaz enzimini kodlayan gen bölgesinin mutasyonları tespit edilebilir⁽¹⁰⁾.

Gaucher hastalığında erken prenatal tanı, ultrasonografik incelemelerle ve 15 haftalık fetusta amniositlerde β -glukozidaz aktivitesinin belirlenmesi ile mümkündür. Ultrasonografik incelemelerde hidrops fetalis görülen fetüslerde, lizozomal depo hastalıklarından şüphelenilmeli ve enzim aktivitelerinin ölçümü yapılmalıdır⁽¹¹⁾.

TEDAVIDE YENİ UYGULAMALAR

Lizozomal depo hastalıklarının ağır klinik tablolar oluşturmaları ve bu konuda yeterli ve etkili tedavi metodlarının bulunmaması, bu alanda yapılan çalışmaların hızlandırılmasında önemli bir etken olmuştur. Son yirmi yılda kemik iliği transplantasyonu, enzim replasman tedavisi, glikolipid inhibitörlerinin kullanımı gibi yöntemler geliştirilmiştir. Kemik iliği transplantasyonu hastalığın erken dönemlerinde nörolojik hasar oluşmadan yapılmaktadır. Bu tedavi yöntemi Krabbe hastalığı, Metakromatik lökodistrofi ve Hurler sendromunda etkilidir. GM₁ ve GM₂ gangliosidozlarda ise etkisizdir. Enzim replasman tedavisinin özellikle Gaucher hastalığında etkili olduğu görülmüştür. Glikolipid inhibitörleri (N-butyldoksinijirimycin) Gaucher hastalığında klinik bulgulara gerileme sağlamaktadır^(3,12).

Gaucher hastalığında eksik olan glukocerebrosidazın bir plasental enzim preparatı olan Algluseraz dünya çapında 1000'den fazla hasta üzerinde etkili olmuştur. Yine bir rekombinant enzim preparatı olan İmigluserez, günümüzde Algluserazdan daha çok tercih edilmektedir. Enzim replasman tedavisi uygulanan hastalarda 1-2 ay içerisinde hematolojik bozukluklarda ve hepatosplenomegalide gerileme görülür. İskelet sistemi komplikasyonları ise ancak 3-4 yıllık tedaviden sonra geriler⁽¹³⁾.

Glikolipid inhibitörlerinden N-butyldoksinijirimycin, bir imino şekerdir. Glikosfingolipid sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan glikozil transferazı inhibe eder. Bu yöntem ile in vitro Gaucher hastalığında, glikolipid depolanmasında büyük ölçüde azalma olduğu görülmüştür⁽¹⁴⁾. Substrat azaltma tedavisinin amacı glikosfingolipid sentez hızını azaltmak ve residual enzim aktivitesi ile patolojik depolanmayı önlemektir⁽¹⁵⁾.

Enzim replasman tedavisi Sanflippo sendromunda da denenmiştir. Sanflippo send-

romunda heparan sulfatı metabolize eden α -N-Asetilglukozaminidaz eksiktir. Nörodejenasyon belirgin, somatik bulgular ise genellikle hafiftir. İkinci dekatta genellikle ölümlerle sonuçlanır. Kobaylar üzerinde yapılan çalışmalarda, rekombinant human α -N-Asetilglukozaminidazın makrofajlar tarafından alınmasının glikozaminoglikan depo yükünü büyük ölçüde azalttığı görülmüştür⁽¹⁶⁾.

Substrat azaltma ve enzim replasman tedavisi Fabry hastalığında da gelecekteki tedavi yöntemlerini oluşturacaktır. Günümüzde ise Fabry hastalığı için sadece böbrek transplantasyonu ve semptomatik tedavi uygulanabilmektedir⁽¹⁷⁾.

Lizozomal multifonksiyonel bir protein olan Katepsin A'nın koruyucu görevlerinin olduğu anlaşılmıştır. Yapılan çalışmalarda, galaktosialidozu olan hastaların fibroblast örneklerinde galaktozidaz ve nöraminidaz aktivitesinin Katepsin A tarafından yeniden restore edildiği görülmüştür⁽¹⁸⁾.

Yakın zamanda gen transferi ile ilgili çalışmalar önem kazanmıştır. Lizozomal enzimleri kodlayan genlerin çoğu klonlanmış ve bu genlere karşılık gelen cDNA (komplementer deoksiribonükleik asit)'ların rekombinant vektörlerle transferi sağlanmıştır. Hedef spesifitesi, insersiyon kapasitesi ve transdüksiyon etkisi artırılmış yeni vektörler üzerinde çalışılmaktadır⁽¹⁹⁾.

Geliş tarihi : 23.07.2001

Yayına kabul tarihi : 27.11.2001

Yazışma adresi:

Dr. Yüksel ALIYAZICIOĞLU

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

Biyokimya Anabilim Dalı

55139 Kurupelit, SAMSUN

KAYNAKLAR

1. Guy R, Forsyth JM, Cooper A, et al. Coexistence of lysosomal storage diseases in a consanguineous

- family. *Child Care Health Dev* 2001; 27: 173-181.
2. Burtis CA, Edward RA. *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry*. Second Edition. W.B Saunder Company 1994; 2149-2160.
 3. Caillaud C, Poenaru L. *Gene Therapy in Lysosomal Diseases*. *Biomed Pharmacother* 2000; 54: 505-512.
 4. Lowe DM, Fossato VU. The Influence Of Environmental Contaminants on Lysosomal Activity in the Digestive Cells of Mussels. *Aquat Toxicol* 2001; 48: 75-85.
 5. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*. Seventh Edition. Prentice-Hall International Inc. 1992; 39-42.
 6. Thomas M. *Devlin Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. Fourth Edition. Wiles-Liss Inc. 1997; 17.
 7. Alberts B, Bray D, Lewis J, et al. *Molecular Biology of the Cell*. Third Edition, Garland Publishing Inc. 1983; 367.
 8. Wyngarden. Smith. Bennett. *Cecil Textbook of Medicine*. Nineteenth Edition. Philadelphia W.B Saunders Company. 1992; 1090-1094, 1118-1122.
 9. Gallegos-Arreola MP, Macharro-Lazo MV, Flores-Martinez SE, et al. Urinary Glycosaminoglycan Excretion in Healthy Subjects and in Patients with Mucopolysaccharidosis. *Arch Med Res* 2000; 31: 505-510.
 10. Finckh U, Seeman P, Von Widdern OC, et al. Simple PCR amplification of the entire glucocerebrosidase gene (GBA) coding region for diagnostic sequence analysis. *DNA Seg* 1998; 8: 349-356.
 11. Sarfati R, Hubert A, Dugue-Marechaud M, et al. Prenatal diagnosis of Gaucher's disease type 2 ultrasonographic, biochemical and histologic aspects. *Prenat Diagn* 2000; 20: 340-343.
 12. Kaye EM. Lysosomal storage diseases. *Current Treatment Options in Neurology* 2001; 3: 249-256.
 13. Niederau C, Haussinger D. Gaucher's disease: a review for the internists and hepatologists. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 984-997.
 14. Anderson U, Butters TD, Dwek RA, et al. N-butyldeoxygalactosylamine: a more selective inhibitor of glycosphingolipid synthesis than N-butyldeoxynojirimycin, in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol* 2000; 59: 821-829.
 15. Lanchman RH, Platt FM. Substrate reduction therapy for glycosphingolipid storage disorders. *Expert Opin Investig Drugs* 2001; 10: 455-466.
 16. Yu WH, Zhao KW, Ryazantsev S, et al. Short term enzyme replacement in the murine model of San Filippo syndrome type b. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 573-580.
 17. Linhorst GE, Hollak CE, Bosman DK, et al. Fabry's disease: towards a treatment. *Ned Tijdschr Geneesk* 2000; 144: 2391-2395.
 18. Hiraiwa M. Cathepsin A/ Protective protein: an unusual lysosomal multifunctional protein. *Cell Mol Life Sci* 1999; 56: 849-907.
 19. Poenaru L. From gene transfer to gene therapy in lysosomal storage diseases affecting CNS. *Ann Med* 2001; 33: 28-36.