



Lizozomal Depo Hastalıklarının Otofaji ile İlişkisi

Relationship of Lysosomal Storage Diseases (LSD) with Autophagy

Seda Keskin¹, İsmail Mert Alkaç², Burcu Çerçi³

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

²Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Özet

Lizozomlar, hücredeki hasarlı bileşenleri veya görevini tamamlamış yapıları, içerisinde barındırdığı hidrolitik enzimler sayesinde parçalayan organellerdir ve otofajik yolağın son basamağında görev alırlar. Evrimsel olarak korunmuş bir lizozomal yolak olan otofaji, amino asit açlığı, katlanmamış proteinlerin birikimi veya viral enfeksiyon gibi stres koşullarında etkinleşir. Otofajinin temel görevi, hasarlı proteinleri, organelleri ve enfeksiyon kaynağını oluşturan mikroorganizmaları ortadan kaldırmaktır. Bu parçalanma mekanizması sırasında, lizozomlarla hasarlı proteinleri taşıyan otofajik veziküllerin etkileşmesi sonucunda otofagozomlar oluşur ve bu oluşum hücrel mekanizmalar ile sıkı bir şekilde kontrol altında tutulmaktadır. Bu etkileşim sırasında meydana gelen bir hasar, hücrel homeostazı bozabilir ve organizmanın hayatta kalmasına engel teşkil edebilir. Lizozomal Depo Hastalıkları (LDH), lizozomal enzimleri kodlayan genlerde oluşan mutasyonlar sonucu gelişen ve oldukça sık görülen insan genetik hastalıklarından biridir. Şimdiye kadar, 70'ten fazla LDH tanımlanmıştır. LDH esas olarak lizozomlardaki enzimlerin veya lizozomla ilişkili proteinlerin işlevsel bozukluklarından kaynaklanır. Meydana gelen bu bozukluklar, sindirilmemiş makromoleküllerin hücrelerde birikmesine yol açarak, buldukları organların işlevlerinin düzgün bir şekilde sürdürülmesini tehlikeye sokabilir. LDH, özellikle hastalığın erken evrelerinde başta sinir sistemi olmak üzere iskelet sistemi ve retikuloendotelial sistemde birçok sistemik hasara neden olabilir. Otofajinin modülasyonu ve yeniden aktivasyonu LDH için yeni bir terapötik yaklaşım olarak kabul edilir. Bu derlemede lizozomal depo hastalıkları ve otofaji arasındaki ilişkinin genel mekanizmaları, tedavi yaklaşımlarıyla birlikte değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Otofaji; lizozomal depo hastalıkları; endozom; protein fonksiyon kaybı

Giriş

Lizozomlar hücre için hayati öneme sahip, asidik iç pH'larından ötürü benzersiz özellikteki organellerdir. Hücre içerisinde lizozomların, kolesterol homeostazisi, yüzey reseptörlerinin down-regülasyonu, patojenlerin inaktivasyonu, hücrel atıkların dönüşümü gibi birçok önemli görevi bulunmaktadır (1). Lizozom biyogenezinde, erken endozomlar multiveziküler cisimleri (geç

Abstract

Lysosomes are organelles that break down damaged components or structures that have completed their task in the cell by the hydrolytic enzymes they contain and take part in the last step of the autophagic pathway. Autophagy, an evolutionarily conserved lysosomal pathway, is activated under stress conditions such as amino acid starvation, accumulation of unfolded proteins, or viral infection. The main task of autophagy is to remove damaged proteins, organelles and microorganisms that constitute the source of infection. During this degradation mechanism, autophagosomes are formed as a result of the interaction of lysosomes and autophagic vesicles carrying damaged proteins, and this formation is tightly controlled by cellular mechanisms. Damage during this interaction can disrupt cellular homeostasis and interfere with the survival of the organism. Lysosomal Storage Diseases (LDH) is one of the most common human genetic diseases that develop because of mutations on genes encoding lysosomal enzymes. To date, more than 70 LDHs have been identified. LDH is mainly caused by functional disorders of enzymes or lysosome-associated proteins in lysosomes. These disorders may cause undigested macromolecules to accumulate in the cells, compromising the proper functioning of the organs in which they are located. LDH can cause many systemic damages, especially in the nervous system, skeletal system, and reticuloendothelial system, especially in the early stages of the disease. Modulation and reactivation of autophagy is considered a new therapeutic approach for LDH. In this review, the general mechanisms of the relationship between lysosomal storage diseases and autophagy were evaluated together with treatment approaches.

Keywords: Autophagy; lysosomal storage disease; endosome; protein function loss

endozom) oluşturmak için olgunlaşırlar ve lizozomlarla füzyon ile kaynaşırlar. Lizozomlar proteinler, lipitler, nükleik asitler gibi hücre için büyük öneme sahip birçok yapıtaşının yıkımından sorumludur. Bu yıkım ürünleri ya biyosentetik yollarla geri kazandırılır ya da enerji üretiminde kullanılır. Hücre kaynaklı veya yabancı materyallerin yıkım için lizozoma endositoz, fagositoz, otofaji

veya direkt taşıma ile ulaşabilir (2). Lizozomal depo hastalıkları (LDH), lizozomun görevini yapamamasından dolayı hücrede yıkılmamış materyallerin birikmesiyle ortaya çıkan ve nadir hastalık grubuna giren kalıtsal metabolik hastalıklardır. LDH "nadir hastalıklar" grubundaki hastalıklar içinde, en yaygın olarak görülen insan genetik hastalıklarından biridir (3). Yenidoğanlarda LDH insidansı ortalama 5000'de 1'dir. Ancak reel insidans, tanı konmamış ya da

yanlış tanı konmuş hastaların varlığı nedeniyle daha yüksek olabilmektedir (4). LDH genel olarak lizozomlardaki enzimlerin veya lizozomal ilişkili proteinlerin işlevsel kusurlarından kaynaklanırlar. Bu kusurlar, substratların parçalanmamasına ve bunların lizozomlarda birikmesine neden olarak hücrel strese ve işlev bozukluğuna yol açarlar. LDH mekanizmasının temeli asit hidrolaz kaybına dayansa da birçok hasta lizozomal membran proteinlerinin azalmasından veya çözünür

Tablo 1: Lizozomal Depo Hastalıklarının Özellikleri ve Otofajiye etkisi

LDH Sınıfı	Hastalık Adı	Etkilenen Doku ve Organlar	Hasarlı Lizozomal Protein	Otofajik Yolak Etkisi
Glikojen Depolama Bozuklukları	Danon hastalığı	Kalp ve iskelet kası	LAMP-2	Otofajik vezikül birikimi
	Pompe Hastalığı	İskelet kası	Alfa-glukozidaz	Otofagozom birikimi
Mukopolisakkaridozlar	Çoklu sülfataz eksikliği	Dalak, karaciğer, kemik, deri	Sülfataz	Otofajik substrat birikimi
	Mukopolisakkaridoz Tip IIIA	İskelet-kas sistemi	Heparan sülfataz	Otofagozom-lizozom füzyonunda hasar
	Mukopolisakkaridoz Tip VIA	İskelet-kas sistemi	N-asetil-4-sülfataz	Otofagozom-lizozom füzyonunda hasar
Sfingolipidozlar	Niemann-Pick Hastalığı Tip C	Karaciğer	Çözünebilir kolesterol bağlanma proteini	Hasarlı amfizom oluşumu
	Gaucher Hastalığı	Dalak, karaciğer, kemik iliği	Glukoserebro sidaz	Otofajik yolağın blokajı
	Fabry Hastalığı	Böbrek, kalp	Alfa-galaktoz	Otofajik yolağın inhibisyonu
	GM1 gangliozidoz	Böbrek, kalp	Beta-galaktoz	Otofagozom birikimi
Mukolipid Depolama Hastalığı	Mukolipidoz tip II	İskelet, kalp	N-asetil glukozamin fosforil transferaz	Otofajik yolağın blokajı
	Mukolipidoz tip III	İskelet, kalp	N-asetil glukozamin fosforil transferaz	Otofajik yolağın blokajı
	Mukolipidoz tip IV	Göz	Müsin	Otofajik yolağın blokajı

lizozomal proteazların fonksiyon kaybına bağlı hastalıklardan birine sahip olabilir (5). LDH sinir sistemi, iskelet sistemi ve retikuloendotelial sistem gibi birçok sistemik hastalığın nedeni olabilir.

Özellikle hastalığın erken evrelerinde, ilk olarak merkezi sinir sistemi etkilenmektedir. Bu hastalardaki klinik seyir, semptomlar ve morbidite oranı, hastanın yaşına, spesifik gen

mutasyonlarının neden olduğu protein fonksiyonunun etkilerine, işlevi bozuk moleküllerin birikmesinin neden olduğu biyokimyasal değişikliklere ve birikimin olduğu yerdeki hücre tipine bağlı olarak değişmektedir (6). LDH ilk olarak Hers tarafından 1965 yılında, günümüzde Pompe hastalığı olarak bilinen, asidik alfa-glukozidaz eksikliğine bağlı bir glikojen depolama hastalığı ile tanımlanmıştır. Bu keşfin ardından, gangliosidoz, mukopolisakkaridoz, glikoproteinidoz gibi birçok farklı depo hastalığı tanımlanmıştır (Tablo 1). Zamanla endozom ve lizozomlardaki sorunlu transmembran proteinlerinin de LDH'na sebep olabileceği keşfedilmiştir. I-hücre hastalığı, çoklu sülfataz eksikliği, Niemann-Pick tip C hastalığı, mukolipidoz IV, Danon hastalığı ve daha pek çok hastalık bu tipte LDH'na örnektir (2). Lizozomlar metabolik yolların son organeldir ve otofaji gibi birçok diğer hücresel sistemle etkileşim içindedir (2). Otofaji, hücre ve doku homeostezisinin korunması için çok önemli bir katabolik süreçtir. Hücrede istenmeyen proteinler, lipidler ve organellerin parçalanması olarak tanımlanmıştır. Otofajik veziküller otofagozom olarak isimlendirilir. Otofagozomlar endozomlarla birleşerek amfizomları oluştururlar. Ardından amfizomlar lizozomlarla birleşerek otolizozomları oluştururlar. Otolizozomlar lizozomal hidrolitik enzimlerle parçalamayı gerçekleştirir ve parçalanmış bileşenler sitoplazmaya salınır. Lizozom ve amfizomların füzyonundan Rab7, SNARE gibi birçok protein sorumludur (7). Lizozomlar, otofagozomlarla birleşerek, otofaji sonucunda çıkan ürünlerin sindiriminde önemli rol oynamaktadır (8). Otofaji ile lizozomların bu önemli etkileşiminden dolayı LDH'lerin otofaji üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu derlemede bazı LDH ile otofaji arasındaki ilişkinin tartışılması amaçlanmıştır.

1. LDH ve Otofaji-Lizozom Sistemi

Birçok LDH'nin oluşumu, asidik bir organel olan tek kat zarla çevrili lizozomun disfonksiyonuyla ilişkilidir. Lizozom, nükleik asitler, proteinler, lipidler, mukopolisakkaridler ve glikojen gibi makromoleküller maddeleri parçalayabilen çeşitli asit hidrolazlar içerir. Bu küçük moleküller hücre dışına transporter moleküller ile taşınır, ardından hücreler tarafından yeniden kullanılırlar. Lizozomal enzimlerin çoğu golgide sentezlenirler ve zayıf asidik ortamda (pH:5) en iyi aktiviteye sahiptirler. Bu asiditenin lizozomlarda korunmasını sağlayan, H⁺ iyonlarını sitozolden lizozoma pompalayan membrandaki özel bir

taşıyıcı-proton pompasıdır. Endozomlar ve otofajik veziküller lizozom ile geçici temas halindeyken, ikisinin içeriği değiştirildiğinde veya doğrudan lizozomla kaynaştığında, sırasıyla endolizozomal veya otofajik lizozom oluştuğunda işlevsel hasarlar gelişebilir (9). Lizozomal hidrolaz, membran proteini veya nonenzimatik çözünebilir lizozomal protein kusurlu olduğunda, endolizozom/otolizozom lizozomunda çok sayıda makromolekül veya monomer birikmesiyle genetik yönden kusurlu olmayan metabolik enzimleri ve permeazları inhibe ederek sekonder substratların birikmesine yol açar (10). Bazı LDH'ler ise (mukopolisakkaridozlar I ve VI, GM1 gangliosidoz depolama hastalığı, vb.) proteaz kusurlarından değil, lizozomal-proteaz hidroliz yeteneğinin azalmasından kaynaklanmaktadır (11). Primer ve sekonder substratların birikmesi sadece endozom-otofajik vezikül-lizozom sistemini etkilemekle kalmaz, aynı zamanda mitokondri, endoplazmik retikulum, Golgi ve peroksizomları da etkileyebilir (12). Endolizozomal/otofajik lizozomal disfonksiyonu ve lizozomal yeniden modelleme kusurlarında yer alan mekanizmalar, bu yolun esas kısmının bir serin/treonin kinaz olan ve hücre içi metabolizma/beslenme sinerjisini yöneten rapamisin (mTOR) memelilerde hedefi olduğunu göstermiştir (13). Otofaji sırasında, mTOR, fosforilasyona bağlı bir inaktivasyon ve reaktivasyon döngüsüne maruz kalır; bu, daha sonra lizozomların oluşması için gereklidir ve otofagolizozomal substrat bozunmasına ve lizozomal boşlukta yeterli amino asit seviyelerine bağlıdır (14). LDH'lerde lizozomal yeniden şekillenme ve mTOR'un aktivasyonu hakkında şu anda sınırlı bilgi olsa da otofajik lizozomal degradasyondaki kusurlar mTOR'un yeniden aktivasyonunu engelleyebilir ve böylece lizozomal yeniden şekillenmeyi önleyerek etkilenen hücrelerin primer lizozomlardan eksik kalmasına neden olur. Bu nedenle, tutulu otofagolizozoma ek olarak, otofajik veziküller, defektli birincil lizozomlar tarafından tutulabilir, bu da otofajik veziküllerin ve lizozomal belirteçlerin kolokalizasyon seviyesindeki azalmayı açıklayabilir (15).

2. Glikojen Depolama Bozuklukları

2.1. Danon hastalığı (LAMP2 eksikliği): Danon hastalığı (glikojen LDH veya normal asit maltaz LDH) lizozomal ilişkili membran proteini 2 (LAMP2) işlevsel bozukluğundan kaynaklanan, X'e bağlı kalıtılan ve son derece nadir görülen bir hastalıktır (16-18). LAMP proteinleri, lizozomal lümenin asidik kalmasından, makromoleküllerin

tanınmasından, lizozomların, endozomlar, fagozomlar ve plazma membranı ile füzyonundan sorumludurlar. LAMP-1 ve LAMP-2 lizozomal membranların iç kısmında bulunurlar. Özellikle LAMP-2 genindeki mutasyonların sebep olduğu protein eksikliğinin Danon hastalığına sebep olduğu belirtilmiştir (19). Ana fenotipi şiddetli kardiyomiopati ve zekâ geriliğinin eşlik ettiği iskelet kası zayıflığıdır. Danon hastalığı, otofaji disfonksiyonu içeren ilk bildirilmiş LDH'dir. Karaciğer, kas ve miyokardiyum dâhil olmak üzere *Lamp2* nakavt fare modellerinin çeşitli dokularında otofajik vezikül birikimi saptanmış olup, hepatositlerde lizozomal bozunma görülmüştür (16).

2.2. Pompe hastalığı (glikojen depolama hastalığı tip II): Glikojen depo hastalığı tip II (Pompe hastalığı), tanımlanan ilk LDH'dir. Bu hastalığa, glikojenin glikoza dönüşmesini engelleyen asit α -glukozidaz (α -1,4-glucosidase/GAA) eksikliği sebep olmaktadır (2). Bu aktivite kaybı sonucunda lizozomlarda glikojen ve otofagozom birikir. Bebek ve küçük çocuklarda görülen şiddetli halsizlik ve kalp yetmezliği en belirgin semptomlardandır (20). Pompe hastalığının tedavisi için, rekombinant asit α -glukozidaz ile enzim replasman tedavisi (ERT) kullanılmaktadır ve fonksiyonel olmayan enzimin yerini rekombinant fonksiyonel enzimin almasına dayalı bir tedavi şeklidir. Hastalığın, glikojen dolu lizozomun hasar görüp, sitozole glikojen ve toksik maddeler salınması sonucu oluştuğu düşünüldüğünden, lizozomlar yok edilmeden önceki erken tedavi, kademeli olarak reaksiyonu tersine çevirebilir (21). Pompe hastalık modelleri incelendiğinde, temel olarak iskelet kaslarının etkilendiği belirlenmiştir. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde, kas hücrelerinde büyük miktarda biriken otofagozomlar gözlenmiş, hemen hemen tüm kas liflerinde çok sayıda kümelenmiş lizozomal proteinler (LAMP1 ve LC3 gibi) tespit edilmiştir (21). Toksik bileşiklerin hücre içerisindeki birikimi ile kas hücrelerinin kasılma fonksiyonunda ve hücre bütünlüklerinde bozulmalar oluşmakta hem fare modellerinde hem de insanlarda kas zayıflıklarına sebep olmaktadır (7). Morfolojik olarak kas liflerinin ve kas hasarının nihai yıkımı anormal otofajinin sonucudur ve bunun sonucunda hem otofajik veziküllerin üretimi hem de otofajik vezikül-lizozom füzyonu etkilenir (22). Dolayısıyla otofajiyi hedefleyen tedavi stratejileri Pompe hastalığının etiolojisinde yarar sağlayabilir. ERT tedavisinin ve otofajinin inhibisyonunun, pompe fareler üzerindeki etkisi belirlenmiş ve

erken evrede otofajik veziküllerin oluşumunun azaldığı, kas hücrelerindeki hasarın da yavaşladığı gözlenmiştir (23).

3. Mukopolisakkarit Depolama Bozuklukları

Mukopolisakkaridozlar (MPS), mukopolisakkaritlerin bozunmasını katalize eden enzim fonksiyonlarındaki kusurların neden olduğu bir LDH sınıfıdır. Mukopolisakkaridler, şeker zinciri moleküllerinin uzun ve tekrarlayan bir kompleksidir. Mukopolisakkaritlerin degradasyonunu katalize eden enzimler kusurlu olduğunda, dermatan sülfat, heparin sülfat, keratan sülfat, kondroitin sülfat veya hyaluronan gibi mukopolisakkaritlerin bozunmasını inhibe edilerek birikimlerine neden olabilir. Lizozomlarda mukopolisakkaritlerin birikmesi, hücrelerin, dokuların ve organların işlev bozukluğuna neden olabilir. Fonksiyonel açıdan yetersiz 11 çeşit enzimin, yedi farklı mukopolisakkaridoz hastalığına yol açtığı bilinmektedir, bunlardan tip III MPS, dört farklı gruba ayrılabilen, heparan sülfat enzim eksikliğinden kaynaklanan Sanfilippo sendromu olarak da adlandırılır. Farklı enzim fonksiyonel kusurlarının neden olduğu tipler ise A, B, C ve D'dir. Bunların arasında MPS tip IIIA, şiddetli zihinsel semptomlar, hiperaktivite ve nispeten hafif fiziksel semptomlarla karakterize olan heparan N-sülfataz enziminin fonksiyonundaki bozukluklardan kaynaklanır (24,25). Polisülfataz eksikliği, bozuk sülfataz aktivitesi nedeniyle hastaların karmaşık multisistem fenotipleri geliştirdiği, nadir fakat daha zarar verici bir hastalıktır. Bu hastalığa, tüm sülfataz enzimlerinin gerekli translayon sonrası modifikasyonuna yol açan sülfataz modifiye edici faktör 1 (SUMF1) kodlama genindeki mutasyonlar neden olur. MSD hastalarında sülfataz aktivitesinin normal olmaması, sülfat ve mukopolisakkarit birikimine neden olarak beşi mukopolisakkaridoz olan en az yedi hastalığın eş zamanlı klinik semptomlarına neden olur. Bu hastalıkların fenotiplerinin çoğu, Sumf1 nakavt MSD fare modelinde taklit edilebilir (26). Bozulmuş otofaji, MSD ve MPS hastalığının patogeneğinde önemli bir rol oynayabilir. Yabani tip farelerle karşılaştırıldığında, otofajik veziküller MSD ve MPS IIIA fare modellerinin çoklu beyin bölgelerinde önemli ölçüde artmış olup, LAMP1 lokalizasyonu MSD ve MPS IIIA model hücrelerinde azalmıştır. Elde edilen tüm bu sonuçlar otofajinin azaldığını düşündürmüştür (27). Poliübikitinlenmiş proteinler ve disfonksiyonel mitokondri gibi otofajik substrat

birikimi MSD ve MPS IIIA farelerinde otofajik disfonksiyonu gösterir. İskelet gelişimi sırasında, MSD farelerindeki kondrositler lizozomlarda depolanır ve otofajik veziküllerin temizlenmesi, enerji metabolizmasında ve hücre ölümünde değişikliklere yol açmaktadır (28). Maroteaux-Lamy sendromu olarak da bilinen MPS tip VI mukopolisakkaridoz, lizozomal enzim N-asetil-4-sülfatazdaki (arilsülfataz B, ARSB) bir eksiklikten kaynaklanır. ARSB, esas olarak dermatan sülfat olmak üzere mukopolisakkaritlerdeki sülfatların hidrolizini katalize eder. ARSB enzim aktivitesi olmadığında, dermatan sülfat bozunamaz ve farklı hücre ve dokularda birikir. MPS VI hastalarından alınan fibroblastlar kullanılarak, lizozomal depolanmanın bozulmuş otofajiye, poliübikitinlenmiş proteinlerin ve disfonksiyonel mitokondri birikimine yol açtığı bulunmuştur. Ancak LC3'ün LAMP2 ile kolokalizasyon üzerinde hiçbir etkisi olmadığı, bu da otofajik veziküllerin lizozomlarla füzyonunun tamamen engellenmediğini göstermiştir. Bunun sebebi olarak da muhtemelen mukopolisakkarit lizozomal katepsin aktivitesini inhibe ettiği ve otofaji hasarına neden olduğu düşünülmektedir (28).

4. Sfingolipidozlar

Sfingolipidoz, fonksiyonel hidrolitik enzim eksikliklerine bağlı olarak tamamen veya kısmen bozunmamış sfingolipidlerin birikmesidir (29). Özellikle çocuklarda sinir sistemini etkileyen bu bozukluklarla ilgili yapılan son çalışmalarda, glikosfingolipidlerin hücre kültür ortamına eklendiğinde otofajiyi indüklediği, ancak otofajik vezikül klirensinin azaldığı ve hızla otofajik veziküllerin birikmesine neden olduğu bulunmuştur (29). Sfingolipid depo hastalıkları arasında Niemann-Pick hastalığı, Gaucher hastalığı, Fabry hastalığı ve GM1/2 gangliosidoz bulunur (30).

4.1. Niemann – Pick hastalığı tip C: Niemann-Pick hastalığı, A, B, C1 ve C2 tiplerine ayrılır; burada tip A ve tip B, *SMPD1* mutasyonu nedeniyle asit sfingomiyelinaz aktivitesi kaybından kaynaklanır; tip C1 ve tip C2, iki proteini kodlayan *NPC1* veya *NPC2* genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Niemann-Pick tip C hastalığında (NPC), hastaların %95'i *NPC1* mutasyonlarına ve %5'i *NPC2*'ye sahiptir (31). *NPC1*, çoklu bir transmembran proteindir. *NPC2* ise geç endozomal/lizozomal boşlukta lokalize olan çözünür bir proteindir (32). *NPC1* mutant farelerin beyinlerinde önemli ölçüde otofajik vezikül birikimi ve otofajik yolağın blokajı

gözlenmiş olup, bu otofaji bozukluğunun, hücre canlılığında azalmasına sebep olduğu belirtilmiştir. NPC-2 geni susturulmuş adipositlerde de otofajik substrat birikimi gözlenmiştir. Bu çalışmalar, otofajinin NPC için potansiyel olarak değerli bir terapötik hedef olabileceğini göstermektedir (33).

4.2. Gaucher hastalığı: Gaucher hastalığı, glukozamin glukozidazın (GCase) veya aktivatörü saposin C'yi kodlayan genlerdeki mutasyonların neden olduğu en yaygın sfingolipidoz türüdür (34). Gaucher hastalığının *in vivo* modellerinde aksonal veziküllerde otofajik substrat birikimi tespit edilmiştir. Son zamanlarda, kullanılan *Drosophila* Gaucher hastalık modelinde, şiddetli lizozomal kusurlar ve otofajik aksın durması da gözlenmiştir. Bu da hayvanlarda yaşam süresini kısaltarak nörodejenerasyonla sonuçlanmıştır. Bunun mTOR sinyal yolu bozuklukları ile ilişkili olabileceği kanısına varılmıştır. Ancak bu durum rapamisin tarafından tersine çevrilmiştir. Elde edilen bulgular, Gaucher hastalığı olan hastalarda veya hayvan modellerinde hücre içi otofaji sürecinde bir kusur olabileceğini işaret etmektedir (35).

4.3. Fabry hastalığı ve GM1 gangliosidoz: GM1 gangliosidoz, beyinde GM1 gangliosid birikimine yol açan, lizozomal beta-galaktosidaz aktivitesinin kaybının sebep olduğu bir LDH'dir (36). GM1-gangliosidoz model farelerde otofaji veziküller ve anormal mitokondri seviyeleri bulunmuştur (37). Kajihari ve ark., GM1 gangliosid hastalarından elde edilen indüklenmiş pluripotent kök hücreleri kullanarak, geliştirdikleri sistemde otofajiyi aktif hale getirip, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarında GM1 gangliosid akümüülasyonunu azaltmışlardır (38). Fabry hastalığına, lizozomal α -galaktosidaz A'nın birikimi neden olmaktadır (36). Birçok organı etkileyen bu hastalıkta, hastalarda böbrek hasarı, nöropatik ağrılar ve kalp hastalıkları görülmektedir. Alfa-Gal-A substratının birikiminden dolayı otofajik membran yapısı değişir ve otofajik yolak zarar görür (39).

5. Mukolipit Depolama Hastalıkları

5.1. Mukolipidoz tip II ve III: Mukolipidoz Tip II ve III çocukluk çağı otozomal resesif lizozomal depo hastalıklarıdır. Genellikle klinik olarak tanılanması zordur ve erken yaşta (ortalama 5-8 yaş) ölüme sebep olur (40). Her iki hastalık da *GNPTAB* ve *GNPTG* genlerindeki mutasyon sonucunda oluşan N-asetilglukozamin-1-fosfotransferaz eksikliğine bağlı olarak gelişir. Bu enzim alfa, beta ve gama olmak üzere üç alt birimden oluşmaktadır ve *GNTAB* geni alfa-beta alt birimlerini kodlarken, *GNPTG* geni gama alt

birimini kodlamaktadır (41,42,43). Bu enzim kompleksi lizozomların hücre içi trafiğinde görev almaktadır ve eksikliğinde lizozomal disfonksiyona bağlı olarak parçalanmamış materyallerin hücre içi akümülyasyonuna sebep olmaktadır (42). Mukolipidoz II ve III'ün günümüzde bir tedavisi bulunmamaktadır (43). RNA splysing mekanizmasının düzenlenmesi ile tedavi stratejilerinin geliştirilebileceği düşünülmektedir (44).

5.2. Mukolipidoz tip IV: Mukolipidoz tip IV (MLIV), Mukolipin 1 (*MCOLN1*) genindeki mutasyonun sebep olduğu, çeşitli nörolojik ve oftalmolojik anomalilerle karakterize olan bir LDH'dir. *MCOLN1*'in geç endozomal/lizozomal yolda protein ve lipit trafiğinin düzenlenmesi için gerekli olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla bu gendeki mutasyonların otofagozomların oluşumu veya yıkımı üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir (45). MLIV'li hastalardan alınan fibroblastlarda, otofajik veziküllerin endozomlar/lizozomlarla füzyonunun bloke edilmesi sonucu, hücrede biriktiği gözlenmiştir (46). Vergarajauregui ve ark. otofajinin modülasyonunun MLIV tedavisinde etkili bir strateji olabileceğini önermişlerdir. Otofaji aktivasyonu ile otofagozom yıkımının engellenip, nörodejeneratif hasarın azaltılabileceğini belirtmişlerdir (45).

6. LDH'ler için Terapötik Stratejiler

Farklı LDH'lerin geliştirilmesinde, semptomların şiddeti, dokunun tipi, hücrede biriken moleküller ve otofaji etkilidir (47). Otofajik yoldaki değişikliklerin veya lizozomal fonksiyonun güçlendirilmesinin, LDH için potansiyel bir tedavi olarak kullanılabilmesi birçok çalışma tarafından belirtilmiştir (48,49). LDH'ye sebep olan otofajik bozulmaların diğer otofaji kusurlarının neden olduğu mekanizmalara benzer olduğu tespit edilmiştir. Özellikle yaşlıları etkileyen Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı ve Huntington hastalığı gibi bazı nörodejeneratif hastalıklarda, sinir hücrelerinde çok sayıda birikmiş protein bulunur ve bu kümelenmiş proteinler, bu hastalıkların anahtar unsurlarıdır (50). Yapılan çoğu çalışmada, otofaji nörodejeneratif hastalıkların tedavilerinde hedef bir yolak olarak kullanıldığından, LDH'nin tedavisinde de önemli olabileceği belirtilmiştir (50,51). Birçok araştırmacı, bu hastalıklarda protein geri dönüşümünü sağlayan otofajik yollarının önemini farkındadır. Örneğin, otofajinin ilaçla aktivasyonu, Huntington hastalığı gibi nörolojik hastalıklarda protein birikimini

önleyebilir. Huntington'un *Drosophila* modelinde, rapamisin'in nörodejenerasyonu önlediği gösterilmişken, Huntington fare modelinde ise nöropatolojik durum, patolojik protein birikimini temizlemek için otofajiyi artırarak iyileştirdiği görülmüştür (52). Trehaloz, pek çok memeli olmayanlarda bulunan bir disakkarit olup, nöron hücre kültürlerinde antiapoptotik etkilere sahip mTOR'dan bağımsız bir otofaji aktivatörüdür. Lizozom ve otofaji yolağı aktivasyonunu hedefleyen önemli bir transkripsiyon faktörü olan TFEB'nin çok umut verici bir terapötik strateji olduğu düşünülmektedir. TFEB, endozomların, otofajik veziküllerin ve lizozomların işlevini düzenlemektedir (53). Son çalışmalar, lizozomun iç zarında kolesterol birikiminin, lizozomların organizasyonunu ve bileşimini değiştirebileceğini ve bunların kaynaşma yeteneklerini azaltılabileceğini göstermiştir (54,55). Metilsiklodekstrin gibi bazı ilaçlar, membrandaki kolesterol seviyelerini düşürerek lizozomal füzyonun yeniden sağlanmasını ve bloke otofajik yolların aktif hale gelmesini sağlayabilir (56). Bu tür bileşikler *in vivo* olarak toksik olmasına rağmen, FDA Kleptose, Trappsol ve CAPTISOL gibi siklodekstrinlerin klinik kullanımını onaylamıştır (2). Otofajiyi düzenleyici ilaçların, otofaji yolağının farklı aşamalarındaki terapötik etkinliğinin belirlenmesi için daha fazla *in vivo* ve *in vitro* çalışma gerekmektedir.

7. Sonuç

Lizozomal depo hastalıkları, fonksiyonel enzim kusurları ve otofajik yoldaki kusurlar sonucunda hücrelerde parçalanmayan moleküllerin birikimi sonucunda oluşmaktadır. Bu kusurların önlenmesi ve klinik seyrin stabil hale gelebilmesi için farklı terapötik stratejiler üzerinde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Kombinasyon ilaç tedavisi, LDH için umut verici bir tedavi stratejisidir. ERT terapisi ile birleştirilmiş otofaji indüksiyonu iyi bir tedavi seçeneği olabileceği gösterilmiştir fakat sadece LDH'lerin bireysel alt tipleri için uygundur ve yüksek maliyetlidir. Dolayısıyla etkili, kullanımı kolay ve maliyeti düşük tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır. İlerleyen çalışmalarda, otofajik düzenlemenin LDH'ler üzerindeki uzun süreli etkilerinin belirlenmesi ve otofajik yolağa spesifik tedavi stratejilerinin geliştirilmesi beklenmektedir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarların bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek Beyanı: Bu çalışma herhangi bir kurum ya da kuruluş tarafından desteklenmemiştir.

Yazarların Katkısı: SK: Konsept, tasarım, literatür taraması, makale yazımı, analiz ve yorumlama, inceleme ve revizyon. İMA: Literatür taraması, analiz ve yorumlama, görselleştirme desteği, inceleme ve revizyon. BÇ: Literatür taraması, analiz ve yorumlama, görselleştirme desteği, inceleme ve revizyon.

Kaynaklar

1. Luzio JP, Pryor PR, Bright NA. Lysosomes: fusion and function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8 (8): 622-632.
2. Lieberman AP, Puertollano R, Raben N, et al. Autophagy in lysosomal storage disorders. *Autophagy* 2012; 8 (5) :719-730.
3. Neufeld EF. Lysosomal storage diseases. *Annu Rev Biochem* 1991; 60(1):257-280.
4. Mashima, R., Okuyama, T. and Ohira, M. Biomarkers for Lysosomal Storage Disorders with an Emphasis on Mass Spectrometry. *Int J Mol Sci* 2020; 21(8), 2704.
5. Skotland T, Sagini K, Sandvig K, Llorente A. An emerging focus on lipids in extracellular vesicles. *Adv Drug Deliver Rev* 2020; 159: 308-321.
6. Leal AF, Espejo-Mojica AJ, Sánchez OF, Ramírez CM, Reyes LH, Cruz JC, et al. Lysosomal storage diseases: current therapies and future alternatives. *J Mol Med* 2020; 98(7): 931-946.
7. Ward C, Martinez-Lopez N, Otten EG, Carroll B, Maetzel D, Singh R, et al. Autophagy, lipophagy and lysosomal lipid storage disorders. *BBA-Mol Cell Biol L* 2016;1861(4): 269-284.
8. Eskelinen EL, Saftig P. Autophagy: a lysosomal degradation pathway with a central role in health and disease. *BBA-Mol Cell Res* 2009;1793(4): 664-673.
9. Fuller M, Meikle PJ, Hopwood JJ. Epidemiology of lysosomal storage diseases: an overview. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford: Oxford Pharma Genesis; 2006.
10. Winchester B. Laboratory diagnosis of lysosomal storage diseases. In: Metha A, Winchester B, editors. *Lysosomal Storage Disorders: A Practical Guide*. John Wiley & Sons, Ltd; 2012. p. 20-28.
11. Mehta A, Beck M, Linhart A, Sunder-Plassmann G, Widmer U. History of lysosomal storage diseases: an overview. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006.
12. Filocamo M, Morrone A. Lysosomal storage disorders: molecular basis and laboratory testing. *Hum Genomics* 2011;5(3):1-4.
13. Palmieri M, Pal R, Nelvagal HR, Lotfi P, Stinnett GR, Seymour ML, Chaudhury A et al. mTORC1-independent TFEB activation via Akt inhibition promotes cellular clearance in neurodegenerative storage diseases. *Nat Commun* 2017;8(1):1-9.
14. Bobillo Lobato J, Jiménez Hidalgo M, Jiménez LM. Biomarkers in lysosomal storage diseases. *Diseases* 2016;4(4): 40.
15. Seranova E, Connolly KJ, Zatyka M, Rosenstock TR, Barrett T, Tuxworth RI, Sarkar S. Dysregulation of autophagy as a common mechanism in lysosomal storage diseases. *Essays Biochem* 2017;61(6): 733-749.
16. Nascimbeni AC, Fanin M, Angelini C, Sandri M. Autophagy dysregulation in Danon disease. *Cell Death Dis* 2018;8(1): e2565-.
17. Rowland TJ, Sweet ME, Mestroni L, Taylor MR. Danon disease dysregulation of autophagy in a multisystem disorder with cardiomyopathy. *J Cell Sci* 2016; 129(11): 2135-2143.
18. Brambatti M, Caspi O, Maolo A, Koshi E, Greenberg B, Taylor MR, et al. Danon disease: Gender differences in presentation and outcomes. *Int J Cardiol* 2019; 286:92-98.
19. Cenacchi G, Papa V, Pegoraro V, Marozzo R, Fanin M, Angelini C. Danon disease: Review of natural history and recent advances. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2020;46(4):303-322.
20. Fukuda T, Ahearn M, Roberts A, Mattaliano RJ, Zaal K, Ralston E, et al. Autophagy and mistargeting of therapeutic enzyme in skeletal muscle in Pompe disease. *Mol Ther* 2006;14(6):831-839.
21. Raben N, Schreiner C, Baum R, Takikita S, Xu S, Xie T, et al. Suppression of autophagy permits successful enzyme replacement therapy in a lysosomal storage disorder-murine Pompe disease. *Autophagy* 2010;6(8):1078-1089.
22. Raben N, Wong A, Ralston E, Myerowitz R. Autophagy and mitochondria in Pompe disease: nothing is so new as what has long been forgotten. *Am J Med Genet C* 2012;160(1):13-21.

23. Lim JA, Sun B, Puertollano R, Raben N. Therapeutic benefit of autophagy modulation in Pompe disease. *Mol Ther* 2018;26(7):1783-1796.
24. Boudewyn LC, Walkley SU. Current concepts in the neuropathogenesis of mucopolysaccharidosis type IV. *J Neurochem* 2019;148(5):669-689.
25. Settembre C, Fraldi A, Jahreiss L, Spampinato C, Venturi C, Medina D, et al. A block of autophagy in lysosomal storage disorders. *Hum Mol Genet* 2008;17(1):119-129.
26. Miranda AM, Lasiecka ZM, Xu Y, Neufeld J, Shahriar S, Simoes S, et al. Neuronal lysosomal dysfunction releases exosomes harboring APP C-terminal fragments and unique lipid signatures. *Nat Commun* 2018;9(1):1-6.
27. De Pasquale V, Costanzo M, Siciliano RA, Mazzeo MF, Pistorio V, Bianchi L, et al. Proteomic analysis of mucopolysaccharidosis IIIB mouse brain. *Biomolecules* 2020;10(3): 355.
28. Fecarotta S, Gasperini S, Parenti G. New treatments for the mucopolysaccharidoses: from pathophysiology to therapy. *Ital J Pediatr* 2018;44(2): 135-143.
29. Bajaj L, Lotfi P, Pal R, Ronza AD, Sharma J, Sardiello M. Lysosome biogenesis in health and disease. *J Neurochem* 2019;148(5):573-589.
30. Platt FM. Sphingolipid lysosomal storage disorders. *Nature* 2014;510(7503):68-75.
31. Vanier MT. Niemann-Pick disease type C. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5(1):1-8.
32. Patterson MC, Hendriksz CJ, Walterfang M, Sedel F, Vanier MT, Wijburg F, NP-C Guidelines Working Group. Recommendations for the diagnosis and management of Niemann-Pick disease type C: an update. *Mol Genet Metab* 2012;106(3): 330-344.
33. Bounford KM, Gissen P. Genetic and laboratory diagnostic approach in Niemann Pick disease type C. *J Neurol* 2014;261(2): 569-75.
34. Lee KS, Tobin MS, Chen KT, Ahmed F, Gomez-Leon G. Acquired Gaucher's cells in Hodgkin's disease. *Am J Med* 1982;73(2): 290-4.
35. Aflaki E, Westbroek W, Sidransky E. The complicated relationship between Gaucher disease and parkinsonism: insights from a rare disease. *Neuron*. 2017;93(4): 737-746.
36. Suzuki Y. Chaperone therapy update: Fabry disease, GM1-gangliosidosis and Gaucher disease. *Brain Dev* 2013;35(6): 515-523.
37. Patterson MC. Gangliosidoses. *Handb Clin Neurol*. 2013; 113:1707-1708.
38. Kajihara R, Numakawa T, Odaka H, Yaginuma Y, Fusaki N, Okumiya T, et al. Novel Drug Candidates Improve Ganglioside Accumulation and Neural Dysfunction in GM1 Gangliosidosis Models with Autophagy Activation. *Stem Cell Rep* 2020;14(5): 909-923.
39. Miller JJ, Kanack AJ, Dahms NM. Progress in the understanding and treatment of Fabry disease. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 2020;1864(1):129437.
40. Gowda V, Raghavan V, Bhat M, Benakappa A. Mucopolysaccharidosis type II secondary to GNPTAB gene deletion from India. *J Pediatr Neurosci* 2017; 12(1): 115-116.
41. Köse S, Kaya FA, Kuşkonmaz BB, Çetinkaya FD. Characterization of mesenchymal stem cells in mucopolysaccharidosis type II (I-cell disease). *Turk J Biol* 2019;43(3): 171-178.
42. Danyukova T, Ludwig NF, Velho RV, Harms FL, Güneş N, Tidow H, et al. Combined in vitro and in silico analyses of missense mutations in GNPTAB provide new insights into the molecular bases of mucopolysaccharidosis II and III alpha/beta. *Hum Mutat* 2020;41(1):133-139.
43. Oussoren E, van Eerd D, Murphy E, Lachmann R, van der Meijden JC, Hoefsloot LH, et al. Mucopolysaccharidosis type III, a series of adult patients. *J Inher Metab Dis* 2018;41(5):839-848.
44. Matos L, Vilela R, Rocha M, Santos JI, Coutinho MF, Gaspar P, et al. Development of an antisense oligonucleotide-mediated exon skipping therapeutic strategy for Mucopolysaccharidosis II: Validation at RNA level. *Hum Gene Ther* 2020; 31(13-14): 775-783.
45. Vergara Jauregui S, Connelly PS, Daniels MP, Puertollano R. Autophagic dysfunction in mucopolysaccharidosis type IV patients. *Hum Mol Genet* 2008;17(17): 2723-2737.
46. Giugliani R. Mucopolysaccharidoses. In: Pyeritz RE, Korf BR, Grody WW, editors. *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics and Genomics: Metabolic Disorders*. Elsevier Inc; 2021. p. 501-562.
47. Ohashi T. Gene therapy for lysosomal storage diseases and peroxisomal diseases. *J Human Genet* 2019;64(2):139-143.

48. Jeyakumar M, Dwek RA, Butters TD, Platt FM. Storage solutions: treating lysosomal disorders of the brain. *Nat Rev Neurosci* 2005;6(9):713-725.
49. Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, et al. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature* 2006;441(7095):885-889.
50. Marques AR, Saftig P. Lysosomal storage disorders—challenges, concepts and avenues for therapy: beyond rare diseases. *J Cell Sci* 2019;132(2): jcs221739.
51. Moors T, Paciotti S, Chiasserini D, Calabresi P, Parnetti L, Beccari T, et al. Lysosomal dysfunction and α -synuclein aggregation in Parkinson's disease: diagnostic links. *Mov Disord* 2016;31(6): 791-801.
52. Saffari A, Kölker S, Hoffmann GF, Ebrahimi-Fakhari D. Linking mitochondrial dysfunction to neurodegeneration in lysosomal storage diseases. *J Inherit Metab Dis* 2017;40(5): 631-640.
53. Rusmini P, Cortese K, Crippa V, Cristofani R, Cicardi ME, Ferrari V, et al. Trehalose induces autophagy via lysosomal-mediated TFEB activation in models of motoneuron degeneration. *Autophagy* 2019;15(4): 631-651.
54. Fuller M, Futerman AH. The brain lipidome in neurodegenerative lysosomal storage disorders. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;504(3): 623-628.
55. Králová J, Jurášek M, Krčová L, Dolenský B, Novotný I, Dušek M, et al. Heterocyclic sterol probes for live monitoring of sterol trafficking and lysosomal storage disorders. *Sci Rep* 2018;8(1):1-11.
56. Li R, Hao J, Fujiwara H, Xu M, Yang S, Dai S, et al. Analytical characterization of methyl- β -cyclodextrin for pharmacological activity to reduce lysosomal cholesterol accumulation in Niemann-Pick disease type C1 cells. *Assay Drug Dev Technol* 2017;15(4):154-166.