

Gaucher hastalığında, otofaji mekanizması ve aktivitesinin moleküler ve hücresel düzeyde incelenmesi

Özlem Oral¹, Parisa Sharafi³, Aysel Yüce², Devrim Gözüaçık^{1*}, Serap (Emre) Dökmeci^{3*}

¹ Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyolojik Bilimler ve Biyomühendislik Programı, 34956 Tuzla, İstanbul, Türkiye; ² Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Ünitesi, , 06100, Ankara, Türkiye; ³ Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 06100, Ankara, Türkiye

* Eşit paylaşımlı yazışmayı yürüten yazarlar: dgozuacik@sabanciuniv.edu, semre@hacettepe.edu.tr

Lizozomlar, hücrenin en önemli yıkım organelleri olup, içlerinde asit pH'de çalışan birçok hidrolitik enzim bulundurlar. Yıkılacak substratlar, lizozomlara endositoz, fagositoz ya da otofaji gibi farklı mekanizmalarla taşınırlar. Makrotofaji ya da kısaca otofaji, hücre içindeki stoplazma parçaları ve organellerin, otofajik vezikül denilen kesecik benzeri yapılar içinde hapsedilmek suretiyle lizozomlara taşınması ve burada sindirilmesidir. Lizozomların fonksiyonları, lizozomal hidrolazlar ve lizozom zarında bulunan lizozomal zar proteinleri (LZP) nin uyumlu çalışmasına bağlıdır. Bu proteinleri kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonların lizozom işlevlerini bozarak, hücre içinde metabolize olmayan substratların birikmesine ve lizozomal depo hastalıklarına (LDH) yol açtığı gözlemlenmiştir. Bir hücre içi yıkım mekanizması olan otofajide yıkım lizozomlarda gerçekleşmekte olup, lizozomların işleyişinde meydana gelen herhangi bir aksaklık, otofaji mekanizmasını da doğrudan etkilemektedir. Gaucher Hastalığı, lizozomal zar glikoprotein glikoserebrozidaz (GBA) ya da GBA kofaktörü olan Sapozin C mutasyonu ile hücre içinde glikozilseramid (GC) ve diğer glikolipidlerin birikmesiyle ortaya çıkan bir LDH'dır. Gaucher hastalığına sebep olan değişik mutasyonlar ile otofaji mekanizmaları ve aktivitesi arasındaki ilişkiyi moleküler düzeyde incelemek amacıyla, otofagozom oluşumunun değişik aşamalarında rol oynayan otofaji gen ifadeleri normal ve açlık koşullarında fibroblast hücrelerinde nicel gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile analiz edilmiştir. Normal koşullar ile karşılaştırıldığında, açlık durumunda kontrol hücrelerinde otofaji gen ifadelerinde genel bir artış gözlenirken, Gaucher hasta hücrelerinde gen ifadeleri, hastaların taşıdığı mutasyona yada otofajik vezikül şekillenme aşamalarına göre farklılık göstermektedir. Bu durum, farklı genetik mutasyon taşıyan Gaucher hastalarında, otofajinin kompleks bir moleküler mekanizma ile direk etkilendiğine işaret etmektedir.

Molecular and Cellular Analysis of Autophagy in Gaucher Disease

Ozlem Oral¹, Parisa Sarafi³, Aysel Yuce², Devrim Gozuacik^{1*}, Serap Dokmeci^{3*}

¹Sabanci University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Biological Science and Bioengineering Program 34956 Tuzla, Istanbul, Turkey; ²Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Child and Adolescent Psychiatry, Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Unit, 06100, Ankara, Turkey; ³Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, 06100, Ankara, Turkey

* Equally contributing corresponding authors: dgozuacik@sabanciuniv.edu, semre@hacettepe.edu.tr

Lysosomes are the most important degradative organelles of the cell, containing many hydrolytic enzymes, which are optimally active at an acid pH. Substrates are transported to lysosomes through different mechanisms such as endocytosis, phagocytosis or autophagy. Macroautophagy (shortly autophagy) is a degradation pathway, engulfing portions of the cytoplasm and organelles in the cell and by subsequent delivery of the cargo to lysosomes for degradation. Lysosomal functions are dependent on coordinative action of lysosomal hydrolyases and lysosomal membrane-bound proteins. Mutations occurring on the coding region of these proteins cause defective lysosomal functions, accumulation of un-metabolized target substrates in the cells and finally occurrence of lysosomal storage disease. In a cellular degradation pathway, autophagic degradation is occurring in lysosomes, therefore disorders in lysosomal action may directly affect autophagy. Gaucher disease is a lysosomal storage disease resulting from mutation of the lysosomal membrane-associated glycoprotein glucocerebrosidase (GBA) and GBA cofactor of Sapozin C, which results in intracellular accumulation of glucosylceramide and other glycolipids. In order to show the molecular relation between autophagy mechanism and activation with different mutations seen in Gaucher Disease, the expression of autophagic genes, which have different roles in autophagosome formation, were analyzed under starved and non-starved conditions by using real-time polymerase chain reaction. The expression of autophagic genes significantly increased in starved-control cells, however gene expression was variable according to mutations and autophagosome formation steps. These results indicate that, in Gaucher patients carrying different mutations, autophagy is directly affected by a more complex mechanism.