Lisosomal Enzimlerin Romatoid Artirit Patogenezindeki Rolü

Dr. E. Kaya Alpar* **Dr. İlhan Tuncer****

Lisosomal enzimler 1948 yılında Louvain Üniversitesinde deDuve başkanlığındaki bir ekip tarafından keşfedilmiştir.[4] Lisosomal enzimlerin keşfinden sonra fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü incelenmiştir. Bu arada iskelet sistemi üzerindeki etkileri de araştırılmış ve artirit patogenezinde önemli rolü olduğu anlaşılmıştır.

Lisosomlar elektron mikroskobu yardımıyla hücre sitoplasmalarında görülebilen ve çeşitli hidrolitik enzimleri içeren yapılardır. Lisosomal enzimlerin görevi hücre içi sindirimi yapmaktır. Lisosomlar bir yaralanmağa uğrarsa hidrolitik enzimler hücre içinde dağılır ve hücrenin harap olmasına yol açar.

Lisosomal enzimler olgun eritrosit ve spermatozoon hariç bütün hücrelerde bulunur. Lisosomal sistemin başlıca dört komponenti vardır. Bunlar :

1) Primer Lisosomlar : Bu isim sindirim görevine henüz başlamamış olan lisosomlara verilir. Golgi cisminden menşe aldıkları sanılmaktadır. İçlerinde en az otuz tane yeni sentezi yapılmış enzim ihtiva ederler. Bu enzimler müştereken bilinen bütün biyolojik polimerlerinnükleik asitler, polisakkaridler, protenlerde dahil-degradasyonunu sağlar.

2) Sekonder Lisosomlar (Sindirici Vakuol): Bunlar sindirim görevine başlamış olan lisosomlardır. Hücrenin plazma zarının hücre içine doğru kıvrılması ve kendi etrafında birleşmesi ile meydana gelir.

Bu sayede hücre dışı bir ortamın çevrelenmesi sağlanır. Yeni teşekkül eden sekonder lisosomlar hücre içinde primer lisosomlar ile birleşir ve bazı enzimleri de içine alır. Sekonder lisosomların diğer sekonder lisosomlarla da birleştiği görülür. Sekonder lisosomlar süratle dehidrate olur ve vakuol içindeki maddelerin parçalanmasını sağlar. Bu parçalanma işleminin PH ve ion konsantrasyonu ile olan ilişkisinin bazı

* H. Ü. Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Bilim Dalı Doçenti.
** H. Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Bilim Dalı Öğretim Görevlisi.

yönleride anlaşılmıştır.[7] Hücre dışı materyelin hücre içinde plasma membranı ile çevrilip sindirilmesi olayına da endositozis adı verilmektedir.

3) Otofajik Vakuol : Hücre içi maddelerin yapım ve yıkımında yer alır. Bu sistemin artirit patogenezinde rolü yoktur.

4) Residuel Cisimler : Lisosomların bu sisteminin yetersiz hücre içi sindirim sonucu meydana geldiği sanılmaktadır.

Lisosomal enzimlerin artirit patogenezindeki rolü A vitamini Hipervitaminozunun gerek in vitro[8] gerekse in vivo[15] şartlarda eklem kıkırdağında metakromazi ve disintegrasyon meydana getirmesi ile ortaya atılmıştır. Bu etkinin lisosomal enzimlerin sayesinde olabileceği görüşü Dingle[5] tarafından 1962 de ileri sürülmüştür. Lisosomal enzimlerin hücre dışına çıkıp makro moleküllerin sindirimine başladıklarını ve sindirimi tamamlanmamış makromoleküllerin antijen özelliği kazandığı bildirilmiştir.[16] Bunun sonucu Lack[10] ise çeşitli deneysel artirit modelleri ile çalışmış ve romatoid artiritte fibrioid madde birikiminin lisosomal enzimlerin otolitik görevlerini yapamamasından ileri gelebileceğini savunmuştur.

İn vitro deneylerde vitamin A, komplemandan yeterli antiserum, sindirilemeyen şekerler, hiperoksi, parathormon ve vit. D metabolitleri verilmesi ile sağlam kondrosit, osteosit ve fibroblastların hücre dışı ortama aşırı lisosomal enzim boşalttıkları gözlenmiştir. Bu enzimlerde matriks degradasyonunu sağlamaktadır. Fakat ortama hidrokortizon verilince lisosomal enzim aktivitesi önlenmektedir. Bu çalışmaların esas ortaya koyduğu ve bugün kesinlikle açıklanmayan sorun ise lisosomal enzimlerin nasıl hücre dışına çıktıklarıdır. Bugün için ileri sürülen iki hipotez vardır. Bunlar tam anlamıyla lisosomal enzim boşalmasını açıklayamamaktadır. Dingle[5] lisosomal enzimlerin modifiye plazma membranının primer lisosomlar ile füzyonu sonucu hücre dışına çıktıklarını ileri sürmüştür.[6] Weissmann ise lisosomal enzimlerin sekonder lisosomların yeterince kapanmamış açık uçlarından hücre dışına çıkıp matriks degradasyonuna sebep olduklarını iddia etmiştir. Bu teoriye regurgitasyon teorisi adı verilmiştir.[17] Deneysel artirit modelleri üzerinde çalışmalar yapılmış ve lisosomal enzimlerin hücre dışına nasıl çıktıkları araştırılmıştır. Bu çalışmaları iki grupta inceleyebiliriz :

a) Subsellüler ekstreler: Lökosit lisosom ekstreleri[18] ve karaciğer ekstreleri[13] ile romatoid artirite benzer lezyonlar meydana getirilmiştir.

b) Lisosomları yırtan ajanlar: Streptolisin O ve S in verilmesi de tavşanlarda ve keçilerde artirit meydana getirmiştir.[3,19] Ancak bu deneyler sonucunda lisosomların nasıl hücre dışına çıktığı belirlenememiştir.

Matriks makromolekülleri : Kıkırdak matriksinin iki tane makromolekülü vardır-kollagen ve proteoglikan. Proteoglikan kondroidin sulfat ve keratosulfattan meydana gelir. Bunlardan kondroidin sulfatın yapım ve yıkımı hayvanda ve insanda 5-8 gün arasındadır.[11] Keratosulfat moleküllerinin yapım, yıkımı ise 120 güne kadardır, bunu keratosulfat moleküllerinin kollagen ile sıkı ilişkisine bağlayanlar vardır.

Kollagenin yapım, yıkımı (Turn-over) ise deney hayvanlarında 50-300 gün arasında değişmektedir.[14] Kollagenin lisosomal enzimlere olan direncinin protoglikanlar ile çevrilmiş olabileceğine bağlanmaktadır. Bu bakımdan degradasyon yalnız proteoglikanlara ait ise hemen sentez edildiğinden kıkırdakta lezyon meydana gelmemektedir. Halbuki kollagen degradasyonu da başlayınca kollagen sentezi tamire yeterli olamamakta ve artirit meydana gelmektedir. Artiritlerin akut fazında proteoglikan degradasyonunu önleyen bir ajan artiritin ilerlemesine de engel olacaktır. Ancak bu farmakolojik ajan bugün için mevcut değildir.

MATRİKS MAKROMOLEKÜLLERİNİN KATABOLİZMASI

Lisosomal enzimlerin artirit patogenezindeki rolünü anlayabilmek için matriks makromoleküllerinin katabolizmasında görev alan enzimlerinin bazı biyokimyasal özelliklerini bilmek gerekir. Doku katabolizmasına katılan enzimler iki gruba ayrılır.

1 — Doku proteinazları ve peptidazlar : Bunlar kollagen ve proteoglikanların protein kısmını degradasyona uğratır.

2 — Glikozidazlar : Bu enzimlerde karbonhidratların hidrolizini sağlar. Endoglikosidazların içinde en önemli enzimler lizozim ve hyaluronidazlardır. Bu iki enzim lisosomlarda bulunurlar ve eksoglikozidazlar ile beraber polimerlerin son devrelerde yıkımını sağlarlar. Matriks makromoleküllerinin ilk yıkımı proteolotik enzimler vasıtasıyla olur. Böylece proteoglikanların proteolizi ile doku içine difüzyon başlar, dokunun mekanik özellikleri değişir ve muhtemelen matriks makromolekülleri ve hücre yüzeyi arasında etkileşme endostik aktivitenin oluşmasına yol açar. Neticede hücre içine giren kollagen ve proteoglikanların sindirimi başlar.

Matriks degradasyonunu başlatan enzimler şunlardır :

A — Asit proteinazlar : Cathepsin D : Bu enzim çeşitli izoenzim şekillerinde bulunur. Asidik isoelektrik noktaları ve 45.000 molekül ağırlığı vardır. Eklem kıkırdağı ile sağ proteoglikanların üzerinde PH5

civarında etkilidir. Proteoglikanların degradasyonunun başlaması ortaya çıkan maddelerin matriks içinde difüzyonunu sağlamaya yeterlidir.[2]

Cathepsin E : Matriks degradasyonundaki rolü kesinlikle anlaşılamamıştır.[7]

B — Thiol proteinazlar : Cathepsin B I : Otto tarafından izole edilmiş olup molekül ağırlığı 24.000 dir. Kollagen fibrilleri kolayca degrade edebilmektedir.[12]

C — Nötral proteinazlar : Proteoglikan regrade edici enzimler (CPG azlar) : Deneysel çalışmalar gerek hayvanlarda[24] gerekse insanda romatoid artiritli sinovial hücrelerden elde edilen enzimlerin proteoglikanları degrade ettiğini göstermiştir.[23] Yalnız kesinlikle etki yolları bulunamamış ve üzerlerinde yeterli araştırma yapılamamıştır.

Kollagenazlar : Fizyolojik PH da kollageni parçalayan enzimdir. Artrit patogenezindeki rolü belli değildir.[22]

Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalar romatoid artiritli eklemdeki olayların şu sıra içinde oluştuğunu ortaya koymuştur.[25] Önce antijen antikor ile birleşerek kompleman sistemini aktive eder. Bunun sonucu kuvvetli kemotaktik özellikleri olan çeşitli biyolojik maddelerin ortaya çıkmasına sebep olur. Bu maddeler eklem içine polimorfonükleer lökositlerin gelmesini sağlar ve lökositler immün kompleksleri fagosite ederler. Fagositozu takiben nötrofiller lisosomal granüllerinden hidrolitik enzimleri salgılarlar. Bu enzimlerde romatoid artiritte görülen proliferatif ve tahripkar lezyonlara sebep olur.[20] Kısaca özetlenen bu hipotezde rol alan komponentlerin romatoid artirit patogenezindeki yerlerini şöyle özetleyebiliriz.

Antijen-Antikor Kompleksi : Romatoid artiritli hastaların sinovial sıvılarında kompleman azalması meydana geldiğinden, bu olayın komplemanı bağlayan antijen-antikor birleşmesi sonucu olduğu düşünülmektedir. Hannestad bu immün komplekslerin romatoid sinovial sıvıdaki varlığını gamma globulin komplekslerinin lg M romatoid faktör ile presipitasyonunu sağlayarak göstermiştir.[9] Winchester ultrasantrifüj analizleri ile bu immün komplekslerin lg G ve 75 anti-gamma globulin olduğunu saptamıştır.[21]

Kompleman sistemi : Kompleman sistemin bütün komponentlerinin romatoid sinovial sıvıda azaldığı tesbit edilmiştir.[27] Bu durum sinovial sıvının kemotaktik özelliğine ve antijen+antikor birleşmesine yardımcı olmasına bağlanmaktadır.

Romatoid faktör (anti-gamma globulinler) : Seropozitif olan hastaların prognozunun daha kötü olduğu klinik tecrübelerimizden bilinmektedir. Romatoid faktörün sinovial hücre veya sıvıda bulunması da kompleman miktarının azalması ile orantılıdır.[26] Romatoid faktörün değişmiş gamma globulinin komplemanı tesbit gücünü arttırdığı veya kompleksin molekül ağırlığı erirliğini arttırarak lökositler tarafından fagositozu sağladığı sanılmaktadır.

Nötrofil lökositler ve lisosomlar : Romatoid artiritli hastaların sinovial sıvılarında nötrofil lökositler çok bol olarak bulunur. Lökositlerinde bol miktarda hidrolitik lisosomları salgıladığı bilinmektedir. Lisosomal enzimlerin salgılanmasının nedeninin özel bir maddenin fagositozu veya immün komplekslerin tahribi için olduğu bildirilmiştir. Lisosomal enzimlerin salgılanması artiritik ve infeksiyoz hastalıklarda meydana gelmektedir. Fakat enzimlerin boşalmasını kontrol eden mekanizma bilinmemektedir. Alpar, Tuncer, Gülmezoğlu[1] tavşanlarda Cathepsin C vererek romatoid artirite benzer lezyon meydana getirmişlerdir. Bu yazarlar romatoid artiritte tetik mekanizma adını verdikleri olayın anlaşılmadığını ve bu olay olmadanda enzimlerin romatoid artiritte boşalmadığını bildirmişlerdir.

Lisosomal enzimlerin matriks degradasyonunda rol oynadığı immün hücre kimyası ile de gösterilmiştir. Anti Cathepsin D antikor işaretli olarak hayvanlara verildiğinde enzim ile özgül antikorun harabiyetin en fazla olduğu yerde, ekstrasellüler olarak birleştiği gözlenmiştir.

Vücudda kesin olarak tespit edilmeyen ancak serumda ve sinoviyal sıvıda bulunan lisosomal enzim inhibitörleri vardır. Ne varki lisosomal enzimlerin büyük bir çoğunluğunun molekül ağırlığı 50.000 in altındadır. İnhibitörlerin ise daha büyüktür. Bu yüzden belirli matriks harabiyeti meydana gelmeden inhibitörler matriks içine diffiüze olamamakta ve enzim aktivitesini önleyememektedir.

Sonuç olarak lisosomal enzimlerin artirit patogenezinde matriks degradasyonunu sağlamada önemli bir rolü vardır. Ancak lisosomal enzimlerin hücre dışına nasıl çıktıkları ve normal organizmada yapımyıkım dengesinin artiritlerde niçin yıkım lehine bozulduğu ise bugün için bilinmeyen konulardır.

SUMMARY

The major role of the lysosomal enzymes in the causation of arthritis is reviewed. The biochemical properties of the enzymes are also presented. The mechanism by which lysosomal enzymes are released

from the cells, how they are activated and the role of other serum and tissue factors are not clearly understood.

It is hoped thet future research will shed light on some of these questions.

KAYNAKLAR

1 — Alpar, E.K., Tuncer, I., Gülmezoğlu, E.: Cathepsin induced arthritis. Hacettepe Medicine/Surgery'de yayına kabul edilmiştir.

2 — Barret, A.J., Dingle, J.T.: The inhibition of tissue acid proteinasses by pepstatin. Biochemical Journal. 127: 439. 1972.

3 — Cook, J., Fincham, J.: Arthritis produced by intra articular injections of streptolysin S in rabbits. J. Pathology Bacteriology 92: 461. 1963.

4 — De Duve, C.: The Lysosome in Retrospect. In Lysosomes in Biology and Pathology. Vol. I. S. 3-40. Edited by J.T. Dingle-H.B. Fell Amsterdam: North Holland 1969.

5 — Dingle, J.T.: Lysosomal enzymes and the degradation of cartilage matrix. Proc. Royal Society Medicine. 55: 109, 1962.

6 — Dingla, J.T.: The Extracellular Secretion of Lysosomal Enzymes in Biology and Pathology. Vol. 2 S.: 425-436 Edited by. J.T. Dingle- H.B. Fell. Amsterdam: North Holland. 1969.

7 — Dingle J.T.: The role of Lysosomal Enzymes in Skeletal Tissues. J. Bone and Joint. Surg. 55-B: 87. 1973.

8 — Fell, H.B., Mellanby, E.: Effect of hypervitaminosis A on embryonic limb bones cultivated in vitro, J. Physiology 116: 320. 1952.

9 — Hannestad, K.: Presence of agregated globulin in certain rheumatoid synovial effusions. Clin. Exp. Immunol. 2: 511. 1967.

10 — Lack, C.H.: The role of Lysosomes in experimental arthritis. Proc. Royal Society of Medicine. 59: 875. 1966.

11 — Mankin, H.J., Lippiello, L.: The turnover of adult articular cartilage. J. Bone Joint Surgery. 51-A: 1591. 1969.

12 — Otto, K.: Cathepsins Bı and B2.in tissue proteinases. p.p. 1-25 Edited by A.J. Barret and J.T. Dingle. Amsterdam. North Holland 1971.

13 — Page Thomas, D.P.: Lysosomal enzymes in experimental and rheumatoid arthritis. Chapter 5. in Lysosomes in Biology and Pathology Vol. 2. Etited by J.T. Dingle-H.B. Fell. Amsterdam: North Holland 1969.

14 — Prockop, D.J., Kkıvirikko, K.I.: Relationship of hydroxyproline excretion in urine to collagen metabolism. Annals of Internal Medicine. 66: 1243. 1967.

15 — Thomas, L., Mc Cluskey, R.T., Potter, J.l., Weismann, G.: Comparison of the affects of papain and vitamin A on Cartilage. I. The effect in Rabbits. J. Experimental Medicine. 111. 705, 1960.

16 — Weismann, G.: Lysosomes, autoimmune phenomena and disease of connective tissue. Lancet. 2; 1373. 1964.

17 — Weissmann, G.: Lysosomal Mechanisms of Tissue Injury in Arthritis New England Journal of Medicine. 286: 141. 1972.

18 — Weismann, G., Becher, B., Thomas, L.: Studieson Lysosomes V. The effects of streptolysins and other hemolytic agents on isolated leucocyte granules. J. Cell. Biology. 22: 115. 64.

19 — Weissmann, G., Keiser, M., Bernheimer, W.: Studies on Lysosomes III. Effects of streptolysins O and S and the release of acid hydrolases from a granular fraction of rabbit liver. J. Experimental Medicine. 118: 205, 1963.

20 — Weissmann, G.: Lyosomes. New England J. Med. 273: 1084. 1965.

21 — Winchester, R.J., Agnello, V. Kunkel, H.G.: The joint fluid and gamma globulin complexes and their relationship to intra articular complement dimunution. Annals Newyork Academy of Sciences. 168: 195. 1969.

22 — Woessner, J.F.: Mammalian collagenases. Clinical Orthopoedies and Related Research. 96: 310. 1973.

23 — Wood, G.C., Pryce-Jones, R.H., White, D., Nuki, G.: Chondromucoprotein. Degradingneutral protease activity in rheumatoid synovial fluid. Annals of The Rheumatic Diseases 30: 73. 1971.

24 — Zıff, M. — Gribetz, M.J., Lospalluto, J.: Effect of Leucocyte and synovial membrane extracts of cartilage mucoprotein. J.'. Clinical Investigation. 39: 405. 1960.

25 — Zvaifler, N.J.: Further speculation on the pathogenesis of joint inflammation in rheumatoid arhritis. Arthritisand Rheumatism. Vol. 13. 895. 1970.

26 — Zvaifler, N.J.: Breakdown products of C3 in human synovial fluids. J. Clinical Investigation. 48: 1532. 1969.

27 — Zvaifler, N.J., Pekin, T.J.: Complement component in synovial fluids. Clinical Research. 11: 180.1963.