

# *Navorsings- en oorsigartikels*

## **Fisiologie en patofisiologie van selorganelle**

### **2. LISOSOME**

#### **B. Patologie en fisiologie van lisosome\***

J.J. Theron\*\*, N. Claassen en A. Panzer

Departement Fisiologie, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van Pretoria, Posbus 2034, Pretoria, 0001

N. Lizamore

Departement Anatomic, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van Pretoria

Ontvang 22 Julie 1996; aanvaar 1 Augustus 1996

### **UITTREKSEL**

Kongenitale afwesigheid van een of meer lisosomale hidrolases gee aanleiding tot akkumulasie van die betrokke substraat en ontwikkeling van die sogenaamde lisosomale opbergingsiektes (LOS). Daar is ongeveer 22 verskillende tipes LOS bekend, wat volgens die chemiese aard van die betrokke substraat in drie groepe onderverdeel kan word: sfingolipidoses, mukopolisakkaridoses (gebrekkige hidrolise van glikosaminoglykane) en glikoproteïnoses. Verdere kliniese syndrome wat aan lisosome gekoppel kan word, mag ontstaan as gevolg van soue in die biogenese van die organel of defekte in transport van metaboliete oor die lisosoommembraan. Die meeste LOS is autosomaal resessieve afwykings, maar ander patogenetiese mekanisme, soos gebreke in die lisosomale mannose-6-fosfaat (M6F)-merker, kongenitale afwesigheid van aktieverproteïene soos saposiene, of geneesmiddel-geïnduseerde LOS is ook bekend. Substraatakkumulasies mag "meganiese" belemmering van sellulêre funksies veroorsaak of mag toksiese metaboliete lever. Studie van die groot verskeidenheid lisosoongekoppelde kliniese syndrome het geleid tot die fisiologiese konsep van lisosome as die terminale sellulêre kompartement waarin endositotiese en endogene makromoleküle (behalwe sekere proteïene) gehidroliseer word. Biochemies kan lisosome as M6F-reseptor(e)-negatiewe, lisosomale glikoproteïen-positiewe membranous vesikels gedefinieer word. Lisosome vervul essensiële funksies in intraselulêre voeding weens veelvuldige gefasilitateerde transportsisteme in die lisosoommembraan, insluitend sisteme vir aminosure (ongeveer vyf sisteme), monosakkariede, N-acetylglukosamien, N-acetylgalaktosamien en nukleoside (vanaf lisosomale hidrolise van sitoplasmiese RNA). Verder is lisosome noodsaklik vir intraselulêre metabolisme van cholesterol, yster en vitamien  $B_{12}$ .

### **ABSTRACT**

#### *Physiology and pathophysiology of cell organelles*

##### **2. LYSOSOMES**

###### **B. Pathology and physiology of lysosomes**

Congenital absence of one or more lysosomal hydrolases results in accumulation of the relevant substrate and development of the so-called lysosomal storage diseases (LSD). Approximately 22 different types of LSD are known, which are divided into three groups according to the chemical nature of the specific substrate: sphingolipidoses, mucopolysaccharidoses (defective hydrolysis of glycosaminoglycans) and glycoproteinoses. Other lysosomal clinical syndromes may result from defects in the biogenesis of the organelle or abnormalities in transport of metabolites across the lysosomal membrane. Most LSD are autosomal recessive syndromes, but other pathogenetic mechanisms which may play a role include defects in the lysosomal mannose-6-phosphate (M6P)-marker, congenital absence of activator proteins such as saposins or drug-induced LSD. Accumulation of substrate may cause "mechanical" disruption of cellular functions or may produce toxic metabolites. Investigations of these lysosomal related disorders led to the physiological concept of lysosomes as the terminal cytoplasmic compartment for hydrolysis of endocytic and endogenous macromolecules (except certain proteins). Biochemically lysosomes can be defined as M6P-receptor(s) negative, lysosomal-glycoprotein-positive membranous vesicles. Lysosomes fulfil essential functions in intracellular nutrition due to the large variety of facilitated transport systems in lysosomal membranes. These include systems for amino acids (approximately five), monosaccharides, N-acetylglucosamine, N-acetylgalactosamine and nucleosides (from lysosomal hydrolysis of cytoplasmic RNA). Furthermore, lysosomes fulfil essential functions in the intracellular metabolism of cholesterol, iron and vitamin  $B_{12}$ .

### **PATOLOGIE VAN LISOSOME**

'n Goeie begrip van die spesifieke fisiologiese funksies van lisosome kan alleenlik verkry word na die beskrywing van patologiese afwykings van die lisosoomsisteem. Dit geld veral

vir funksies wat die basis vorm van die sogenaamde lisosomale opbergingsiektes (LOS). Die konsep van LOS is in 1965 deur Hers<sup>20</sup> voorgestel om te verklaar hoe die genetiesbepaalde afwesigheid van die ensiem,  $\alpha$ -glukosidase, aanleiding kon gee tot fatale Pompe se siekte. Volgens Hers<sup>20</sup> het akkumulasie van

\* A. Inleiding, morfologie en biogenese het in die Maartnommer verskyn.

\*\* Outeur aan wie korrespondensie gerig kan word.

**TABEL 1 Kliniese sindrome wat as gevolg van wanfunksies van lisosome mag ontstaan<sup>1</sup>**

SINDROOM	PRIMÈRE GEBREK	SUBSTRAAT
<b>GROEP 1 : KONGENITALE GEBREK AAN LISOSOOMENSIEM(E)</b>		
<b>A. GEBREKKIGE HIDROLISE VAN SFINGOLIPIEDE<sup>2</sup></b>		
1. Fabry se siekte	$\alpha$ -galaktosidase	Galak-galak-gluk-seramied
2. Farber se siekte	seramidase	seramied
3. Gaucher se siekte	glukoserebrosidase	glukosieleramied
4. GM <sub>1</sub> -gangliosidose	$\beta$ -galaktosidase	GM <sub>1</sub> -gangliosied, oligosakkariede,
5. GM <sub>2</sub> -gangliosidases:	$\beta$ -heksaminidase,	keratansulfaat
a. Tay-Sachs-siekte	$\alpha$ -subeenheid	GM <sub>2</sub> -gangliosied
b. Sandhoff-siekte	$\beta$ -heksaminidase,	GM <sub>2</sub> -gangliosied, oligosakkariede
c. Aktiveerdergebrek	$\beta$ -subeenheid	
6. Krabbe se siekte	GM <sub>2</sub> -akteveerdegalaktosielseramidase	GM <sub>2</sub> -gangliosied
7. Metakromatiese leukodistrofie:	arylsulfatase A	galaktosielseramied
a. ensiemgebrektype	sulfatiedakteveerde/sapozien	galaktosielseramidated
b. aktiveerdergebrektype	sfingomielinase	galaktosielseramidated
8. Niemann-Pick-siekte	$\alpha$ -N-asetielgalaktosaminidase	sfingomiëlien
9. Schindler se siekte	onbekend	glikolipiede, glikoproteiene
10. Mukolipidose IV	onbekend	onbekend
11. Veelvuldige sulfatasegebrek	onbekend	sulfatasesubstrate
<b>B. GEBREKKIGE HIDROLISE VAN GAG's<sup>2</sup></b>		
12. Hunterssindroom	iduraonaalsulfatase	dermatansulfaat, heparansulfaat
13. Hurler- en Scheie-sindroom	$\alpha$ -L-iduronidase	dermatansulfaat, heparansulfaat
14. Maroteaux-Lamy-sindroom	sulfatase/arylsulfatase B	dermatansulfaat
15. Morquiossindroom:		
a. tipe A	Galak-6-sulfatase	keratansulfaat, chondroïtien-6-sulfaat
b. tipe B	$\beta$ -galaktosidase	keratansulfaat
16. Sanfilippossindroom:		
a. tipe A	heparan-N-sulfatase	heparansulfaat
b. tipe B	$\alpha$ -N-asetielglukosaminidase	heparansulfaat
c. tipe C	asetiel-koA: glukosamien N-asetieltransferase	heparansulfaat
d. tipe D	glukosamien-N-asetiel-6-sulfatase	heparansulfaat
17. Slyssindroom	$\beta$ -glukuronidase	dermatansulfaat, heparansulfaat, chondroïtien-4,6-sulfate
<b>C. GEBREKKIGE HIDROLISE VAN GLIKOPROTEINE<sup>2</sup></b>		
18. Fukosidose	$\alpha$ -L-fukosidase	$\alpha$ -L-Fuk-oligosakkariede
19. Galaktosialidose	beskermende proteien/katepsien	onbekend
20. -en $\beta$ -mannosidose	$\alpha$ - en $\beta$ -mannosidase	$\alpha$ - en $\beta$ -Man-oligosakkariede
21. Sialidose	sialidase	sialiel-oligosakkariede
22. Batten se siekte	?	ATP-sintase kompleks, subeenheid c
<b>ANDER ENKELENSIEMDEFEKTE</b>		
23. Pompe se siekte (glikogenose II)	$\alpha$ -glukosidase	glikogeen
24. Wolman se siekte	suurlipase (sien ook GROEP 3B hieronder)	cholesterielesters, trigliseriede
<b>GROEP 2 : FOUTE IN BIOGENESE VAN LISOSOME</b>		
25. I ("inclusion") - Selsiekte	6-fosfo-N-asetielglukosamientransferase	onaktiewe hidrolases
26. PseudoHurler-polidistrofie	[foutieve lokalisasie van verskeie lisosoombeslae]	[substrate van betrokke ensieme]
<b>GROEP 3 : AFWYKINGS IN TRANSPORT OOR LISOSOOMBEMBRAAN</b>		
<b>A. KLEIN MOLEKULE VANAF HIDROLISE IN LISOSOME</b>		
27. Sistinose	sistientransport	sistien
28. Infantiele sialiese suurdefek (ISSD)	sialiesesuur	sialiesesuur
29. Salla se siekte (lige variant v ISSD)	sialiesesuur	sialiesesuur
<b>B. KLEIN MOLEKULE VANAF RESEPTORBEMIDDELDE ENDOSITOSE</b>		
30. Wolman se siekte	suurlipase	cholesterielesters, trigliseriede
31. Niemann-Pick-siekte tipe C	?fundamentele defek; ? gebrekkige esterifikasie van LDL-cholesterol + ? sekondêr: verlaagde sfingomielinase	cholesterol
32. Hemokromatose	?gebrekkige opname van ferritin in lisosome (sien verw. 41)	ferritin, hemosiderien
33. Metielmalonsuururie	verlaagde kobalamien (vit. B <sub>12</sub> )-transport	vry kobalamien
<b>C. MOONTLIKE DEFEKTE IN LISOSOOMTRANSPORT</b>		
34. Wilson se siekte	seruloplasmien	koper
35. Menkes se siekte	koperbevattende ensieme	koper
36. Lewersirrose by kinders in Indië	gebrekkige transport van koper in lewerlisosome (verw. 42)	koper
37. Albinisme (sekere tipes)	normale tirosinase, maar ? defektiewe opname in melanosome (verw. 43)	tirosienkomplekse
1. Gewysig vanaf Neufeld, <sup>10</sup> Gieselmann, <sup>21</sup> Gahl, <sup>22</sup> en Agamanolis. <sup>24</sup>		
2. Sien teks vir kort beskrywing van die chemiese samestelling van die makromoleküle.		

die substraat van die ensiem, naamlik glikogeen, wanfunksie van geaffekteerde organe deur onbekende meganismes veroorsaak.

Tans is ongeveer 22 verskillende tipes LOS bekend (tabel 1) en al die sindrome in die groep word veroorsaak deur kongenitale afwesigheid van die lisosoomensiem(e). Volgens die chemiese samestelling van die onverwerkte substraat wat in selle akkumuleer, kan drie groepe LOS onderskei word, naamlik sfingolipidoses, mukopolisakkardoses (gebrekkige hidrolise van glikosaminoglikane (GAG's) en glikoproteïenoses (tabel 1). 'n Kort beskrywing van die chemiese aard van die makromoleküle mag van waarde wees:

**Sfingolipiede** bestaan uit seramied waaraan verskillende sykettings geheg is. Seramied word gevorm deur die kondensasie van die aminosuur serien met 'n vetsuur om die amino-alkohol sfingosien te vorm, waarna 'n tweede vetsuur bygevoeg word met vorming van seramied. Sfingomiëlien (sien Niemann-Pick-siekte, tabel 1) word gevorm deur die byvoeging van 'n vetsuur en fosforielcholien aan seramied. Glikosfingolipiede (galakto-sielseramied en glukosielseramied) volg na byvoeging van galaktose en glukose, respektiewelik (vergelyk Gaucher se siekte, tabel 1). Sulfatiede is gesulfateerde galaktosiel= seramied (metakromatiese leukodistrofie, tabel 1). Gangliosiede (vergelyk Tay-Sachs-, Sandhoff-sindrome, tabel 1) is die mees komplekse sfingolipiede en word gevorm wanneer oligosakkariedsykettings wat sialiesesure bevat aan seramied geheg word. Skematiese voorstellings van GM<sub>1</sub>- en GM<sub>2</sub>-gangliosiede verskyn in figuur 1. Een van die sialiesesure wat van groot kliniese belang is, is N-asetielneuraminaat, 'n 9C-koolhidraat (vergelyk Salla se siekte en ISSD, groep 3, tabel 1).

Die groep van LOS wat voorheen as mukopolisakkardose beskryf is, ontstaan as gevolg van akkumulasie van glikosaminoglikane (GAG's). Laasgenoemde is lang, onvertakte kettings wat uit disakkariedeenhede opgebou is. Hulle word aan proteïene vasgeheg om proteoglikaankomplekse te vorm wat uit 95% koolhidrate en 5% proteïen bestaan. Gebrak aan lisosomale glikosidases en sulfatasen lei tot akkumulasie van vier tipes GAG's: dermatansultaat (vergelyk Huntersindroom, tabel 1), heparansultaat (vergelyk Sanfiliposindrome, tabel 1), keratansultaat (vergelyk Morquiosindrome, tabel 1) en chondroitiensultaat (tipe A, Morquiosindroom, tabel 1).

Die **glikoproteïenoses** (tabel 1) ontstaan weens gebrek aan ensieme wat glikoproteïene en gangliosidsykettings hidroliseer. Geakkumuleerde substrate sluit in oligosakkariede, glikoproteïene en glikolipiede. Hierdie groep het die laagste voorkoms van die LOS-groep. Gaucher se siekte is die algemeenste voorkomende LOS.

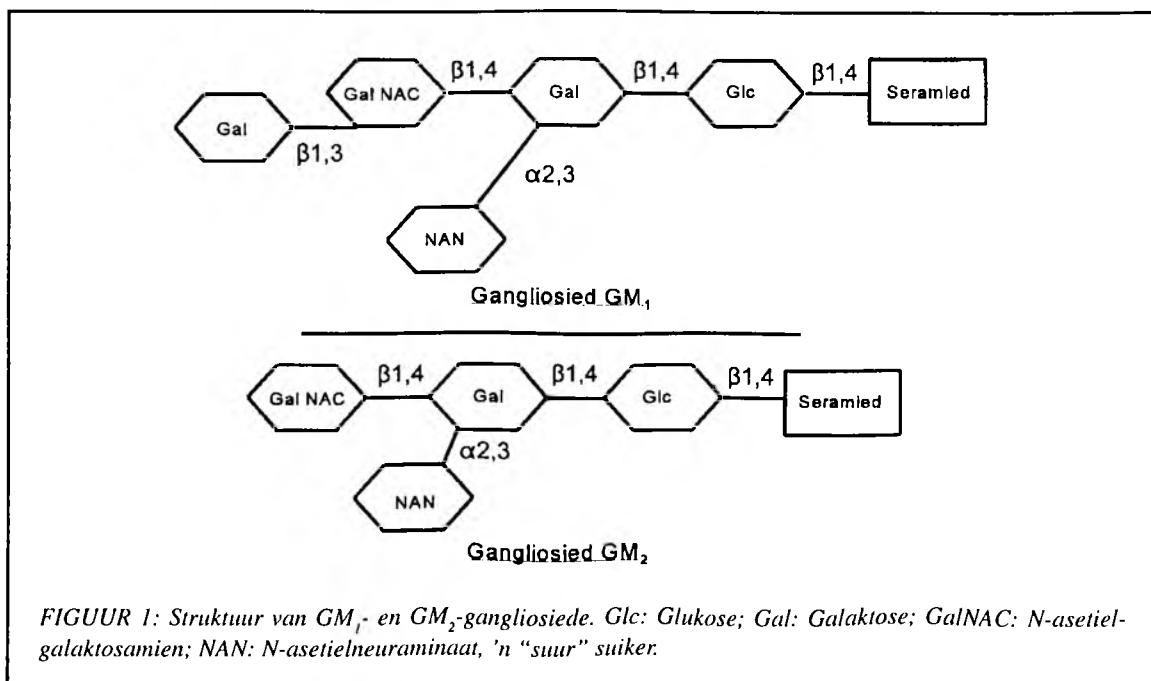
Meeste LOS word dus deur kongenitale gebrek aan glicosidasen met gevolglike akkumulasie van verskillende koolhidrate of glikokonjugate veroorsaak. Die defekte in die gangliosides en glikoproteïenoses is dus nie die onvermoë om lipied- of proteïenmoleküle te hidroliseer nie, maar wel defektiewe hidrolise van koolhidraatsykettings. Volgens huidige kennis is daar weinig (? geen) LOS wat as gevolg van defektiewe funksies van proteases, nukleases, fosfatases en ander hidrolases mag ontstaan. Neufeld<sup>10</sup> het gesuggereer dat lewe totaal onmoontlik sal wees indien gebrekkige funksie vanveral proteases sou ontstaan. Onlangse werk het egter bewys dat vertraagde proteolise van subeenheid e van die ATP-sintasekompleks in mitochondria, met gevolglike akkumulasie van die substraat in lisosome deur outofagie, die basis mag wees vir Batten se siekte<sup>69</sup> (voorheen bekend as neuronale seroëd-lipofuchsinose, tabel 1).

'n Tweede groep lisosomsiektes ontstaan as gevolg van foute in die biogenese van die organel, terwyl 'n derde groep, naamlik defekte in transport van metaboliete oor die lisosoom-membraan (tabel 1) waardevolle insigte in die fisiologiese funksies van lisosome verskaf (sien later).

Volledige oorsigte oor die spesifieke genetiese defek(te) en kliniese beeld van die LOS-groep is beskikbaar;<sup>10,21-24</sup> hier sal slegs die patogenese en moontlike terapie van LOS kortliks bespreek word.

### Patogenese van LOS

Die spesifieke genetiese mutasies in meeste van die LOS is bekend.<sup>21</sup> Twee LOS, naamlik Fabry se siekte en Huntersindroom is X-gekoppeld resessief, terwyl die res almal autosomale resessieve afwykings is. Alhoewel die insidensie van afsonderlike sindrome besonder laag is, is die gekombineerde voorkoms van die hele groep ongeveer 1:1500, wat hoër is as die van sistiese fibrose, die algemeenste genetiese siekte in Kaukasiese bevolkings.<sup>25</sup>



Alhoewel die meeste LOS ontstaan as gevolg van genetiese mutasies met daaropvolgende afwesigheid van 'n spesifieke ensiem (tabel 1), of gevoglike ontwikkeling van 'n katalities onaktiewe of onstabiele ensiemproteïen, mag ensiemgebrek enakkumulasie van substraat ook deur ander meganismes ontstaan:<sup>10,26</sup>

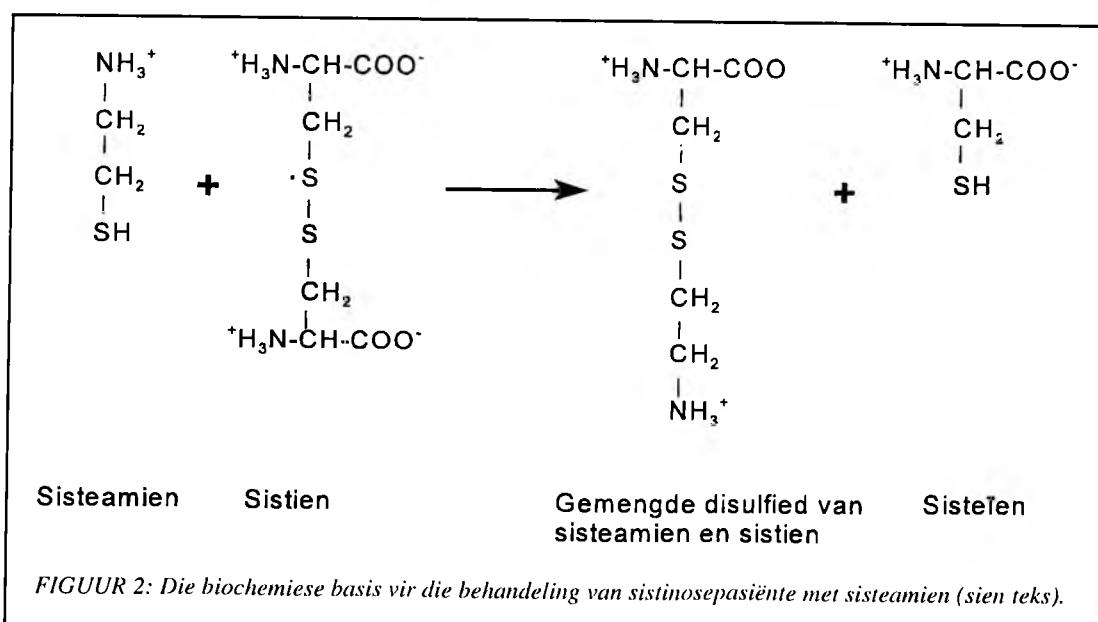
- Die M6F-merker word nie "aangehak" nie, as gevolg van gebrek aan N-asetielglukosamienfosfotransferase. Lisosomale ensieme word dus nie in lisosome geseegegreer nie, lek uit in die sitoplasma en word deur die effens alkaliese pH geïnaktivéer. 'n "Sekondêre" gebrek aan verskeie lisosoomensieme ontstaan dus metakkumulasie van verskeidenheid substrate in selle en organe. Die prototipe van hierdie biogetiese fout is I ("inclusion") - selsiekte (tabel 1) gekenmerk deur stoorvakuoles in selle.
- Kongenitale gebrek aan een of meer non-ensimatiiese aktieverproteïene, die saposiene, mag lei tot gebrekkige aktivering van sfingo-(gliko-) lipide.<sup>27</sup> Sekere variante van GM<sub>2</sub>-gangliosidose, metakromatiese leukodistrofie en Gaucher se siekte (tabel 1) word deur saposiengebrek veroorsaak.
- 'n Gekombineerde gebrek aan twee ensieme, β-galaktosidase en sialidase, gee aanleiding tot galaktosialidose (tabel 1). Hierdie sindroom word as 'n afsonderlike kliniese en biochemiese entiteit beskou<sup>10</sup> en word primêr veroorsaak deur kongenitale gebrek aan 'n derde lisosoomproteïen, naamlik 'n 32-kd glikoproteïen wat vir die "beskerming" (stabilisasie) van die twee ensieme benodig word en saam met hulle 'n multimeriese kompleks vorm.<sup>28</sup> Die "beskermende" proteïen mag 'n lisosomale karboksipeptidase wees. 'n Ander voorbeeld van veelvuldige ensiemgebrek is verlaagde aktiwiteit van sewe sulfatas (tabel 1) wat deur verskillende gene gekodeer word. Die oorsaak van hierdie LOS is onbekend, maar fout(e) in posttranslatie-modifikasies word gepostuleer.<sup>29</sup>
- Meer as vyftig geneesmiddels en chemikalieë met 'n kationiese, ampifiliese struktuur kan in lisosome akkumuler<sup>24</sup> (sien lisosomotropisme, figuur 3) en deur inaktivering van lisosoomensieme (alkaliese pH) aanleiding gee totakkumulasie van fosfolipide en glikokonjugate.<sup>30</sup> Geneesmiddels met verskeidenheid farmakologiese aktiwiteite mag betrokke wees, byvoorbeeld antihistamiene, antidepressante, antiarritmiese en antimarialariumiddels. LOS wat as gevolg van

langdurige gebruik van sulke middels ontstaan, mag aanleiding gee tot kataraktontwikkeling, leverfibrose en verskillende neuropatieë. Alveolêre makrofae is besonder gevoelig vir geneesmiddelgeïnduseerde fosfolipiedakkumulasie as gevolg van 'n hoë omset surfaktant in dié selle. Pulmonêre histiositose en deskwamatiewe pneumonie mag vorder tot alveolêre lipoproteïenose en belemmerde longfunksie.<sup>31</sup> Langdurige gebruik van chloroquine veroorsaak skelet- en hartspiermiopatie gekenmerk deur swakheid en miëlienliggaampies in miosiete.<sup>32</sup> Meeste van die geneesmiddel-geïnduseerde LOS is omkeerbaar wanneer gebruik van die middel gestaak word.

- Klein moleküle wat as gevolg van hidrolise van makromoleküle deur lisosome ontstaan, beweeg oor die lisosommembraan deur eenvoudige diffusie of deur draerbemiddelde transport. Foute in dié transportsisteem (Groep 3, tabel 1) gee aanleiding totakkumulasie van sistien en sialiesesuur.<sup>33</sup> In sistinose mag sistienkristalle die kornea en glomeruli beskadig en in histiosiete van die beenmurg, limfoïede weefsel en ander organe akkumuleer. Infantiale sialiesesuursindroom word gekenmerk deur neonatale hidrops en psigomotoriese vertraging. 'n Ligter variant, Sallasindroom, is by Sweedse, Finse, Duitse en Franse pasiënte beskryf.

Die patogenese van LOS en verwante sindrome op **sellulêre vlak** is nog nie volledig bekend nie. Die volgende meganismes mag 'n rol speel in die belemmering van sellulêre funksie(s):

- Sel- en weefselfunksie mag abnormaal wees as gevolg van die "meganiiese" effekte van massas onverwerkte substraat. In die Maroteaux-Lamysindroom (tabel 1) leiakkumulasie van dermatan- en chondroitiensulfaat in hartkleppe tot inkompotensie, stenose en hartversaking as gevolg van verdikking van endoteelwande.<sup>21</sup> Glikogeensintese en glikogenolise in Pompe se siekte (tabel 1) is normaal en simptome ontstaan alleen wanneer glikogenstore in skelet- en hartspierselle die kontraktiele filamente en organelle in die selle verplaas en selle disintegreer as gevolg van massas glikogen. Ander glikogenoses veroorsaak hipoglukemie en rhabdomiolise weens defektiewe glikolise.
- Oorspronklik is aanvaar dat die **organomegalie** wat in verskeie sindrome gevind word, die resultaat was van geakkumuleerde substraat, byvoorbeeld die hepatomegalie van Gaucher se siekte. Glukoserebrosied, die substraat in



Gaucher se siekte, veroorsaak egter vrystelling van sitokiene deur makrofae.<sup>34</sup> Sitokiene mag mitose in ander selle stimuleer en daar is goeie bewyse dat die hepatomegalie van Gaucher te wye is aan selhiperplasie. Geen verband tussen die hoeveelheid glukoserebrosied (0,1-18 mg per g weefsel) en die graad van hepatomegalie word in Gaucher-pasiënte gevind nie.<sup>21</sup>

**Toksiese neweprodukte** mag vanaf substraatstore gevorm word en mag sellulêre funksie(s) belemmer. In sekere sfingolipidoses (byvoorbeeld metachromatiese leukodistrofie, Krabbe se siekte en selfs Gaucher se siekte, tabel 1) akkumuleer sogenaaende lisosfingolipide. In hierdie derivate is die asielresidu wat aan die stikstof van sfingosien gebind is, afwesig. Sulke lisosfingolipide is besonder aktiewe inhibitore van proteïenkinase C. Deur inhibisie van so 'n sleutelsien mag verskeie sellulêre funksies ontwrig word.<sup>35</sup> Psigosien, 'n metaboliet van galaktosielsfingosien, is spesifiek toksies vir oligodendrosiete, en mag bydra tot belemmerde hersirkulasie van membraanlipide met gevolglike membraan- en sinaptiese afwykings. Dit mag vroeë neurologiese afwykings, voor verlies van neurone intree, verklaar.<sup>36</sup>

Dit is duidelik dat 'n klemverskuiwing van suiwer "meganiese" tot chemies-toksiese verklarings vir belemmering van selfunksies in LOS geleidelik plaasvind, maar baie aspekte is nog onbekend.

### Terapie van LOS

Die eerste LOS wat suksesvol met **ensiemverplasing** behandel is, is die tipe I nonneuronopatiële variant van Gaucher se siekte. In hierdie sindroom is makrofae, wat mannosereseplore bevat, die primêre selle waarin abnormale lipied neergelê word. Hulle kan dus polipeptide wat mannoseresidue bevat, endositeer en aan lisosome lewer.  $\beta$ -D-glukoserebrosidase, uit mensplasenta geïsoleer, kan ensimaties gemanipuleer word om die aantal mannoseresidue te vermeerder en die gemodifiseerde ensiem word 40-70 maal meer effektiel aan lisosome gelewer as ongemodifiseerde ensiem. Suksesvolle behandeling (verhoogde hemoglobien en plaatjetellings, verminderde hepatosplenomegalie en verbetering in skeletafwykings) is in verskeie pasiënte met die nonneuronopatiële variant van Gaucher se siekte gevind.<sup>37,38</sup>

Die nefropatie wat in sistinose gevind word, verbeter na

vroegtydige behandeling met sisteamien. Laasgenoemde is 'n swak basis wat in lisosome opgeneem word waar dit met die sistienkristalle reageer om 'n disulfied-gekoppelde sistien-sistieniensamestelling te vorm. Laasgenoemde beweeg uit lisosome deur 'n transportsisteem vir kationiese aminosure wat normala in sistinoe funksioneer<sup>39</sup> (figuur 2).

**Beenmurgtransplantate** is in verskeie diermodelle van LOS gebruik. Makrofae vanaf die beenmurg kan die bloedbreinskans deurdring en as mikroglia in die brein vestig. Hulle kan dus as vektors van natuurlike of gemodifiseerde ensieme gebruik word.<sup>40</sup> Die behandelingsmetode is ook in pasiënte met LOS gebruik, maar die langtermynneffekte moet nog geëvalueer word.<sup>21</sup>

Verdere behandelingsmetodes wat oorweeg word, is geenoordrag in hematopoietiese stamselle gekombineer met outoloë beenmurgoorplanting.<sup>21</sup>

### FISIOLOGIE VAN LISOSOME

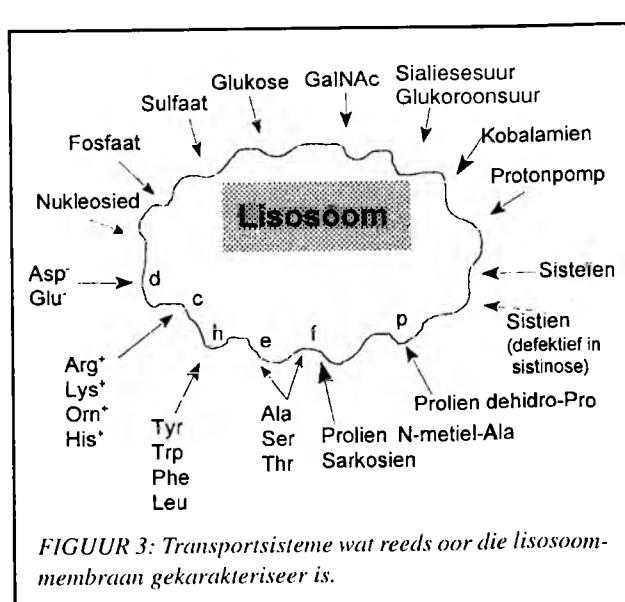
Soos hierbo vermeld, word die fisiologiese funksies van lisosome bespreek **na** beskrywing van patologiese afwykings van die organel, omdat verskeie funksies eers "ontdek" is nadat die patogenese van sekere lisosoomsiektes verklaar is. So byvoorbeeld het verduideliking van die fundamentele afwykings in Salla se siekte en ISSD (tabel 1) belangstelling in die vervoeren voedingsfunksies van lisosome geprykkel, terwyl kongenitale gebrek aan lisosomale N-asetieltransferase as oorsaak vir tipe c-Sanfilipposindroom (tabel 1) aandag op die rol van lisosome in die hidrolise van GAG's gevestig het.

Kornfeld en Mellman<sup>9</sup> se **fisiologiese definisie** van lisosome as die terminale sellulêre kompartement waarin makromoleküle vanaf die endositotiese pad en vanaf endogene oorsprong gehidroliseer word, word dus aanvaar. Die morfologiese heterogenisiteit van die lisosoomsisteem is reeds beklemtoon en karakterisering van alle suur fosfatase-positiewe strukture as lisosome is dus nie meer voldoende nie. **Biochemies** word lisosome dus nou gedefinieer as M6F-receptor(e), negatiewe IgP-positiewe membranuse vesikels.

Dit moet egter beklemtoon word dat lisosome nie die enigste sisteem vir hidrolise van alle sellulêre makromoleküle is nie. Hierdie feite word goed geillustreer deur **sellulêre proteolise**.<sup>41</sup> Sellulêre endopeptidases word volgens die aard van die chemiese samestelling van hul katalytiese aktiwiteite in vier groepe verdeel, naamlik serien-, sistien-, aspartiese en metallo-endopeptidases. Indeling van eksopeptidases is nog nie volledig nie, maar serien-, sistien- en metallotipes word wel onderskei. Lisosomale proteolise is hoofsaaklik afhanglik van vyf endopeptidases, naamlik katepsiene D, B, L, H en S. Katepsien D behoort aan die aspartiese katalytiese groep, terwyl die B-, H-, L- en S-tipes almal sistien-endopeptidases is.

In die sitosol is daar egter 'n proteolitiese mekanisme wat heeltemal anders en afsonderlik funksioneer. Sitosolproteiene word eers kovalent gebind aan 'n ketting gevorm deur verskeie moleküle van die polipeptied, ubikitien waarna hulle "gemerk" is vir vinnige hidrolise deur 'n 26S-kompleks wat 'n proteolitiese komponent, naamlik 20S-proteasome bevat. Hierdie **ubikitienproteasoom-mekanisme**<sup>42</sup> is veral betrokke by hidrolise van "abnormale" proteiene en sekere beheerproteiene soos mitotiese sikliene. 'n Ander nonlisosomale sitoplasmiese proteolitiese sisteem funksioneer by neutrale pH en benodig ATP.<sup>43</sup> Dit word beweer<sup>22</sup> dat lisosomale proteolise tot op dievlak van aminosure veral van belang in onder- en wanvoeding is.

Die eerste aminosuurvervoersisteem wat volledig in die membrane van lisosome gekarakteriseer is, is dié vir **sistien**<sup>44</sup> (figuur 3). Dié transportsisteem is spesifiek vir die L-isomeer



van sistien, en die porter in die lisosoommembraan het streng strukturele vereistes vir ligandbinding, naamlik twee aminogroepe geskei deur ses metileen- of swawelgroepe. Geen ander aminosuur, behalwe sistatien, kan aan hierdie vereistes voldoen nie. Defekte in hierdie porter is verantwoordelik vir die lisosoomsiekte sistinose (tabel 1), wat die mees algemene genetiese oorsaak vir renale Fanconi-syndroom is. Laasgenoemde ontwikkel dus as gevolg van akkumulasie van sistienkristalle in renale epiteelselle.

Sedertdien is die volgende aminosuurvervoersisteeme in lisosome beskryf<sup>22,47</sup> (figuur 3):

- Transport van **kationiese aminosure** (lisosoomsisteem c). Hierdie porter(s) herken arginin, lisien, ornitien en histidien. Die belangrikste kliniese waarde van hierdie sisteem is dat dit ook die gemengde disulfied van sitemien en sisteien vervoer (figuur 2). Aangesien hierdie sisteem nie defektief is in sistinosepatiënte nie, vorm dit die basis vir die suksesvolle behandeling van sulke patiënte met sitemien.
- Transport van **groot, neutrale hidrofobiese aminosure** (lisosoomsisteem h). Hierdie sisteem stem ooreen met die selmembraansisteem L en het 'n wye substraatreks vir tirosien, leusien, fenielalanien en triptofaan, en veral vir die L-isomere van hierdie aminosure. Transport van tirosien deur lisosome is van kritiese belang in tirofidepiteelselle, beide vir gebruik in die sintese van tiroglobulien in die endoplasmiese retikulum en vir hersirkulasie van jodium. Tiroglobulien word in lisosome gehidroliseer tot aminosure en jodiedbevattende verbindings soos T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>, MIT en DIT. Die funksionele T<sub>4</sub> en T<sub>3</sub> word aan die sirkulasie gelewer, maar die jodied in MIT en DIT moet in die sitoplasma hersirkuleer. Daar is dan ook bewyse dat lisosoomsisteem h MIT kan vervoer.<sup>48</sup> Verder is bewyse dat hierdie sisteem besonder sensitief is vir beheer deur tireotropien.<sup>49</sup> Harper et al.<sup>49</sup> het dan ook voorspel dat hormonale beheer van ander lisosoomvervoersisteeme gevind mag word, veral waar die draers vir die "behoud" van noodsaaklike nutriënte betrokke is.
- **Transport van klein, neutrale aminosure** (lisosoomsisteeme e, f en p). Hierdie sisteme is veral betrokke by vervoer van aminosure soos prolien, serien, treonien en alanien. Die belangrikste kenmerke van hierdie drie Na<sup>+</sup>-onafhanklike roetes kan kortliks as volg opgesom word<sup>50</sup>:
- Prolien beweeg oor die membraan deur twee sisteme met K<sub>m</sub>-waardes van 0,01 en 0,07 mM respektiewelik. Die lae-affinitetsisteem p het hoë spesifisiteit vir prolien en 3,4-dehidro-L-prolien, terwyl die hoë-affinititeit sisteem f ook onvertakte neutrale aminosure soos sarkosien en N-metiel-L-alanien herken. Laasgenoemde sisteem stem ooreen met sisteem A in die selmembraan.
- Alanien, serien en treonien word tot geringe mate deur die hoë affinititeit proliensisteem f vervoer, maar grootliks deur 'n afsonderlike porter e wat ooreenstem met sisteem ASC in die selmembraan.
- **Transport van dikarboksiliiese aminosure** (lisosoomsisteem d). Hierdie sisteem wat veral anioniese aminosure glutamaat en aspartaat vervoer is in lisosome van menslike fibroblaste beskryf,<sup>51</sup> maar is nog nie volledig gekarakteriseer nie.

#### Transport van koolhidrate oor die lisosoommembraan

Die ontdekking van transportsisteeme vir monosakkariede in die lisosoommembraan het gevolg na pogings om die fisiologiese basis vir Salla se siekte en ISSD (tabel 1) te verklaar. Akkumulasie van sialiese suur in hierdie sindrome is die gevolg van

gebrekkige uitwaartse vervoer van hierdie suurmonosakkariede vanuit die lisosoom.<sup>52</sup>

- **Ander suikers.** Lloyd<sup>53</sup> het gevind dat die lisosoommembraan ondeurdringbaar is vir disakkariede, maar dat monosakkariede (insluitende D-glukose, D-mannose, D-arabinose, D-galaktose, D-xylose en D-ribose) vrylik deur diffusie oor die membraan beweeg. Sy gevolgtrekking dat verbindings met molmassa laer as 230, geen draers benodig nie, is egter later verkeerd bewys<sup>54</sup> en dit word tans aanvaar dat effektiewe tweerigtingvervoer oor die membraan deur middel van draerbemiddelde gefasiliteerde diffusie geskied. Dit geld ook vir aminosure met molmassa kleiner as 200.
- Lisosomale hidrolise van glikoproteïene en GAG's (tabel 1) lewer onder andere **N-asetielglukosamien** en **N-asetielgalaktosamien**. Hierdie metaboliete word feitlik volledig in die sitoplasma vir hersintetiese prosesse gebruik en 'n vinnige uitwaartse transportsisteem oor die membraan is dus van groot belang in sellulêre voeding.<sup>55</sup>

#### Transport van nukleosiede oor die lisosoommembraan

Lisosomale nukleases kan nukleosiede tot nukleoside en anorganiese fosfaat hidroliseer.<sup>47</sup> Verdere hidrolise van nukleoside tot hul vry basis en suiker is nog nie gevind nie. Die belangrikste fisiologiese toepassing van hierdie proses is in die degradasie van sitoplasmiese RNA.<sup>56,57</sup> Die belangrikste eienskappe van die sisteem kan as volg opgesom word:

- In die rotlewer word 65% van totale sitoplasmiese RNA per dag gehidroliseer.
- Die outophagolisosoompad is vir 70-85% van hierdie katabolisme verantwoordelik.
- Die nukleosieddraer herken nie nukleotiede nie.
- Beide purien- en pirimidien-nukleoside word vervoer.
- Adenosien word in die lisosoom vinnig tot inosien gedeamineer. Die lisosomale adenosien deaminase (ADA) is gebrekkig in 'n genetiese siekte gekenmerk deur nukleosiedakkumulasie.<sup>58</sup>
- Uitwaartse beweging uit die lisosoom is veral besonder effektief. Die halftyd van uridien- en inosieneksodus uit lisosome van mensfibroblaste was 6 min. ± 0,9 en 7,5 min. ± 1,0 respektiewelik, by 37 °C en pH 7,0.

#### Transport van klein molekule wat die lisosoom bereik deur middel van reseptorbemiddelde endositose

Sellulêre opname van verskeie molekule word bemiddel deur spesifieke, hoë-affinitetsreseptore in die selmembraan. Hierdie proses van reseptorbemiddelde endositose (RBE) sal volledig in 'n artikel oor sellulêre transportsisteeme bespreek word. Hier sal slegs die lisosomale hantering van molekule soos cholesterol, yster en vitamien B<sub>12</sub> wat die organel deur middel van RBE bereik, bespreek word.

**Cholesteroltransport** word bewerkstellig deur middel van verbinding van cholesterolesters aan laeidigheidslipoproteïene (LDL) en LDL-reseptore. Hierdie reseptore is in die selmembraan gelokaliseer. Na opname in die sel dissosieer die reseptore vanaf LDL in die suur milie van endosome en vind hersirkulasie van die reseptor na die selmembraan plaas. Die LDL-cholesterolkomplekse beland in lisosome na versmelting van endosome met primêre lisosome om sekondêre lisosome te vorm, waar suurhidrolases die molekule degradeer: LDL na aminosure deur verskeie proteases;

- cholesterolesters na cholesterol en vry vetsure deur 'n suurlipase. Kongenitale gebrek aan hierdie ensiem veroorsaak fatale Wolman se siekte (tabel 1) wat deur akkumulasie van cholesterolesters gekenmerk word.

Vervoer van die aminosure geskied deur bekende sisteme hierbo beskryf, terwyl vry vetsure ook vryelik oor die lisosoom-membraan kan beweeg. Die meganisme(s) waardeur lisosome vry cholesterol hanteer, is egter nog onduidelik. Verskeie moontlikhede kan genoem word,<sup>22</sup> maar volledige verduideliking van die essensiële fisiologiese meganisme sal waarskynlik voortspruit uit ondersoek van die patogenese van 'n variant van Niemann-Pick-siekte, naamlik Niemann-Pick tipe c. In hierdie variant is die gebrek aan sflingomiëlinase waarskynlik sekondêr en mag die primêre defek 'n fout in 'n cholesterol-effluksisteem wees.<sup>59</sup>

Yster gebonde aan die proteïen transferrien word oor die selmembraan deur transferriensreceptore vervoer. Die transferriensreceptorkompleks word eerstens (soos ander moleküle wat die sel deur middel van RBE binnegaan) in klatrienbedekte komplekse vesikels gelokaliseer en dan oorgeplaas na endosome waar die suur milieу weereens dissoasiasie van yster vanaf transferrieni veroorsaak. Die reseptortransferrienskompleks hersirkuleer na die seloppervlak waar die neutrale pH dissoasiasie van die twee komponente bewerkstellig sodat beide herverbruik kan word. Yster gebonde aan ferritiën akkumuleer in die sel, onder andere ook in lisosome.<sup>60</sup> Ferritiensintese verhoog na verhoogde ysterabsorpse<sup>60</sup> en dit gaan gepaard met 'n afname in die sintese van transferriensreceptore. Sulke meganismes beskerm die sel teen ystertoksiteit. Die wyses waarop die endosoom/lisosoomkompartement yster hanteer, is egter nog onduidelik.<sup>22</sup> Geen volledige verklaring vir die afwykings in ysterhomeostase wat aanleiding gee tot akkumulasie van hemosiderien in outosomaal resessiewe hemokromatose is beskikbaar nie. Sulke ondersoek mag help om gapings in kennis oor die intrzellulêre fisiologie van yster en ysterverbindings te vul.

**Vitamien B<sub>12</sub>** (kobalamien, Kbl) word oor die selmembraan vervoer gebonde aan die transportproteïen, transkobalamien II (Tk-II). 'n Spesifieke reseptor bind die Tk-II-Kbl-kompleks. Die kompleks word in lisosome gelokaliseer waar Tk-II tot aminosure gehidroliseer word en vry Kbl oor die membraan beweeg om in die sitoplasma aan toepaslike apoënsieme te bind. 'n Defek in die effluks van vry Kbl uit die lisosoom is beskryf in twee pasiënte met metielmalonsuururie, een met vertraagde ontwikkeling en die ander met homosistienurie.<sup>61,62</sup>

#### Transportsisteme wat nog nie volledig gekarakteriseer is nie

- **Sultaat.** Vry sulfaat kan in lisosome ontstaan deur die hidrolise van gesulfateerde glikosaminoglikane deur lisosoomensieme soos heparien N-sulfatase. 'n Transport-sisteme wat besonder sensitief is vir veranderinge in die membraanpotensiaal, en verantwoordelik is vir effluks van sulfate is in lisosoommembrane beskryf.<sup>63</sup> Molibdaat mag deur dieselfde transportproteïen hanteer word.<sup>47</sup>
- **Fosfaat** word in die lisosoom gevorm deur die hidrolise van nukleinsure, veral RNA.<sup>47</sup> Daar is bewyse dat anorganiese fosfaat wat deur die werking van die protonpomp ontstaan, lisosome mag binnekryp. 'n Fosfaat-transportssistem is in lisosome van mensfibroblaste beskryf.<sup>64</sup> Dit is bekend dat die systeem besonder pH-sensitief is (optimale pH: 4.5-5.5) en dat dit veral die monobasiese vorm van fosfaat vervoer, terwyl 'n vergelykbare systeem in mitochondria hoofsaaklik dibasiese fosfaat herken. Dit was egter tot dusver baie moeilik

om effektiewe effluks van fosfaat uit lisosome deur bogenoemde sisteem te bewys.

- **Vitamiene: Biotien,** kofaktor vir verskeie karboksilases, beweeg oor die selmembraan deur middel van reseptorbemiddelde endositose. Gefasiliteerde diffusie van biotien oor intrzellulêre membrane is egter in dundermepiteel van rotte beskryf,<sup>65</sup> terwyl die ensiem biotinidase waarskynlik 'n lisosoomensiem is.<sup>22</sup> Lisosome mag ook moontlik 'n rol speel in die intrzellulêre hantering van **tiamien**.<sup>66</sup>
- **Koper.** Lisosome mag betrokke wees in die patogenese van drie sindrome wat met afwykings in kopermetabolisme geassosieer is, naamlik Wilson se siekte, Menkes se siekte en lewersirrose by kinders in Indië.<sup>22</sup> **Wilson se siekte** (hepato-lentikulêre degenerasie) is 'n outosomaal-resessiewe afwyking gekenmerk deur oormatige koperneerslae in verskeie weefsels (lewer, basale ganglia, ens.) waarskynlik weens gebreklike inkorporasie van die metaal in seroplasmien. Lewerlisosome mag of nie in staat wees om koper op te neem nie of daar mag gebreklike uitskeiding van koper in gal wees.<sup>67</sup> **Menkes se siekte** (X-gekoppeld) word deur sellulêre kopergebrek gekenmerk en ontstaan waarskynlik as gevolg van gebreklike sellulêre opname of intrzellulêre vrystelling van koper. Die basiese defek in **lewersirrose by Indiese kinders** is gebreklike vrystelling van koper deur lewerlisosome.<sup>42</sup>
- **Tirosien en albinisme.** Dié tipies albinisme wat deur normale tirosinase-aktiwiteit gekenmerk word, mag die gevolg wees van defektiewe opname van tirosien<sup>13</sup> in melanosome wat tans as lede van die lisosoomsisteem aanvaar word.<sup>4</sup>

Dit is duidelik dat lisosoomsiektes nie uitsluitlik die gevolg is van ensiemdefekte nie, maar dat verskeie (moontlik onbekende?) sindrome die gevolg van afwykings in transportsisteme oor die lisosoommembraan mag wees.<sup>22</sup> Verder moet net beklemtoon word dat, afgesien van genoemde meganismes, lisosome sellulêre en weefselpatologie op twee ander wyses mag veroorsaak: sellulêre vrystelling van lisosoomensieme (jig, silikose) en ekstrasellulêre sekresie van hierdie hidrolases (sekere tipies artritis).<sup>68</sup>

## SUMMARY

Lysosomes are found in the cytoplasm of all eucaryotic cells except mature red blood cells. The matrix of the organelle is separated from the surrounding cytoplasm by a trilaminar unit membrane and contains a variety of acid hydrolytic enzymes. Morphologically primary lysosomes, which are organelles recently formed from the Golgi-complex, are distinguished from secondary lysosomes. The latter type is formed after fusion of a vacuole with a primary lysosome and is ultrastructurally extremely heterogeneous due to the large variety of substrates (macromolecules) incorporated in the matrix of the organelle. Furthermore, special types of lysosomes are found in certain cells, e.g. the acrosome of mature spermatozoa and melanosomes which are organelles in which melanin pigment is formed.

The acid hydrolases of lysosomes are divided into the following five groups: phosphatases, nucleases, polysaccharide and glycosaminoglycans (GAG) - hydrolases, proteases and lipases. These enzymes all function at an optimum pH of approximately 5 and the acid milieu in the matrix is provided by a proton pump in the membrane of the organelle which uses energy derived from ATP-hydrolysis to pump H<sup>+</sup> into the organelle. Three, possibly four, routes are used for the incorporation of the substrates of these enzymes into lysosomes: extracellular macromolecules

may be incorporated through receptor-mediated endocytosis, while endogenous substrates may reach lysosomes through an autophagic mechanism. The third route involves phagocytosis by cells such as macrophages and polymorphs, and the central event in this process is the respiratory burst during which increased non-mitochondrial oxygen consumption is induced by the lysosomal enzyme, reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)-oxidase. Fourthly, cytosolic proteins which contain the signal peptide KFERQ may possibly be incorporated by direct transfer across the lysosomal membrane.

Synthesis of soluble enzymes localized in the matrix of lysosomes is initiated in ribosomes attached to the membrane of the endoplasmic reticulum (ER) by a specific signal peptide (15-30 hydrophobic N-terminal amino acids). After N-glycosylation in the lumen of the ER, enzymes destined for lysosomes receive a specific marker, mannose-6-phosphate (M6P), M6P-containing proteins react in the Golgi-complex or in post-Golgi vesicles with M6P-receptors. Two types of these receptors (MPR's) have been described: a divalent cation independent receptor (CI-MPR) and a divalent cation dependent receptor (CD-MPR). The CI-MPR may be dominant and reacts with hydrolases which reaches the lysosome via receptor-mediated endocytosis. The specific role(s) of the CD-MPR require(s) further investigation. MPR's are also found in the cell membrane. Further processing of enzymes occurs after incorporation in lysosomes, e.g. trimming of oligosaccharide side-chains, and maturation (i.e. limited proteolysis). The latter process is essential for full activity of lysosomal proteases. Association with activator proteins, saposins, enhances activity of certain hydrolases.

Enzymes destined for incorporation in lysosomal membranes and integral proteins of these membranes, follow M6P-independent processing pathways. Two types of acid glycoproteins have been described in the limiting membrane of lysosomes, i.e. Igp-A and Igp-B. These proteins may play a role in the stabilization of the membrane against lysosomal hydrolases.

Congenital absence of one or more lysosomal hydrolases results in accumulation of the relevant substrate and development of the so-called lysosomal storage diseases (LSD). Approximately 22 different types of LSD are known, which are divided into three groups according to the chemical nature of the specific substrate: sphingolipidoses, mucopolysaccharidoses (defective hydrolysis of glycosaminoglycans) and glycopathies. The most prevalent LSD is Gaucher's disease due to primary deficiency of glucocerebrosidase and accumulation of glucosylceramide. Other lysosomal clinical syndromes may result from defects in the biogenesis of the organelle (e.g. I-cell disease) or abnormalities in transport of metabolites across the lysosomal membrane (e.g. cystinosis). Most LSD are autosomal recessive syndromes, but other pathogenetic mechanisms which may play a role include defects in the lysosomal mannose-6-phosphate (M6P)-marker due to deficiency of N-acetylglucosamine-phosphotransferase, congenital absence of activator proteins such as saposins (e.g. metachromatic leucodystrophy and certain variants of Gaucher's disease) and drug-induced LSD (e.g. chloroquine myopathy). Accumulation of substrate may cause "mechanical" disruption of cellular functions as exemplified by displacement of contractile myofilaments by glycogen in Pompe's disease. Alternatively toxic metabolites such as lysosphingolipids (inhibitors of protein kinase C) may be produced.

Investigations of these lysosomal related disorders led to the physiological concept of lysosomes as the terminal cytoplasmic compartment for hydrolysis of macromolecules which reached lysosomes by endocytotic pathways (e.g. receptor-me-

diated endocytosis) or which were of endogenous, autophagic origin. However, it must be remembered that extralysosomal hydrolysis through the ubiquitin-proteasome pathway is important in degradation of certain proteins. Biochemically lysosomes can be defined as M6P-receptor(s) negative, lysosomal-glycoprotein positive membranous vesicles.

Lysosomes fulfil essential functions in intracellular nutrition due to the large variety of facilitated transport systems in lysosomal membranes. The porter for the amino acid cystine is defective in cystinosis. Other amino acid transport systems which have been well-characterised include those for cationic amino acids (system c) and for large neutral hydrophobic amino acids (system h). The latter system is of great significance in the handling of tyrosine by thyroid epithelial cells. Transport systems for small, neutral amino acids (systems e, f and p) and for dicarboxylic amino acids (system d) have also been described. Efficient bidirectional movement of monosaccharides across the lysosomal membrane requires functional porters while transport of metabolites such as N-acetyl-glucosamine and N-acetylgalactosamine provide important substrates for cytoplasmic synthetic processes.

Hydrolysis of cytoplasmic RNA occurs predominantly in lysosomes and efficient transport systems for the resultant nucleosides and inorganic phosphate have been described. Cholesterol, iron and vitamin B<sub>12</sub> reach lysosomes through receptor-mediated endocytosis. Lysosomal metabolism of cholesterol includes degradation of LDL by proteases and hydrolysis of cholesterolesters by an acid lipase. Ferritiniron complexes accumulate in lysosomes but the specific metabolism of these macromolecules in lysosomes has not been clarified. Lysosomes are involved in the hydrolysis of the vitamin B<sub>12</sub>-transportprotein, transcobalamin II. Finally, lysosomes may be involved in metabolism of sulphate, phosphate, biotin, thiamin and copper.

## LITERATUURVERWYSINGS\*

20. Hers, H.G. (1965). Inborn lysosomal diseases, *Gastroenterology*, 48, 625-633.
21. Gieselmann, V. (1995). Lysosomal storage diseases, *Biochim. Biophys. Acta*, 1270, 103-136.
22. Gahl, W.A. (1989). Lysosomal membrane transport in cellular nutrition, *Annu. Rev. Nutr.*, 9, 39-61.
23. Iancu, T.C. (1992). The ultrastructural spectrum of lysosomal storage diseases, *Ultrastruct. Path.*, 16, 231-244.
24. Agamanolis, D.P. (1995). The pathology of lysosomal storage diseases, *Pathol. Annu.*, 30, (Pt. 1), 247-285.
25. Beaudet, A.L., Scriver, C.R., Sly, W.S. et al. (1989). Genetics and biochemistry of variant human phenotypes. In *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, Vol. 1, Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S. et al. eds. (McGraw-Hill, New York) p. 2619.
26. Von Figura, K., Hasilik, A., Steckel, F. (1984). Lysosomal storage diseases caused by instability of the missing enzymes. In *Molecular Basis of Lysosomal Disorders*, Baranger, I.A., Brady, R.O. eds. (Academic Press, Orlando) p. 19.
27. O'Brien, S., Kishimoto, Y. (1991). Saposin proteins: structure, function and role in human lysosomal storage disorders, *FASEB J.*, 5, 301-311.
28. D'Azzo, A., Hoogeveen, A., Reyser, A.D.L. et al. (1982). Molecular defect in combined beta-galactosidase and neuraminidase deficiency in man, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 79, 4535-4537.
29. Steckel, F., Hasilik, A., Von Figura, K. (1955). Multiple sulfatase deficiency: degradation of arylsulfatase A and B after endocytosis in fibroblasts, *Eur. J. Biochem.*, 151, 147-154.
30. Reason, M.J. (1989). A review of the biology and toxicologic implications of the induction of lysosomal lamellar bodies by drugs,

\*1-19 in vorige uitgawe

- Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 97, 47-74.
31. Hruban, Z. (1984). Pulmonary and generalized lysosomal storage induced by amphiphilic drugs, *Environ. Health Persp.*, 55, 53-76.
  32. Hughes, J.T., Esiri, M., Osbury, J.M. et al. (1971). Chloroquine myopathy, *Quart. J. Med.*, 40, 85-93.
  33. Gahl, W.A., Renlund, M., Thoene, J.G. (1989). Lysosomal transport disorders: cystinosis and sialic acid storage disorders. In *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, Vol. II, Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S. et al. eds. (McGraw-Hill, New York) p. 2627.
  34. Gery, I., Zigler, S., Brady, R.O. et al. (1981). Selective effects of glucocerebroside (Gaucher's storage material) on macrophage cultures, *J. Clin. Invest.*, 68, 1182-1189.
  35. Toda, K.I., Kobayashi, T., Goto, I. et al. (1990). Lysosulfatide (sulfogalactosylsphingosine) accumulation in tissues from patients with metachromatic leukodystrophy, *J. Neurochem.*, 55, 1585-1591.
  36. Sugama, S., Yoshikatsu, P., Yamamoto, H. et al. (1991). Psychosine cytotoxicity toward rat C<sub>6</sub> glioma cells and the protective effects of phorbol ester and DMSO: implications for therapy in Krabbe disease, *Brain Dev.*, 13, 104-113.
  37. Barton, N.W., Furbish, F.S., Murray, G.J. et al. (1990). Therapeutic response to intravenous infusions of glucocerebrosidase in a patient with Gaucher disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 87, 1913-1916.
  38. Barton, N.W., Brady, N.O., Danbrosia, J.M. et al. (1991). Replacement therapy for inherited enzyme deficiency-macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease, *New Engl. J. Med.*, 324, 1464-1470.
  39. Markello, T.C., Bernardini, I.M., Gahl, W.A. (1993). Improved renal function in children with cystinosis treated with cysteamine, *New Engl. J. Med.*, 328, 1157-1162.
  40. Hoogerbrugge, P.M., Suzuki, K., Suzuki, K. et al. (1988). Donor-derived cells in the central nervous system of twitcher mouse after bone marrow transplantation, *Science*, 239, 1035-1038.
  41. Hoffmann, K.E., Yanelli, K., Bridges, K.R. (1991). Ascorbic acid and iron metabolism: alterations in lysosomal function, *Am. J. Clin. Nutr.*, 54, 11885-11925.
  42. Tanner, M.S. (1986). Indian childhood cirrhosis. In *Recent Advances in Paediatrics*, Meadow, R. ed. (Churchill Livingstone, New York) 8, 103-120.
  43. Witkop, C.J., Quevedo, W.C., Fitzpatrick, T.B. (1983). Albinism and other disorders of pigment metabolism. *Sien verw.* 33, p. 301-346.
  44. Barrett, A.J. (1992). Cellular proteolysis - an overview, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 674, 1-15.
  45. Goldberg, A.L. (1995). Functions of the proteasome - the lysis at the end of the tunnel, *Science*, 268, 522-523.
  46. Ettlinger, J.D., Goldberg, A.L. (1977). A soluble ATP-dependent proteolytic system for the degradation of abnormal proteins in reticulocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 54-58.
  47. Pisoni, R.L., Thoene, J.G. (1991). The transport systems of mammalian lysosomes, *Biochim. Biophys. Acta*, 1071, 351-373.
  48. Anderson, H.C., Kohn, L.D., Bernardini, I. et al. (1990). Characterization of lysosomal monoiodotyrosine transport in rat thyroid cells, *J. Biol. Chem.*, 265, 10950-10954.
  49. Harper, G.S., Kohn, L.D., Bernardini, I. et al. (1988). Thyrotropin stimulation of lysosomal tyrosine transport in rat FRTL-5 thyroid cells, *J. Biol. Chem.*, 264(3), 9320-9325.
  50. Pisoni, R.L., Flickinger, K.S., Thoene, J.G. (1987). Characterization of carrier-mediated transport systems for small neutral amino acids in human fibroblast lysosomes, *J. Biol. Chem.*, 262, 6010-6017.
  51. Collarini, E.J., Pisoni, R.L., Christensen, H.N. (1989). Characterization of a transport system for anionic amino acids in human fibroblast lysosomes, *Biochim. Biophys. Acta*, 987, 139-144.
  52. Renlund, M., Tietze, F., Gahl, W.A. (1986). Defective sialic acid egress from isolated fibroblast lysosomes of patients with Salla disease, *Science*, 232, 759-761.
  53. Lloyd, J.B. (1969). Studies on the permeability of rat liver lysosomes to carbohydrates, *Biochem. J.*, 115, 703-707.
  54. Docherty, K., Brenchley, G.V., Hales, C.N. (1979). The permeability of rat liver lysosomes to sugars. Evidence for carrier-mediated facilitated diffusion, *Biochem. J.*, 178, 362-366.
  55. Rome, L.H., Hill, D.F. (1986). Lysosomal degradation of glycoproteins and glycosaminoglycans. Efflux and recycling of sulfate and N-acetylhexosamines, *Biochem. J.*, 235, 707-713.
  56. Lardeaux, B.R., Mortimore, G.E. (1987). Amino acid and hormonal control of macromolecular turnover in perfused rat liver, *J. Biol. Chem.*, 262, 14514-14519.
  57. Pisoni, R.L., Thoene, J.G. (1989). Detection and characterization of a nucleoside transport system in human fibroblast lysosomes, *J. Biol. Chem.*, 264, 4850-4856.
  58. Pisoni, R.L., Lindley, E.R. (1990). Characterization of an adenosine deaminase activity in lysosomes of human fibroblasts, *Pediatr. Res.*, 27, 135A.
  59. Maziere, C., Mazieri, J.C., Mora, L. et al. (1987). Alterations in cholesterol metabolism in cultural fibroblasts from patients with Niemann-Pick disease Type-C, *J. Inherit. Metab. Dis.*, 10, 339-346.
  60. Munro, H.N., Linder, M.C. (1978). Ferritin: structure, biosynthesis and role in iron metabolism, *Physiol. Rev.*, 58, 317-396.
  61. Rosenblatt, D.S., Laframboise, R., Pichette, J. et al. (1986). New disorder of vitamin B<sub>12</sub> metabolism (cobalamin F) presenting as methyl-malonic aciduria, *Pediatrics*, 78, 51-54.
  62. Vassiliadis, A., Rosenblatt, D.S., Cooper, B.A. et al. (1988). EM autoradiography of cbl F fibroblasts: demonstration of vitamin B<sub>12</sub> in lysosomes, *Am. J. Hum. Genet.*, 43, A17.
  63. Rome, L.H., Hill, D.F. (1986). Lysosomal degradation of glycoproteins and glycosaminoglycans. Efflux and recycling of sulphate and N-acetyl-hexosamines, *Biochem. J.*, 235, 707-713.
  64. Pisoni, R.L. (1991). Characterization of a phosphate transport system in human fibroblast lysosomes, *J. Biol. Chem.*, 266, 979-985.
  65. Said, H.M., Redha, R. (1987). A carrier-mediated system for transport of biotin in rat intestine in vitro, *Am. J. Physiol.*, 15, 52-55.
  66. Haas, R.H. (1988). Thiamin and the brain, *Annu. Rev. Nutr.*, 8, 483-515.
  67. Goldfischer, S., Popper, H., Sternlieb, I. (1980). The significance of variations in the distribution of copper in liver disease, *Am. J. Pathol.*, 99, 715-724.
  68. Woolf, N. (1995). Cell, tissue and disease (W.B. Saunders, London).
  69. Kominami, E., Ezaki, J., Wolfe, L.S. (1995). New insight into lysosomal protein storage disease: Delayed catabolism of ATP synthase subunit c in Batten disease, *Neurochem. Res.*, 20, 1305-1309.