

Sinir Onarımını Engelleyen Protein Bulundu Felç Tedavisinde Yeni Umut: Nogo

Gözülcü başarılarına karşın tıp biliminin çare bulamadığı bir sorun, omurilik yaralanmalarının yol açtığı felç. Gerçi felçli hastaları kısmen de olsa iyileştirebilmek için mekanik elektronik düzenekler geliştirilmiş bulunuyor. Hatta bunlarla biyolojik araçları birleştiren “biyonik çözümler” de tasarım ve deney aşamasında. Yeni denenen bir yöntem de, kök hücreler aracılığıyla yeni sinir hücreleri üretmek. Bu çalışmaların odağı, miyelin denen sinir hücre kılıfının onarılmasıydı. Oysa, yeni bir buluş miyelinin, beyin ve omurilik hücrelerinin bağ yapmasını engelleyen bir proteinin yatağı olduğunu ortaya koydu. Nogo adlı proteinin belirlenmesi, uzmanlarca sinir onarımı için geniş ufuklar açan bir gelişme olarak değerlendiriliyor.



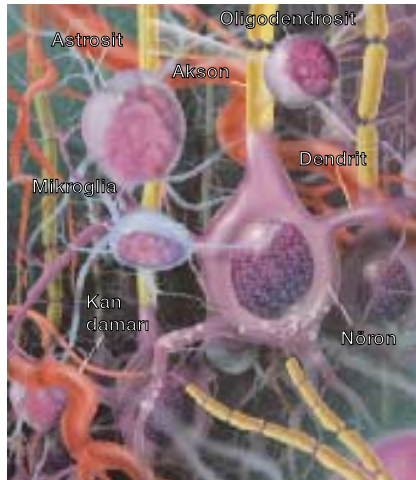
VÜCUT dokularının çoğu, örneğin kas, deri, karaciğer ve çevre sinirleri (periferik sinirler), yaralandıktan sonra kendilerini tümüyle onarabilirler. Gariptir ki, merkez sinir sistemini oluşturan beyin ve omuriliğin, böyle bir becerisi yoktur. Yaralandıktan sonra kendilerini hemen hemen hiç onaramazlar. Erişkin canlılarda merkez sinir sistemi, yeni nöronlar ve yeni aksonlar oluşturamaz. Nitekim merkez sinir sisteminin ken-

dini yenileme (rejenerasyon) gücü çok sınırlı olduğundan beyin ve omurilikten kaynaklanan felçler çoğu kez kalıcı oluyor.

Merkez sinir sistemindeki aksonlar acaba neden yenilenemiyorlar? Yüzyıl kadar önce Santiago Ramon y Cajal şunu gözlemledi: Beyin ve omurilik aksonları, yaralandıktan hemen sonra, uzamaya çalışıyorlar; fakat bu çaba az sonra duruyor. 20 yıl kadar önce David ve Aguayo şu ilginç gerçeği ortaya koydu: Erişkinlerde merkez sinir sis-

temi aksonları, bir çevre siniri grefi (nakledilmiş parça) içinde çok uzayabiliyorlar. Bu gözlemler şu varsayıma yol açtı: Aksonların merkez sinir sistemi içinde büyümemelerinin nedeni, merkez sinir sisteminde bulunan oligodendrosit ve astrosit adlı destek hücreleri (Bunlara toplu olarak glia denir. Glia sinir hücreleri (nöron) arasına serpilmiştir). Schwab ve arkadaşlarıysa deneylerle şunu kanıtladılar: Omuriliğin arka kök sinir düğümlerinde (ganglia) bulunan nöronlar, hücre kültürlerinde, iletişim kurmaya yarayan aksonlarını asla oligodendrosit hücrelerine ya da oligodendrosit hücrelerinin aksonlar etrafına sardığı yağlı miyelin kılıfına uzatamıyorlardı. Bunun yerine, aksonlar çevre sinirlerine ait glia hücrelerine yöneltiliyordu. (Oligodendrositlerin görevlerinden biri, yağlı miyelin maddesini sentezleyerek aksonların etrafına sarmak ve böylece akson elektriğini yalıtmak).

Bu deneyler sonucu, akson düşmanı miyelin moleküllerinin neler olduğunu bulmak ve onları etkisizleştirerek aksonları onarabilmek umudu doğdu. Schwab ve arkadaşları miyelin-

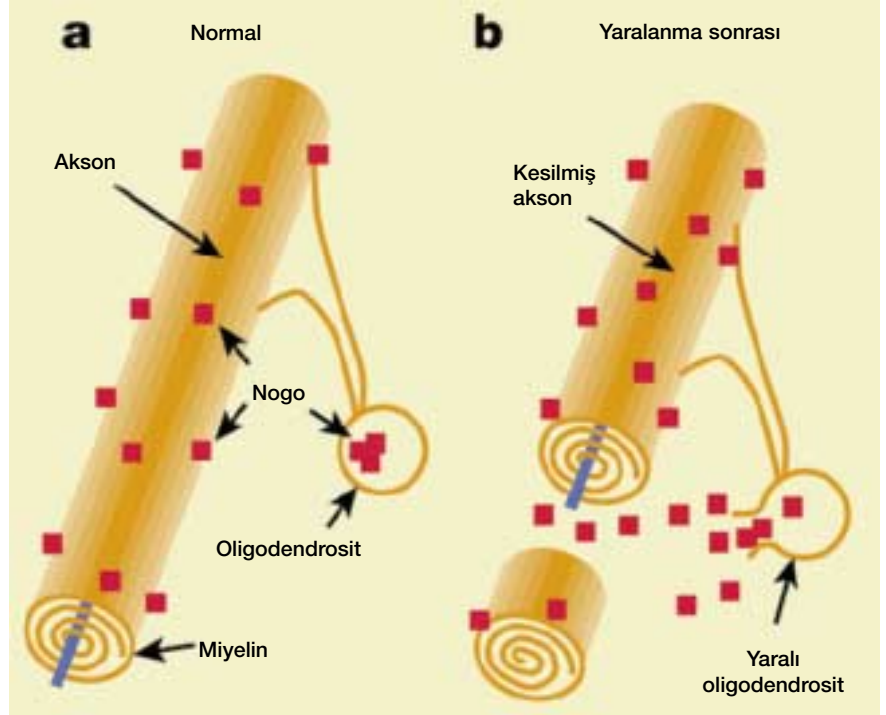




de molekül ağırlıkları 35 000 ve 250 000 olan iki akson düşmanı protein buldular. Bunlara N135 ve N1250 de deniyor (molekül ağırlıkları nedeniyle). Aynı araştırmacılar bu iki proteine karşı IN-1 adını verdikleri bir monoklonal antikor geliştirdiler. Bu antikor, hücre kültürlerinde oligodendrosit hücrelerinin ve miyelinin akson büyümesini engelleyici etkisini ortadan kaldırıyor. Schwab ve ekibi omurluğu yaralanmış erişkin sıçanlara IN-1 enjekte ettiklerinde, yaralı dokudaki aksonların % 5'inin kendilerini yeniden oluşturduğunu gördüler; sıçanların yürümesinde önemli düzeltilmeler olmuştu.

10 yıl sonra daha da ileri bir adım atılarak, insan ve sıçanlarda Nogo geni bulundu. Bu genin yaptırdığı Nogo A, Nogo B ve Nogo C proteinleri, miyelindeki akson düşmanı maddelerin ta kendileri. Nogo A 1163, Nogo B 360 ve Nogo C 199 amino asit içeriyor. Nogo A ile sığırlardaki bN1220 ve sıçanlardaki N1-250 proteinleri aynı yapıda bulunuyor. Nogolar hücre zarını delip geçici (transmembranik) proteinler sınıfında yer alıyorlar. Bu gibi proteinlere retikülön deniyor; Nogo, retikülön ailesinin 4. bireyi; yani retikülön 4-A.

Beklendiği gibi Nogo A, merkez sinir sisteminde miyelinde ve miyelin



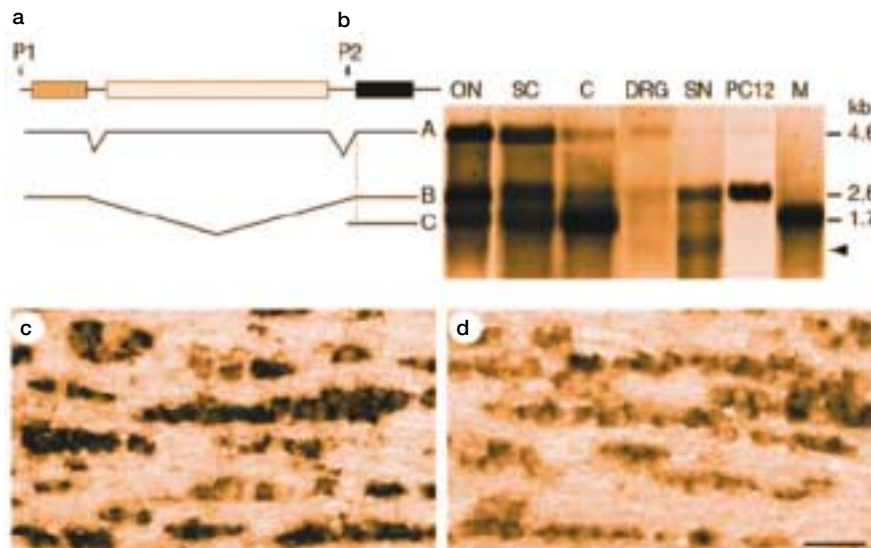
Şekil 1- Akson yenilenmesinin ketlenmesi. a) Miyelinde bulunan akson ketleyiciler, örneğin yeni bulunan Nogo proteinini, yaralanmamış merkez sinir sisteminde aksonların uzamasını ketler. b) Yaralanmadan sonra, zedelenmiş miyelin ve oligodendrosit hücreleri sinirin onarılmasını ketler.

yapıcı oligodendrosit hücrelerinde bulundu. Çevre sinirlerinde ve çevre sinir kılıflarındaki Schwann hücrelerinde Nogo-A yoktu. Nogo B ve Nogo C bazı nöronlarda, böbrek, kıkırdak, deri, akciğer ve dalakta, Nogo C ise iskelet kasında bulundu. Merkez sinir sisteminde oligodendrosit hücrelerince yapılan miyelinin fibroblastların (bağ doku hücreleri) yayılmasını ve akson-

ların uzamasını, yani merkez sinir sisteminin onarılmasını ketleyici etkisi, Nogo proteinlerinden ileri geliyor. Bu ketleme Nogo proteinlerine karşı oluşturulmuş serumlarla, yani anti-Nogo serumlarıyla, ortadan kalkıyor. Nogo-A sığır, sıçan ve insandan başka sinek ve solucanlarda da bulunuyor.

Nogo-A, IN-1 antikoruyla birleşen 250 000 molekül ağırlıklı bir protein. Nogo-B ve Nogo-C'den biri de IN-1'le bağlanan 35 000 molekül ağırlıklı protein. Nogo-B ve C'nin akson düşmanı olup olmadığı, Nogo-A molekülünün hangi parçasının aksonları ketlediği ve Nogo-A'nın hücre zarındaki biçimi henüz bilinmiyor.

Bu buluşların ardından bir de sürpriz geldi: Nogo-A'nın molekül yapısı, onun hücre içinde 'endoplazmik retikulum' denilen borucuk sistemi içinde bulunduğunu gösteriyordu. Acaba Nogo-A oligodendrosit yüzeyine çıkabiliyor muydu? En azından endoplazmik retikulumda bulunan diğer iki miyelin oligodendrosit yüzeyine çıkabiliyorlardı. Oligodendrositlerin hücre kültürlerinde boyayla işaretleme yöntemiyle en azından bir miktar Nogo A'nın oligodendrosit yüzeyinde bulunduğu gösterildi. Fakat temel bazı sorunlar henüz çözölmüş değil. Nogo-A,

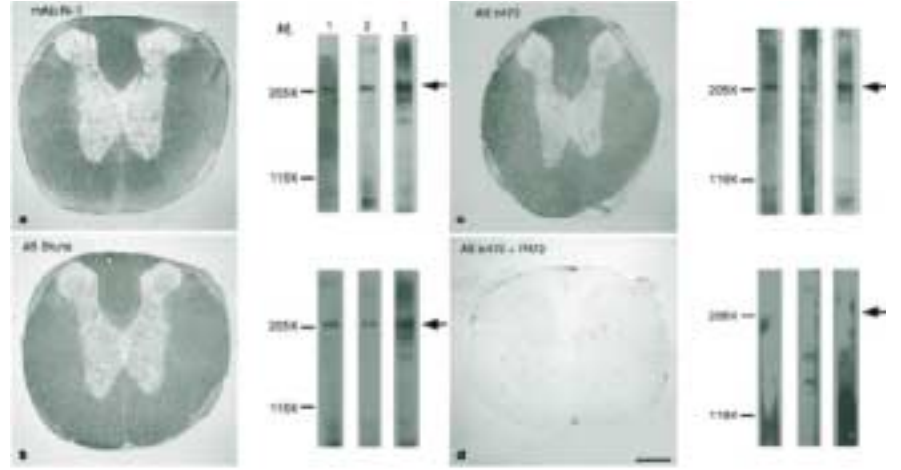


Şekil 2- Nogo baz sırası ve mRNA ifadesi. a) Nogo A, B ve C proteinlerinin Nogo geninden kopulanması. P1 ve P2 varsayımsal teşvik edici (promotör) bölgeler. b) Erişkin sıçan dokularında Nogo mRNA'sı. ON: görme siniri, SC: omurilik, C: beyin kabuğu, DRG: arka kök ganglionları, SN: siyatik siniri, PC12: PC12 hücreleri, M: iskelet kası. Nogo A, B ve C sırasıyla 4.6, 2.6 ve 1.7 kilobaza karşılık olarak görülüyor. c-d) Erişkin sıçan görme sinirinde Nogo-A pozitif oligodendrositler.

canlı vücutta da tüpte olduğu gibi akson büyümesini engelliyor mu? IN-1 antikoru Nogoyu nötralize ederek akson yenilenmesini artırıyor mu? IN-1 her ne kadar hücre kültürlerinde Nogo-A'nın akson düşmanlığını engelliyorsa da, henüz bileşimi bilinmeyen birçok omurilik proteinine de bağlanıyor. Aksonların onarılmasını ketleyen diğer moleküller de biliniyor: Örneğin aksona yol açıcı proteinlerden semaforinler, efrinler, slit ve ayrıca diğer bazı miyelin molekülleri. Ayrıca, miyelinle birarada bulunan glikoprotein (MAG) ve bazı proteoglikanlar.

Nogo geninin bulunuşundan sonra yeni olanaklar doğdu; örneğin spesifik anti-Nogo A antikollarının, IN-1 gibi, canlılarda akson onarımını artırıp artırmadığı ve Nogo proteinini yapamayan gen aktarımlı (transgenik) farelerde merkez sinir sistemi aksonlarının yenilenip yenilenmeyeceği araştırılabilir.

Eğer miyelinin akson düşmanlığı yenilebilirse, akson onarımı garanti-



Şekil 3- Erişkin sıçan omurilik kesitinin immünohistokimya yöntemi kullanılarak Nogo A, B ve C'ye karşı monoklonal antikora boyanması beyaz maddede Nogo proteinleri olduğunu göstermiştir (a, b, c). d'de boyayıcı serum P472 peptidinin katılmasıyla omurilik beyaz maddesinin boyanması tamamen durmuştur. Western kurulumu tekniğinde ok işareti hizasında [1] miyelin, 2) omurilik ekstresi ve 3) q havuzu Nogo proteinini görüldü.

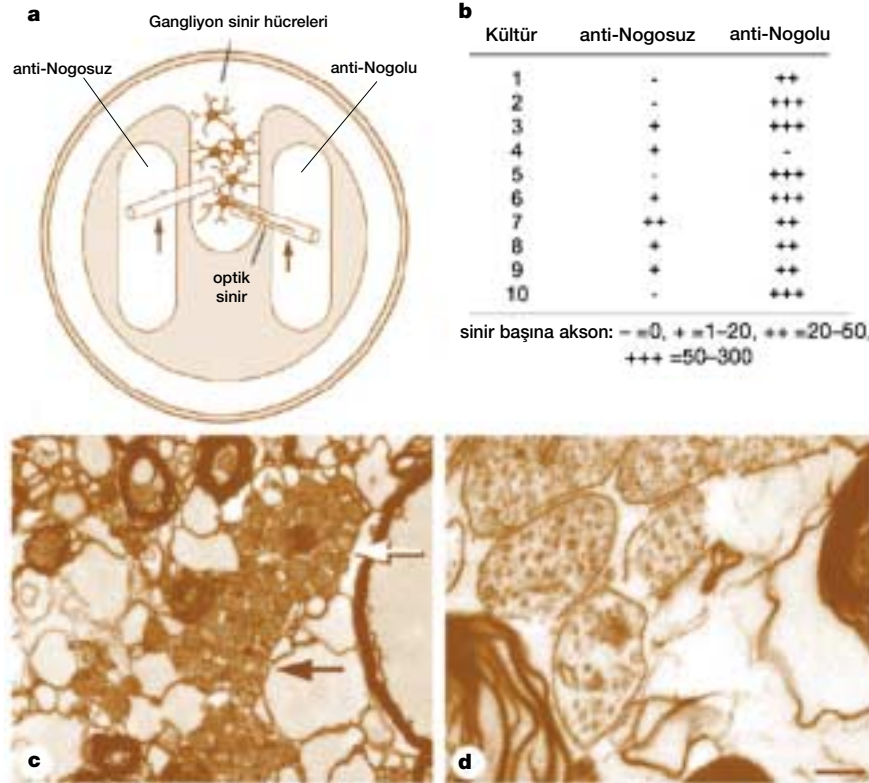
lenmiş olacak mı? Son zamanlarda Davies ve arkadaşları omurilik arka kök sinir düğümlerinden alınmış nöronları beynin miyelinli bölgelerine naklettiler ve hayretle nöronların kendilerini onardıklarını gördüler. Miyelinin ket-

leyici etkisi yaralanmadan sonra ortaya çıkıyor olmalı; Nogenin hücrenin içinde olması da buna uyuyor. Davies akson onarımını miyelinin çok, yara bölgesinde etkinleşmiş astrosit hücrelerinin engellediğini düşünüyor.

Fakat glia ketlemesinin tamamı önlenirse bile geriye bir sorun daha kalıyor: Nöronlar yaşamak ve büyümek için hayat boyu uyarılmak zorundalar. Beynin birçok bölgesinde, aksonların kesilmesi, bu uyarıcı etkenleri ciddi şekilde bozar; bunun sonucu, nöron ölümü ve onarımın durması. Bu nedenle yaralı aksonların uzamasını sağlamak için, hem miyelinin akson düşmanlığı nötrleştirilmeli, hem de nöron büyümesi hızlandırılmalı.

Bir başka şaşırtıcı deney: David ve arkadaşları miyeline bağışık kılınmış farelerde sinir onarımının on kat arttığını gösterdiler. Bu farelerin yarısında aksonlar omurilikte uzun mesafelere gidecek biçimde uzadılar; bu gibi farelerde felç önemli ölçüde iyileşti. Bu da bize miyelinin, akson düşmanlığını yenmemizde ne kadar yararlı olabileceğini gösteriyor. Omurilik ve beyin kaynaklı felçlerin kökten tedavisi belki de çok uzaklarda değil.

Selçuk Alsan



Şekil 4- Anti-Nogo serumunun varlığında, omurilik arka kök ganglion hücrelerinin aksonları, miyelinli görme siniri parçalarına doğru uzuyor. a) Kültür odacığında iki görme siniri parçası (oklar), solda anti-Nogo serumu olmadan, sağda anti Nogo serumu eşliğinde omurilik arka kök ganglion hücreleriyle beraber görülüyor. Ganglion hücrelerinin aksonları, anti-Nogo serumuyla Nogo etkisi yok edilmiş görme sinirine doğru (sağdaki) yöneliyor. b) Anti serumlu ve antiserumsuz görme siniri üzerinde ganglion hücrelerinin akson sayısı (elektron mikroskop ölçmeleri). Anti-Nogo serumuyla Nogenin akson düşmanlığı önlenince akson sayısı 300'e kadar yükseliyor. c) Akson demetleri anti-Nogo serumu verilmiş görme siniri içinde büyüyor. d) Büyümüş olan aksonlar miyelinle temas halindedir.

Kaynaklar
Goldberg, J. L., Barres, B. A., "Nogo in nerve regeneration" Nature, 27 Ocak 2000, s. 369-70
Prinjha, R., ve ark., "Neurobiology: Inhibitor of neurite outgrowth in humans" Nature, 27 Ocak 2000, s. 383-4
Chen, M. S., ve ark., "Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1" Nature, 27 Ocak 2000, s. 434-439
Grandpré, T., "Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein" Nature, 27 Ocak 2000, s.439-444