

Santral Sinir Sistemi Beyaz Maddesinin İskemik Zedelenmesinde Ca²⁺'un Rolü

Mehmet Demirci*

Klinik önemine karşın, beyaz maddede iskemik zedelenmenin mekanizmaları hakkında az şey bilinmektedir. Son yıllardaki çalışmalar erken dönemdeki anoksik hasarın ekstraselüler ortamda kalsiyum varlığına ve myelinizasyona bağlı olduğunu göstermiştir. Anoksik depolarizasyonun intraselüler Na⁺u artırması sonucunda Na⁺ Ca²⁺ değiştiricisi ters yönde çalışmakta ve hücre içine Ca²⁺ akışına neden olmaktadır. Premyelinize ve amyelinize liflerde erken anoksik hasar görülmemesi, Ca²⁺ akışının aksonlarda Ranvier düğümü bölgesinde gerçekleştiği düşüncesini desteklemektedir. Beyaz maddede intraselüler Ca²⁺ artışının tetiklediği olaylar zinciri ve anoksinin glial hücrelerde de intraselüler Ca²⁺ artışına yol açıp açmadığı bilinmemektedir.

Anahtar Kelimeler: İskemi, Kalsiyum, Beyaz madde

Role of Ca²⁺ in Ischemic Injury of CNS White Matter

Despite the clinical importance, little is known about the mechanisms of ischemic injury in white matter. Studies over the past few years showed that early anoxic injury in white matter depends on the presence of extracellular Ca²⁺ and myelination. An increase in [Na⁺]_i due to anoxic depolarization causes reverse operation of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger, which mediates Ca²⁺ influx during anoxia. The resistance of premyelinated and amyelinated axons to anoxic injury supports the hypothesis that Ca²⁺ influx occurs at nodes of Ranvier in axons. It is not known what cascades of events are triggered by Ca²⁺ influx in white matter, and whether anoxia induces increases in intracellular Ca²⁺ in also glial cells.

Key Words: Ischemia, Calcium, White Matter

İskemik santral sinir sistemi hastalıkları gri maddeyi olduğu kadar beyaz maddeyi de etkiler. Özellikle küçük penetran arterler tarafından beslenen kapsüla interna gibi derin yapıların infarktlarında beyaz madde selektif olarak tutulabilir ve bu bölgenin anatomik önemi nedeniyle lezyon hacmi ile orantısız büyüklükte nörolojik fonksiyon kaybına yol açabilir. Beyin sapı ve spinal kord iskemilerinde de beyaz madde zedelenmesi ön plandadır (1). Subkortikal beyaz madde kortikal yapılar kadar iyi bir kollateral dolaşıma sahip değildir (3). Bu nedenle büyük arter tıkanmalarında da iskeminin subkortikal yapıları korteksten daha fazla etkilemesi beklenebilir. İskemik hasara uğramış beyinde erken dönemdeki tedavinin amacı ortaya çıkacak nörolojik fonksiyon kaybını en aza indirmektir. Nöron ölümünü önlemeye yönelik tedavi yaklaşımları ile, özellikle iskemik penumbra bölgesindeki nöronlar yaşatılabilmiş olsalar bile, eğer subkortikal beyaz madde hasarı sonucunda aksonal bağlantılarını kaybetmiş iseler beyin fonksiyonuna önemli bir katkıları olmayacaktır. Bu nedenle, "anti-iskemik" tedavi plan-

lanmasında beyaz madde hasarının da gözönünde bulundurulması gerekir. Öte yandan, beyaz maddede nöron gövdesi ve sinaps bulunmadığı için iskemik zedelenmenin patofizyolojisi muhtemelen gri maddeden farklıdır ve etkili bir tedavi geliştirilebilmesi için bu mekanizmaların aydınlatılması gerekir. Klinik önemine karşın beyaz maddede iskemik zedelenmenin mekanizmaları ancak son yıllarda ilgi çekmiştir. Bu yazıda, bu alanda literatürde bulunan az sayıdaki çalışma kısaca gözden geçirilmektedir.

Son yıllardaki birçok çalışma ile gösterildiği gibi, hipoksik-iskemik nöronal zedelenmede ve diğer birçok patolojik durumda, hücre ölümüne yol açan çeşitli mekanizmaların son ortak yolu intraselüler Ca²⁺ konsantrasyonunun artmasıdır. Beyaz madde hasarında da Ca²⁺un muhtemel rolü Stys, Ransom ve Waxman grubunun 1990 yılında başlattıkları bir dizi çalışmaya konu olmuştur (6,7,9-15). Bu çalışmalarda, sıçan optik sinirinin bir in vitro anoksi modeli kullanılmıştır. Optik sinir, oligodendrositler, astrositler ve aksonları ile santral beyaz madde hücre popülasyonunu tam olarak temsil etmesi, tamamen myelinli liflerden oluşması ve hiç sinaps içer-

* Uzman Dr., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, ANKARA

memesi ile iyi bir model oluşturmaktadır. Bütün deneylerde in vitro preparatın ortam atmosferindeki %95'lik oksijenin %95 azot ile yer değiştirilmesiyle anoksi sağlanmış, optik sinir fonksiyonu ise supramaksimal stimülasyon ile elde edilen bileşik sinir aksiyon potansiyeli (BSAP) eğrisinin altındaki alanın ölçümü ile kantitize edilmiştir. Bu alanın büyüklüğü, sinir içinde aksiyon potansiyeli ileten lif sayısı ile kabaca doğru orantılıdır (11). Anoksiyi izleyen ilk 8-10 dakika içinde BSAP tamamen kaybolmakta, 60 dakika gibi uzun bir anoksik dönem sonunda yeniden oksijen verildiğinde BSAP yaklaşık bir saat içinde platoya ulaşacak şekilde %28.5'lük bir düzelme göstermektedir (6,9). Bu kadar uzun bir anoksiden sonra bile aksonların yaklaşık üçte birinin yeniden fonksiyon kazanabilmesi beyaz maddenin iskemiye gri maddeden çok daha dayanıklı olduğunu göstermektedir. Başka bir çalışmada Yager ve ark. (17) da benzer sonuçlara ulaşmış, ve bu dayanıklılıktan kısmen beyaz maddenin düşük metabolik hızının sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir. Stys ve ark. (9) anoksik dönemde ekstraselüler ortamdan kalsiyumu tamamen uzaklaştırdıklarında optik sinirde kalıcı hasar olmadığını ve 60 dakikalık anoksi sonrasında bile yeniden oksijen verilmesi ile BSAP alanının tama yakın düzeldiğini görmüşlerdir. Kalsiyumsuz perfüzyon çözeltisi, anoksi başlangıcından itibaren ne kadar erken uygulanırsa o kadar çok düzelme olmaktadır. Reoksjenasyondan hemen önce, anoksik dönemin sonunda bile uygulandığında %55'lik düzelme sağlamaktadır (kontrol: %28.5). İlginç olarak, 60'nci dakikada reoksjenasyon ile birlikte uygulandığında ise sadece %31'lik bir düzelme görülmektedir. Yazarlar, %55'den %31'e bu ani düşüşün, muhtemelen Ca^{2+} bağımlı bir reoksjenasyon zedelenmesi nedeniyle olduğunu düşünmüşlerdir. Perfüzyon çözeltisinde Ca^{2+} bulunduğu durumlarda ise, 60 dakikalık anoksi sonunda ortaya çıkacak kalıcı hasar miktarı ortamdaki Ca^{2+} konsantrasyonu ve Ca^{2+} 'a maruz kalma süresi ile doğrudan ilişkili bulunmuştur. Bu sonuçlar, anoksinin tetiklediği bir mekanizma ile ekstraselüler Ca^{2+} 'un akson ve/veya glial hücreler içine akarak kalıcı hasara yol açan intraselüler olayları başlattığı düşüncesini desteklemiştir.

Ca^{2+} ekstraselüler ortamdan akson veya glial hücreler içine voltaja duyarlı Ca^{2+} kanallarından, transmitter bağımlı Ca^{2+} kanallarından, Na^+ veya K^+ kanallarından, veya Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi yolu ile girebilir (15). Voltaja duyarlı Ca^{2+} kanallarının muhtemel rolünü araştırmak amacıyla inorganik Ca^{2+} kanal blokerleri (Mg^{2+} , Mn^{2+} , La^{2+}) perfüzyon çözeltisine eklendiklerinde, gerek kontrol, gerekse anoksik ve reoksjenasyon dönemlerinde BSAP alanı üzerine

herhangi bir etkilerinin olmadığı görülmüştür. Yine benzer şekilde, Ca^{2+} kanal blokerleri nifedipin ve nimodipin'in, yüksek konsantrasyonlarda bile etkileri olmamış; N-tipi Ca^{2+} kanallarının potent bir blokeri olan w conotoxin'in de bir etkisi gözlenmemiştir (10). Bu bulgular anoksik beyaz madde zedelenmesinde Ca^{2+} 'un hücre içine voltaj bağımlı kanallardan başka bir yolla girdiğini göstermiştir. Optik sinirde sinaps bulunmadığı için hücre içine Ca^{2+} akışının transmitter bağımlı kanallar üzerinden olması uzak bir olasılıktır. Buna rağmen bir NMDA antagonisti olan ketamin aynı deney düzeneğinde denenmiş ve yüksek konsantrasyonlarda (1 mM) bir miktar koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur (7). Bunun üzerine yüksek konsantrasyonlarda (10 mM) glutamat ve aspartat tüm anoksik dönem boyunca (60 dakika) perfüze edilerek deneyler tekrarlanmış, ne anoksi ne de reoksjenasyon dönemlerinde BSAP alanı üzerine kötüleştirici bir etkileri görülmemiştir. Ortama 0.1 mM glisin eklenerek ve Mg^{2+} çıkarılarak NMDA reseptör aktivitesinin kolaylaştırıldığı koşullarda da glutamat anoksik hasarı artırmamıştır. Bu nedenlerle ketaminin koruyucu etkisinin anestezik etkisinden, yani membranın iyon geçirgenliğini modüle edici etkilerinden kaynaklandığı ve NMDA kanallarının optik sinirdeki anoksik hasarda bir rolü olmadığı düşünülmüştür (7).

Voltaja duyarlı Na^+ kanal blokeri olan tetrodotoxin (TTX, 1 mM) anoksiden 15 dk önce başlanıp, reoksjenasyondan 15 dakika sonraya kadar ortamda tutulduğunda reoksjenasyondan sonra BSAP alanının belirgin derecede düzeldiği (kontrol:%36 iken %81'e kadar) görülmüş, 1 mM saxitoxin ile de benzer sonuçlar alınmıştır (12). Voltaja duyarlı Na^+ kanallarının blokajı ile elde edilen bu koruyucu etkiden iki mekanizma sorumlu olabilir: 1: Na^+ kanallarının Ca^{2+} 'a 10:1 oranında geçirgen olduğu bilinmektedir. Na^+ kanallarının blokajı ile hücre içine bu yolla Ca^{2+} sızması önlenmiş olabilir. 2: Hücre içine Na^+ akışının azaltılması, Na^+ 'a bağımlı olarak hücre içine giren Ca^{2+} akışını da dolaylı olarak azaltmış olabilir. Bu iki muhtemel mekanizmayı ayırdedebilmek için Na^+ yerine kolin ve Li^+ 'un kullanıldığı 0 mM Na^+ 'lu çözeltilerle deneyler tekrar edilmiş ve her iki durumda da BSAP alanında belirgin düzelmeler görülmüştür (13). Kolin Na^+ kanallarından geçememekte, Li^+ ise Na^+ kanallarından geçebilmekte, fakat Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi ile taşınmamaktadır. Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi Na^+ 'un elektrokimyasal gradienti ile (ATP gerektirmeden) çalışan bir membran enzimidir. Na^+ 'u içeri alırken Ca^{2+} 'u buna bağlı olarak dışarı taşımakta ve intraselüler Ca^{2+} homeostazisine katkıda bulunmaktadır. Bu bulgular Ca^{2+} 'un hücre içine

Na⁺ kanallarından girmediğini, fakat hücre içine Ca²⁺ akışının Na⁺ akışına bağımlı olduğunu göstermekte ve böylece anoksideki hücre içine Ca²⁺ akışından Na⁺-Ca²⁺ değiştiricisinin sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Hücre içi [Na⁺]un artması ile Na⁺ gradienti azaldığı veya gradientin tersine döndüğü durumlarda Na⁺-Ca²⁺ değiştiricisinin tersine çalışabilmesi, yani Na⁺u dışarı atarken Ca²⁺u hücre içine taşıması mümkündür. Na⁺ kanallarının bir subpopulasyonunun kuvvetli ve devamlı depolarizasyonda inaktive olmadıkları bilinmektedir (8). Bu nedenle anoksideki şiddetli depolarizasyonda Na⁺ gradienti tersine dönmüş ve Na⁺-Ca²⁺ değiştiricisi de içeriye Ca²⁺ taşıyor olabilir. Sodyumsuz perfüzyon çözeltisi ile yapılmış anoksi deneylerinde intraselüler Na⁺ artmayacağından pompanın tersine dönmediği ve böylece bir korunma sağlanmış olduğu düşünülebilir. Gerçekten de, Na⁺-Ca²⁺ değiştiricisinin inhibitörleri olan bepridil ve benzamil ile deneyler tekrarlandığında BSAP alanında reoksijenasyon döneminde belirgin (%71 ve %69) düzelme gözlenmesi bu düşüncüyü desteklemiştir (12).

Waxman ve ark. (14) genç sıçanların premyelinize optik sinirlerinde anoksinin 60. dakikasında bile BSAP alanının tamamen korunduğu görmüşler; bunun üzerine myelinizasyonun rolünü araştırmak amacıyla deneylerini primer bir oligodendrosit anormalliğine bağlı olarak doğuştan myelinsiz olan sıçanlarda tekrarlamışlardır. Bu sıçanlarda da BSAP alanının anoksinin 60. dakikasında bile %20'nin altına düşmediği (kontrol sıçanlarda ilk 10 dakikada %0'a yakın) ve reoksijenizasyon ile %71'lik (kontrol: %31) düzelme olduğu görülmüştür. Bu bulgular, beyaz maddede erken dönemde kalıcı bir anoksik hasar oluşabilmesi için myelinli liflerin varlığının gerektiğini göstermiştir. Premyelinize liflerle myelinize liflerin anoksiye duyarlılığındaki bu farklılık ilk planda iki muhtemel mekanizma ile tartışılabilir görülmektedir: 1: Myelinize liflerdeki oligodendrositlerin anoksik hasar sonrası yıkımı ve bunu izleyen demyelinizasyon. Glutamatın oligodendrositlere çok toksik olduğu gösterilmiştir (5). Hücre kültüründeki oligodendrositler ortama dışardan katılan glutamata alıp sistin ile değiştirmekte ve ortaya çıkan sistin eksikliğini glutatyon eksikliği, bunu da serbest radikal hasarı izlemektedir. Öte yandan, yukarıda sözedildiği gibi, optik sinir anoksi modelinde glutamatın yüksek dozlara ve kolaylaştırıcı faktörlere rağmen BSAP alanı üzerine kötüleştirici bir etkisi görülmemiştir (7). Bu iki bulgu, optik sinire glutamat verildiğinde oligodendrositlerde bir miktar yıkım olduğu, ancak hücre gövdesindeki bu yıkımın 60 dakika gibi kısa bir süre içinde myelin kılıfına yansımadağı ve dolayısıyla BSAP ala-

nında bir değişiklik yapmadığı şeklinde birleştirilebilir. Benzer şekilde, oligodendrositlerde anoksinin doğrudan neden olduğu muhtemel bir yıkımın da kısa süre içinde BSAP alanında bir değişiklik yapması beklenmez ve dolayısıyla myelinize liflerin anoksiye erken dönemdeki duyarlılığı yalnızca oligodendrosit yıkımına dayandırılmaz. 2: Myelinize liflerin premyelinize liflerden önemli bir farkı da myelinize liflerde Ranvier düğümleri bulunmasıdır. Premyelinize liflerde Na⁺ kanal yoğunluğu çok düşük (2/mm²) iken Ranvier düğümlerinde görece çok yüksektir (1000/mm²) (16). Böylece anoksik depolarizasyonun hemen ardından Ranvier düğümlerinde hücre içine lokal olarak yoğun bir Na⁺ akışı olacağı ve Na⁺ gradientinin tersine döneceği, böylece Na⁺-Ca²⁺ değiştiricisinin ters yönünde çalışarak hücre içine Ca²⁺ taşıyacağı düşünülebilir.

Yukarıda özetlenen çalışmaları, beyaz maddedeki iskemik zedelenmede Na⁺-Ca²⁺ değiştiricisi ile hücre içine taşınan Ca²⁺un anahtar bir rolü olduğunu göstermiştir. İntraselüler Ca²⁺un beyaz maddenin hangi hüresel komponentlerinde arttığı çok açık olmamakla birlikte, muhtemelen Ranvier düğümü bölgesinde akson içine akan Ca²⁺ patofizyolojide etkilidir. Ca²⁺un intraselüler hedefleri ve tetiklediği intraselüler mekanizmalar da henüz bilinmemektedir. Ranvier düğümündeki intraselüler Ca²⁺ artışı paranodal akso-gial kavşak bozukluğuna veya perinodal astrositlerde bir anormalliğe yol açabileceği gibi doğrudan akson yıkımına da yol açıyor olması mümkündür. Akson yıkımı ile ortama salınabilecek büyük miktarlardaki glutamat (2) da oligodendrosit (5) ve astrosit (4) hasarına katkıda bulunabilecektir. Optik sinir modelinde bu muhtemel mekanizmalardan hangilerinin BSAP alanındaki azalmadan sorumlu olduğu, ve reoksijenasyon sonrası BSAP'ta görülen düzelmenin morfolojik ve moleküler karşılıkları da cevaplanmayı bekleyen sorular arasındadır.

KAYNAKLAR

1. Follis F, Scremin OU, Blisard KS, ve ark. Selective vulnerability of white matter during spinal cord ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 1993;13:170 -178.
2. Fonnum FJ. Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. *J Neurochem* 1984;42:1 -11.
3. Jacewicz, M., J. Tanabe, and W.A. Pulsinelli. The CBF threshold and dynamics for focal cerebral infarction in spontaneously hypertensive rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1992;12:359 -370.
4. Jensen AM, ve Chiu SY. Differential intracellular calcium responses to glutamate in type 1 and type 2 cultured astrocytes. *J Neurosci* 1991;11(6):1674 -1684.
5. Oka A, Belliveau MJ, Rosenberg PA, ve Volpe JJ. Vulnerability of oligodendroglia to glutamate: pharmacology, mechanisms, and prevention. *J Neurosci* 1993;13(4):1441 -1453.
6. Ransom BR, Stys PK, ve Waxman SG. The pathophysiology of anoxic injury in central nervous system white matter. *Stroke* 1990a;21(suppl III):52 -57.

7. Ransom BR, Waxman SG, ve Davis PK. Anoxic injury of CNS white matter: protective effect of ketamine. *Neurology* 1990b;40:1399-1403.
8. Stafstrom CE, Schwindt PC, Chubb MC, Crill WE. Properties of persistent sodium conductance and calcium conductance of layer V neurons from cat sensorimotor cortex. *J Neurophysiol* 1985;53:153 -170.
9. Stys PK, Ransom BR, Waxman SG, ve Davis PK. Role of extracellular calcium in anoxic injury of mammalian central white matter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990a;87:4212 -4216.
10. Stys PK, Ransom BR, ve Waxman SG. Effects of polyvalent cations and dihydropyridine calcium channel blockers on recovery of CNS white matter from anoxia. *Neurosci Lett* 1990b;115:293 -299.
11. Stys PK, Ransom BR, ve Waxman SG. Compound action potential of nerve recorded by suction electrode; a theoretical and experimental analysis. *Brain Research*, 1991a; 546:18 -32.
12. Stys PK, Waxman SG, ve Ransom BR. Na^+ - Ca^{2+} exchanger mediates Ca^{2+} influx during anoxia in mammalian central nervous system white matter. *Ann Neurol* 1991b;30:375 -380.
13. Stys PK, Waxman SG, ve Ransom BR. Tonic mechanisms of anoxic injury in mammalian CNS white matter: role of Na^+ channels and Na^+ - Ca^{2+} exchanger. *J Neurosci* 1992;12(2):430- 439.
14. Waxman SG, Davis PK, Black JA, ve Ransom BR. Anoxic injury of mammalian central white matter: decreased susceptibility in myelin-deficient optic nerve. *Ann Neurol* 1990;28:335-340.
15. Waxman SG, Ransom BR, ve Stys PK. Non-synaptic mechanisms of Ca^{2+} -mediated injury in CNS white matter. *Trends Neurosci* 1991;14(10):461 -468.
16. Waxman SG, Ritchie JM. Organization of ion channels in the myelinated nerve fiber. *Science* 1985;228:1502-1507.
17. Yager JY, Brucklacher RM, Mijscce DJ, ve Vannucci RC. Cerebral oxidative metabolism during hypothermia and circulatory arrest in newborn dogs. *Pediatric Research* 1992;32(5):547 -552.