

**SVEUČILIŠTE U  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK**

**MOLEKULARNI MEHANIZMI STARENJA MOZGA**

**MOLECULAR MECHANISMS OF BRAIN AGEING**

**SEMINARSKI RAD**

Irena Slišković

Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: prof. dr. sc. Dubravka Hranilović

Zagreb, 2019.

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>2</b>
<b>2. STARENJE KAO PROCES</b> .....	<b>3</b>
<b>3. STARENJE MOZGA</b> .....	<b>4</b>
3.1 Kognitivne i funkcionalne promjene.....	4
3.2 Strukturne promjene .....	6
3.3 Promjene u staničnoj morfologiji .....	8
<b>4. MOLEKULARNI MEHANIZMI STARENJA MOZGA</b> .....	<b>11</b>
4.1 Metaboličke promjene.....	12
4.1.1 Metabolizam glukoze i inzulina u mozgu .....	12
4.1.2 Uloga IGF-1 i Klotho receptora .....	15
4.1.3 Disfunkcija mitohondrija i oksidativni stres .....	16
4.2 Uloga neurotrofnih faktora.....	20
4.3 Uloga neurotransmitera .....	23
4.3.1 Serotonin .....	23
4.3.2 Dopamin .....	24
4.3.3 Ostali neurotransmiteri .....	26
4.5 Disregulacija kalcija i elektrofiziološka promjena neurona .....	28
4.6 Kontrola ekspresije gena .....	31
4.6.1 Utjecaj mikro RNA .....	31
4.6.2 Kako mi možemo utjecati na starenje? .....	33
<b>5. LITERATURA</b> .....	<b>34</b>
<b>6.a SAŽETAK</b> .....	<b>37</b>
<b>6.b SUMMARY</b> .....	<b>38</b>

## 1. UVOD

Starenje je neizbježan proces koji pogađa sve organske sustave organizma, neke u većoj, a neke u manjoj mjeri. Mozak, kao glavna komponenta nadzornog, živčanog sustava, također je pod utjecajem starenja. Promjene u mozgu povezane sa starošću dovode do negativnih posljedica kojih se ljudi najviše plaše tijekom starenja, a to su gubitak pamćenja, osobnosti, sposobnosti rasuđivanja i prisebnosti. Upravo je zato zanimljivo istraživati koje su sve promjene uzrok tih vidljivih posljedica. Opisujući prvotno promjene u samoj strukturi organa, a potom stanica i na kraju molekula, može se doći do zaključka koji su sve mehanizmi, signalni putevi i genske ekspresije promjenjeni tijekom starenja. Iz tih spoznaja može se doći do načina ublažavanja simptoma starenja.

## 2. STARENJE KAO PROCES

Starenje je biološki proces postupnih i spontanijih promjena u organizmu obilježenih općim i progresivnim pogoršavanjem fizioloških funkcija, propadanjem tkiva i organa, kao i smanjenom sposobnošću odgovora organizma na okolišne promjene, što dovodi do povećane osjetljivosti na različite bolesti (Troen, 2003), te konačno do prestanka životnih funkcija. S druge strane, senescencija je stanična sudbina koja uključuje ireverzibilni prestanak dioba, rezistenciju na apoptozu i promjenu funkcioniranja stanica (Borodkina, i sur., 2018). U takvim stanicama zabilježen je porast oštećenja DNA, pri čemu dolazi do akumulacije mutacija koje dovode do povećane razine oštećenih proteina i smanjenja izmjene proteina. U stanicama koje se dijele dolazi do skraćivanja telomera (Kipling, 2001), a u svim je stanicama prisutno opadanje funkcije mitohondrija pri čemu dolazi do smanjene proizvodnje energije i nastanka sve više reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) koji izazivaju oštećenja unutar stanica (Korolchuk, i sur., 2017).

Kao odgovor na već spomenuti stanični stres dolazi do promjene ekspresije gena i posljedično do nastanka proinflamatornog, tkivno razarajućeg sekretornog fenotipa povezanog sa senescencijom (SASP, eng. *senescence-associated secretory phenotype*). On je okarakteriziran lučenjem različitih molekula poput citokina, kemokina, proteaza, faktora rasta i drugih koji utječu na okolne stanice (Borodkina, i sur., 2018) i aktiviraju imunološki sustav koji u normalnim uvjetima uklanja senescentne stanice (Lozano-Torres, i sur., 2019).

Senescencija je bitna u remodeliranju, obnavljaju tkiva i embrionalnom razvoju (Borodkina, i sur., 2018), a neefikasno uklanjanje senescentnih stanica se događa tijekom konstantnog oštećivanja tkiva ili starenjem organizma. Akumulacijom senescentnih stanica u tkivu prvotno nastaje lokalna upala, a potom starenje i propadanje tkiva. To čini karakteristike patofiziologije mnogih bolesti povezanih sa starenjem. Neke od njih su metabolički poremećaji, osteoporoza, plućne i jetrene fibroze te poremećaji srca, bubrega i mozga (Lozano-Torres, i sur., 2019).

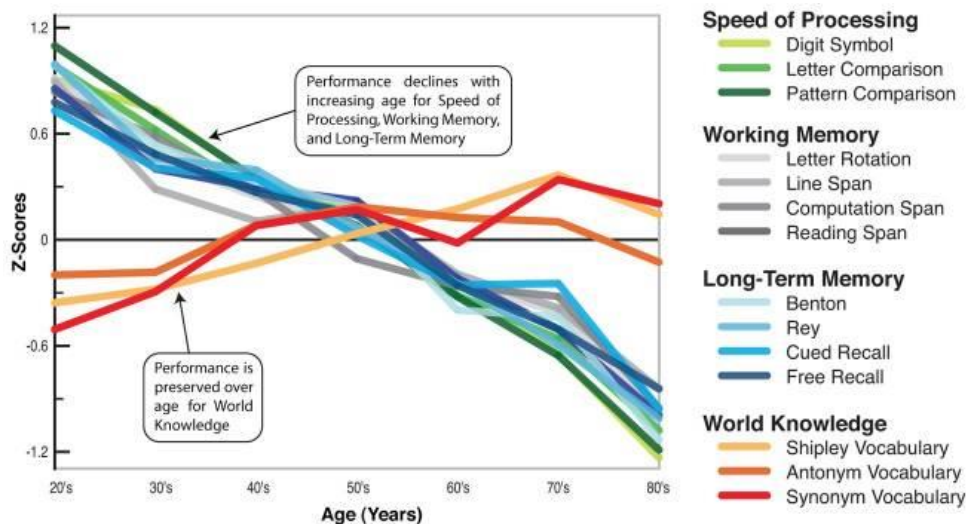
### 3. STARENJE MOZGA

Mozak, kao jedan od glavnih organa ljudskog organizma koji sve nadzire zajedno s endokrinim sustavom, također je podložan starenju. Promjene koje se događaju na molekularnoj i staničnoj razini rezultiraju kako vidljivim strukturnim promjenama, tako i promjenama u kognitivnim sposobnostima, ponašanju i funkcioniraju starijih osoba. Pri tom treba uočiti da je „normalno starenje mozga“ termin koji se koristi da bi se opisalo starenje središnjeg živčanog sustava koje nije povezano s klinički dijagnosticiranim neurodegenerativnim ili psihijatrijskim poremećajima. Doduše, molekularne promjene koje se događaju tijekom normalnog starenja mozga značajno se preklapaju s onim uočenim u mnogim bolestima (Smiljanić, i sur., 2017).

#### 3.1 Kognitivne i funkcionalne promjene

Starenje ima raznolik učinak na različite aspekte neuroloških funkcija (Christensen, 2001). Dolazi do opadanja fluidne sposobnosti tj. brzine i mogućnosti procesiranja informacija kao i rješavanja problema (Murman, 2015). Pogoršavaju se prostorna orijentiranost i senzorna percepcija te se smanjuje inhibitorna funkcija, tj. sposobnost kontroliranja automatskih odgovora (Park, i sur., 2009). To se očituje kroz smanjenu mogućnost obraćanja pozornosti i umanjenu sposobnost prebacivanja s jednog zadatka na drugi (eng. „*task switching*“) (Bagarinao, i sur., 2019).

Također je primijećeno smanjenje kapaciteta radnog i dugoročnog pamćenja kod starijih pojedinaca što se može vidjeti na Slici 1. S druge strane kristalizirane kognitivne sposobnosti, koje su rezultat stečenog znanja ili vještine poput znanja o svijetu, općeg znanja, vokabulara, shvaćanja poslovice, implicitnog pamćenja i profesionalne stručnosti, ne pokazuju pogoršanje tijekom starenja. Naprotiv, dolazi do primjetnog poboljšanja tijekom života. (Park, i sur., 2002; Glorioso, i sur., 2011).



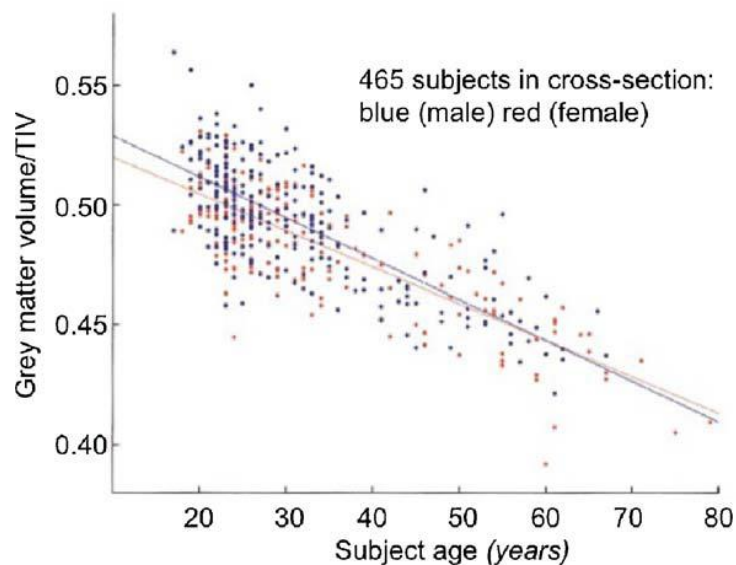
*Slika 1. Podaci preuzeti od Park, i sur., (2002) pokazuju mjerenja brzine procesiranja, radnog pamćenja, dugoročnog pamćenja i općeg znanja. Gotovo sva mjerenja kognitivnih funkcija pokazuju smanjenje sa starenjem, osim općeg znanja koje čak pokazuje poboljšanje.*

Dolazi do konstantnog pogoršavanja različitih motoričkih funkcija tijekom starenja. Među njima treba istaknuti reakcijsko vrijeme, brzinu pokreta, koordinaciju ruku i nogu (Era, i sur., 1986). Egzekutivne kognitivne funkcije poput donošenja odluka, rješavanja problema i planiranja također opadaju. Dolazi do pada i u formiranju koncepata, apstraktnom razmišljanju i mentalnoj fleksibilnosti, pogotovo u osoba starijih od 70 godina. Što se tiče govora i jezika, to većinom ostaje nepromijenjeno tijekom starenja. Promjene koje se javljaju su: teže razumijevanje govora u uvjetima pozadinske buke, smanjenje verbalne fluentnosti kao i prisjećanje riječi (Murman, 2015).

Meta-analize pokazuju promjene u raspoloženju i percipiranju emocija. Dajući subjektima da proučavaju izraze lica, tona glasa i pokrete tijela, uočeno je da starije osobe teže prepoznaju neke od osnovnih emocija poput ljutnje i tuge u usporedbi s osobama mlađe životne dobi. Druge emocije, poput sreće i iznenađenja, prepoznaju jednako dobro, dok znatno bolje prepoznaju gađenje (Ruffman, i sur., 2008). Generalno govoreći, stariji ljudi brže se oporavljaju od negativnih događaja i manje su skloni tome da se uključuju u destruktivne interpersonalne interakcije poput vikanja tijekom konflikta (Glorioso, i sur., 2011).

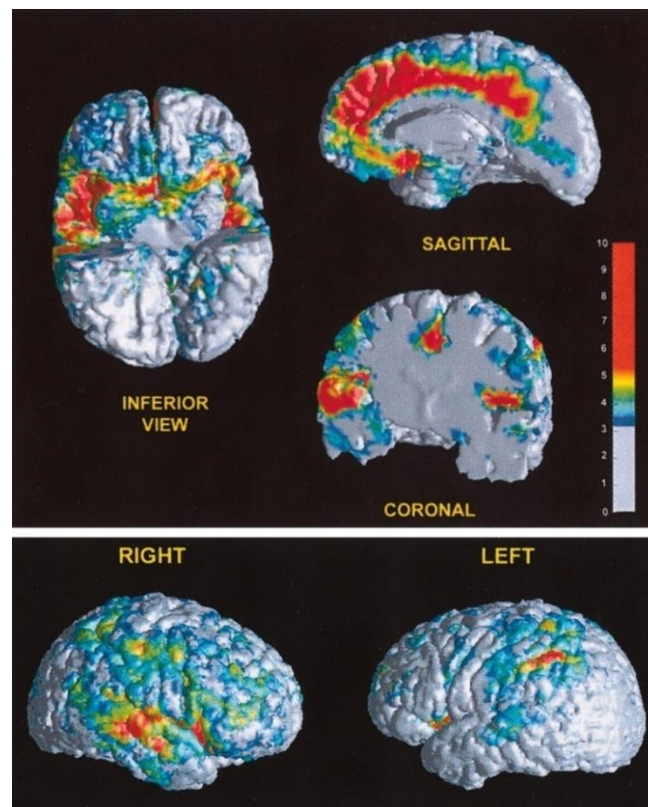
### 3.2 Strukturne promjene

Mozak se dijeli na sivu i bijelu tvar. Siva tvar, koja obuhvaća koru i supkortikalne jezgre *cerebruma* i *cerebelluma*, sastoji se pretežito od tijela stanica i dendrita (Murman, 2015). Longitudinalna i poprečna istraživanja MRI ukazala su na značajni gubitak volumena sive tvari brzinom oko 0,1-0,2 % po godini, što se može vidjeti na Slici 2 (Smiljanić, i sur., 2017; Glorioso, i sur., 2011). Prateći 92 odrasle osobe koje ne pate od demencije u periodu od dvije i četiri godine, Resnick, i sur., (2003) su primijetili smanjenje u ukupnom volumenu sive tvari u svakoj točki mjerenja. Ove promjene su bile mjesno specifične pri čemu se najznačajnije smanjenje pojavilo u raznim područjima kore čeonog režnja (Slika 3.) Mjesna specifičnost tih promjena konzistentna je s kognitivnim promjenama povezanim sa starošću jer robusne promjene u čeonom području utječu na kognitivno procesiranje i radno pamćenje (Glorioso, i sur., 2011). Propadanje sljepoočnog režnja zahvaća i medijalni sljepoočni režanj koji obuhvaća hipokampus, područje mozga u kojem dolazi do formiranja novih neurona (Murman, 2015; Takei, 2019).



**Slika 2.** . Linearni gubitak volumena sive tvari kroz životnu dob preuzeto iz Good, i dr., (2001). Na y-osi se nalaze volumeni sive tvari koji su prikazani kao postotak ukupnog intrakranijalnog volumena (TIV) da bi se ispravile razlike u veličini glave među pojedincima. Na x-osi naznačena je dob ispitanika. Ispitano je 465 osoba, od kojih su plavom bojom označeni muškarci, a crvenom žene. Napravljena je linearna regresijska linija za muškarce i žene. Evidentan je gubitak volumena sive tvari od oko 20% u rasponu od 20 do 80 godina. Nema velike razlike između muškaraca i žena.

Rapidan gubitak volumena mozga u području čeonog i sljepoočnog režnja može dovesti do poteškoća u prepoznavanju emocija kod starijih osoba (Ruffman, i sur., 2008). Iako amigdala ne propada jednako brzo kao čeonni režanj, mnogobrojne studije pokazale su da postoji linearna redukcija amigdale sa starošću (Allen, i sur., 2005) što se može povezati s problemom starijih osoba da dobro prepoznaju facijalne izraze ljutnje i tuge (Ruffman, i sur., 2008).



**Slika 3.** Trodimenzionalan prikaz značajnog gubitka tkiva u specifičnim regijama sive tvari dobiveni longitudinalnom studijom (Resnick, i sur., 2003). Na dnu se prikazuje desna i lijeva hemisfera mozga gdje je istaknut gubitak sive tvari u nižim prednjim, inzularnim i posteriornim čeonim regijama (desno > lijevo) i nižim parijetalnim (lijevo > desno). Gornji dio prikazuje gubitak volumena sive tvari u inzuli (desno > lijevo; pogled odozdo i koronalni pogled), orbitalni frontalni korteks (pogled odozdo i sagitalni pogled) i cingulatni korteks (sagitalni i koronalni pogled). U pogledu odozdo, anteriorni čeonni režanj odrezan je da bi se pokazala površina korteksa inzule.

Bijela je tvar regija mozga u kojoj dominiraju mijelinizirani aksoni koji povezuju strukture sive tvari. Kao i kod sive tvari, dolazi do gubitka volumena bijele tvari i povećavanja moždanih komora (Resnick, i sur., 2003). Najveći gubitak volumena bijele tvari vidi se u čeonom režnju i u većini vlakana poput strukture *corpus callosum*. Osim gubitka volumena bijele tvari tijekom starenja, dolazi i do smanjenja integriteta bijele tvari (Murman, 2015).

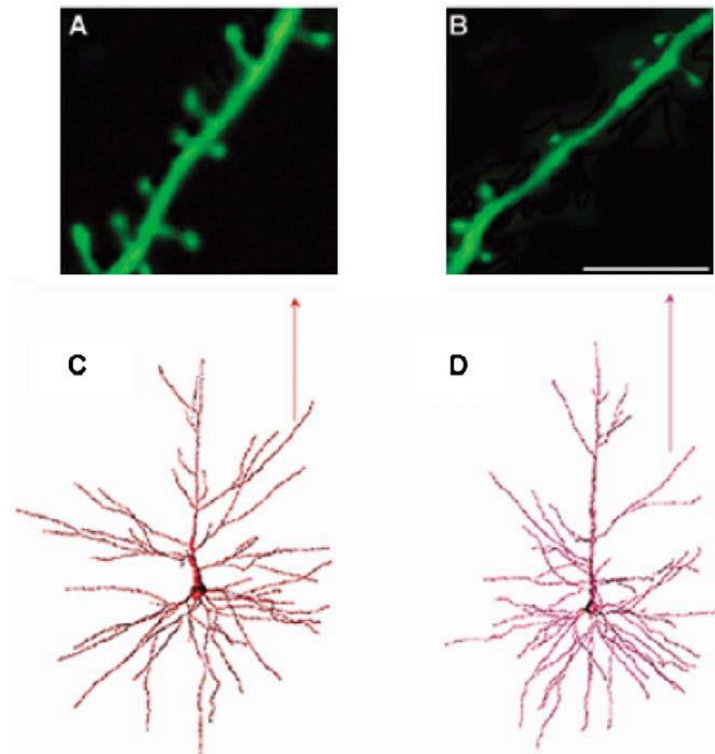


### 3.3 Promjene u staničnoj morfologiji

Dugo se pretpostavljalo da je smanjenje volumena sive tvari uzrokovano gubitkom neurona, ali s poboljšanjem tehnika brojanja neurona pokazalo se da to nije točno. Gubitak neurona limitiran je na ograničene regije živčanog sustava i ne čini veliki udio kod normalnog starenja (Pannese, 2011). Kortikalni gubitak neurona najznačajniji je u dorzalnolateralnom prefrontalnom korteksu i hipokampusu, a veći se gubitak može uočiti u strukturi *substantia nigra* i *cerebellumu* (Morrison, i sur., 1997). Puno veći gubitak neurona zabilježen je u neurodegenerativnim bolestima povezanim sa starenjem, poput Alzheimerove i Parkinsonove bolesti (Murman, 2015).

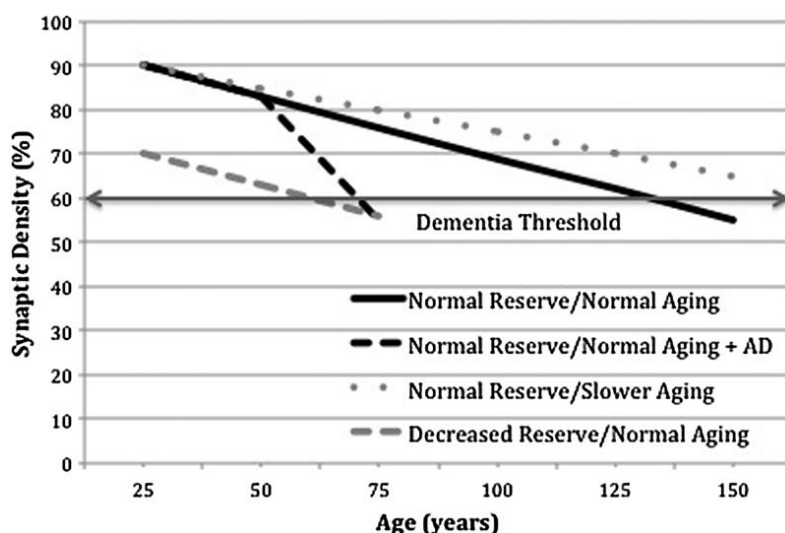
Tijekom normalnog starenja, značajan broj neurona doživi promjenu u strukturi, ali ne odumru. To većinom uključuje gubitak broja i duljine dendrita, dendritnih izdanaka i aksona (Pannese, 2011) što se vidi na Slici 4. Dolazi do smanjenja kompaktnosti mijelinske ovojnice aksona koja u normalnim uvjetima povećava brzinu i točnost neurotransmisije te obnaša mnoge energetske, transportne i neurotrofne funkcije. Rezultati longitudinalnih studija pokazale su da su regije koje se rano mijeliniziraju više otporne na efekte starenja u usporedbi s kasnije mijelinizirajućim vlaknima (Raz, i sur., 2018).

Smanjenje broja i veličine dendrita i aksona izravno utječe na gubitak sinapsi što je jedna od glavnih karakteristika starog mozga (Pannese, 2011). Rezultati istraživanja demencije (Terry, i sur., 1991) sugeriraju da se simptomatska demencija pojavljuje kada se izgubi 40 % ili više neokortikalnih sinapsi. Koristeći brzinu promjene kortikalnih sinapsi koja je uočena tijekom normalnog starenja i 40% gubitka sinapsi kao granicu, Terry i Katzman predvidjeli su da bi se senilnost, tj. demencija uzrokovana starenjem, pojavila približno oko 130 godine života uz uvjet da osoba ne boluje od neurodegenerativnih bolesti (Slika 5.) (Murman, 2015).



**Slika 4.** Gubitak gustoće dendritnih izdanaka povezanih sa starošću (A-D) preuzeto od Dickstein, i sur., (2007). C i D je originalno prilagođeno od Duan, i dr., (2003). Prikazane su reprezentativne slike gustoće dendritnih izdanaka neokortikalnih piramidalnih neurona mladih i starih majmuna rezus makaki (*Macaca mulatta*). Slike A i B, dobivene konfokalnim laserskim skenirajućim mikroskopom, prikazuju apikalne dendritne segmente mladog (10-12 godina) (A) i starog (24-25 godina) (B) rezus makaki majmuna. Može se uočiti povećana gustoća izdanaka dendrita u mladim majmunima u usporedbi sa starim. Slike C i D prikazuju neuron obojan bojom Lucifer Yellow i rekonstruirani u tri dimenzije koristeći software NeuroZoom i NeuroGL. Neuron na slici C je od mladog majmuna, a na slici D od starije životinje. Strelica prikazuje koji su segmenti dendrita analizirani na slikama A i B.

Osim strukturnih promjena sinapsi poput povećanja ili smanjenja sinaptičke pukotine, retrakcije izdanaka, grana dendrita i aksona, prisutna je i funkcionalna promjena plastičnosti sinapsi koja se očituje u promjenama otpuštenih neurotransmitera i gustoći receptora (Smiljanić, i sur., 2017). Plastičnost je kapacitet neurona da se funkcionalno i strukturno modificiraju na unutarnje i vanjske podražaje (von Bernhardi, i sur., 2017). Ona je ključna za adaptaciju na promjenjiv okoliš, za stvaranje pamćenja i za učenje. Starenjem dolazi do smanjivanja plastičnosti neurona što se najviše vidi kroz smanjivanje broja sinapsi i modifikacijama u morfologiji sinapsi, i to ponajviše u sintezi, gustoći receptora i veznih mjesta za nekoliko neurotransmitera uključujući dopamin, serotonin, GABA-u i glutamat (Smiljanić, i sur., 2017).



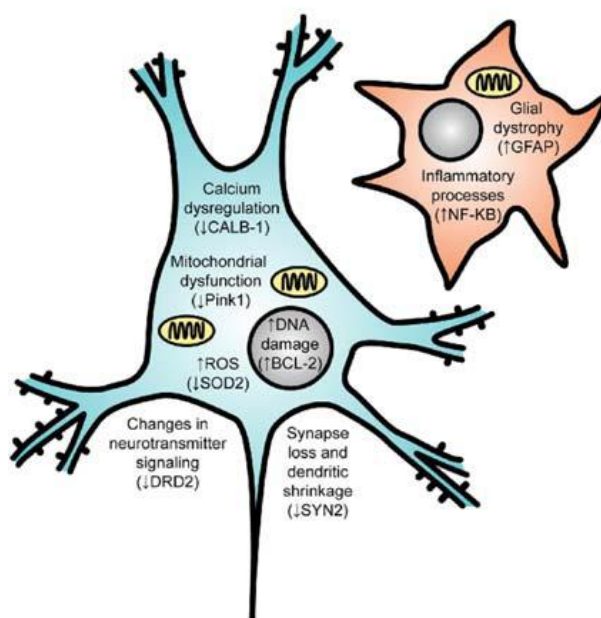
**Slika 5.** Promjene u gustoći sinapsi u dubokoj starosti u 4 grupe preuzeto iz Murman, (2015) napravljenim prema podacima i hipotezi R.D Terry i R. Katzman. Kada gustoća sinapsi padne na 60% maksimalne gustoće, mogu se očekivati simptomi demencije. Netko sa normalnim rezervama i normalnom brzinom gubitka sinapsi s godinama može očekivati da će prijeći tu granicu s oko 130 godina. Intervencije koje bi usporile brzinu gubitka sinapsi (usporeno starenje) očuvale bi gustoću sinapsi čak i iza dobi od 150 godina. No, ako netko s 25 godina ima 30% manje sinaptičke gustoće nego zdrava osoba, počeo bi razvijati simptome demencije puno ranije (čak oko 62 godine) kao što bi razvila i osoba s normalnom gustoćom, ali s neurodegenerativnom bolesti poput Alzheimerove bolesti koja ubrzava gubitak sinapsi.

Promjene u funkciji i strukturi sinapsi, kao i promjene u neuralnim mrežama glavni su uzrok kognitivnih promjena koji se događaju tijekom starenja. Uočen je gubitak od 46% jednog podtipa dendritnih projekcija (tzv. tanke projekcije, eng. „*thin spines*“) supkortikalnih neurona u dorzolateralnom prefrontalnom korteksu. Plastičnost tih neurona bitna je za kognitivnu fleksibilnost, radnu memoriju i egzekutivne kognitivne funkcije koje sve sa starenjem opadaju. S druge strane, dendritne projekcije u obliku gljiva (eng. „*mushroom spine*“) dorzolateralnog prefrontalnog korteksa, koje su ključne za održavanje kristaliziranih kognitivnih sposobnosti, relativno su stabilne, zbog čega ne dolazi do pogoršanja tih funkcija (Morrison, i sur., 2012).

## 4. MOLEKULARNI MEHANIZMI STARENJA MOZGA

Starenjem dolazi do opadanja kognitivnih sposobnosti i smanjene mogućnosti jednako dobrog funkcioniranja pojedinaca kao u ranijoj životnoj dob. Osim strukturnih i morfoloških izmjena u mozgu, dolazi i do mnogobrojnih unutarstaničnih promjena.

Neuralno starenje posljedica je smanjene neurogeneze i sinaptičke plastičnosti koja se javlja zbog promjenjenog neurokemijskog i signalizirajućeg puta preko modulatora neurotransmitera i neurotrofina. Dolazi do disfunkcije mitohondrija, povećanog odgovora na stres i akumulacije reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) čime se nakupljaju disfunkcionalni proteini, reducirani su antioksidansi i smanjuje se broj enzima popravka DNA. Također se smanjuje imunski odgovor, te se pojavljuje disregulacija kalcijevih iona (Slika 6.). Neki od ovih procesa specifični su za određene tipove stanica. Na molekularnoj je razini sve to pod utjecajem promjena ekspresije širokog spektra gena uključenih u te procese (Tripathi, 2012) (Glorioso, i sur., 2011).



**Slika 6.** Normalne molekularne promjene povezane sa starošću u neuronu (plava stanica) i glija stanici (crvena) i navodni modulatori i medijatori preuzeti od Glorioso, i sur., (2011). Stanice su prikazane kao tipični neuron i glija stanica zbog jednostavnosti. Na slici nisu prikazane promjene u bijeloj tvari mozga i integritetu krvnih žila. Mnogi neuralni fenotipovi se događaju i u glija stanicama poput oštećenja DNA, ali nisu prikazani zbog jasnoće.

## 4.1 Metaboličke promjene

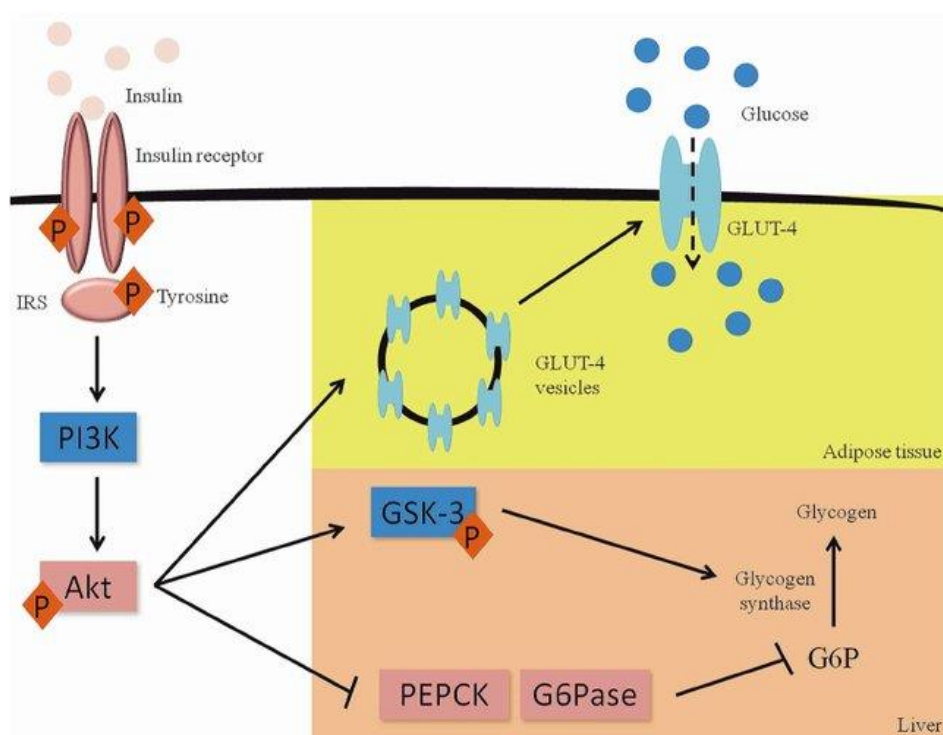
Mozak je organ koji čini svega 2% ukupne tjelesne mase, ali zato koristi čak četvrtinu ukupne količine glukoze koje tijelo dobije. S obzirom da se većina glukoze koristi za proizvodnju energije kroz glikolizu i oksidativnu fosforilaciju, mozak, uz srce možemo smatrati glavnim potrošačem energije u tijelu (Smiljanić, i sur., 2017). Starenjem dolazi do narušavanja stanične bioenergetske funkcije i povećanog oksidativnog stresa koji potiče mnoge od procesa koji karakteriziraju starenje. Upravo zato jedan od najvažnijih staničnih organela koji doprinosi starenju je mitohondrij. Disfunkcijom respiratornog lanca i nastajanjem reaktivnih kisikovih spojeva dolazi do oštećenja mitohondrijske DNA, proteina i lipida koji dovode do smanjenja proizvodnje energije (Paradies, i sur., 2011).

### 4.1.1 Metabolizam glukoze i inzulina u mozgu

Neuralni metabolizam glukoze je kompleksan. Uključuje mehanizme koji kontroliraju unos glukoze u mozgu, poput inzulina i inzulinske signalizirajućeg puta. Glukoza se krvlju prenosi do mozga. U mozgu, astrociti obavijaju endotel krvnih žila i tu dolazi do pasivnog prijenosa glukoze iz endotela u astrocite olakšanom difuzijom preko GLUT1 glukoznog transportera. U neurone se glukoza uglavnom prenosi preko dva transportera: GLUT3 koji osigurava bazalni unos glukoze i GLUT4 čija se aktivnost povećava u prisutnosti inzulina. Glukoza potom odlazi u glikolizu iz čega nastaje piruvat, koji ulazi u Krebsov ciklus i u mitohondriju se generira ATP kroz oksidativnu fosforilaciju (Lehninger, i sur., 2008; Smiljanić, i sur., 2017).

Studije na životinjama ukazuju na smanjeni neuralni unos glukoze sa starenjem. To nastaje zbog smanjenog broja neuralnih GLUT prenositelja. Dodatno, dolazi do umanjenja kapaciteta mitohondrija da proizvodi energiju što dodatno smanjuje unos glukoze u stanicu. Time dolazi do smanjivanja aktivnosti elektronskog transportnog lanca i povećanja nastanka oksidansa (Yin, i sur., 2016).

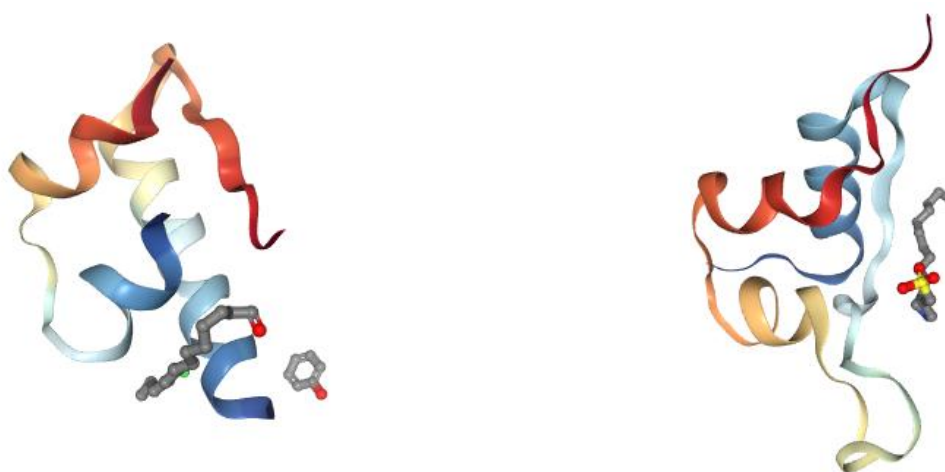
Inzulin je anabolički peptidni hormon beta stanica gušterače koji služi za regulaciju šećera u krvi i metabolizma ugljikohidrata i masti u tijelu. Kada je razina šećera u krvi visoka, inzulin potiče unos glukoze iz krvi u stanice interakcijom s inzulinskim receptorima u ciljnim stanicama (Guyton, 1994). U mozgu, vezanjem inzulina na receptor dolazi do autofosforilacije receptora koji pripada obitelji tirozin kinaza. Inzulinski receptori široko su rasprostranjeni u mozgu, s najvećom koncentracijom u hipotalamusu, hipokampusu, amigdali, cerebralnom korteksu, *cerebellumu* i olfaktornom mjehuriću. Aktivirani inzulinski receptor fosforilira supstrat inzulinskog receptora (IRS) koji se time aktivira i potiče signalne puteve preko 3-fosfoinozitola (PI3) i protein kinaze B (Akt) (Baranowska-Bik, i sur., 2017). U konačnici dolazi do povećanog unosa glukoze zbog translokacije GLUT4 prenositelja u staničnu membranu (Slika 7.) (Lehninger, i sur., 2008; Li, i sur., 2007).



**Slika 7.** Inzulin signalizirajući put preuzet od Barbosa, i sur., (2014) . Put počinje vezanjem inzulina na inzulinski receptor. Tirozini IRS 1/2 se fosforiraju što dovodi do silazne aktivacije PI3K i protein kinaze B (Akt). U bijelom adipoznom tkivu, mišićima i mozgu Akt stimulira translokaciju GLUT4 transpotera u staničnu membranu što omogućava veći unos glukoze u stanicu. U jetri, inzulin stimulira sintezu glikogena kroz fosforilaciju GSK-3 i defosforilaciju glikogen sintetaze. Također, inzulin inhibira glukoneogenezu reducirajući enzime glukoneogeneze.

Inzulin (Slika 8.a) ima glavnu ulogu u reguliranju i održavanju metaboličke i kognitivne funkcije mozga. Signaliziranje inzulinom regulira funkciju mitohondrija i njegovo narušavanje dovodi do abnormalnosti u funkciji mitohondrija i biogenezi (Yin, i sur., 2016). Jedna od glavnih metaboličkih karakteristika ljudske dugovječnosti su očuvana osjetljivost na inzulin, niske razine inzulina i smanjene razine inzulina i IGF-1 signalnih puteva (IIS) (Smiljanić, i sur., 2017). Narušavanjem osjetljivosti na inzulin prekomjernim kalorijskim unosom, povećava se rizik od neurodegenerativnih bolesti i moždanog udara zbog narušavanja integriteta krvno-moždane barijere (Stranahan, i sur., 2012).

Mutacije u inzulin signalizirajućim genima mogu produžiti životni vijek vrsta *C. elegans* i *Drosophila* do šest puta. Primjer za to je *knock-out* *daf-2* u *C. elegans*, ortologu ljudskog IGF-1 receptora, koji malom podskupu neurona uzgojenih u kulturi značajno produžuje život. Selektirani polimorfizmi gena za IGF-1 receptor (IGF-1R), protein kinazu B (Akt-1) i FOXO1A kojega aktivira Akt i koji negativno regulira adipogenezu, su povezani s produženjem života kod ljudi (Bonafè, i sur., 2009) No, poveznica između ovih polimorfizama i starenja mozga kod ljudi ili viših modelnih organizama nije istražena (Glorioso, i sur., 2011).



a)

b)

**Slika 8.** Strukturni prikaz molekule (a) inzulina (Whittingham, i sur., 1997) i (b) IGF-1 (Brzozowski, i sur., 2002) preuzetog s Protein Data Bank.

#### 4.1.2 Uloga IGF-1 i Klotho receptora

IGF-1 (Slika 8.b) (somatomedin C, eng. *insulin-like growth factor*) je protein slične aminokiselinske sekvence kao inzulin. Luči se u jetri kao odgovor na lučenje hormona rasta i ima važnu ulogu tijekom rasta u djetinjstvu te je odgovoran za anabolički efekt kod odraslih (Guyton, 1994). Najviše se prizvodi tijekom puberteta, a starenjem dolazi do pada u razinama tog proteina u krvi. IGF-1 se veže na minimalno dva tirozin kinazna membranska receptora: IGF-1 receptor (IGF1R) koji inicira unutarstanično signaliziranje preko aktiviranja protein kinaze B i inzulinski receptor. IGF-1 receptori se nalaze u različitim dijelovima ljudskog mozga, s najvećom koncentracijom u hipokampusu, amigdali i parahipokampalnom girusu. Aktivacija ovih receptora povezana je s različitim funkcijama, uključujući rast i razvoj mozga, normalnu fiziologiju i metabolizam mozga, regulaciju održavanja i popravka neuralnih stanica tijekom starenja ili ozljede. Što se tiče metaboličkog učinka IGF-1, uočena je neuroprotektivna uloga. Najbitniji mehanizmi preko kojih se to događa su: stimuliranje otpuštanja acetilkolina, aktivacija N-metil-D-aspartata (NMDA) receptora i stimulacija iskorištavanja glukoze (van Dam, i sur., 2004). IGF-1 i inzulin su neurotrofni i promoviraju preživljavanje neurona inhibirajući apoptozu. Dakle tu postoji dihotomija, između neuroprotektivnog efekta inzulina i IGF-1 te njihovog suprotnog učinka na duljinu života (Tripathi, 2012).

Klotho (KL) je prvi identificirani gen dugovječnosti otkriven analizirajući soj miševa sa smanjenim životnim vijekom koji je pokazivao rane znakove bolesti povezanih sa starenjem poput tanke kože, neplodnosti, gubitka mase, arterioskleroze, osteoporoze i inzulinske rezistencije. Kasnije se pokazalo da je taj soj miševa imao ubranu neuralnu patologiju povezanu sa starenjem, poput pojavljivanja kognitivnog pogoršanja. Prekomjerna ekspresija tog gena je pokazala produljenje životnog vijeka za oko 30 %. Ekspimiran je u distalnoj cijevi nefrona bubrega, neuronima i koroidnom spletu mozga. Kodira za cirkulirajući hormon koji se veže na IGF-1 receptor i utišava unutarstanično inzulinsko signaliziranje (Glorioso, i sur., 2011). Kod miševa, ekspresija KL proteina počinje *in utero*, dramatično se povećava nakon rođenja i tijekom odrasle dobi i počinje opadati s uznapredovalom starošću (Vo, i sur., 2017/2018).

Kod ljudi je uočeno da polimorfna varijanta G395A Klotho gena, koja potiče vezanje transkripcijskog faktora na KL promotor, utječe na kognitivne sposobnosti ljudi iznad 60



godina tako da smanjuje pogoršanje kognitivnih sposobnosti, što se vidi kroz značajno veći IQ i bolje rezultate mini mentalnog testa za otkrivanje demencije (MMSE, eng. *Mini-Mental State Exam*). Drugi polimorfizam koji utječe na zdravlje mozga je KL-VS koji se sastoji od šest nukleotidnih promjena od kojih dva uzrokuju supstituciju dviju aminokiselina u drugom eksonu. Pokazano je da heterozigot KL-VS uzrokuje dugovječnost i kardiovaskularno zdravlje. Jedne studije pokazuju da ti heterozigoti pokazuju više kognitivne funkcije kroz život, dok druge pokazuju suprotne rezultate: da uzrokuje povećanu demenciju kod muškaraca i gore simptome shizofrenije. Takvi dokazi samo ukazuju na to da pozitivni efekt KL na kogniciju je ograničen s vremenom, spolom ili drugim faktorima koji se trebaju još dodatno istražiti (Vo, i sur., 2017/2018).

#### **4.1.3 Disfunkcija mitohondrija i oksidativni stres**

Smatra se da mitohondriji igraju ključnu ulogu u procesu starenja jer su glavni izvor reaktivnih kisikovih vrsta (ROS). Aproksimativno, 0,2-2% kisika koji se unese u stanicu prevede se u mitohondriju u reaktivne kisikove spojeve, najviše kroz produkciju superoksidnog aniona ( $O_2^{\bullet-}$ ) (Boverris, i sur., 1973). Do stvaranja radikala dolazi najviše u kompleksu I (NADH dehidrogenaza) i kompleksu III (ubikvinon-citokrom c oksidoreduktaza) mitohondrijskog elektronskog transportnog lanca (Paradies, i sur., 2011). Prema mitohondrijskoj teoriji starenja, ROS proizveden u mitohondrijskom respiratornom lancu napada mnoge mitohondrijske membranske konstituente uključujući lipide, proteine i mitohondrijsku DNA (mtDNA). Progresivno oksidativno oštećenje mtDNA starenjem dovodi do mutacija mtDNA koji onda stvaraju defektne proteine, a oni onda dovode do stvaranja još više ROS-a. Pretpostavlja se da taj začarani krug dovodi do rastućeg propadanja u staničnoj i tkivnoj funkciji kao rezultat smanjenja dovođenja energije i povećane osjetljivosti na apoptozu (Linnane, i sur., 1989).

Obranu od nastalih radikala preuzimaju antioksidacijski enzimi. U mitohondrijskom matriksu nalazi se mangan superoksid dismutaza (Mn-SOD) koja nastali superoksidni anion pretvara u vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ), dok se u međumembranskom prostoru nalazi bakar-cink superoksid permutaza (Cu-Zn-SOD) koji vrši istu reakciju. Nastali vodikov peroksid može difundirati u citosol što je značajno jer superoksid ne može difundirati kroz membranu, osim u protoniranom obliku. Ako  $H_2O_2$  ne ode van mitohondrija, glutation peroksidaza (Gpx) i

peroksiredoksin (Prx III) će ga reducirati do vode.

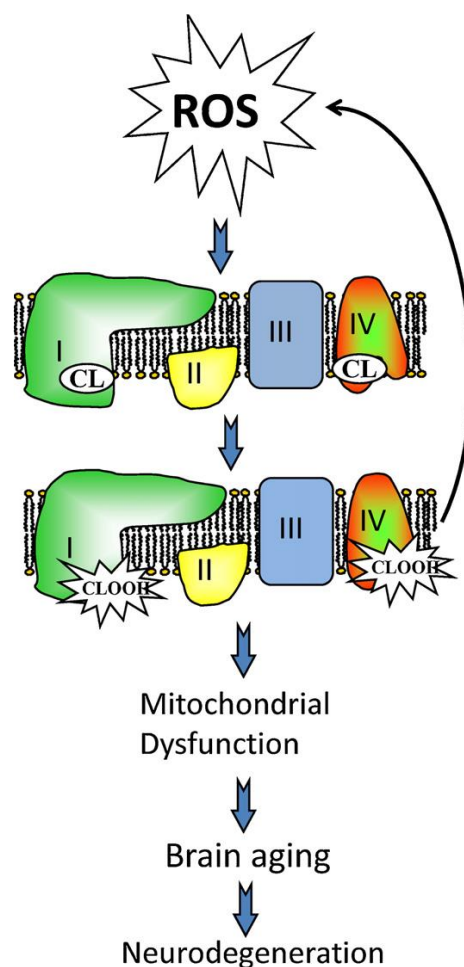
Mozak je poprilično podložan oksidativnim oštećenjima. On nije bogat zaštitnim antioksidativnim enzimima ili antioksidacijskim spojevima (Paradies, i sur., 2011). No, zato je bogat željezom, metalom koji je katalitički uključen u proizvodnju slobodnih radikala. Ako se vodikov peroksid ne reducira, uz prisutnost dvovalentnog kationa željeza dolazi do Fentonove reakcije pri čemu nastaje hidroksidni radikal  $\cdot\text{OH}$  (Raz, i sur., 2018).

Reaktivni kisikovi spojevi reagiraju s mitohondrijskom DNA, proteinima i lipidima. Posebno je osjetljiva mtDNA zbog svoje blizine mjestu nastanka ROS-a, nedostatka zaštitnih histona i enzima za popravak DNA. Nastale se mutacije akumuliraju i mogu se širiti kako se mitohondrij i stanica dijele, uzrokujući time amplifikaciju fizioloških posljedica oštećenja. Osim što mutirana DNA može dovesti do stvaranja defektnih proteina, i fiziološki normalni proteini mogu biti mete napada ROS-a. Oksidacijom proteina, pogotovo aminokiselinskih nastavaka arginina, prolina i lizina, nastaju reaktivne karbonilne skupine koje mogu dovesti do inter- i intramolekulskog povezivanja s drugim amino skupinama. To posljedično dovodi do gubitka biokemijske i fiziološke funkcije proteina.

Istražujući različite regije mozga tijekom starenja, uočeno je da je najveće povećanje oksidativnog oštećenja proteina u striatumu, hipokampusu i srednjem mozgu, dok su u korteksu i *cerebellumu* zamijećena manja povećanja. Činjenica da ove regije također pokazuju proteinska oštećenja povezana sa starošću u skladu je s pretpostavkom da oksidativni stres može biti posredni faktor gubitka kognicije, pamćenja i motoričkih funkcija koje se uočavaju sa starenjem (Paradies, i sur., 2011).

ROS napada i mitohondrijske membranske lipide, ponajviše polinezasićene masne kiseline (PUFA, eng. *polyunsaturated fatty acids*) fosfolipida koji sadrže lako oksidirajuće dvostruke veze. Osim toga, visoka koncentracija PUFA u mitohondrijskim proteinima omogućava im da sudjeluju u lancu reakcija dugih slobodnih radikala stvarajući hidroperoksidi i endoperoksidi (Paradies, i sur., 2011). Peroksidacija membranskih fosfolipida smatra se glavnim uzrokom mitohondrijske disfunkcije u brojnim fiziopatološkim stanjima i starenju (Pamplona, 2008). Mijenja se struktura membranskih fosfolipida što može narušiti strukturnu organizaciju lipidnog dvosloja, mijenjajući time fluidnost i permeabilnost membrane. Time se utječe na oksidativnu fosforilaciju, svojstva propusnosti unutrašnje membrane mitohondrija, održavanje membranskog potencijala i homeostaze kalcija u mitohondriju (Yu, 2005). Starenjem dolazi do povećanja peroksidacije lipida (Spiteller, 2001). To je pogotovo izraženo u mozgu koji

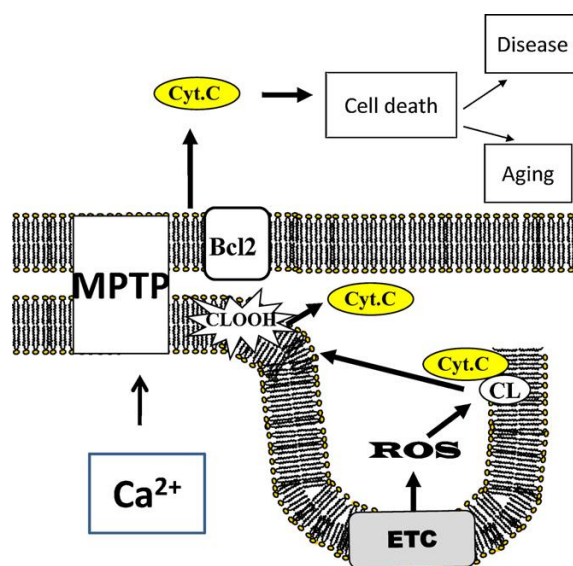
sadrži relativno visoku koncentraciju lako peroksidirajućih masnih kiselina (Paradies, 2011). Kao jedan od ključnih fosfolipida smještenih u unutrašnjoj membrani mitohondrija spominje se kardiolipin. Pokazano je da stupa u interakciju s brojnim proteinima unutarnje membrane mitohondrija i zbog toga ima bitnu ulogu u nekoliko mitohondrijskih bioenergetskih procesa, stabilnosti i dinamici mitohondrijske membrane kao i u mitohondrijski ovisnim koracima apoptoze. On je bogat nezasićenim masnim kiselinama i kao takav je meta napada kisikovih slobodnih radikala. Oksidacija ili smanjenje kardiolipina sa starenjem ima negativnu posljedicu na biokemijsku funkciju membrane moždanih mitohondrija što dovodi do stanične disfunkcije i u konačnici stanične smrti (Paradies, i sur., 2011).



**Slika 9.** *Moguća uloga ROS-a i peroksidacije kardiolipina u mitohondrijskoj disfunkciji tijekom starenja mozga preuzeto od Paradies, i dr., (2011). Stvaranje kisikovih reaktivnih spojeva tijekom starenja mozga uzrokuje peroksidaciju kardiolipina (CL) koji interreagira s kompleksom I i IV elektronskog transportnog lanca dovodeći do narušavanja respiratornog lanca. To dovodi do još veće produkcije ROS-a i narušavanja mitohondrijske funkcije. (CLOOH je peroksidirani kardiolipin)*

Molekule kardiolipina specifično se vežu na kompleks I i potrebne su za njegovo normalno funkcioniranje. Peroksidacija kardiolipina dovodi do narušavanja kompleksa i još veće produkcije ROS-a (Slika 9.) Osim toga, peroksidirani kardiolipin povezan je s otvaranjem mitohondrijske permeabilne tranzicijske pore (MPTP, eng. *mitochondrial permeability transition pore*) uz povećanu koncentraciju kalcija (Paradies, i sur., 2011). MPTP je pora koja omogućava pasivnu difuziju bilo kojih molekula koje su manje od 1,5 kDa čime se narušava permeabilna barijera mitohondrijske membrane. To dovodi do promjena u ionskoj homeostazi i do narušavanja oksidativne fosforilacije što, čineći ireverzibilnu štetu mitohondriju, rezultira u nekrotičnoj smrti stanice (Leung, i sur., 2008).

Kardiolipin ima ulogu i u programiranoj smrti stanice jer je na njega vezan citokrom c, jedan od elemenata respiratornog lanca, koji služi kao signalna molekula za početak apoptoze. Oksidacijom kardiolipina dolazi do odvajanja citokroma c s unutarnje membrane mitohondrija (Kagan, i sur., 2005), nakon čega on prolazi kroz MPTP vanjske membrane (Paradies, i sur., 2011) i inducira kaskadu kaspaza u citosolu (Cai, i sur., 1998). Činjenica da mozak tijekom starenja postaje više podložan induciranom otvaranju MPTP-a i otpušanju citokroma c, ima važne indikacije u nekrotičnoj i apoptičnoj staničnoj smrti i progresiji sa starosti povezanih neuroloških poremećaja (Paradies, i sur., 2011).

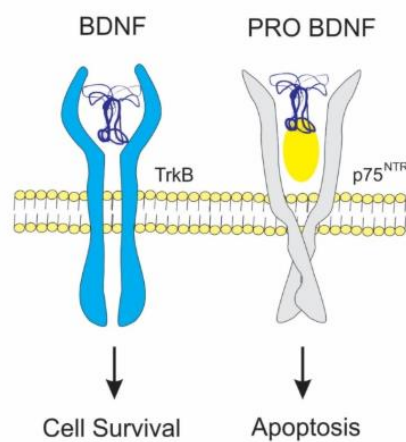


**Slika 10.** Uloga ROS-a i peroksidacije kardiolipina u otvaranju MPTP-a i otpušanju citokroma c iz mitohondrija preuzeto od Paradies, i dr., (2011). Moguća uloga u staničnoj smrti. Stvaranje ROS-a kroz transportni lanac elektrona dovodi do peroksidacije kardiolipina koji potom potiče odvajanje citokroma c s membrane, Ca<sup>2+</sup> ovisno otvaranje MPTP i otpuštanje citokroma c iz mitohondrija što dovodi do stanične smrti (ETC- transportni lanac elektrona, CL – kardiolipin, CLOOH- peroksidirani kardiolipin, Cyt C – citokrom c, MPTP – mitohondrijska permeabilna tranzicijska pora, Bcl2 – proapoptilna Bcl2 obitelj proteina).

## 4.2 Uloga neurotrofnih faktora

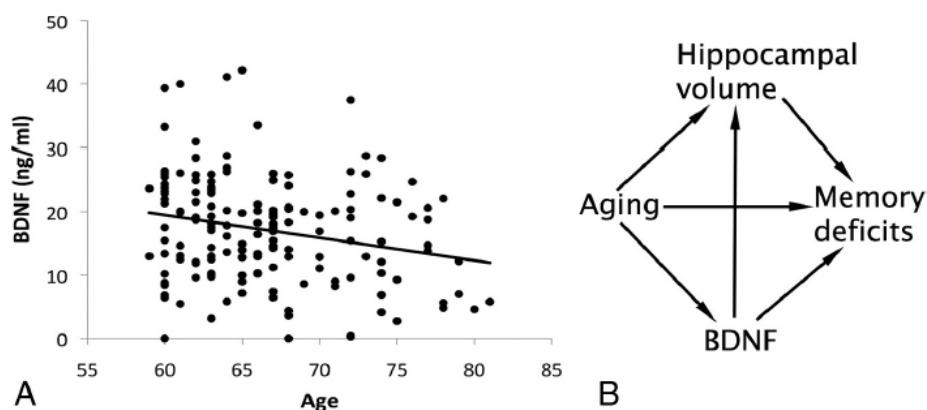
Neurotrofni su faktori sekretorni proteini koji imaju važnu ulogu u sinaptičkom i neuralnom rastu, neurogenezi, mijelinizaciji, diferencijaciji i preživljavanju neurona. Kognitivno opadanje koje se uočava tijekom starenja i u Alzheimerovoj bolesti je povezano s promjenama u razinama neurotrofnih faktora, ponajviše BDNF-a (eng. *brain-derived neurotrophic factor*), NGF-a (eng. *nerve growth factor*) i GDNF-a (eng. *glial cell-derived neurotrophic factor*) (Budni, i sur., 2015).

BDNF je protein koji je diferencijalno eksprimiran u dijelovima centralnog i perifernog živčanog sustava, te mu je ekspresija inducirana vježbanjem i kalorijskom restrikcijom (Glorioso, i sur., 2011). Osim prehrane i vježbanja, količina BDNF-a u organizmu također je pod utjecajem metabolizma, ponašanja i stresa. BDNF se sintetizira iz BDNF proizoforme koja se proteolitički cijepa unutar neurona ili nakon otpuštanja iz stanice (Murer, i sur., 2001). Zreli neurotrofin veže se na protein kinazni neurotrofni receptor tropomiozin kinazni (Trk) receptor. Vežanjem na TrkB receptor aktiviraju se mehanizmi koji reguliraju dugotrajnu potencijaciju, tj konstantno jačanje sinapsi bazirano na nedavnim uzorcima aktivnosti i dugotrajnu depresiju, tj o aktivnosti ovisnu redukciju efikasnosti neuralnih sinapsi. Tim mehanizmima regulira se i sinaptička plastičnost, nicanje aksona, proliferacija dendritnih izdanaka i neuralna diferencijacija (Islam, i sur., 2009). Upravo zbog toga je BDNF bitan za procese učenja i pamćenja (Budni, i sur., 2015). Pro-BDNF se veže na p75 neurotrofni receptor i aktivira signalni put za apoptozu (Slika 11.)



**Slika 11.** BDNF i pro-BDNF receptori preuzeti od Budni, i sur., (2015). BDNF se veže na TrkB receptor i to dovodi do aktivacije signalnog puta koji završavaju preživljavanjem stanice. Vežanje pro-BDNF na p75<sup>NTR</sup> može dovesti do apoptoze (p75<sup>NTR</sup> je p75 neurotrofni receptor)

Kod ljudi, tijekom starenja je uočeno opadanje razine cirkulirajućeg BDNF-a i BDNF-a u tkivima (Tapia-Arancibia, i sur., 2008). Erickson, i sur., (2010) pokazali su da je smanjenje volumena hipokampusa povezano sa smanjenom razinom cirkulirajuće razine BDNF-a (Slika 12.A). Budući da je BDNF molekula koja je visoko koncentrirana u hipokampusu i važna za sinaptičku plastičnost i neurogenezu koja se u odrasloj dobi događa u hipokampusu, može se zaključiti da je to izravni čimbenik koji dovodi do pogoršanja dugotrajnog pamćenja i sposobnosti učenja (Slika 12.B). Jedan od dokaza za to je polimorfizam u ljudi koji uključuje supstituciju jednog nukleotida BDNF gena, Val66Met što dovodi do deficitne sekrecije BDNF-a u hipokampusu (Glorioso, i sur., 2011) i manjeg volumena istog. Kod *knock-in* miševa, takva mutacija uzokuje smanjenje dendritne kompleksnosti, smanjenje hipokampalnog volumena i posljedično pogoršanje pamćenja (Chen, i sur., 2006). Kod ljudi s takvim polimorfizmom uočeno je brže nastupanje znakova demencije i lošije pamćenje (Erickson, i sur., 2010).



**Slika 12.** Preuzeto od Erickson, i dr., (2010). A) Graf koji pokazuje negativnu poveznicu između serumske razine BDNF-a i povećanja dobi. B) Predloženi i testirani model u kojem i BDNF i volumen hipokampusa sudjeluju u deficitu sa starosti povezanim prostornim pamćenjem, pri čemu BDNF također utječe i na sa starošću povezanim smanjenjem hipokampusa.

NGF je glikoprotein koji se sintetizira iz prekursora pro-NFG i izlučuje van stanice ili se cijepa unutar stanice u zreli oblik. Postoje tri tipa receptora za NGF i to su TrkA, p75 i sortilin. Neurotrofni se efekt vidi kada se NGF spoji s TrkA ili p75, dok je neurotoksičan efekt pro-NGF-a posredovan p75 receptorom konjugiranim sa sortilinom (Budni, i sur., 2015).

Dokazi na postnatalnim miševima upućuju da pro-NGF inhibira proliferaciju i diferencijaciju hipokampalnih neuralnih matičnih ili progenitornih stanica (Guo, i sur., 2013). Također u starim štakorima je uočeno da pro-NGF dovodi do stanične smrti u bazalnom prednjem mozgu i perifernim sinaptičkim neuronima. Povišene razine pro-NGF, p75NTR i sortilina u prefrontalnom korteksu i hipokampusu starih štakora povezane su s problemima prostornog učenja i smanjenju prisjećanja s odmakom vremena (Terry, i sur., 2011).

Faktori rasta poput NGF bitni su u neuralnoj plastičnosti i preživljavanju kolinergičnih neurona cerebralnog korteksa, hipokampusa, bazalnog prednjeg mozga i hipotalamusa koji su svi povezani s formiranjem pamćenja. Tijekom starenja razne studije na modelnim organizmima uočile su smanjenje razine NGF, što upućuje na zaključak da taj faktor doprinosi smanjenju kognitivne funkcije sa starošću (Budni, i sur., 2015).

GDNF je bitan faktor rasta za razvoj, preživljavanje i održavanje dopaminergičnih neurona srednjeg mozga. Poznao je da motorička funkcija i dopaminergični sustav pokazuju smanjenje tijekom normalnog starenja i drastično smanjivanje u Parkinsonovoj bolesti. Smanjene razine GDNF-a uzrokuju povećano otpuštanje glutamata i deregulaciju glutamatnog transportera 1, što dovodi do ekscitotoksičnosti u dijelu živčanog sustava koji prethodi dopaminskoj degeneraciji (Budni, i sur., 2015). Osim toga, neurotrofni efekt GDNF-a proučavan je u starim štakorima kao i njegova poveznica s neuralnom atrofijom koja uzrokuje narušavanje kognitivnih funkcija. Uočeno je da djelovanjem GDNF-a dolazi do značajnog poboljšanja prostornog učenja i pamćenja. Potrebno je još istraživanja, ali ovi se faktori pokazuju kao potencijalni lijekovi za neurodegenerativne bolesti povezane sa starenjem (Budni, i sur., 2015).

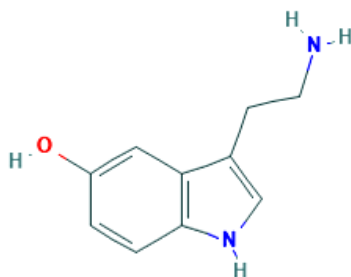
## 4.3 Uloga neurotransmitera

Neurotransmiteri su endogeni kemijski glasnici koji prenose signal u kemijskim sinapsama (Sherwood, i sur., 2011). Tijekom starenja je uočeno smanjenje razine neurotransmitera i aktivnosti enzima koji su uključeni u njihovu sintezu. Za različite prijenosnike i dijelove mozga vidljiva je drugačija osjetljivost na proces starenja (Carlsson, 1987). Pokazano je da serotonin, glutamat i dopamin najviše utječu na starenje mozga (Glorioso, i sur., 2011).

### 4.3.1 Serotonin

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT, Slika 13.) je široko rasprostranjen u središnjem živčanom sustavu, ponajviše u jezgrama rafe, smještenime u moždanom deblu. Uključen je u širok spektar neuralnih funkcija koji uključuju nadziranje boli, hranjenja, spavanja, seksualnog ponašanja, regulacije kardiovaskularnog sustava i kognicije (McEntee, i sur., 1991). Pretpostavlja se da serotonin igra ulogu u normalnom starenju jer su njegove razine i funkcije selektiranih receptora regulirane sa starošću. Poveznica sa starenjem je i to da dijeli signalne puteve s drugim poznatim regulatornim molekulama starenja poput BDNF-a i IGF-1 (Glorioso, i sur., 2011).

Pokazano je u *post mortem* studijama na ljudima da dolazi do redukcije broja veznih mjesta za serotonin u hipokampusu, te u čeonom i zatiljnom režnju. Gubitak serotonergičnih neurona i neurotransmitera u normalnom starenju i neuropsihijatrijskim bolestima kasnije životne dobi može dovesti do promjena u ponašanju koje se često uočavaju kod starije populacije. Također, brojni dokazi upućuju na to da je deficit neurotransmisije serotonina povezan s razvojem depresije (Meltzer, i sur., 1998).



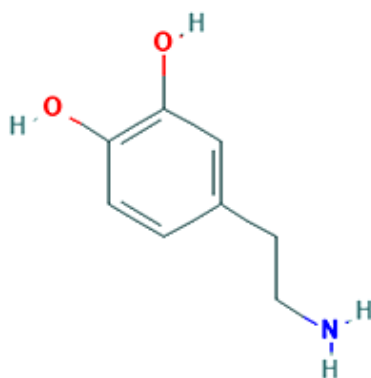
**Slika 13.** Kemijska struktura serotonina (5-hidroksitriptamina) preuzeta sa stranice (Ser19)



Proučavane su genetičke promjene receptora i transportera serotonina. Posebno su zanimljivi polimorfizmi uzastopnog ponavljanja u promotoru gena serotoninskog transportera SERT, SLC6A4. Kratki alel promotora tog gena povezuje se s pojavom depresije u kontekstu stresnih životnih događaja, lošijem prisjećanju s odmakom vremena i manjem volumenu hipokampusa kod ljudi starije životne dobi. Nasuprot tome, dugi alel tog polimorfizma je prekomjerno eksprimiran kod japanskih stogodišnjaka. Druga studija povezala je VNTR2 SERT polimorfizam s brzinom kognitivnog opadanja, iako nisu uspjeli naći poveznicu sa SLC6A4. Također je pronađena poveznica između polimorfizma serotoninskog 2A receptora (HTR2A) s longitudinalnim smanjenjem prisjećanja s odmakom vremena (pregledni rad Glorioso, i sur., 2011).

### 4.3.2. Dopamin

Dopamin (4-(2-aminoetil)benzen-1,2-diol) (Slika 14.) je jedan od najzastupljenijih kateholamina u bazalnim ganglijima uključen u kontrolu motoričkih funkcija i kognitivnih procesa (Cadet, i sur., 2010). On je ključan modulator učenja i motivacije te kao takav je bitan u oblikovanju ponašanja poput jedenja, razmnožavanja i obrane, kao i stvaranja ovisnosti (Volkow, i sur., 2017). Individualne razlike u razinama dopamina kod odraslih ljudi mlađe životne dobi značajno utječu na njihove izvršne funkcije poput kognitivne fleksibilnosti. To se može povezati s promjenama u normalnom starenju koje je popraćeno s dubokim promjenama dopaminskog sustava, što posljedično utječe na kogniciju. Do promjena dolazi zbog smanjene gustoće dopaminskih receptora i povećanja sinteze dopamina (Berry, i sur., 2016).



*Slika 14. Kemijska struktura dopamina (4-(2-aminoetil)benzen-1,2-diol) preuzeta s (Dop19).*

Tijekom starenja dolazi do smanjenja gustoće dopaminskog transportera, te D1 i D2 G-protein povezanih receptora. Ti su receptori dosta bitni jer posreduju u gotovo svim fiziološkim funkcijama dopamina, poput voljnih pokreta, sustava nagrade, regulacija spavanja, održavanja pozornosti, kognitivne funkcije i drugih (Beaulieu, i sur., 2015). Puno ih se nalazi u bazalnim ganglijima, gdje izvršavaju svoju funkciju u različitim staničnim tipovima. Razlika u djelovanju D1 i D2 receptora je u tome što se vezanjem dopamina na D1 tip receptora aktivira adenilil ciklaza, dok se vezanjem dopamina na D2 tip receptora ona inhibira (Cadet, i sur., 2010).

Farmakološka istraživanja na zdravim pojedincima su pokazala da D-amfetamin, koji djeluje kao ligand dopaminskog receptora, povećava učinkovitost različitih zadataka, dok agonist D2 receptora, Bromokriptin, umanjuje prostorno radno pamćenje što sugerira da smanjenje gustoće dopaminskog receptora tijekom starenja ima ulogu u smanjenju kognitivnih funkcija i pogoršanju pamćenja (Glorioso, i sur., 2011).

Smanjenje dopaminskog signaliziranja utječe na transdukciju signala puta kalorijske restrikcije, što izravno utječe na kognitivno narušavanje povezano sa starošću. Osim toga dopamin utječe i na signalni put povezan s reaktivnim kisikovim spojevima. Primjer toga je monoamin oksidaza B čija uloga je inaktivacija dopamina. Starenjem dolazi do porasta proizvodnje dopamina i samim time raste aktivnost tog enzima koji kao nusprodukt proizvodi veliku količinu ROS-a što predstavlja još jedan načina nastanka ROS-a tijekom starenja (Glorioso, i sur., 2011).

Dopamin utječe i na put povezan s glijalnom distrofijom tako da regulira razine NF $\kappa$ B i GFAP (kiseli, nitasti glijalni protein, eng. *glial fibrillary acidic protein*). Glijalna distrofija je pojam koji označava jače bojanje glijalnih markera zbog pojačane aktivnosti glijalnih procesa tijekom starenja (Slika 6.). Pretpostavlja se da to nastaje da bi se očuvale udaljenosti između neurona i glijalnih stanica koje nastaju smanjivanjem neurona (Glorioso, i sur., 2011). Jedan od glijalnih procesa koji pokazuje jaču aktivnost tijekom starenja je neuroinflamacija koju aktiviraju glijalne imunosne stanice mozga, mikroglije i koju provode i pojačavaju astrociti. Pretpostavlja se da promjene u aktivacijskom profilu mikroglija tijekom starenja i pojačano otpuštanje inflamatornih citokina dovodi do razvoja inzulinske rezistencije.

Astrocitna amplifikacija inflamatornog odgovora dovodi do nastanja neurotoksičnih faktora koji dovode do oštećivanja neurona, a oni potom opet aktiviraju mikroglije. U neuronima potom dolazi do manjka esencijalnih supstrata energije i neuroprotektivnih mehanizama. Taj

samo-umnažajući ciklus inflamacije i smrti neurona dovodi do neurodegeneracije koja se može uočiti tijekom starenja i u neurodegenerativnim bolestima poput Alzheimerove bolesti. Aktivacija neuroinflamacije većinom je posredovana redoks-sustavima. Na molekularnoj je razini pod utjecajem redoks osjetljivosti ključnih molekula poput NFκB i inflamosoma, a na staničnoj razini astrocitima koji šalju inflamatorne signale neuronima putem oksidansa poput vodikovog peroksida, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Yin, i sur., 2016). Povećavajući razine NFκB, dopamin utječe i na povećanje neuroinflamatornog odgovora koji dovodi do degeneracije neurona. Osim toga dopamin utječe i na signalni put povezan s kalcijem i interreagira sa signalnim putem cirkadijarnog ritma, djelujući na *Clock* gene (Glorioso, i sur., 2011).

Što se tiče polimorfizama dopaminskog sustava, jedan alel katehol-o-metil transferaze (COMT) je povezan sa starenjem. COMT je enzim koji katalizira degradaciju kateholamina metilirajući dopamin, adrenalin i noradrenalin. Val158Met alel COMT-a je povezan sa smanjenim prefrontalnim kortikalnim razinama dopamina. Manja razina dopamina se povezuje s ubrzanim kognitivnim propadanjem u starenju i s longitudinalnim gubitakom sive tvari (Glorioso, i sur., 2011).

### 4.3.3 Ostali neurotransmiteri

Glutamat je predominantni ekscitatorni neurotransmiter u mozgu koji utječe na motoričko ponašanje, kogniciju i emocije, funkcije koje se sve mijenjaju tijekom starenja (Segovia, i sur., 2001). Pretpostavlja se da modulira starenje mozga olakšavajući otpuštanje BDNF-a i zbog njegovih ključnih uloga u dugotrajnom potenciranju, sinaptičkoj plastičnosti, neurogenezi, o aktivnosti ovisnom preživljavanju neurona i neuralnom rast tijekom razvoja. Djelujući na signalni put CREB i NFκB te podizanjem razine unutarstaničnog Ca<sup>2+</sup> utječe na brzu promjenu arhitekture dendrita i dugotrajnu izmjenu ekspresije različitih gena poput neurotrofina (Glorioso, i sur., 2011).

U cerebralnom korteksu i hipokampusu je zamijećeno smanjenje koncentracije glutamata, iako bi to prije mogla biti posljedica promjena u metaboličkoj aktivnosti, nego u neurotransmisiji glutamata. S druge strane, *in vivo* i *in vitro* studije nisu pokazale promjene u otpuštanju glutamata tijekom starenja. S obzirom da uzorkovani glutamat u većini ovih studija

je rezultat ravnoteže između otpuštanja i unosa glutamata, manjak promjena u otpuštanju može biti kompenziran promjenama u unosu glutamata. Kao dokaz tome je uočen smanjen broj glutamatnih transportera visokog afiniteta kod starih štakora. Svakako, najznačajniji i najkonzistentniji dokaz koji povezuje glutamat sa starenjem je smanjenje gustoće glutamatnih NMDA (N-metil-D-aspartat) receptora, naponom ovisnih kanala koji su povezani s plastičnosti mozga, ponajviše s učenjem i pamćenjem (Segovia, i sur., 2001).

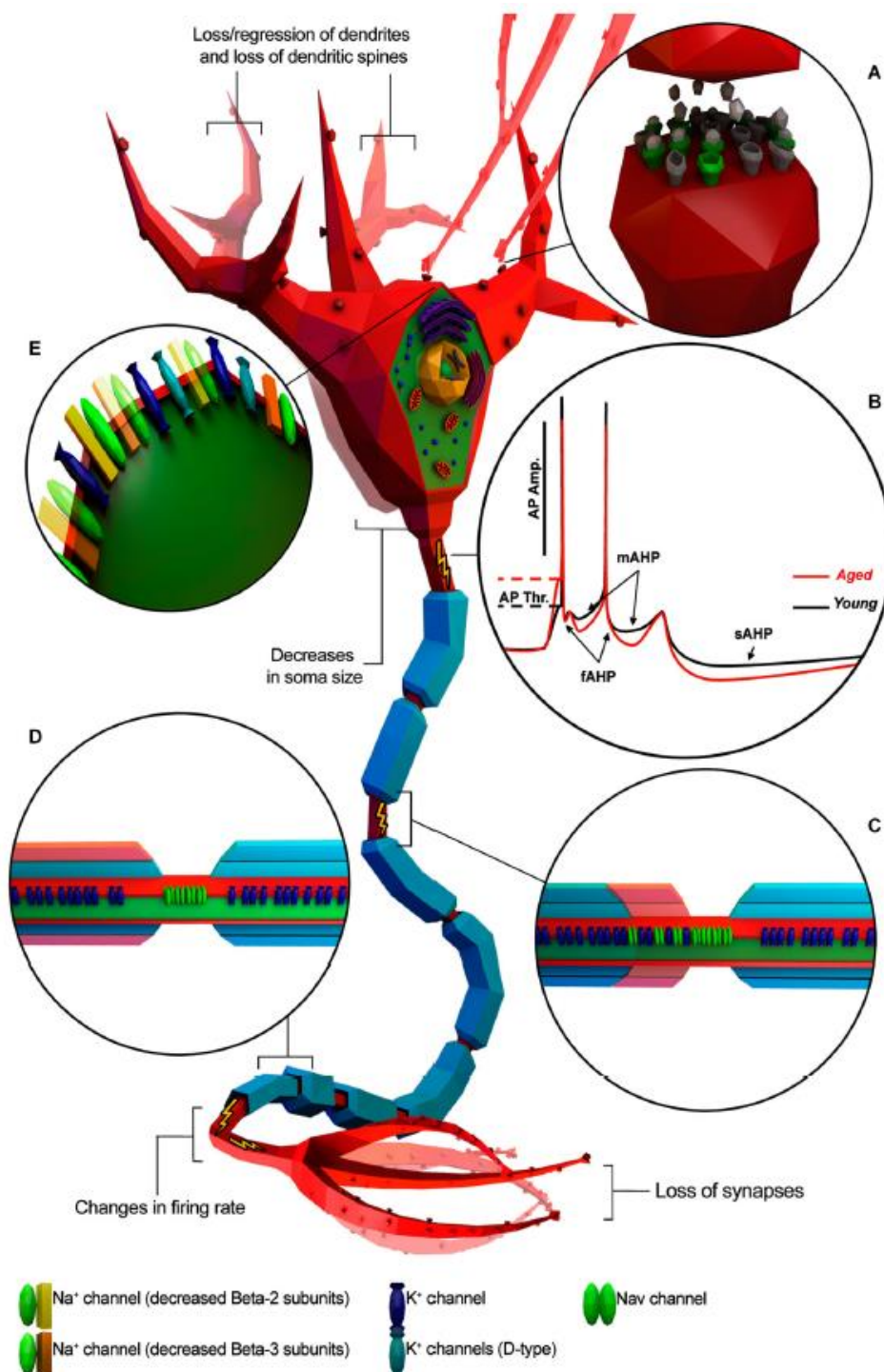
Smanjenja su pronađena i u neurotransmisiji noradrenalina i acetilkolina što rezultira kognitivnim oštećenjima i demencijom. Također je u prefrontalnom korteksu starijih ljudi uočeno smanjenje inhibitornog neurotransmitera gama amino maslačne kiseline (GABA) zbog reducirane genske ekspresije. Time se mijenja ravnoteža između inhibitorne i eksikatorne neurotransmisije. To može dovesti do povećane neuralne aktivnosti u prefrontalnom korteksu što dovodi do eskcitotoksičnosti i neurodegenerativne patologije (Tripathi, 2012).

## 4.5 Disregulacija kalcija i elektrofiziološka promjena neurona

Mnogo spomenutih procesa koji se mijenjaju tijekom starenja ovisni su o koncentraciji kalcija. U to spada podložnost neurotoksičnosti, indukcija sinaptičke plastičnosti, dugotrajno potenciranje i dugotrajna depresija. Tijekom starenja je uočeno da dolazi do promjene regulacije kalcija i disrupcije kalcijevog signalnog puta (Foster, i sur., 2002). Brojne studije su pokazale da tijekom starenja dolazi do povećanja u provodnosti kalcija u starim neuronima. Piramidalne stanice u starom hipokampusu imaju povećanu gustoću L tipa kalcijevih kanala i narušeni intraneuralni kapacitet puferiranja kalcija što može dovesti do povećanja razine slobodnog kalcija u citoplazi. Glavni neuralni pufer kalcija je protein kalmodulin 1 za kojeg je uočeno da se njegove razine u kolinergičnim i kortikalnim neuronima bazalnog prednjeg mozga smanjene u osoba starije životne dobi. Smanjenje razine kalmodulina pod utjecajem je reducirane ekspresije RNA (Tripathi, 2012).

Promjene u neuralnoj strukturi i fiziologiji dovode do manje efikasnog provođenja informacija putem promjena akcijskog potencijala i narušavanja učinkovitosti neuralnih mreža. Kod nekih modelnih organizama je pronađeno da sa starenjem u neuronima dolazi do povećanja praga podražaja, tj razine koliko se mora membranski potencijal depolarizirati da bi došlo do podražaja. Do takvih promjena može doći zbog promjena propusnosti naponski reguliranih natrijevih kanala. To posljedično produbljuje ekscitabilnost neurona i može utjecati na neuralnu aktivnost reducirajući transmisiju. Takvo narušavanje može stvoriti funkcionalnu leziju koja može tvoriti osnovu za kognitivno opadanje tijekom starenja. Daljnja istraživanja na primatima pokazala su da dolazi i do smanjenja amplitude akcijskog potencijala, što onda utječe na evociranje kalcijeve struje i na količinu otpuštenih neurotransmitera na krajevima aksona (Slika 15.B). Uzrok tome može biti redukcija gustoće natrijevih kanala, promjenjena ekspresija kalijevih i naponom reguliranih natrijevih kanala (Slika 15.A, E). Uočeno je također da dolazi do povećanja perioda latencije, što jedan od faktora koji utječe na pogoršanje sposobnosti učenja tijekom starenja (Rizzo, i sur., 2015).

U različitim tipovima mijeliniziranih neurona modelnih organizama uočeno je smanjivanje brzine provođenja aksona do kojeg dolazi zbog promjena u mijelinskoj ovojnici koje se uočavaju tijekom starenja (Slika 15.C,D). Nekoliko studija je pokazalo da promjene u strukturi mijelina mijenjaju brzinu prijenosa jer mijenjaju lokaciju specifičnih ionskih kanala



**Slika 15.** Poznate elektrofiziološke i morfološke promjene u neuronima povezane sa starošću. Preuzeto od Rizzo, i dr., (2015). Neuron je prikazan kao generalni mijelizirani neuron zbog jednostavnosti, da bi se mogle sumirati informacije iz različitih modelnih organizama i neuralnih staničnih tipova. A) Sa starosti povezane promjene neurotransmiterskih receptora. Sivo je pokazano povećanje gustoće, a zelenom bojom smanjenje gustoće receptora. B) Reprezentativni prikaz akcijskog potencijala starog i mladog neurona. C) Nedostatak ili disrupcija paranodalne ultrastrukture (crveno) dovodi do premještanja  $K^+$  kanala do  $Na_v$  klastera. D) Nedostatak slojeva mijelina (crveno) dovodi do povećanja učestalosti izlaganja aksona zbog redundancije mijelinske ovojnice. E) Promjene u svojstvima  $Na^+$  i  $K^+$  kanala ili uzorcima ekspresije njihovih podtipova.

na aksonu i ekspresiju naponom reguliranih natrijevih kanala. Također, promjene u ultrastrukturi mijelina povećavaju učestalost izlaganja aksona što u konačnici dovodi do reduciranja ili narušavanja provođenja aksonskog akcijskog potencijala (Rizzo, i sur., 2015).

Informacije u živčanom sustavu kodirane su i prenose se u obliku posebnih uzoraka akcijskih potencijala. Neuron grade te uzorke tako da mijenjaju učestalost okidanja njihovih akcijskih potencijala (eng. *firing rate*). Tijekom starenja je uočeno narušavanje učestalosti okidanja. Do tog može doći zbog promjena u brzini provođenja akcijskog potencijala, zbog produljenja repolarizacijske faze akcijskog potencijala i perioda latencije, kao i zbog povećanog ulaženja kalcija. Promjenjena učestalost okidanja akcijskog potencijala može se povezati s narušavanjem kognitivnih funkcija i promjenama ponašanja koja su uočena kod starijih osoba (Rizzo, i sur., 2015).

## 4.6 Kontrola ekspresije gena

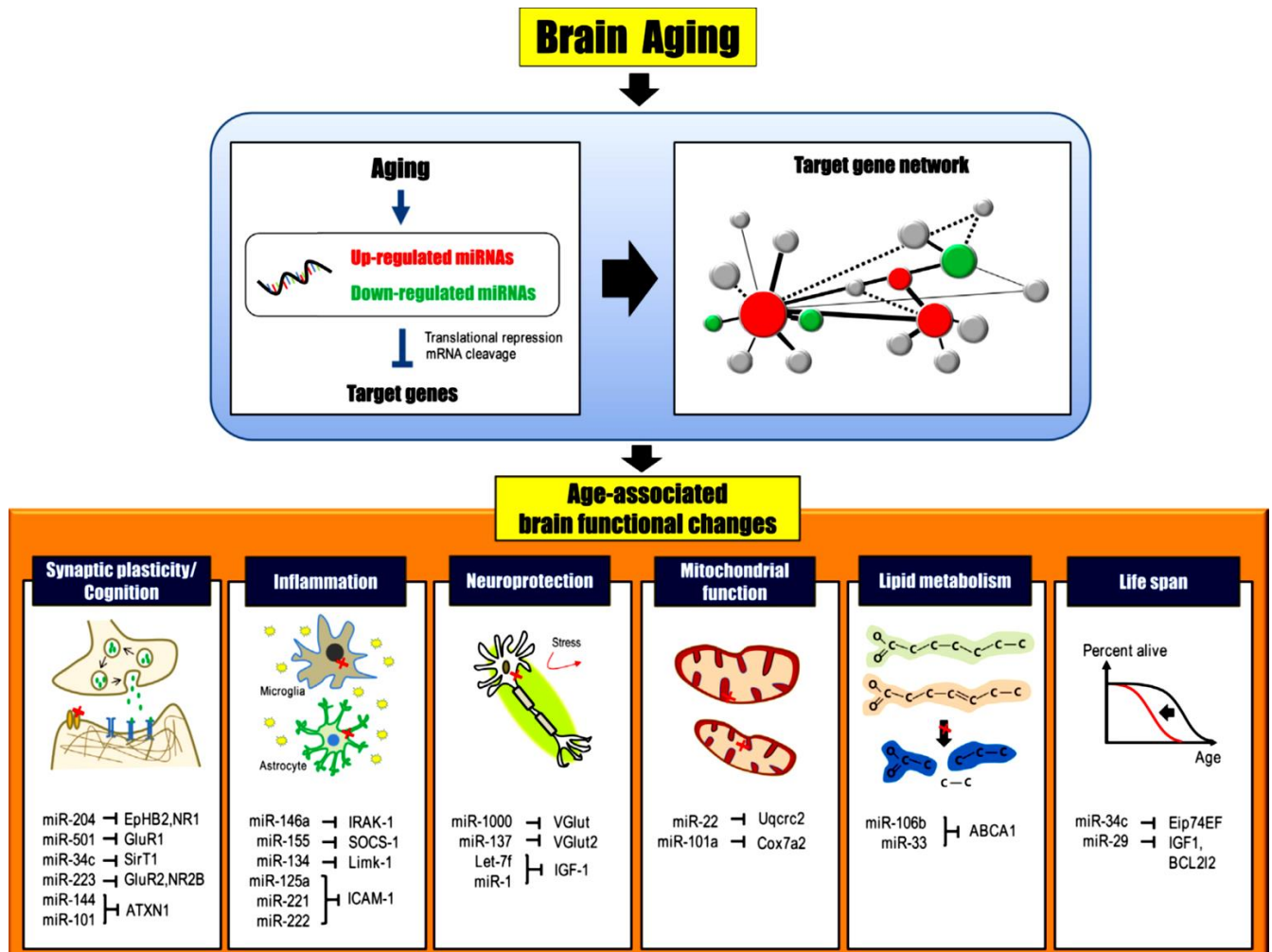
Mehanizmi koji tijekom starenja dovode do selektivnih promjena u ekspresiji gena većinom su nepoznati. Lu, i sur., (2004) pretpostavili su da postoji mehanizam sata gdje dolazi do nakupljanja DNA oštećenja tijekom starenja, što selektivno mijenja promotorske regije gena na koje utječe starenje. Kao dokaz te teorije pokazali su da geni koji imaju ekspresiju ovisnu o starenju u prefrontalnom korteksu imaju promotorske regije ranjivije na oštećenja DNA nego geni koji nisu regulirani starenjem. S druge strane, Glorioso, i sur., (2011) smatraju da uzrok promjeni ekspresije gena nije oštećivanje mozga tijekom starenja (eng. *wear and tear*), već da proizlazi iz transkripcijskog programa koji je analogan razvoju mozga, te je pod kontrolom modulatora poput gena dugovječnosti. Pod gene dugovječnosti (Glorioso, i sur., 2011) navode već prije spomenute inzulin signalizirajuće gene, Klotho, te tumor supresor gen p53, koji ima važnu ulogu u staničnom ciklusu i apoptozi, i Sirtuine, čija prekomjerna ekspresija u modelnim organizmima beskralježnjaka produljuje život. Druge hipoteze koje pokušavaju objasniti zašto se u određenom trenutku javljaju mehanizmi starenja mozga povezuju to i sa staničnim ciklusom, cirkadijarnim ritmom i razvojnim driftom (eng. *developmental drift*). Razvoji je drift teorija koja starenje povezuje s Wnt signalnim putem koji nadzire širok spektar staničnih funkcija tijekom razvoja jedinke i odrasle dobi (Gruber, i sur., 2016).

### 4.6.1 Utjecaj mikro RNA

Mikro RNA (miRNA) su male nekodirajuće RNA molekule koje imaju ulogu u RNA utišavanju i regulaciji genske ekspresije na razini transkripcije. Pokazalo se da su miRNA važni posrednici u kratkotrajnim staničnim regulatornim funkcijama i u moduliranju dugoročnog životnog vijeka organizma. Da imaju ulogu u starenju podržava činjenica da se čak 50% svih poznatih miRNA mozga nalaze u korteksu i hipokampusu, regijama mozga koje tijekom starenja prolaze kroz najznačajnije promjene. Također, tijekom starenja eksprimirane miRNA se diferencijalno reguliraju. Sposobnost miRNA da reguliraju više meta odjednom unutar puta ili čak da reguliraju više puteva odjednom im omogućava koordiniranu regulaciju



funkcionalnosti mozga. miRNA posredovane funkcionalne promjene mozga su vidljive u kogniciji, inflamciji, neuroprotekciji, lipidnom metabolizmu, mitohondrijskoj funkciji i duljini životnog vijeka (Slika 16). Disregulacija miRNA mozga doprinosi ubrzanom kognitivnom pogoršanju i povećanom pojavljivanju neuroloških poremećaja (Danka Mohammed, i sur., 2017).



**Slika 16.** Shematska reprezentacija starenja mozga posredovanog miRNA preuzetog od Danka Mohammed, i sur., (2017). Sa starosti povezana diferencijalna ekspresija miRNA rezultira različitim funkcionalnim promjenama mozga kroz koordinaciju mreža genskih ekspresija gdje se ključnim genima poveća ili smanji ekspresija. Pri tom dolazi do promjena u sinaptičkoj plastičnosti i samim time kogniciji, inflamciji, neuroprotekciji, mitohondrijskoj funkciji, lipidnom metabolizmu te u konačnici životnom vijeku.

#### 4.6.2 Kako možemo utjecati na starenje?

Iako se iz svih ovih dokaza starenje čini kao neizbježan proces, to nužno ne znači da se na njega ne može voljno utjecati. Ponajviše se može utjecati životnim stilom i prehranom. Značajan broj istraživanja pokazao je da fizičko i mentalno vježbanje, kao i kalorijska restrikcija, tj. redukcija u prehrani bez uzrokovanja pothranjenosti, pozitivno utječu na starenje, smanjujući gubitak plastičnosti mozga (Bouchard, i sur., 2015).

Kalorijska restrikcija potiče adaptivni stanični odgovor na stres što uzrokuje stvaranje različitih citoprotektivnih proteina poput neurotrofnih faktora, proteinskih šaperona, antioksidativnih enzima, enzima popravka DNA i drugih. To dovodi do reduciranja oksidativnog oštećenja i imunosne reakcije što posljedično uzrokuje jačanje neuralnih mreža i poboljšanje neuralne plastičnosti čime se poboljšava sposobnost učenja i pamćenja starijih pojedinaca (Stranahan, i sur., 2012). S druge strane, pokazalo se da redovito vježbanje povećava koncentraciju neurotrofnih faktora i samim time neurogenezu što opet pozitivno utječe na pamćenje i učenje (Tripathi, 2012).

Vodeći zdravi životni stil, održavajući se fizički i mentalno aktivnim u duboljoj životnoj dobi možemo izravno utjecati na zdravlje kako neurološkog sustava, tako i čitavog organizma. Pazeći na prehranu, pogotovo uzimajući hranu bogatu antioksidansima i pridržavajući se kalorijske restrikcije možemo utjecati na kogniciju i sposobnost pamćenja, učenja i prisebnosti koja se zna smanjivati tijekom starenja.

## LITERATURA

- Allen, J. S., Bruss, J., Brown, C. K., & Damasio, H. (2005). Normal neuroanatomical variation due to age: the major lobes and parcellation of the temporal region. *Neurobiology of Ageing*, *26*, 1245-1260.
- Bagarinao, E., & al., e. (2019). Reorganization of brain networks and its association with general cognitive performance over the adult lifespan. *Nature*, *9*.
- Baranowska-Bik, A., & Bik, W. (2017). Insulin and brain aging. *Menopause Rev*, *16* (2), 44-46.
- Barbosa, S., Bringham, I., T. B., Souza-Mello, V., Aguila, M. B., & Mandarim-de-Lacerda, C. (2014). Animal Models of Nutritional Induction of Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Morphology*, *32* (1), 279-293.
- Beaulieu, J.-M., Espinoza, S., & Gainetdinov, R. R. (2015). Dopamine receptors - iuphar rEVIEW 13. *Br J Pharmacol*, *172* (1), 1-23.
- Berry, A. S., Shah, V. D., Baker, S. L., Vogel, J. W., P, O. J., Janabi, M., et al. (2016). Aging Affects Dopaminergic Neural Mechanisms of Cognitive Flexibility. *The Journal of Neuroscience*, *36* (50), 12559-12569.
- Bonafè, M., & F, O. (2009). Genetic polymorphism in long-lived people: cues for presence of an insulin/IGF-pathway-dependent network affecting human longevity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *229* (1), 118-123.
- Borodkina, A. V., Deryabin, P. I., Giukova, A. A., & Nikolsky, N. N. (2018). "Social Life" of Senescent Cells: What Is SASP and Why Study It? *Acta Naturae*, *10* (1), 4-14.
- Bouchard, J., & Villeda, S. A. (2015). Aging and brain rejuvenation as systematic event. *Journal of Neuroscience*, *132*.
- Boveris, S. C., & Chance, b. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. Generic properties and effect od hyperbaric oxygen. *Biochem J*, *134*, 707-716.
- Brzozowski, A. M., Dodson, E. J., Dodson, G. G., Murshudov, G., Verma, C., Turkenburg, J. P., et al. (2002). Structural Origins of the Functional Divergence of Human Insulin-Like Growth Factor-I and Insulin. *Biochemistry*, *41*.
- Budni, J., Belletini-Santos, T., Mina, F., Lima, G. M., & Zugno, A. I. (2015). The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. *Aging and Disease*, *6* (5).
- Cadet, J. L., Jayanthi, S., McCoy, M. T., Beauvais, G., & Sheng Cai, N. (2010). Dopamine D1 Receptors, Regulation of Gene Expression in the Brain, and Neurodegeneration. *CNS Neurol Disor Drug Targets*, *9* (5), 526-538.
- Cai, J., Yang, J., & Jones, D. P. (1998). Mitochondrial control of apoptosis: the role of cytochrom c. *Biochimica et biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, *1366* (1-2), 139-149.
- Carlsson, A. (1987). Brain Neurotransmitters in Aging and Dementia: Similar Changes Across Diagnostiv Dementia Groups. *Gerontology*, *33*, 159-167.
- Chen, Z. Y., Jing, D., Bath, K. G., Ieraci, A., Khan, T., Siao, C., et al. (2006). Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science*, *314*, 140-143.
- Christensen, H. (2001). What cognitive changes can be expected with normal ageing? *Aust N Z J Psychiatry*, *35* (6), 768-775.
- Danka Mohammed, C. P., Park, J. S., & Nam, H. G. (2017). MicroRNAs in brain aging. *Mechanisms of Ageing and Development*.
- Dickstein, D. L., Kabaso, D., Rocher, A. B., Luebke, J. I., Wearne, S. L., & Hof, P. R. (2007). Changes in the structural complexity of the aged brain. *Aging Cell*, *6*, 276-284.
- Duan, H., Wearne, S. L., Rocher, A. B., Macedo, A., Morrison, J. H., & Hof, P. R. (2003). Age-related dendritic and spine changes in corticocortically projecting neurons in macaque monkey. *Cereb. Cortex*, *13*, 950-961.
- Era, P., Jokela, J., & Heikkinen, E. (1986). Reaction and movement times in men of different ages: a population study. *Percept Mot Skills*, *63* (1), 111-130.
- Erickson, K. I., Prakash, R. S., Voss, M. W., Chaddock, L., Heo, S., McLaren, M., et al. (2010). Brain-Derived Neurotrophic Factor Is Associated with Age-Related Decline in Hippocampal Volume. *The Journal of Neuroscience*, *30* (15), 5368-5375.
- Foster, T. C., & Kumar, A. (2002). Calcium Dysregulation in the Aging Brain. *Neuroscience Update*, *8* (4).
- Glorioso, C., & Sibille, E. (2011). Between destiny and disease: Genetics and molecular pathways of human central nervous system aging. *Progress in Neurobiology*, *93*, 165-181.
- Good, C. D., Johnsrude, I. S., Ashburner, J., Henson, R. N., Frinston, K. J., & Frackowiak, R. S. (2001). A Voxel-Based Morphometric Study of Ageing in 456 Normal Adult Human Brains. *Neuroimage*, *14*, 21-36.
- Gruber, J. Z., & Tolwinski, N. S. (2016). Developmental Drift and the Role of Wnt Signaling in Aging. *Cancers*, *8* (8).

- Guo, J., Wang, J., Liang, C., Yan, J., Wang, Y., Liu, G., et al. (2013). proNGF inhibits proliferation and oligodendrogenesis of postnatal hippocampal neural stem/progenitor cells through p75NTR in vitro. *Stem Cell Res*, 11 (2), 874-887.
- Guyton, A. C. (1994). Endokrinologija i reprodukcija. In A. C. Guyton, *Fiziologija čovjeka i mehanizam bolesti* (Vol. Peto izdanje). Medicinska naklada Zagreb.
- Islam, O., X, L. T., & Heese, K. (2009). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) has proliferative effects on neural stem cells through the truncated TRK-B receptor, MAP kinase, AKT, and STAT-3 signaling pathways. *Curr Neurovasc Res*, 6 (1), 42-53.
- Kagan, V. E., Tyurin, V. A., Jiang, J., Tyurina, Y. Y., Ritov, V. B., Amoscato, A. A., et al. (2005). Cytochrome c acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors. *Nat. Vhem. Biol*, 1, 223-232.
- Kipling, D. (2001). Telomeres, replicative senescence and human ageing. *Maturitas*, 38 (1), 25-37.
- Korolchuk, V. I., Miwa, S., Carrol, B. I., & von Zglinicki, T. (2017). Mitochondria in Cell Senescence: Is Mitophagy the Weakest Link? *EBioMedicine*, 21, 7-13.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. (2008). Biological Membranes and Transport. In A. L. Lehninger, D. L. Nelson, & M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry* (Fifth edition ed.).
- Leung, A. W., & Halestrap, A. P. (2008). Recent progress in elucidating the molecular mechanisms of the mitochondrial permeability transition pore. *Biochim. Biophys. Acta*, 1777, 946-952.
- Li, C., & BB, Z. (2007). Insulin signaling and action: glucose, lipids, protein.
- Linnane, A. W., Marzuki, S., Ozawa, T., & Tanaa, M. (1989). Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to aging and degenerative diseases. *Lancet*, 1, 642-645.
- Lozano-Torres, B., Estepa-Fernández, A., Rovira, M., Orzáez, M., Serrano, M., & Martínez- Máñez, R. (2019). The chemistry of senescence. *Nature*, 3, 426-441.
- Lu, T., Pan, Y., Kao, S. Y., Li, C., Kohane, I., Chan, J., et al. (2004). Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature*, 429, 883-891.
- McEntee, W. J., & Crook, T. H. (1991). Serotonin, memory and the aging brain. *Psychopharmacology*, 103 (2), 143-149.
- Meltzer, C. C., Smith, G., DeKosky, S. T., Pollock, B. G., Mathis, C. A., Moore, R. Y., et al. (1998). Serotoning in Aging, Late-Life Depression and Alzheimer's Disease: The Emerging Role of Fuctional Imaging. *Neuropsychopharmacology*, 18, 407-430.
- Morrison, J. H., & Baxter, M. G. (2012). The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nature Review Neuroscience*, 13 (4).
- Morrison, J. H., & R, H. P. (1997). Life and death of neurons in the aging brain. *Science*, 278 (5337), 412-419.
- Murer, M. G., Yan, Q., & R, R.-V. (2001). Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*, 63 (1), 71-124.
- Murman, D. L. (2015). The Impact of Age on Cognition. *Seminars in Hearing*, 36 (3), 111-121.
- Pamplona, R. (2008). Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: a causal role in aging and longevity. *Biochim. Biophys. Acta*, 1777, 1249-1262.
- Pannese, E. (2011). Morphological changes in nerve cells during normal aging. *Brain Struct Funct*, 216 (2), 85-89.
- Paradies, G., Petrosillo, G., Paradies, V., & Ruggiero, F. M. (2011). Mitochondrial dysfunction in brain aging: Role of oxidative stress and cardiolipin. *Neurochemistry International*, 58, 447-457.
- Park, D. C., & Reuter-Lorenz, P. (2009). The Adaptive Brain: Aging and Neurocognitive Scaffolding. *Annu Rev Psychol*, 60, 173-196.
- Park, D. C., Lautenschlager, G., Hedden, T., Davidson, N. S., Smith, A. D., & Smith, P. K. (2002). Models of visuospatial and verbal memory across the adult lifespan. *Psychol Ageing*, 17 (2), 299-320.
- Partusa M, G.-M. S., Mammeri, H., Adell, A. R., Mallet, J., & al., e. (2008). Expression of GDNF transgene in astrocytes improves cognitive deficits in aged rats. *Neurobiol Aging*, 29 (9), 1366-1379.
- Raz, N., & Daugherty, A. M. (2018). Pathways to Brain Aging and their Modifiers: Free-Radical Induced Energetic and Neural Decline in Senescence (FRIENDS) Model. *Gerontology*, 64 (1), 49-57.
- Resnick, S. M., Pham, D. L., A, K. M., B, Z. A., & C, D. (2003). Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. *J Neurosci*, 23 (8), 3295-3301.
- Rizzo, V., Richman, J., & Puthanveetil, S. V. (2015). Dissecting mechanisms of brain aging by intrinsic excitability of neurons. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6.
- Ruffman, T., Henry, J. D., Livingstone, V., & Phillips, L. H. (2008). A meta-analytic review of emotion recognition and aging: Implications for neuropsychological model of aging. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32, 863-881.
- Segovia, G., Porrás, A., Del Arco, A., & Mora, F. (2001). Glutamatergic neurotransmission in aging: a critical perspective. *Mech Ageing Dev*, 122 (1), 1-29.

- Sherwood, L., Klandorf, H., & Yancey, P. H. (2011). Neural Physiology. In L. Sherwood, H. Klandorf, & P. H. Yancey, *Animal Physiology, From Genes to Organisms* (Vol. II).
- Smiljanić, K., Mladenović Djordjević, A., Todorović, S., & Kanazir, S. (2017). The aging brain – molecular and metabolic changes. *Biologia Serbica* , 39 (1), 26-31.
- Spiteller, G. (2001). Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases. *Exp. Gerontol* , 36, 1425-1457.
- Stranahan, A. M., & Mattson, M. P. (2012). Recruiting adaptive cellular stress responses for successful brain ageing. *Nature Review Neuroscience* , 13, 209-216.
- Takei, Y. (2019). Age-dependent decline in neurogenesis of the hippocampus and extracellular nucleotides. *Human Cell* .
- Tapia-Arancibia, L., Aliaga, E., Silhol, M., & Arancibia, S. (2008). New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. *Brain Research Review* , 59 (1), 201-220.
- Terry, A. V., Kutiyawalla, A., & Pillai, A. (2011). Age-dependent alterations in nerve growth factor (NGF)-related proteins, sortilin, and learning and memory in rats. *Physiol Behav* , 102 (2), 149-157.
- Terry, R. D., Masliah, E., Salmon, D. P., Butters, N., DeTeresa, R., Hill, R., et al. (1991). Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* , 30 (4), 572-580.
- Tripathi, A. (2012). New cellular and molecular approaches to ageing brain. *Annals of Neuroscience* , 19 (4), 177-182.
- Troen, B. R. (2003). The biology of ageing. *The Mount Sinai Journal of Medicine* , 70 (1).
- van Dam, P. S., & Aleman, A. (2004). Insulin-like growth factor-I, cognition and brain aging. *European Journal of Pharmacology* , 490, 87-95.
- Vo, H. T., Laszczyk, A. M., & King, G. D. (2017/2018). Klotho, the Key to Healthy Brain Aging? *Brain Plasticity* , 3, 183-194.
- Volkow, N. D., Wise, R. A., & Baler, R. (2017). The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. *Nature Reviews Neuroscience* , 18, 741-752.
- von Bernhardi, R., Eugenín-von Bernhardi, L., & Eugenín, J. (2017). What is Neural Plasticity? In R. von Bernhardi, L. Eugenín-von Bernhardi, & J. Eugenín, *The Plastic Brain* (pp. 1-15). Springer.
- Whittingham, J. L., Havelund, S., & Jonassen, I. (1997). Crystal structure of a prolonged-acting insulin with albumin-binding properties. *Biochemistry* , 36.
- Yin, F., Sancheti, H., Patil, I., & Cadenas, E. (2016). Energy Metabolism and Inflammation in Brain Aging and. *Free Radic Biol Med* , 100, 108-122.
- Yu, B. P. (2005). Membrane alteration as a basis of aging and the protective effects of calorie restriction. *Mech. Ageing Dev* , 126, 1003-1010.
- Dopamine*. (n.d.). (National Center for Biotechnology Information) Retrieved 09 02, 2019, from PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dopamine>
- Serotonin* (n.d.). (National Center for Biotechnology Information) Retrieved 09 02, 2019, from PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Serotonin>

## 6. a SAŽETAK

Starenje je multifaktorijalni proces koji je pod utjecajem kumulativnih fizioloških promjena. One su rezultat stohastičnih procesa i genetskih promjena koje zajedno mijenjaju homeostazu organizma. Starenje pogađa sve organske sustave, pa tako i živčani sustav koji, zbog specifičnosti svoje stanične građe, ima dodatne mehanizme koji doprinose starenju. Kao i u periferiji, dolazi do akumulacije reaktivnih kisikovih spojeva i disfunkcije mitohondrija što dovodi do nakupljanja oštećenih staničnih komponenti i smanjivanja proizvodnje energije. To rezultira smanjenom funkcionalnošću stanica. Uz to, dolazi do mutacija i promijenjene genetičke ekspresije što dovodi do mijenjanja staničnih signalnih puteva, zbog čega dolazi do promjena u staničnoj morfologiji i funkcionalnosti. Promjene u neurotransmiterskom signaliziranju, disregulacija kalcija te promijenjena ekspresija ionskih kanala dovode do promjena u provođenju signala, smanjenoj plastičnosti sinapsa i neurona. Smanjenje neurotrofnih faktora dovodi do smanjene neurogeneze, smanjenog nicanja dendritnih nastavaka i dendrita. To dovodi do smanjenog volumena mozga. Svi ovi faktori dovode do promjena koje možemo uočiti kod osoba starije životne dobi poput smanjenja kognitivnih sposobnosti, u što ubrajamo gubitak pamćenja i smanjenje sposobnosti učenja, kao i promjene u raspoloženju i ponašanju. Sve te promjene se događaju kod normalnog starenja, ali se puno jači, slični simptomi javljaju kod osoba oboljelih od neurodegenerativnih bolesti. No, životnim stilom i promjenama u prehrani može se utjecati da se ublaže simptomi neuralnog starenja.

## **6. b SUMMARY**

Aging is a multifactor process induced by cumulative physiological changes that are a result of stochastic processes and differentiation in genetic expression which result in an altered homeostasis. Therefore, it affects all organ systems, as well as the neurological system which has other, specific, age-related mechanisms that are unique to the aging brain. As well as in the periphery, there is a rise in reactive oxygen species which leads to mitochondrial dysfunction. Also, damaged cellular compartments accumulate and energy production is decreased which results in decreased cellular functionality. Furthermore, mutations and altered genetic expression results in altered signalling pathways which consequentially ends up in different cellular morphology and functionality. Changes in neurotransmitter signalling, calcium dysregulation and expression of ion channels leads to signal transmission disruptions and decreased synaptic plasticity. Furthermore, decrease in neurotrophic factors results in decreased neurogenesis, smaller amount of dendrites and dendritic projections which affects the brain volume. All these factors are a direct cause of the age-related physical changes such as decreased cognitive abilities, alternations in mood and behaviour. These symptoms are observed in normal aging as well as in neurodegenerative diseases, but in a more fatal form. Nonetheless, with our lifestyle and dietary restriction we can influence the onset and the magnitude of the symptoms of neural aging.