

The aging mechanisms of the central nervous system in animals

Firląg M., Ostaszewski P., Bałasińska B.,
Department of Physiological Sciences, Faculty of
Veterinary Medicine, Warsaw University of Life
Sciences – SGGW

The purpose of this paper is to present a variety of aging changes and their mechanisms in the central nervous system of various animal species. These changes include modifications in macroscopic state, changes in the white and gray matter, the formation of amyloid and tau protein, pigmented lesions, vascular lesions, spheroid formation, vacuolisation and neurochemical changes. It is considered that these dysfunctions may cause in animals mental changes and perception of the environment. Familiarity and proper assessment of these changes is crucial for veterinary surgeon because of increased population of geriatric animals, especially, what concerns accompanying animals.

Keywords: aging, nervous system, geriatric animals.

Mechanizmy starzenia się ośrodkowego układu nerwowego u zwierząt

Maciej Firląg, Piotr Ostaszewski, Bożena Bałasińska

z Katedry Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Starzenie się ośrodkowego układu nerwowego zwierząt jest dynamicznym procesem, któremu towarzyszą zmiany w funkcjach fizjologicznych i szlakach biochemicznych oraz zjawiska postępującej degradacji struktur anatomicznych. Spektrum tych zmian możemy obserwować na poziomie molekuł, komórek nerwowych aż wreszcie całych regionów mózgu. Zmiany obejmują zanik mózgowia, odkładanie się amyloidu-beta, powstawanie splotków neurofibrylarnych, gromadzenie się barwników i uszkodzenia naczyń krwionośnych. Obserwuje się także przewagę procesów rozkładu nad reakcjami syntezy, wzrasta ilość wolnych rodników tlenowych, które uszkadzają DNA,

białka i tłuszcze. Wykazano także, że problemy związane ze starzeniem się organizmu mają związek nie tylko ze zmianami układowymi, ale także obejmują zmiany w psychice i postrzeganiu otoczenia. U geriatrycznych psów zaobserwowano postępujące wraz z wiekiem zmiany behawioralne, dezorientację, spadek aktywności fizycznej i utratę efektów tresury (1, 2). Przyczyny tych zjawisk upatruje się głównie w procesach modyfikacji ilości neuroprzekazników i ich receptorów odpowiedzialnych za kierowanie stanami emocjonalnymi i napędem ruchowym (2). Wiele dotychczasowych prac badawczych i przeglądowych prezentowało starzenie się mózgowia zwierząt pod kątem zróżnicowania

zmian fizjologicznych od patologicznych (1, 3) lub w kontekście poszukiwania odpowiedniego modelu zwierzęcego umożliwiającego badanie procesów starzenia u człowieka (4). Celem tej pracy jest przedstawienie najważniejszych mechanizmów powstawania zmian starczych w ośrodkowym układzie nerwowym u zwierząt.

Zmiany makroskopowe

Najczęściej opisywanym makroskopowym objawem starzenia się ośrodkowego układu nerwowego jest stopniowy zanik mózgu, który charakteryzuje się zanikiem spoidła (5), a także pogłębieniem rowków i zwężeniem zakrętów w korze płatów czołowych, skroniowych i potylicznych (6). W wyniku tego procesu masa mózgu (7) i stosunek objętości mózgu do pojemności się zmniejsza, natomiast rośnie, nawet trzykrotnie, objętość układu komorowego (5). Zjawiska te są dobrze poznane u ludzi i szczerów (8, 9), lecz rzadko opisywane u innych zwierząt (1, 10, 11). Genezy tych zjawisk upatruje się głównie w formowaniu blaszek beta-amyloidu lub odkładaniu się lipofuscyny (6). Według dyskutowanej jeszcze hipotezy kaskady amyloidu-beta pierwotnym zdarzeniem w procesie neurodegeneracji jest odkładanie blaszek amyloidowych (starczych), natomiast pozostałe zmiany mają charakter wtórny (12). W efekcie tych modyfikacji dochodzi do ogólnego zaniku kory mózgowej, zmniejszenia objętości neuronów, co szczególnie dotyczy warstwy komórek piramidalnych (13). Oprócz morfologicznych zmian kory mózgowej obserwuje się również zmniejszenie objętości mózdzku i znaczny zanik komórek Purkiniego, któremu w obrazie mikroskopowym często towarzyszy neuronofagia i satelitoza gleju Bergmanna (11). Inne obserwowane wraz z wiekiem zmiany makroskopowe mózgu zwierząt obejmują ścięczenie opon, wodogłowie *ex vacuo*, obrzęk i krwotoki (10).

Zmiany istoty białej i szarej

W badaniach porównawczych z zastosowaniem rezonansu magnetycznego u ludzi wykazano, że wraz z wiekiem zmniejsza się całkowita objętość istoty szarej i białej kory nowej oraz hipokampa. Tak wyraźnych zmian wolumetrycznych mózgu nie zaobserwowano u szympanów, co dowodzi, że zmniejszanie się objętości różnych struktur mózgu jest nowym zjawiskiem ewolucyjnym związanym z wydłużaniem się życia organizmów (14). W badaniach immunohistochemicznych Simpson i wsp. (15) wykazali, że aktywacja komórek glejowych może być związana ze zmianami w objętości istoty białej. W rejonie przykomorowym zaobserwowano większą aktywację

komórek mikrogleju z dodatnim fenotypem antygenowym MHC II, B7-2 oraz CD40 w porównaniu do kontroli i istoty białej podkorowej. Wskazuje to na różne szlaki mobilizacji komórek mikrogleju w procesie starzenia się mózgu (5).

W ośrodkowym układzie nerwowym obserwuje się również spowolnienie mieliny, które jest spowodowane rozpadem i degradacją osłonek mielinowych, a także zmianami w składzie lipidów w wieku starczym (16). Proces ten jest sprzężony przede wszystkim ze zmniejszającą się wraz z wiekiem syntezą *de novo* cholesterolu w mózgu i reakcjami utleniania (enzymatycznego i wolnorodnikowego), które prowadzą do powstawania większych ilości jego utlenionych pochodnych – oksysteroli. W badaniach u psów geriatrycznych wykazano ogólną utratę mieliny isoty białej w części czołowej mózgowia, a także akumulację fagocytów (bogatych w lipofuscynę i ceroid) w przestrzeni okołonaczyniowej, z jednocześnie zmienioną patologicznie mielinizacją w tych miejscach. Przypuszcza się, że zwiększony stopień odkładania się barwników: lipofuscyny i ceroidu był prawdopodobnie związany z degradacją i utlenianiem kwasów tłuszczowych błon biologicznych i cholesterolu pochodzącego z mieliny (17). Inne badania przeprowadzone na starych psach wykazały postępujące zmiany demielinizacyjne w ciele modzełowatym, wieńcu promienistym, torebce wewnętrznej, pniu mózgu, jądrach mózdzku, sznurach isoty białej rdzenia kręgowego oraz hipokampie. Zjawiskom tym towarzyszyła wakuolizacja mieliny, zmiany barwnikowe oraz glejoza okołonaczyniowa astrogleju (18, 19). Podobne zmiany opisano w mózgu starych kotów (11) i koni (3, 20), gdzie zaobserwowano ogniska zgębczenia isoty białej, którym często towarzyszyła wakuolizacja neuropilu i neuronów (11). W badaniach Sołtysiaka i wsp. (6) u różnych zwierząt w okolicach zmian zwyrodnieniowych istoty białej zaobserwowano obrzęk i fragmentację aksonów oraz zmiany barwnikowe makrofagów. W mózgowiu konia, niedźwiedzia i licaona w miejscach demielinizacji istoty białej spotykano ciała podobne do ciał Lafora. Ciała Lafora należą do inkluzji składających się z polimerów glukozy i są często spotykane u starych psów. U podstaw powstawania ciał Lafora leżą mutacje w genach kodujących laforynę i malinę. Powodują one uwarunkowaną genetycznie postać padaczki mioklonicznej występującej u psów.

Amyloid i białko tau

U zwierząt wraz z wiekiem dochodzi do odkładania się złogów amyloidu-beta w różnych częściach mózgu (6).

Mechanizm tego zjawiska nosi nazwę kaskady amyloidu-beta i jest związany z procesem degradacji białka prekursorowego amyloidu (amyloid- β precursor protein – APP). W warunkach fizjologicznych ponad 90% APP jest rozkładane przez α -sekretazę w wyniku czego powstaje najpierw rozpuszczalny i neuroprotektynny fragment sAPP α , a następnie z udziałem γ -sekreazy rozpuszczalny produkt końcowy – białko P3. Prawie 10% APP ulega rozkładowi w wyniku alternatywnego sposobu trawienia, w którym bierze udział β -sekretaza, która w pierwszej kolejności odcina rozpuszczalny fragment sAPP β . Dalej w wyniku działania γ -sekreazy powstają toksyczne produkty końcowe zawierające 40 lub 42–43 reszt aminokwasowych (21). Hydrofobowe fragmenty zbudowane z 42–43 aminokwasów charakteryzują się większą skłonnością do agregacji i to właśnie one tworzą płytkę amyloidową (12). W związku z małą wydajnością trawienia typu β w warunkach fizjologicznych amyloid-beta nie ulega magazynowaniu. W warunkach patologicznych występuje wzmożenie alternatywnego szlaku rozkładu APP (21). Toksyczność amyloidu-beta jest głównie związana z powodowaniem zaburzeń prowadzących do neurodegeneracji, które prowadzą do uszkodzenia neuronów, aktywacji komórek glejowych, zaburzeń w homeostazie jonów wapnia, interakcji z lipidami błon komórkowych, sprzyjaniu procesom oksydacji, tworzeniu splotków neurofibrilarnych i ostatecznie obumieraniu komórki (12).

Na podstawie obserwacji mikroskopowych powstawania blaszek amyloidu podzielono na kilka etapów. Najpierw powstaje blaszka starcza zwana pierwotną – będącą skupiskiem luźnych włókien amyloidu, następnie zmiana pierwotna przekształca się w blaszkę klasyczną. Morfologicznie blaszka klasyczna zbudowana jest z serca blaszki – amyloidowego trzonu, a wokół niego tworzy się część neurotyczna zwana koroną. Ostatnim etapem jest blaszka wypalona – będąca grudką amyloidu bez cech obecności korony neurotycznej (16). Płytki klasyczne są spotykane wyjątkowo rzadko u zwierząt (6). Poza neuropilową lokalizacją zmian amyloidowych, białko to stwierdzono w ścianie naczyń różnej wielkości. Zjawisko to nazwano kongofilną angiopatią amyloidową. Natomiast występujący często u zwierząt tzw. amyloid rozproszony (dyfuzyjny) nie posiada uformowanego kształtu blaszki starczej i jest słabo odgraniczonym, rozlanym ogniskiem, w którym znajdują się strukturalnie niezmienione neurony. Złogi rozproszone tworzy amyloid o niewłókienkowej strukturze, negatywny w barwieniach czerwinią Kongo (16).

Dotychczas fakt powstawania blaszek amyloidowych w mózgowiu opisano u starych kotów (11), psów (1, 10, 22, 23), owiec i kóz (24), niedźwiedzi (25), małp (26) i innych zwierząt (6). Płytki starcze u tych zwierząt występowały głównie w korze mózgu i jądrach podkorowych, przy czym dominował tu amyloid dyfuzyjny oraz płytki prymitywne. W pracy Capucchio i wsp. (20) u koni wykazano w korze nowej obecność płytek starczych barwiących się jedynie solami srebra (methenamine silver staining). Płytki nie wybarwiały się ani czerwienią Kongo, ani metodami immunohistochemicznymi. Świadczy to o obecności niekongofilnego pre-amyloidu dyfuzyjnego niespotykanego dotychczas u ludzi i zwierząt.

W badaniach komórek nerwowych (neuronów i komórek glejowych) z użyciem mikroskopu elektronowego zaobserwowano wraz z upływem lat powstające zmiany włókienkowe (neurofibrillary tangles – NFT), które przyjmowały formę parzystych, ślimakowato skręconych włókienek (paired helical filaments – PHF). Zjawisko to opisano jako zwyrodnienie włókienkowe wewnątrzkomórkowe. Okazało się później, że w skład struktury PHF wchodzi białko tau-1 i ubikwityna (16). Białko tau należy do grupy fosfoprotein, wiążących mikrotubule, łączy się z nimi i odpowiada za prawidłową strukturę i transport aksonalny. Ponadto uczestniczy w regulacji podziału komórkowego i zapewnia stabilność komórki nerwowej (27). W komórkach nerwowych białko to występuje w aksonach. W stanach patofizjologicznych transportowane jest do ciała komórki oraz dendrytów (12). Białko tau podlega fosforylacji z udziałem kinaz białkowych. Zaburzenia równowagi pomiędzy procesami fosforylacji i defosforylacji wpływają na zmiany regulacji aktywności białka i prowadzą do jego patologii, co przejawia się osłabieniem wiązań z mikrotubulami oraz zwiększoną skłonnością do agregacji. Białko tau nie wykazuje działania neurotoksycznego, jednakże jego akumulacja może prowadzić do osłabienia stabilności cytoszkieletu i wypierania jego niefosforylowanej postaci oraz obumierania neuronów (27). Natomiast ubikwityna jest małym białkiem szoku cieplnego, biorącym udział w degradacji zmienionych protein cytoplazmatycznych (23). Ubikwitynowane białka szybko ulegają rozpadowi z udziałem proteaz w strukturach zwanych proteosomami. W ten sposób degradowane są w cytoplazmie białka nieprawidłowo zsintetyzowane, nieprawidłowo rozmieszczone w komórce lub starzejące się (28).

Mikroskopowo proces powstawania zwyrodnienia włókienkowego poprzedza faza 0, która charakteryzuje się wybarwieniem całej komórki nerwowej

przeciwiałem przeciw tau-1. Po czym dochodzi do ukształtowania się pływających włókienek wypełniających cytoplazmę neuronu. Później można zaobserwować połączenie włókienek z ubikwityną. Po rozpadzie błony komórkowej neuronu dodatnio barwią się także tzw. cienie zwyrodnienia włókienkowego (ghost tangles; 16). Patologicznie zmienione białko tau wchodzi także w skład innej struktury cytoplazmatycznej – ciała Picka (5).

Białko tau zostało opisane u psów w neuronach hipokampa i w części ciemieniowej kory mózgowej. Zlokalizowane jest w cytoplazmie w postaci ziaren, a w aksonie i neuropilu w postaci włókienek. Natomiast ubikwitynę w tych samych badaniach wykryto w ścianach naczyń krwionośnych zawierających amyloid i istocie białej oraz makrofagach, w postaci rozproszonych ziarenek (23). Zwyrodnienie neurowłókienkowe wykazano także w hipokampie i korze skroniowej mózgu u starych niedźwiedzi, owiec, daniela, muflona, jelenia Milu, kota, lemura mongo i kapucynki czubatej (6).

Zmiany barwnikowe

Wspólnym zjawiskiem starzejących się komórek zwierząt jest akumulacja różnych barwników tłuszczowych (29). Najczęściej występujący barwnik gromadzący się wraz z wiekiem to lipofuscyna, natomiast ceroid jest związany z różnymi stanami patologicznymi (30). W obrazie mikroskopowym lipofuscyna przyjmuje postać ziarnistych, brązowych inkluzji w neuronach i innych postmitotycznych komórkach zwierząt (6). W mózgu lipofuscyna odkłada się zarówno w neuronach, jak i komórkach glejowych zajmując coraz większą objętość komórki w szczególności dużych neuronów motorycznych. Lipofuscyna jest autofluorescencyjnym konglomeratem składającym się głównie z białek (30–58%), tłuszczów (19–51%), metali – żelaza, miedzi, glinu i innych metabolitów (31). W neuronach lipofuscyna powstaje wskutek uszkodzeń błon komórkowych, np. mitochondriów pod wpływem rodników hydroksylowych. Utlenianie i inne niespecyficzne uszkodzenia komórki prowadzą do autofagocytozy i sekwestracji metabolitów w lizosomach. W lizosomach dochodzi do ostatecznej degradacji i polimeryzacji uszkodzonych fragmentów do kompleksów odpornych na enzymatyczny rozkład w wyniku czego powstają tzw. lizosomy wtórne. Lizosomy, przeciążone lipofuscyną mogą nie być zdolne do pełnienia swoich funkcji fizjologicznych, co może ostatecznie prowadzić do wzrostu stresu oksydacyjnego w neuronach i w następstwie do ich uszkodzeń (32).

Lipofuscyna występuje powszechnie w mózgowiu zwierząt geriatrycznych

zarówno wewnątrz neuronów, jak też i w komórkach neuropilu. Gromadzenie się tego barwnika wykazano również u osobników młodych (1). Obecność lipofuscyny stwierdza się głównie w rejonie kory nowej, w komórkach Purkiniego mózdzku i komórkach piramidalnych hipokampa, w jądrach podkorowych i jądrach podstawy mózdzku oraz neuronach ruchowych rdzenia przedłużonego (6). W badaniach u psów wykazano, że lipofuscyna w komórkach u młodych zwierząt występuje jako małe ziarniste depozyty okołojądrowe, natomiast w starych neuronach ziarna lipofuscyny są bardziej rozproszone w perikarionie i dendrytach bliższych neuronu (1).

Gromadzenie ceroidu obserwuje się wraz ze wzrostem stresu oksydacyjnego związanego z niedożywieniem, czynnikami dziedzicznymi, urazami, infekcjami, napromieniowaniem i niedotlenieniem (33). W mózgu obecność ceroidu stwierdza się w lizosomalnych zaburzeniach neurodegeneracyjnych, takich jak: neuronalna lipofuscynoza ceroidowa (neuronal ceroid lipofuscinosis – NCL) czy choroba Battena (31). Ceroid składa się, podobnie jak lipofuscyna, z tłuszczów i białek, i wykazuje autofluorescencję (33). Wykazano, że ważnym białkowym komponentem ceroidu jest wysoce hydrofobowa podjednostka C mitochondrialnej domeny syntazy ATP, która występuje w jego błonie komórkowej w ilości 2–4%, natomiast w chorobie Battena oraz u koni i bydła z NCL wzrasta do około 40% (34).

Neuromelanina jest brązowoczarным barwnikiem, który przyjmuje postać polimerów o wielkości ziaren około 30 nm z rdzeniem feomelaniny i powierzchnią składającą się z eumelaniny (31). Badania chemiczne pigmentu izolowanego z istoty czarnej wykazały, że komponent melaninowy (o strukturze aromatycznej) powstaje na drodze utleniania dopaminy i cysteinylodopaminy. Część białkowa stanowi około 15% masy neuromelaniny i jest związana kowalencyjnie z jednostkami melaninowymi (35). Komponent tłuszczowy (stanowi ok. 20% neuromelaniny) tworzą głównie: acyloglicerole, fosfolipidy, dolichol, kwas dolicholowy oraz kwasy tłuszczowe o różnym stopniu nasycenia (31). Nasilający się wraz z wiekiem stopień melanizacji neuronów może być formą inaktywacji cytotoksycznych o-chinonów i o-semichinonów, które są pierwszymi produktami oksydacji dopaminy (35). Ponadto element melaninowy kompleksu zapewnia dodatkową, ochronną rolę dzięki właściwościom chelatującym i akumulującym metale, zwłaszcza metale toksyczne, takie jak: rtęć i ołów (36). Zawartość neuromelaniny w poszczególnych komórkach jest zróżnicowana, największą jej ilość stwierdza się w istocie czarnej. Wykazano również, że wraz

z wiekiem w korze mózgowej, mózdzku, skorupie i innych częściach mózgu człowieka pojawiają się ziarna pigmentu o strukturze melaniny. Jednak neuromelanina w tych częściach mózgu jest mniej zasobna w część aromatyczną w porównaniu do istoty czarnej. Zaobserwowano także, że prekursorem neuromelaniny w istocie czarnej jest głównie dopamina (DA), natomiast w pozostałych częściach mózgu 3,4-dihydroksyfenyloalanina (DOPA) (36). W badaniach histologicznych istoty czarnej osób cierpiących na chorobę Parkinsona stwierdzono depigmentację tej struktury, co jest efektem deficytu dopaminy w prążkowie, spowodowanym obumieraniem neuronów dopaminergicznych istoty czarnej. Te zmiany neurodegeneracyjne prowadzą do zaburzeń koordynacji ruchowej, drżenia i sztywności mięśniowej, które są typowym przejawem klinicznym choroby Parkinsona.

Zmiany naczyniowe

W układzie naczyniowym mózgu i opon mózgowych obserwuje się postępujące z wiekiem zwiększenie sztywności tętnic i zmniejszenie ich podatności na ucisk (37). Ściany naczyń (początkowo w błonie śródkowej) ulegają hialinizacji, błona sprężysta wewnętrzna ulega ścięczeniu, a na całej grubości naczyń i w jego świetle dochodzi do proliferacji włókien łącznotkankowych (38). Pojawiają się konglomeraty naczyń zwane kłębkami naczyniowymi oraz cechy zaniku obejmujące żyły i tętniczki oraz włosniczki. Postępujący zanik mięśniówki naczyń opon i kory mózgu prowadzi do kompensacyjnego rozrostu tkanki łącznej (39). Zmiany te opisano u ludzi, starzejących psów, kotów, koni (1, 11, 20) oraz u innych gatunków zwierząt (6, 39).

Udokumentowano także postępującą mineralizację ścian naczyń krwionośnych geriatrycznych organizmów. Pojawiające się depozyty mineralne tworzą przede wszystkim jony wapnia, fosforanów, żelaza, cynku i są zatopione w mukopolisacharydowej macierzy głównie w obszarze jąder podstawy mózgu (40). Mineralizację scharakteryzowano w mózgowiu ludzi (41), małp (40), psów (10) koni (3, 20) i kotów (11, 42).

Ponadto stwierdza się zmiany zapalne i zakrzepy, powodujące osłabienie ścian i wzrost ich przepuszczalności (39). Z wiekiem organizmu osłabieniu ulega szczelność bariery krew–płyn mózgowo-rdzeniowy, co wykazano z zastosowaniem oznaczeń albuminy w tych płynach ustrojowych bez wykrywalnego uszkodzenia strukturalnego (43). Zwiększona przepuszczalność dla białek i aktywacja poliwalentnych komórek błony mięśniowej początkowo związana jest z procesami gojenia, później

jednak może przerodzić się we włóknienie. Takie zmiany w ścianach naczyń krwionośnych prowadzą do stwardnienia, pogrubienia i zwężenia ich światła, a w konsekwencji do nieprawidłowego ukrwienia mózgu. Wtórny, nieswoisty naczyniopochodny zanik mózgu jest wynikiem upośledzenia mikrokrążenia mózgowego (39). Przewlekła hipoperfuzja może prowadzić w konsekwencji do stwardnienia różnych struktur, np. hipokampu, a w konsekwencji do jego zaniku (38). Starzenie się ośrodkowego układu nerwowego dotyczy także naczyń spłotów naczyniówkowych, w których zaobserwowano spłaszczenie komórek nabłonka spłotów z obecnością wakuolizacji oraz srebrochłonnych pierścieniowatych lub okrągłych wtrętów zawierających żelazo. Wraz z wiekiem zwiększa się ilość ciał piaszczakowatych w podścielisku brodawek spłotów (5). Poszerzenie przestrzeni okołonaczyniowej spowodowane przez obkurczenie tkanki nerwowej przez rozplem gleju włóknistego często prowadzi do powstawania stanu zatokowatego (38). Sołtysiak i wsp. (6) wykazali obecność stanu zatokowatego u starzejących się zwierząt w ciele prążkowanym, hipokampie, korze i pniu mózgu, a także rzadziej wokół naczyń rdzenia przedłużonego. Ponadto w badaniach tych zaobserwowano liczne wynaczynienia w korze skroniowej, ciemieniowej, mózdzku i rdzeniu przedłużonym, a u niedźwiedzia na obwodzie zażułka krwotocznego zlokalizowano gleję okołonaczyniową. Przewlekła proliferacja gleju, ze wzmoczeniem jej spistości może prowadzić do wtórnego poszerzenia układu komorowego i przestrzeni okołonaczyniowych (38).

Progresywnie wraz z wiekiem w ścianach średnich i małych żył i tętnic, naczyń opon mózgowych oraz kapilar odkłada się amyloid-beta. U ludzi amyloidoza naczyń jest drugą przyczyną krwotoków mózgu, zaraz po miażdżycy (44). Podobnie u zwierząt obecność amyloidu ścian naczyń opon miękkich i kory mózgu jest często powiązana z krwotokiem domózgowym. Kongofilną amyloidową angiopatię w ścianach naczyń potwierdzono u różnych zwierząt (kotów, psów, małp, niedźwiedzi, lwa, lisa, likaona), z wyjątkiem konia (6).

Sferoidy

Dystrofia aksonów i sferoidy (obrzęk aksonów) są charakterystyczną cechą różnych uszkodzeń w ośrodkowym układzie nerwowym. Sferoidy są to struktury o kształcie okrągłym lub podłużnym, o średnicy pomiędzy 10 a 50 μm , które często, choć nie zawsze, tworzą buławkowate zakończenie aksonu i wypełniają się uszkodzonymi neurofilamentami, mikrotubulami i innymi inkluzjami (45).

Badania immunohistochemiczne wykazały w obrębie sferoidów akumulację ubikwityny, alfa-B krystaliny, białka tau oraz innych protein neurofilamentów o wielkości 200 kDa. Ponadto zaobserwowano odkładanie się żelaza i neuromelaniny w pobliżu tych struktur (26). Sferoidy są niespecyficzną odpowiedzią na różne uszkodzenia, np. urazy, niedotlenienie, intoksykację, niedobory żywieniowe (6). Występują w mózgu podczas fizjologicznego starzenia się oraz w niektórych chorobach (45). Aksonalne sferoidy obserwuje się również w ośrodkowym układzie nerwowym w zwojach autonomicznych, często progresywnie do wieku (6). Uważa się, że powstają one w wyniku zwyrodnienia aksonów i astrogleju (26). Występowanie sferoidów opisano u starzejących się ludzi (46), małp (26), psów (1), kotów (11) i koni (3).

Wakuolizacja

Zwyrodnienie ziarnisto-wodniczkowe Simochowicza dotyczy neuronów warstwy piramidowej hipokampa i polega na pojawieniu się w cytoplazmie licznych wodniczek zawierających srebrochłonne ziarenka (6). Podobnym zjawiskiem opisanym przez Hoppera (47) była postępująca progresywnie wraz z wiekiem wakuolizacja mózgu u owiec. W badaniach u starych kotów zaobserwowano wakuolizację neuropilu, która cechowała się występowaniem wakuol o różnym kształcie w neuronach mostu i rdzenia oraz zgąbczałej istocie białej, sporadycznie zaś występowała w mózdzku i pniu mózgu. Pojedyncze wakuole pojawiały się także w neuronach kory mózgowej i komórkach Purkiniego. U młodych zwierząt nie zarejestrowano tych zmian (11). Natomiast Jahns i wsp. (3) w badaniach ośrodkowego układu nerwowego u koni wykazali wakuolizację istoty białej, parenchymy i innych struktur mózgu, jednak te zmiany nie korelowały z wiekiem zwierząt. Wakuolizację neuronów obserwuje się u zwierząt w przypadku różnych zaburzeń i zmian neurodegeneracyjnych (encefalopatia gąbczasta), przy czym mechanizmy tych zmian nie są dotychczas w pełni wyjaśnione (11).

Zmiany neurochemiczne

Zmianom strukturalnym w starzejącym się mózgu zwierząt towarzyszy obniżenie liczby synaps, co może negatywnie wpływać na transmisję neuronalną i powodować modyfikacje w ekspresji i dystrybucji neuroprzekazników. Wykazano, że zjawisko to jest uzależnione od regionu mózgu, boiem, np. u szczurów w korze asocjacyjnej obserwuje się spadek gęstości synaps nawet o 22%, natomiast w motorycznej korze mózgowej o 9% (48). Badania strukturalne

pokazały, że w procesie starzenia w synapsach zmniejsza się ilość mitochondriów i pęcherzyków synaptycznych, dochodzi do redukcji mikrotubul, a także obniżenia powierzchni presynaptycznej. Powoduje to reakcję kompensacyjną, która sprawia, że następuje zwiększenie średniej powierzchni postsynaptycznej (49). W procesach regeneracyjnych te duże synapsy powinny ulegać dalszej fragmentacji, co następuje w starzejących się neuronach i jest przejawem niepełnej regeneracji komórek nerwowych (5). Te zmiany strukturalne w synapsach mogą z kolei wpływać na funkcje systemów cholinergicznym, serotoninowym, dopaminergicznym i glutaminergicznym, jednak wciąż brak spójnych danych na temat korelacji tych zmian wraz ze starzeniem. Już w latach 80. XX wieku, w badaniach mózgu starzejących się ludzi (50), małp (51) i zwierząt laboratoryjnych (52), wykazano zmiany aktywności acetylotransferazy cholinowej, a także endogenne zmiany w stężeniu noradrenaliny, serotoniny i kwasu homowanilinowego w porównaniu do młodych osobników. Obniżenie stężenia acetylocholino, która odgrywa istotną rolę w procesach pamięciowych prowadzi do pogorszenia pamięci i umiejętności rozwiązywania problemów. Natomiast osłabienie wrażliwości funkcjonowania receptorów serotoninergicznym przejawia się zaburzeniami łaknienia, nastroju i snu u ssaków w podeszłym wieku. Kolejne badania ukazały również zależne od wieku obniżenie syntezy glutaminy (53) i dopaminy (54). Biochemiczne pomiary zawartości dopaminy i jej metabolitów u starych małp wykazały 50% spadek w porównaniu do osobników młodych (51, 55). Zmiany te tłumaczy się głównie zmniejszeniem czynności metabolicznej neuronów wraz z wiekiem oraz zachwianiem równowagi pomiędzy różnymi systemami neuroprzekazników. W procesie starzenia niewyjaśniona pozostaje rola dwóch głównych neuroprzekazników w ośrodkowym układzie nerwowym: kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) i aminokwasów pobudzających – glutaminianów, pochodnych kwasu glutaminowego. Glutaminian, który działa silnie pobudzająco na neuron postsynaptyczny ma 4 typy receptorów, w tym NMDA, AMPA, receptory kainianowe oraz receptory metabotropowe dla glutaminy (mGluR). Neurony glutaminianergiczne występują głównie w korze mózgowej, hipokampie i mózdzku (56). Wykazano spadek stężenia glutaminy w hipokampie i korze przedczołowej, przy braku zmian w korze ciemieniowej i skroniowej (57). W badaniach mózgu małp i gryzoni odnotowano także utratę receptorów glutaminy, co prowadziło do zmniejszenia wiązania tego neuroprzekaznika z NMDA (58, 59). W neuronach

tworzących długie połączenia korowo-korowe pomiędzy skroniową i czołową korą asocjacyjną zaobserwowano również, oprócz obniżenia poziomu NMDA, podobne zmiany w receptorach AMPA (60). Ponadto wykazano związane z wiekiem różne ilościowe modyfikacje podjednostek NMDA. Na przykład poziom mRNA zarówno dla podjednostki NR1, jak i NR2B zmniejsza się w korze mózgowej, podczas gdy podjednostka NR2A nie wykazuje takich zmian (61). Brak utraty podjednostki NR2A sugeruje zmiany biochemiczne w wybranych częściach receptorów.

Najważniejszym hamującym neuroprzekaznikiem w korze mózgowej jest GABA. Neuroprzekaznik ten uczestniczy w hamowaniu presynaptycznym, zwiększając przewodnictwo kanałów jonowych potasowych i chlorkowych. W rzeczywistości ok. 10–15% neuronów korowych należy do systemu GABA-ergicznego (62). Receptory GABA w mózgu można podzielić na podtypy GABAA i GABAB. Choć jest wiele dowodów na spadek wraz z wiekiem stężenia GABA, nie ma jednoznacznych wyników badań dotyczących ilości receptorów dla tego neuroprzekaznika. W przeciwieństwie do receptorów glutaminianu receptory GABAA wykazywały albo zmniejszone wiązanie (63) bądź też zbliżone do występującego u młodych osobników (58). Interesująca jest obserwacja, że mimo znacznego obniżenia poziomu mRNA różnych podjednostek GABAA wraz z wiekiem, nie wykazano zmian w ekspresji białek dla tych podjednostek. Receptory GABAB wykazywały również niewielkie zmiany związane z wiekiem (64). Obserwacje te sugerują, że receptory GABA-ergiczne mogą być mniej narażone na proces starzenia niż receptory glutaminy. Wykazano jednak zmniejszenie wiązania przez receptory GABAA pikrotoksyny, która wymaga otwartego kanału/receptora w korze mózgowej starzejących się organizmów (65). Wyniki te dowodzą, że właściwości kinetyczno-strukturalne, w przeciwieństwie do gęstości receptorów GABA-ergicznym ulegają modyfikacji w procesie starzenia.

Podsumowanie

Zarówno u ludzi, jak i zwierząt wykazano zależne od wieku zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym, przy czym w wielu przypadkach mechanizmy tych zmian są do siebie bardzo zbliżone. W wyniku starzenia się mózgowia obserwuje się zatem istotne różnice na poziomie anatomicznym, fizjologicznym, jak i biochemicznym w porównaniu do osobników młodych. Systematycznie poprawiający się stan opieki weterynaryjnej, jak również lepsze żywienie powodują wzrost odsetka osobników

geriatrycznych, zwłaszcza wśród zwierząt towarzyszących. Wydaje się więc, że zjawisko starzenia się mózgu i choroby neurodegeneracyjne u zwierząt będą coraz częściej stanowić wyzwanie także dla ich właścicieli, a nie tylko dla lekarzy weterynarii.

Piśmiennictwo

- Borras D., Ferrer I., Pumarola M.: Age-related changes in the brain of the dog. *Vet. Pathol.* 1999, **36**, 202-211.
- Kudła J.: Zaburzenia behawioralne u psów i kotów w podeszłym wieku. *Mag. Wet.* 2006, **15**, 38-40.
- Jahns H., Callanan J. J., McElroy C. M., Sammin D. J., Basset H. F.: Age-related and non-age-related changes in 100 surveyed horse brains. *Vet. Pathol.* 2006, **43**, 740-750.
- Firląg M., Kamaszewski M., Gaca K., Bałasińska B.: Age-related changes in the central nervous system in selected domestic mammals and primates. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2013, **67**, 269-275.
- Plotek W.: Starzenie się ośrodkowego układu nerwowego i anestezja. *Anestezjologia i Ratownictwo* 2008, **1**, 35-43.
- Sołtyśkiak Z., Nowak M.: Zmiany neuropatologiczne mózgowia starych zwierząt. *Med. Weter.* 2007, **63**, 1071-1076.
- Ho K. C., Roessmann U., Straumfjord J. V., Monroe G.: Analysis of brain weight. Adult brain weight in relation to sex, race, and age. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1980, **104**, 635-639.
- Jernigan T. L., Archibald S. L., Fennema-Notestine C., Gamst A. C., Stout J. C., Bonner J.: Effects of age on tissues and regions of the cerebrum and cerebellum. *Neurobiol. Aging* 2001, **22**, 581-594.
- Nandy K.: Morphological changes in the cerebellar cortex of aging *Macaca nemestrina*. *Neurobiol. Aging* 1981, **2**, 61-64.
- Haziroglu R., Guvenç T., Tunca R., Ozsoy S. Y., Ozyildiz Z.: Evaluation of the age related changes in dog brains. *Revue Med. Vet.* 2010, **161**, 72-78.
- Ozsoy S. Y., Haziroglu R.: Age-related changes in cat brains as demonstrated by histological and immunohistochemical techniques. *Revue Med. Vet.* 2010, **161**, 540-548.
- Kubis A. M., Janusz, M.: Choroba Alzheimerowa - nowe możliwości terapeutyczne oraz stosowane modele eksperymentalne. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2008, **62**, 372-392.
- Rogers J., Zornetzer F. S., Bloom E. E., Mervis, E. R.: Senescent microstructural changes in rat cerebellum. *Brain Res.* 1984, **292**, 23-32.
- Sherwood C. C., Gordon A. D., Allen J. S., Phillips A. K., Erwin J. M., Hof P. R., i inni.: Aging of the cerebral cortex differs between humans and chimpanzees. *PNAS* 2011, **108**, 13029-13034.
- Simpson J. E., Ince P. G., Higham C. E., Gelsthorpe C. H., Fernando M. S., Matthews F., i inni.: Microglial activation in white matter lesions and nonlesional white matter of ageing brains. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2007, **33**, 670-683.
- Dymek J., Kulczycki J.: *Neuropatologia kliniczna*. Instytut Psychiatrii i Neurologii, Warszawa 1997.
- Chambers J. K., Uchida K., Nakayama H.: White matter myelin loss in the brains of aged dogs. *Exper. Gerontol.* 2012, **4**, 263-269.
- Shimada A., Kuwamura M., Awakura T., Umemura T., Itakura C.: An immunohistochemical and ultrastructural study on age-related astrocytic gliosis in the central nervous system of dogs. *J Vet Med Sci.* 1992, **54**, 29-36.
- Ferrer I., Pumarola M., Rivera R., Zújar M. J., Cruz-Sánchez F., Vidal A.: Primary central white matter degeneration in old dogs. *Acta Neuropathol.* 1993, **86**, 172-5.
- Capucchio M. T., Márquez M., Pregel P., Foradada L., Bravo M., Mattutino G., i inni.: Parenchymal and vascular lesions in ageing equine brains: histological and immunohistochemical studies. *J Comp Pathol.* 2010, **142**, 61-73.
- Drzewińska J., Pułaski Ł., Soszyński M., Bartosz G.: Seladin-1/DHCR24: A key protein of cell homeostasis and cholesterol biosynthesis. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2009, **63**, 318-330.
- Yoshino T., Uchida K., Tateyama S., Yamaguchi R., Nakayama H., Goto N.: A retrospective study of canine senile plaques and cerebral amyloid angiopathy. *Vet. Pathol.* 1996, **33**, 230-234.
- Rofina J., Singh K., Skoumalova-Vesela A., Ederer A. M., Asten A., Wilhelm J., i inni.: Histochemical accumulation of oxidative damage products is associated with Alzheimer-like pathology in the canine. *Amyloid: J. Protein Folding Disord.* 2004, **11**, 90-100.
- Braak H., Braak E., Strothjohann, M.: Abnormally phosphorylated tau protein related to the formation of

- neurofibrillary tangles and neuropil threads in the cerebral cortex of sheep and goat. *Neurosci. Lett.* 1994, **25**, 1-4.
25. Uchida K., Yoshino T., Yamaguchi R., Tateyama S., Kimoto Y., Nakayama H.: Senile plaques and other senile changes in the brain of an aged American black bear. *Vet. Pathol.* 1995, **32**, 412-414.
 26. Marquez M., Serafin A., Fernandez-Bellon H., Serrat S., Ferrer-Admetlla A., Bertranpetit J.: Neuropathologic findings in an aged albino gorilla. *Vet. Pathol.* 2008, **45**, 531-537.
 27. Pokryszko-Dragan A., Zagrajek M. M., Slotwiński K.: Taupatie- choroby zwyrodnieniowe ośrodkowego układu nerwowego związane z patologią białka tau. *Postępy Hig Med Dosw.* 2005, **59**, 386-391.
 28. Bubko I., Gruber B. M., Anuszewska E. L.: Rola proteasomu w terapii chorób neurodegeneracyjnych. *Postępy Hig Med Dosw.* 2010, **64**, 314-325.
 29. Mochizuki Y., Park M., Mori T., Kawashima, S.: The Difference in autofluorescence features of lipofuscin between brain and adrenal. *Zoological Science.* 1995, **12**, 283-288.
 30. Edwards J., Storts R., Joyce J., Shelton J., Menzies C.: Juvenile-onset neuronal ceroid-lipofuscinosis in Rambouillet sheep. *Vet. Pathol.* 1994, **31**, 48-54.
 31. Sulzer D., Mosharov E., Talloczy Z., Zucca F. A., Simon J. D., Zecca L.: Neuronal pigmented autophagic vacuoles: lipofuscin, neuromelanin, and ceroid as macroautophagic responses during aging and disease. *J Neurochem.* 2008, **106**, 24-36.
 32. Brunk U., Jones C., Sohal R.: A novel hypothesis of lipofuscinogenesis and cellular aging based on interaction between oxidative stress and autophagy. *Mut. Res.* 1992, **275**, 395-403.
 33. Tohma H., Hepworth A. R., Shavlakadze T., Grounds M. D., Arthur, P. G. Quantification of ceroid and lipofuscin in skeletal muscle. *J Histochem Cytochem.* 2011, **59**, 769-779.
 34. Martinus R. D., Harper P. A., Jolly R. D., Bayliss S. L., Midwinter G. G., Shaw G. J., i inni.: Bovine ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease): The major component stored is the DCCD-reactive proteolipid, subunit c, of mitochondrial ATP synthase. *Vet. Res. Commun.* 1991, **15**, 85-94.
 35. Stepień K., Dzierżęga-Lęcznar A., Tam L.: Rola neuromelaniny w chorobie Parkinsona- nowe koncepcje. *Wiad Lek.* 2007, **60**, 563-569.
 36. Zecca L., Bellei C., Costi P., Albertini A., Manzani E., Casella L.: New melanic pigments in the human brain that accumulate in aging and block environmental toxic metals. *PNAS* 2008, **105**, 17567-72.
 37. Wei J.Y.: Understanding the aging cardiovascular system. *Ger Gerontol Int.* 2004, **4**, 298-S303.
 38. Nowacki P., Nowik M.: Neuropatologia ołepienia naczyniowego. *Udar Mózgu* 2004, **6**, 17-26.
 39. Sołtyśiak Z., Barcikowska M., Gajda M., Pawlas M.: Stwardnienie ścian naczyń i zapalenie tętnic mózgowych przyczyną udarów i krwotoków u starych zwierząt. *Med. Weter.* 2006, **62**, 1028-1032.
 40. Yanai T., Masegi T., Ueda K., Manabe J., Teranishi M., Takaoka M.: Vascular mineralization in the monkey brain. *Vet. Pathol.* 1994, **31**, 546-552.
 41. Gomez C. R.: Microvasculopathy may precede idiopathic cerebral calcifications. *Angiology.* 1989, **40**, 67-72.
 42. Mandara M.: Meningial blood vessel calcification in the brain of the cat. *Acta Neuropathol.* 2003, **105**, 240-244.
 43. Pakulski C., Drobnik L., Millo B.: Age and sex as factors modifying the function of the blood-cerebrospinal fluid barrier. *Med Sci Monit.* 2000, **6**, 314-318.
 44. Mendel T., Wierzbza-Bobrowicz T., Stepień T., Szpak, G.: M. beta-amyloid deposits in veins in patients with cerebral amyloid angiopathy and intracerebral haemorrhage. *Folia Neuropathol.* 2013, **51**, 120-126.
 45. Mi W., Beirowski B., Gillingwater H. T., Adalbert R., Wagner D., Grumme D.: The slow Wallerian degeneration gene, WldS, inhibits axonal spheroid pathology in fragile axonal dystrophy mice. *Brain* 2005, **128**, 405-416.
 46. Arai N., Mizutani T., Morimatsu, Y.: Foamy spheroid bodies in the globus pallidus and the substantia nigra pars reticulata: an investigation on regional distribution in 56 cases without neurodegenerative diseases. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1993, **422**, 307-311.
 47. Hooper P. T.: Incidental lesions in the brain of sheep and goats. *Aust. Vet. J.* 1999, **77**, 398-399.
 48. Markus E. J., Petit T. L.: Neocortical synaptogenesis, aging, and behavior: lifespan development in the motor-sensory system of the rat. *Exp. Neurology.* 1987, **96**, 262-278.
 49. Wong T. P.: Aging of the cerebral cortex. *MJM.* 2002, **6**, 104-113.
 50. Perry R. H., Perry E. K., Smith C. J., Xuereb J. H., Irving D., Whitford C. A.: Cortical neuropathological and neurochemical substrates of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J Neural Transm.* 1987, *Suppl* 24, 131-136.
 51. Wenk G. L., Pierce D. J., Struble R. G., Price D. L., Cork, L. C.: Age-related changes in multiple neurotransmitter systems in the monkey brain. *Neurobiol Aging.* 1989, **10**, 11-19.
 52. Wu C. F., Bertorelli R., Sacconi M., Pepeu G., Consolo S.: Decrease of brain acetylcholine release in aging freely-moving rats detected by microdialysis. *Neurobiol Aging.* 1988, **9**, 357-361.
 53. Tyce G. M., Wong K. L.: Conversion of glucose to neurotransmitter amino acids in the brains of young and aging rats. *Exp. Gerontol.* 1980, **15**, 527-532.
 54. Dawson J. R., Wallace D. R., Meldrum M. J.: Endogenous glutamate release from frontal cortex of adult and aged rats. *Neurobiol. Aging.* 1989, **10**, 665-668.
 55. Goldman-Rakic P. S., Brown R. M.: Regional changes of monoamines in cerebral cortex and subcortical structures of aging rhesus monkeys. *Neuroscience* 1981, **6**, 177-187.
 56. Cotman C. W., Monaghan D. T., Ottersen O. P., Storm-Mathisen J.: Anatomical organization of excitatory amino acid receptors and their pathways. *Trends Neurosci.* 1987, **10**, 273-280.
 57. Banay-Schwartz M., Lajtha A., Palkovits M.: Changes with aging in the levels of amino acids in rat CNS structural elements. I. Glutamate and related amino acids. *Neurochem. Res.* 1989, **14**, 555-562.
 58. Wenk G. L., Walker L. C., Price D. L., Cork L. C.: Loss of NMDA, but not GABA-A, binding in the brains of aged rats and monkeys. *Neurobiol Aging.* 1991, **12**, 93-98.
 59. Bai L., Hof P. R., Standaert D. G., Xing Y., Nelson S. E., Young A. B.: Changes in the expression of the NR2B subunit during aging in macaque monkeys. *Neurobiol. Aging* 2004, **25**, 201-208.
 60. Hof P. R., Duan H., Page T. L., Einstein M., Wincinski B., He Y.: Age-related changes in GluR2 and NMDAR1 glutamate receptor subunit protein immunoreactivity in corticocortically projecting neurons in macaque and pata monkeys. *Brain Res.* 2002, **928**, 175-186.
 61. Magnusson K. R. Declines in mRNA expression of different subunits may account for differential effects of aging on agonist and antagonist binding to the NMDA receptor. *J Neurosci.* 2000, **20**, 1666-1674.
 62. Penny G. R., Afsharpour S., Kitai, S. T.: The glutamate decarboxylase-, leucine enkephalin-, methionine enkephalina and substance P-immunoreactive neurons in the neostriatum of the rat and cat: evidence for partial population overlap. *Neuroscience* 1986, **17**, 1011-1045.
 63. Govoni S., Memo M., Saiani L., Spano P. F., Trabucchi, M.: Impairment of brain neurotransmitter receptors in aged rats. *Mech. Aging Develop.* 1980, **12**, 39-46.
 64. Turgeon S. M., Albin, R. L.: GABAB binding sites in early adult and aging rat brain. *Neurobiol. Aging.* 1994, **15**, 705-711.
 65. Mhatre M. C., Fernandes G., Ticku, M. K.: Aging reduces the mRNA of alpha 1 GABAA receptor subunit in rat cerebral cortex. *Europ. J. Pharmacol.* 1991, **208**, 171-174.