

GRAŻYNA NIEWIADOMSKA

Zakład Neurofizjologii

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN

Pasteura 3, 02-093 Warszawa

e-mail: gwn@nencki.gov.pl

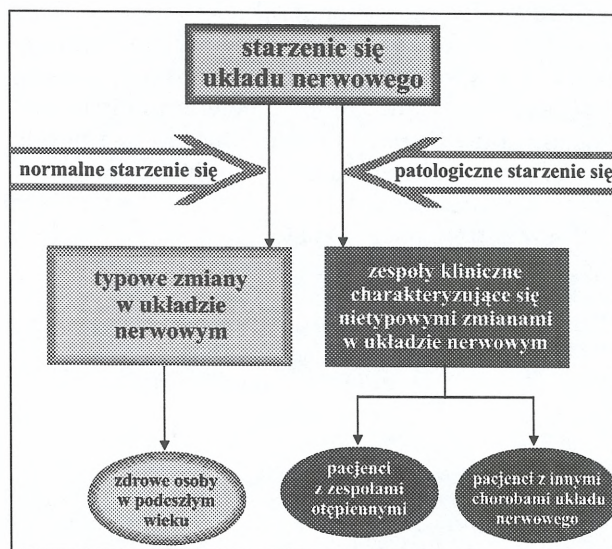
STARZEJĄCY SIĘ MÓZG — ZMIANY STRUKTURALNE I CZYNNOŚCIOWE

WSTĘP

Mózg, podobnie jak inne organy i tkanki, posiada pewną zdolność do zmian plastycznych, która pozwala mu kompensować niekorzystne wpływy środowiska zewnętrznego lub nieprawidłowości przemian biologicznych zachodzące w obrębie samej tkanki nerwowej. Ta zdolność adaptacji maleje jednak z wiekiem. To oznacza, że w miarę upływu czasu dojrzały układ nerwowy staje się coraz bardziej wrażliwy na różne neurotoksyczne substancje i nie jest zdolny do skutecznej obrony przed ich uszkadzającym wpływem. W przypadku mózgu szczególnie ważny problem stanowi fakt, że jest to tkanka o bardzo ograniczonych możliwościach regeneracji, a neurony są komórkami, które po okresie dojrzewania zasadniczo (są pewne wyjątki) utraciły zdolność do replikacji.

Podręczniki i opracowania opisujące układ nerwowy przedstawiają budowę i funkcję struktury, której działanie uznajemy za normalne, to znaczy pozbawione zmian patologicznych. Również opisując zmiany jakie zachodzą w układzie nerwowym w wyniku starzenia się należy wyraźnie rozgraniczyć pomiędzy „normalne” starzejącym się mózgiem, a zmianami jakie zachodzą w układzie nerwowym w wyniku różnorodnych procesów patologicznych (Ryc. 1). W układzie nerwowym normalne starzenie się nie objawia się dramatycznymi zmianami struktury, a jego wynikiem jest spowolnienie i pogorszenie jakości funkcji układu nerwowego u w zasadzie zdrowych osobników. Natomiast zmiany będące wynikiem procesów patologicznych prowadzą do rozwoju różnorodnych zespołów klinicznych, wśród których najczęstszymi są tak zwane zespoły otępienne (demencje).

Jednym z najpoważniejszych jest choroba Alzheimera. Te procesy chorobowe są zwykle nieodwracalne, objawiają się poważnymi zaburzeniami strukturalnymi, w tym wymieraniem neuronów oraz powstawaniem patologicznych tworów w tkance mózgowej i prowadzą do utraty zdolności poznawczych i intelektualnych.



Ryc. 1. Normalne i patologiczne starzenie się układu nerwowego to dwa odrębne procesy.

W tym artykule przedstawione zostaną neuroratomiczne i neurofizjologiczne zmiany jakie pojawiają się w ośrodkowym układzie nerwowym w wyniku normalnego starzenia się. Większość omawianych poniżej faktów dotyczy procesu starzenia się mózgu u człowieka, jednak część z nich została uzyskana w badaniach na zwierzętach. Należy przy tym zaznaczyć, że ba-

dania laboratoryjne procesów starzenia się układu nerwowego są szczególnie trudne z uwagi na niezwykle złożoność struktury i funkcji tego organu. Trudność stanowi także właściwe

dobranie modeli zwierzęcych do takich badań. Stąd wnioski uzyskane w tych badaniach bardzo ostrożnie należy odnosić do naszego gatunku.

ZMIANY STRUKTURALNE W STARZEJĄCYM SIĘ MÓZGU

MAKROSKOPOWE ZMIANY W STARZEJĄCYM SIĘ MÓZGU

Najbardziej uderzającą zmianą, pojawiającą się w mózgu wraz z wiekiem, jest ubytek zawartości wody w komórkach nerwowych (DESBORDES i COHADON 1997). Należy zaznaczyć, że dotyczy to jedynie wnętrza komórek, natomiast w przestrzeni międzykomórkowej zawartość wody nie zmienia się. Około 50 roku życia masa uwodnionej tkanki mózgowej zaczyna maleć (średnio z 1400 g u dwudziestoletniego mężczyzny do 1200 g w wieku 65 lat). Obniżenie uwodnionej masy mózgu obserwowano także u starych zwierząt laboratoryjnych. Ubytek wody z komórek nerwowych prowadzi do znaczącego wzrostu zawartości białka w neuronach (Ryc. 2) i ma wpływ na przebieg procesów metabolicznych i aktywność neuronów. Utrata wody prowadzi do obkurczenia neuronów i do zmniejszenia z wiekiem objętości struktur mózgowych. Nie wszystkie okolice mózgu są jednakowo podatne na te zmiany. Pewne okolice kory mózgu, na przykład kora ciemieniowa i potyliczna, które zawierają dużo małych neuronów (tzw. komórek ziarnistych), nie tracą więcej niż 8% swej objętości. Dzieje się tak dlatego, że neurony ziarniste tracą znacznie mniej wody

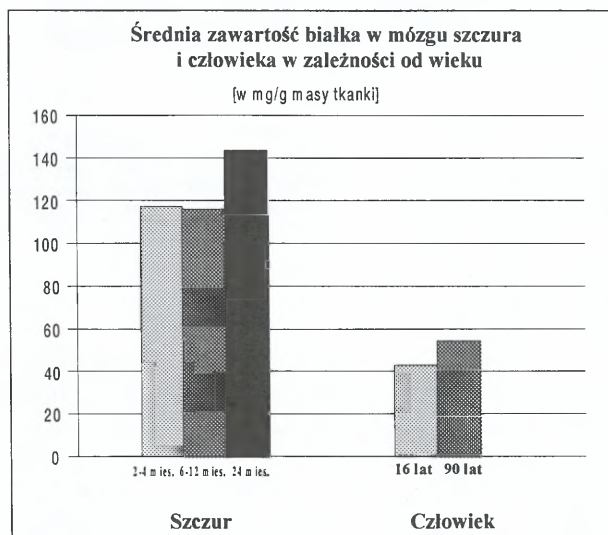
niż duże neurony piramidalne. Dlatego znacznie większe zaburzenia strukturalne obserwuje się w asocjacyjnej korze czołowej (–15%) oraz szczególnie nasilone w korze ruchowej (–20%).

Dzięki możliwości nieinwazyjnego obrazowania mózgu (techniki tomografii komputerowej) stwierdzono także, że z wiekiem zmienia się jego makroskopowy wygląd, powiększają się komory mózgu, natomiast bruzdy pomiędzy poszczególnymi zwojami kory mózgowej poszerzają się. Istnieje jednak bardzo duża zmienność indywidualna w obrębie tych cech. Ponadto zmiany te zależne są także od płci. U mężczyzn pojawiają się wcześniej (ok. 40 roku życia) niż u kobiet i zwykle są bardziej nasilone (METCALFE 1998).

LICZBA KOMÓREK NERWOWYCH NIE ZMNIEJSZA SIĘ Z WIEKIEM

Od połowy lat pięćdziesiątych wraz z opublikowaniem wyników badań morfometrycznych BRODYEGO (1955) uważano, że u człowieka w czasie starzenia się znacznie maleje liczba neuronów w korze mózgowej, co jest przyczyną poważnego obniżenia zdolności poznawczych i intelektualnych ludzi starych. Badania te obarczone były jednak poważnymi błędami metodycznymi. Jedynie dzięki wielkiemu autorytetowi naukowemu BRODYEGO, który był znakomitym neuroanatomem, przyjęto je niemal powszechnie lekceważąc nieliczne doniesienia wskazujące na brak zmian liczby neuronów korowych u osób starszych (CRAGG 1975). Wprowadzenie przez GUNDENSENA i współaut. (1988) nowej stereologicznej metody zwanej metodą disektora pozwoliło w sposób zobiektywizowany zweryfikować wyniki wcześniejszych badań. Obecnie większość danych otrzymanych u ludzi oraz u małp naczelnych świadczy o tym, że liczba komórek nerwowych w mózgu nie zmniejsza się znacząco wraz z wiekiem (PETERS i współaut. 1998, WITELSON i współaut. 1992).

Nie oznacza to, że komórek w mózgu nie ubywa wcale. Szacuje się, że codziennie obumiera około 100 tys. neuronów w korze mózgu, co jednak nie stanowi wielkiej straty wobec ogólnej liczby komórek w korze (średnio ok. $16,5 \times 10^9$). Ponadto w pewnych okolicach mózgu ubywa więcej neuronów niż w innych. W



Ryc. 2. Zmiany zawartości białka w neuronach człowieka i szczura związane z odwodnieniem komórek nerwowych (szczegóły w tekście).

trakcie normalnego starzenia się prawie nie obserwuje się wymierania neuronów w strukturach pnia mózgu oraz w strukturze nazywanej istotą czarną. Jest to o tyle ciekawe, że w chorobie Parkinsona, która dotyka ludzi starych, właśnie w tej okolicy mózgu degenerują niemal wszystkie neurony dopaminergiczne (syntetyzujące neuroprzekaznik dopaminę). Natomiast strukturą wrażliwą na obumieranie neuronów jest mózdzek, w którym najbardziej dotkniętą populacją są tak zwane komórki Purkiniego (HAUG i EGGERS 1991). Ponieważ mózdzek zaangażowany jest w kontrolę motoryki ciała, a przy tym również w korze ruchowej występują stosunkowo poważne zmiany morfologiczne, to nie dziwnego, że u ludzi starych obserwuje się znaczne pogorszenie funkcji ruchowych.

Należy jednak podkreślić wyraźnie, że opisane wyżej zmiany liczby neuronów w normalnie starzącym się mózgu są nieznaczne w porównaniu z ich naprawdę masowym wymieraniem w różnych chorobach neurodegeneracyjnych. Dotyczy to na przykład neuronów ruchowych pnia mózgu i rdzenia kręgowego oraz neuronów piramidalnych kory ruchowej w chorobach z zaburzeniami układu ruchowego, neuronów dopaminergicznych istoty czarnej w chorobie Parkinsona i neuronów cholinergicznych okolicy podstawnej mózgu w chorobie Alzheimera. Ponadto cechą charakterystyczną wszystkich zespołów otepiennych jest utrata dużej liczby neuronów w korze mózgu.

W STARZEJĄCYM SIĘ MÓZGU ZMIENIA SIĘ MORFOLOGIA NEURONÓW

Z wiekiem obkurczeniu ulegają ciała komórek nerwowych, zmienia się także obraz morfologiczny ich wypustek. Dotyczy to przede wszystkim rozgałęzień dendrytycznych, przy czym dopóki nie osiągniemy naprawdę zaawansowanego wieku (powyżej 80 lat) nie są to zmiany niekorzystne. U normalnie starzejących się osób w wieku pomiędzy 50 a 75 rokiem życia drzewka dendrytyczne neuronów korowych są bardziej rozgałęzione i większe niż u osób młodych (FLOOD 1993). Największe różnice dotyczą średniej długości segmentów końcowych rozgałęzień dendrytycznych. Również w hipokampie szczurów długość apikalnych i podstawnych dendrytów komórek piramidalnych była większa u starych zwierząt niż w młodej grupie kontrolnej (PYAPALI i TURNER 1996). Rozrost drzewka dendrytycznego jest przypuszczalnie zmianą kompensującą ubytek neuronów i wynikające z tego zmniejszenie liczby połączeń neuronalnych.

W starzącym się mózgu dochodzi także do obniżenia liczby połączeń synaptycznych pomiędzy neuronami. Stopień nasilenia tych zmian jest jednak zależny od środowiska w jakim żyjemy. Badania na szczurach wykazały, że zwierzęta hodowane w homogennej grupie wiekowej w tak zwanym zubożonym środowisku o bardzo ograniczonej ilości bodźców, miały na starość znacznie zmniejszoną liczbę połączeń synaptycznych i zmniejszoną liczbę kolców dendrytycznych. Natomiast u zwierząt starych, hodowanych w środowisku bogatym w bodźce oraz wśród osobników w różnym wieku (w tym młodych) nie stwierdzono obniżenia liczby kolców dendrytycznych i połączeń synaptycznych (SAITO i współaut. 1994, KEMPERMANN i współaut. 1998). Najwięcej korzystnych zmian, łącznie z większym ciężarem mózgu, obserwowano u szczurów, które aktywnie wykorzystywały możliwości wzbogaconego środowiska. U zwierząt pasywnych zmiany nie były istotne (KOLB i współaut. 1998). Uważa się, że te zmiany morfologiczne są przejawem plastyczności dojrzałego układu nerwowego i świadczą o tym, że mózg bardzo długo zachowuje zdolności kompensacyjne i adaptacyjne wobec zmieniającego się środowiska.

Jednak zdolność do odbudowy połączeń synaptycznych i rozrastania się drzewka dendrytycznego ma ograniczenie wiekowe. Średnio powyżej 80 roku życia mózg nie przejawia już tak dynamicznych zmian strukturalnych. Pojawiają się morfologiczne zmiany świadczące o nasileniu procesów degeneracyjnych. Należy do nich rozległe i utrzymujące się zanikanie kolców dendrytycznych w całej korze oraz pojawianie się pęcherzykowatości, puchnięcie i skręcanie się poziomych rozgałęzień dendrytycznych. W ślad za tym pojawia się pęcznienie całego neuronu i zanikanie dendrytów. Ostatecznie neuron ulega całkowitej atrofii i obumiera.

HISTOLOGICZNE WSKAŹNIKI STARZENIA SIĘ MÓZGU

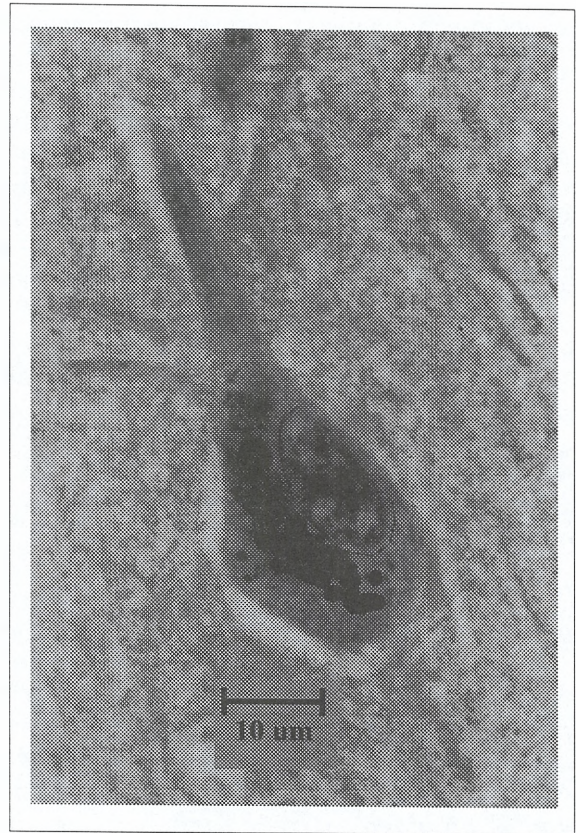
O starzeniu się komórek nerwowych w mózgu świadczy nie tylko ich obkurczanie się i obumieranie, ale zanim do tego dojdzie, także gromadzenie się w ich wnętrzu nierozpuszczalnych pigmentów, takich jak neuromelanina i lipofuscyna. W miarę starzenia się w mózgu pojawia się też coraz większa liczba patologicznych struktur nazywanych płytkami starczymi (NP, ang. neuritic plaques) i splotami neurofibrilarnymi (NFT, ang. neurofibrillary tangles).

Neuromelanina jest ciemnym barwnikiem gromadzącym się szczególnie obficie w komórkach katecholaminergicznych, na przykład

neuronach dopaminergicznych istoty czarnej (nazwa tej struktury pochodzi właśnie od ciemnego wybarwienia przez neuromelaninę). Barwnik nagromadza się w tych neuronach wraz z wiekiem. Nie wiadomo czy jest on w jakikolwiek sposób związany ze śmiercią komórek istoty czarnej. Badania układu dopaminergicznego u starych szczurów pokazały, że nagromadzanie się z wiekiem neuromelaniny nie uszkadzało w istotny sposób funkcji neuronów.

Nagromadzanie się w komórkach drugiego z pigmentów, lipofuscyny, jest jednym z najbardziej charakterystycznych wskaźników starzenia się układu nerwowego (Ryc. 3). W neuronie, jak w każdej komórce, błona komórkowa podlega ciągłej recyrkulacji i naprawie. W procesie tym biorą udział lizosomy. Lipofuscyna powstaje wskutek transformacji lizosomów drugiego rzędu i jest substancją niejednorodną. Tworzy się w wyniku utleniania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych lub nieenzymatycznej glikozylacji długo żyjących białek i kwasów nukleinowych. Utlenione grupy cukrowe tworzą wiązania krzyżowe pomiędzy białkami. Powstałe w ten sposób substancje są odporne na hydrolizę, nie podlegają strawieniu i odkładają się w cytoplazmie neuronu. Niektóre ze składników lipofuscyny mają właściwości fluorescencyjne. Stąd im starsza tkanka nerwowa, obserwowana w mikroskopie po wzbudzeniu światłem o odpowiedniej długości fali, tym bardziej świeci. Nie ma przekonujących dowodów na to, że lipofuscyna jest substancją toksyczną dla komórek nerwowych. Niektórzy uważają wręcz, że gromadzenie się lipofuscyny jest raczej odzwierciedleniem aktywności metabolicznej komórki, niż jej rzeczywistego wieku (DANI i współaut. 1997).

Natomiast patologicznymi wskaźnikami starzenia się mózgu są płytki starcze oraz sploty neurofibrylarne, które masowo tworzą się u pacjentów z chorobami neurodegeneracyjnymi, ale obecne są także u normalnie starzejących się osób. Obie struktury powstają wskutek degeneracji komórek nerwowych. NP składają się z luźnych agregatów utworzonych z odgałęzień neuronów i komórek glejowych. Zawierają także depozyty strukturalnych białek cytoplazmatycznych, takich jak związane z mikrotubulami białko tau oraz związane z błonami białko β -amyloidne. Ponadto znaleźć w nich można zewnątrzkomórkowe produkty uboczne procesu neurodegeneracji (Ryc. 4). NFT składają się również z depozytów białek strukturalnych neuronów oraz z degenerujących krótkich odcinków dendrytów i końcowych rozgałęzień aksonalnych. Jednak ich głównym składnikiem są parzyste filamenty helikalne (PHF), które

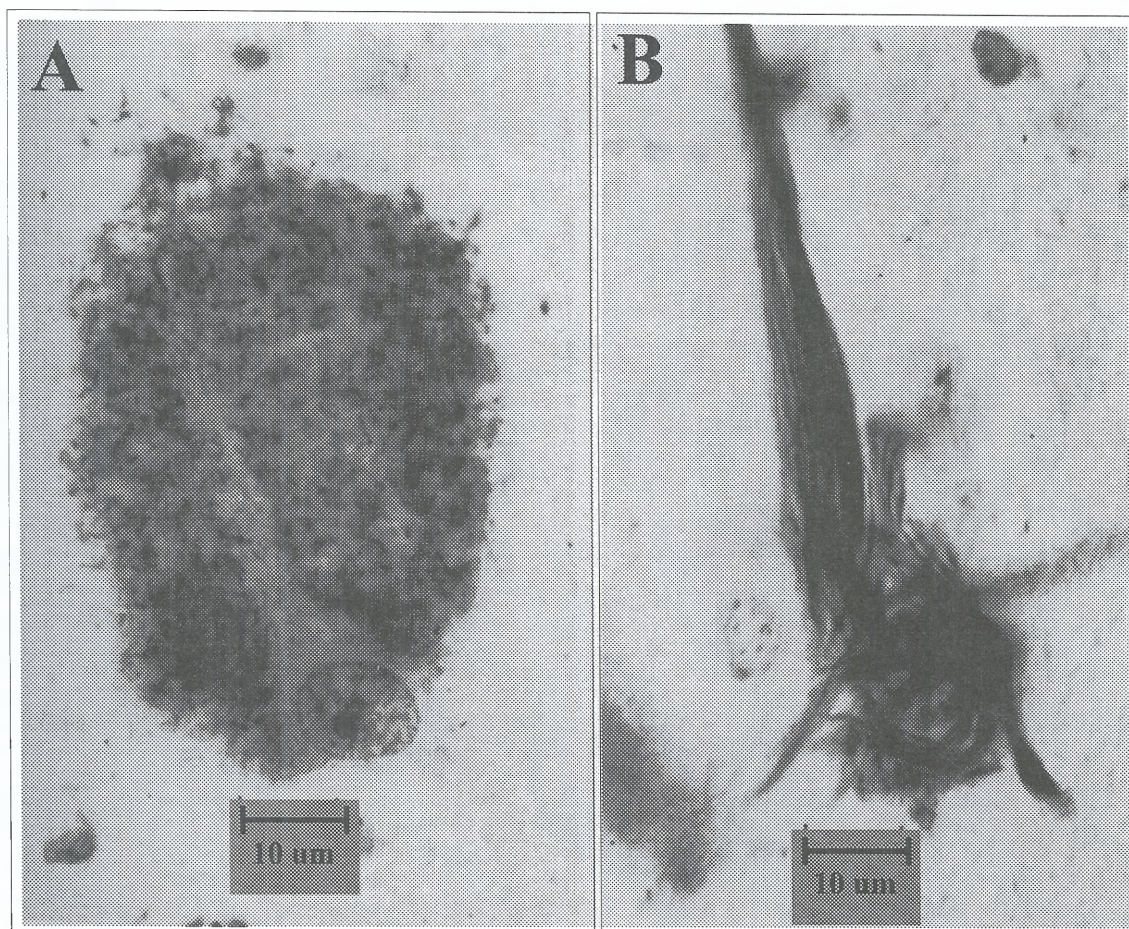


Ryc. 3. Odkładanie się złogów lipofuscyny jest jednym z bardziej charakterystycznych objawów starzenia się układu nerwowego.

Na reprodukcji widać ciemne granulki lipofuscyny otaczające jądro neuronu piramidального w korze śródwęchowej u człowieka. Barwienie — impregnacja srebrem wg. metody Howell-Black/Reusche (według DANIEGO i współaut. 1997).

powstają wskutek nieprawidłowej fosforylacji białka tau. Proces prowadzący do powstawania tych form pozostaje nadal nie wyjaśniony. Z badań *post mortem* u ludzi wynika, że struktury te częściej tworzą się w dużych neuronach. Dlatego NP i NFT występują najliczniej w III i V warstwie nowej kory oraz w II warstwie kory śródwęchowej, gdzie leżą duże neurony piramidalne.

Wiele danych wskazuje na to, że NP i NFT to dwie kolejne fazy tego samego procesu degeneracji cytoszkieletu komórek nerwowych. Tworzenie się NP sygnalizuje zaburzenia struktury neurytów i poprzedza rozpadanie się aparatu tubularnego perykarionu oraz powstawanie NFT (Ryc. 5). Zarówno NP jak i NFT mogą bardzo dynamicznie zmieniać swoje rozmiary. Na przykład w korze śródwęchowej $30\ \mu\text{m}^2$ płytka powstała wskutek rozpadu jednego neuronu może powiększyć się do $30\ 000\ \mu\text{m}^2$, obejmując bardzo wiele neuronów (DANI i współaut. 1993). NP i NFT nie muszą jednak pozostawać w mózgu na zawsze. Mogą one zanikać nawet w krótkim



Ryc. 4. Płytki starcza (A) oraz splot neurofibrylarny (B) powstałe wskutek neurodegeneracji dwu neuronów piramidalnych w zwoju okołohipokampalnym u człowieka.

Barwienie — impregnacja srebrem wg. metody Howell-Black/Reusche (według DANIEGO i współaut. 1997).

czasie po powstaniu. Niestety mechanizm usuwania ich z kory mózgowej jest bardzo słabo poznany. Badania populacyjne u normalnych, zdrowych osób pochodzących z różnych grup etnicznych oraz różnych obszarów geograficznych udowodniły, że procesy neurodegeneracyjne prowadzące do tworzenia się NP i NFT są

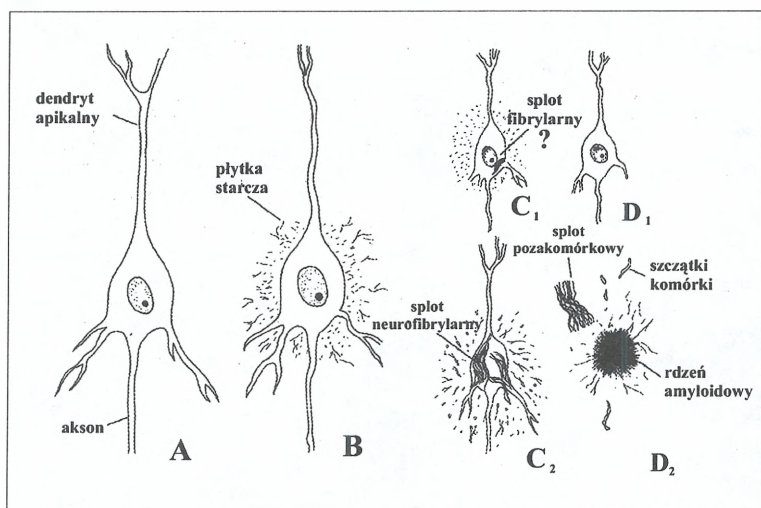
zaprogramowane. Ich powstawanie ma kilka faz (Ryc. 6) i rozpoczyna się w wieku około 50–55 lat tworzeniem się płytek starczych. Pojawienie się NFT i rozpad komórki może nastąpić bardzo szybko, bo już w ciągu roku od powstania NP, bądź z odroczeniem około 15 lat.

ZMIANY FIZJOLOGICZNE I BIOCHEMICZNE W STARZEJĄCYM SIĘ MÓZGU

AKTYWNOŚĆ ELEKTRYCZNA STARZEJĄCEGO SIĘ MÓZGU

Aktywność bioelektryczna mózgu może być mierzona przy pomocy elektroencefalografii (EEG). EEG odzwierciedla ogólną aktywność elektryczną obszaru mózgu, z nad którego zbierany jest sygnał u czuwających osób w spoczynku, nie mówi natomiast nic o aktywności pojedynczej komórki. Technika ta stosowana jest rutynowo w postępowaniu klinicznym u ludzi, ale także u ludzi i zwierząt w różnych testach laboratoryjnych. Wyniki niektórych badań po-

kazują, że wraz z wiekiem pojawiają się zmiany w zapisie EEG (DAWBARN i ALLEN 1995). Uważa się, że dotyczy to około 24% osób w podeszłym wieku. Wśród osób z chorobami neurodegeneracyjnymi aż 50% chorych ma poważne zmiany w zapisie EEG. Nie można jednoznacznie stwierdzić, że zmiany te są wynikiem procesu starzenia się. Prawdopodobnym jest, że zarówno u osób normalnie starzejących się, jak i u osób z chorobami neurodegeneracyjnymi są to zmiany wtórne, wywołane na przykład nadciśnieniem tętniczym lub arteriosklerozą.



Ryc. 5. Zmiany neurodegeneracyjne prowadzące do powstawania płytek starczych (NP) i splotów neurofibrilarnych (NFT) zależą od rozmiarów neuronów. Na schemacie przedstawiono dwie możliwe drogi tych przemian.

A. Neuron piramidalny, w którym pojawiają się pierwsze objawy degeneracji neurytów. B. Niektóre z neurytów degenerują, tworząc wczesne płytki starcze. C₁. Jeżeli neuron jest mały, to tworząca się płytka starcza może zostać rozproszona. Wewnątrz perykarionu przejściowo pojawiają się twory podobne do NFT złożone głównie z β -amyloidu. Część neurytów zostaje zachowana. D₁. Neuron ulega obkurczeniu, jednak jest w stanie przywrócić swój normalny metabolizm. Złogi neurodegeneracyjne zostają rozproszone wewnątrz cytoplazmy i neuron przeżywa aż do zaawansowanego wieku. C₂. Jeżeli neuron jest duży i zawiera dużą ilość makrocząsteczek, to tworząca się płytka starcza powiększa się, degeneracji ulegają wszystkie neuryty, poważnie zaburzony zostaje transport aksonalny i dendrytyczny, a wewnątrz perykarionu odkładają się licznie NFT. D₂. Neuron umiera wskutek odkładania się w cytoplazmie nieprawidłowych białek. NFT zostają rozproszone poza cytoplazmę komórki. W miejscu, gdzie był kiedyś neuron tworzy się rdzeń złożony z β -amyloidu.

POTENCJAŁY WYWOŁANE

Alternatywną techniką wobec pomiaru spontanicznej aktywności bioelektrycznej mózgu jest pomiar EEG w czasie, gdy osobie badanej prezentuje się różnego rodzaju bodźce. Najczęściej są to bodźce wzrokowe, na przykład błyski światła lub poruszające się czarno-białe wzorce, które specyficznie stymulują układ wzrokowy. Zwielokrotniony potencjał czynnościowy generowany w układzie czuciowym po stymulacji dociera do pól sensorycznych kory wzrokowej, gdzie wywołuje równoczesną odpowiedź dużej liczby neuronów kory. Zsynchronizowana aktywność tych komórek, czyli tak zwany potencjał wywołany, może być zmierzony elektroencefalograficznie. Potencjały wywołane można porównywać analizując następujące ich cechy: wczesny komponent (czas zanim potencjał osiągnie wartości ujemne), wysokość fali potencjału (amplitudę) oraz późny komponent (czas trwania potencjału po tym, gdy po raz pierwszy osiągnie on wartość ujemną) (Ryc. 7).

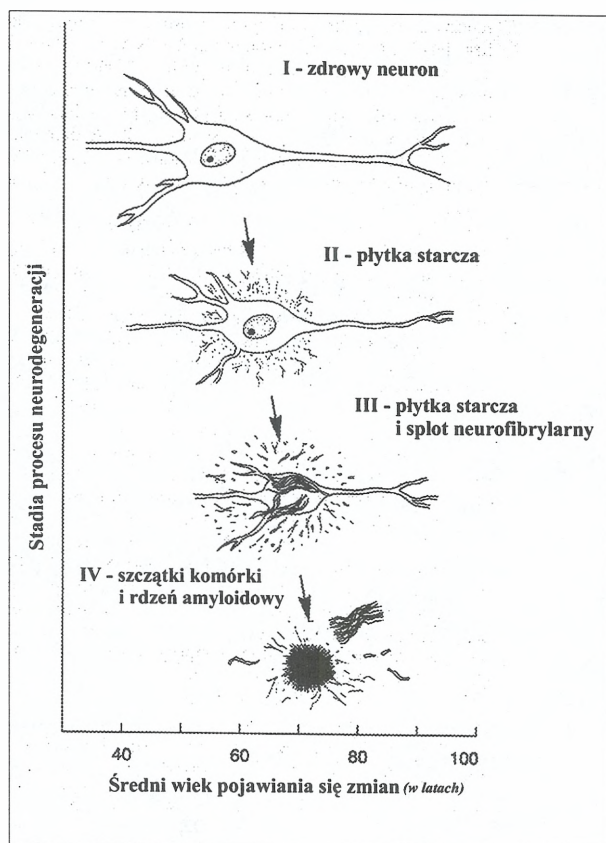
Wzrokowe potencjały wywołane u normalnie starzejących się osób różnią się wieloma cechami od tych, obserwowanych u ludzi młodych. Wczesny komponent trwa zwykle dłużej,

fala potencjału ma znacznie wyższą amplitudę, a późny komponent jest również mocno rozciągnięty w czasie. U osób cierpiących na demencje starcze zmiany te są znacznie bardziej nasilone, przy czym szczególnie dotyczy to późnego komponentu. Zmiany w potencjałach wywołanych u ludzi starych nie dotyczą tylko bodźców wzrokowych. Podobne różnice obserwowano także w układzie somatosensorycznym i słuchowym (METCALFE 1998).

Różnice w potencjałach wywołanych obserwowane pomiędzy młodymi i starymi osobami mogą być spowodowane wolniejszym na starość przewodzeniem sygnału wzdłuż nerwów. Wolniejsze przewodzenie przez neurony dróg czuciowych oraz zmiany odpowiedzi w korze mogą powodować spowolnienie czasu reakcji oraz zaburzenia funkcji poznawczych.

METABOLIZM ENERGETYCZNY W STARZEJĄCYM SIĘ MÓZGU

Mimo, że mózg stanowi zaledwie 2% masy ciała, to zużywa aż 20% glukozy i tlenu transportowanego z krwią. To wysokie zużycie substancji energetycznych w mózgu zapewnione jest poprzez wysokie tempo przepływu krwi przez mózg. Lokalnemu zwiększeniu aktywności tkanki mózgowej towarzyszy zwiększenie lokalnego przepływu krwi. Dlatego lokalną

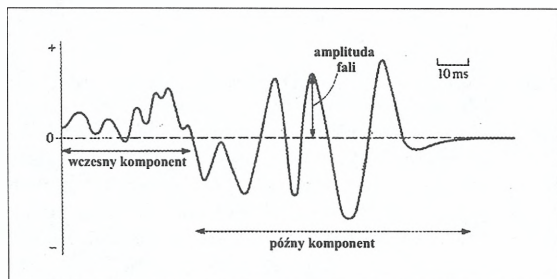


Ryc. 6. Chronologia pojawiania się zmian neurodegeneracyjnych w korze mózgowej człowieka, prowadzących do degradacji neuronów.

Proces ten może mieć cztery stadia. Stadium I — do 50–55 roku życia, zdrowe neurony. Stadium II — pomiędzy 50–60 rokiem życia, pojawianie się płytek starczych. Stadium III — pomiędzy 60–70 rokiem życia, pojawianie się splotów neurofibrilarnych. Stadium IV — rozpad i śmierć neuronów w wieku 70–80 lat.

aktywność mózgu można ocenić mierząc mózgowy przepływ krwi (CBF, ang. cerebral blood flow). U normalnie starzejących się osób, nie cierpiących na żadne zaburzenia krążenia, CBF jest tylko nieznacznie obniżony w porównaniu z osobami młodymi.

Rozwinięcie techniki pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) pozwoliło wykorzystać



Ryc. 7. Trzy parametry opisujące przebieg potencjału wywołanego: wczesny komponent, późny komponent i wysokość amplitudy fali (szczegóły w tekście).

CBF do nieinwazyjnej oceny metabolizmu mózgu i do mapowania obszarów aktywności mózgu w odpowiedzi na różne bodźce sensoryczne. Wyniki z użyciem techniki PET również potwierdzają tylko nieznaczne pogorszenie funkcji u normalnie starzejących się osób. Bardzo znaczące różnice występują dopiero u starych osób dotkniętych chorobami neurodegeneracyjnymi. Wydaje się zatem, że przepływ mózgowy obniża się wolno wraz z wiekiem, a spadek ten jest naprawdę poważny wówczas, gdy równocześnie obserwuje się pogorszenie funkcji intelektualnych. Być może u podłoża łagodnych zmian w czasie normalnego starzenia się oraz ostrych zaburzeń w chorobach neurodegeneracyjnych leżą te same zmiany morfologiczne, jednak w przypadku demencji są one znacznie bardziej nasilone.

Badania na zwierzętach, pozwalające stosować szersze spektrum metod (np. autoradiografia z wykorzystaniem znakowanej 2-deoksyglukozy) potwierdzają wyniki otrzymane u ludzi. U starych szczurów obserwowano 20% obniżenie zużycia glukozy w porównaniu ze zwierzętami młodymi. Interesującym jest fakt, że najniższy poziom zużycia glukozy odnotowano w okolicach mózgu związanych z funkcjami wzrokowymi i słuchowymi. Ponadto zmiany w poziomie wykorzystania glukozy korelowały z pogorszeniem się zdolności do uczenia się, ocenianej w testach behawioralnych. Obniżeniu zdolności do wykorzystania glukozy towarzyszy również spadek poziomu zużycia tlenu. U szczurów różnica pomiędzy zwierzętami młodymi i starymi wynosi średnio 15%, przy czym w niektórych okolicach mózgu jest szczególnie dotkliwa, na przykład w hipokampie, strukturze związanej z procesami zapamiętywania, osiąga aż 25%.

ZMIANY W POZIOMIE SYNTEZY NEUROPRZEKAŹNIKÓW

Starzenie się układu nerwowego wiąże się zwykle z takimi zmianami fizjologicznymi, jak zaburzenia snu, nadmierna drażliwość i wzrost poczucia zagrożenia oraz obniżenie aktywności intelektualnej (BALTES i BALTES 1990). Wszystkie te objawy mogą być spowodowane zmianami w poziomie syntezy neuroprzekaźników oraz zmianami w odpowiedzi układu nerwowego na pobudzenie przez te neuroprzekaźniki. Dane doświadczalne wskazują, że z wiekiem dochodzi w mózgu do obniżenia poziomu niemal wszystkich tak zwanych klasycznych neuroprzekaźników. W prążkowie, strukturze należącej do jąder podstawy, znacząco obniżony jest poziom dopaminy natomiast w hipokampie maleje ilość noradrenaliny. W tej strukturze oraz w korze mózgowej zredukowany jest także

poziom acetylcholinę. Przyczyną tego są zaburzenia projekcji neuronów cholinergiczných położonych w okolicy podstawnej mózgu i będących głównym źródłem tego neuroprzekaźnika.

Uważa się, że z wiekiem dochodzi do atrofii neuronów cholinergiczných, co prowadzi do zaniku projekcji cholinergiczných oraz związanego z tym upośledzenia procesów uczenia się i pamięci. Neurony cholinergiczne przodomózgowia są odpowiedzialne za klasyczne efekty amnestyczne wywołane podaniem leków antycholinergiczných zarówno u zwierząt, jak i u ludzi (DEUTSCH 1971, DRACHMAN i LEAVITT 1974). Neurony te degenerują również we wczesnych etapach choroby Alzheimera, przejawiającej się utratą pamięci (FRANCIS i współaut. 1994, PERRY 1986). Jednak obecnie uważa się, że w procesie naturalnego starzenia się neurony cholinergiczne wcale nie ulegają atrofii (SARTER i BRUNO 1998). Wydaje się, że pogorszenie projekcji cholinergiczných w mózgu jest spowodowane raczej zanikiem fenotypu neuroprzekaźnikowego neuronów cholinergiczných. Oznacza to, że z wiekiem neurony te tracą zdolność do syntezy charakterystycznego dla nich neuroprzekaźnika, acetylcholinę. Potwierdziły to, między innymi (MARKOWSKA i współaut. 1989, FISHER i współaut. 1994, ROSSNER 1997), także nasze badania (NIEWAIDOMSKA i CHECHŁACZ 1999), w których ocenialiśmy wpływ podawania czynnika wzrostu nerwów — NGF (ang. nerve growth factor) na morfologię neuronów cholinergiczných u starych szczurów.

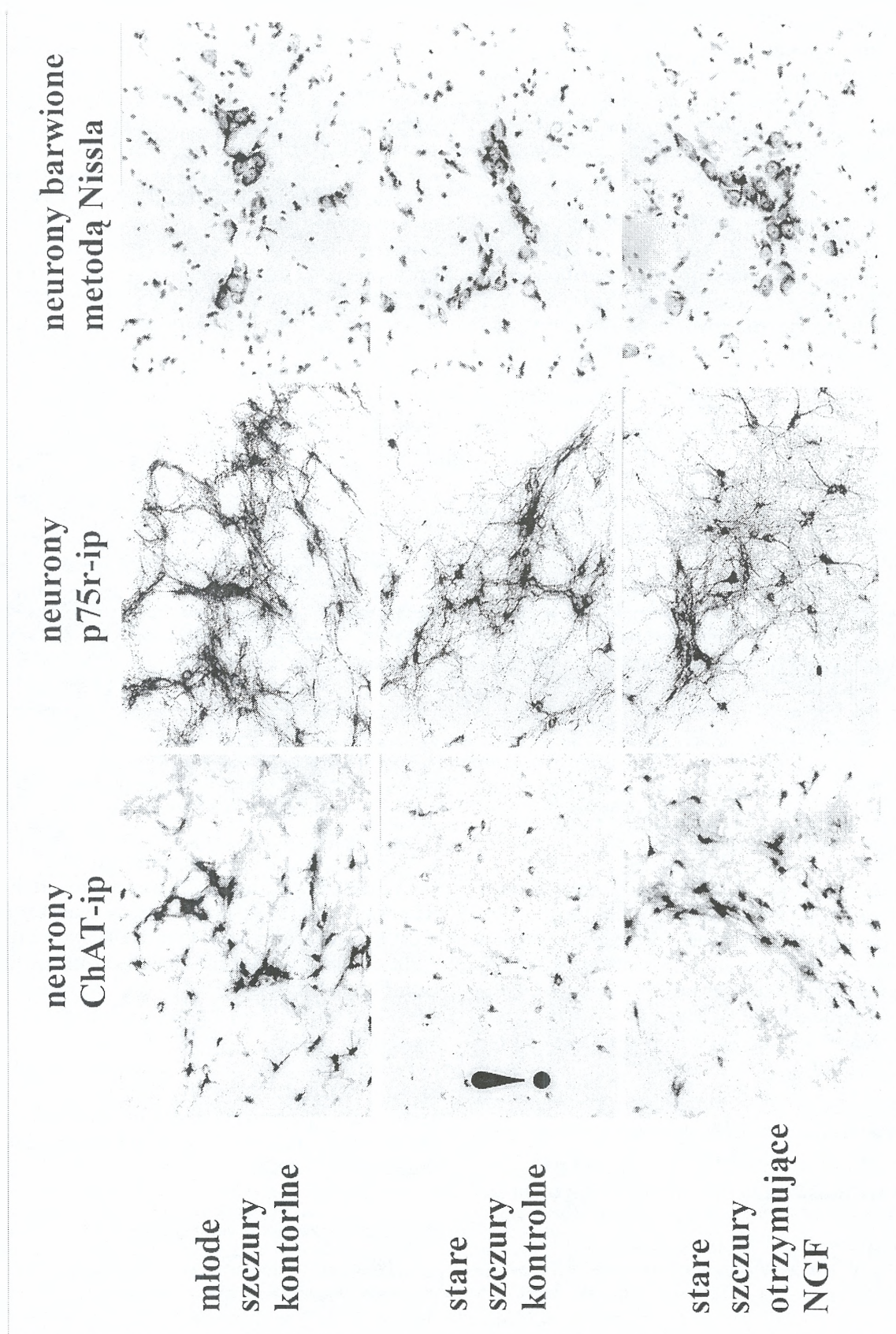
Należy wyjaśnić, że zarówno dojrzewanie neuronów cholinergiczných w okresie embryonalnym i postnatalnym, jak i ich prawidłowe funkcjonowanie w dorosłym organizmie zależy, w bardzo ścisły sposób, od dostępności czynnika wzrostu nerwów. NGF jest jedną z wielu substancji sygnałowych w obwodowym i ośrodkowym układzie nerwowym określanych jako substancje neurotroficzne. Od końca lat 80-tych wiadomo, że NGF, podawany domózgowo,

zapobiega zmianom degeneracyjnym neuronów cholinergiczných po eksperymentalnych uszkodzeniach okolic mózgu, w których leżą te neurony oraz zmianom wywołanym procesem starzenia się. Okazało się, że NGF może nie tylko łagodzić zmiany neurodegeneracyjne oraz wspomagać procesy naprawy, ale wpływa także na poprawę funkcji poznawczych, co wykazano w testach behawioralnych u zwierząt i testach mnemonicznych u pacjentów z chorobą Alzheimera.

W naszych badaniach znakowaliśmy neurony cholinergiczne w tkance mózgowej metodą immunohistochemiczną, wykorzystując dwa przeciwciała monoklonalne. Jedno z nich specyficznie rozpoznawało acetylotransferazę cholinową ChAT (enzym syntetyzujący acetylcholinę), a drugie, białko receptora NGF o niskim powinowactwie, tak zwane białko p75. Oba te białka występują specyficznie jedynie w neuronach cholinergiczných i dlatego są bardzo dobrymi markerami tych neuronów. Okazało się, że u starych szczurów obraz morfologiczny neuronów znakowanych na ChAT był bardzo zły, u niektórych zwierząt wręcz nie wykrywano tych neuronów (Ryc. 8). Mogło to oznaczać, że z wiekiem neurony cholinergiczne ulegają atrofii, a nawet całkowicie degenerują. Jednak równoczesne znakowanie receptora p75 oraz klasyczne histologiczne barwienie metodą Nissla pokazały, że obraz morfologiczny tych neuronów u starych szczurów jest również prawidłowy, jak u młodych zwierząt (Ryc. 8). Neurony cholinergiczne nie obumierają w starym mózgu, a jedynie tracą zdolność do syntezy acetylcholinę. Można temu przeciwdziałać podając NGF. U starych szczurów, otrzymujących NGF obraz morfologiczny neuronów cholinergiczných przypomina ten, obserwowany u zwierząt młodych (Ryc. 8). Podobne wyniki uzyskano u starych małp (TUSZYŃSKI i współaut. 1996, FINE i współaut. 1997).

Ryc. 8. Reprodukacja mikroskopowego obrazu neuronów cholinergiczných w wielkokomórkowym jądrze podstawnym u szczura.

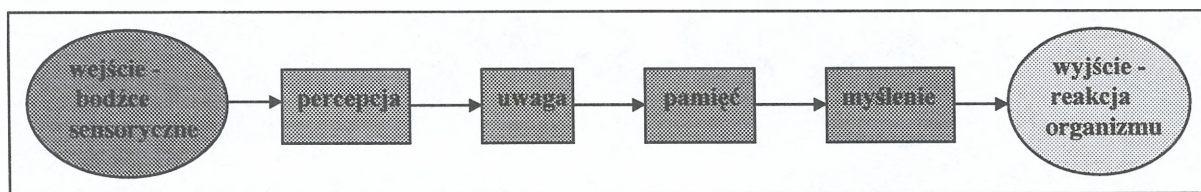
Neurony znakowano immunohistochemicznie, wykrywając acetylotransferazę cholinową (ChAT, pierwszy panel) i receptor czynnika wzrostu nerwów (NGF) — białko p75 (drugi panel) oraz barwiono fioletem krezylu wg. metody Nissla (trzeci panel). Doświadczenie przeprowadzono w trzech grupach zwierząt: u młodych szczurów kontrolnych nie otrzymujących infuzji NGF, u starych szczurów kontrolnych nie otrzymujących infuzji NGF i u starych szczurów otrzymujących NGF podawany w sposób ciągły, przy pomocy zainplantowanej podskórnie pompki miniosmotycznej, przez jeden miesiąc. U starych szczurów kontrolnych neurony cholinergiczne nie wybarwiają się w reakcji immunohistochemicznej na ChAT ponieważ nie syntetyzują tego enzymu (prostokąt z wykrzyknikiem). Poza tą zmianą funkcjonalną wiek nie ma wpływu na morfologię neuronów cholinergiczných (pozostałe zdjęcia). Warto zaznaczyć, że infuzja NGF przywraca fenotyp cholinergiczny neuronów u starych szczurów. ChAT-ip — neurony immunopoztywne na ChAT; p75-ip — neurony immunopoztywne na receptor p75.



ZMIANY PROCESÓW POZNAWCZYCH W STARZEJĄCYM SIĘ MÓZGU

Bardzo ogólna definicja mówi, że proces poznawczy jest to utrzymanie w pamięci nabytych informacji przez bardzo długi czas i swobodne wykorzystywanie tych informacji do modyfikowania naszych reakcji i zachowania w odpowiedzi na zmiany zachodzące w środowisku. Można stosować ją zarówno u człowieka, jak i u zwierząt. W psychologii człowieka poznanie definiuje się jako zdolność do myślenia i takich procesów mentalnych, jak mowa, pamięć i wnioskowanie, które są z procesem myślenia nierozdzielnie związane. W praktyce nie sposób oddzielić myślenia od percepcji i uwagi, które zapewniają dotarcie informacji do mózgu oraz od systemu reakcji, np. wypowiedzi lub działania, które są zewnętrznym przejawem zachodzącego procesu myślenia. W bardzo uproszczony sposób (Ryc. 9) przedstawia się proces poznawczy jako serię kolejnych etapów przetwarzania informacji.

wiekem elastyczność soczewki oka pogarsza ostrość widzenia bliskich przedmiotów. Zwężeniu ulega także pole widzenia oka. Zmniejszenie rozmiarów źrenicy oraz zmętnienie płynu wypełniającego gałkę oczną obniża zdolność siatkówki do wykrywania bodźców świetlnych. W okresie pomiędzy 20 a 70 rokiem życia prawidłowe rozpoznawanie kolorów maleje o 25%. Zaburzone jest również postrzeganie wielu aspektów przestrzeni, na przykład postrzeganie głębi oraz prawidłowe lokowanie w przestrzeni poruszających się bodźców. U osób starszych przyczyną tych zaburzeń może być zjawisko tak zwanego utrzymywania się bodźca, które polega na tym, że po pobudzeniu układu nerwowego jego aktywność utrzymuje się dłużej po ustaniu bodźca niż u ludzi młodych. W konsekwencji dwa bodźce następujące szybko po sobie zlewają się i nie są rozpoznawane jako oddzielne zdarzenia.



Ryc. 9. Uproszczony model przetwarzania informacji w procesie poznawczym u człowieka.

W tym modelu, etap percepcji oznacza nabywanie informacji docierającej ze środowiska. Procesy uwagi zapewniają ocenę i selekcję informacji. Etap pamięci to magazynowanie nowo nabytych informacji oraz wydobywanie starszych informacji mających znaczenie w aktualnej sytuacji. Myślenie to wykorzystywanie tych informacji do wnioskowania i rozwiązywania problemów. Ostatecznie pojawia się reakcja w formie naszej wypowiedzi lub naszego działania.

Należy zaznaczyć, że proces przetwarzania informacji nie jest liniowy, tak jak to przedstawiono na rysunku. Większość z tych stadiów wpływa na siebie wzajemnie i może przebiegać równolegle w czasie. Niezależnie jednak od tego uproszczenia wiadomo, że na każdym z tych etapów dochodzi do zaburzeń w wyniku starzenia się układu nerwowego.

PERCEPCJA BODŹCÓW SENSORYCZNYCH W STARZEJĄCYM SIĘ MÓZGU

Wrażliwość na bodźce wzrokowe maleje stopniowo poczynając od około 40 roku życia. Bardzo gwałtownie maleje tak zwany bezwzględny próg wykrywania bodźców świetlnych. Różnice drażliwości wzrokowej związane z wiekiem można oceniać, badając zdolność adaptacji do ciemności. U ludzi młodych (20 lat) zdolność adaptacji do ciemności jest 200 razy większa niż u osób w wieku 80 lat. Malejąca z

W układzie słuchowym wraz z wiekiem obniża się drażliwość na bodźce o wysokiej częstotliwości. Mimo stosunkowo nie zmienionej drażliwości na bodźce o niskiej częstotliwości pogarsza to zdolność do prawidłowego rozpoznawania bodźców, co oznacza trudności w rozpoznawaniu mowy. Z wiekiem maleje też próg różnicowania pomiędzy różnymi częstotliwościami bodźców. Aby dwa bodźce zostały rozpoznane jako różne ich częstotliwość musi różnić się znacznie bardziej niż w młodości (CRAIK i SALTHOUSE, 1992).

ZMIANY W PROCESACH UWAGI

Układ nerwowy nie przetwarza równocześnie wszystkich informacji docierających ze środowiska, ale przede wszystkim te, które w danej chwili mają największe znaczenie dla organizmu. Oznacza to, że informacja musi być w jakiś sposób oceniana i selekcyjonowana. Przyj-

muje się, że w mózgu służą temu procesy uwagi. Dla mechanizmów poznawczych istotne są trzy właściwości procesu uwagi: czułość, selektywność i podzielność.

Czułość to zdolność do utrzymania uwagi w czasie i wykrywania zachodzących zmian. Podczas badań laboratoryjnych u ludzi, zwykle prosi się osobę uczestniczącą w teście o zidentyfikowanie zmiany, jaka pojawiła się w długiej sekwencji prezentowanych bodźców. Wydaje się, że czułość uwagi nie pogarsza się znacząco z wiekiem. W tego rodzaju zadaniach różnice między osobami młodymi i starymi ujawniają się wówczas, gdy tempo prezentacji bodźców jest bardzo szybkie, gdy test jest zbyt nużący dla badanego lub gdy do rozwiązania zadania konieczne jest zaangażowanie pamięci.

Selektywność uwagi oznacza zdolność do skupienia się na wybranym bodźcu i równoczesnym wyeliminowaniu bodźców nieznaczających. Dobrym codziennym przykładem selektywności uwagi jest słuchanie i rozumienie jednej osoby wśród dużego grona rozmawiających (w kawiarni, na przyjęciu). Osoby starsze mają nieco pogorszoną selektywność uwagi, jednak prawdziwe problemy pojawiają się dopiero wówczas, gdy sytuacja wymaga przetwarzania informacji docierającej z więcej niż jednego źródła. Jeżeli ponadto, w proces ten zaangażowana jest pamięć, to różnice między osobami młodymi i starymi są jeszcze większe. Selektywność uwagi bada się często w teście dwudzielnego słuchania (ang. dichotic listening). Seria bodźców (liter, liczb lub wyrazów) jest prezentowana przez słuchawki w taki sposób, że w tym samym czasie do każdego ucha docierają dwa różne bodźce (np. 1-9-4 do prawego i 7-2-8- do lewego). Badani poproszeni o powtórzenie słyszanych bodźców, najpierw odtwarzają te, słyszane jednym uchem (1-9-4), a następnie te, słyszane drugim (7-2-8). U osób starszych pogorszenie wykonania tego zadania jest szczególnie silne przy odtwarzaniu drugiej serii bodźców. Ponieważ jednak w czasie odtwarzania serii bodźców z pierwszego ucha, druga seria musi być dłużej utrzymana w pamięci, możliwym jest, że deficyt obserwowany u ludzi starych zależy bardziej od sprawności pamięci i nie musi wynikać z gorszej selektywności uwagi.

Z wiekiem obniża się także podzielność uwagi. Różnice te są większe, gdy uwaga musi być podzielona na kilka różnych rzeczy równocześnie. Mechanizm leżący u podłoża tych różnic nie jest jasny. Prawdopodobnie pogorszenie podzielności uwagi u starych ludzi wynika z obniżenia tempa przetwarzania informacji przez układ nerwowy. Jeżeli koniecznym jest przetwarzanie wielu bodźców lub wykonywanie kil-

ku zadań równocześnie, to efekt spowolnienia kumuluje się i ostatecznie wykonanie zadania staje się niemożliwe (COWAN 1995).

UCZENIE SIĘ I PAMIĘĆ W STARZEJĄCYM SIĘ MÓZGU

Z wielu badań na zwierzętach i u ludzi wiadomo, że wiek ma wpływ na proces uczenia się i zapamiętywania. U zwierząt pogorszenie funkcji poznawczych dotyczy bardzo różnych form uczenia się, na przykład warunkowania klasycznego i instrumentalnego, uczenia się biernego i czynnego unikania, uczenia się zadań różnicowania. U ludzi uczenie się umiejętności (ang. skill learning) jest gorsze w podeszłym wieku. Jednak, co bardzo ciekawe, większe różnice obserwuje się wówczas, gdy są to testy prowadzone w laboratorium, natomiast w codziennym życiu często otrzymuje się całkiem odmienne wyniki. Grupa starszych osób w wieku od 63-91 uczyła się przez trzy miesiące języka niemieckiego, biorąc jedną lekcję tygodniowo. Po tym okresie ponad połowa grupy zdała egzamin na poziomie, który dzieci w wieku szkolnym osiągają po dwu latach nauki. Podobne doświadczenia mają pracownicy londyńskiego Open University (METCALFE 1998). Ludzie starsi potrafią osiągnąć bardzo dobre rezultaty ucząc się różnych umiejętności. Z obserwacji wynika, że dzieje się to dzięki temu, iż są zwykle bardzo silnie umotywowani i poświęcają nauce więcej czasu niż ludzie młodzi. Proces uczenia jest zatem upośledzony, ale istnieją dostatecznie sprawne mechanizmy towarzyszące uczeniu się, które pozwalają to zrekompensować.

Zaburzenia procesu pamięci zależne są od rodzaju pamięci. Z wiekiem znacznie bardziej pogorszona jest sprawność pamięci krótkoterminowej (ang. short-term memory) niż pamięci długotrwałej (ang. long-term memory). Zmniejsza się przede wszystkim pojemność pamięci krótkotrwałej oraz skraca czas jej trwania. Jednak w tym przypadku istnieją również sposoby pozwalające kompensować pogorszenie sprawności pamięci. Badając osoby starsze w różnych testach pamięciowych zauważono, że wykonują one zadania zupełnie sprawnie, jeżeli otrzymają wskazówki, co do skutecznych strategii.

Pamięć długotrwała u ludzi dzieli się ogólnie na dwie kategorie, pamięć epizodyczną, która zawiera informacje o zdarzeniach zaszłych w określonym czasie i miejscu, oraz pamięć semantyczną, która jest długotrwałą pamięcią znaczenia słów, pojęć reguł i twierdzeń, a także faktów i zasad odnoszących się do danego doświadczenia. Oba systemy pamięci nie są całkowicie niezależne od siebie. Pamięć o tym, co zjadło się na śniadanie jest pamięcią epizodycz-

na, jednak opiera się na semantycznej wiedzy o tym czym jest jajko, dżem i grzanka. Niemniej jednak wpływ wieku na oba systemy pamięci jest różny. Pamięć epizodyczna ulega znacznie większym zaburzeniom na starość niż pamięć semantyczna, która wydaje się być stosunkowo odporna na uszkodzenia. Jest jednak pewne

charakterystyczne upośledzenie tej formy pamięci, a dotyczy ono zdolności do wydobywania informacji z magazynu pamięci (retrieval from memory storage). To właśnie obniżenie sprawności wydobywania informacji jest najpoważniejszym uszkodzeniem procesów poznawczych, jakie dotyka nas na starość.

THE AGEING BRAIN — STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES

Summary

The most notable structural change in the normal ageing brain is the decrease in wet weight which is even greater in the pathological elderly brain. Selective degeneration of neurones occurs in some parts of the cortex and non cortical areas of the brain. This cell loss is more extensive in individuals with neurodegenerative diseases. There is evidence that loss of neurones may be compensated for at the structural level by adaptative mechanisms in surviving neurones such as axon sprouting and extensions of dendrites, at least in the normal elderly brain up to the age of about 70 years. However, in the demented brain these compensatory mechanisms are less evident. Brains of very old people show evidence of progressive enlargement of neuronal cell bodies, continued loss of dendrites, development of varicosities and accumulation of the pigments neuromelanin and lipofuscin. During normal ageing there is a slight reduction in cerebral blood flow, in the rate of glucose metabolism and oxygen utilisation. Electrical activity in the brain changes with age and this may be due to

slower conduction of action potentials. The most important change in neurotransmitters occurs in catecholamines, but other systems also deteriorate. Perceptual acuity declines due to the fact that the quality of the information reaching the cognitive system is impaired. Components of the cognitive system that process the information are also impaired. Both short-term and long-term memory are affected. In short-term, or working memory, the amount of information that can be held in consciousness is reduced. Information is not lost from long-term memory, but becomes more difficult to retrieve. There is a decline in the speed at which information can be processed. The ability to attend to several things at once declines. This causes a deterioration in the ability to perform different operations simultaneously. Although these changes are clearly apparent in experimental or psychometric test, they have relatively little effect in everyday life because most everyday activities are not sufficiently demanding to expose the underlying impairment.

LITERATURA

- BALTES P. B., BALTES M., 1990. *Successful Aging: perspectives from the Behavioral Sciences*. Cambridge University Press, Cambridge.
- BRODY H., 1955. *Organization of the cerebral cortex. III. A study of aging in the human cerebral cortex*. J. Comp. Neurol. 102, 511–556.
- COWAN N., 1995. *Attention and Memory: An integrated Framework*. Oxford University Press, Oxford, New York.
- CRAGG B. G., 1975. *The density of synapses and neurons in normal, mentally defective and aging human brains*. Brain 98, 81–90.
- CRAIK F. I. M., SALTHOUSE T. A., 1992. *The Handbook of Aging and Cognition*. Lawrence Erlbaum Association, Boston.
- DANI S. U., BERGMANN B., WALTER G. F. i współaut. 1993. *A multivariate approach to the relationship between aging, RNA depletion and the incidence of plaques and tangles*. Neuropathology 13, 243–249.
- DANI S. U., HORI A., WALTER G. F., 1997. *Principles of Neural Aging*. Elsevier, Amsterdam.
- DAWBARN D., ALLEN S. J., 1995. *Neurobiology of Ageing Brain*. Bios Scientific, Oxford Press.
- DESBORDES P., COHADON F., 1997. *Brain water and aging*. J. Gerontol. 42, 655–659.
- DEUTSCH J. A., 1971. *The cholinergic synapse and the site of memory*. Science 174, 788–794.
- DRACHMAN D. A., LEAVITT J., 1974. *Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging*. Arch. Neurol. 30, 113–121.
- FINE A., HOYLE C., MACLEAN C. J., LEVETTE T. L., BAKER H. F., RIDLEY R. M., 1997. *Learning impairments following injections of a selective cholinergic immunotoxin, Me20.4 IgG-saporin, into the basal nucleus of Meynert in monkeys*. Neuroscience 81, 331–343.
- FISCHER W., SIREVAAG A., WIEGAND S. J., LINDSAY R. M., BJORKLUND, A., 1994. *Reversal of spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor and neurotrophins 3 and 4/5 but not by BDNF*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91, 8607–8611.
- FLOOD D. G., 1993. *Critical issues in the analysis of dendritic extent in aging humans, primates, and rodents*. Neurobiol. Aging 14, 649–654.
- FRANCIS P. T., CROSS A. J., BOWEN D. M., 1994. *Neurotransmitters and neuropeptides. [W:] Alzheimers disease*. TERRY R. D. (red.). Raven Press, New York.
- GUNDENSEN H. J. G., BAGGER P., BENDTSEN T. F. i współaut. 1988. *The new stereological tools: Disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis*. APMIS 96, 857–881.
- HAUG H., EGGERS R., 1991. *Morphometry of the human cortex cerebri and corpus striatum during aging*. Neurobiol. Aging 12, 336–338.
- KEMPERMANN G., KUHN H. G., GAGE F. H., 1998. *Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus*. J. Neurosci. 18, 3206–3212.
- KOLB B., FORGIE M., GIBB R., GORNY G., ROWNTREE S., 1998. *Age, experience and the changing brain*. Neurosci. Biobehav. Rev. 22, 143–159.
- MARKOWSKA A. L., STONE W. S., INGRAM D. K., REYNOLDS J., GOLD P. E., CONTI L. H., PONTECORVO M. J., WENG G. L., OLTON D. S., 1989. *Individual differences in aging: Behavioral and neurobiological correlates*. Neurobiol. Aging 10, 31–43.
- METCALFE J., 1998. *The Brain: Degeneration, Damage and Disorder*. Springer-Verlag and Open University, Heidelberg.
- NIEWAIDOMSKA G., CHECHŁACZ M., 1999. *NGF can reverse age-dependent loss of transmitter phenotype in the cholinergic neurons of the basal forebrain in rats*. Neurobiol. Aging (praca wysłana do redakcji).

- PERRY, K., 1986. *The cholinergic hypothesis — ten years on.* Brain Med. Bull. 42, 63–69.
- PETERS A., MORRISON J. H., ROSENE D. L., HYMAN B. T., 1998. *Are neurones lost from the primate cerebral cortex during normal aging?* Cerebral Cortex 8, 295–300.
- PYAPALI G. K., TURNER D. A., 1996. *Increased dendritic extend in hippocampal CA1 neurons from aged F344 rats.* Neurobiol. Aging 17, 601–611.
- ROSSNER S., 1997. *Cholinergic immunolesion by 192IgG-saporin — useful tool to simulate pathogenic aspects of Alzheimers disease.* Int. J. Dev. Neurosci 15, 835–850.
- SAITO S., KOBAYASHI S., OHASHI Y i współaut., 1994. *Decreased synaptic density in aged brains and its prevention by rearing under enriched environment as revealed by synaptophysin contents.* J. Neurosci. Res. 39, 57–62.
- SARTER M., BRUNO J. P., 1998. *Age-related changes in rodent cortical acetylcholine and cognition: main effects of age versus age as an intervening variable.* Brain Res. Rev. 27, 143–156.
- TUSZYNSKI M. H., ROBERTS J., SENUT M. S., U H. S., GAGE F. H., 1996. *Gene therapy in the adult primate brain: intraparenchymal grafts of cells genetically modified to produce nerve growth factor prevent cholinergic neuronal degeneration.* Gene Ther. 3, 305–314.
- WITELSON S. F., KIGAR D. L., MCKANNA J. A., 1992. *A computer-assisted direct-imaging system to obtain numerical densities of neurons i human cortex.* Brain Res. Bull. 29, 441–447.