

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA
VPLIV TELESNE VADBE NA EPIGENETSKE
MEHANIZME, VKLJUČENE V NADZOR
KOGNITIVNIH FUNKCIJ

SAMANTA HERVOL

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Vpliv telesne vadbe na epigenetske mehanizme, vključene v
nadzor kognitivnih funkcij**

(The effect of exercise on epigenetic mechanisms involved in control of
cognitive functions)

Ime in priimek: Samanta Hervol
Študijski program: Biopsihologija
Mentor: izr. prof. dr. Elena Bužan
Somentor: asist. Felicita Urzi

Koper, september 2017

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Samanta HERVOL

Naslov zaključne naloge: Vpliv telesne vadbe na epigenetske mehanizme, vključene v nadzor kognitivnih funkcij

Kraj: Koper

Leto: 2017

Število listov: 41

Število slik: 7

Število referenc: 63

Mentor: izr. prof. dr. Elena Bužan

Somentor: asist. Felicita Urzi

Ključne besede: telesna dejavnost, kognitivne funkcije, nevrotrofični dejavnik možganskega izvora, epigenetske spremembe

Izvleček: Tehnološki razvoj vseskozi zmanjšuje količino fizičnega dela, ki ga moramo opraviti, s čimer se tudi v splošnem zmanjšuje količina telesne dejavnosti v družbi. Zato je potreba po povečanju telesne dejavnosti postala societalen problem. Telesna vadba je tesno povezana z našim zdravjem. Več raziskav na ljudeh in živalih poroča o pozitivnih učinkih telesne vadbe na nekatere kognitivne funkcije. Učinki vadbe so lahko različni in v precejšni meri nadzorovani z različnimi biološkimi mehanizmi. Z nalogo avtorica želi predstaviti enega izmed prevladujočih mehanizmov na tem področju. To so epigenetske modifikacije na BDNF genu, čigar izražanje je zelo pomembno za sinaptično plastičnost in s tem tudi za spomin in učenje. Več raziskav na živalih ugotavlja, da vadba preko različnih molekul spodbuja demetilacijo in zavira deacetilacijo BDNF gena, kar spodbuja njegovo prepisovanje. Zadnja odkritja na živalskih modelih močno namigujejo tudi, da primanjkljaji v BDNF signaliziranju prispevajo k patogenezi večjega števila nevroloških in psihiatričnih bolezni. Zato je poznavanje poti uravnavanja BDNF gena še toliko bolj pomembno, saj to predstavlja tudi enega izmed možnih pristopov k lajšanju simptomov različnih nevroloških bolezni in duševnih motenj. Ob pregledu raziskav velja izpostaviti, da je potrebna posebna previdnost pri posploševanju izsledkov iz živalskih raziskav na ljudi. Obenem primanjkuje podrobnejših študij, ki bi raziskovale z vadbo povzročene epigenetske spremembe na celotnem BDNF genu in bi preverjale še dodatne morebitne molekule, ki bi lahko vplivale na pojav epigenetskih sprememb.

Key words documentation

Name and SURNAME: Samanta HERVOL

Title of the final project paper: The effect of exercise on epigenetic mechanisms involved in control of cognitive functions

Place: Koper

Year: 2017

Number of pages: 41

Number of figures: 7

Number of references: 63

Mentor: Assoc. Prof. Elena Bužan, PhD

Co-Mentor: Assist. Felicita Urzi

Keywords: physical activity, cognitive functions, brain-derived neurotrophic factor, epigenetic modifications

Abstract: Due to technological development amount of everyday physical work is decreasing. That consequently brings the lack of physical activity in society. Because people are meant to be active, the need for increased physical activity is now already societal issue. Physical exercise, subcategory of physical activity, and our health are closely related. Many research studies on animals and humans have shown important influence of physical exercise on cognitive functions through different mechanisms. Authors' aim was to represent one of those important mechanisms. She focused on epigenetic modifications on BDNF gene caused by exercise. Expression of BDNF gene is very important for synaptic plasticity as well as for memory and learning. Research on animals models has shown, that exercise facilitates BDNF expression by inducing DNA methylation and inhibition of DNA deacetylation. Late discoveries have also shown that deficits in BDNF signaling are an important factor in pathogenesis of some neurological and psychiatric disorders. Knowing the pathways of BDNF regulation could bring a possible approach to treatment of disorders mentioned above. Undoubtedly, special caution is required when predictions from animal studies are made. There is a need for more detailed research of epigenetic modification on the whole BDNF gene as also a need for additional testing of molecules that could affect the occurrence of epigenetic modifications.

ZAHVALA

Zahvaljujem se svoji mentorici izr. prof. Eleni Bužan in somentorici asist. Feliciti Urzi, da sta mi nudili strokovno pomoč, konstruktivne nasvete in da sta me usmerjali pri pisanju zaključne naloge.

Posebno se zahvaljujem tudi vsem mojim bližnjim: staršem, bratu in Sašiju, da ste mi stali ob strani in me spodbujali pri mojem študiju.

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	1
1.1	Namen in cilji	2
2	TELESNA DEJAVNOST IN KOGNITIVNE FUNKCIJE	3
2.1	Telesna dejavnost in telesna vadba	3
2.2	Učinki telesne dejavnosti na kognitivne funkcije	3
3	NEVROTROFIČNI DEJAVNIK MOŽGANSKEGA IZVORA (BDNF)	6
3.1	BDNF gen	8
3.1.1	Polimorfizmi BDNF gena	10
4	EPIGENETIKA	12
4.1	Epigenetski mehanizmi	12
4.1.1	DNK metilacija	13
4.1.2	Histonske modifikacije	14
4.1.3	Nekodirajoče RNK	16
5	Z VADBO POVZROČENE EPIGENETSKE SPREMEMBE NA BDNF GENU	18
5.1	Potencialna uporaba spoznanj	22
6	SKLEPI	24
7	LITERATURA IN VIRI	27

KAZALO SLIK IN GRAFIKONOV

<i>Slika 3.01.</i> Prikaz mehanizmov nastanka in sproščanja BDNF	6
<i>Slika 3.02.</i> Prikaz lokacije BDNF gena na kromosomu 11.....	9
<i>Slika 3.03.</i> Prikaz strukture človeškega BDNF gena in BDNF gena glodalcev	9
<i>Slika 4.01.</i> Prikaz DNK metilacije na promotorski regiji gena.....	13
<i>Slika 4.02.</i> Prikaz stukture histona in epigenetskih modifikacij na histonih	15
<i>Slika 5.01.</i> Mehanizem, preko katerega vadba z vključitvijo epigenetskega uravnavanja vpliva na sinaptično plastičnost in kognitivne sposobnosti	19
<i>Slika 5.02.</i> Predlagani model, preko katerega vadba povzroči povišano izražanje BDNF v hipokampusu	20

SEZNAM KRATIC

AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metilizoksazol-4-propanojska kislina
BDNF	nevrotrofični dejavnik možganskega izvora
CaMK	kalcij kalmodulinska kinaza
CREBP	vezavni protein za odzivni element za cAMP
LTD	dolgoročna depresija
LTP	dolgoročna potenciacija
MAPKs	z mitogenom aktivirana protein kinaza
mBDNF	zrela oblika nevrotrofičnega dejavnika možganskega izvora
MeCP2	metil-CpG vezavni protein 2
NF-kB	nuklearni faktor kB
NMDA	N-metil-D-aspartat
p75 ^{NTR}	nevrotrofinski receptor
PKC	proteinska kinaza C
proBDNF	nezrela oblika nevrotrofičnega dejavnika možganskega izvora
TrkB	receptor tirozinske kinaze B

1 UVOD

Človeško telo je ustvarjeno za gibanje. Naši predniki, lovci in nabiralci, so bili življenjsko odvisni od telesne dejavnosti, pravzaprav je bila neločljiv del njihovega življenja (Cordain, Gotshall, Eaton in Eaton 3rd, 1998). Od takrat se je konstitucija naših genov relativno malo spremenila (Wilson in Cann, 1992; po Cordain idr., 1998), zgodile pa so se velike societalne spremembe, povezane z agrikulturo in industrializacijo (Cordain idr., 1998). V industrijskih družbah tehnološki razvoj vseskozi olajšuje ali zmanjšuje količino dela, ki ga moramo opraviti. Posledično je manjša tudi količina telesne dejavnosti, ki je potrebna za vsakodnevno življenje. Zato je za večino ljudi telesna dejavnost postala posebna aktivnost, ki je v večini primerov ločena od drugih dnevnih nalog (Cordain idr., 1998). Potreba po povečanju telesne dejavnosti je postala societalen problem in ne le problem posameznika (WHO, 2017). Med Slovenci v starostnem obdobju od 15 let naprej, je kar 37,9 % takšnih, ki so telesno nedejavni, s starostjo pa se ta delež le še viša. V starostni skupini od 55 do 64 let je nedejavnih že 45,5 % Slovencev (Drev, 2010). Zadostna telesna dejavnost je varovalnik zdravja, saj vpliva tako na telesno kot duševno zdravje in kakovost življenja (Drev, 2013). Vadba lahko deluje preventivno, saj zmanjšuje tveganje za različne nevrološke bolezni in tudi duševne motnje, na primer Alzheimerjevo, Huntingtonovo, Parkinsonovo bolezen in depresivno motnjo (Gomez-Pinilla in Hillman, 2013).

Povečanje telesne dejavnosti na ravni celotnega prebivalstva bi bilo smiselno tudi zaradi njenega pozitivnega vpliva na kognitivne funkcije (Davis idr., 2011; Flöel idr., 2010; Ruscheweyh idr., 2011; Winter idr., 2007), kar je še posebej pomembno v procesu staranja. Ker telesna vadba upočasni začetek nevrodegenerativnih procesov, bi lahko predstavljala potencialno dodatno terapijo pri nevropsihiatričnih boleznih (Deslandes idr., 2009). Zaradi terapevtskih učinkov, ki jih ima telesna vadba na telo, je pomembno razumevanje mehanizmov, preko katerih vpliva na molekularne poti, vpletene v funkcijo sinaps in s tem podaja podlago za izboljšanje učenja in spomina (Gomez-Pinilla in Hillman, 2013). Obstaja veliko možnih mehanizmov, preko katerih vadba vpliva na kognitivne funkcije, kot so npr. povečana gostota kapilar v malih možganih, večja afiniteta korteksa za prevzem holina in povečana gostota dopaminskih receptorjev v možganih, povečano število celic v hipokampusu ter povečano izražanje nevrotrofičnega dejavnika možganskega izvora – BDNF (Colcombe in Kramer, 2003). Slednji mehanizem je osrednja tema naloge, saj ima lahko BDNF na področju mehanizmov, ki so v ozadju vpliva telesne vadbe na kognitivne funkcije, predvsem zaradi pomembne vloge pri razvoju in vzdrževanju normalnega delovanja možganov (Cattaneo, Cattane, Begni, Pariante in Riva, 2016) ter vpliva, ki ga ima na sinaptično plastičnost in posledično na spomin in učenje (Lu, Christian in Lu, 2008), ključno vlogo (Gomez-Pinilla in Hillman, 2013). Epigenetsko uravnavanje BDNF gena je biološki mehanizem, preko katerega vadba spodbuja duševno zdravje in predstavlja

varovalni dejavnik pred nevrološkimi boleznimi. Vadba je tako pomemben kandidat za spodbujanje stabilnih dednih sprememb, ki imajo lahko pomembne posledice za javno zdravje (Gomez-Pinilla, Zhuang, Feng, Ying in Fan, 2011).

1.1 Namen in cilji

Namen naloge je opisati, kako telesna dejavnost vpliva na naše kognitivne funkcije predvsem z vidika epigenetskih sprememb v izražanju genov. Prvi cilj je predstavitev tako tistih raziskav, ki potrjujejo učinek telesne vadbe na kognitivne funkcije kot tudi tistih, ki to zavračajo. Nato bo naloga osredotočena na nevrotrofični dejavnik možganskega izvora (BDNF), saj zanj predvidevajo, da je mediator med telesno vadbo in kognitivnimi funkcijami, pri čemer imamo v mislih predvsem njegov vpliv na učenje in spomin. Cilj je predstaviti rezultate različnih raziskav, ki so preučevale s telesno dejavnostjo povzročene epigenetske spremembe v izražanju BDNF gena. Obenem je končni cilj naloge povezava spoznanj o pomembnosti teh mehanizmov preko študij na modelnih vrstah ter kako lahko ugotovitve uporabimo na področju obravnavanja duševnih bolezni, za katere je značilen kognitivni upad.

2 TELESNA DEJAVNOST IN KOGNITIVNE FUNKCIJE

2.1 Telesna dejavnost

Telesna dejavnost (na primer hoja, kolesarjenje ali sodelovanje pri drugih športih) je v življenju posameznika zelo pomembna (Caspersen, Powell in Christenson, 1985), saj ob zmerni intenzivnosti prinaša pomembne koristi za zdravje (WHO, 2017). Od posameznika do posameznika se količina telesne dejavnosti zelo razlikuje, običajno pa je to, koliko časa bo nekdo aktiven, njegova osebna odločitev (Caspersen idr., 1985). Svetovna zdravstvena organizacija (2017) telesno dejavnost opredeljuje kot gibanje telesa, povzročeno s strani skeletnih mišic, ki zahteva porabo energije. Gre za kompleksno vedenje, ki ga lahko razdelimo v različne kategorije. Takšen primer je razdelitev telesnih dejavnosti na tiste z majhno, zmerno in visoko intenzivnostjo, na namerne ali obvezne in podobno (Caspersen idr., 1985). Med telesne dejavnosti prištevamo vse aktivnosti, potekajo lahko med delom, igranjem, gospodinjskimi opravili in podobno (Nanda in Manjunatha, 2015). Poleg tega v to kategorijo prištevamo tudi telesno vadbo in šport (Drev, 2013).

Vsako telesno dejavnost lahko merimo v kilokalorijah in je ob povečani intenzivnosti, trajanju in frekvenci premikov pozitivno povezana s telesno pripravljenostjo (Caspersen idr., 1985). Kot je že omenjeno, v sklop telesnih dejavnosti spadata tudi telesna vadba in šport, katerih posebnost je, da je v tem primeru aktivnost načrtovana, strukturirana in se ponavlja, poleg tega telesno vadbo opravljamo z namenom, da bi izboljšali ali vsaj vzdrževali eno ali več komponent naše telesne pripravljenosti (Caspersen idr., 1985), medtem ko šport vključuje tudi določeno obliko tekmovanja (Drev, 2013). Tudi telesno vadbo lahko razdelimo v različne kategorije, razlikuje se lahko glede na tip vadbe (anaerobna, aerobna) in v sami intenzivnosti vadbe (majhna, zmerna ali visoka) (Nanda in Manjunatha, 2015).

2.2 Učinki telesne dejavnosti na kognitivne funkcije

Telesna dejavnost ni dobra le za naše fizično zdravje, ampak prinaša številne koristi tudi duševnemu zdravju in našim kognitivnim sposobnostim. Več raziskav je potrdilo povezanost aerobne (Davis idr., 2011; Flöel idr., 2010; Ruscheweyh idr., 2011) in anaerobne telesne vadbe (Winter idr., 2007) z izboljšanjem nekaterih kognitivnih funkcij. Pri tem s pojmom kognitivne funkcije mislimo predvsem na različne faze procesiranja informacij, kot so zaznavanje, učenje in spomin, sklepanje in reševanje problemov. Pogosto so v sklop kognitivnih funkcij vključene tudi psihomotorične funkcije, na primer reakcijski časi (Suutama in Ruoppila, 1998).

Vpliv vadbe na kognitivne funkcije je bil raziskan v različnih razvojnih obdobjih vse od otroštva do pozne odraslosti. Večina raziskav je ugotovila, da telesna vadba vpliva le na specifične kognitivne funkcije in ne na celoten sklop procesov, ki so del tega pojma. Tako pri posameznikih v pozni odraslosti kot pri otrocih so pokazali, da aerobna vadba vpliva na izvršilne funkcije (Colcombe in Kramer, 2003; Davis idr., 2011). Tudi pri raziskovanju vpliva oziroma povezanosti telesne vadbe s spominom so posamezne raziskave pokazale le izboljšanje določene vrste spomina in ne spomina kot celote. Pri mladih odraslih je vadba pomembno vplivala na kognicijo, posebno se jim je izboljšal vidnoprstorski spomin, ni pa vplivala na verbalni spomin. Ugotovili so tudi, da je aerobna vadba oziroma tek delno vplival na delovni spomin, poleg tega sta se izboljšala tudi kognitivna fleksibilnost in kognitivna kontrola (Stroth, Hille, Sitzler in Reinhardt, 2009), kratki sprinti oziroma aerobna vadba je pri mladih odraslih izboljšala sposobnost učenja (Winter idr., 2007). Pri posameznikih v pozni odraslosti so ugotovili, da ni nujno, da gre za vadbo, ampak obstaja povezava že med kakršnokoli telesno dejavnostjo (hoja, hišna opravila, vrtnarjenje ipd.) in boljšimi rezultati predvsem na področjih delovnega spomina, reakcijskih časov in logičnega sklepanja (Clarkson-Smith in Hartley, 1989). Vadba ne vpliva pozitivno le na kognitivne funkcije zdravih ljudi, ampak lahko izboljša nekatere kognitivne funkcije tudi pri tistih, ki imajo blago kognitivno motnjo (Lautenschlager, Cox in Flicker, 2008).

Vpliv vadbe na kognitivne funkcije so preverjali tudi na živalih. Kot primer, ena izmed študij je pokazala, da 14-dnevna telesna vadba vpliva na prostorsko učenje, na nevrogenezo, stopnjo usvojitve Y-labirinta, izboljša ohranitev predhodno pridobljenih informacij in olajša obratno učenje. Telesna vadba ne spodbuja le prostorskega učenja, ampak je tudi koristna za shranjevanje prostorskih namigov v spomin (Van der Borght, Havekes, Bos, Eggen in Van der Zee, 2007).

Če povzamemo, opazimo, obstaja povezanost med telesno dejavnostjo in boljšimi rezultati na področjih delovnega spomina, reakcijskih časov in sklepanja (Clarkson-Smith in Hartley, 1989). Telesna vadba, običajno aerobna, vpliva na izvršilne funkcije (Colcombe in Kramer, 2003; Davis idr., 2011), vidnoprstorski spomin (Stroth idr., 2009), delovni spomin (Clarkson-Smith in Hartley, 1989; Stroth idr., 2009) ter tudi na kognitivno fleksibilnost ter kognitivno kontrolo (Stroth idr., 2009). Pri tem je pomembno tudi, kakšne intenzivnosti je vadba. Povezanost z izboljšanjem kognitivnih dosežkov je največja ob optimalni ravni intenzivnosti, torej pri zmerni intenzivnosti. To povezanost lahko ponazorimo z narobe obrnjeno U-krivuljo. Vadba izboljša dosežke, ko njena intenzivnost doseže optimalno raven (vrh krivulje) in se poslabša, če se intenzivnost vadbe še naprej povečuje (Kamijo idr., 2004; po Stroth idr., 2009).

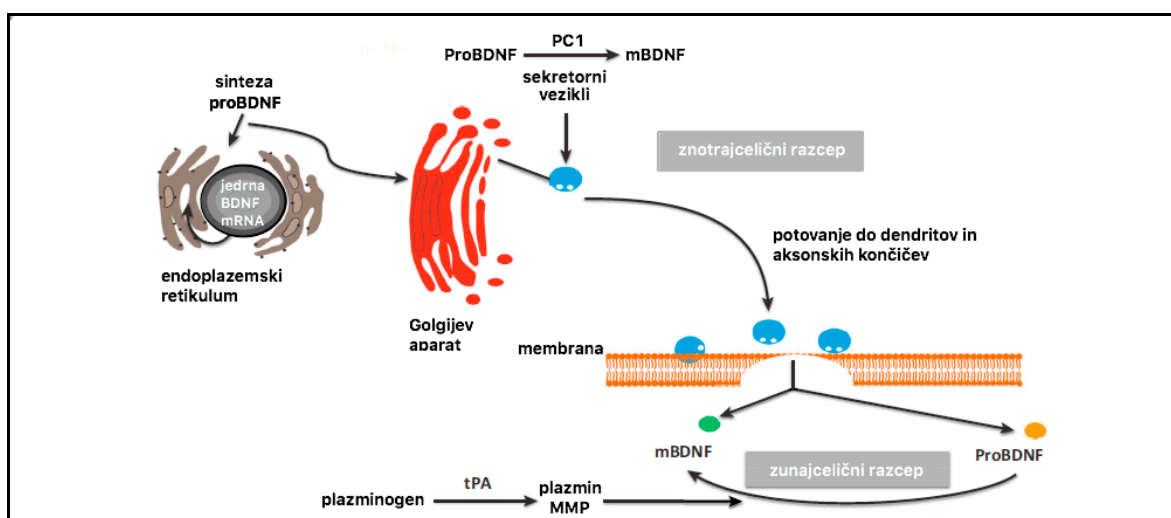
Med raziskavami pa najdemo tudi tiste, ki ne potrjujejo učinka vadbe na kognitivne funkcije. Ko so starejše odrasle izpostavili daljši aerobni vadbi, so opazili le malo izboljšav na področju kognitivnih funkcij (Blumenthal idr., 1991) in nobenih izboljšav pri pozornosti in spominu (Madden, Blumenthal, Allen in Emery, 1989). Do podobnih zaključkov, da je dolgoročna vadba imela malo, če sploh kakšen učinek na izboljšanje kognitivnih funkcij pri starejših odraslih, so prišli tudi Hill, Storand in Malley (1993). Tudi za visoko intenzivno anaerobno vadbo so ugotovili, da nima učinka na kognitivne funkcije (Fleury in Bard, 1987, po Tomporowski, 2003).

Pred kratkim je meta-analiza, z vključenimi 79 raziskavami, potrdila, da ima vadba majhen pozitiven učinek na kognitivne funkcije. Ugotovili so, da lahko učinek na kognitivne funkcije opazimo tako med vadbo, takoj po vadbi in tudi kasneje po njej. Kolikšen je učinek, je odvisno od več različnih faktorjev, kot so čas trajanja vadbe, telesna pripravljenost udeležencev, intenzivnost in katero kognitivno funkcijo preverjamo (Chang, Labban, Gapin in Etnier, 2012). Poleg tega se trenutno intenzivno raziskuje na področju mehanizmov, ki bi lahko bili v ozadju teh procesov in povezav. S pomočjo raziskav na živalskih modelih so potrdili več različnih celičnih in molekularnih mehanizmov, preko katerih bi aerobna vadba lahko vplivala na kognitivne funkcije pri človeku. Primeri možnih mehanizmov so: povečana gostota kapilar v malih možganih; večja afiniteta možganskega korteksa za prevzem holina in povečana gostota dopaminskih receptorjev v možganih; povečano število celic v hipokampusu ter povečano izražanje nevrotrofičnega dejavnika možganskega izvora – BDNF (Colcombe in Kramer, 2003). Ravno zadnji mehanizem bo v nadaljevanju podrobneje opisan in obravnavan tudi iz epigenetskega vidika.

3 NEVROTRIFIČNI DEJAVNIK MOŽGANSKEGA IZVORA (BDNF)

Na področju mehanizmov, ki so v ozadju vpliva telesne vadbe na kognitivne funkcije, ima lahko ključno vlogo nevrotrofični dejavnik možganskega izvora – BDNF (Gomez-Pinilla in Hillman, 2013). Predvsem zaradi pomembne vloge pri razvoju in vzdrževanju normalnega delovanja možganov (Cattaneo idr., 2016) ter vpliva, ki ga ima na sinaptično plastičnost in posledično na spomin in učenje (Lu idr., 2008), je eden najbolj raziskanih nevrotrofinov (Huang in Reichardt, 2009). Skupaj z receptorjem tirozinske kinaze TrkB je BDNF med vsemi nevrotrofini najbolj razširjen v razvijajočih se in odraslih možganih sesalcev (Murer idr., 2001, po Cunha, Brambilla in Thomas, 2010). Zaradi visoke ravni izraženosti v možganih in zaradi njegovega kataličnega vpliva na plastičnost in delovanje sinapse posebno izstopa. Sinapse uravnava tako s strukturnimi kot s funkcijskimi učinki ter tako kratko kot dolgoročno. Vpliva na spodbujevalne in na zaviralne sinapse v različnih možganskih regijah (Lu, Nagappan in Lu, 2014).

Sinteza BDNF poteka tako, da se pre-pronevrotrofin razcepi na proBDNF, ki se nato spremeni v zrel mBDNF. V endoplazemskem retikulumu se BDNF informacijska RNK (mRNK) prevede v proBDNF protein, ki je nato transportiran do Golgijevega aparata. Znotrajcelično se proBDNF s pomočjo encimov furina in prokonvertaze pred sproščanjem iz vezikla spremeni v biološko aktiven mBDNF. Vezikli z mBDNF nato potujejo do mesta sproščanja v živčne končiče. ProBDNF se lahko razcepi tudi zunajcelično. Odvisno od različne aktivnosti nevronov se lahko iz nevrona sprosti tudi proBDNF, ki se nato v sinaptični špranji s tkivnim aktivatorjem plazminogena (tPA) spremeni v mBDNF (Marosi in Mattson, 2014).



Slika 3.01. Prikaz mehanizmov nastanka in sproščanja BDNF (prirejeno po Marosi in Mattson, 2014).

Izražanje in sproščanje BDNF je spodbujeno s povečano aktivnostjo v spodbujevalnih sinapsah ter določenimi neuropeptidi in hormoni (Marosi in Mattson, 2014). Eksocitoza BDNF je lahko spodbujena na tri načine odvisno od mesta sprostitve: (1) sproščanje iz postsinaptičnih mest v odvisnosti od Ca^{2+} transporta, ki ga uravnava vdor Ca^{2+} skozi ionotropne glutamatne receptorje in skozi napetostne Ca^{2+} kanalčke (Hartmann, Heumann in Lessmann, 2001); (2) sproščanje iz presinaptičnih mest v odvisnosti od vdora Ca^{2+} (Balkowiec in Katz, 2002) ter (3) sproščanje neodvisno od vdora Ca^{2+} , temveč odvisno od sproščanja Ca^{2+} iz znotrajceličnih zalog (Griesbeck idr., 1999). Prvi mehanizem vključuje vpliv presinaptične celice preko sproščanja glutamata, ki se veže na AMPA, NMDA receptorje na post-sinaptični membrani in s tem povzroči dotok Na^+ in Ca^{2+} skozi te receptorje ter dotok preko Ca^{2+} napetostno odvisnih kanalčkov. Dotok Ca^{2+} aktivira kalcij/kalmodulinsko kinazo (CaMK), proteinsko kinazo C (PKC) in z mitogenom aktivirano protein kinazo (MAPKs). MAPK aktivira transkripcijske faktorje vezavnega proteina za odzivni element za cAMP (CREBP) in nuklearni faktor kB (NF-kB), da spodbudijo prepisovanje BDNF gena. Kot že omejeno, BDNF se v procesu sinteze koncentrira v veziklih, ki so transportirani v presinaptične končiče in dendrite, iz katerih se nato sprostijo kot odgovor na aktivacijo glutamatnega receptorja. V dendritih se shranjuje tudi mRNK za BDNF. Sinaptična aktivnost lahko spodbudi njeno prevajanje v protein (Marosi in Mattson, 2014).

V sinapso sproščen BDNF se veže na dva različna transmembranska receptorja: i) receptor tirozinske kinaze TrkB in ii) nevrotrofinski receptor p75^{NTR} . Na prvi receptor se veže z visoko in na drugega z nizko afiniteto. Za delovanje BDNF je zelo pomemben receptor tirozinske kinaze TrkB, saj skoraj vse učinke, ki jih ima BDNF na sinapse, pripisujejo njegovi vezavi na TrkB receptor. V nekaterih primerih lahko vezava BDNF ali proBDNF na specifične receptorje tudi negativno zavira signaliziranje BDNF. To se zgodi, prvič, ko se proBDNF veže na p75^{NTR} receptor, in drugič, ko se BDNF veže na s spajanjem nastale skrajšane izoformne oblike TrkB, ki nimajo tirozinske kinaze, potrebne za nadaljnje signaliziranje (Cunha idr., 2010).

Ne le, da se običajno sinteza in/ali sproščanje BDNF dogaja v aktivnih sinapsah, ampak je bolj verjetno tudi, da se bodo aktivne sinapse v primerjavi z manj aktivnimi bolj odzvale na BDNF (Lu idr., 2014). BDNF signaliziranje je odvisno od nevronske aktivnosti uravnavanja prepisovanja BDNF gena, transporta mRNK za BDNF in proteina v dendrite ter sproščanje BDNF v ali blizu sinaps (Lu, 2003). Zato pogosto uporabljamo tudi izraz od nevronske aktivnosti odvisno sproščanje BDNF. Od aktivnosti sinaps pa ni odvisen le BDNF, ampak tudi njegov receptor TrkB. Nevronska oziroma sinaptična aktivnost selektivno spodbuja TrkB signaliziranje na aktivnih sinapsah, ne da bi vplivala na sosednje manj aktivne (Lu idr., 2014), kar se kaže v izražanju receptorja na površini celic in z

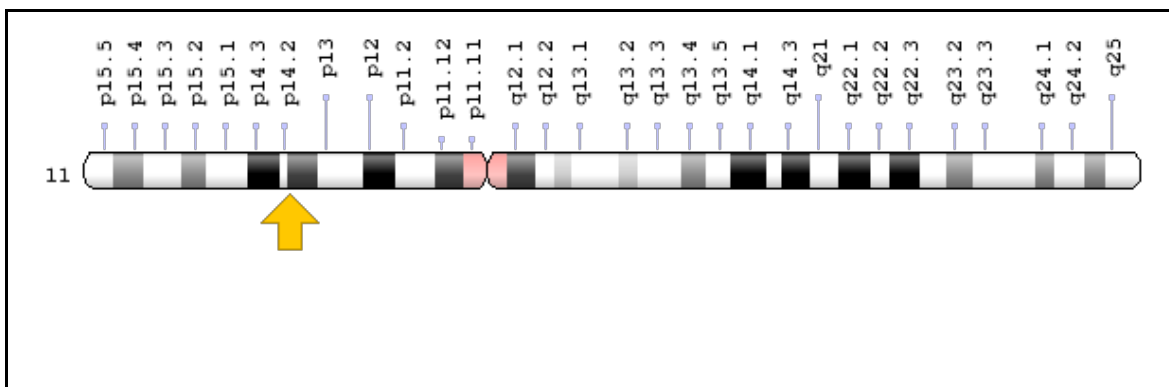
ligandom povzročeno endocitozo receptorja (Lu, 2003). Mehanizmi torej lahko nadzorujejo delovanje BDNF tudi tako, da uravnavajo izražanje njegovega receptorja TrkB (Lu idr., 2014).

Za povezavo med BDNF, vadbo in med kognitivnimi funkcijami je pomembno tudi dejstvo, da je več študij potrdilo, da ima BDNF ključno vlogo pri dolgoročni potenciaciji – LTP v hipokampusu, kar pomeni dolgoročno okrepitev učinkovitosti sinaps (Lu idr., 2014). To je najbolj preučevana oblika sinaptične plastičnosti in velja za celični model oblikovanja dolgoročnega spomina in učenja (Cunha idr., 2010). Dolgoročna potenciacija je povezana z aktivacijo številnih signalizacijskih kaskad, tudi tistih, ki jih aktivira BDNF. Za dolgoročno potenciacijo v hipokampusu je ključen razcep proBDNF na mBDNF s pomočjo tPA. Že prej omenjeni negativni učinki vezave proBDNF na receptor p75^{NTR} se kažejo tudi na ravni aktivnosti sinaps, saj tovrstno signaliziranje, uravnava s strani aktivacije p75^{NTR} receptorja, v hipokampusu spodbuja dolgoročno depresijo LTD in je mehanizem ravno obraten kot pri dolgoročni potenciaciji (Cunha idr., 2010).

Pomembna je primerna raven izraženosti BDNF. Tako povečana kot znižana raven BDNF v možganih lahko zmotita ravnovesje med zaviralnim in spodbujevalnim živčnim prenosom, kar vodi do okvare LTP, učenja in spomina (Cunha idr., 2010). Zadnja odkritja na živalskih modelih močno namigujejo na to, da primanjkljaji v BDNF signaliziranju prispevajo k patogenezi večjega števila nevroloških in psihatričnih bolezni, kot so npr. Huntingtonova bolezen, Alzheimerjeva bolezen in depresivna motnja. Zato je poznavanje poti uravnavanja BDNF pomembno, saj predstavlja enega izmed možnih pristopov k lažšanju simptomov različnih nevroloških bolezni in duševnih motenj (Lu idr., 2014).

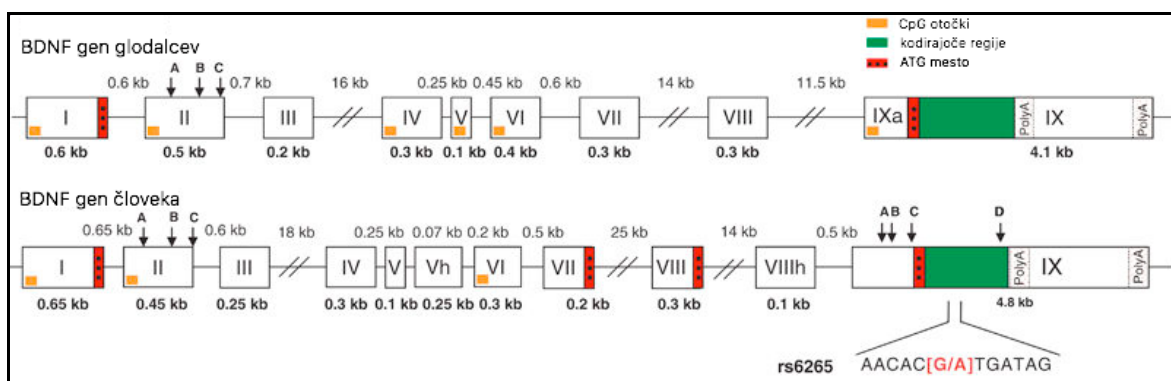
3.1 BDNF gen

Gen, ki je odgovoren za sintezo proteina BDNF, imenujemo BDNF gen. Človeški gen BDNF se nahaja na kromosomu 11 (Genetics Home Reference [GHR], 2017), dolg je približno 70 kb in sestavljen iz 11 eksonov (Pruunslid, Kazantseva, Aid, Palm in Timmusk, 2007). Ima 63 ortologov in 3 paraloge. V evoluciji je dvakrat prišlo do duplikacije, in sicer pri kostnicah se je razvil paralog nevrotrofin NTF4, pri vretenčarjih pa sta se razvila nevrotrofin NTF3 in živčni rastni dejavnik (NGF) (Ensembl, 2017).



Slika 3.02. Prikaz lokacije BDNF gena na kromosomu 11 (GHR, 2017).

V veliki meri je izražanje človeškega BDNF gena uravnvano na ravni prepisovanja. Štartna mesta za prepisovanje se nahajajo na devetih eksonih, vsako od teh je povezano s funkcionalnim promotorjem. Izražanje BDNF gena nadzira devet tkivno specifičnih promotorjev, povezanih z ločenimi 5' eksoni. Ti promotorji vplivajo na aktivacijo gena glede na razvojna obdobja in specifično izražanje v celicah, kar pomeni še dodatno fleksibilnost kontroliranja izražanja BDNF (Pruunslid idr., 2007). Pri ljudeh je bilo odkritih 9 BDNF transkriptov: BDNF1, BDNF2A, BDNF2B, BDNF2C, BDNF3, BDNF4, BDNF5, BDNF6, BDNF6B in BDNF7. Večina jih kodira proBDNF (proBDNF1). Pri tem obstajata dve izjemi, saj predvidevajo, da bi lahko transkript BDNF1 kodiral zapis, ki bi služil kot alternativno začetno mesto za proBDNF2 in BDNF6B, ki bi lahko kodiral zapis za proBDNF3 (Liu idr., 2005). Transkripte BDNF najdemo tako v možganih kot tudi v krvnih celicah (Cattaneo idr., 2016). Tisti, ki vsebujejo eksone II, III, IV, V in VII, so značilni predvsem za možgane, medtem ko so druge mRNK za BDNF v različnih ravneh izražene tudi v nenevronskega tkivu (Pruunslid idr., 2007). V človeških možganih so visoke ravni mRNK za BDNF prisotne predvsem v hipokampusu, cerebralnem korteksu, amigdali in v malih možganih. Predvidevajo, da imajo različni eksoni lahko različne funkcije, predvsem v povezavi z znotrajceličnim izražanjem BDNF preko kontrole prevajanja in/ali stabilnosti (Cunha idr., 2010).



Slika 3.03. Prikaz strukture človeškega BDNF gena in BDNF gena glodalcev (prirejeno po Boulle idr., 2012).

Struktura BDNF gena in njegovih transkriptov je ohranjena tudi pri modelnih organizmih (miši in podgane). Na sliki 3.03 lahko vidimo strukturo BDNF gena modelnih organizmov in človeškega BDNF gena. Zaznamo lahko nekaj razlik. Človeški BDNF gen ima dva eksona več, s promotorjem med eksonoma V in VI pa je povezan dodaten ekson Vh, poleg tega pa pri glodalcih ni prisotnega eksona VIIIh. Ena izmed razlik pa je bila tudi ta, da so pri človeškem genu našli tudi več startnih prepisovalnih mest za eksona II in IV. Zaradi vseh razlik je uravnavanje BDNF pri človeku nekoliko bolj kompleksno (Pruunsild idr., 2007).

Pomembno vlogo pri izražanju BDNF ima tudi antiBDNF gen, ki je dolg 191 kb in je sestavljen iz vsaj 10 eksonov in enega funkcionalnega promotorja (Pruunslid idr., 2007). Tako kot BDNF gen se tudi antiBDNF nahaja na 11 kromosomu (Liu idr., 2005). Transkripti tega gena so izraženi skoraj v vseh tkivih človeka (Pruunslid idr., 2007) in so protismerni prej naštetim transkriptom gena BDNF. Ne kodirajo proteina BDNF, najverjetneje so rezultat več dogodkov spajanja na enem promotorju, namesto enega spajanja na več promotorjih. Teh transkriptov je 7: BT1A, BT1b, BR1C, BT2A, BT2B, BT2C in BT2D (Liu idr., 2005). Način, preko katerega bi lahko deloval antiBDNF gen, je direktno zaviranje BDNF prepisovanja ali prevajanja in/ali preko uravnavanja spajanja BDNF pre-mRNK. V študiji niso ugotovili, da bi se antiBDNF in BDNF gen medsebojno izključevala in raven BDNF mRNA ni bila specifično zmanjšana v tkivih, v katerih je bila visoka izraženost antiBDNF transkriptov (Pruunslid idr., 2007).

3.1.1 Polimorfizmi BDNF gena

BDNF gen ima veliko različnih polimorfizmov. Pogosto se pojavi enojni nukleotidni polimorfizem G196A v proregiji BDNF, na lokaciji 11p13. Posledica tega polimorfizma je zamenjava aminokislina valin z metioninom na 66 kodonu (Val66Met). V svetu obstaja različna frekvenca (A) alela: v Afriki nekje od 0 do blizu 0; v Aziji 60 % in na Kavkazu 17 % (Mandelman in Grigorenko, 2012). Nekateri avtorji so prišli do izsledkov, da so koncentracije BDNF zdravih Val/Val preiskovancev manjše v primerjavi z Val/Met posamezniki (Lang, Hellweg, Sander in Gallinat, 2009) ter da je alel met pri ljudeh povezan s slabšim epizodičnim spominom, nenormalnimi aktivacijami hipokampusa. Val66met zamenjava vpliva tudi na izločanje BDNF v odvisnosti od sinaptične aktivnosti (Egan idr., 2003). Nasprotno, izsledki meta-analize kažejo v drugo smer, saj avtorji niso našli pomembne povezanosti tudi med Val66Met polimorfizmom in kognitivnimi funkcijami (Madelman in Grigorenko, 2012).

Pomembno vlogo pri znotrajceličnem razporejanju in od sinaptične aktivnosti odvisnega izločanja BDNF ima proregija BDNF, posebno val66 in sosednje regije. Nepravilnosti na tem področju lahko okvarijo lokalno in sinaptično uravnavanje BDNF-ja ter vodijo do

okvar v funkciji hipokampusa ter epizodičnega spomina. Pri zamenjavi val66 z met v proBDNF sekvenci pride do okvare od depolarizacije odvisnega izločanja BDNF v nevronih hipokampusa. Vsi ti mehanizmi so le okvirni, saj še niso bili potrjeni *in vivo*. Učinek BDNF genotipa na funkcijo hipokampusa pri *in vivo* meritvah je bil majhen (Egan idr., 2003). Določeni polimorfizmi BDNF gena, običajno Val66Met polimorfizem, so lahko povezani s povečanim tveganjem za nastanek duševnih motenj, kot so bipolarna motnja, anksiozna motnja in motnje prehranjevanja (GHR, 2017). Nekatere raziskave teh povezav sicer niso potrdile. Zato še ni povsem jasno, kako je BDNF gen povezan s temi boleznimi. Verjetno gre za večje število, večinoma še neznanih, različnih okoljskih in genetskih faktorjev, ki določajo tveganje za pojav omenjenih duševnih motenj (GHR, 2017). Variacije v izražanju BDNF in pozneje tudi spremembe v delovanju možganov in plastičnostjo nevronov so tesno povezane z vplivi okolja. Razlike v količini BDNF med posamezniki ali pri različnih bolezenskih stanjih so lahko tako posledica genskega polimorfizma kot tudi epigenetskega programiranja (Karpova, 2014).

4 EPIGENETIKA

Celice večceličnih organizmov imajo isti DNK, torej so genetsko homogene, po drugi strani pa so zaradi različnega izražanja genov strukturno in funkcijsko heterogene (Jaenisch in Bird, 2003). Epigenetika, če nanjo gledamo v zelo širokem smislu, lahko predstavlja most med zgoraj omenjenima genotipom in fenotipom, saj gre za to, da se lahko spremeni izražanje alela, ne da bi se s tem spremenilo DNK zaporedje (Goldberg, Allis in Bernstein, 2007). Izraz epigenetika se je prvič pojavil leta 1942, uporabil ga je Waddington (po Goldberg idr., 2007), ki je epigenetiko definiral kot *“vejo biologije, ki preučuje vzročne interakcije med geni in njihovimi produkti, ki fenotipu omogočajo, da se izrazi”*. Danes se pojem epigenetika nanaša na stabilne vplive na izražanje genov, ki se pojavijo brez sprememb v DNK zaporedju (Feil, 2006). Osredotoča se na razumevanje počasnih razvojno stabilnih sprememb v določenih mehanizmih izražanja genov, ki ne vplivajo na zaporedje DNK in se lahko prenašajo iz celice na njeno hčerinsko celico (Bird, 2007; po Plomin, DeFries, Knopik in Neiderhiser, 2013). V veliko primerih se epigenetski vzorci izražanja genov in s tem povezani fenotipi obdržijo tudi po mitozih ali celo mejozi, čeprav v primarnem zaporedju DNK ni sprememb. Posledično epigenetiko razumemo kot vedo, ki preučuje mehanizme, ki nadzirajo potencialno dedno izražanje genov (Portela in Esteller, 2010).

Epigenetika ima pomembno vlogo že v prenatalnem razvoju ter tudi v zgodnjem razvoju in v odraslosti živali in rastlin, doseči želi stabilno izražanje ali inaktivacijo genov v specifičnih tipih celic ali v določenih razvojnih obdobjih (Feil, 2006). Epigenetski procesi so bistvenega pomena za razvoj in diferenciacijo, vendar se lahko zaradi naključne spremembe ali pod vplivom okolja pojavijo tudi pri odrasli osebi (Jaenisch in Bird, 2003). Na izražanje genov lahko vplivajo epigenetski dejavniki (na primer dieta, stres, prehrana v prenatalnem obdobju), ki lahko utišajo ali aktivirajo gene, spremembe v izražanju pa se nato lahko prenesejo od ene celice na njeno hčerinsko celico, v nekaterih primerih celo iz ene generacije na drugo, kar imenujemo vtisnjenje (Plomin idr., 2013).

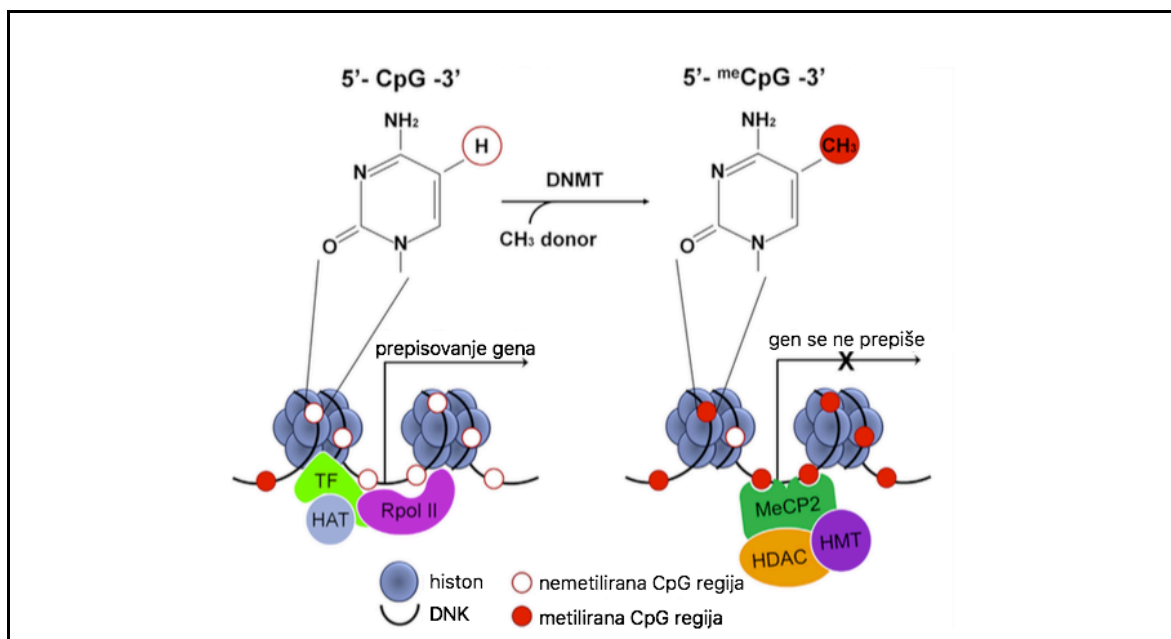
4.1 Epigenetski mehanizmi

Kot vodilne epigenetske mehanizme obravnavamo kovalentne modifikacije citozinskih baz (DNK metilacija) in histonov ter spremembe v položaju nukleosomov (angl. nucleosome positioning). Kljub razdelitvi modifikacij v tri skupine pa se moramo zavedati tudi interakcij med različnimi epigenetskimi faktorji. Navedeni mehanizmi so osnova uravnavanja različnih celičnih procesov, na primer izražanje genov ali microRNK, interakcija DNK-proteinov, zaviranje mobilnosti transportnih elementov, diferenciacija celic, embriogeneza, inaktivacija X-kromosoma in genetsko vtisnjenje (Portela in Esteller, 2010). Epigenom je tako rezultat sodelovanja genotipa, modifikacij kromatina (DNK

metilacija in histonske modifikacije) ter genetskih elementov (nekodirajoče RNK, na primer mikro RNK), ki ga vodi dinamično okolje (Karpova, 2014). V nadaljevanju se bomo osredotočili na DNK metilacijo in modifikacije histonov ter na nekodirajoče RNK (predvsem mikro RNK).

4.1.1 DNK metilacija

Mehanizem metilacije DNK je edini epigenetski mehanizem, ki direktno vpliva na samo molekulo DNK (Párrizas, Gasa in Kaliman, 2012). Proces DNK metilacije je najbolj preučevan epigenetski mehanizem. Dogaja se v vseh celicah in organizmih ter je ključen za normalen razvoj organizma in celično diferenciacijo, saj regulira procese, kot so transkripcija, inaktivacija X kromosoma in gensko vtisnjenje. Pri procesu DNK metilacije, ki ga lahko karakteriziramo tudi kot kemijsko modifikacijo kromatina (Bird, 1986), pride do adicije metilne skupine na petem mestu v citozinskem pirimidinskem obroču (Párrizas idr., 2012). DNK metilacija utiša izražanje gena tako, da prepreči njegovo prepisovanje (Plomin idr., 2013).



Slika 4.01. Prikaz DNK metilacije na promotorski regiji gena (prirejeno po Karpova, 2014).

Metilacija se skoraj vedno zgodi znotraj citozin-gvanin dinukleotidov (CpG) v somatskih celicah, lahko pa tudi v CpG regijah matičnih celic zarodka (Párrizas idr., 2012). Predvidevajo, da DNK metilacija teh regij preprečuje njihovo aktivacijo in mobilnost ter s tem skrbi za stabilnost genoma (Párrizas idr., 2012). Metiliranih je med 60 do 90 % CpG mest (Bird, 1986). V večini primerov CpG metilacija povzroči represijo genov, lahko pa se zgodi tudi, da DNK metilacija specifičnih sekvenc dovoljuje izražanje sosednjih genov (Feil, 2006). Izjema so CpG otočki. To so regije, bogate z nemetiliranimi C in G, z relativno visoko gostoto CpG regij in se večinoma nahajajo na 5' koncu človeških genov

(Bird, 1986). Da lahko neko regijo definiramo kot CpG otoček, mora ta biti sestavljena iz vsaj 200 baz, z vsaj 50 % C+G ter imeti razmerje med opaženimi in statistično pričakovanimi CpG frekvencami vsaj 0.6. S CpG otočki je povezanih približno 60 % človeških promotorjev genov. Čeprav so CpG otočki v normalnih celicah običajno nemetilirani, se v približno 6 % v specifičnih tkivih med zgodnjim razvojem ali v diferenciranem tkivu zgodi tudi metilacija teh otočkov (Portela in Esteller, 2010). Razvojno programirana metilacija CpG otočkov je vpletena v vtisnjenje in inaktivacijo X kromosoma (Bird, 2002). Metilirani CpG otočki so del normalnega razvoja, s tem geni postanejo stabilno zatirani, po drugi strani pa se hipermetilacija s CpG bogatih promotorjev, ključnih tumorskih supresorskih genov, povezuje z rakastimi celicami (Párrizas idr., 2012).

Kot je zgoraj že omenjeno, se DNK metilacija pojavi večinoma znotraj CpG dinukleotidov in kot del normalnega razvoja tudi na CpG otočkih (Párrizas idr., 2012), pojavi pa se lahko tudi na obali CpG otočkov, na CHG in CHH mestih (H je lahko A, C ali T). Obale CpG otočkov so regije, ki ležijo blizu CpG otočkov (~2 kb), vendar imajo manjšo gostoto CpG dinukleotidov. Tudi metilacijo slednjih področij povezujejo z inaktivacijo prepisovanja. Metilacija CHG in CHH mest, ki so jo našli v izvornih celicah, je obogatena predvsem v telesih genov (*angl. gene bodies*) ter jo povežemo z izražanjem gena. DNK metilacijo, kot je že omenjeno, običajno povežemo z inaktivacijo prepisovanja, a jo lahko, kadar se ta zgodi v telesu gena, povežemo tudi z aktivacijo prepisovanja (Portela in Esteller, 2010).

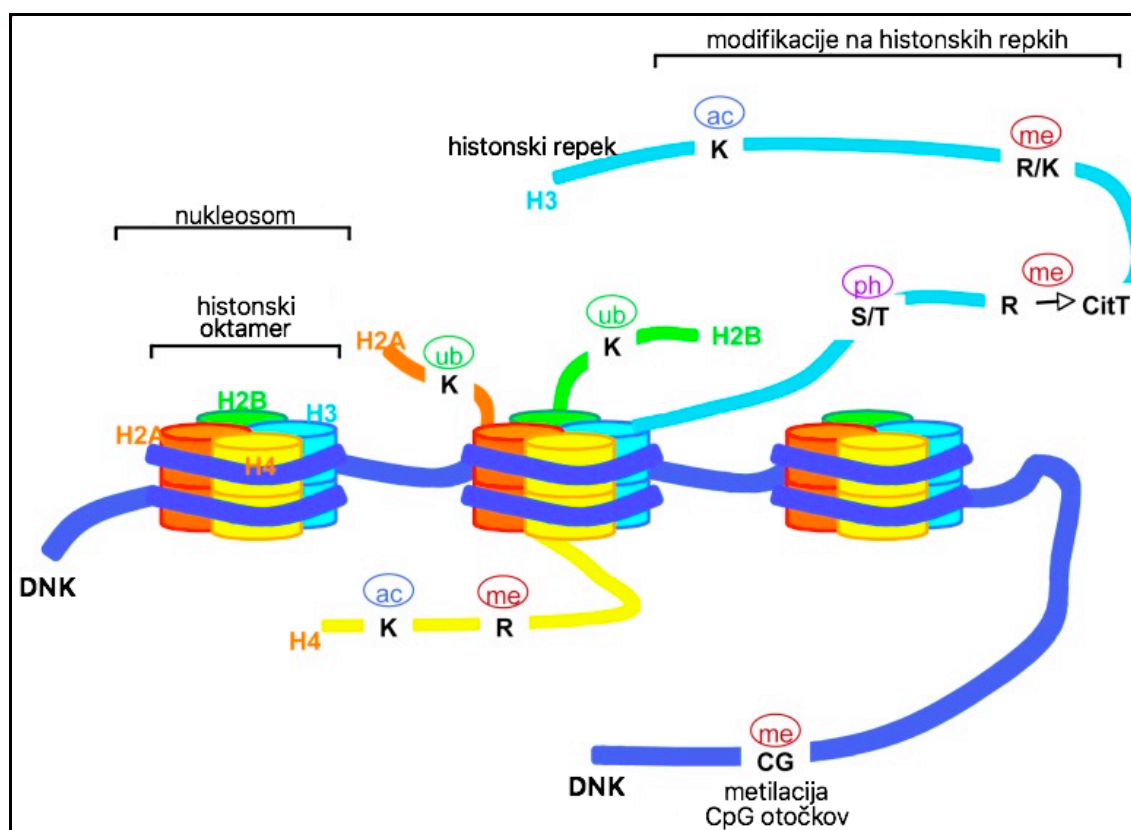
Da lahko DNK metilacija poteče, morajo biti prisotni encimi, ki jih imenujemo DNK metiltransferaze (DNMTs) in jih lahko glede na funkcijo razdelimo v dve veliki skupini: (1) *de novo* in (2) vzdrževalne metiltransferaze. Prva skupina vključuje DNMT3A in DNMT3B in v času razvoja zarodka vzpostavi vzorce DNK metilacije. Druga skupina, kamor sodi DNMT1, te vzorce kopira na komplementarno verigo hemimetilirane DNK, ki nastane pri DNK podvojevanju pri poznejši delitvi celic. Odkrili so še druge DNMT encime, med drugim tudi najbolj ohranjene DNMT2, katerih funkcije pa še niso popolnoma razumljene (Párrizas idr., 2012).

4.1.2 Histonske modifikacije

Veliko epigenetskih sprememb se zgodi ravno na histonih. DNK je v evkariontskih celicah skrbno »zapakirana«, najprej se DNK ovije okoli osmih histonskih proteinov, ki skupaj sestavljajo nukleosom, ti pa so osnovna enota kromatina (Párrizas idr., 2012). Histoni H2A, H2B, H3 in H4 tvorijo nukleosom tako, da se grupirajo v dva H2.A-H2.B dimera in en H3-H4 tetramer. Okoli tega histonskega oktamera se v 1.65 obratih ovija 147 baznih parov dolg segment DNK, sosednji nukleosomi so ločeni s povprečno 50 baznih parov prosto DNK (Kouzardes, 2007; po Portela in Esteller, 2010). Vsi histoni so podvrženi post-

transkripcijskim modifikacijam in večina se jih zgodi na histonskih repkih (Portela in Esteller, 2010). Obstajajo jasne povezave med vzorcem modifikacije histonov v kromatinu določenega gena in med njegovim prepisovanjem. Kromatin lahko glede na stanje prepisovanja razdelimo na evkromatin, ki se aktivno prepisuje, in na heterokromatin, ki je v smislu prepisovanja neaktiven. To delitev na evkromatin in heterokromatin lahko povežemo z modifikacijami histonov, saj je lastnost evkromatina visoka stopnja acetilacije in trimetilacija H3K4, H3K36 in H3K79. Lastnost heterokromatina pa je nizka stopnja acetilacije in visoka stopnja H3K9, H3K27, H4K36 in H4K20 metilacije (Li, Carey in Workman, 2007, po Portela in Esteller, 2010).

Modifikacije histonov imajo, kot je že omenjeno, pomembno vlogo pri uravnavanju prepisovanja in tudi pri drugih mehanizmih, kot so popravljanje DNK, podvojevanje DNK, alternativno izrezovanje in kondenzacija kromosomov (Portela in Esteller, 2010). Poznamo več različnih modifikacij histonov, med drugimi so to: acetilacija, fosforilacija, metilacija, ubikvitinacija in ADP ribilizacija (Strahl in Allis, 2000). Najbolj preučevana modifikacija je acetilacija histonov.



Slika 4.02. Prikaz stukture histona in epigenetskih modifikacij na histonih, kar vključuje aminokislinske ostanke (lizin (K), arginin (R), serin (S) in tirozin (T)), ki so lahko acetilirani (ac), metilirani (me), fosforilirani (ph) in/ali ubikvitinirani (prirejeno po Romania idr., 2012).

Acetilacija histonov je dinamičen proces in je rezultat ravnovesja dveh nasprotujočih si encimov: histonske acetiltransferaze (HATs) in histonske deacetilaze (HDACs) (Párrizas

idr., 2012). Pri regulaciji prepisovanja ima ključno vlogo predvsem acetilacija specifičnih lizinskih ostankov naaminskem koncu v jedru histonov (Strahl in Allis, 2000). Te spremembe nimajo vpliva le na izražanje genov, ampak tudi na mnoge druge biološke procese. V splošnem povečano acetilacijo histona povezujemo z večjo aktivnostjo gena in obratno (Tollefsbol, 2011).

Metilacija histonov se zgodi le na argininu in lizinu. Lahko jo povežemo tako z aktivacijo, podaljšanjem ali represijo izražanja genov. Tako je lahko na primer učinek metilacije arginina na prepisovanje tako represiven kot aktivacijski, odvisno od tega, katera arginin metiltransferaza je vpletena v proces. Ubikvitinacija se nanaša na posttranslacijske modifikacije ϵ -amino skupine lizinskega ostanka, kar se zgodi s kovalentno vezavo enega ali več ubikvitinskih monomerov. Ubikvitin je protein, sestavljen iz 76 aminokislin. Monoubkvitinacija označi protein tako, da ga 26S proteaza razgradi, poliubkvitinacija pa deluje tako, da spremeni funkcijo proteina (Herceg in Murr, 2011). Fosforilacija predstavlja adicijo fosfatne skupine na molekulo proteina. Fosforilacija histonov H1 in H3 je na primer vpletena v kodenzacijo kromosomov med mitozo (Strahl in Allis, 2000).

4.1.3 Nekodirajoče RNK

Obstaja veliko vrst RNK molekul, ki niso prevedene v proteine, zato jih imenujemo nekodirajoče RNK. Odkritja pričajo o ključni vlogi, ki jo imajo nekatere RNK molekule pri uravnavanju izražanja genov in stabilnosti genoma (Párrizas idr., 2012). Glede na velikost jih lahko razdelimo v dve skupini: kratke nekodirajoče in dolge nekodirajoče RNK. Med kratke na primer sodijo mala jedrna RNK (snRNK), vpletena v spajanje, mala nukleolarna RNK (snoRNK), ki uravnava nukleotide ter mikro RNK (miRNK) in mala interferenčna (siRNK), ki sta vpleteni v uravnavanje izražanja genov. Med dolge nekodirajoče uvrščamo tiste RNK molekule, ki so daljše od 200 nukleotidov, med drugim imajo te vrste RNK molekul kritično vlogo pri inaktivaciji X kromosoma (Collins, Schönfeld in Chen, 2011).

Mikro RNK je tesno povezana z epigenetiko. Po eni strani je izražanje miRNK pod epigenetsko kontrolo in je izguba tega epigenetskega nadzora povezana večjim številom tumorjev. Po drugi strani pa lahko miRNK nadzoruje strukturo kromatina s pomočjo posttranskripcijskega uravnavanja ključnih epigenetskih preoblikovalcev, saj obstaja direktna povezava med funkcijo miRNK in izražanjem DNTM ali encimov, ki modificirajo histon (Párrizas idr., 2012).

Še en primer nekodirajočih RNK so dolge intergenske nekodirajoče RNK (lincRNK), za katere predvidevajo, da imajo pomembno vlogo pri razvoju celic in uravnavanju genov, posledično pa tudi pri zdravju in bolezni ljudi. LincRNK povezujejo z represivnimi

kromatinskimi modifikatorji, pomagale naj bi tudi pri vodenju teh proteinov na prave lokacije v genomu. Ugotovljeno je bilo, da lahko transkripcijski faktor, p53, regulira izražanje več lincRNK molekul, ki pa lahko tudi obratno regulirajo nekatere od p53 targetomov (Párrizas idr., 2012).

5 Z VADBO POVZROČENE EPIGENETSKE SPREMEMBE NA BDNF GENU

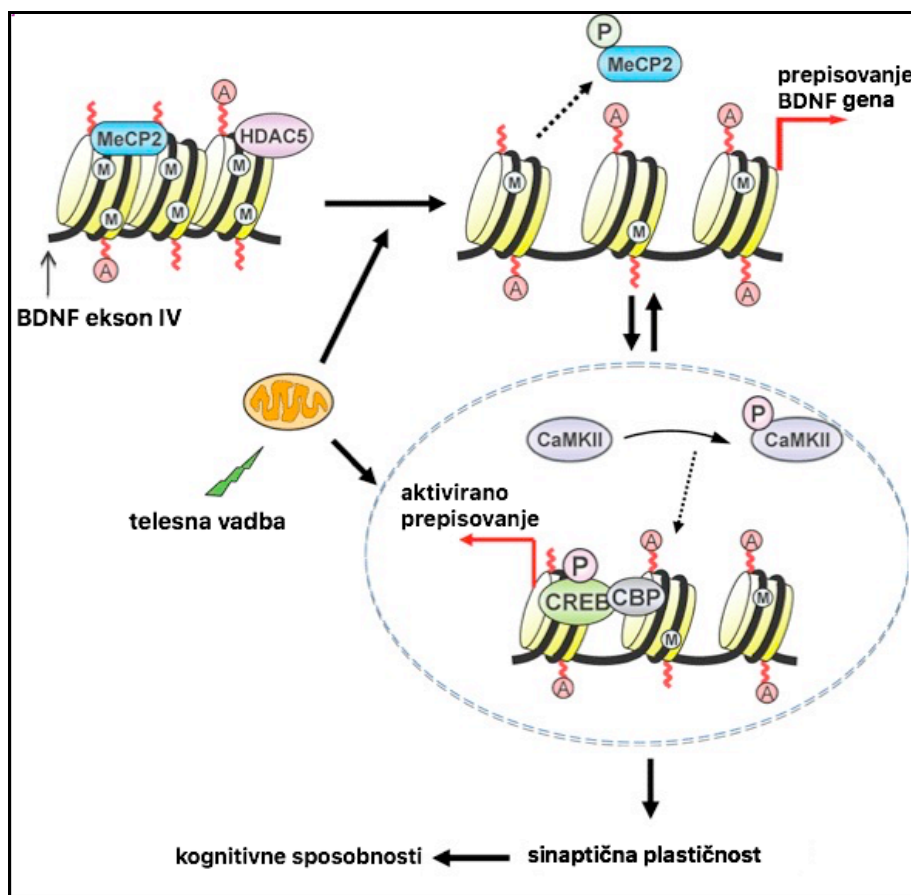
Kot je že omenjeno, telesna vadba spodbuja kognitivne sposobnosti pri ljudeh. Več študij na živalih podpira pogled, da vadba lahko preko epigenetskih mehanizmov vpliva na določene molekularne dogodke in s tem uravnava tudi kognitivne sposobnosti (Gomez-Pinilla in Hillman, 2013). Tako vadba s pomočjo epigenetskih mehanizmov uravnava BDNF in s tem posledično vpliva tudi na spomin in učenje (Gomez-Pinilla idr., 2011).

Ko so preverjali vpliv enotedenskega prostovoljnega teka na izražanje različnih genov pri adolescentnih miškah, so največje razlike opazili ravno v izražanju BDNF gena v hipokampusu. Ugotovili so, da je bila pri vadečih miškah pomembno povišana acetilacija H3 v malih možganih in hipokampusu. Tek je v splošnem vplival na nižjo izraženost genov histonske deacetilace (Hdac) in genov za DNA metiltransferaze (Dnmt's). V hipokampusu so bili nižje izraženi Dnmt1, Dnmt3a in Dnmt3b, podobno zmanjšanje v izražanju se je pojavilo tudi pri Hdac5, Hdac7 in Hdac8. V malih možganih, delu, ki ga povezujemo z učenjem in motorično kontrolo, sta bili znižani Dnmt1 in Hdac8, zanimivo pa je, da so v tej regiji opazili povišane vrednosti Hdac2. Pomembna je bila tudi razdalja, ki so jo pretekle, saj je več razdalje pomenilo tudi višjo izraženost BDNF v hipokampusu in malih možganih. Epigenetske spremembe najbrž lahko uravnavajo specifičen vzorec izražanja genov, ki so povezani s sinaptično plastičnostjo in signalnimi potmi. Te spremembe se v možganih adolescentnih samcev pojavijo kot odgovor na telesno vadbo (Abel in Rissman, 2013).

Prav tako na miškah so preverjali ravni BDNF eksonsko specifičnih transkriptov, zanimalo jih je, ali vadba in stres različno vplivata na raven histonske acetilacije in metilacije na specifičnih BDNF promotorjih. Vadba je zvišala nivo BDNF mRNK v hipokampusu miši ter povečala izražanje transkriptov eksonov I, II, III, IV, VI in VII, vadba in stres uravnava izražanje istih BDNF transkriptov eksonov. Predvidevajo, da je to rezultat povečane ravni acetilacije na histonu H3 in z njim povezanih promotorjev. Povečanje BDNF mRNK je bilo povezano z zmanjšanjem ravni HDAC-5, 7 in 9. Po vadbi so bile malo, a vseeno pomembno manjše tudi ravni HDAC-4 mRNK. Ugotovili so, da vadba nevtralizira znižane ravni BDNF mRNK, ki ga sicer povzroči stres. V pozitivne učinke, ki jih ima vadba na nevtraliziranje zmanjšane izražanja BDNF, izzvanega s stresom, je lahko vpleteno ravno zmanjšano izražanje HDAC-5 (Ieraci, Mallei, Musazzi in Popoli, 2015).

Podrobnejše raziskave so bile narejene posebej na IV promotorju BDNF gena, saj je ta regija zelo odzivna na nevronske aktivnosti in je tarča epigenetskega uravnavanja. Gomez-

Pinilla in sodelavci (2011) so z raziskavo na podganah ugotovili, da telesna vadba spodbuja DNK demetilacijo na Bdnf promotorju IV, zniža raven metil-Cpg-vezavnega proteina 2 (MeCP2) ter BDNF mRNK in proteina v hipokampusu. Po drugi strani se zmanjša raven histonske deacetilaze 5 mRNK in proteina (HDAC-5), kar je tudi povezano z uravnavanjem BDNF gena. Glede na vpliv, ki ga imata vadba in BDNF na sinaptično plastičnost, je verjetno, da z vadbo povzročeno epigenetsko uravnavanje BDNF gena služi kot mehanizem uravnavanja učenja in spomina (Gomez-Pinilla idr., 2011). Na podlagi slednje raziskave je bil predlagan epigenetski mehanizem, prikazan na sliki 5.01, preko katerega vadba zviša raven BDNF mRNK in proteina v hipokampusu ter vpliva na sinaptično plastičnost in kognitivne funkcije.

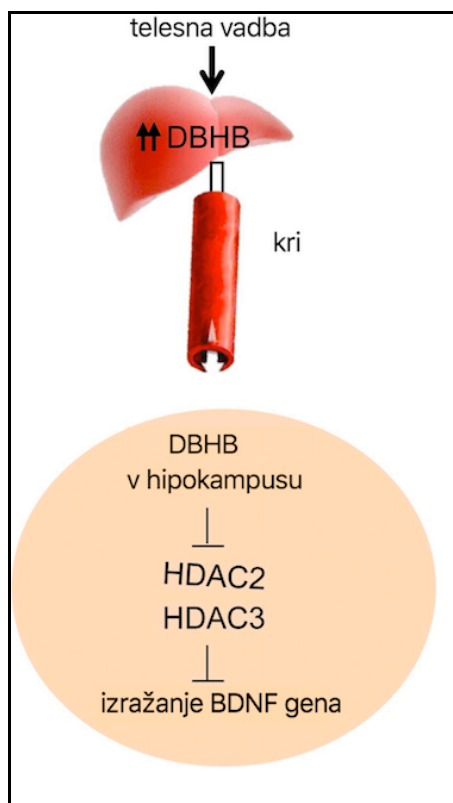


Slika 5.01. Mehanizem, preko katerega vadba z vključitvijo epigenetskega uravnavanja vpliva na sinaptično plastičnost in kognitivne sposobnosti. A: acetilacija histona, CBP: CREB-vezavni protein; M: CpG mesto metilacije; P: fosforilacija (prirejeno po Gomez-Pinilla idr., 2011).

Mehanizem poteka tako, da vadba s fosforilacijo MeCP2 spodbudi demetilacijo BDNF promotorja IV in acetilacijo histona H3 ter inhibira delovanje HDAC-5. Odstranitev MeCP2 in remodeliranje kromatina vodi do prepisovanja BDNF gena. Pride do prepisovanja IV promotorja, ki nato uravnava sinaptično plastičnost in s tem kognitivne funkcije. Vadba poleg omenjenega zviša tudi raven CaMKII in CREB, ki tudi uravnava izražanje BDNF gena. Vpletena sta namreč v poti, preko katerih nevrnska aktivnost

spodbuja mehanizme epigenetskega uravnavanja, ki spodbujajo BDNF prepisovanje. Vadba na epigenetske mehanizme vpliva tako, da pride do stabilnega povečanega izražanja BDNF gena, kar ima lahko pomemben vpliv pri uravnavanju sinaptične plastičnosti in se kaže v izboljšanih kognitivnih sposobnostih (Gomez-Pinilla, 2011; Gomez-Pinilla in Hillman, 2013).

Novejša študija Sleimana in sodelavcev (2016), tudi izvedena na miškah, predlaga nekoliko drugačen model. Poteka tako, da vadba spodbudi sintezo ketonskega telesa DBHB v jetrih. Ta je nato transportiran do možganov in drugih organov. V hipokampusu nato DHBH spodbudi izražanje BDNF tako, da deluje kot inhibitor razreda I histonske deacetilaze (HDAC). DBHB služi kot metabolični signal, ki poveže spremembe v okolju z epigenetskimi učinki in vpliva na prepisovanje nevrotrofičnih faktorjev, kot je BDNF. Naravni metabolit, DHBH, spodbudi prepisovanje BDNF gena v hipokampusu in predstavlja razlago, ki povezuje učinke vadbe ter spremembe perifernega metabolizma, ki vplivajo na epigenetsko kontrolo in na izražanje gena v možganih. DHBH prehaja v možgansko krvno pregrado, povečan je po telesni vadbi in spodbudi izražanje BDNF. DHBH spodbuja histonsko acetilacijo na BDNF promotorjih, še posebno se je povečala aktivnost BDNF promotorja I, tako, da zniža HDAC2 in HDAC3.



Slika 5.02. Predlagani model, preko katerega vadba povzroči povišano izražanje BDNF v hipokampusu (prirejeno po Sleiman idr., 2016).

Niso pa vse raziskave ugotovile z vadbo povzročena povišanega izražanja BDNF. Do zanimivih izsledkov so prišli v raziskavi, v kateri so pri podganah povzročili odvisnost od morfija in jih nato izpostavili prisilni nizko in visoko intenzivni vadbi. Vadba sicer je zmanjšala anksioznost, vendar ni zvišala ravni BDNF v hipokampusu in slini pri podganah, odvisnih od morfija, kar namiguje mogoče tudi na to, da bi lahko vadba na spomin vplivala tudi preko drugih mehanizmov oz. mediatorjev, kot so na primer dopamin, adrenalin in serotonin. Poleg tega visoko intenzivna vadba dvigne nivo kortikosteroidov, kar kaže na povišan stresni odziv, kronični stres pa slabo vpliva na kognitivne funkcije, saj zniža izražanje BDNF v hipokampusu. Prisiljena vadba bi lahko še spodbudila bolezni, ki so bile povzročene s kronično uporabo morfija (Ghodrati-Jaldbakhan idr., 2017).

Če povzamemo, so v raziskavah na živalih odkrili, da vadba vpliva na zvišano izražanje BDNF v hipokampusu (Abel in Rissman, 2013; Ieraci idr., 2015; Gomez-Pinilla idr., 2011; Sleiman idr., 2016), v nekaterih pa do teh rezultatov niso prišli (Ghodrati-Jaldbakhan idr., 2017), vendar je pri tem potrebno poudariti, da je šlo za posebno stanje, odvisnost od morfija ter za prisilno telesno vadbo, kar je lahko dodaten stres za žival, ki ima na izražanje BDNF gena nasprotno učinke od vadbe. Nekateri študije so se osredotočile le na preučevanje enega promotorja, to je BDNF promotor IV (Gomez-Pinilla idr., 2011), medtem ko so se druge osredotočile na različne promotorje in ugotovili so, da vadba povzroči povečano izražanje različnih eksonskih transkriptov: I, II, III, IV, VI in VII (Ieraci idr., 2015). Ker je BDNF gen kompleksen, je smiselno definirati, od katerih BDNF transkriptov so odvisne z vadbo povzročene spremembe v izraženosti BDNF gena. Vadba vpliva tudi na znižano raven genov histonske deacetilaze (Abel in Rissman, 2013), zmanjša raven HDAC-5 (Ieraci idr., 2015, Gomez-Pinilla idr. 2011; Abel in Rissman, 2013), HDAC-7 (Ieraci idr., 2015; Abel in Rissman, 2013) in HDAC-9 (Ieraci idr., 2015) ter tudi HDAC-2 in HDAC-3 (Sleiman idr., 2016). Prav tako so raziskovalci opazili, da vadba povzroči nižjo izraženost genov za DNA metiltransferaze (Dnmt's), predvsem Dnmt1, Dnmt3a in Dnmt3b (Abel in Rissman, 2013) ter nižjo raven MeCP2, kar pomeni tudi demetilacijo gena BDNF (Gomez-Pinilla idr., 2011). Obstajajo različni mehanizmi, preko katerih vadba vpliva na epigenetske spremembe gena BDNF in s tem na kognitivne funkcije. Eden izmed njih je, da vadba, preko demetilacije in acetilacije ter zvišanih ravni CaMKII in CREB, spodbuja prepisovanje IV promotorja gena BDNF in s tem dvigne raven BDNF, kar poveča tudi sinaptično plastičnost in izboljša kognitivne funkcije (Gomez-Pinilla idr., 2011). Drug mehanizem pravi, da vadba spodbudi sintezo DBHB, ki spodbuja aktivnost BDNF promotorja I, tako da inhibira deacetilacijo tega področja (Sleiman idr., 2016). Verjetno gre za sodelovanje več različnih mehanizmov, ki spodbujajo epigenetske spremembe na BDNF genu, omenjena mehanizma poudarjata dogajanje na promotorjih I in IV. Vendar ima BDNF gen devet promotorjev, zato je verjetno, da

obstajajo še drugi mehanizmi, preko katerih vadba vpliva na povečano izražanje BDNF gena in s tem na izboljšanje kognitivnih funkcij.

5.1 Potencialna uporaba spoznanj

BDNF ima potencial pri lažšanju simptomov nevroloških bolezni in duševnih motenj, na primer pri Alzheimerjevi, Parkinsonovi in Huntingtonovi bolezni, pri možganski kapi, depresivni motnji in drugih duševnih motnjah. S svojim delovanjem bi lahko BDNF potencialno upočasnil celično smrt in krepil funkcionalnost preostalih nevronov (Nagahara in Tusyunski, 2011). Aplikacija BDNF v denatantni girus hipokampusa pri modelnih organizmih je na primer povzročila antidepresivne učinke na nekatera vedenja, značilna za depresijo, ki jih preverjajo s testi naučene nemoči in prisilnim testom plavanja (Shirayama, Chen, Nakagawa, Russell in Duman, 2002).

Že sama telesna vadba je lahko terapevtska, saj preko epigenetskega uravnavanja BDNF gena spodbuja duševno zdravje in potencialno varuje pred nevrološkiimi boleznimi. Pri ustvarjanju stabilnih dednih bioloških sprememb je vadba pomembna kandidatka in ima lahko pomembno aplikativno vrednost na področju javnega zdravja (Gomez-Pinilla idr., 2011). Z raziskavo na posameznikih, ki imajo Alzheimerjevo bolezen, so ugotovili, da aerobna vadba pomembno zviša raven BDNF v plazmi. Glede na morebitno vpletenost BDNF v patogenezo Alzheimerjeve bolezni, bi lahko predvidevali, da pojav znižanih ravni BDNF prispeva h kognitivni okvari. Vadba bi lahko preko zvišanja ravni BDNF prispevala k omilitvi teh simptomov (Coelho idr., 2014). Na ravni BDNF v hipokampusu bi pri nekaterih posameznikih, ki so gibalno ovirani, težje vplivali z vadbo. Poznavanje mehanizmov, preko katerih vadba vpliva na izboljšanje kognitivnih funkcij, je zato pomembno, saj lahko ob poznavanju mehanizmov pri resnih boleznih poustvarimo učinke vadbe tudi z zdravili. Znanstveniki so že razmišljali o možnih načinih uporabe zdravila, ki vsebuje BDNF, vendar so naleteli na nekaj težav. BDNF le v minimalnih količinah prehaja možgansko krvno pregrado, zato bi moral BDNF biti administriran direktno v centralni živčni sistem. Eden izmed možnih načinov za doseganje dolgotrajnih sprememb v izražanju BDNF je tudi s pomočjo epigenetskih mehanizmov. Na izražanje BDNF s pomočjo epigenetskih mehanizmov vplivajo tudi antidepresivi, ki povzročijo nižje izražanje histonske deacetilaze (Nagahara in Tusyunski, 2011). Primer poskusa zdravljenja z inhibitorji histonskih deacetilaz je preprečil, s stresom povzročeno, znižano izražanje BDNF in BDNF transkriptov I, II, III in VI. S tem so delno poustvarili učinke telesne vadbe. Uravnavanje epigenetskih sprememb bi lahko bilo primerno zdravljenje za spodbuditev sposobnosti možganov, da se spopadejo s stresnimi izzivi (Ieraci idr., 2015). Poleg uporabe inhibitorjev DNA metiltransferaz in histonskih deacetilaz, bi lahko tarča zdravljenja bila tudi inhibicija MeCP2, ki se selektivno veže na promotor IV BDNF gena, s čimer spodbudi DNA metilacijo (Bouille idr., 2012). Nevarnost teh pristopov je, da bi

splošna aktivacija BDNF v možganih lahko povzročila tveganje izgube telesne teže, senzorične motnje in druge težave, zato bi morali najti način, da bi lahko usmerili BDNF le na ciljne skupine degradiranih nevronov (Nagahara in Tusyunski, 2011).

6 SKLEPI

V prvem delu naloge smo naredili pregled raziskav, na področju vpliva, ki ga ima telesna vadba na kognitivne funkcije. Ugotovili smo, da večina študij potrjuje vpliv tako aerobne kot anaerobne vadbe na kognitivne funkcije (Davis idr., 2011; Flöel idr., 2010; Ruscheweyh idr., 2011; Winter idr., 2007), nekaj pa je tudi takšnih, ki te povezanosti oziroma vpliva niso odkrile (Blumenthal idr., 1991; Madden idr., 1989; Hill idr., 1993). Da ima vadba majhen pozitiven učinek na kognitivne funkcije, je potrdila tudi meta-analiza 79 raziskav (Chang idr., 2012). Veliko raziskovalcev je mnenja, da vadba vpliva na kognitivne funkcije in se trudijo razumeti mehanizme, preko katerih deluje njen učinek.

Drugi izmed ciljev naloge je bil raziskati, kateri so tisti epigenetski mehanizmi, preko katerih vadba povzroči zgoraj omenjene učinke. Eni izmed prevladujočih mehanizmov, preko katerega vadba uravnava kognitivne funkcije, so epigenetske modifikacije na BDNF genu (Gomez-Pinilla in Hillman, 2013). Ta gen je odgovoren za sintezo proteina BDNF, ki je zelo pomemben za sinaptično plastičnost, osnovo spomina in učenja (Cunha idr., 2010). Naš glavni cilj je bil predstaviti dosedanja spoznanja na področju z vadbo spodbujenih epigenetskih sprememb na BDNF genu ter poskusiti predstaviti njihovo uporabnost.

Več raziskav je ugotovilo, da vadba zvišuje raven tako mRNK za BDNF kakor tudi prepisanega proteina v hipokampusu (Abel in Rissman, 2013; Ieraci idr., 2015; Gomez-Pinilla idr., 2011; Sleiman idr., 2016). Ugotovili so tudi, da vadba zniža raven nekaterih histonskih deacetilaz (HDAC): zmanjša raven HDAC-5 (Ieraci idr., 2015, Gomez-Pinilla idr. 2011; Abel in Rissman, 2013), 7 (Ieraci idr., 2015; Abel in Rissman, 2013), 9 (Ieraci idr., 2015), 2 in 3 (Sleiman idr., 2016) in zniža izražanje genov za histonske deacetilaze (Abel in Rissman, 2013). Nižje so izraženi tudi geni za metiltransferaze Dnmts (Abel in Rissman, 2013), s čimer se posledično zniža tudi stopnja metilacije genov. Dve raziskavi sta podali celovitejšo razlago, kako naj bi potekal mehanizem, preko katerega se epigenetske spremembe zgodijo. Prvi mehanizem pravi, da vadba z znižanjem ravni MeCP2 in znižanimi ravnmi HDAC-5 vpliva na demetilacijo in acetilacijo gena, poleg omenjenega pa prepisovanje IV promotorja BDNF gena spodbujajo tudi ob vadbi zvišane ravni CaMKII in CREB. Vsi ti faktorji zvišajo raven BDNF, kar poveča tudi sinaptično plastičnost in izboljša kognitivne funkcije (Gomez-Pinilla idr., 2011). Drug mehanizem pa pravi, da vadba spodbudi sintezo DBHB v jetrih, spodbuja aktivnost BDNF promotorja I, tako da deluje kot inhibitor histonskih deacetilaz (Sleiman idr., 2016).

Verjetno gre za sodelovanje več različnih mehanizmov, ki spodbujajo epigenetske spremembe na BDNF genu, omenjena mehanizma poudarjata dogajanje na promotorjih I in IV, vemo, da ima BDNF gen vsaj 9 promotorjev, zato bi bilo smiselno nadaljevati

raziskave tudi na ostalih promotorjih. Glede na kompleksnost BDNF gena to najverjetneje nista edina mehanizma, preko katerih vadba z epigenetskimi spremembami vpliva na kognitivne funkcije. Na podlagi raziskav lahko ugotovimo tudi, da na epigenetsko uravnavanje Bdnf gena vpliva več različnih molekul. Vadba tako preko že prej omenjenih MeCP2, DHBH, povečanih ravni CaMKII in CREB spodbuja prepisovanje gena.

Ugotavljamo torej, da bi bile potrebne bolj podrobne študije, ki bi raziskovale z vadbo povzročene epigenetske spremembe na celotnem BDNF genu in bi preverjale še vključenost morebitnih dodatnih molekul, ki bi lahko vplivale na pojav epigenetskih sprememb. Poleg tega je na tem področju občutno pomanjkanje študij na ljudeh. Težava je predvsem v tem, da pri ljudeh ne moremo odvzeti vzorca možganov in tako ne moremo določiti, kakšna je na primer izraženost BDNF v možganih. Raziskave bi bilo možno opraviti le post mortem. Vprašanje je tudi, v kolikšni meri so ugotovitve, pridobljene s študijami na živalih, dejansko uporabne za razlogo mehanizmov, ki delujejo pri ljudeh.

Poleg tega je bil naš cilj podati tudi nekaj uporabnih predlogov. BDNF ima potencial pri lajšanju simptomov nevroloških bolezni in duševnih motenj, na primer pri Alzheimerjevi, Parkinsonovi in Huntingtonovi bolezni, pri možganski kapi, depresivni motnji in drugih duševnih motnjah (Nagahara in Tusyunski, 2011). Zato lahko preučevanje z vadbo povzročenih epigenetskih sprememb na BDNF genu prinese koristi tudi na tem področju. S pomočjo odkrivanja mehanizmov, s katerimi vadba zviša nivo BDNF v možganih ter s tem vpliva na izboljšanje kognitivnih funkcij, bi lahko vzajemno odkrili tudi nove načine zdravljenja teh bolezni. S tem bi lahko delno pustvarili učinke vadbe, kot je to z inhibitorji histonskih deacetilaz uspelo Ieraci in sodelavcem (2015). Tako bi tistim, ki zaradi različnih razlogov niso zmožni opraviti toliko telesnega gibanja kot povprečni posameznik, lahko omogočili izboljšanje kognitivnih funkcij in zdravja možganov. Ugotovili so namreč, da lahko pri nevrodegenerativnih boleznih, kot je na primer Alzheimerjeva bolezen, vadba pomaga zakasniti začetek nevrodegenerativnih procesov (Deslandes idr., 2009). V prihodnosti bo za terapijo omenjenih bolezni ključno predvsem raziskovanje na področju uravnavanja izražanja BDNF gena ali dostave BDNF proteina na tarčna mesta v možganih (Nagahara in Tuszynski, 2011).

Ker se je količina telesne dejavnosti v modernih časih, ko je industrializacija spremenila naš življenjski slog, močno znižala pod nivo naših genetskih predispozicij, je še bolj pomembno, da se zavedamo, kako so naši možgani odvisni od telesne dejavnosti in zdrave prehrane (Cordain idr., 1998). To neujemanje med našo genetiko in nivojem telesne dejavnosti prispeva k večji prevalenci nekaterih že omenjenih bolezni (Gomez-Pinilla in Hillman, 2013), zato želimo z nalogo ozavestiti to problematiko in izpostaviti pomembnost

vključevanja telesne dejavnosti v življenje za naše zdravje, s posebnim poudarkom vpliva vadbe na zdravje naših možganov in na naše kognitivno delovanje.

7 LITERATURA IN VIRI

- Abel, J. L. in Rissman, E. F. (2013). Running-induced epigenetic and gene expression changes in the adolescent brain. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 31(6), 382–390.
- Balkowiec, A. in Katz, D. M. (2002). Celular mechanisms regulating activity-dependent release of native brain-derived neurotrophic factor from hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience*, 22(23), 10399–10407.
- Bird, A. P. (1986). CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature*, 321, 209–213.
- Bird, A. (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes and Development*, 16, 6–21.
- Blumenthal, J. A., Emery, C. F., Madden, D. J., Schniebolk, S., Walsh-Riddle, M., George, L. K., ... Coleman, R. E. (1991). *The Journals of Gerontology*, 46(6), 352–361.
- Boulle, F., van den Hove, D. L., Jakob, S. B., Rutten, B. P., Hamon, M., van Os, J., ... Kenis, G. (2012). Epigenetic regulation of the BDNF gene: implications for psychiatric disorders. *Molecular Psychiatry*, 17(6), 584–596.
- Caspersen, C. J., Powell, K. E. in Christenson, G. M. (1985). Physical activity, exercise and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Reports*, 100(2), 126–131.
- Cattaneo, A., Cattane, N., Begni, V., Pariante, C. M. in Riva, M. A. (2016). The human BDNF gene: peripheral gene expression and protein levels as biomarkers for psychiatric disorders. *Translational Psychiatry*, 6(11), 1–10.
- Chang, Y. K., Labban, J. D., Gapin, J. I. in Etner, J. L. (2012). The effects of acute exercise on cognitive performance: A meta-analysis. *Brain Research*, 1453, 87–101.
- Clarkson-Smith, L. in Hartley, A. A. (1989). Relationship Between Physical exercise and Cognitive Abilities in Older Adults. *Psychology and Aging*, 4(2), 183–189.

- Coelho, F. G., Vital, T. M., Stein, A. M., Arantes, F. J., Rueda, A. V., Camarini, R., ... Santos-Galduróz, R. F. (2014). Acute aerobic exercise increases brain-derived neurotrophic factor levels in elderly with Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 39(2), 401–408.
- Colcombe, S. in Kramer, A. F. (2003). Fitness Effects on the Cognitive Function of Older Adults: A Meta-Analytic Study. *Psychological science*, 14(2), 125–130.
- Collins, L. J., Schönfeld, B. in Chen, X. S. (2011). The Epigenetics of Non-coding RNA. V T. O. Tollefsbol (ur.) *Handbook of Epigenetics: The New Molecular and Medical Genetics* (49–61). London: Academic.
- Cordain, L., Gotshal, R. W., Eaton, S. B. in Eaton 3rd, S. B. (1998). Physical activity, energy expenditure and fitness: an evolutionary perspective. *International Journal of Sports Medicine*, 19(5), 328–35.
- Cunha, C., Brambilla, R. in Thomas, K. L. (2010). A Simple Role for BDNF in Learning and Memory. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 3, 1. <http://doi.org/10.3389/neuro.02.001.2010>
- Davis, C. L., Tomporowski, P. D., McDowell, J. E., Austin, B. P., Miller, P. H., Yanasak, ... Naglieri, J. A. (2011). Exercise Improves Executive Function and Achievement and Alters Brain Activation in Overweight Childer: A Randomized Controlled Trial. *Health Psychology*, 30(1), 91–98.
- Deslandes, A., Moraes, H., Ferreira, C., Veiga, H., Silveira, H., Mouta, R., ... Laks, J. (2009). Exercise and Mental Health: Many Reasons to Move. *Neuropsychobiology*, 59, 191–198.
- Drev, A. (2010). Telesna dejavnost. V A. Hočevar Grom (ur.), *Zdravje v Sloveniji* (35–36). Ljubljana: Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije.
- Drev, A. (2013). *Gibanje: telesno dejavni vsak dan*. Ljubljana: Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije. Pridobljeno na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/publikacije-datoteke/gibanje_telesno_dejavni_vsak_dan.pdf
- Egan, M. F., Kojima, M., Callicott, J. H., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Bertolino, ... Weinberger, D. R. (2003). The BDNF val66metPolymorphism Affects Activity-

Dependent Secretion of BDNF and Human Memory and Hippocampal Function. *Cell*, 112(2), 257–269.

Ensembl (2017). *Gene: BDNF*. Pridobljeno junija 2017 na: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000176697;r=11:27654893-27722058

Feil, R. (2006). Environmental and nutritional effects on the epigenetic regulation of genes. *Mutation Research*, 600, 46–57.

Flöel, A., Ruscheweyth, R., Krüger, K., Willemer, C., Winter, B., Völker, K., ... Knecht, S. (2010). Physical activity and memory functions: Are neurotrophins and cerebral gray matter volume the missing link? *NeuroImage*, 49(3), 2756–2763.

Genetics Home Reference (2017). *BDNF gene*. Pridobljeno junija 2017 na <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BDNF>

Ghodrati-Jaldbakhan, S., Ahmadi-pour, A., Rashidy-Pour, A., Vafaei, A. A., Miladi-Gorji, H. in Alizadeh, M. (2017). Low- and high-intensity treadmill exercise attenuates chronic morphine-induced angiogenesis and memory impairment but not reductions in hippocampal BDNF in female rats. *Brain Research*, 1663, 20–28.

Goldberg, A. D., Allis, C. D. in Bernstein, E. (2007). Epigenetics: A Landscape Takes Shape. *Cell*, 128(4), 635–638.

Gomez-Pinilla, Zhuang, Feng, Ying in Fan (2011). Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. *European Journal of Neuroscience*, 33(3), 383–390.

Gomez-Pinilla, F. in Hillman, C. (2013). The Influence of Exercise on Cognitive Abilities. *Comprehensive Physiology*, 3(1), 403–428.

Griesbeck, O., Canossa, M., Campana, G., Gartner, A., Hoener, M. C., Nawa, H., ..., Thoenen, H. (1999). Are there differences between the secretion characteristics of NGF and BDNF? Implications for the modulatory role of neurotrophins in activity-dependent neuronal plasticity. *Microscopy Research and Technique*, 45, 262–275.

- Hartmann, M., Heumann, R. in Lessmann, V. (2001). Synaptic secretion of BDNF after high-frequency stimulation of glutamatergic synapses. *EMBO Journal*, 20(21), 5887–5897.
- Herecg, Z. in Murr, R. (2011). Mechanisms of Histone Modifications. V T. O. Tollefsbol (ur.) *Handbook of Epigenetics: The New Molecular and Medical Genetics* (25–45). London: Academic.
- Hill, R. D., Storandt, M. in Malley, M. (1993). The impact of long-term exercise training on psychological function in older adults. *Journals of Gerontology*, 48(1), 12–17.
- Huang, E. J. in Reichardt, L. F. (2001). Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annual Review of Neuroscience*, 24, 677–736.
- Ieraci, A., Mallei, A., Musazzi, L. in Popoli, M. (2015). Physical exercise and acute restraint stress differentially modulate hippocampal brain-derived neurotrophic factor transcripts and epigenetic mechanisms in mice. *Hippocampus*, 25(11), 1380–1392.
- Jaenisch, R. in Bird, A. (2003). Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature genetics*, 33, 245–254.
- Karpova, N. N. (2014). Role of BDNF epigenetics in activity-dependent neural plasticity. *Neuropharmacology*, 76, 709–718.
- Lang, U. E., Hellweg, R., Sander, T. in Gallinat, J. (2009). The Met allele of the BDNF Val66Met polymorphism is associated with increased BDNF serum concentrations. *Molecular Psychiatry*, 14, 120–122.
- Lautenschlager, N. T., Cox, K. L. in Flicker, L. (2008). Effect of Physical Activity on Cognitive Function in Older Adults at Risk for Alzheimer Disease. *JAMA*, 300(9), 1027–1037.
- Liu, Q.-R., Walther, D., Drgon, T., Poleskaya, O., Lesnick, T. G., Strain, K. J., ... Uhl, G. R. (2005). Human Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Genes, Splicing Patterns, and Assessments of Associations with Substance Abuse and Parkinson's Disease. *American Journal of Medical Genetics Part B* 134B: 93–103.

- Lu, B. (2003). BDNF and activity-dependent synaptic modulation. *Learning and Memory*, 10(2), 86–98.
- Lu, B., Nagappan, G. in Lu, Y. (2014). BDNF and Synaptic Plasticity, Cognitive Function and Dysfunction. V G.R. Lewin in B.D. Carter (ur.), *Neurotrophic Factors, Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Lu, Y., Christian, K. in Lu, B. (2008). BDNF: A Key Regulator for Protein-synthesis Dependent LTP and Long-term Memory? *Neurobiology of Learning and Memory*, 89(3), 312–323.
- Madden, D. J., Blumenthal, J. A., Allen, P. A. in Emery, C. F. (1989). Improving aerobic capacity in healthy older adults does not necessarily lead to improved cognitive performance. *Psychology and Aging*, 4(3), 307–320.
- Mandelman, S. D. in Grigorenko, E. L. (2012). BDNF Val66Met and Cognition: All, None, or Some? A Meta-Analysis of the Genetic Association. *Genes, Brain and Behavior*, 11(2), 127–136.
- Marosi, K. in Mattson, M. P. (2014). BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 25(2), 89–98.
- Nagahara, A. H. in Tuszyński, M. H. (2011). Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. *Nature Reviews Drug Discovery*, 10(3), 209–219.
- Nanda, B. in Manjunatha, S. (2015). Exercise and Cognitive Functions. V T. Farooqui in A. A. Farooqui (ur.), *Diet and Exercise in Cognitive Function and Neurological Diseases* (213–224). Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.
- Párrizas, M., Gasa, R. in Kaliman, P. (2012). Epigenetics of Lifestyle: The Plasticity of the Genetic Information. V M. Párrizas, R. Gasa in P. Kaliman (ur.), *Epigenetics of Lifestyle* (3–35). Sharjah: Bentham Books.
- Plomin, R., DeFries, J. C., Knopik, V. S. in Neiderhiser, J. M. (2013). *Behavioral Genetics* (6th ed.). New York: Worth Publishers.

- Portela, A. in Esteller, M. (2010). Epigenetic modifications and human disease. *Nature Biotechnology*, 28(10), 1057–1068.
- Pruunslid, P., Kazansteva, A., Aid, T., Palm, K. in Timmusk, T. (2007). Dissecting the human BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics*, 90(3), 397–406.
- Romania, P., Bertaina, A., Bracaglia, G., Locatelli, F., Fruci, D. in Rota, R. (2012). Epigenetic Dereglulation of MicroRNAs in rhabdomyosarcoma and Neuroblastoma and Translationa Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 16554–16579.
- Ruscheweyh, R., Willemer, C., Krüger, K., Duning, T., Warnecke, T., Sommer, J., ... Flöel, A. (2011). Physical activity and memory functions: An interventional study. *Neurobiology of Aging*, 32(7), 1304–1319.
- Shirayama, Y., Chen, A. C.-H., Nakagawa, S., Russell, D. S. in Duman, R. S. (2002). Brain-Derived Neurotrophic Factor Produces Antidepressant Effects in Behavioral Models of Depression. *Journal of Neuroscience*, 22(8), 3251–3261.
- Sleiman, S. F., Henry, J., Al-Haddad, R., El Hayek, L., Haidar, E. A., Stringer, T., ... Chao, M. V. (2016). Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body β -hydroxybutyrate. *eLife*, 5, e15092.
- Strahl, B. D. in Allis, C. D. (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature*, 403, 41–45.
- Stroth, S., Hille, K., Spitzer, M. In Reinhardt, R. (2009). Aerobic endurance exercise benefits memory and affect in young adults. *Neuropsychological rehabilitation*, 19(2), 223–243.
- Suutama, T. in Ruoppila, I. (1998). Associations Between Cognitive Functioning and Physical Activity in Two 5-Year Follow-Up Studies of Older Finnish Persons. *Journal of Aging and Physical Activity*, 6, 169–183.
- Tollefsbol, T. O. (2011). Epigenetics: The New Science of Genetics. V T. O. Tollefsbol (ur.) *Handbook of Epigenetics: The New Molecular and Medical Genetics* (3–6). London: Academic.

Tomporowski, P. D. (2003). Effects of acute bouts of exercise on cognition. *Acta Psychologica*, 112(3), 297–324.

Van der Borght, K., Havekes, R., Bos, T., Eggen, B. J. L. in Van der Zee, E. A. (2007). Exercise Improves Memory Acquisition and Retrieval in the Y-Maze Task: Relationship With Hippocampal Neurogenesis. *Behavioral Neuroscience*, 121(2), 324–334.

WHO (2017). Physical activity. Pridobljeno junija 2017 na:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs385/en/>

Winter, B., Breitenstein, C., Mooren, F. C., Voelker, K., Fobker, M., Lechtermann, A., ... Knecht, S. (2007). High impact running improves learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 87(4), 597–609.