



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КЛИНИЧКА МЕДИЦИНА

**МОРФОЛОШКА АНАЛИЗА НЕРВНИХ И
ГЛИЈАЛНИХ ЋЕЛИЈА ГЛАВНОГ
МАСЛИНАСТОГ ЈЕДРА ЧОВЕКА**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментори:

Проф. др Душица Марић

Проф. др Небојша Т. Милошевић

Кандидат:

др Драгана Радошевић

Нови Сад, 2019. године

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА

Редни број: РБР	
Идентификациони број: ИБР	
Тип документације: ТД	Монографска документација
Тип записа: ТЗ	Текстуални штампани материјал
Врста рада (дипл., маг., докт.): ВР	Докторска дисертација
Име и презиме аутора: АУ	Драгана Радошевић
Ментор (титула, име, презиме, звање): МН	Проф. др Душица Марић Проф. др Небојша Т. Милошевић
Наслов рада: НР	Морфолошка анализа нервних и глијалних ћелија главног маслинастог једра човека
Језик публикације: ЈП	Српски (ћирилица)
Језик извода: ЈИ	Српски
Земља публикавања: ЗП	Република Србија
Уже географско подручје: УГП	Војводина
Година: ГО	2019.
Издавач: ИЗ	Ауторски репринт
Место и адреса: МА	Медицински факултет, Хајдук Вељкова 3, Нови Сад, Србија
Физички опис рада: ФО	(број поглавља 8/страница 150/44 слике/ графикона 0/13 табела/354 референце/прилога 1)
Научна област: НО	Медицина
Научна дисциплина: НД	Неуроанатомија
Предметна одредница, кључне речи: ПО	Маслинасто једро; неурони; церебелум; глијалне ћелије; старење; старосни фактори; астроцити; олигодендроглијалне ћелије;

	морфолошки и микроскопски налази
УДК	611.818.068
Чува се: ЧУ	Библиотека Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду, Хајдук Вељкова 3, 21000 Нови Сад, Србија
Важна напомена: ВН	
Извод: ИЗ	<p><u>Увод:</u> Главно маслинасто једро је највећи део доњег маслинастог комплекса. На пресеку главно маслинасто једро има изглед наборане врећице са дном које гледа ка спољашњој површини продужене мождине и отвором који је окренут унутра и дорзално. Главно маслинасто једро је укључено у просторну и временску организацију покрета и моторног учења, учења које је повезано са вежбањем, просуђивања времена интервала и брзине покретних стимулуса и когнитивних операција у простору. Популацију неурона главног маслинастог једра чине мултиполарни (90%) и интернеурони (10%). Дендритска арборизација неурона главног маслинастог једра је веома комплексна и различитог је облика (сферична или асиметрична), а правац пружања дендрита може да буде радијалан или кружан. Структурну и функционалну потпору неуронима пружају глијалне ћелије (астроцити, олигодендроцити и микроглија). Глијалне ћелије окружују неуроне и окупирају међунеронске просторе где одржавају микросредину погодну за активност и виталност неурона. Старење представља природан и временски зависан процес који је карактерисан прогресивном појавом иреверзибилних промена у ћелијама, што резултира опадањем саморегулаторних способности јединке. У току старења, долази до нарушавања природног окружења неурона и глијалних ћелија што се одражава на њихов број, величину и изглед тела, дендритску крошњу и синаптичку организацију. <u>Циљеви:</u> Циљеви истраживања су да се утврди да ли се параметри морфологије неурона и глијалних ћелија разликују између старосних група,</p>

као и да се квантитативном анализом провери могућност класификације неурона и глијалних ћелија према квалитативном опису. Материјал и методе: Узорак студије је чинило 30 обостраних исечака главног маслинастог једра подељених у три старосне групе (други период сазревања (36-60 год.), рани период старења (61-75 год.) и касни период старења (76-90 год.)). Извршена је хистолошка обрада узорака Голцијевом методом импрегнације а микроскопске слике резова су дигитализоване а затим трансформисане у бинарне и скелетонизоване слике. Квалитативно су процењиване особине слика неурона (259) и глијалних ћелија (419) а квантитативна анализа величине, облика, гранања, дужине и сложености испитиваних ћелија спроведена је израчунавањем 22 (геометријска, компјутациона и фрактална) параметра. Резултати: Квалитативном проценом уочене су разлике у изгледу тела и неуронског поља, дендритске крошње, правца пружања дендрита, и распореда неурона у главном маслинастом једру. Квалитативна процена глијалних ћелија омогућила је њихов опис према врстама (астроцити, олигодендроцити и микроглија). Квантитативно испитивање геометријских параметара је показало да се неурони и глијалне ћелије не могу класификовати према величини. Неурони треће старосне групе имају мање вредности параметара који квантификују сложеност тела, неуронског поља и дендритске крошње, као и параметре дужине неурона. Површина тела, параметри дужине глијалне ћелије и сложеност глијалне крошње астроцита, значајно су мањи у узорку треће старосне групе, у поређењу са првом и другом. Олигодендроцити прве и друге старосне групе имају веће параметре који дефинишу величину и дужину ћелија, а мање вредности фракталне димензије сложености (тела, глијалног поља и глијалне крошње), од треће старосне групе. Закључци: Касни период старења нервног система резултирао је појавом регресивних промена на неуронима. Астроцити већ у раном периоду старења подлежу атрофичним променама на нивоу

	тела, глијалног поља и наставака, док олигодендроцити у касном периоду старења задржавају сложеност у грађи.
Датум прихватања теме од стране Сената: ДП	23.06.2016.
Датум одбране: ДО	
Чланови комисије: (име и презиме / титула / звање / назив организације / статус) КО	председник: члан: члан:

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF MEDICINE**

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Doctoral dissertation
Author: AU	Dragana Radošević
Mentor: MN	Prof. dr Dušica Marić Prof. dr Nebojša T. Milošević
Title: TI	A morphological analysis of the neuronal and glial cells in the human principal olivary nucleus.
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	English
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2019.
Publisher: PU	Author reprint
Publication place: PP	Faculty of Medicine, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia

Physical description: PD	Number of chapters 8/pages 150/ 44 pictures/graphs 0/13 tables/354 citations/supplements 1
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Neuroanatomy

Subject, Key words SKW	Olivary nucleus; Neurons; Cerebellum; Neuroglia; Aging; Age factors; Astrocytes; Oligodendroglia; Morphological and Microscopic Findings
UC	611.818.068
Holding data: HD	Library of Medical faculty University of Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad, Serbia
Note: N	
Abstract: AB	<p><u>Introduction:</u> The principal olivary nucleus is the largest part of the inferior olivary complex. On the cross-section, the principal olivary nucleus has the appearance of a folded bag with a bottom looking to the outer surface of the medulla oblongata and hilum that is turned inward and dorsally. The principal olivary nucleus is involved in spatial and temporal organization of movement and motor learning, learning which is related to exercise, coordination of interval time with speed of stimuli and cognitive operations. Neuronal population of principal olivary nucleus consists of multipolar neurons (90%) and interneurons (10%). Dendritic arborization of olivary neurons is very complex with a spherical and asymmetrical shape and radial or circular dendrites. Structural and functional support for neurons is provided by the glial cells (astrocytes, oligodendrocytes and microglia). Glial cells surround neurons and occupy interneuronal spaces where they maintain a suitable microenvironment for the neuronal activity and vitality. Aging is a physiological and time-dependent process characterized by the progressive irreversible changes of the cells, resulting in a decrease in self-regulatory capabilities. During aging, the natural environment of neurons and glial cells is affected, which reflects on their number, size and body structure, the dendritic arborization, and synaptic organization. <u>Aims:</u> The aims of the research were to determine whether the morphology of neurons and glial cells differ between age groups and to quantitatively analyze the possibility of classification of neurons and glial cells according to their qualitative description. <u>Material and methods:</u> The study sample consisted of 30 two-sided</p>

	<p>sections of the principal olivary nucleus divided into a three age groups (the second period of maturation (36-60 years), early aging (61-75 years) and late aging (76-90 years)). Histological preparation of samples (by Golgi's method of impregnation) was performed and the microscopic images were digitized and then transformed into a binary and skeletonized forms. Neurons (259) and glial cells (419) were qualitatively evaluated and the quantitative analysis of the size, shape, branching, length and complexity was carried out by calculating 22 (geometric, computer and fractal) parameters. <u>Results:</u> Qualitative estimation revealed the differences in the appearance of the neuronal body and neuronal field, dendritic arborisation, direction of dendrites and position of neurons inside the principal olivary nucleus. A qualitative evaluation of glial cells enabled description of their types (astrocytes, oligodendrocytes and microglia). Quantitative testing of geometric parameters has shown that neurons and glial cells cannot be classified according to their size. Neurons from third age group have lesser values of parameters that quantify the body complexity, the neuronal field, and the dendritic arborization, as well as parameters of the neuronal length. The body area, parameters of the astrocytes length and the astrocyte arborization complexity, are significantly lower in the sample of the third age group, in compared with the first and the second. Oligodendrocytes of the first and second age group have larger parameters that define the cell length, and lower values of the fractal dimension of body, glial field and glial arborization complexity, from the third age group. <u>Conclusions:</u> Late aging period of the nervous system resulted in a regressive changes on neurons. During the early aging period astrocytes undergo to atrophic changes of body, glial filed and processes, while the oligodendrocytes in the late period of aging retain their structure complexity.</p>
Accepted on Senate on: AS	23.06.2016.
Defended: DE	

Thesis Defend Board: DB	president: member: member:
----------------------------	----------------------------------

Најлепше се захваљујем ...

Својој драгој менторки, проф. др Душици Марић, на безусловној подршци, речима охрабрења и стручним саветима и смерницама у току израде ове дисертације.

Проф. др Небојши Т. Милошевићу на незамењивој помоћи у обради резултата и указаном поверењу приликом израде дисертације.

Драгим колегама Завода за Анатомију и лаборанткињи Анђи на охрабрењима и лепој сарадњи.

Својој породици, оцу и сестри, уз чију сам веру и бескрајну пожртвованост постигла све успехе.

Петру, чија ми љубав и подршка дају снагу за све и заједно са Душаном чини живот комплетним.

Сину Душану ...

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
1.1. Анатомија продужене мождине	3
1.1.1. Спољашња морфологија продужене мождине.....	3
1.1.1.1. Доњи маслинасти комплекс (<i>complexus olivaris inferior</i>)	4
1.1.1.2. Главно маслинасто једро (<i>nucleus olivaris principalis</i>).....	6
1.1.2. Унутрашња морфологија продужене мождине.....	7
1.2. Нервне ћелије - опште анатомске и хистолошке карактеристике	9
1.2.1. Спојеви нервних ћелија (синапсе).....	13
1.3. Морфогенеза продужене мождине и главног маслинастог једра	14
1.4. Неурони главног маслинастог једра и ћелијска организација	17
1.4.1. Неуронски кластери.....	21
1.5. Везе главног маслинастог једра	22
1.5.1. <i>Guillain-Mollaret</i> тругао.....	26
1.6. Физиологија и функционални значај главног маслинастог једра	26
1.7. Глијалне ћелије	29
1.7.1. Астроцити.....	30
1.7.2. Олигодендроцити.....	35
1.7.3. Микроглијалне ћелије.....	37
1.7.4. Епендимне ћелије.....	39
1.7.5. Реактивна глиоза.....	40
1.7.6. Морфофункционална веза неурон-глија.....	42
1.8. Старење	44
1.8.1. Старење централног нервнoг система.....	44
1.8.2. Нервне ћелије у старењу.....	47
1.8.3. Хистопатолошке и биохемијске промене нервнoг ткива у току старења.....	49
1.8.4. Глијалне ћелије у старењу.....	50
1.9. Обољења која се доводе у везу са оштећењем главног маслинастог једра	53
1.9.1. Хипертрофична оливарна дегенерација.....	56
1.9.2. Поремећај функције и патолошке промене глијалних ћелија.....	59
2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА	62
2.1. Циљеви истраживања.....	62
2.2. Хипотезе истраживања.....	62
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	63
3.1. Хистолошка процедура.....	63

3.2.	Издавање слике неурона и глијалних ћелија.....	64
3.3.	Квалитативна анализа.....	66
3.4.	Квантитативна анализа.....	66
3.4.1.	Величина неурона и глијалне ћелије.....	67
3.4.2.	Облик неурона и глијалне ћелије	68
3.4.3.	Дендрити и глијални наставци и гранање	69
3.4.4.	Дужина неурона и глијалне ћелије.....	69
3.4.5.	Сложеност дендритске и глијалне крошње	70
3.5.	Статистичка обрада података	74
4.	РЕЗУЛТАТИ	75
4.1.	Квалитативна анализа неурона главног маслинастог једра.....	75
4.1.1.	Мали неурони.....	75
4.1.2.	Велики неурони.....	76
4.1.3.	Мултиполарни неурони.....	76
4.1.4.	Асиметрични неурони	78
4.1.5.	Парови неурона	79
4.1.6.	Спољашњи гранични неурони.....	80
4.1.7.	Унутрашњи гранични неурони.....	81
4.1.8.	Централни неурони.....	82
4.2.	Квалитативна анализа глијалних ћелија главног маслинастог једра	82
4.2.1.	Фиброзни астроцити.....	83
4.2.2.	Протоплазматични астроцити.....	83
4.2.3.	Олигодендроцити.....	84
4.2.4.	Микроглијалне ћелије.....	85
4.3.	Квантитативна анализа неурона главног маслинастог једра.....	86
4.3.1.	Квантитативна анализа слике неурона главног маслинастог једра.....	86
4.3.2.	Класификација неурона главног маслинастог једра.....	88
4.3.3.	Испитивање разлике између старосних група.....	89
4.4.	Квантитативна анализа глијалних ћелија главног маслинастог једра	91
4.4.1.	Квантитативна анализа слика глијалних ћелија главног маслинастог једра.....	91
4.4.2.	Класификација глијалних ћелија главног маслинастог једра	92
4.4.3.	Испитивање разлике између старосних група.....	92
4.4.3.1.	Фиброзни астроцити (ФА)	92
4.4.3.2.	Олигодендроцити (О)	95
4.4.3.3.	Протоплазматични астроцити (ППА)	98
5.	ДИСКУСИЈА	103
5.1.	Квалитативна анализа неурона главног маслинастог једра човека	103

5.2.	Квантитативна анализа неурона главног маслинастог једра.....	108
5.2.1.	Класификација неурона главног маслинастог једра.....	108
5.2.2.	Квантитативне разлике неурона између старосних група	110
5.3.	Квантитативна анализа глијалних ћелија главног маслинастог једра	114
5.3.1.	Квантитативне разлике глијалних ћелија између старосних група.....	115
5.4.	Главно маслинасто једро и глијалне ћелије као потенцијалне мете у терапији	120
6.	ЗАКЉУЧЦИ.....	122
7.	ЛИТЕРАТУРА.....	124
8.	ПРИЛОЗИ.....	150
8.1.	Списак скраћеница.....	150

1. УВОД

Бројне студије на различитим експерименталним животињама претходиле су комплексним истраживањима централног нервног система (ЦНС) човека. Изучавање грађе и функције нервног система базира се на анализама морфолошких, физиолошких и биохемијских својстава неурона. Неурон (*neuron*) је сложена ћелија са морфолошким специфичностима и способностима за пријем, синтезу, генерацију и спровођење нервног импулса. Морфолошка и функционална променљивост неурона, као њихова специфична карактеристика, предмет је интересовања истраживача у пољу неуронаука. Неуробиолозима је одувек био изазов да истраже сличности и разлике између одговарајућих типова неурона, као и морфолошке варијације унутар исте класе ћелија.

Поред тога што су спроведене многобројне студије које су се бавиле везама једара доњег маслинастог комплекса (*complexus olivaris inferior*), као и њиховом функцијом, врло мало истраживања постоји о морфолошким карактеристикама нервних ћелија ових једара. Структурну и функционалну потпору неуронима чине глијалне (неуроглијалне) ћелије. Глијалне ћелије окружују неуроне у пределу њиховог тела, продужетака и синапси, и окупирају међунеуронске просторе где испољавају своје потпорне и хомеостатске функције. Ове ћелије одржавају микросредину која је погодна за активност и виталност неурона. Описивање морфолошких својстава нервних и глијалних ћелија и проучавање њихове функције представљају значајне аспекте изучавања грађе и функције ЦНС-а.

Иако актуелна литература обилује подацима о спољашњем изгледу главног маслинастог једра (*nucleus olivaris principalis*) човека, о његовој унутрашњој структури, врстама и топологији ћелија постоји веома мало информација. Већина истраживања која су се бавила испитивањем карактеристика неурона главног маслинастог једра заснована је на његовој квалитативној и семи-квантитативној анализи. Облик, величина и оријентација тела нервних и глијалних ћелија, густина дендритске и глијалне крошње, присуство дендритских бодљи, порекло и положај аксонског брегуљка (*colliculus axonalis*) и иницијалног сегмента (*segmentum initiale*), основни су параметри неопходни за квалитативну и квантитативну анализу неурона. У току раста и развоја организма, неурони пролиферишу, дендритска крошња се усложњава према количини улазних информација и они мигрирају ка коначном одредишту.

У исто време дешавају се и регресивне промене на неуронима које подразумевају програмирану ћелијску смрт, смањење броја ћелија и ћелијских продужетака, као и

редукцију несврсисходних синаптичких контаката. Прогресивни и регресивни развојни процеси на неуронима постепено доводе до њиховог сазревања. Након рођења особе, možдано ткиво пролази кроз периоде сазревања и усклађивања функција, када ће ћелије попримити одраслу форму. Након одређеног времена, поново започињу процеси реорганизације и ремоделације, сада узроковани процесом старења.

Старење представља природан и временски зависан процес који је карактерисан прогресивном појавом иреверзибилних промена у ћелијама, што резултира опадањем саморегулаторних способности јединке (1). У току старења долази до нарушавања природног окружења неурона и глијалних ћелија, што се одражава на њихов број, изглед тела и дендритску организацију. Због тога је потребно квантитативно анализирати морфолошке карактеристике неурона и глијалних ћелија у физиолошким и патолошким стањима. Клинички лекари често имају тешкоће да утврде улогу главног маслинастог једра у испадима моторних функција, с обзиром на то да се повреде и абнормалности овог једра ретко испољавају изоловано од осталих делова ЦНС-а. Оштећење овог једра условљава поремећај функције зупчастог једра малог мозга (*nucleus dentatus*), што за последицу доводи до отежаног извођења вољних покрета и смањења брзине и снаге покрета. Пацијентима је потребно дуже време да изведу покрет, јавља се грешка у извођењу покрета као последица неадекватног усклађивања времена у активацији одговарајућих група мишића и зглобова. Уместо финих и мирних покрета јављају се грчевити и некоординисани покрети. Главно маслинасто једро се сматра местом које генерише хиперритмичке покрете тремора и миоклонуса.

Фрактална природа неуронских облика заснива се на концепту фракталне геометрије, односно на чињеници да је већина биолошких облика толико сложена да не подлеже правилима идеалних конструкција. Примена фракталне технике у неуробиологији омогућава откривање раних промена на неуронима možданог ткива, како у физиолошким тако и у патолошким стањима. Ова научна информација доприноси бољем разумевању сложености промена на ћелијском нивоу које резултирају променом облика, структуре и функције неурона и глијалних ћелија током процеса старења човека.

До данас су познате само две технике квантитативне анализе које успешно дефинишу морфологију дендритске разгранатости – Шолова и фрактална анализа (2). Шолова анализа се састоји од конструисања концентричних кругова или сфера, чији се центар налази у центру тела ћелије, и израчунавања броја пресека наставака и круга. Резултати анализе дефинишу геометрију дендрита, број рачвања грана и облик

дендритске крошње. Фрактална анализа, употребом неколико техника, израчунава фракталну димензију ћелија која представља његов дескриптиван параметар. Овај параметар се даље користи за квантификацију сложености дендритске крошње и мери количину испуњености дендритског поља гранама (3).

Према нашем сазнању овакво истраживање није рађено на нервним и глијалним ћелијама главног маслинастог једра код човека. На основу постојећих података у литератури, облик тела и дендритског поља, као и сложеност дендритске крошње неурона главног маслинастог једра, проучавани су искључиво квалитативно.

Почетак интензивног проучавања нервног система везује се за револуционарно откриће и опис нервне ћелије које је спровео и објавио *Santiago Ramón y Cajal*, пре једног века. Након открића интрацелуларног мапирања и употребе неуроналних меркера пероксидазе и биоцитина, Голци методе бојења нервног ткива заузеле су друго место. Међутим, и после 130 година од првог открића, Голци техника се и даље широко користи у квалитативним хистолошким и неуроморфолошким анализама, експерименталној неурологији и неуропатологији. Оно што чини ову технику јединственом је способност да се импрегнишу све компоненте можданог ткива, укључујући неуроне, глијалне ћелије и крвне судове. Овом методом се импрегнише око 10% неурона. Најчешће је могуће визуализовати тело неурона, дендритску крошњу, а ређе и мали, почетни део аксона (4). Голци бојење је процес који обухвата формирање малих, густих преципитата унутар нервне ћелије, док се једро и митохондрије не могу импрегнисати на овај начин. Применом Голци импрегнационе технике ствара се тзв. „црна реакција“ која је последица везивања соли сребра за неуролему (*neurolemma*), а настаје у реакцији сребро-нитрата и калијум-бихромата. Стварањем црног преципитата на телу (*perikaryon s. neurosoma*), дендритима (*dendritum*), аксонском брестуљку и почетном делу аксона, омогућена је јасна видљивост чак и најфинијих морфолошких својстава импрегнисане нервне ћелије.

1.1. Анатомија продужене мождине

1.1.1. Спољашња морфологија продужене мождине

Продужена мождина (*medulla oblongata*) заједно са можданим мостом (*pons*) и средњим мозгом (*mesencephalon*), гради мождано стабло (*truncus encephali*). Својом спољашњом морфологијом продужена мождина подсећа на кичмену мождину (*medulla spinalis*), те јој одатле и потиче назив. Она има облик зарубљене купе, која се каудално

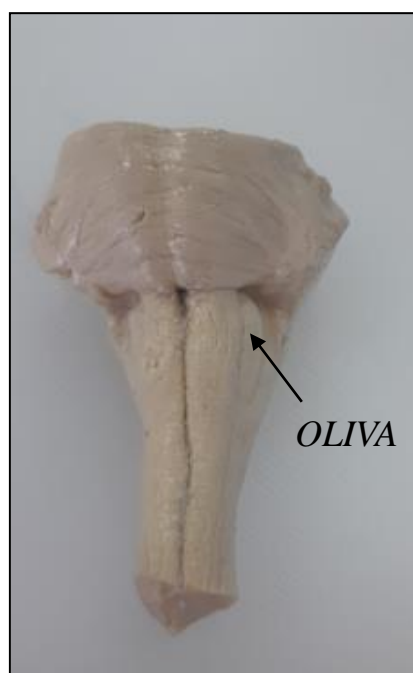
наставља на кичмену мождину а рострално се простире све до можданог моста. Дужина продужене мождине износи око 2,5 cm, а њена ширина се постепено повећава идући ка горе. Коштане границе продужене мождине су горња ивица првог вратног пршљена (*atlas*) и средина падине (*clivus*) потиљачне кости. На вентралној страни, продужена мождина се простире од места укрштања пирамидалног пута (*decussatio pyramidum*) до *sulcus*-а *bulbopontinus* који је раздваја од понса. Дорзално, границу према кичменој мождини означава ниво изласка првог пара кичмених живаца, а према понсу сржне пруге четврте мождане коморе (*striae medullares ventriculi quarti*). Дуж њене предње стране уочава се предња средишња пукотина (*fissura mediana anterior*), која се протеже целом дужином продужене мождине. Предња средишња пукотина се на ростралном крају проширује и формира „слепи отвор“ (*foramen caecum medullae oblongatae*). Бочно од ње уочава се овално парно испупчење које се назива пирамида (*pyramis medullae oblongatae*), а настаје услед проласка груписаних влакана пирамидалног пута (*tractus pyramidalis*) (5,6). Кроз средишњу пукотину, непосредно рострално од места укрштања пирамидалног пута, продужену мождину у виду лука напуштају снопови влакана који даље одлазе упоље ка кори малог мозга. Ова влакна се називају предње спољашња лучна влакна (*fibrae arcuatae externae anteriores*), а полазе из лучних једара продужене мождине (*nuclei arcuati*) и одлазе у мали мозак преко његових доњих ножица (*pedunculi cerebellares inferiores*). Дорзално, продужена мождина је подељена на каудални део, који је затворен и цилиндричног је облика и отворени, шири и дужи рострални, односно горњи део. Рострални део продужене мождине ће чинити доњи део ромбасте јаме (*fossa rhomboidea*). Каудалним делом дорзалне стране продужене мождине простире се задњи средишњи жлеб (*sulcus medianus posterior*). На задњој страни продужене мождине уочавају се два обла испупчења у виду квржица, медијално *tuberculum gracile*, а латерално *tuberculum cuneatum*. Ове квржице су проузроковане једрима која се налазе испод њих - *nucleus gracilis* и *nucleus cuneatus* у којима ће се завршити витки сноп (*fasciculus gracilis*) и клинасти сноп (*fasciculus cuneatus*) (7).

1.1.1.1. Доњи маслинасти комплекс (*complexus olivaris inferior*)

На бочним странама продужене мождине, у њеним горњим половинама, налази се овално испупчење, глатке структуре, које својим изгледом подсећа на маслину, те се и назива маслинасто испупчење, односно *oliva* (Слика 1). Олива је проузрокована

групом релејних једара која сачињавају доњи маслинасти комплекс. Доњи маслинасти комплекс се састоји од главног маслинастог једра (*nucleus olivaris principalis*) и од два помоћна једра: унутрашњег (медијалног) (*nucleus olivaris accessorius medialis*) и задњег (дорзалног) (*nucleus olivaris accessorius posterior*) (Слика 2). Први опис једара маслинастог комплекса дао је *Gabriele Fallopius* у 16. веку и назвао их *corpora olivares*. Од тада су спроведена истраживања која су утврдила присуство једара маслинастог комплекса код свих кичмењака (8,9). Унутрашње помоћно маслинасто једро налази се унутра од отвора (*hilum*) главног маслинастог једра, ваљкастог је облика и малих је димензија. Задње помоћно маслинасто једро је сличног изгледа као и унутрашње једро, а смештено је позади у односу на унутрашњи крај главног маслинастог једра (6,10).

Истраживачи који су спровели испитивања маслинастих једара на Афричком циновском пацову (*Cricetomus gambianus*) истакли су да је разлог њихове добре развијености условљен захтевном и прецизном моторичком активношћу коју поседују ове животиње. За разлику од моторички развијенијих животиња, код камиле и слепих мишева неурони маслинастог једра су закржљали у свом развоју. Код крупнијих сисара, као што су водени бизон (*Buballus bubalis*) и слон (*Elephas maximus*), медијално помоћно маслинасто једро је највеће по свом дијаметру, у односу на дорзално и главно једро, а израчунато је да је унутар њега присутан највећи број неурона (11). Највећу површину дендритског поља имају неурони маслинастих једара мачке, пацова и веверице (12).



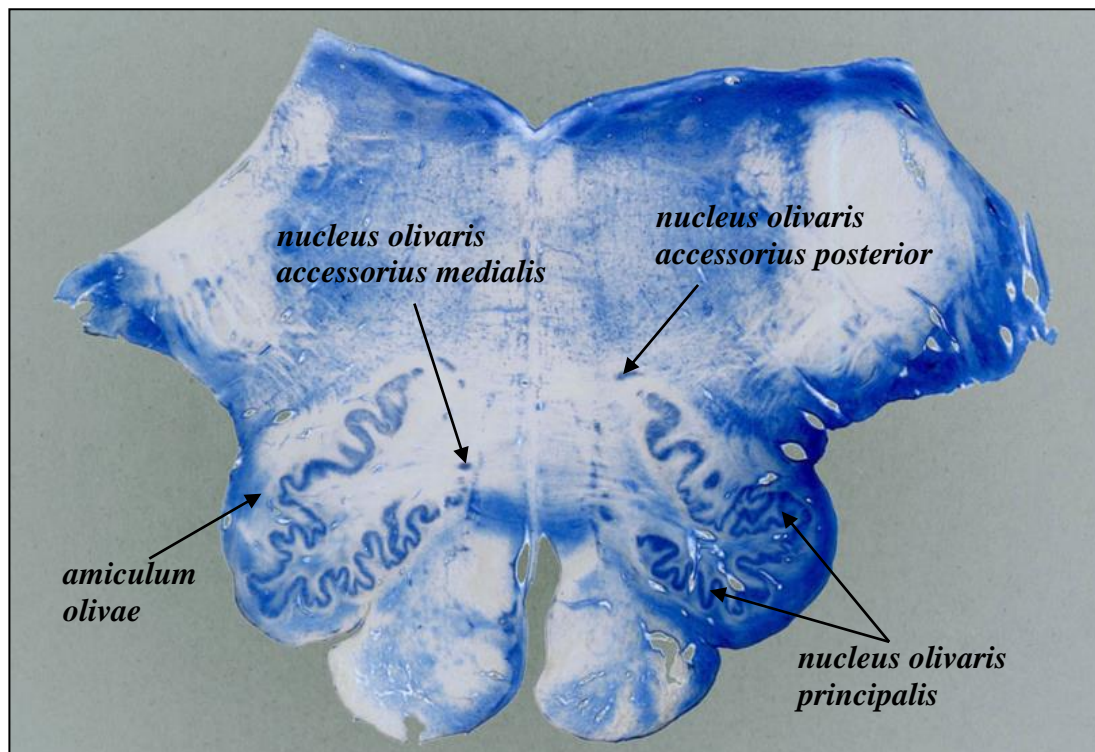
Слика 1. Приказ маслинастог испупчења (*oliva*) на бочним странама продужене мождине

Помоћна маслинаста једра су филогенетски старија у односу на главно маслинасто једро. Унутрашње помоћно маслинасто једро је код мајмуна и пацова веће у односу на главно и задње помоћно маслинасто једро (13). Осим тога, помоћна маслинаста једра описана су и код животиња који су интензивни пливачи, највероватније због добре развијености мускулатуре трупа и репа (14).

1.1.1.2. Главно маслинасто једро (*nucleus olivaris principalis*)

Главно маслинасто једро је локализовано дорзално од пирамида продужене мождине а унутра од медијалног лемнискуса (*lemniscus medialis*). Грађено је од лоптастих ћелија различите величине. Окружује га густа маса фибрознaх влакана која му гради капсулу – *amiculum olivae* (Слика 2) (15). Током еволутивног развоја главног маслинастог једра дошло је до повећања његове величине, тако да је оно постало морфолошки и функционално најразвијеније маслинасто субједро код људи и примата (16,17).

На пресеку главно маслинасто једро има изглед наборане врећице са дном које гледа ка спољашњој површини продужене мождине и отвором који је окренут унутра и дорзално. Осовина главног маслинастог једра постављена је уздужно а зидови су му неравни и показују мехураста испупчења. Дужина овог једра, мерена у ростро-каудалном правцу, износи просечно 14 mm (18). Постепено, током еволутивног развоја дошло је до повећања величине главног маслинастог једра и то у корелацији са развојем неокортекса церебрума и неоцеребелума. Карактеристичан наборан изглед главног маслинастог једра човека аналоган је изгледу зупчастог једра малог мозга (19). Сматра се да многобројни изврати видљиви на главном маслинастом једру служе да повећају његову површину. Површина неурона једара маслинастог комплекса код човека износи од 300 до 600 μm^2 са максималним дијаметром од 10 до 50 μm , и минималним који просечно износи око 20 μm (12). Главно маслинасто једро сисара састоји се од дорзалне и вентралне ламеле, док је код птица и рептила оно представљено ћелијама које су дифузно распоређене и не формирају групе једара маслинастог комплекса (20,21). Према *Moatamed*-у (1966) величина неурона главног маслинастог једра је просечно 25 μm , док дијаметар неурона помоћних маслинастих једара износи око 17 μm (22).



Слика 2. Једра доњег маслинастог комплекса и приказ *amiculum-a olivae*
(Модификовано према: Khale W. (23))

1.1.2. Унутрашња морфологија продужене мождине

Продужена мождина се састоји од сиве и беле масе. Унутар сиве масе продужене мождине налазе се, морфолошки и функционално различите, три групе једара: једра можданих живаца, ретикуларна једра и релејна једра. Једра можданих живаца која припадају соматомоторној групи су једро *XII* можданог (*nucleus nervi hypoglossi*) и *XI* можданог живца (*nucleus nervi accessorii*), а висцеромоторна једра продужене мождине су једро *X* (*nucleus dorsalis nervi vagi*), затим једро *IX* (*nucleus salivatorius inferior*), као и заједничко једро за *IX*, *X* и *XI* мождани живац и назива се *nucleus ambiguus*. Кичмено једро *V* можданог живца је заједничко за *V*, *VII*, *IX* и *X* мождани живац и назива се *nucleus spinalis nervi trigemini*, а спада у соматосензорна једра. Комплекс једара усамљеног снопа (*nuclei tractus solitarii*) припада групи висцеросензорних једара и заједнички су за *VII*, *IX* и *X* мождани живац (5-7).

Са филогенетског аспекта, ретикуларна формација (*formatio reticularis*) продужене мождине је најстарија структура у можданом стаблу. Њен изглед је мрежаст, а чине је ретикуларне ћелије које су расуте или збијене на појединим местима. Неурони су им претежно мултиполарног типа, а најбитнија функција им је координација и обједињавање функција. Мрежаста структура ретикуларне формације

упућује на то да су њене везе бројне, како између њених делова, тако и са другим деловима ЦНС-а. Ретикуларни систем уједињује и преноси читав низ различитих информација. Ћелије ретикуларне формације одликују дуги дендрити и аксони који се гранају на асцендентну и десцендентну грану. Исто тако, аксони поседују и велики број колатералних влакана. На појединим местима ретикуларни неурони су организовани у једра, а према положају се деле на средњи, унутрашњи и спољашњи стуб. Једра средњег стуба су *nuclei raphes (obscurus, pallidus, magnus, nuclei paramediani)*, чије крупне ћелије секретују серотонин и имају утицај на смањење осећаја бола. Аксони ових ћелија одлазе у кичмену мождину, сензорна једра V можданог живца, таламус, хипоталамус и велики мозак. Једра која припадају унутрашњем стубу су *nucleus reticularis centralis s. ventralis medullae* и *nucleus reticularis gigantocellularis* који су задужени за регулацију рада срца и крвног притиска. Такође, овај део ретикуларне формације у вези је са вестибулоспиналним путем (*tractus vestibulospinalis*) и на тај начин учествује у одржавању тонуца антигравитационих мишића приликом стајања. Два једра су делови спољашњег стуба ретикуларне формације продужене мождине – *nucleus parvocellularis* и *nucleus reticularis lateralis*. У њима се завршавају аферентна влакна из кичмене мождине и кохлеарних, вестибуларних, тригеминалних једара, као и из *nucleus-a solitarius*. Осим тога, из *nucleus-a reticularis lateralis* влакна одлазе у вермис и предњи режањ малог мозга (6,7).

Релејна једра, односно “нове сиве масе” су јасно ограничене групације нервних ћелија које делују као центри у којима нервни импулси могу да се заврше, да прођу кроз њих или да се у њима изврши обрада информација. Релејна једра продужене мождине су витко једро (*nucleus gracilis*), клинасто једро (*nucleus cuneatus*), помоћно клинасто једро (*nucleus cuneatus accessorius*), доњи маслинасти комплекс и лучна једра. Неурони II реда путева који спроводе дубоки свесни сензибилитет из трупа и удова налазе се у *nucleus gracilis* и *nucleus cuneatus*. Од њих полазе *fibrae arcuatae internae* које ће формирати највећи сензорни пут, односно *lemniscus medialis*. Мало релејно једро, смештено латерално од *nucleus cuneatus*, у коме се завршавају влакна која преносе дубоки несвесни сензибилитет из горњих екстремитета и врата, назива се *nucleus cuneatus accessorius*. Лучна једра припадају моторном систему и чине везу између коре великог и малог мозга (7). Од свих релејних једара продужене мождине једино лучна једра леже у њеном базалном делу, док су остала једра делови *tegmentum*-а можданог стабла. Кортикоспинални пут (*tractus corticospinalis*) даје један део својих влакана за лучно једро, а из њега ће се она даље усмерити ка доњим ножицама малог

мозга и завршити у кори малог мозга супротне стране (24). Та влакна су подељена на два начина: један део влакана иде као *fibrae arcuatae externae anteriores*, а други као *striae medullares ventriculi quarti*.

1.2. Нервне ћелије - опште анатомске и хистолошке карактеристике

Прва открића у анатомији неуронских ћелија везују се за *Johannes-a Purkinje-a* и 1832. годину када је, почевши да изучава нервно ткиво, најпре открио ћелије малог мозга - Пуркињеове ћелије. Након тога су уследила даља микроскопска истраживања, када је *Carl Dieters* 1863. године описао морфологију неуронских ћелија. Тада су аксони названи цилиндрима, а уочени дендрити названи протоплазматичним продужецима. Неуронска ћелија је први пут добила назив „неурон“ 1891. године од стране *Heinrich-a Wilhelm Gottfried von Waldeyer-Hartz-a* (25). Неурон је морфолошки сложена и динамички поларизована ћелија, која функционише као процесорска јединица нервног система (24). Особине неурона су пријем, синтеза, генерисање и спровођење нервног импулса ка другим ефекторним структурама.

Тело нервне ћелије (*neurosoma*)

Тело нервне ћелије представља њен метаболички центар. По својој морфолошкој форми, тела неурона могу да буду сферична, овоидна, фузиформна или ангуларна. Различите су величине, од пет до 150 μm . Ћелијско тело неурона састоји се од ћелијског једра (нуклеуса) и перинуклеарне цитоплазме (перикарион). Једро је централно позиционирано у телу неурона и садржи један до три једарцета (нуклеолуса), а у њему се производе разноврсне биолошке супстанце које су неопходне за функционисање неурона. Ћелијско тело неурона прима афрентне импулсе. Оно представља генетички и трофички центар неурона. Цитоплазма неурона је богата органелама и инклузијама, а састоји се од гранулираног и агранулираног ендоплазматског ретикулума. Најважније органеле унутар цитоплазме неурона су Нислова (*Nissl*) супстанца, унутар које се синтетишу беланчевине, затим митохондрије, Голџијев апарат, лизозоми, центрозоми и инклузиона телашца (26). Цитоплазму од спољашње средине дели ћелијска опна, односно плазмалема. Она је полупропустљива, те дозвољава пролаз само неким јонима.

Цитоскелет нервних ћелија састоји се од актинских неурофиламената, интермедијарних филамената и микротубула. Неурофиламенти су уснопљени у неурофибриле и одржавају облик ћелије. Уз помоћ ензима киназа и фосфатаза неурофиламенти одржавају дијаметар аксона. Микротубули су задужени за транспорт у ћелији, а у њима се налази и велики број протеина, од којих су MAP-1, MAP-2 (енгл. *microtubule associated proteins*) и Тау протеини (*Tau*) маркери цитоскелета, а такође делују и као стабилизатори (27).

Дендрити (dendritia)

Дендрити неурона су бројни, релативно кратки наставци неурона који су специјализовани за пријем аферентних импулса. Они су најдебљи на нивоу својих коренова и примарних сегмената и постепено се истањују идући ка дендритским терминацијама. Најчешће се гранају на три до шест генерација наставака (24). Образац гранања дендрита је различит (дрво или жбун) и он рефлектује функционални значај неурона због тога што дендрити представљају рецептивну површину за пријем аферентних сигнала и њихов пренос до тела неурона. Хистолошки, дендрите карактеришу богато присутне органеле (базофилна Нислова тела, гранулирани ендоплазматски ретикулум). Широко су испитиване морфофункционалне карактеристике неурона које репрезентују процес старења нервног ткива. Закључено је да долази до регресивних промена на нивоу дендритске крошње, која постаје мање разграната, а дендрити краћи и малобројнији, са смањењем броја трнастих наставака (28,29). Доказано је да током времена долази до промене величине неуронске крошње, те да она зависи од старости неурона.

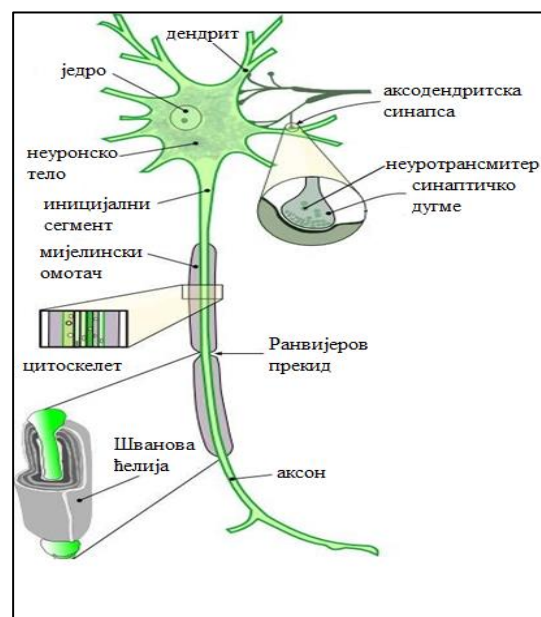
Аксон (axon)

Аксони су дужи наставци у односу на дендрите. Постоје неурони са више аксона, али је најчешће присутан само један аксон. Аксони су специјализовани за стварање и спровођење еферентних нервних импулса до нервне, мишићне или жлездане ћелије. Са хистолошког аспекта, сиромашнији су у органелама, али су богати цитоскелетним полимерима, као што су микротубули и неурофиламенти. Дебљина аксона не опада са повећањем удаљености од тела неурона, као што је то случај са дендритима. Почетак аксона назива се аксонски брежуљак или Дајтерсова купа и смештен је на телу неурона (Слика 3). Брежуљак се наставља релативно танким иницијалним сегментом, који није

мијелинизован. Стабло аксона даје три врсте колатералних гранчица: повратне, побочне и претерминалне гране. Телодендрија (*telodendria*) је разгранат завршни део аксона и свака од грана телодендрије завршава се синаптичким пупољком (Слика 3). На крајевима завршних и бочних грана аксона, налазе се задебљања која садрже мехуриће са неуротрансмитерима и митохондријама. Ова задебљања учествују у изградњи синапси.

Типови неурона

У односу на број продужетака неурони могу имати различите форме и обухватају униполарне, псеудоуниполарне, биполарне и мултиполарне неуроне. Униполарни неурони имају само један продужетак и код људи се налазе у мрежњачи ока (*retina*). Псеудоуниполарни неурони су присутни у сензорним ћелијама спиналних ганглиона и сензорним ганглионима можданих живаца. Код псеудоуниполарних неурона такође је присутан само један продужетак, али се он врло брзо дели на периферну и централну грану. Карактеристика биполарних неурона је један дендрит, који полази са једног пола ћелије, и један аксон који креће са супротног пола. Биполарни неурони се налазе у мрежњачи ока, олфактивном епителу и ганглионима *VIII* можданог живца. Мултиполарни неурони су најзаступљенији у нервном систему сисара и многих бескичмењака. Поседују један дугачак аксон и велики број дендрита који имају различит образац гранања (Слика 3) (7,30).



Слика 3. Анатомска и хистолошка грађа мултиполарног неурона (Модификовано према: Salatino DR. (31))

У односу на дужину аксона, неурони обухватају Голци тип I неуроне, који поседују дуг аксон и налазе се у кичменој мождини и неуроне Голци тип II, чији је аксон кратак, а локализовани су у кори великог и малог мозга (7).

Неурони су, такође, подељени и према функцији коју врше на моторне, сензорне и интернеуроне. Моторни неурони се налазе у предњим роговима кичмене мождине и моторним једрима можданих живаца. Ови неурони преко својих аксона шаљу импулсе до крвних судова, мишића и жлезда. Сензорни неурони се налазе у ганглионима кичмених и можданих живаца, а примају информације из окружења. Интернеурони су уметнути између неурона, и представљају неуроне локалних неуронских кругова. Продужеци интернеурона не напуштају структуру у којој се налазе њихова тела (7,10).

Трнасти наставци (спине)

Прво откриће дендритских спина везује се за 1888. годину када је *Ramón y Cajal* визуализовао трнасте наставке, описао им морфологију и објавио да се њихова величина разликује у односу на регију мозга и врсту организма (32). Након тога, електронска микроскопија је омогућила детаљније проучавање њихове морфологије и функције. Тако су настале хипотезе о улози спина у складиштењу калцијума, селекцији улазних импулса и њиховој способности да спроводе електрични потенцијал (33).

Спине представљају цитоплазматичне протуберанције на површини дендрита, које могу бити различитог облика (трнасти, стубичасти или печуркасти) и које се називају бодљама. Према морфологији, разликују се спине танког врата и мале главе, спине танког врата и печуркасто проширене главе и спине здепастог изгледа на којима се не уочава врат (34). Врат спинозних наставака има улогу у остваривању контаката између два неурона и садржи постсинаптичке сигналне компоненте (35). Неурони који имају густо распоређене спине остварују броније синаптичке контакте са суседним неуронима из своје околине. Спине граде ексцитаторне синаптичке везе са завршецима аферентних аксона и богате су рецепторима за глутамат (GLU) (36,37). Неурони префронталног кортекса поседују већу густину спина на дендритима, у поређењу са визуелним или темпоралним коретксом. Истраживање на пацовима је показало да стрес доводи до морфолошких регресивних промена на дисталним крајевима дендритских спина (34). Број и функционисање дендритских спина у корелацији је са функционалношћу синапси. Наиме, у пирамидалним неуронима хипокампуса утврђена је прецизна корелација броја спина са бројем синапси, односно њихов однос је један

према један (38,39). Динамика спинозних наставака витална је за развој и функцију неуронских кругова, а показано је да у одраслом добу она корелира са пластичношћу неуралних синапси (40).

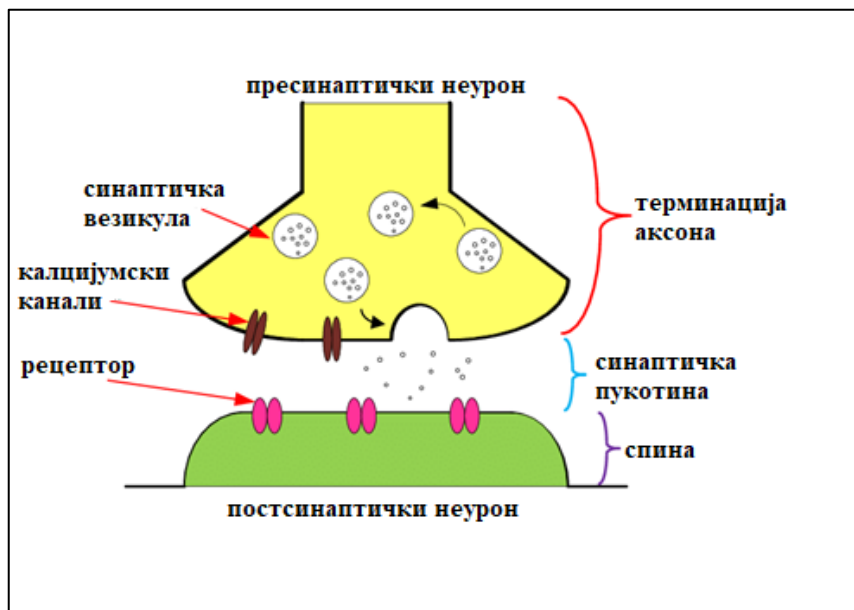
Доказана је повезаност патолошких промена на спинама дендрита и редукција њихове густине са неуродегенеративним обољењима (41,42), когнитивном дисфункцијом (43) и психијатријским пормећајима (44). Наводи се повезаност неуроендокриних утицаја на количину спина на неуронима који старе. Терапија естрогеном код експерименталних животиња је резултирала повећањем густине спинозних наставака и увећањем тела пирамидалних неурона (45).

1.2.1. Спојеви нервних ћелија (синапсе)

Синапса (*synapsis*) представља функционални спој нервне ћелије са другом нервном ћелијом, а такође може бити веза неурона са мишићним и епителним ћелијама. Успостављањем стабилних веза између неурона омогућава се селекција корисних синапси и формирање неуронских кругова. Неуросинапсе су комуникационе неуронске везе хемијског типа које преносе сигнале са једне на другу ћелију. Пренос сигналних информација базиран је на неуротрансмисији преко излучивања молекуларних медијатора (неуротрансмитера) и њиховим електрофизиолошким дејством на постсинаптичку ћелију. Синапсама се остварују вишеструки ланчани неуронски функционални системи и омогућава се обављање најсложенијих функција ЦНС-а. У односу на механизам преноса импулса синапсе се деле на хемијске, присутне код човека у централном и периферном нервном систему (ПНС), и електричне синапсе (6). На основу елемената који учествују у изградњи споја, синапсе могу бити аксоаксонске, аксосоматске, аксодендритске и дендродендритске. Већина неурона маслинастог комплекса остварује аксосоматске синапсе.

Код сваког синаптичког споја постоји пресинаптички и постсинаптички део, а између њих је синаптичка пукотина (Слика 4). Пресинаптички део налази се у дисталном делу аксона и представљен је задебљањем унутар кога се налазе митохондрије и везикуле испуњене неуротрансмитерима. На површини пресинаптичког дела синапси плазмалема је лако задебљана и гради пресинаптичку мембрану (6,24,46). У зависности од дебљине постсинаптичког дела, синапсе се деле на симетричне и асиметричне. Код асиметричних синапси постсинаптичка мембрана је знатно дебља од пресинаптичке, док су код симетричних синапси оне подједнаке

дебљине (5). Неуротрансмитери се депонују у везикулама, а након ослобађања у синаптичку пукотину везују се за рецепторе постсинаптичке опне, мењају њену пропустљивост за јоне и на тај начин изазивају локалну промену електричног потенцијала. Неуротрансмитери који изазивају отварање калијумских и затварање натријумских канала, те заустављање преноса импулса су γ -амино бутерна киселина (GABA), глицин, серотонин и допамин, а овакве синапсе су инхибиторне. Екситаторне синапсе су синапсе у којима неуротрансмитери (ацетил-холин, глутамат, норадреналин, хистамат) изазивају пораст мембранског потенцијала, услед убацивања јона натријума и на овај начин, стимулацију преноса импулса. Синапсе са комбинованим дејством обе врсте неуротрансмитера (инхибиторним и екситаторним), спадају у групу мешовитих синапси (7). Синаптичка пукотина је веома мали интерћелијски простор који садржи специфичне молекуле задужене за ћелијску рекогницију и адхезију. За разлику од неуротрансмитера, неуромодулатори имају особине сличне хормонима, а након ослобађања транспортују се у крвоток мозга и цереброспиналну течност (7).



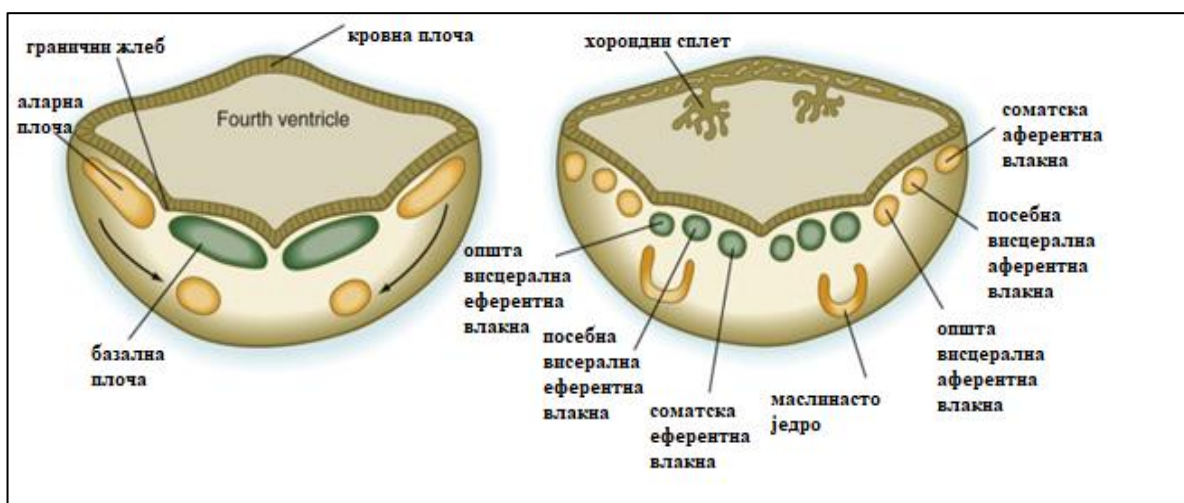
Слика 4. Приказ споја између пресинаптичког и постсинаптичког неурона (Модификовано према: Thanapitak S. (47))

1.3. Морфогенеза продужене мождине и главног маслинастог једра

Развој ЦНС-а је комплексан процес који се одвија кроз сложене фазе пролиферације, миграције, диференцијације и програмиране смрти ћелија која се

назива апоптоза. Нервно ткиво настаје у трећој недељи интраутериног развоја од матичног, герминативног епитела – неуроектодерма. Постепеном пролиферацијом ћелија неуроектодерма, преко форми нервне плоче и нервног олука, настаје нервна цев чији епител постаје псеудостратификован. Даљим сазревањем и миграцијом ћелија интензивирају се процеси морфогенезе и од предње 2/3 нервне цеви настаје паренхим ЦНС-а, а од задње трећине се формира кичмена možдина (24). Коморни систем мозга настаје као резултат морфогенезе лумена нервне цеви. Такође, од нервне цеви настаће и централни неурони и глијалне ћелије. Структуре периферног нервног система пореклом су од неуралног гребена, односно формације неуроектодермалних ћелија које су локализоване уполје од нервног олука и нервне цеви.

Кранијалне две трећине нервне цеви даће предњи мозак (*prosencephalon*), средњи мозак (*mesencephalon*) и задњи мозак (*rhombencephalon*). У шестој недељи интраутериног развоја јавља се понтина флексура која ће поделити задњи мозак на два сегмента: *metencephalon* и *myelencephalon* (10). У току даљег развоја, *myelencephalon* ће дати роstralни наставак кичмене možдине, односно продужену možдину.



Слика 5. Ембрионални развој продужене možдине.
(Модификовано према: Carlson ВМ. (48))

Нервна цев се дели на на базалну плочу (*lamina basalis*), на вентралној страни и на аларну плочу (*lamina alaris*), која представља њену дорзалну зону. Границу ове две ламине представља мање или више изражен гранични жлеб (*sulcus limitans*) (Слика 5). Од базалне плоче потичу сензорни неурони, а ћелије аларне плоче диференцирају се у правцу моторних неурона, док вегетативни стуб настаје од обе поменуте ламине.

Frans Hieronymus Kooy је давне 1917. године утврдио да је маслинасто једро, у неком од својих морфогенетских облика, присутно код многих кичмењака који имају церебелум (опосум, мајмун, лењивац, кртица, зец, кенгур). Он је у свом истраживању описао медијални комплекс маслинастих једара код риба и две групе једара маслинастог комплекса код птица – дорзолатералну и вентролатералну групу (20). Пратећи филогенетски и онтогенетски развој, *Kooy* (1917) је уочио да се вентролатерална група једара постепено увећава и достиже највећи степен развоја код виших примата, те да се касније диференцира у главно маслинасто једро (20). Комплекс маслинастих једара настаје као резултат диференцијације једног дела неурона аларне плоче, вентрално од доње ромбичне усне (10). Ромбична усна је структура која се образује на месту припоја кровне плоче за аларну ламину. Главно маслинасто једро појављује се у осмој недељи интраутериног живота, а у 14. добија свој карактеристичан изувијан изглед. Развој примарних набора траје све до 22. недеље, а формирање секундарних набора до рођења (49). Развој маслинастог комплекса започиње најпре стварањем линеарних и лоптастих кластера неурона у 16. недељи интраутериног развоја, који су тада без видљивих дендрита. Код фетуса старости 20 недеља почињу да се уочавају групе неурона које се смештају на местима будућих једара, такође још увек без формираних дендрита (14). Даљим развојем долази до визуализације дендрита и диференцијације облика нервних ћелија у мултиполарне неуроне и интернеуроне (40. недеља). Први неурони главног маслинастог једра код пацова појављују се у 12. гестацијској недељи, а код мишева нешто раније (10. или 11. недеља) (50). Експериментална истраживања на мишевима су показала да постнатално долази до формирања кластера неурона маслинастог једра који се формирају у исто време када се развија и оливоцеребеларни систем, сугеришући тако да ови кластери представљају „предводнике“ неуронима у правцу њиховог сазревања (51). Студије генетског мапирања су откриле да се неурони доњег маслинастог комплекса рађају из посебног региона прогениторних ћелија доње ромбичне усне, те да мигрирају кружно око ивица можданог стабла до њихове коначне локализације (52-56).

Комплексност развоја маслинастих једара код сисара условљена је пристизањем веће количине информација у једро, те је и резултат реорганизација једара маслинастог комплекса у медијалну, дорзалну и вентролатералну групу, која се касније диференцира у главно маслинасто једро. Доњи маслинасти комплекс се увећава паралелно са развојем хемисфера малог мозга и зупчастог једра (57,58), што је у складу са њиховом међусобном функционалном зависношћу. Са морфогенетског становишта,

развој једара маслинастог комплекса веома је сличан развоју зупчастог једра (19), чиме се потврђује њихова функционална повезаност. Коначно сазревање и развој једара маслинастог комплекса резултат је усавршавања финих покрета горњих екстремитета и њиховог усаглашавања са покретима главе и очију. Током процеса ембриогенезе опстанак неурона главног маслинастог комплекса независан је од степена матурације Пуркињеових ћелија, међутим, непосредно након рођења они рапидно и у великој мери зависе једни од других. За разлику од ЦНС-а одраслих људи, који је лимитиран по питању аксонске регенерације, незрео нервни систем у развоју има способност да у одређеном степену регенерише аксоне (59). Међутим, реорганизован раст и развој дендрита током развоја често се јавља кроз алтернативни пут који се разликује од коначног код одраслих људи. Оливоцеребеларни пут је одличан пример система у коме реорганизација дендрита успоставља нови пут и особина је пластичности оливоцеребеларне конекције.

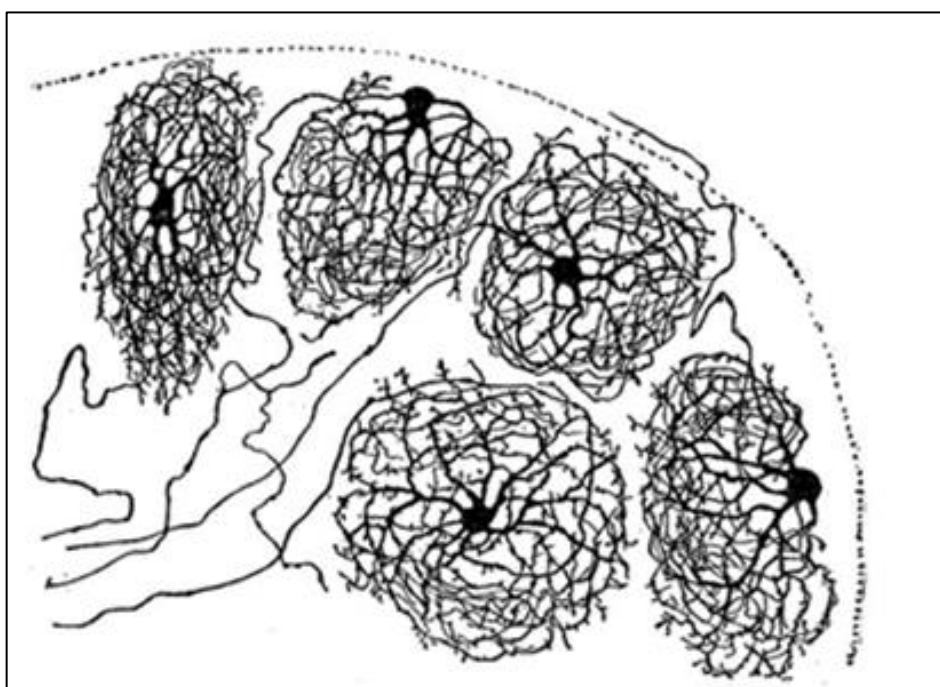
Главно маслинасто једро је посебно вулнерабилно на недостатак кисеоника у раном периоду развоја јединке. Клиничке студије су показале велику концентрацију глутамат рецептора на ћелијама маслинастог комплекса код фетуса и новорођенчади, истичући због тога важну улогу хипоксије као токсичног агенса за неуроне (60). У вези са овим, показано је да је код деце, која су преминула од синдрома изненадне смрти (СИДС, енгл. *sudden infant death syndrome*), утврђен значајно мањи број неурона главног маслинастог једра, у поређењу са узорцима преминулих од других узрока (61). Међутим, реактивна глиоза није детектована, те се претпоставља да је узрок мањег броја неурона заправо развојног порекла, односно грешка у пренаталном капацитету за пролиферацију и диференцијацију прекурсорских ћелија.

1.4. Неурони главног маслинастог једра и ћелијска организација

Сложеност облика и структуре неурона уско је повезана са његовом функцијом. Унутрашњу морфологију главног маслинастог једра карактерише присуство два основна типа неурона: великих мултиполарних неурона и малих интернеурона, који се налазе између великих неурона главног маслинастог једра (62). Мултиполарни неурони заузимају 90% свих неурона главног маслинастог једра, а величина им износи просечно 25 μm (22). Велики мултиполарни неурони главног маслинастог једра су извор еферентних пузајућих влакана која одлазе у контралатералну страну коре малог

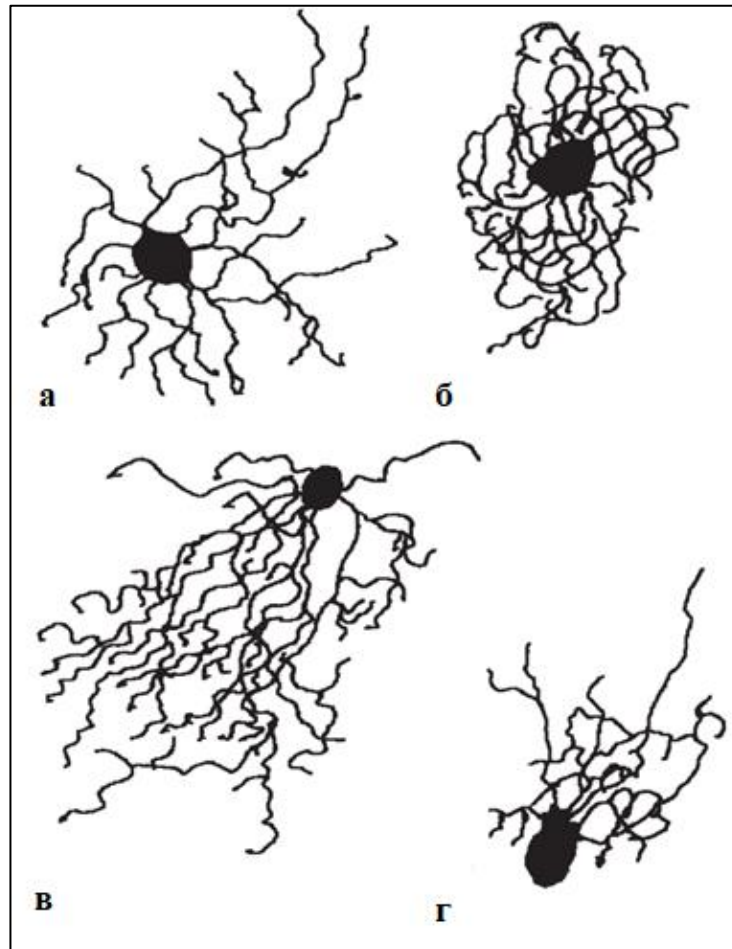
мозга и зупчasto једро. Једро ових неурона је постављено централно и сферичног је облика. Интернеурони главног маслинастог једра су овалног облика, и присутни су у знатно мањем броју у односу на мултиполарне неуроне (5-10%). Они су ГАВА позитивни, те модулирају оливоцеребеларни систем у инхибиторном правцу. Величина интернеурона унутар главног маслинастог једра износи од 7 до 10 μm (62).

Ramón y Cajal је веома давно спровео импрегнацију дендрита неурона маслинастог комплекса у хуманом материјалу. Ћелије је описао као „лоптице од вуне“, с обзиром на то да је уочио веома разгранате дендрите који су се преклапали (Слика 6) (16).



Слика 6. Један од првих приказа неурона главног маслинастог једра према *Ramón-у* у *Cajal-у*

Након тога су спроведене студије на сисарима које су описале различите типове неурона главног маслинастог једра, са различитим начином дендритске арборизације и другачијим правцем пружања дендрита (16,62). Према Пастировој, један део неурона главног маслинастог једра поседује слабо разгранату дендритску крошњу, са радијалним правцем пружања дендрита (тип један), док је за друге неуроне карактеристична добра разгранатост дендрита који се враћају назад ка телу (тип два, „вунене лоптице“) (63). Описују се, такође, и неурони чији су дендрити усмерени ка граници главног маслинастог једра (тип три) (Слика 7).



Слика 7. Типови неурона главног маслинастог једра. **а:** тип један неурона (мачка); **б:** тип два неурона (мало дете); **в:** тип три неурона (веверица); **г:** тип три неурона (мало дете) (63)

Акциони неурона једара маслинастог комплекса полазе од ћелијског тела, или од проксималних дендрита. Описане су две класе аксонских завршетака неурона једара маслинастог комплекса. Прва класа су аксони који на својим крајевима поседују кружне синаптичке везикуле, различите величине, а спојеве остварују са најчешће, секундарним и терцијарним дендритима. Аксони прве класе формирају асиметричне синаптичке спојеве (63). Другу класу чине аксони са везикулама различитог облика, кружне, овалне или спљоштене, а остварују симетричне синаптичке спојеве са дендритима на свим нивоима разгранатости. Мултиполарни неурони главног маслинастог једра имају дугачак аксон који се пружа рострално, напушта једро и наставља пут као пузајуће влакно ка контралатералном церебеларном кортексу. Такође, ови аксони шаљу колатерална влакна ка зупчастом једру и ова пројекција је део церебело-дентато-рубро-оливарног комплекса (49,64,65).

Цитоплазма неурона главног маслинастог комплекса је богата митохондријама, рибозомима и филаментозним протеинским структурама. Поседују добро развијен зрнасти и глатки ендоплазматски ретикулум, са бројним органелама и инклузијама, као и добро развијен Голџијев комплекс. Плазмалема неурона маслинастих једара је на многим местима покривена астроцитима или олигодендроцитима. Неуроне главног маслинастог једра карактерише ексцентрично постављено једро које садржи згуснуто и сферично једарце са фибриларним и грануларним компонентама. Код пацова и мачака, главно маслинасто једро се састоји од дорзалне и вентралне ламеле, док се код виших сисара и човека оно увећава и постиже већи степен извијаности. Код људи, морфолошки посматрано, главно маслинасто једро се састоји од три ламеле – дорзалне, вентралне и латералне. Ламеле се међусобно разликују по начину инвагинација.

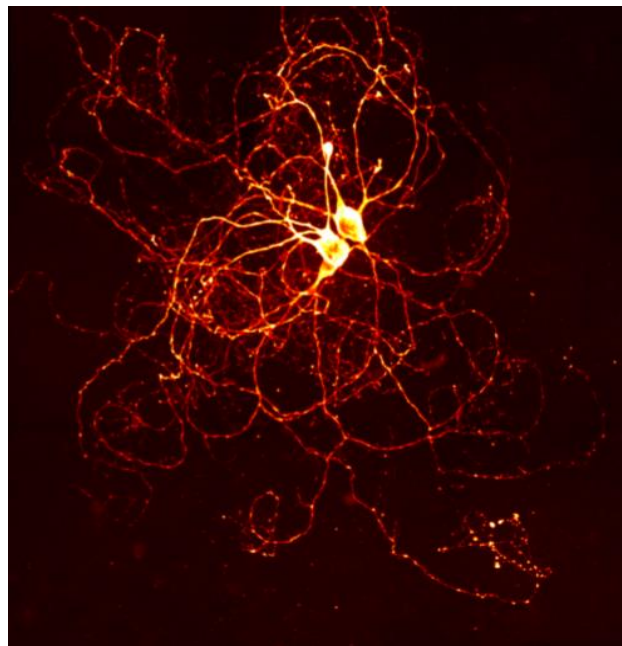
Дендрити неурона маслинастог комплекса код сисара поседују трнасте наставке, спине, и класификују се као спинозни неурони (8,63). Спинозни наставци формирају постсинаптичку компоненту ексцитаторних синапси у неокортикалним круговима. Неурони маслинастог једра човека поседују велику густину електричних синапси што им омогућава и широку дистрибуцију сигнала кроз неуронску мрежу (66). Ступају у велики број синаптичких контаката са суседним неуронима, што указује на њихову високу функционалну активност у смислу трансдукције сигнала и размене импулса. У прилог овоме говори и податак да само један неурон маслинастог једра може да оствари од 500 до 1000 синаптичких веза (67,68). Још једна од ултраструктурних особености неурона маслинастих једара јесте постојање дендритских ламеларних тела (69). Ради се о органелама које су испуњене цистернама са густим депозитима унутар њих, а налазе се у варикозним проширењима на дисталним крајевима дендрита. Претпоставља се да ламеларна дендритска тела регулишу трансдукцију сигнала синаптичке везе, и то преко модулације дендро-дендритских канала унутар синаптичке пукотине. Густина ламеларних тела у дендритима маслинастих једара већа је у односу на друге делове ЦНС-а (69).

Главно маслинасто једро је јединствено и по томе што поседује највећу густину електричних синапси у људском мозгу (67). Овим је омогућено да велика количина нервних импулса најпре буде широко дистрибуирана кроз неуронску мрежу главног маслинастог једра пре него што се информације спроведу у церебелум. Један неурон главног масинастог једра оствари 200 синаптичких веза са једном Пуркињеовом ћелијом (70).

1.4.1. Неуронски кластери

Проучавање организације и конекција неуралне мреже мозданог ткива фундаментално је за разумевање функционалности комплексних процеса преношења информација унутар ЦНС-а.

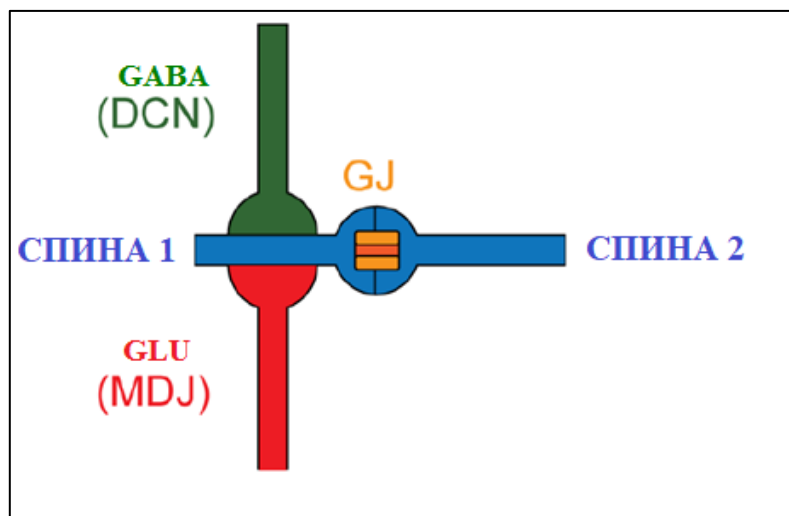
Спинозни наставци главног маслинастог једра су најбројнији на дендритима неурона који се удружују у групе, односно кластере, и формирају специфичан образац конекције, односно гломеруле (67). Гломерули садрже језгро које чини пет до шест спинозних дендрита суседних неурона, а окужени су глијалним ћелијама које им формирају неку врсту заштитног „покривача“ (71,72). Неурони главног маслинастог једра код сисара имају тенденцију удруживања у парове (енгл. *coupling neurons*) (Слика 8) и локализују се између мијелинизованих влакана суседних неурона (12,71). Међутим, електронском микроскопијом је тешко јасно визуализовати и проучити електрофизиолошке карактеристике кластера неурона унутар главног маслинастог једра.



Слика 8. Приказ једног пара неурона главног маслинастог једра видљиво на ротационом диску конфокалног микроскопа (71)

Larry Benardo и сар. (1986) су апликацијом Луциферовог жутог једињења, успели да покажу постојање кластера који се састоје од шест до осам неурона (73). Студија је спроведена на свињама, а детекција кластера извршена је употребом флуоресцентног микроскопа. Поред морфолошке комплексности гломерула неурона главног

маслинастог једра, јединствена им је и електрофизиолошка активност. Дендрити неурона у склопу гломерула главног маслинастог једра остварују симетричне синапсе, за разлику од других региона мозга где су присутни асиметрични синаптички спојеви. То значи да спиозни наставци дендрита главног маслинастог једра примају ексцитаторне и инхибиторне импулсе (Слика 9). Ексцитација потиче од мезендијенцефаличних једара, а инхибиторни сигнали из дубоких церебеларних једара (69,71). Спојеви су модулисани дејством конексин протеина, којих је описано више од 20. За неуронске везе су најбитнији конексин 36 и конексин 45, с тим да је у неуронима доњег маслинастог комплекса доминантно присутан конексин 36 (74). Повећање интраћелијске и екстраћелијске концентрације калцијума резултује затварањем јонских канала али се ефекат калцијума на синаптичке везе између спарених неурона маслинастих једара још увек проучава (75). Овде је важно истаћи да здрави и хипертрофисани неурони главног маслинастог једра могу да преживе и након одстрањивања њихових аксона, управо због постојања снажне везе и електротоничког упаривања неурона (76).



Слика 9. Схематски приказ гломерула маслинастог једра. Синаптичка пукотина (енгл. *gap junction*, GJ) између спина дендрита. Свака спина је инервисана глутаминергичким (GLU) импутом из мезендијенцефаличних једара (MDJ) и GABA-нергичким из дубоких церебеларних једара (енгл. *deep cerebellar nuclei*, DCN) (Модификовано према: Mathy ARD. (71))

1.5. Везе главног маслинастог једра

Главно маслинасто једро је укључено у просторну и временску организацију покрета и моторног учења, когнитивног планирања, учења које је повезано са вежбањем, просуђивања времена интервала и брзине покретних стимулуса и

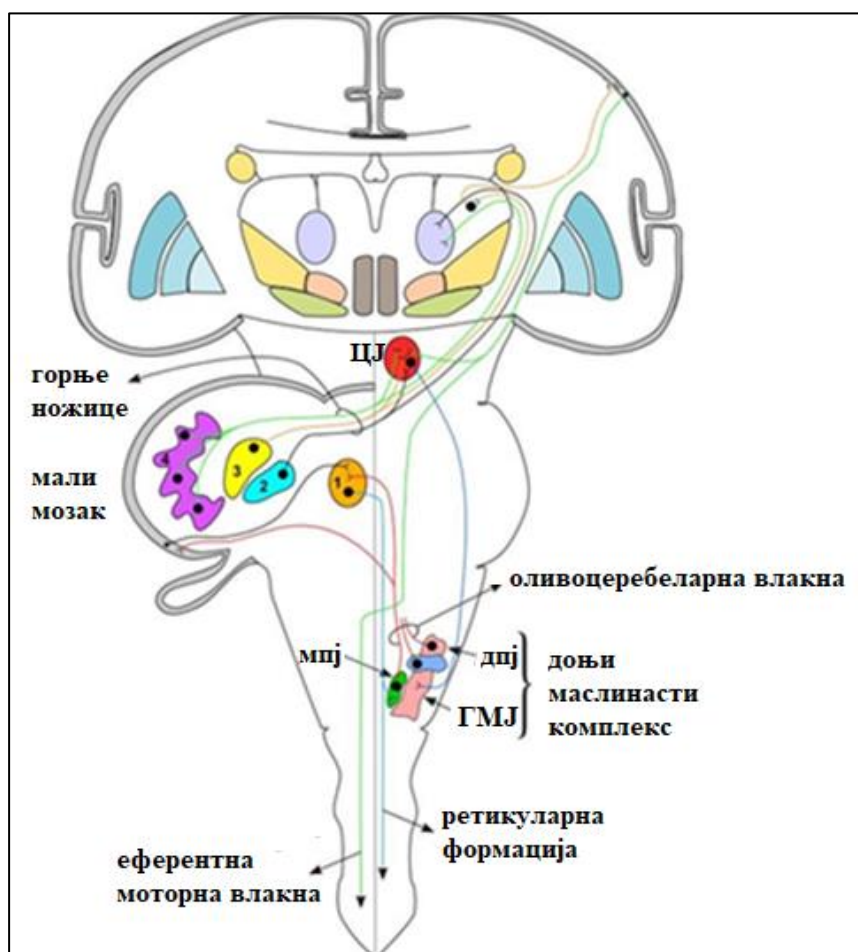
когнитивних операција у простору. Постојањем веза између структура са којима главно маслинасто једро комуницира, настају неуронски кругови чији поремећаји доводе до испада моторних функција.

Аферентна влакна долазе у једра маслинастог комплекса из коре великог мозга (*cortex cerebri*), црвеног једра (*nucleus ruber*), периакведукталне сиве масе средњег мозга и из кичмене мождине. Главно маслинасто једро добија информације и из вестибуларних једара, сензомоторне коре, репатог једра (*nucleus caudatus*), бледог једра (*globus pallidus*) и *zone incerte*. Прима, такође, и асоцијативне мождане улазне системе индиректно преко једара ретикуларне формације можданог стабла и преко зоне инцерте (77). Исто тако, постоје и богате везе између два маслинаста комплекса са обе стране продужене мождине, а ова комуникација се остварује преко влакана која се укрштају и секу медијалне лемнискусе (78). Главно маслинасто једро остварује конекције са структурама које су у вези са моторним функцијама, односно са задњим краком унутрашње мождане чауре (*crus posterius capsulae internae*), црвеним једром, доњим ножицама малог мозга и примарним моторним кортексом (77,78).

Tractus tegmentalis centralis

Tractus tegmentalis centralis је пут екстрапирамидалног моторног система који полази од супкортикалних сивих маса (*striatum, pallidum*) а завршава се у главном маслинастом једру. Овај пут пролази кроз интермедијарни део тегментума можданог стабла. Он се у средњем мозгу налази позади и упоље од места укрштања горњих ножица малог мозга, потом пролази кроз средњи део можданог моста и продужене мождине и долази до главног маслинастог једра. Његов почетак чине три снопа влакана која формирају три дела овог пута: палидооливарни, руброоливарни и ретикулооливарни део. Влакна која чине палидооливарни део полазе из стријатума и палидума и одлазе до црвеног једра у саставу *ansae lenticularis*, све до главног маслинастог једра. Руброоливарни део *tractus-a tegmentalis centralis* су влакна која улазе у састав *tractus-a rubroolivaris*, најважнијег еферентног пута који полази из црвеног једра, а завршава у кори малог мозга као *tractus olivocerebellaris*. На овом нивоу *tractus tegmentalis centralis* достиже своју максималну величину. Из ретикуларних једара међумозга, средњег мозга, можданог моста и продужене мождине крећу влакна која ће чинити ретикулооливарни део овог пута. *Tractus tegmentalis centralis* исто тако прима и предаје импулсе кроз горње ножице малог мозга, у зупчасто

једру. Највећи број влакана *tractus-a tegmentalis centralis* завршава се у главном маслинастом једру, а део и у помоћним маслинастим једрима, затим у ретикуларној формацији и у *nucleus-u ambiguus*. *Tractus tegmentalis centralis* ће, дакле, да интегрише соматске функције мишића који су инервисани од стране можданих живаца. Он успоставља координацију између базалних једара, ретикуларне формације и малог мозга. Учествује у извођењу несвесних покрета, одржавању тонуса мишића, а регулише и положај тела у миру и покрету. Влакна *tractus-a tegmentalis centralis* почињу у таламусу, а у црвеном једру се делимично прекидају, да би се у доњем маслинастом комплексу завршила. Могло би се рећи да овај пут започиње у каудалном крају међумозга, око сиве масе треће мождане коморе. Оштећења *tractus-a tegmentalis centralis* резултирају нистагмусом контралатерално у односу на оштећено главно маслинасто једру, или ипсилатерално од оштећеног зупчастог једра (79).



Слика 10. Везе главног маслинастог једра; ЦЈ-црвено једро; 1, 2, 3, 4 - дубока једра малог мозга; мпј-медијално помоћно маслинасто једро; ГМЈ-главно маслинасто једро; дпј-дорзално помоћно маслинасто једро
(Модификовано према: Salatino DR. (31))

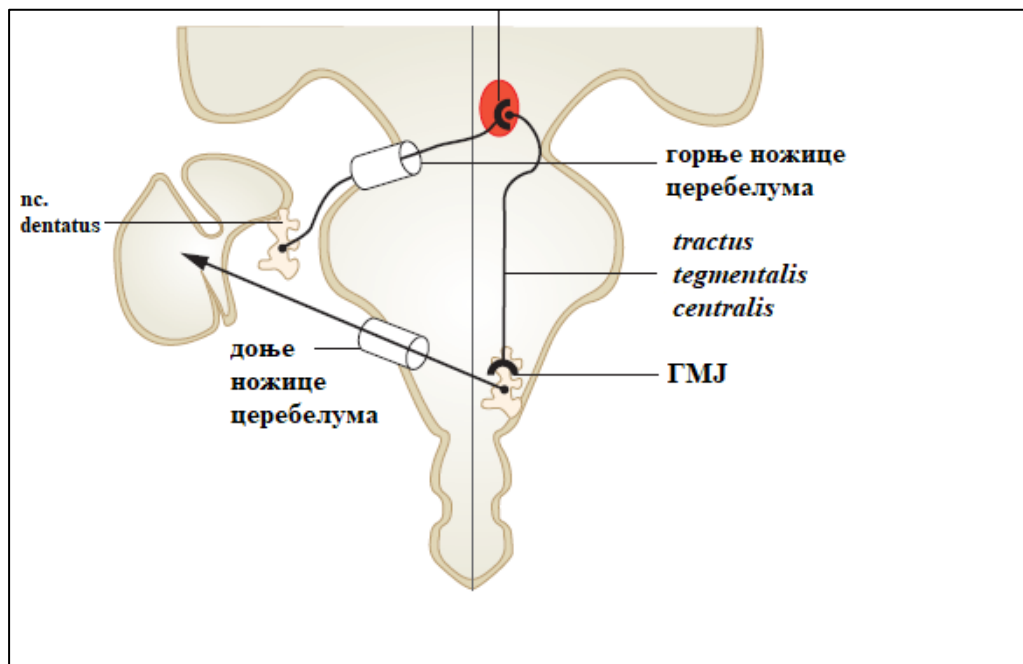
Tractus olivocerebellaris

Еферентна влакна која напуштају главно маслинасто једро су углавном усмерена ка малом мозгу, али се један део ових влакана одваја и одлази у околну ретикуларну формацију и кичмену мождину. Влакна која одлазе у мали мозак (оливоцеребеларна влакна) један су од главних извора пузајућих влакана за његову кору која ће ступити у синаптички контакт са дендритима Пуркињеових ћелија (80). Из ћелија главног маслинастог једра влакна одлазе у кору супротне хемисфере малог мозга чинећи *tractus olivocerebellaris* (Слика 10). Порекло ових влакана су екстрапирамидални моторни центри и највероватније и примарна моторна поља. Оливоцеребеларни пут се завршава делом у кори малог мозга а делом у једрима малог мозга. На овај начин се обезбеђује правилно извођење вољних покрета, нарочито оних који захтевају прецизност. Код хуманих мозгова је утврђено да се свако оливоцеребеларно влакно грана на 14 до 17 пузајућих влакана, док је код пацова овај број нешто мањи и износи од четири до седам влакана. Две основне функције базиране на морфолошким и електрофизиолошким својствима оливоцеребеларног система јесу временско усклађивање покрета и детекција грешке у његовом извођењу (21,81). Ово се може објаснити чињеницом да се неурони маслинастог једра који су међусобно повезани у парове, синхроно деполарису и спороводе импULSE на суседне неуроне преко дендро-дендритских синапси (52). Сматра се да оливоцеребеларни систем функционише као тајмер моторне координације покрета, а да главно маслинасто једро има улогу пејсмејкера, усклађујући ритмичност и организацију покрета у времену и простору (73,82). Неурони главног маслинастог једра су позитивни на неуротрофичне факторе, кортикотропин-ослобађајући фактор (енгл. *corticotropin releasing factor*, CRF) и инсулину сличан фактор раста (енгл. *insulin like growth factor*, IGF) који делују као неуротрансмитери за Пуркињеове ћелије у склопу оливоцеребеларног система (83,84).

Конекције маслинастих једара код риба веома су сличне као и код сисара. Код кошљориба аферентни импулси у маслинасти комплекс пристижу из претекталног подручја мезенцефалона, а еферентна влакна одлазе у мали мозак. Међутим, у морфолошком погледу, рибе не поседују формиран комплекс маслинастих једара већ поседују једно једро које се састоји предоминантно од малих неурона (85).

1.5.1. *Guillain-Mollaret* тругао

Guillain Mollaret тругао је ентитет описан 1931. године а укључује функционалну везу зупчастог једра, црвеног једра и главног маслинастог једра (Слика 11) (21,49,69). Поремећај неке од карика овог затвореног круга доводи до дисфункције целокупног система контроле моторне активности. Овај пут започиње унутар зупчастог једра малог мозга, одакле полазе еферентна влакна која напуштају мали мозак кроз његове горње ножице, а пројектују се затим у црвеном једру супротне стране средњег мозга – дентаторубрални пут. Даље се овај пут наставља кроз мост до доњег маслинастог једра на истој страни продужене мождине. Одавде се аферентним влакнима, преко доњих ножица церебелума, информације спроводе назад у контралатералну страну коре малог мозга, до Пуркињеових ћелија – оливоцеребеларни пут (86). Пуркињеове ћелије затим шаљу информације у ипсилатерално зупчasto једро, чиме се комплетира тругао.

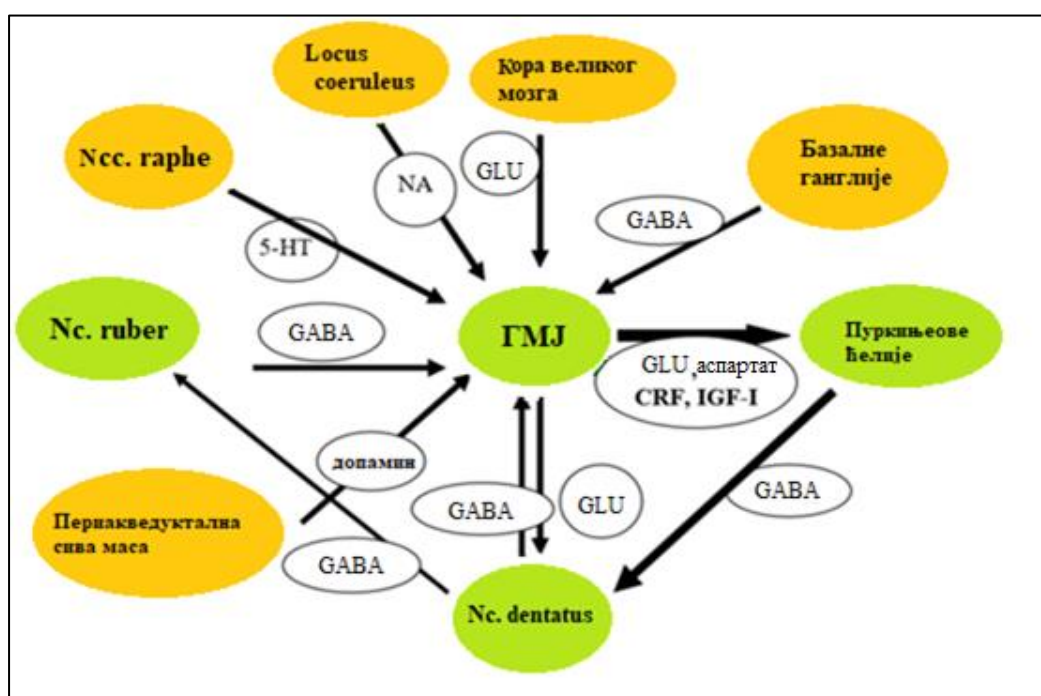


Слика 11. *Guillain-Mollaret* тругао. ГМЈ- главно маслинасто једро (Модификовано према: Rorner АН. (87))

1.6. Физиологија и функционални значај главног маслинастог једра

На основу специфичности које су у вези са морфолошким, ултраструктурним и електрофизиолошким карактеристикама неурона маслинастих једара, оправдано се

може поставити питање њихове функције. Претпоставка је да главно маслинасто једро функционише као „регулаторни сат” који усклађује команду са извршењем моторне активности (82). Ова хипотеза се базира на три особине неурона маслинастих једара: 1) ритмична екситабилност, 2) електротоничка повезаност преко синаптичких пукотина и 3) синхронизована активност у започињању и извођењу покрета. Електрофизиолошке студије су показале да су неурони главног маслинастог једра високо осетљиви и реактивни на дејство неочекиваних спољашњих сензорних дражи. Ово откриће је интерпретирано са аспекта моторне контроле покрета, односно неурони главног маслинастог једра детектују, а затим и сигнализирају неочекиван догађај (88).



Слика 12. Функционална повезаност главног маслинастог једра (ГМЈ) са другим регионима у мозгу, и неуротрансмитери укључени у модулацију неуроналних кругова између њих. NA - норадреналин; 5-НТ- пет хидрокситриптамин (Модификовано према: Lasn Н. (65))

Еферентне везе главног маслинастог једра су јединствене услед своје топографске организације, односно, свака Пуркињеова ћелија прима једно пузајуће влакно (89). Појединачно пузајуће влакно ступа у синаптички контакт са једном Пуркињеовом ћелијом, а један пресинаптички импулс деполарисе ћелију толико снажно да изазива пет или шест акционих потенцијала фреквенције око 500/сек. Сва остала аферентна влакна која улазе у кору малог мозга изазивају слабији акциони потенцијал у односу на пузајућа влакна која долазе из главног маслинастог једра.

Дакле, аксони ћелија главног маслинастог једра се завршавају као пузајућа влакна у кори малог мозга, где пристижу преко доњих ножица церебелума. Пузајућа влакна су дуги аксони пројекционих неурона главног маслинастог једра, а након што дођу у контакт са Пуркињевом ћелијом, гранају се тако што прате гранање њене дендритске крошње. Ови аксони ће градити, горе поменути, оливоцеребеларни пут (*tractus olivocerebellaris*). Аксони главног маслинастог комплекса дају колатералне гране које представљају главни улазни пут у мали мозак, као пузајућа влакана. Синапсе пузајућих влакана и дендрита Пуркињевих ћелија убрајају се у најјаче синапсе ЦНС-а и по типу су ексцитаторне (90). Међутим, на рођењу јединке, Пуркињеве ћелије су у вези са више пузајућих влакана па се тек током раста и развоја организма смањује њихов број, да би коначно остало једно пузајуће влакно за једну Пуркињеву ћелију (91). Пузајућа влакна се увијају око проксималног сегмента дендрита Пуркињеве ћелије, попут „винове лозе“. Одавно је позната чињеница да је главно маслинасто једро у корелацији са степеном развоја понтиних и церебеларних једара. Информације које пристижу из главног маслинастог једра у мали мозак имају задатак да ублаже изненадне покрете и да врше координацију финих покрета прстију шаке. На основу пристиглих информација аутоматски се регулише и планира редослед и опсег вољних покрета, као и прецизност покрета руке, нарочито подлакти и шаке. Истраживања новијег датума су показала да је ово једро повезано са окуломоторним, префронталним и задњим паријеталним пределом великог мозга и да на тај начин учествује у процесу памћења и визуелним функцијама (92). Улога главног маслинастог једра у процесу учења моторне активности, односно формирању схеме грешке, своди се на хипотезу да пузајућа влакна маслинастих једара служе као „учитељи“ церебеларном кортексу. Односно, влакна шаљу сигнал грешке у Пуркињеве ћелије онда када је моторна активност неадекватна. На тај начин се регулише корекција погрешних моторних улазних информација, односно, оне се супримирају од стране неурона главног маслинастог једра (93).

Главно маслинасто једро је моторно релејно једро екстрапирамидалног система. У њега пристижу информације из *tractus-a tegmentalis centralis*, где ће се овај пут и завршити, а на тај начин у главно маслинасто једро стижу информације из екстрапирамидалних моторних центара (7). Главна аферентна инхибиторна влакна за главно маслинасто једро долазе из парвоцелуларног дела црвеног једра, базалних једара и зупчастог једра, а додатно и из ипсилатералног и контралатералног моторног кортекса (Слика 12) (21,94). Серотонергички аферентни импулси долазе из *nuclei*

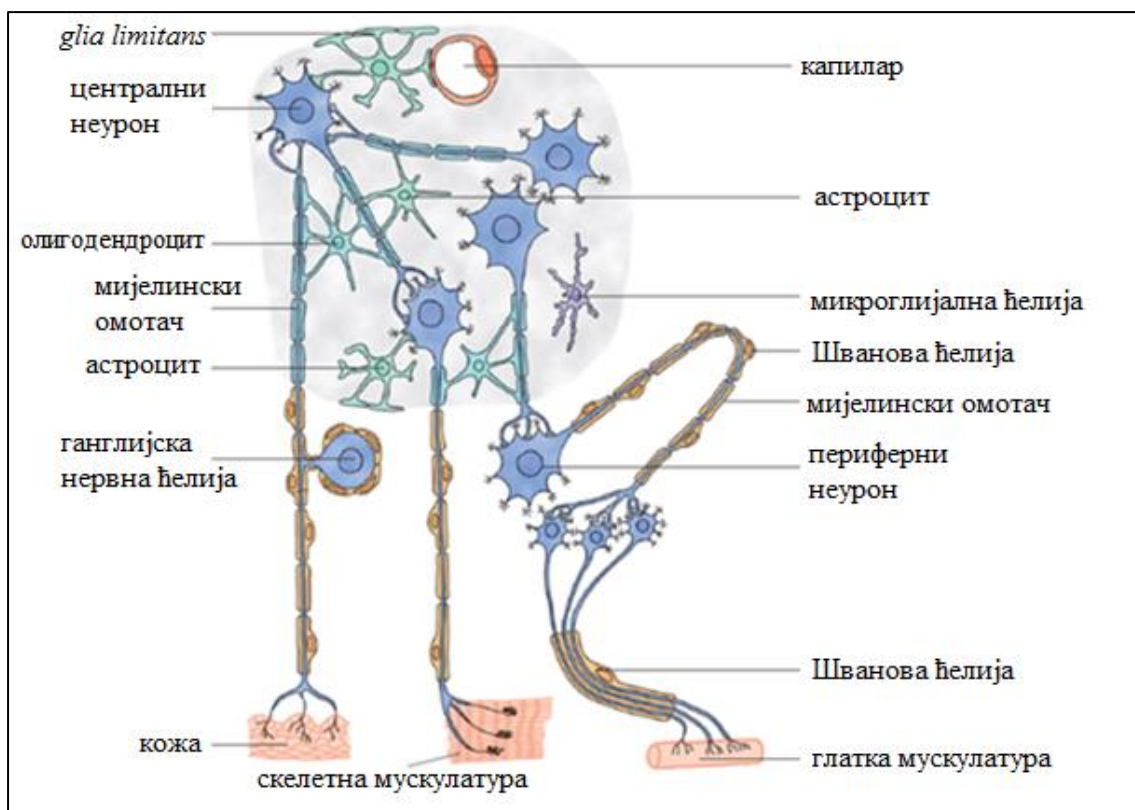
raphe, а допаминергички из периакведукталне сиве масе (Слика 12). Преко главног маслинастог једра се остварује ексцитација (GLU), а од стране Пуркињеових ћелија инхибиција (GABA). Серотонин утиче на ритмичност активације неурона главног маслинастог једра, а GABA модулира синхронизацију активности (95). Парвоцелуларни део црвеног једра повезује оливоцеребеларни круг са моторним и премоторним кортексом и на тај начин се ове структуре укључују у процес учења језика (когнитивни део) и експресије речи (моторни део) (96). Такође, преко спинооливарног пута главно маслинасто једро је у вези са кичменом мождином. Ова веза обезбеђује соматосензорне и проприоцептивне информације за церебелум (21). Комплекс маслинастих једара може да се активира и после стимулације моторне коре великог мозга, префронталног кортекса, репатог једра и кранијалних живаца (97,98). Исто тако, студије су показале да неурони главног маслинастог једра примају серотонинергичке импулсе из *nucleus-a reticularis gigantocellularis* које је смештено дорзално од њега, као и допаминергичке информације из нигростријаталног система (94,99). У експерименталним условима је утврђено да ексцитација неурона главног маслинастог једра делује инхибиторно на Пуркињеове ћелије. Супротно, након инактивације главног маслинастог једра долази до престанка активности кортикалних неурона малог мозга, уз изражену ексцитабилност Пуркињеових ћелија (100).

1.7. Глијалне ћелије

Први опис глијалних ћелија дали су научници *Rudolf Virchow*, *Santiago Ramón y Cajal* и *Rio-Hortega* у 19. веку. Тада се сматрало да глија има улогу „лепка“ за нервне ћелије обезбеђујући неуронима само пасивну подршку (101). Истраживања новијег датума су јасно показала да је глија много више од раније сматраног „лепка“ за нервне ћелије (102). Поред тога што имају потпорну улогу, оне су активни учесници у многобројним метаболичким процесима који се одвијају унутар нервног ткива. Њихова улога је да обезбеђују микросредину повољну за функционисање и живот неурона. Глијалне ћелије окупирају интернеуронске просторе и испољавају хомеостатску и потпорну функцију. Глија чини између 33 и 66% укупне масе мозга, односно њихов број је за пет до 10 пута већи од броја неурона (103). Глијалне ћелије воде порекло од ектодерма, осим микроглије која је мезенхималног порекла. За разлику од нервних, глијалне ћелије имају потенцијал размножавања митотичким деобама (пролиферација) (10) и не поседују способност раздражења. Просечна димензија тела глијалних ћелија

креће се од три до $40 \mu m$ (24). Основни мембрански потенцијал глијалних ћелија износи $-90 mV$, а маркер протеин који је Ca^{2+} везујући јесте S-100 протеин. Интеракција нервне и глијалне ћелије је есенцијална за процес трансмисије импулса унутар ЦНС-а. Патолошки процес који захвата нервну или глијалну ћелију, довешће до нарушавања целокупне морфофункционалне мреже нервног система.

Описују се четири врсте глијалних ћелија у ЦНС-у: астроцити, олигодендроцити, микроглијалне ћелије и епендимне ћелије (Слика 13) (6,7,24).



Слика 13. Врсте глијалних ћелија и њихов однос са нервним ћелијама и крвним судовима (Модификовано према: Šerban M. (104))

1.7.1. Астроцити

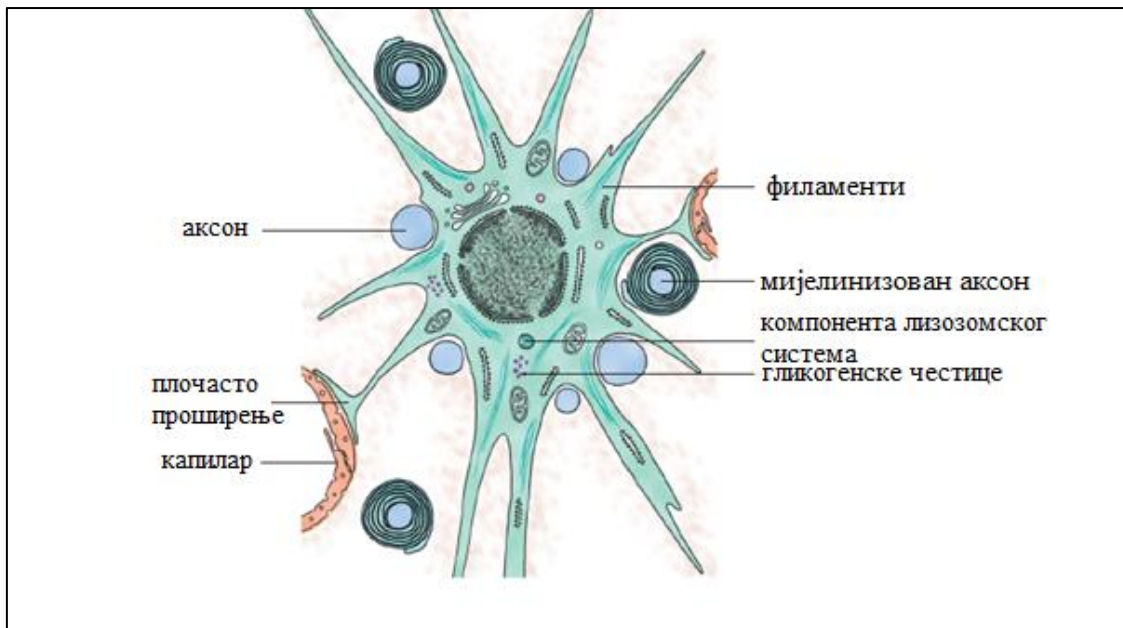
Астроцити су најбројнија група глијалних ћелија, те су због тога и највише изучавани до сада. Они чине око 40% ћелијске популације у ЦНС-у (105). Са ембриолошког становишта, они настају у раном периоду ембриогенезе, а претпоставља се да је то због њихове интеракције са неуробластима, којима помажу у диференцијацији ка неуронима. Главни морфолошки облици астроцита су протоплазматични и фиброзни. Њихова заступљеност је различита у зависности од тога у ком делу ЦНС-а се налазе. Популација астроцита је веома хетерогена и, осим

протоплазматичних и фиброзових, описују се радијални, *Bergmann* и *Müller* астроцити. Радијални астроцити су прогениторске ћелије и имају улогу у ембриолошком развоју нервног система (106). *Bergmann* астроцити се налазе у малом мозгу и учествују у ћелијској миграцији грануларног слоја церебелума, док су *Müller* астроцити локализовани у мрежњачи ока, где регулишу синаптичку трансмисију међу неуронима (107,108).

Морфолошке карактеристике

Астроцити поседују мало тело звездастог облика и велики број продужетака који полазе са њега. Ове ћелије поседују много већи број наставака у односу на олигодендроглијалне ћелије. Величина тела им износи просечно $10 \mu m$, са пет до 15 цитоплазматских продужетака који су различите дужине, дебљине и разгранатости (24). Ова врста глијалних ћелија је присутна у сивој и белој маси ЦНС-а. Налазе се између неурона и њихових продужетака, око крвних судова, испод судовне моздане опне (*pia mater*) и испод епендима (Слика 13). Њихова основна улога је изградња потпорне мреже унутар које су распоређене нервне ћелије. Астроцити испољавају и веома битне хомеостатске и метаболичке функције, а за њих се каже да делују као „хепатоцити“ ЦНС-а. Исто тако, ове глијалне ћелије поседују способност кооперације са синапсама, подстичући њихову активност.

Протоплазматични астроцити се налазе претежно у сивој маси ЦНС-а. Имају краће, дебље и веома разгранате продужетке који се пружају симетрично упоље у паренхим који их окружује (Слика 14). На астроцитним продужецима могу се уочити протрузије и мехураста избочења која им дају изглед звездастих пахуљица. Једро протоплазматичних астроцита је релативно крупно и лоптастог је облика, са присутним Голџијевим апаратом у цитоплазми. Цитоплазма је богата митохондријама, компонентама лизозомског система и гликогенским честицама (Слика 14). Цитоскелет ових астроцита карактерише присуство филамената, који се, такође, налазе и унутар њихових наставака (Слика 14).



Слика 14. Протоплазматични астроцит
(Модификовано према: Šerban M. (104))

Фиброзни астроцити поседују тање и дуже продужетке, који углавном остају неразгранати. Налазе се у белој маси ЦНС-а, а продужеци им се простиру у радијалном смеру, асиметрично између снопова нервних влакана. Наставци фиброзних астроцита лишени су додатних избочења, те им је структура „глађа“ у односу на протоплазматичне астроците. Што се тиче њихове хистолошке грађе, веома је слична грађи протоплазматичних астроцита. Овде је важно напоменути да су фиброзни астроцити способни да успостављају контакт са Ранвијеровим прекидима Шванових ћелија (Слика 15).

Потпорне функције

Астроцити успостављају везу између васкуларних и нервних структура. Продужеци им се простиру до крвних судова где граде њихову периваскуларну опну. Ови наставци се завршавају проширењима која имају облик сличан стопалу (енгл. *end-foot processes*), а додирују крвни суд пружајући заштиту ендотелијалним ћелијама капилара и артериола. Тесна веза између наведених структура представља главну анатомску компоненту крвно-мождане баријере (Слика 14). Стопалести наставци астроцита су у директном контакту са капиларима и артериолама. На овај начин астроцити учествују у изградњи базалне ламине ЦНС-а и граничне глијалне мембране (*glia limitans*) (Слика 13). Периваскуларна опна чини значајну морфолошку баријеру

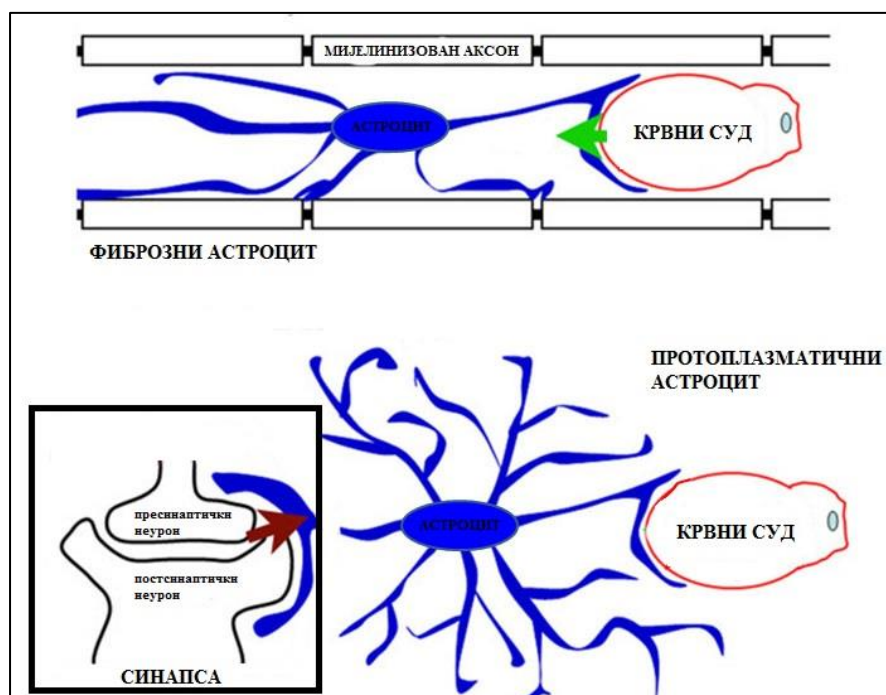
између нервног ткива, ликвора и крви. Астроцити који су смештени испод судовне опне граде пиоглијалну опну, а они испод епендима формирају глиоependималну опну (7,6).

Метаболичке функције

Раније се сматрало да астроцити имају пасивну улогу и само структурално подржавају нервне ћелије, одржавајући повољну микросредину за активност неурона. Међутим, студије новијег датума су показале да астроцити имају способност модулације електричног спровођења импулса и да су уједно и метаболичка подршка неуронима. Они регулишу екстраћелијску јонску хомеостазу и реагују на метаболичке потребе неурона преко активације метаболизма гликогена и отпуштања лактата.

Астроцити имају способност да секретују нервни фактор раста (енгл. *nerve growth factor*, NGF) и IGF (109). Осим тога, они могу да замене оболеле и изумрле нервне ћелије, а имају и улогу у процесима фагоцитозе. На месту изумрлих нервних ћелија астроцити, аналогно фибробластима у кожи, формирају ожиљке, односно реагују стварањем глиозе. Ови астроцити су најчешће хипертрофични, а такође имају и способност фагоцитозе некротичног ткива (110). У поређењу са неуронима, астроцити су отпорнији на недостатак кисеоника, иако је и код њих запажен процес бубрења који настаје као последица аноксичне ацидозе. Астроцити обезбеђују депоновање енергије у виду гликогена и разлагање токсичних супстанци (111). Сматра се да астроцити не поседују особину ексцитабилности, јер њихов мембрански потенцијал остаје непромењен при повећању концентрације калцијума. Астроцити испољавају неколико рецептора за факторе раста и инфламаторне цитокине. Као одговор на патолошке агенсе астроцити секретују инфламаторне цитокине као што су интерлеукин 1 бета (енгл. *interleukin 1 beta*, IL-1 β), интерлеукин 6 (енгл. *interleukin 6*, IL-6) и фактор некрозе тумора алфа (енгл. *tumor necrosis factor alpha*, TNF α). Сматра се да је експресија глијалног фибриларног ацидног протеина (енгл. *glial fibrillary acidic protein*, GFAP) од стране астроцита последица повећаног инфламаторног и оксидативног стања која прате старење мозга. Даље ће ова стања довести до дисрегулације калцијумске хомеостазе и последичног дисбаланса у синаптичкој трансмисији између нервних ћелија. На основу овога су, дакле, постављене претпоставке да су старењем условљене промене на нивоу астроцита одговорне за поремећај калцијумске регулације на нивоу неурона, губитак синапси и неуроинфламацију (112,113).

У прилог још увек недовољно истраженој улози глијалних ћелија у метаболичкој контроли неурона, говори и сазнање да глијалне ћелије у хипоталамусу реагују глиозом на повећан унос липида (114,115). Ова неуроендокрина контрола метаболизма је везана за астроците, јер су то једине ћелије ЦНС-а које имају способност бета оксидације масних киселина као супстрата за продукцију кетона. Показано је да лептин, хормон који регулише унос хране и количину енергије, утиче на промену морфологије астроцита у хипоталамусу смањењем дужине и броја ћелијских наставка (116). Услед овог може да се јави и редукција синаптичких веза и дисбаланс у спровођењу импулса међу неуронима, што свакако и значи поремећај њихове функције. Изгледа да реакција глије у хипоталамусу зависи од пола јединке, што се може објаснити податком да је показано да се на астроцитима налазе рецептори за естроген, андрогене и прогестерон (117,118).



Слика 15. Приказ фиброзног астроцита у контакту са крвним судом и Ранвијеровим прекидом на аксону (горња слика). Протоплазматични астроцит у контакту са крвним судом и синаптичким контактом између два неурона (доња слика)
(Модификовано према: Jukkola P. (119))

Улога астроцита у регулацији неуронске екситабилности

Поред тога што астроцити обезбеђују нутритивну и структуралну подршку неуронима, студије су показале да ова врста ћелија има улогу и у интерћелијској комуникацији преко регулације неуронске екситабилности (120). Просторна близина астроцита са аксонима и дендритима неурона, као и са хемијским синапсама указује на

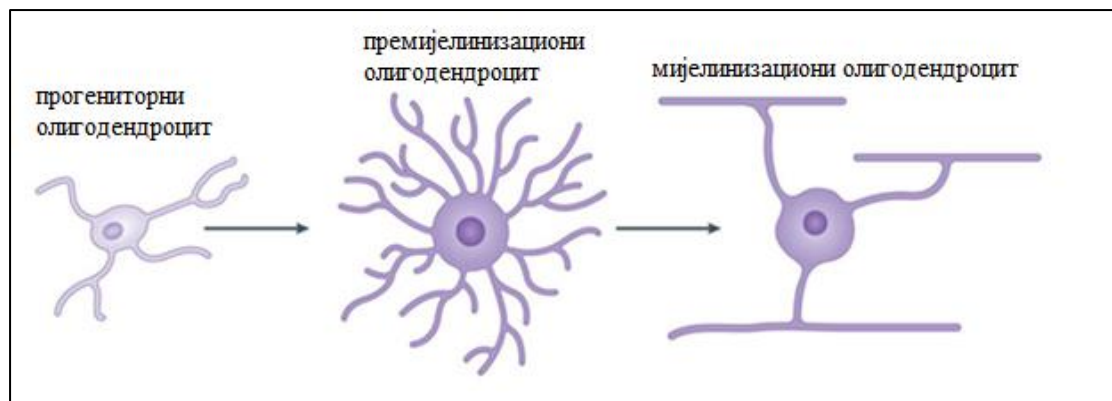
њихову важну улогу коју испољавају на овом нивоу (Слика 15). Астроцити одстрањују вишак калијумових јона који ће се наћи у међућелијском простору у току спровођења нервног импулса. Они то чине уз помоћ бројних јонских канала који се налазе у њиховој плазматској мембрани и на овај начин врше регулацију јонског састава међућелијске течности (104). Захваљујући експресији рецептора за неуротрансмитере, астроцити имају способност интраћелијске комуникације и директно утичу на ексцитабилност неурона (121). Дакле, астроцити могу да модулирају синаптичку трансмисију преко регулисања концентрације GLU. Одговорни су за екстраћелијску хомеостазу калијума и водоника у ЦНС-у. Као одговор на стимулацију, неурони ослобађају калијум, а астроцити онемогућавају повећање његове интерстицијалне концентрације и тако заправо спречавају неадекватну деполаризацију неурона. Такође, астроцити преузимају трансмитере, најчешће GLU и транспортују га изван ћелије. Уклањањем вишка екстраћелијског GLU, астроцити регулишу неуронску активност. Иако не поседују особину ексцитабилности, на астроцитима се налазе многобројни јонски канали и рецептори за неуротрансмитере. Додатно, они отпуштају поједине неуротрансмитере (аденозин три фосфат-АТП, GLU), факторе раста (NGF, неуротрофин 3) и цитокине који делују на неуроне (122,123). Астроцити су активни у синаптичкој трансмисији преко пропагације калцијумских таласа и мењања калцијумске концентрације у неуронима, микроглијалним и ендотелијалним ћелијама. Ово је омогућено услед присуства великог броја интерћелијских канала који повезују астроците са суседним ћелијама и служе као директни спроводници јона и малих сигналних молекула (124). Медијатор интерћелијских канала у астроцитима је конексин 43. Интраћелијске осцилације концентрације калцијума у астроцитима могу да утичу на хомеостазу калцијума у суседним неуронима. АТП и његови метаболити имају значајне утицаје на промену облика астроцита и опстанак моторних неурона преко интраћелијског повећања цикличног аденозин монофосфата (сАМР) (125).

1.7.2. Олигодендроцити

Морфолошке карактеристике

Олигодендроцити су мањих димензија у односу на астроците, а поседују и мањи број, релативно кратких цитоплазматских продужетака, најчешће од пет до 10 (Слика 16). Цитоплазма олигодендроцита је богата органелама са јаче развијеним Голџијевим апаратом. Описују се две врсте олигодендроцита: интрафасцикуларни и сателитски.

Интрафасцикуларни олигодендроцити се налазе претежно у белој маси ЦНС-а, и то унутар снопова нервних влакана којима граде мијелинске сегменте. Сателитски олигодендроцити су распоређени уз тела неурона, у сивој маси ЦНС-а (10). Претпоставља се да је разлог њиховог блиског контакта међућелијска кооперација. Олигодендроглија наставља да се диференција у мијелин све до 50. године живота. У сивој маси ЦНС-а олигодендроцити су локализовани уз неуроне чинећи популацију тзв. „перинеуроналних сателитских олигодендроцита“, а имају функцију да обезбеде повољну микросредину за функционисање неурона и раст и развој аксона (126).



Слика 16. Развој олигодендроцита. Диференцијација прогениторног олигодендроцита преко мултиполарног премијелинационог олигодендроцита у зрели олигодендроцит који ствара сегменте мијелинског омотача око аксона (Модификовано према: Fields DR. (127))

Функција

Олигодендроцити су глијалне ћелије које стварају и одржавају мијелинске омотаче нервних влакана која се налазе у ЦНС-у (Слика 13). Током развоја нервног система продужеци олигодендроцита се увијају око аксона и тако граде њихов мијелински омотач (10). Сазревају постепено, од прогениторних ћелија преко премијелинизационих форми, до зрелих ћелија способних за стварање мијелинског омотача (Слика 16). Ове ћелије производе холестерол који је неопходан за адекватну синаптогенезу и развој дендрита у сивој маси (128). За разлику од Шванових ћелија, који образују мијелински омотач на само једном аксону периферног нерва, један олигодендроцит може да образује мијелински омотач око више аксона (5). Процес мијелинизације централних аксона почиње у току трећег месеца интраутериног развоја, интензивира се током последњег триместра, а наставља се постнатално. Основна улога мијелина је модулација неуротрансмисије, односно брзине пропације акционог

потенцијала који се простире дуж нервних влакана. Осим тога, олигодендроглијалне ћелије утичу на биохемијски састав околине неурона и пружају трофичку потпору аксонима (129). Ово се остварује дејством неуротрофина који се луче од стране олигодендроцита као што су NGF, BDNF, и неуротрофин 3 (130). Још раније је утврђено да олигодендроцити, заједно са астроцитима, обезбеђују усмереност и контролу кретања импулса између нервних ћелија (16). Посебно је важно овде нагласти да олигодендроцит и неурон остварују такав вид интеракције који представља стабилизаторску везу за неурон. *Streit* и сар. (2018) су претпоставили да губитак олигодендроцита може бити одговоран за настанак Алцхајмерове болести, а последично губитак олигодендроцитне трофичке подршке доводи до повећане вулнерабилности неурона (131). Велики број олигодендроцита локализованих око главног маслинстог једра може да значи бољу заштиту ЦНС-а, а објашњава се тиме да је главно маслинасто једро филогенетски и онтогенетски старије у односу на друге делове ЦНС-а.

1.7.3. Микроглијалне ћелије

Морфолошке карактеристике

За разлику од других глијалних ћелија које потичу од ектодерма, микроглија настаје од прекурзорских ћелија које имају мезодермално порекло (132) и настаје инфилтрацијом ћелија из жуманчане кесе. Током раста и развоја јединке микроглијалне ћелије постепено колонизују све регионе ЦНС-а (101,102,133). Ћелије микроглије су јединствен подтип глијалних ћелија које се налазе распоређене свуда у ЦНС-у, али је показано да их ипак има нешто више у сивој маси. Оне су најмање по величини у поређењу са другим глијалним ћелијама и најмалобројније су. Њихова заступљеност је просечно 10-20% од укупног броја глијалних ћелија код одраслог човека (134). Релативно тешко их је уочити под светлосним микроскопом на препаратима ЦНС-а (104). Специфичан изглед микроглији дају трнолики цитоплазматични изданци (10). Наставци микроглијалних ћелија показују радијални правац гранања и полазе са оба краја ћелијског тела (Слика 17). Уколико нема патофизиолошких поремећаја у централном нервном систему, микроглијалне ћелије су у стању мировања. У патолошким стањима (повреде, инфекције или неуродегенеративне болести), микроглијалне ћелије се трансформишу и из стања мировања прелазе у активни облик (реактивна микроглија). Активирана микроглија

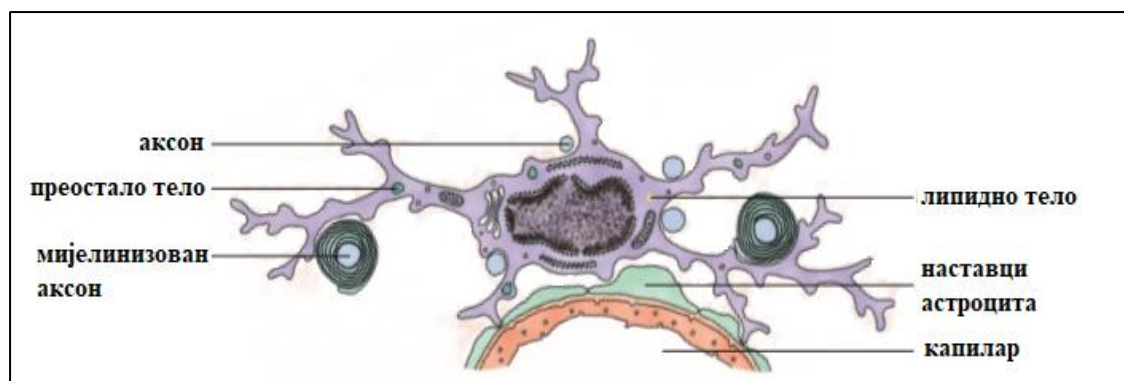
поседује сферичне протрузије на својим наставцима и ово се сматра показатељем њихове фагоцитне активности (135).

Функција

По својој функцији, микроглијалне ћелије одговарају макрофазима везивног ткива. Специјализоване су за процесе фагоцитозе и делују као макрофаги у току патолошких стања у ЦНС-у (7). Микроглијалне ћелије се активирају као одговор на повреду можданог паренхима или на инвазију патогених микроорганизама. Тада се ћелије микроглије морфолошки драстично трансформишу, мигрирају до места повреде и пролиферишу. Овако пролиферисане ћелије микроглије фагоцитују оштећене ћелије, а у исто време ослобађају потпорне цитокине преко којих помажу преживљавање неурона који нису захваћени патолошким процесом. Највећа активност микроглијалних ћелија забележена је два до три дана након оштећења структура ЦНС-а (136). Осим тога, микроглијалне ћелије секретују поједине факторе раста и имунорегулаторне цитокине (IL-1, IL-2), а учествују и у неким имунолошким реакцијама као што су препознавање и презентација антигена. Показано је да ове ћелије поседују рецепторе, што указује на то да могу да одговарају на дејство неуротрансмитера (137). С обзиром на то да микроглијалне ћелије нису потпуно диференциране, оне могу да делују као антиген-презентујуће ћелије или као макрофази – чистачи изумрлих неурона и микроорганизама (24). У прилог овоме говори и чињеница да се липидна тела и липофусцин налазе у већем броју код старијих животиња (104). У зависности од стања микросредине и равнотеже између неуротрофичних и неуротоксичних молекула које глијалне ћелије секретују, дејство може да буде двоструко - неуротоксично или неуропротективно. Неуротоксични ефекти микроглијалних ћелија се означавају као „негативни ефекти“ због тога што је показано да они представљају важан фактор у настанку неуродегенеративних болести (102,138). У таквим стањима, активиране микроглијалне ћелије продукују проинфламаторне цитокине и погоршавају већ настало неуродегенеративно обољење (Паркинсонова болест, Алцхајмерова болест) (113).

Као посебан морфолошки облик микроглијалних ћелија, наводи се амебоидна микроглија. Антиинфламаторно дејство је особеност амебоидне микроглије и испољава се током раста и сазревања ЦНС-а (139). Њихови наставци су у контакту са астроцитима, телима неурона и крвним судовима. Иако и амебоидна и активирана микроглија имају способност фагоцитозе изумрлих неурона, наводи се да постоје

функционалне разлике међу њима. Амебоидна микроглија не продукује проинфламаторне цитокине као активирани микроглијалне ћелије у стањима повреде, и она је активна током раста и сазревања ЦНС-а. *Hristova* и сар. (2010) су показали да микроглијалне ћелије показују хетерогену активацију у односу на различите делове ЦНС-а у постнаталном периоду (140). Они су закључили да се амебоидне микроглијалне ћелије не активирају у сивој маси коре великог мозга, хипокампусу, стријатуму и таламусу, иако и у овим регионима долази до селекције неурона током раста и развоја.



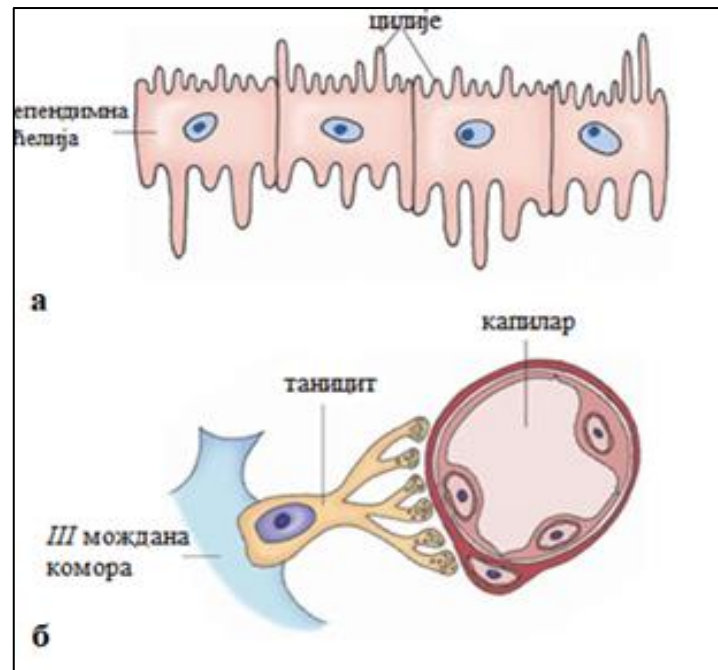
Слика 17. Структура микроглијалне ћелије.
(Модификовано према: *Serban M.* (104))

1.7.4. Епендимне ћелије

Морфолошке и функционалне карактеристике

Својом морфологијом епендимне ћелије подсећају на епителне ћелије, формирајући једнослојан епител унутар коморног система ЦНС-а. Њихов облик је различит: плочаст, коцкаст или цилиндричан. Разликују се три групе епендимних ћелија: епендимоцити, таницити и хороидалне ћелије. Епендимоцити су локализовани у зидовима можданих комора, у централном каналу продужене мождине (*canalis centralis medullae oblongatae*) и централном каналу кичмене мождине (*canalis caentralis medullae spinalis*). За таниците се претпоставља да имају улогу у контроли рада предњег режња хипофизе, и то на тај начин што помажу прелаз хормона из цереброспиналне течности у капиларе еминенције медијане. Таницити поседују један базални продужетак који продире у субвентрикуларни неуропаренхим, и обично се његов завршетак налази на крвном суду (Слика 18). Подгрупа епендимних ћелија су оне специјализоване за стварање цереброспиналне течности (*liquor cerebrospinalis*), а називају се хороидалне ћелије. Ове ћелије се налазе у хороидалним сплетовима

можданих комора ЦНС-а и испољавају егзокрину функцију стварајући супстанце које улазе у састав цереброспиналне течности. Поред овога, хороидалне ћелије потпомажу струјање ликвора кроз коморни систем мозга, у исто време онемогућавајући њен продор у суседна ткива (7,141).



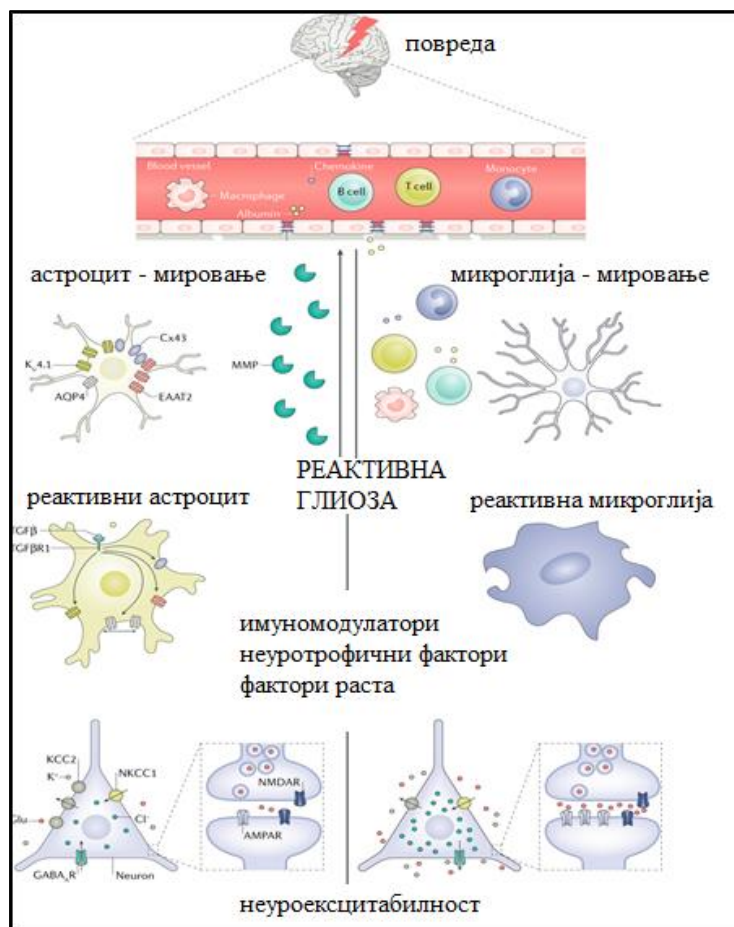
Слика 18. Приказ епендимних ћелија у једнослојном распореду (а). Таницит у контакту са капиларом и шупљином треће (III) мождане коморе (б)
(Модификовано према: Elizondo-Vega R. (141))

1.7.5. Реактивна глиоза

У случају механичких оштећења кичмене мождине или повреде периферног нерва, глијалне ћелије делују као главне детерминанте репаративних процеса стварањем молекула који блокирају или подстичу поновни раст аксона (142). Унутар ПНС-а, аксони имају добре шансе за опоравак функције. То је у великој мери последица изузетног одговора Шванових ћелија у дисталном делу повређеног живца. Ситуација је сасвим другачија у ЦНС-у. Повреда подстиче астроците на хипертрофију и реорганизацију и формирање глијалног ожилка, који представља препреку за регенерацију можданог ткива. Истовремено, експресија астроцитних и олигодендроцитних фактора (*Nogo-A*, мијелин олигодендроцитни гликопротеин (енгл. *myelin oligodendrocyte glycoprotein*, МОГ), тенасцин и фактори повезани са хондроитин хепаран сулфатом) блокира поновни раст аксона (143,144). Астроцити, у координацији

са микроглијаним ћелијама, реагују на оштећења неурона бројним метаболичким и морфофункционалним променама које се заједничким именом називају реактивна глиоза (Слика 19). Патолошка стања које најчешће доводе до глиозе су повреде можданог паренхима, церебрална исхемија и неуродегенеративне болести. Заједно са пролиферацијом микроглијалних ћелија долази до хипертрофије астроцита. Са метаболичког аспекта, активирани астроцити узрокују повећање активности оксидоредуктивних ензима (145,146).

Микроглијалне ћелије мењају свој фенотип од стања мировања до активiranог стања у ситуацијама када долази до поремећаја хомеостазе можданог ткива (повреде, инфекције, неуродегенеративне болести) (Слика 19). Тада настаје пролиферација микроглије, миграција, редукција ћелијске грађе и фагоцитоза оштећеног ткива. У патолошким стањима, разграната микроглија се трансформише у активну микроглију, односно, пролиферише и фагоцитује изумрле ћелије, а такође продукује неуротоксичне и/или неуротрофичне супстанце (147). Као одговор на повреду у ЦНС-у, микроглијалне ћелије се концентришу у повређеном подручју, и уклањају изумрле неуроне или њихове фрагменте. Програмирана ћелијска смрт је кључни процес који се дешава током раста и развоја организма. Код кичмењака, приближно 50% различитих типова неурона подлегне ћелијској смрти, што претходи успостављању дефинитивних схема неуроналних конекција (148). Улогу у програмираној смрти ћелије имају управо амебоидне микроглијалне ћелије. Наиме, пропадање нервних ћелија, односно селекција неурона је заправо стимулус за миграцију примитивних макрофага и амебоидних микроглијалних ћелија у циљне регионе ЦНС-а и њихову матурацију. Са друге стране, позитивни ефекти микроглијалних ћелија, везују се за њихову способност да секретују неуротрофичне факторе. На тај начин потпомажу раст неурона и ремиелинизацију аксона. У том смислу, неколико студија је указало на изузетно важну улогу микроглије у неурогенези, миграцији и диференцијацији неуробласта (149,150). Дакле, микроглијалне ћелије су „чистачи“ ћелијског дебриса који је настао као последица дегенеративних промена. Поред тога, микроглијалне ћелије имају способност да, у *in vivo* и *in vitro* условима стварају и ослобађају цитотоксичне медијаторе (citoкине, протеазе, слободне радикале) и трофичне факторе који делују на околне неуроне (151). Наставци микроглијалних ћелија се континуирано покрећу и ћелије микроглије се веома брзо премештају до места повреде.



Слика 19. Реактивна глиоза. Приказана је трансформација глијалних ћелија из стања мировања у активно стање (Модификовано према: Patel CD. (152))

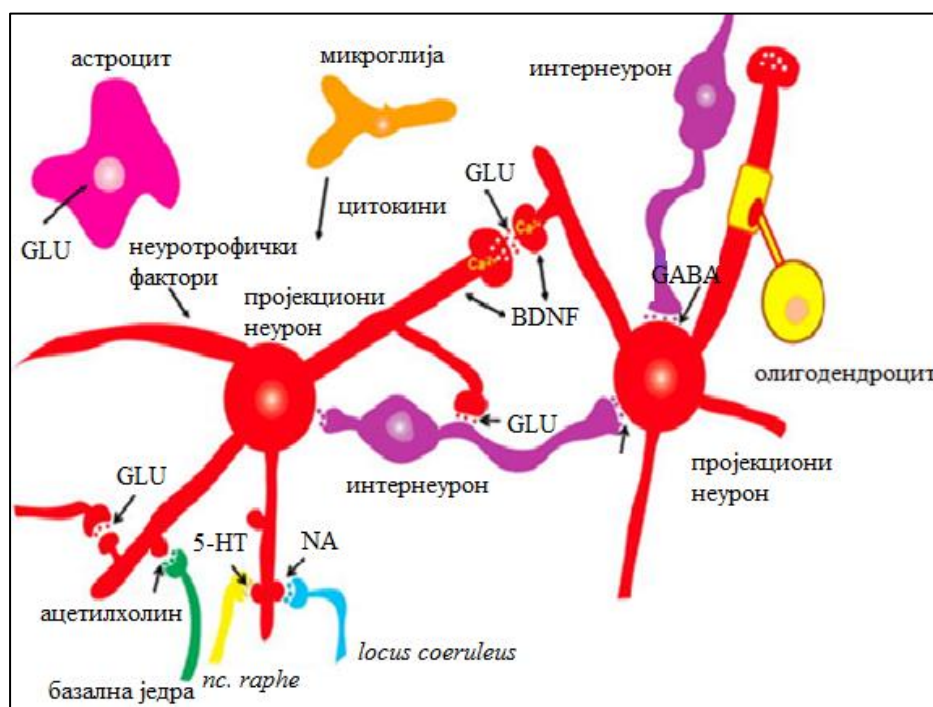
1.7.6. Морфофункционална веза неурон-глија

Интеракција неурона и глијалне ћелије игра значајну улогу у процесуирању информација кроз ЦНС, а патолошке промене или дисфункција једне популације ћелија у овој интеракцији имаће реперкусије на комплетну морфофункционалну целину нервног ткива. Неуротрансмитери који се ослобађају из пресинаптичког дела неурона доводе до пораста калцијума и активације околних глијалних ћелија. Активирана глија отпушта активне молекуле који могу да стимулишу или супримирају даљу трансмисију импулса.

Однос броја глијалних и нервних ћелија се повећава током раног постнаталног развоја (153-155). Hyden (1961) је закључио да је просечан однос глијалне ћелије и неурона 10:1 (156). Астроцити обезбеђују неуронима лактате или глукозу, а одржавају биохемијску хомеостазу паренхима ЦНС-а. Синтетишу и ослобађају неуротрофине, односно, неуротрофни глијални фактор раста (енгл. *glial derived neurotrophic factor*, GDNF и неуротрофни мождани фактор раста (енгл. *brain derived neurotrophic factor*,

BDNF) и на тај начин стимулишу виталност и регенерацију неурона (Слика 20). Веза између астроцита и неурона садржана је у саставу гломерула, где танак слој цитоплазме астроцита раздваја неуронске елементе (21). Неуронима је за функционисање неопходан глутамат (*de novo* синтетисан из глукозе) или га астроцити трансформишу из GABA (152). Недостатак глутамата на нивоу неурона ремети оксидативни метаболизам неурона и доводи до немогућности неурона да депонује неуротрансмитере. У том смислу, астроцити имају кључну улогу у обезбеђивању лактата за неуроне, допремајући им, на тај начин „метаболичко гориво“. Веза астроцит-неурон може да буде и патолошка када се активација астроцита доводи у везу са деградацијом ћелијског матрикса и неуродегенерацијом (158). Унутар сиве масе ЦНС-а олигодендроцити се налазе у веома блиском контакту са неуронима које окружују (Слика 20). Они се, због тога, називају „перинеуронални сателитски олигодендроцити“ и пружају трофичку подршку неуронима, регулишу њихову микросредину и утичу на раст и сазревање аксона (126,159,160).

Микроглијалне ћелије имају важну улогу у сазревању ЦНС-а, јер учествују у селекцији синаптичких контаката и формирању изабраних, сврсисходних конекција. У прилог овоме говори и податак да изостанак ове функције микроглијалих ћелија током матурације синаптичких веза доводи до успореног неуролошког развоја (161).



Слика 20. Интеракција неурона и глијалних ћелија посредством различитих неуротрансмитера (Модификовано према: Mattson MP. (160))

1.8. Старење

Процес старења карактеришу временски зависне промене које доводе до иреверзибилних процеса у ћелијама органских система, те опадања саморегулаторних капацитета јединке (1). До данас је предложено више стотина теорија које објашњавају процесе старења организма, истичући да је то каскада догађаја чија је динамика различита, а који су примарно детерминисани биолошким чиниоцима. Често употребљавана и најсвеобухватнија подела је на примарно и секундарно старење (162). Примарно старење подразумева различите физиолошке процесе и последица је сазревања организма, односно тока времена. Секундарно старење одликују патолошки поремећаји и смањење физиолошког потенцијала организма које се дешава са годинама а последица је фактора околине. Фактори који условљавају узроке и механизме старења груписани су као биолошки, социјални и психолошки. Биолошко старење може бити генетски модулисано и активира се на крају периода репродуктивне зрелости организма (генетска теорија), или је резултат збира оштећења која се догађају током живота јединке (стохастичке теорије). Према еволуционим биолошким теоријама, старење је последица акумулације грешака у ДНК материјалу, односно мутација и селекције гена (163). Заговорници неуроендокриних теорија објашњавају старење као последицу губитка регулације и контроле на нивоу нервног, ендокриног и имунолошког система, односно, слабљења хипоталамо-адrenalне осовине (164,165). Промене које се дешавају на нивоу ћелије током старења подразумевају оштећење ћелијске мембране у смислу њене повећане пропустљивости, затим патолошке процесе који се дешавају на нивоу митохондрија, апоптозу, као и смањење ћелијских деоба. Све поменуто су процеси који карактеришу ћелијске теорије старења (162,166).

Током процеса старења организма долази до поремећаја енергетског метаболизма, калцијумске и ћелијске хомеостазе и повећања нивоа оксидативног стреса (167).

1.8.1. Старење централног нервног система

Сазревање целокупног нервног система одиграва се у више периода. Први период представља развој нервног ткива до 25. године живота (први период сазревања), а коначни сврсисходни полимодални неуронски кругови успостављају се до 35. године живота. После тог периода наступа други период сазревања нервног ткива (36-60

година). Прогресивни и регресивни процеси у možданом ткиву смењују се до 60. године старости човека. Након тога, интензивирају се процеси старења нервних и глијалних ћелија, а могу се поделити на рани период старења (61-75 год.) и касни период старења (76-90 год.) (168,169).

Општи став истраживача је да се у току физиолошког процеса старења уочава глобална атрофија мозга. Испитивања на кадаверима су показала да се код већег броја случајева старијих од 60 година појављује прогресивни губитак тежине и запремине мозга (7-8%) (170,171). Ове резултате *in vivo* потврђују снимци магнетне резонанце (МРИ) на којима се јасно уочава смањење запремине сиве и беле масе током старења, истовремено праћено порастом запремине простора којим циркулише цереброспинална течност. Смањење укупне možдане масе у већој мери представља последицу губитка беле масе и почиње да се уочава након 50. године живота.

Ћелијске теорије старења заснивају се на резултатима бројних истраживања која указују да се у току живота унутар ћелија нервног система накупљају микрооштећења која доводе до постепеног смањења процеса раста и губитка функција ћелије. У том смислу неизоставно је поменути појам неуроналне пластичности која представља способност неурона да модификује своју структуру и функцију према променама и утицајима спољашње и унутрашње средине. Свако нарушавање хомеостазе нервног ткива довешће до регресивних и дегенеративних промена у неуронима. Осим тога, дисфункционалне промене на нивоу митохондрија, као главног енергетског извора за нервно ткиво, такође ће довести до поремећаја регулације калцијумске хомеостазе и резултирати оксидативним стресом (160). Процес старења представља хроничну неуро-инфламацију ниског степена. До овог закључка се дошло након што је показано да у току старења долази до повећања концентрације и активације система комплемента, бројних цитокина и инфламаторних медијатора (172). Уобичајене промене у možданом паренхиму за време старења јесу акумулација гвожђа у облику феритина или хемосидерина и оштећење липидне мембране ћелија које се дешава као последица дејства хидроген пероксидаза.

Морфолошки гледано, за време процеса старења долази до редукције дендритске разгранатости и до смањења броја трнастих наставка што последично доводи и до смањеног интензитета синаптичких контаката и ремећења међућелијске комуникације и сигнализације. Процењује се да одрасла здрава особа средње животне доби има од 15 до 32×10^9 неурона (173). Иако је јасно да настаје губитак синапси, изгледа да се број неурона не смањује значајно за време старења (174,175). Међутим, изгледа да током

процеса старења не долази до редукције толиког броја (највише 10%) неурона као што су студије ранијег датума то показале, и поставља се питање валидности резултата с обзиром на методологију која је тада употребљавана. Најпре је *Brody* (1955) објавио да током старења долази до смањења броја неурона у кори великог мозга и до 50% (176). Међутим, процес хистолошке припреме препарата (фиксација, дехидратација, импрегнација) који претходни микроскопском делу истраживања, доводи до скврчавања нервног ткива и то је израженије код млађих мозгова (177). Ово је показано уз помоћ мерења величине узорка пре и после процеса фиксирања ткива, а резултати су показали да је скврчавање израженије на ивицама препарата, него у унутрашњости узорка (4). Исто тако, једна студија је показала да степен скврчавања нервног ткива зависи од правца реза испитиваног узорка, и да је оно израженије код хоризонталних резова (178).

Међутим, јављају се промене у структуралној комплексности на нивоу неурона. Ове промене обухватају смањење тела неурона, регресију дендритске крошње и губитак спинозних наставака. Исто тако, долази до алтерација на нивоу неуротрансмитерских рецептора и промена у електрофизиолошким својствима неуронских синапси. Поменуте промене су одавно показане на пирамидалним неуронима префронталног кортекса, горњег темпоралног режња и прецентралне коре мозга код људи (179,180). Када се анализира губитак спинозних наставака на дендритима, код мајмуна је показано да се то дешава на свим деловима дендритске крошње. Губитак спина износи и до 50% код експерименталних животиња (181). Јасно је да ће све промене које у току старења захватају дендрите, довести до промена на нивоу постсинаптичке трансмисије. Неурохемијске промене унутар неурона подразумевају, пре свега, поремећај експресије неурофиламентозног протеина чије повећање у неуронима изазива формирање неурофибриларних нити, што је основни патолошки налаз у Алцхајмеровој болести. Електрофизиолошке промене током старења последица су, највероватније, структуралних алтерација неурона. *Jennifer Liebke* и сар. (2004) су доказали да долази до сигнификантног смањења ексцитаторне синаптичке трансмисије у префронталном кортексу мајмуна (182). Ово се манифестује значајно редукованом фреквенцијом спонтаних ексцитаторних постсинаптичких таласа од стране пријемних неурона. Употребом неколико различитих и савременијих дијагностичких модалитета (волуметријска и квантитативна магнетна резонанца, дифузиони тензорски имиџинг (енгл. *diffusion tensor imaging-DTI*)), студије су јасно показале да у току физиолошког процеса старења долази до губитка волумена

можданог ткива у префронталном, паријеталном и темпоралном кортексу, као и у малом мозгу, амигдалоидном телу (*corpus amygdaloideum*), хипокампусу (*hippocampus*) и стријатуму (*striatum*) (183-185).

Базирано на резултатима студија спроведених од 1950. до 1980. године, објављено је, и генерално прихваћено, да мозак у току физиолошког процеса старења сваког дана изгуби велики број неурона и да је ово појава која се јавља након 30. године живота (176,186,187).

1.8.2. Нервне ћелије у старењу

Дисфункција и оштећење неурона у току старења захвата оба, и пресинаптички и постсинаптички неурон, па се може рећи да менханизам деградиције неурона има домино ефекат. Поред тога што су студије фокусиране на патофизиолошке процесе старења, проблем селективне неуроналне вулнерабилности отежава разумевање молекуларне генетике неурона који старе. Апоптоза, односно програмирана ћелијска смрт, је процес који је регулисан каспазама, односно ензимима из породице инраћелијских цистеинских ендопептидаза (188,189). Окидачи за покретање апоптозе су оксидативни стрес, прекомерна активација глутаматних рецептора и недосататак трофичних фактора.

Старење ћелија у нервном систему огледа се у бројним процесима који последично доводе до смањења броја ћелија, нестајања спина на дендритима и смањења сложености дендритске крошње нервних ћелија. Морфолошке промене неурона током физиолошког процеса старења доказане су и описане пре више од 100 година (190,191). Као најчесталија промена јесте накупљање липофусцинских гранула, величине од један до три μm које су локализоване у ћелијској цитоплазми, а виде се као партикуле златно-браон боје. Неколико година касније, истраживања су показала да накупине липофусцина немају, или имају веома мали утицај на метаболизам неурона и функцију нервног ткива и да је њихова дистрибуција различита у односу на поједине делове мозга. Утврђено је, такође, да се старењем повећава величина митохондрија у ганглионима кичмене мождине, али да нема промене у њиховој структури (192).

Митохондрије аксона старијих неурона подлежу дегенерацији, накупљању филамената и инклузија са гликогеном (193). Степен, старењем условљеног, губитка аксона у појединим деловима мозга мајмуна прецизно је утврђен. На пример, губитак

аксона у жуљевитом телу (*corpus callosum*) износи 20%, у можданом своду (*fornix*) 25%, предњој спојници (*commissura anterior*) 40% а у видном живцу (*n. opticus*) чак 45% (194,195).

Старењем долази до редукције броја синаптичких веза за 15 до 50% између неурона у појединим деловима ЦНС-а. Функционално то значи да смањење броја синаптичких веза доводи до редукције количине импулса који се спроводи, односно до дисрегулације синаптичке трансмисије. Интересантно је да промена броја синапси није праћена изменом њихове структуре (196).

Такође, настаје смањење волумена мозга, које је показано код особа старијих од 70 година (197,198). Ако се посматрају промене у броју неурона унутар малог мозга између млађих и старијих, извесна разлика постоји. Истраживање на зечевима је показало да млађе јединке имају и до 50% више Пуркињеових ћелија у односу на старије. Објављено је, такође, да је код старијих људи волумен малог мозга мањи у односу на мозгове млађих испитаника (199,200).

У прилог мултифакторијалности процеса старења нервног система, говори се и о индивидуалним разликама у броју неурона унутар мозга. Студија која је пратила број неурона код монозиготних близанаца хипокампуса показала је да је њихов број различит и да су ове разлике детерминисане, уствари, развојним предиспозицијама и разликама (201). Многе ћелијске популације се разликују у свом броју између идентичних генотипова јединки, што говори у прилог значајном утицају развојних карактеристика раста и сазревања неурона.

Излагање експерименталних животиња понављаном стресу, или излагање гликокортикоидима довешће до дегенерације неурона хипокампуса, атрофије њихових дендрита, смањења величине тела и пикнозе једра (202). Опстанак неурона зависи и од дејства неуротрофичних фактора, у првом реду од BDNF. Наиме, неуротрофични фактори на нивоу неурона имају улогу да супримирају, односно коче активацију програмиране ћелијске смрти. Уколико је редукована активност неуротрофичних фактора, услед старења или неуродегенеративних болести, доћи ће до брже смрти нервне ћелије (203).

На биохемијском нивоу, неурони главног маслинастог једра са старењем показују губитак парвалбумина који је калцијум везујући протеин (204). Карактеристично је да су неурони главног маслинастог једра изражено позитивни на калцијум везујуће протеине, калбиндин и парвалбумин, и то у раном ембрионалном животу, у 11. недељи интраутериног развоја (204). На основу овога, претпоставља се да губитак

парвалбумина у току неуродегенеративних болести узрокује поремећај хомеостазе калцијума на нивоу неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра и последично доводи до оштећења ћелија и њихове смрти. Међутим, изгледа да то није случај у неуронима и глијалним ћелијама које физиолошки старе. Иако долази до редукције парвалбумина, компензаторно се повећава протективна активност калбиндина, те вишак калцијума ипак бива пуферисан и не оштећује неуроне и глијалне ћелије (205). Дакле, неуронална пластичност, односно способност неурона да одговори одбрамбеним механизмима у току старења, ипак остаје интактна у смислу регулације калцијумске хомеостазе. Са друге стране, показано је да се у току старења јавља повећана експресија неурофиламентозног протеина који, претпоставља се, претходи формирању неурофибриларних нити унутар неурона и доводи до њихове дегенерације (206,207).

1.8.3. Хистопатолошке и биохемијске промене нервног ткива у току старења

Једна од хистолошких промена које се могу детектовати у неуронима, а карактеристична је за процес старења, јесте накупљање „пигмента старења“, липофусцина. Сматра се да је липофусцин продукт непотпуне лизозомалне деградације митохондрија. Акумулацијом липофусцина неурони постају подложнији за даља оштећења и појаву патолошких промена у ЦНС-у (29,208). Липофусцин се визуализује под електронским микроскопом као инклузија неправилног облика. Сматра се да су неуропептиди, неуротрансмитери и аминокиселине неурохемијски кандидати одговорни за накупљање калцијумских преципитата и формирање инклузија, што последично доводи до ексцитаторне неуротоксичности. Сенилни плакови су познати и под називом неуритски плакови, а налазе се унутар сиве масе мозга. Формирани су од сржи, која је богата многобројним протеинима, и абнормално измењених снопова увећаних неурита. Сенилни плакови представљају карактеристичан хистопатолошки налаз код пацијената оболелих од неуродегенеративних болести. Међутим, поједини истраживачи су показали да се они јављају и у мозговима старијих особа, који нису оболели од неуродегенеративних болести и без присуства когнитивне дисфункције (171,209). Грануловакуоларна дегенерација подразумева појаву централне базофилне грануле у празној вакуоли унутар тела нервне ћелије. Као и претходно описане микроскопске ћелијске промене, и вакуоларна дегенерација је особена за неуродегенеративно измењене мозгове, али је, исто тако, карактеристика мозгова

здравих старијих особа (209,210) а најчешће се јавља на пирамидалним ћелијама хипокампуса (211).

Комплексну морфологију неурона карактерише специфична структура цитоскелета који се, током настајања неуродегенеративних промена, дегенерише, а чији се фрагменти накупљају у телу неурона (188).

На биохемијском нивоу неурона долази до поремећаја концентрације калцијума што доводи до смањене биосинтезе и дисрегулације на нивоу синапси. Са једне стране, калцијум се појачано убацује у ћелије и додатно се ослобађа из интраћелијских депоа, а са друге стране, смањује се његова елиминација (212). Ефекат поремећаја хомеостазе калцијума зависи од брзине пораста његове концентрације. Нагли пораст калцијума у неурону доводи до бржег оштећења и раније смрти ћелије. Као најодговорнији агенс за дисрегулацију калцијумске хомеостазе наводи се неуротрансмитер глутамат (213,214). Наиме, ексцесивно ослобађање глутамата у првом реду изазива отварање Na/Ca канала те ремећење антипортера за Ca који га отежано избацују из ћелије. Као резултат повећања концентрације Ca у цитосолу, активира се низ ензима (фосфолипаза, протеаза, фосфатаза, азот-оксид синтетаза и др.) који изазивају дегенеративне промене, а потом и смрт нервне ћелије (215). Осим тога, глутамат је одговоран и за интензивирање процеса гликолизе унутар глијалних ћелија, чиме се повећава концентрација лактата, а затим долази до поремећаја ацидобазне равнотеже и снижавања *pH* вредности у неуронима. Такође, старењем се повећава вулнерабилност митохондрија на поједине токсине (*3 nitropropionic acid*), а редукује се и њихова способност да одговоре на ексцитацију (216).

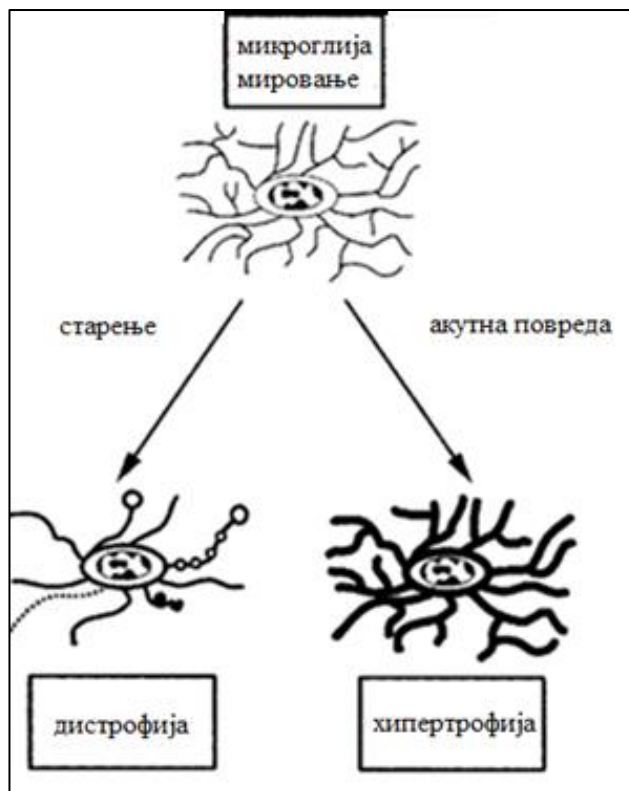
Адекватно функционисање глијалних ћелија, нарочито астроцита, такође је зависно од концентрације калцијума, односно одржавања њене хомеостазе.

1.8.4. Глијалне ћелије у старењу

Спроведене су бројне студије које су истраживале активност глијалних ћелија у току неуродегенеративних болести, али је мало оних које су се бавиле морфолошким и функционалним променама глијалних ћелија за време природног процеса старења. Фундаментална функција глијалних ћелија у ЦНС-у јесте одржавање хомеостазе и испољавање неуропротективних својстава, чиме се омогућава адекватна активност нервних ћелија. Патолошко ремоделовање глијалних ћелија у току старења утиче на испољавање њихових неуропротективних активности, што чини једну од неколико

компоненти комплексне патогенезе неуродегенеративних болести (217). Промене у морфологији глијалних ћелија одражавају се на функцију неурона, као и на метаболичку и хомеостатску равнотежу целокупног нервног система. Показано је да су олигодендроцити и микроглијалне ћелије најосетљивије на ћелијске промене које настају као последица физиолошког старења. Утицај хроничне инфламације, као основне патофизиолошке карактеристике старења и неуродегенеративних болести, показан је кроз дејство проинфламаторних цитокина и оксидативног стреса на структуру и функцију глијалних ћелија, а секундарно и на нервне ћелије. Старењем нервног ткива, или у току патолошких промена астроцити губе способност да контролишу екстрацелуларну концентрацију GLU и на тај начин долази до поремећаја синаптичке трансмисије међу неуронима (218).

Током физиолошког процеса старења, астроцити модулирају глутаминергичко сигнализирање и на тај начин утичу на функционисање неурона. Астроцити у старењу постају осетљивији (реактивнији) и на повреду можданог паренхима и реагују активацијом која се огледа у хипертрофији, ћелијској пролиферацији и рапидним повећањем GFAP синтезе. Уобичајена појава која прати процес старења мозга јесте повећање пропустљивости крвно-мождане баријере. У том смислу, показано је да управо астроцити, преко секреције инфламаторних компонената, доводе до оштећења интегритета и функционисања крвно-мождане баријере (219). Они успостављају комуникацију између неурона учествујући у синаптичкој трансмисији импулса. Ове ћелије постају изузетно реактивне приликом оштећења неког од делова ЦНС-а. Њихова реактивност се огледа у процесима хипертрофије и ћелијске пролиферације. Астроцити окружују изумрле нервне ћелије и формирају баријеру ка околним здравим неуронима, спречавајући тако ширење оштећења на суседне делове паренхима мозга (220). Поменуте морфолошке промене астроцита су праћене рапидном синтезом GFAP (221). *Finch* (2003) је испитивао активност астроцита у мозгу током старења и то уз помоћ детекције активности маркера GFAP, и показао да се његова експресија прогресивно повећава током процеса старења људи (након 65. године живота) (222), као и код пацова и зечева (200). Осим тога, старењем долази и до повећања експресије још једног протеина који се назива виментин (223). Са друге стране, број астроцита и густина ћелија се не мења старењем (224,225).



Слика 21. Схематски приказ трансформације микроглијалне ћелије из стања мировања у дистрофичну микроглијалну ћелију (последича старења) или хипертрофичну микроглијалну ћелију (последича повреде ЦНС-а)
(Модификовано према: Streit WJ. (131))

Олигодендроцити су веома осетљиви на оксидативни стрес и прекомерну количину инфламаторних цитокина. Исто тако, поремећај калцијумске хомеостазе доводи до смањене диференцијације олигодендроцита, а прекомерна концентрација калцијума је одговорна за смрт ћелије. Поремећај метаболизма гвожђа такође узрокује дисфункционалне промене на нивоу олигодендроцита, јер се са његовим повећањем дешавају процеси интраћелијске оксидације, а последично и смањења мијелинизације (128).

За ћелије микроглије се сматра да функционишу као имуни систем мозга али и да свака промена у њихвој активности може да има улогу у патогенези неуродегенеративних болести. У мозговима човека (209), мајмуна (226,227) и пацова (228) долази до повећања активности микроглијалних ћелија током физиолошких процеса који прате старење. Микроглијалне ћелије су изузетно вулнерабилне и на минимално нарушавање хомеостазе микросредине нервног ткива, а нарочито на слободне радикале (азот-моноксид, NO) и цитокине. Неспособност микроглијалних ћелија да адекватно одговоре на повреду možданог паренхима, односно непотпуно

уклањање ћелијског дебриса довешће до пролонгиране инфламације у можданом ткиву са последичним развојем неурогенеративних промена и превременог старења ћелија (229). Показано је да су микроглијане ћелије код старијих особа дистрофичне, односно да им се мења ћелијска морфологија. Долази до смањења разгранастости микроглијалних наставака, до формирања ситних чворића на њима, и до фрагментације цитоплазме (Слика 21). Такође, дистрофичне промене микроглијалних ћелија подразумевају и скраћење и увртање ћелијских наставака на чијим дисталним крајевима су уочена проширења сфероидног облика (135,230). Исто тако, долази до појаве инклузивних формација унутар тела микроглијалних ћелија, али је ово до сада доказано само код животиња, мајмуна и пацова (194,231). Поменуте морфолошке промене на микроглији су аналогне променама на пирамидалним неуронима током старења, што доводи до закључка да микроглија рефлектује старосне промене које захватају целокупан мождани паренхим.

Сумирано, основне промене које се дешавају на нивоу нервне и глијалне ћелије у току процеса старења су: појачање оксидативног стреса, оштећење ДНК и ћелијских протеина, агрегација протеина, дисфункција митохондрија са поремећајем енергетског метаболизма и акумулација липофусцина (232).

1.9. Обољења која се доводе у везу са оштећењем главног маслинастог једра

Генерално говорећи, сви поремећаји неуронских кругова маслинастог једра резултираће различитим моторним поремећајима (постуралним тремором, хипокинезијом, хипотонијом, дистонијом трупа и врата). Ово једро је повезано са сензорним и моторним кортексом, базалним једрима, црвеним једром, периакведукталном сивом масом, ретикуларном формацијом и церебелумом. На основу својих функционалних веза, главно маслинасто једро је укључено у процесе моторног учења, моторне контроле, координације покрета и сензорних и когнитивних функција. Методом дифузионе трактографије (DTT, *diffusion tensor tractography*) показано је да главно маслинасто једро показује везу са ретикуларном формацијом и задњим рогом унутрашње капсуле, црвеним једром (93,7%) и малим мозгом (91,25%) (подручја задужена за моторне функције). Нервна влакна из главног маслинастог једра се укрштају и улазе у контралатерлану хемисферу малог мозга преко његових доњих ножица.

Посебно је интересно откриће да су хилус маслинастог једра, дендрити и ћелијска тела Пуркињеових ћелија позитивни на CRF. Промене у концентрацији овог фактора могу утицати на појаву симптома оштећења оливоцеребеларног система (атаксија, тремор, дизметрија) и ово се наводи као додатни патофизиолошки механизам моторичких поремећаја код пацијената са Алцхајмеровом болешћу (83).

Есенцијални тремор

Главно маслинасто једро координише церебеларну активност и ритмичност, а тиме и организацију покрета у времену и простору (73,233). У патолошким стањима, главно маслинасто једро постаје извор хиперритмичне активности која резултира тремором и миоклонусом. Тремор најчешће захвата горње екстремитете (95%) и резултат је поремећаја у активности оливоцеребеларног система, како код људи, тако и код експерименталних животиња (234). Ово је показано након спроведених студија у којима су апликоване супстанце (термогенетски лекови) које су индуковале поремећај фацилитације јонских канала и последично довеле до смрти Пуркињеових ћелија и настанка генерализованог тремора (235). Исто тако, алкохол и антиепилептични лекови (барбитурати, бензодиазепини) делују инхибиторно на главно маслинасто једро и смањују интензитет тремора (236). Студије вршене постмортем на људским мозговима показале су да се у току есенцијалног тремора у мозгу дешавају различите структурне промене као што су оток Пуркињеових ћелија, хетеротопичко измештање Пуркињеових ћелија, повећање глиозе и структурне промене дубоких једара малог мозга (237). Претпоставља се да и главно маслинасто једро има улогу у генерисању есенцијалног тремора с обзиром а то да је његова структура измењена код пацијената са есенцијалним тремором (238). Међутим, *Louis* (2013) у својој студији није детектовао корелацију између старости мозга и морфолошких промена на њима, нити су уочене промене на главном маслинастом једру у мозговима људи са есенцијалним тремором (237). Симптоматски тремор настаје као последица хипертрофије и трансинаптичке дегенерације неурона главног маслинастог једра, који су најчешће узроковани васкуларним поремећајима на нивоу оливоцеребеларног система.

Церебеларне атаксије

У експерименталним условима је показано да лезије главног маслинастог једра доводе до појаве атаксије и дисметричних покрета (239). Церебеларне атаксије су велика породица генетских неуродегенеративних болести које изазивају различите симптоме моторних дисфункција. Утврђено је да ћелије главног маслинастог једра продукују IGF-I, који има главну улогу у преживљавању и физиолошком функционисању Пуркињеових ћелија, те свако оштећење на нивоу оливе последично доводи до поремећаја у моторном учењу. Ово је патофизиолошки механизам настанка церебеларне атаксије. Експерименталне студије на пацовима су показале да је церебеларна атаксија, узрокована оштећењем на нивоу оливе, реверзибилан процес (240). Многи од подтипова церебеларне атаксије узрокују дегенеративне промене неурона главног маслинастог једра (241).

Миоклонус

Миоклонус подразумева неуролошки поремећај кога карактеришу ритмични невољни покрети присутни у сну, коми, и анестезији. Генерално је прихваћено да се код пацијената са миоклонусом јавља смањена трансмисија серотонина која води у хиперекситабилност моторног система (239,242).

Вестибуларна дисфункција

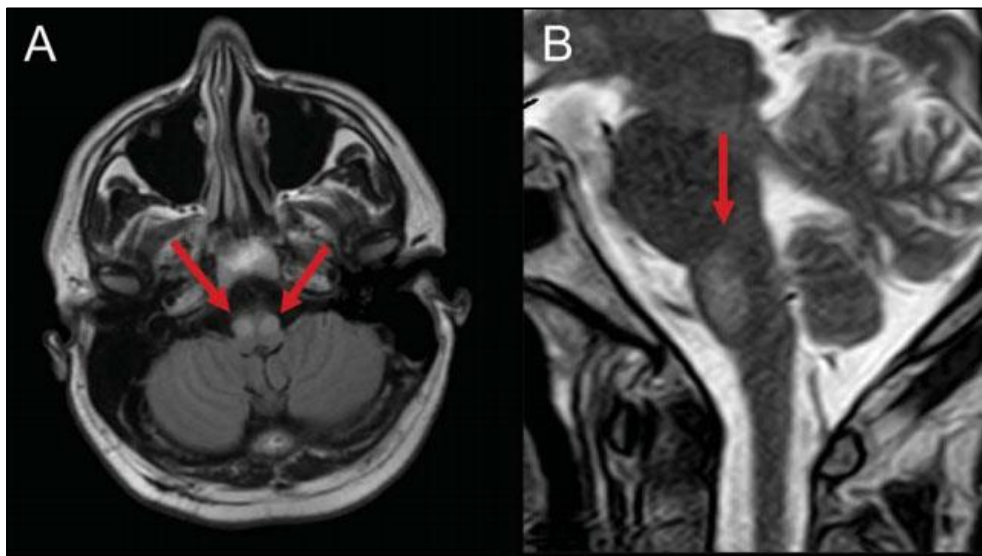
Лезије главног маслинастог једра дају за резултат контралатералну вестибулатну дисфункцију. Наиме, главно маслинасто једро шаље инхибиторне импулсе до Пуркињеових ћелија контралатералне стране флокулуса, а онда инхибира ипсилатерално вестибуларно једро. Студија *Jae Hyun Park*-а (2012) приказала је случај пацијента који је имао нестабилност при ходу а неуролошким прегледом је показана аксијална атаксија трупа са падом на леву страну (243). Магнетна резонанца мозга је показала лезију десне половине продужене мождине (средишњи део), која захвата главно маслинасто једро (243). Вестибуларна једра и мали мозак блиско су повезани на реципрочни начин. Сигнали о промени положаја главе обрађују се у вестибуларним једрима и церебелуму, са циљем стабилизације постуре и очију. Излазне информације из вестибуларних једара се преносе до церебелума директно, или преко главног маслинастог једра. Након интегрисања улазних информација од пузајућих влакана из оливо-церебеларне пројекције, Пуркињеове ћелије шаљу аксоне вестибуларним

језграма (244,245). Очување ове конекције је кључно за изазивање адаптације вестибулоокуларног рефлекса.

Друга патолошка стања такође имају везу са главним маслинастим једром: прогресивна псеудобулбарна парализа, мултипла системска атрофија и њен подтип (оливо-понтно-церебеларна атрофија) и дислексија (246). Лиов (*Leigh*) синдром је тежак неуролошки поремећај кога карактерише прогресивни губитак моторних способности (247). Код пацијената са овим синдромом се може развити хипотонија, дистонија и атаксија. Губитак осећаја и слабост у екстремитетима (периферна неуропатија), уобичајени су код особа са Лиовим синдромом, и отежавају кретање. Такође се може јавити слабост или парализа мишића покретача очне јабучице (офталмопареза), брзи, невољни покрети очију (нистагмус) или дегенерација оптичког живца. Тешки проблеми са дисањем су чести и могу се погоршавати са могућом појавом акутне респираторне инсуфицијенције. Аутопсије пацијената оболелих од аутизма указују на то да је и главно маслинасто једро укључено у овај поремећај. Сматра се да је десинхронизација неуронског одговора у оливоцеребеларном систему узрочник симптома аутизма (248,249). Код пацијената оболелих од аутизма налази се значајно мањи број Пуркињеових ћелија у задњим доњим пределима хемисфера малог мозга. Истовремено је уочено обилно и абнормално увећање неурона главног маслинастог једра у мозгу младих особа са аутизмом.

1.9.1. Хипертрофична оливарна дегенерација

Хипертрофична оливарна дегенерација (ХОД) подразумева оштећење главног маслинастог једра које је проузроковано патолошким променама струкутра које чине *Guillan Mollaret* троугао, односно зупчастог и црвеног једра. Ово стање је први пут описано 1887. године, а доста година касније је оно разјашњено и дефинисано као оштећење дентато-рубро-оливарног пута, односно *Guillain Mollaret* троугла (250).



Слика 22. Приказ МРИ снимка пацијента са обостраном хипертрофичном оливарном дегенерацијом (ХОД) (253)

Лезије које најчешће доводе до оштећења дентато-рубро-оливарног пута су цереброваскуларни поремећаји (крварење и исхемија), васкуларне малформације и тумори. Предложено је да се хипертрофична оливарна дегенерација може употребљавати као радиолошки доказ за оштећење дентато-рубро-оливарног пута (251).

Еволуција хипертрофичне оливарне дегенерације одвија се кроз неколико фаза. Првих 24 часа након повреде или оштећења нема морфолошких промена главног маслинастог једра. Након два до седам дана јавља се дегенерација амикулума оливе, потом оливарна хипертрофија (око три недеље након повреде), а након неколико година је видљива атрофија оливе (252).

Хипертрофија главног маслинастог једра се хистолошки испољава увећањем тела неурона и вакуолизацијом цитоплазме, као и пролиферацијом астроцита. Хипертрофично измењено главно маслинасто једро може да се визуализује на снимцима магнетне резонанце мозга од четири до шест месеци након примарног оштећења неке од компоненти троугла (Слика 22). Хипертрофија се одиграва на рачун повећања броја астроцита и, највероватније вакуолизације цитоплазме (254). Смањено пристизање импулса у главно маслинасто једро доводи до промена које ће изазвати хипертрофију, уместо очекиване атрофије и ово је пример јединствене трансинаптичке дегенерације (255). Још увек је дискутабилно да ли се увећање ћелија маслинастог комплекса дешава на рачун вакуоларне дегенерације увећаних неурона, хипертрофије астроцита или долази до фибриларне глиозе (250,256,257).

Знакови и симптоми укључују окулопалатални тремор, недостатак координације покрета (атаксија), проблеме са видом, слабост мишића и оштећење хода. Патофизиолошки аспект свих моторних оштећења која наставју као последица ХОД-а везује се за поремећај инхибиторних сигнала од стране главног маслинастог једра, а затим последичне хиперсинхронизације импулса. Позитронска емисиона томографска истраживања су указале на то да се у току појаве тремора јавља повећање интензитета метаболичких процеса унутар главног маслинастог једра (258).

Walker и сар. (2011) су приказали случај пацијента коме је, након дијагностиковане хеморагије у пределу левог зупчастог једра, накнадним контролним снимком утврђена хипертрофична дегенерација десне оливе (259). Закључује се да ће лезије у пределу зупчастог једра малог мозга као последицу дати оштећење неурона контралатералног главног маслинастог једра и следствене симптоме у виду палаталног тремора, денторубралног тремора (*Holms* тремор) и окуларног миоклонуса. Осим тога, развој хипертрофије главног маслинастог једра доказан је и након ресекције тумора мозга, и видљив је на постоперативним МР снимцима врло брзо (11. дана) након хируршке интервенције (260). Хипертрофија ћелија маслинастих једара је детектована и код појединих случајева спиноцеребеларне атаксије, стања које карактерише појава атаксичних покрета, ригидност, брадикинезија и поремећај гутања и говора. Резултати МР евалуације маслинастог комплекса указали су на могућност да његова хипертрофија и дегенерација може да буде сензитиван и специфичан индикатор синдрома задње лобањске јаме, с обзиром на то да и овај поремећај захвата структуре *Guillain Mollaret* троугла (250). Ове промене могу да прате МРИ, и иако се карактеристике слике ХОД разреше, поједини клинички знакови, као што је палатални тремор, и даље перзистирају (261). Чини се да је главно маслинасто једро укључено и у окулопалатални тремор, који може настати као симптом хипертрофичне дегенерације маслинастог једра (262).

Оштећење неурона главног маслинастог једра доводи до потпуне инактивације неурона коре малог мозга, уз ексцитацију Пуркињеових ћелија, те се инактивација главног маслинастог једра пореди са церебелектомијом (263). Након контралатералне хемисферебелектомије код мачке, неурони доњег маслинстог комплекса дегенеришу или долази до појаве хипертрофије (76). Хипертрофични неурони једара маслинастог комплекса су у морфолошком погледу веома слични здравим ћелијама али са електрофизиолошког аспекта они реагују дугим латентним акционим потенцијалом на стимулацију из мезодијенцефаличног једра.

1.9.2. Поремећај функције и патолошке промене глијалних ћелија

Сваки аспект развоја и функција мозга укључује неуронско-глијално партнерство. Најчешће болести мозга повезане са оштећењем глијалних ћелија су трауме, цереброваскуларни поремећаји, неуродегенеративне болести, епилепсија и малигне болести (264). У свакој од ових болести, глијалне ћелије су актери, али њихова улога је углавном занемарена. До сада се поклањало мало пажње на то да се открије у којој мери су астроцити уништени у можданом удару или у неуродегенеративним процесима. До данас најпознатија функција глије код одраслих особа је формирање мијелинских омотача око аксона, што омогућава брзо провођење сигнала неопходних за функцију нервног система. Глијалне ћелије одржавају одговарајуће концентрације јона и неуротрансмитера у неуронском окружењу. Све већи број радова указује на то да су глијалне ћелије неопходни регулатори формирања, одржавања и функције синапси, које су кључна функционална јединица нервног система. Астроцити имају потенцијал да луче различите сигналне молекуле, укључујући велики број имуномодулатора, металопротеаза и азотни оксид. Глијалне ћелије имају способност да потенцијално уклоне цитотоксичне аминокиселине као што је глутамат, те су астроцити важни регулатори многих патолошких процеса, укључујући мождани удар и инфламаторна стања као што је Алцхајмерова болест и мутипла склероза. Показано је да су астроцити отпорнији на хипоксију мозга, у поређењу са неуронима и олигодендроцитима, и као такви дуже могу да преживе исхемију унутар можданог паренхима (220). У стањима хипоксије, астроцити имају важну улогу јер отклањају прекомерну количину глутамата, а оштећеним неуронима обезбеђују лактате.

Амитрофична латерална склероза (АЛС, *Lou Gehrig's disease*) припада групи прогресивних неуродегенеративних обољења а настаје као последица оштећења моторних неурона кичмене мождине. Клиничка слика подразумева прогресивни губитак мишићне масе и снаге, спазам мишића, фасцикулације, дизартрију и дисфагију. Астроцити су прве ћелије које подлежу патолошком ремоделовању код АЛС-а. Долази до дегенерације и атрофије астроцитних наставка, а у биохемијском погледу, јавља се редукција рецептора за глутамат и немогућност његовог отклањања (265). Као последица накупљања неуротоксичног глутамата, моторни неурони кичмене мождине пропадају. Специфичан транспортер за глутамат на астроцитима је EAAT2 (*excitatory amino acid transporter 2*). Губитак овог транспортера за 60 до 70% утврђен је

и код оболелих од Корсаковљевог синдрома (266), кога карактеришу деменција и полинеуропатија настали услед недостатка витамина Б1, односно тиамина.

Мултипла склероза (*sclerosis multiplex*) је аутоимуна неуролошка болест ЦНС-а са демиелинизационим лезијама сиве и беле масе и инфилтрацијом макрофага и Т и В лимфоцита (267). Ово је можда и најпризнатија болест која је повезана са глијалним ћелијама. Одликује је формирање вишеструких лезија у ЦНС-у, у којима је уништен мијелин, а олигодендроцити пропадају (268,269). Астроцити формирају глијални ожиљак на местима демиелинизације аксона, а претпоставља се такође да у раној фази болести регрутују лимфоците на место оштећења нерва. Исто тако, јављају се и морфолошке промене на астроцитима који хипертрофишу, увећава им се тело а смањује дужина наставака (270). Хипертрофисани астроцити даље доводе до оштећења граничне глијалне мембране око крвних судова, и највероватније тако поспешују улазак инфламаторних ћелија на места оштећења нерва (270,271).

Алцхајмерова болест је један од најчешћих узрока деменције, и све врсте глијалних ћелија су захваћене патолошким процесом. Хистопатолошке промене карактеристичне за ово обољење су формирање екстрацелуларних депозита амилоида-бета (*β amyloid*) или сенилних плакова и интрацелуларне накупине тау протеина - неурофибриларна клубад (272). У почетној фази ове болести астроцити најпре атрофишу, смањује се синтеза GFAP и настаје поремећај у синаптичкој трансмисији сигнала између неурона. Касније фазе Алцхајмерове болести карактерише хипертрофија астроцита и астроглиоза, а астроцити се накупљају око сенилних плакова (273). Реактивни астроцити у овој фази болести показују повећану експресију GFAP и доводе до поремећаја хомеостазе глутамата. Прогресијом Алцхајмерове болести долази до патолошких промена на олигодендроцитима и микроглијалним ћелијама. Олигодендроцити подлежу атрофичним променама, а број микроглијалних ћелија се повећава али се њихова функција фагоцитозе губи (274).

Велики број **малигних тумора** мозга је пореклом од глијалних ћелија или њихових прогенитора (275). Глиоми су најчешћи примарни тумори ЦНС-а и, иако представљају само 2% свих карцинома, њихово лечење представља један од највећих изазова за онкологе. Хистолошки подтипови глиома су астроцитоми, олигодендроглиоми и епендимоми. Најучесталији су глиоми порекла астроцита, и њихова заступљеност је од 60 до 70% свих глиома (259). До данас се још није открило у којој мери су глијални тумори последица пролиферативних потенцијала одраслих

глијалних ћелија, или су мултипотентни нервни прогенитори (који перзистирају у одраслом ЦНС-у) мете малигних мутација.

Морфолошке студије су показале да су глијалне ћелије измењене код пацијената са **неуропсихијатријским поремећајима**. Утрђено је да долази до смањења густине и атрофије астроцита и олигодендроцита у случајевима депресије, шизофреније и биполарних поремећаја. Поремећај у биохемијским активностима астроцита може да доведе до погоршања шизофреније јер астроцити секретују ензиме који су инхибитори NMDA (*N-methyl-D-aspartate*) рецептора. Такође, сматра се да реактивна астроглиоза код оболелих од епилепсије доприноси погоршању основне болести услед смањења експресије и активности транспортера за глутамат и глутамин синтетазе. Овако настаје поремећај односа GLU/GABA и калијумске хомеостазе, те погоршања ексцитабилности неурона и настанка епилептичних напада (276).

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА

С обзиром на то да, у нама доступној литератури, не постоје подаци о морфологији и типовима нервних и глијалних ћелија главног маслинастог једра, о анализи морфологије нервних и глијалних ћелија, као и анализи морфологије ћелија главног маслинастог једра у односу на старосне категорије, постављени су циљеви истраживања.

2.1. Циљеви истраживања

1. Утврдити да ли се параметри морфологије неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра (величина и облик ћелије, површина и облик тела, параметри фракталне анализе слике, дистрибуција броја пресека дендрита, број дихотомних чворова и дендритских завршетака) разликују између старосних група, нарочито између другог периода сазревања и касног периода старења.
2. Утврдити да ли квантитативна анализа омогућава класификацију неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра човека на одговарајуће типове.
3. Утврдити да ли примена квантитативне анализе морфологије неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра допуњује резултате квалитативне анализе.

Истраживање нервних и глијалних ћелија главног маслинастог једра човека заснива се на провери и/или потврди постављених хипотеза.

2.2. Хипотезе истраживања

1. Параметри морфологије неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра (величина и облик ћелије, површин и облик тела, параметри фракталне анализе слике, дистрибуција броја пресека дендрита, број дихотомних чворова и дендритских завршетака) разликују се између старосних група, нарочито између другог периода сазревања и касног периода старења.
2. Примена квантитативне анализе омогућава класификацију неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра човека на одговарајуће типове.
3. Примена квантитативне анализе морфологије неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра допуњује резултате квалитативне анализе.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Узорак студије чинило је 30 обостраних исечака главног маслинастог једра (20 мушког пола и 10 женског пола) који су део хистолошке збирке Завода за анатомију, Медицинског факултета, Универзитета у Новом Саду. Истраживање је одобрено од стране Етичког одбора Медицинског факултета у Новом Саду. Препарати су потицали од кадавера старости од 36 до 90 година. Величина исечка главног маслинастог једра је $2 \times 1,25 \text{ cm}$ (дужина \times ширина, респективно) и одговарају димензији једра код човека. Према годинама старости, сви узорци главног маслинастог једра подељени су у три групе: прва старосна група, односно други период сазревања (36-60 година), друга старосна група, рани период старења (61-75 година) и трећа старосна група као касни период старења (76-90 година) (168,169).

3.1. Хистолошка процедура

Исечци ткива главног маслинастог једра обрађени су модификованом Голџијевом (*Golgi*) методом импрегнације сребром по Копш-Бубенету (*Kopsch-Bubenaite*), према следећој процедури (277):

- Исечци ткива се фиксирају у 10% раствору формалин-натријум-хлорида, током два до четири дана на собној температури
- „Постфиксација“ се потом врши 2,5% раствором калијум-бихромата на температури од 34°C током два дана, на замраченом месту
- Третирање сребром се врши 2% раствором сребро-нитрата на температури од 34°C током два дана, а ткиво се чува у мрачној комори
- Исечци се затим дехидрирају у растућој серији алкохола (70%, 80%, 96%, 100% етил-алкохол по 24 часа у свакој концентрацији, на собној температури)
- Ткиво се просветљава у ксилолу (три пута по 10 минута) и прожима у парафину (три промене по 24 часа, на температури од 56 до 58°C)

Овако припремљено ткиво се укалупи у парафин на температури од 56 до 58°C. Парафински калупи се секу на клизном микротому у хоризонталној равни у односу на анатомски положај главног маслинастог једра, и то на резове дебљине $70 \mu\text{m}$ а потом се узорци депарафинишу. Препарат се ставља на плочицу и покрива стакленом лјуспицом са капљицом *DPX*-а (*dibutil-phthalate-xylene*).

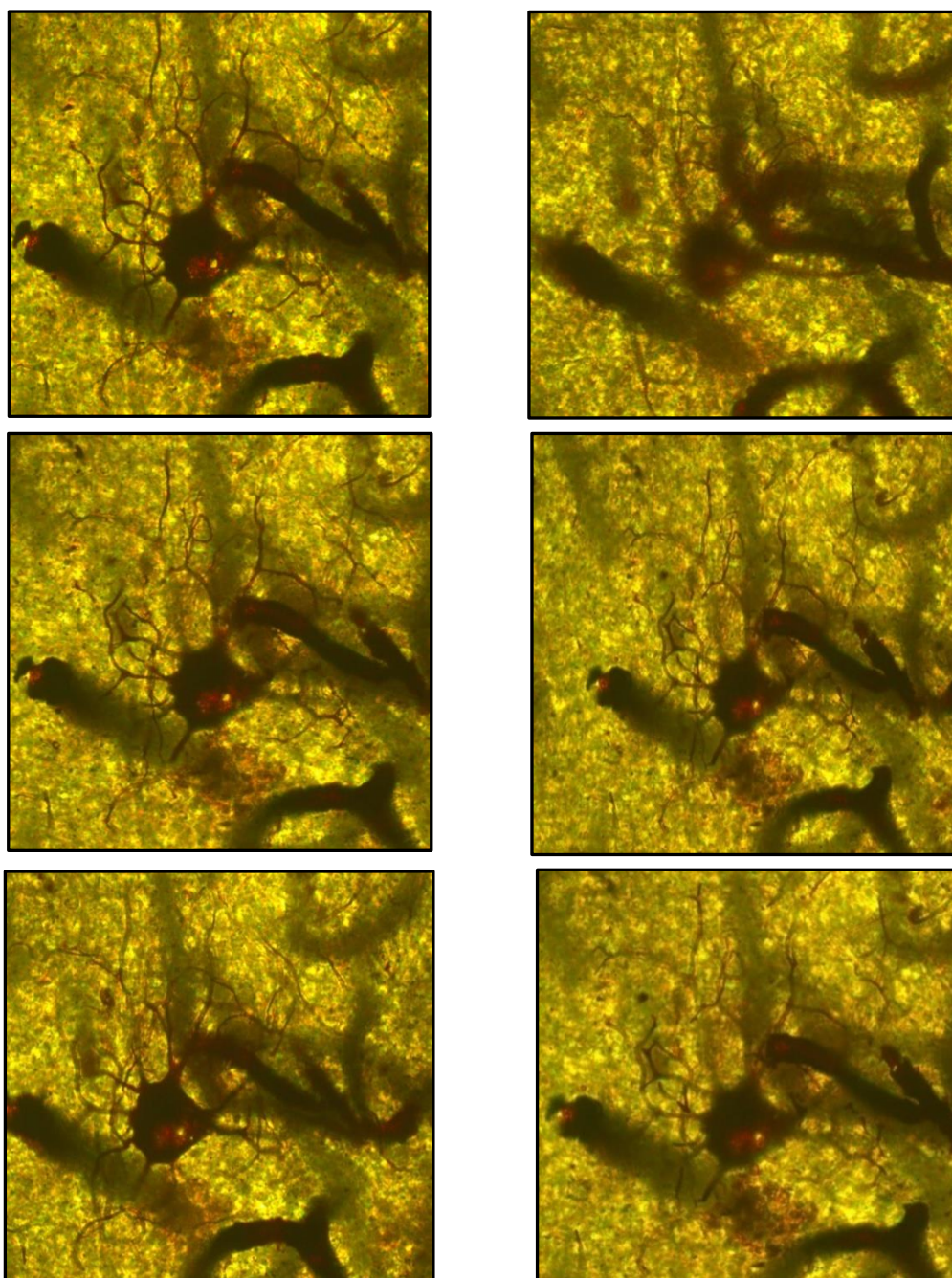
3.2. Издвајање слике неурона и глијалних ћелија

Резови главног маслинастог једра анализирани су оптичким микроскопом „*Leica DC 100*„ (произвођач: *Leica Microsystems, Wetzlar, Germany*, корисник: Завод за анатомију, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду), коришћењем система увећања 400x (увећање објектива 40x и увећање окулара 10x). Адекватно импрегнисани неурони и глијалне ћелије, комплетно су видљиви у серијама оптичких резова односно, хоризонталних пресека слика.

Сви уочени неурони и глијалне ћелије трајно су записани и трансформисани у дигиталне слике коришћењем дигиталне камере „*Leica DC 100*“ уз пратећи софтверски програм „*Digital Camera System*“ (произвођач: *Leica Microsystems, Heerbrugg, Switzerland*; корисник: Завод за анатомију, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду). Да би се неурони и глијалне ћелије визуализовали у целини, хистолошки рез је подељен на 10 оптичких резова. Размак између два оптичка реза износио је пет μm . У зависности од величине тела неурона и глијалне ћелије и разгранатости дендрита/глијалних наставка, сликано је и сачувано између три и 12 слика оптичких резова (Слика 23). Из истраживања су искључени неурони и глијалне ћелије који су били оштећени, лоше импрегнисани и покривени „неспецифичним“ преципитатима сребра и крвним судовима, и/или чији су дендрити и наставци били суперпонирани наставцима других ћелија. Искључиво су били сликани неурони и глијалне ћелије који су импрегнисани густим и хомогеним преципитатом.

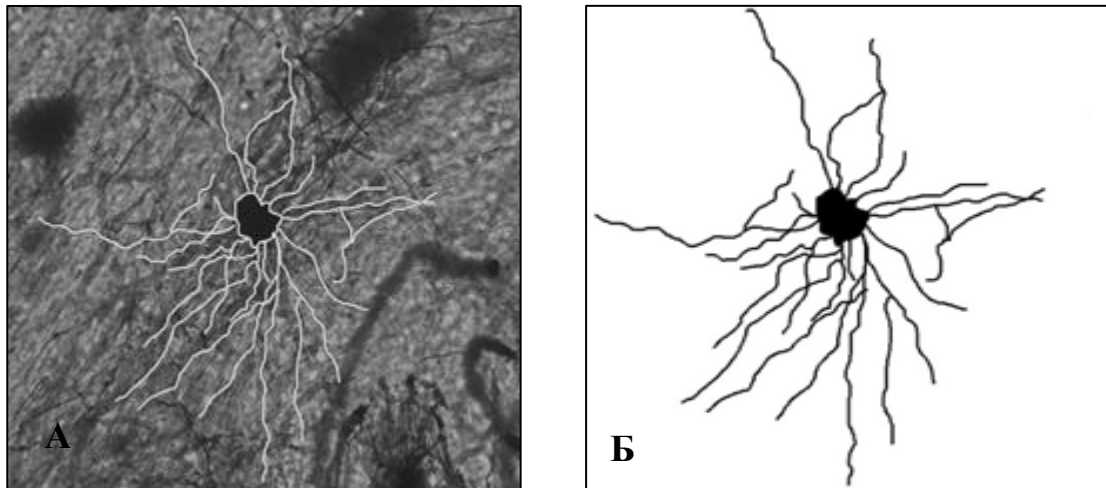
На претходно описан начин издвојено је укупно 259 слика неурона и 419 слика глијалних ћелија. Број неурона прве старосне групе износио је 92, у другој старосној групи пронађено је 79 неурона, а у трећој укупно 88 неурона. Број слика глијалних ћелија у првој старосној групи износио је 129, у другој 148, а у трећој старосној групи 142.

Слике оптичких резова сваког од снимљених неурона и глијалних ћелија дигитализоване су помоћу јавно доступног програма за обраду слике *Image J* (произвођач: *National Institute of Health, Bethesda, MD*; <http://rsbweb.nih.gov/ij>). Помоћу команде *Stack* сви оптички резови ћелије стапају се у једну слику. На оваквој слици се, коришћењем одговарајућих потпрограма, аксони и околни артефакти дигитално уклањају, а помоћу алатке *Threshold* добијају се бинарне (*binary*) слике неурона и глијалних ћелија (Слика 24).



Слика 23. Хоризонтални пресеци (оптички резови) импрегнисаног неурона главног маслинастог једра човека

Када се са бинарне слике уклони тело, а дендрити сажму у линије дебљине једног пиксела, добија се скелетонизована слика неурона и глијалне ћелије. Генерисање скелетонизоване слике неурона и глијалних ћелија такође је изведено у програму *Image J*, применом команде *skeletonize* на бинарној слици без тела.



Слика 24. Дигитална слика глијалне ћелије у програму *ImageJ* (А) и конвертована слика глијалне ћелије у бинарни мод (бинарна слика) (Б)

3.3. Квалитативна анализа

Анализа квалитативних особина неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра човека изведена је посматрањем тела и дендритског/глијалног поља, броја примарних дендрита/глијалних наставка, правца пружања дендрита/глијалних наставка, присуства спина на неурону (дендритима и телу), као и процене разгранатости дендритске и глијалне крошње. Квалитативно је процењиван положај неурона главног маслинастог једра, у односу на његову унутрашњу и спољашњу границу.

3.4. Квантитативна анализа

Квантитативна анализа слика неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра изведена је мерењем или израчунавањем 22 параметра који су геометријски (осам параметара), компјутациони (осам параметара) и фрактални, односно монофрактални (шест параметара). Сви параметри квантификују пет морфолошких особина неурона и глијалних ћелија: 1) величину, 2) облик, 3) дендрите/глијалне наставке и њихово гранање, 4) дужину неурона/глијалних ћелија и 5) сложеност дендритске/глијалне крошње. Детаљан приказ особина слике и параметара који их квантификују представљен је у Табели 1.

3.4.1. Величина неурона и глијалне ћелије

Величина тела и величина неуронског/глијалног поља се најбоље квантификују мерењем површине тела и површине поља (278). Заснива се на методи која решава проблем израчунавања површине геометријског објекта оивиченог униформном кривом линијом. Површина дводимензионалне слике испитиваног објекта одређује се прекривањем слике мрежом квадрата дефинисане дужине странице и пребројавањем квадрата који се налазе унутар линије која дефинише ивицу објекта, као и квадрата који додирују ову линију. Када се зависност броја квадрата од дужине странице (изабране тако да представљају растућу геометријску прогресију) фитује степеном функцијом другог реда (триномом) и нађе гранична вредност ове функције, добија се параметар који представља „тачну“ површину испитиваног објекта.

Величина неурона/глијалне ћелије квантификована је помоћу пет параметара који израчунавају површину тела и неуронског/глијалног поља (279,280) на одговарајућој бинарној слици. Површина тела (S_{nt}/S_{gr}) израчунава се тако што се са бинарне слике дигитално „прекину“ примарни дендрити/глијални наставци, а слика тела издвоји у нови фајл где се примењује претходно описан метод израчунавања површине. Површина неуронског/глијалног поља (S_{np}/S_{gp}) се дефинише као површина конвексног полигона, конструисаног око крајева најдужих дендрита/глијалних наставака (Слика 25).



Слика 25. Пример одређивања површине тела ћелије (S_{nt}) и неуронског поља (S_{np}) на сликама неурона

Такође, ова два својства неурона и глијалних ћелија квантификована су и израчунавањем фракталне димензије (ФД) црно-беле слике тела или поља (281,282). Фрактална димензија скелетонизоване слике дефинише степен сложености простирања и гранања дендрита и глијалних наставака. На крају, густина пројекције (неуронског (ρ_{np}) и глијалног (ρ_{gp})) поља квантификована је једначинама (1), респективно:

$$\rho_{np} = \frac{Sn_t}{Sn_p} \quad \text{и} \quad \rho_{gp} = \frac{Sg_t}{Sg_p} \quad (1).$$

3.4.2. Облик неурона и глијалне ћелије

Ова особина слике квантификована је помоћу седам параметара на слици границе (*binary-outline*) неурона/глијалне ћелије. Облик је прво процењен мерећи обим тела (P_{nt}/P_{gt}) и обим неуронског/глијалног поља (P_{np}/P_{gp}) (282,279) (геометријски параметри) и помоћу два параметра монофракталне анализе (ФД границе тела ($D_{out}_{nt}/(D_{out})_{gt}$) и ФД границе неуронског/глијалног поља ($(D_{out})_{np}/(D_{out})_{gp}$) (Табела 1). Затим је ово својство процењено израчунавајући три компјутациона параметра. Два параметра процењују циркуларност тела (M_{nt}/M_{gt}) и неуронског/глијалног поља (M_{np}/M_{gp}) (282,279). Трећи процењује неправилност пројекције границе неуронског (R_{np}) и глијалног поља (R_{gp}) помоћу једначина (2), респективно:

$$Rn_p = \frac{Pn_t}{Pnp} \quad \text{и} \quad Rg_p = \frac{Pg_t}{Pgp} \quad (2).$$

Параметар којим се квантитативно процењује облик произвољне геометријске фигуре или дводимензионалне слике било ког објекта назива се циркуларност (M). Овај параметар успоставља везу између површине дводимензионалне слике и површине круга чији је радијус једнак максималном радијусу објекта. Прецизније, циркуларност представља меру одступања облика анализираних дводимензионалних објеката од одговарајућег круга (283). Циркуларност се дефинише једначином:

$$M = 4\pi \cdot \frac{S}{L^2} \quad (3),$$

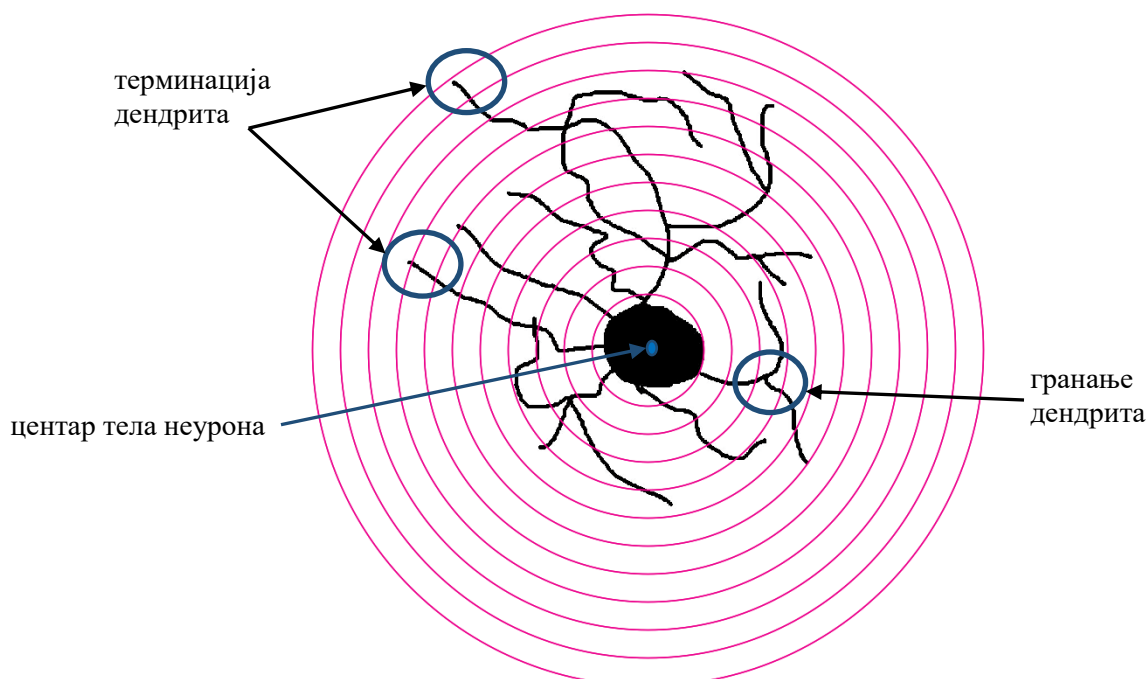
где је S површина а L обим слике објекта у две димензије. Циркуларност тела неурона/глијалних ћелија (M_{nt}/M_{gt}) израчуната је једначином (3), након што је на бинарној слици ћелија, којима су одвојени примарни дендрити/глијални наставци, измерена површина и обим тела. Циркуларност неуронског/глијалног поља (M_{np}/M_{gp}) израчуната је такође помоћу једначине (3), конструисањем затворене полигоналне линије која повезује крајеве дендрита/глијалних наставка и мерењем површине и обима.

3.4.3. Дендрити и глијални наставци и гранање

Особине дендрита неурона и глијалних наставака процењене су израчунавањем три геометријска параметра (Табела 1) црно-беле слике неурона и глијалне ћелије. Они одређују број примарних дендрита (N_{pd}) или глијалних наставака (N_{gn}), максималан број гранања (дихотомних чворова) дендрита или глијалних наставака (N_{gd}/N_{ggn}) и максималан број терминација (завршетака) дендрита или глијалних наставака (N_{td}/N_{tgn}) (284) (Слика 25). Сви параметри из ове групе су геометријски.

3.4.4. Дужина неурона и глијалне ћелије

Ова особина квантификована је помоћу четири параметра (Табела 1). Један од њих је геометријски и квантификује дужину свих дендрита/глијалних наставака (L) (281), а израчунава се на скелетонизованој слици неурона/глијалне ћелије (*binary-skeletonize*). Три параметра припадају групи компјутационих параметара који одређују растојање максималног броја пресека (R_{pd}/R_{pgn}), максималног броја гранања (R_{gd}/R_{ggn}) и максималног броја терминација дендрита (R_{td}/R_{tgn}) у односу на геометријски центар тела (284) (Слика 26). Ови параметри одређују се на црно-белој слици неурона.



Слика 26. Пример начина мерења и анализе дистрибуције броја пресека дендрита са системом концентричних кругова. Приказан је пример терминације (завршетка) дендрита и места гранања (рачвања) дендрита неурона

3.4.5. Сложеност дендритске и глијалне крошње

Ово својство неурона и глијалне ћелије квантификовано је помоћу три параметра, једног компјутационог и два монофрактална (Табела 1). Компјутациони параметар одређивао је максималан број пресека дендрита/глијалних наставка (N_{pd}/N_{gn}) са кругом, чији је центар у геометријском центру тела ћелије, на црно-белој слици неурона/глијалне ћелије.

Један монофрактални параметар процењивао је кривудаост дендрита и сложеност дендритске/глијалне крошње на скелетонизованој слици неурона и глијалне ћелије ($(D_{skel})_n/(D_{skel})_g$) (278). Сложеност дендритске/глијалне крошње најефикасније се квантификује применом фракталне и модификоване Шолове анализе (282). Фрактална анализа изведена је на скелетонизованим сликама неурона и глијалних ћелија применом њене најпознатије технике – „методе бројања квадрата“. Овај метод састоји се у прекривању скелетонизоване слике мрежом квадрата (Слика 27), дефинисане дужине странице (r), након чега се пребројавају квадрати који додирују или секу дендрите/глијалне наставке (N). Променом дужине странице квадрата мења се и број квадрата који прекрива (и додирује) слику неурона/глијалне ћелије. Емпиријски је утврђено да се зависност броја квадрата од дужине странице приказује инверзним степеним законом (4):

$$N = B \cdot r^{-D} \quad (4)$$

у коме је B константа и D фрактална димензија скелетонизоване слике ћелије. Логаритмовањем једначине четири добија се једначина:

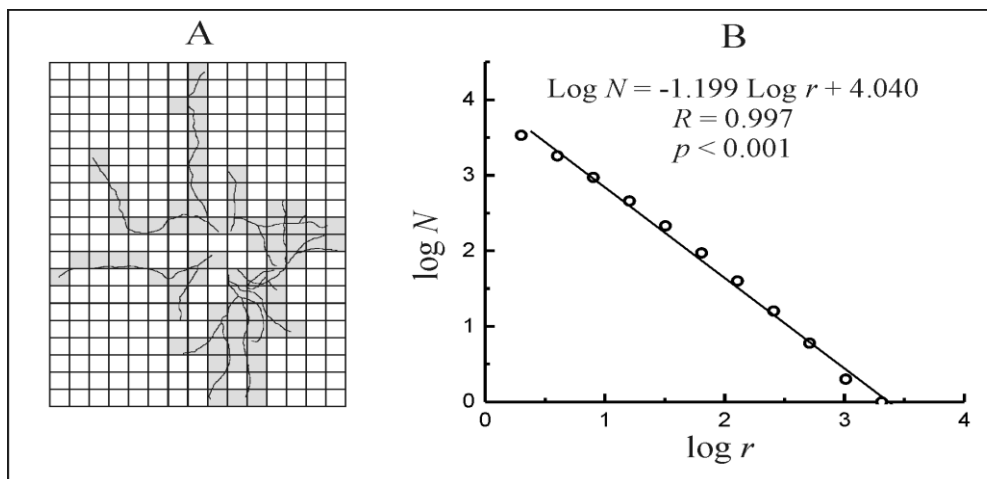
$$\log N = -D \cdot \log r + \log B \quad (5)$$

која се у координатном систему приказује опадајућом правом линијом (Слика 27). Као што показује једначина (5), позитивна вредност коефицијента правца праве линије представља фракталну димензију слике неурона и глијалне ћелије. Од раније је познато да овај параметар, примењен на скелетонизовану слику неурона дефинише степен сложености простирања и гранања дендрита (285,286).

Метода бројања квадрата изведена је коришћењем програма *Image J* помоћу потпрограма „*Fractal Box Count*“. Димензије мреже квадрата биране су, сагласно постојећем протоколу за извођење технике фракталне анализе, према геометријској

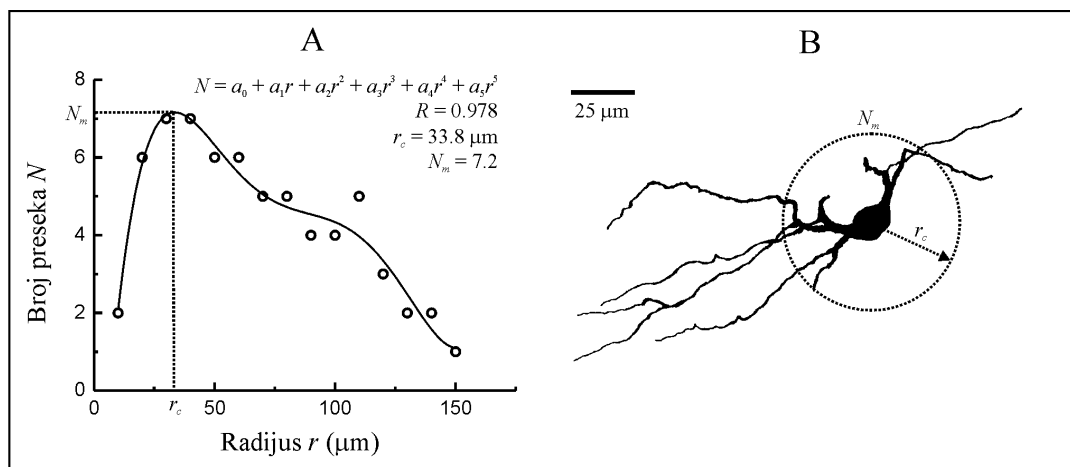
прогресији од $2^1, 2^2, 2^3, \dots$ до 2^k пиксела, где је k вредност за коју је број квадрата који прекрива слику једнак јединици (Слика 27).

Квалитет фитовања зависности $\log N$ од $\log r$ правом линијом, за описани избор параметра r , анализиран је статистичком оценом коефицијента корелације (R) фитоване линије. У свим случајевима вредност коефицијента корелације је био значајно различит од нуле на високом нивоу поузданости ($p < 0,001$), указујући да између ових величина постоји строга линеарна зависност. То је истовремено значило да је број квадрата који прекрива слику неурона скалиран са дужином странице квадрата на три декаде скале.



Слика 27. Примена методе бројања квадрата (*fractal box count*) на скелетонизовану слику неурона: (A) која је прекривена мрежом квадрата и квадрати сиве боје који прекривају слику су пребројани, (B) логаритамска зависност броја квадрата (N) од дужине странице (r) фитована правом линијом. R је коефицијент корелације фитоване линије а фрактална димензија (ΦD) је позитивна вредност коефицијента правца праве линије (у овом случају 1,199)

Модификована Шолова анализа (Слика 28) заснована је на конструисању система еквиливантних концентричних кругова, чији се центри налазе у геометријском центру тела неурона/глијалне ћелије. Након тога израчунава се број пресека дендрита и глијалних наставка (N) са сваком кругом у систему, а функционална зависност броја пресека од радијуса круга се фитије полиномом изабраног степена.



Слика 28. Илустрација примене модификоване Шолове анализе на дводимензионалној слици неурона кичмене мождине мачке (из: Ristanović D. (2) - са дозволом.): А - график зависности броја пресека од радијуса круга фитован је полиномом петог степена (горњи десни угао). Симболом R означен је коефицијент корелације фитоване функције, r_c је критична вредност функције $N(r)$ и N_m је максимална вредност функције $N(r)$; В - круг који пресеца бинарну слику неурона кичмене мождине мачке указује на место на коме се налази максималан број пресека (N_m) и удаљеност од геометријског центра тела неурона (r_c) (2)

Анализом полиномне функције израчунавају се два морфометријска параметра: максималан број пресека дендрита и круга (N_m) и критични радијус (r_c) од центра тела. Илустрација извођења модификоване Шолове анализе приказана је на Слици 28. Показано је да параметар N_m дефинише густину разгранатости дендритске крошње, док параметар r_c одређује на којој се раздаљини од центра тела налази максимална разгранатост.

Други монофрактални параметар у процени сложености дендритске/глијалне крошње израчунавао је хомогеност црно-беле слике неурона при његовој истовременој translацији и ротацији - лакуарност (Λ) (281).

Табела 1. Листа квантитативних параметара (назив, симбол и тип) којима се процењује пет особина слике неурона и глијалних ћелија

Особина	Редни број	Параметар	Симбол	Тип параметра
Величина неурона/глијалне ћелије	1.	Површина тела неурона/глијалне ћелије (pix^2)	S_{nt}/S_{gt}	геометријски
	2.	Површина неуронског/глијалног поља (pix^2)	S_{np}/S_{gp}	геометријски
	3.	Густина пројекције неуронског/глијалног поља	ρ_{np}/ρ_{gp}	компјутациони
	4.	Фрактална димензија тела неурона/глијалне ћелије	$(D^{bin})_{nt}/(D^{bin})_{gt}$	монофрактални
	5.	Фрактална димензија неуронског/глијалног поља	$(D^{bin})_{np}/(D^{bin})_{gp}$	монофрактални
Облик неурона/глијалне ћелије	6.	Обим неуронског/глијалног тела (pix)	P_{nt}/P_{gt}	геометријски
	7.	Обим неуронског/глијалног поља (pix)	P_{np}/P_{gp}	геометријски
	8.	Неправилност пројекције границе неуронског/глијалног поља	R_{np}/R_{gp}	компјутациони
	9.	Циркуларност неуронског/глијалног тела	M_{nt}/M_{gt}	компјутациони
	10.	Циркуларност неуронског/глијалног поља	M_{np}/M_{gp}	компјутациони
	11.	Фрактална димензија границе тела неурона/глијалне ћелије	$(D_{out})_{nt}/(D_{out})_{gt}$	монофрактални
Дендрити/глијални наставци и гранање	12.	Фрактална димензија границе неуронског/глијалног поља	$(D_{out})_{np}/(D_{out})_{gp}$	монофрактални
	13.	Број примарних дендрита/глијалних наставка	N_d/N_{gn}	геометријски
	14.	Максималан број гранања дендрита/глијалних наставка	N_{gd}/N_{ggn}	геометријски
Дужина неурона/глијалне ћелије	15.	Максималан број терминација дендрита/глијалних наставка	N_{td}/N_{tgn}	геометријски
	16.	Дужина свих дендрита/глијалних наставка (pix)	L_d/L_{gn}	геометријски
	17.	Растојање максималног броја пресека дендрита/глијалних наставка и круга (од центра тела) (pix)	R_{pd}/R_{pgn}	компјутациони
	18.	Растојање максималног броја гранања дендрита/глијалних наставка (од центра тела) (pix)	R_{gd}/R_{ggn}	компјутациони
	19.	Растојање максималног броја терминација дендрита/глијалних наставка (од центра тела) (pix)	R_{td}/R_{tgn}	компјутациони
Сложеност дендритске/глијалне крошње	20.	Максималан број пресека дендрита/глијалних наставка и круга	N_{pd}/N_{pgn}	компјутациони
	21.	Фрактална димензија скелетонизоване слике неурона/глијалне ћелије	$(D_{skel})_n/(D_{skel})_g$	монофрактални
	22.	Лакуарност	Λ	монофрактални

pix - пиксели

3.5. Статистичка обрада података

Статистичка оцена 22 измерена и израчуната параметра слике неурона и глијалних ћелија заснива се на процени расподеле одређеног параметра, односно да ли његова дистрибуција подлеже нормалној расподели или не. С обзиром на то да је број узорака у свакој од популација велик (већи од 30), нормалност расподеле сваког од 22 морфометријска параметра испитана је анализом полигона релативних фреквенција или χ^2 тестом.

У случају да је расподела испитиваног морфометријског параметра нормално дистрибуисана, мера централне тенденције приказана је аритметичком средњом вредношћу, док је мера дисперзије варијабли приказана стандардном грешком. Испитивање постојања статистички значајних разлика између средњих вредности (сваког од 22 параметра) изведено је коришћењем тестова параметријске статистике за случај великих узорака.

Са друге стране, ако дистрибуција морфометријског параметра не подлеже закону нормалне расподеле, мера централне тенденције је приказана медијаном, док меру дисперзије дефинише опсег варијабли (разлика између максималне и минималне вредности). Аналогно претходном, постојање статистички значајне разлике између медијана испитује се тестовима непараметријских статистика за случај великих узорака.

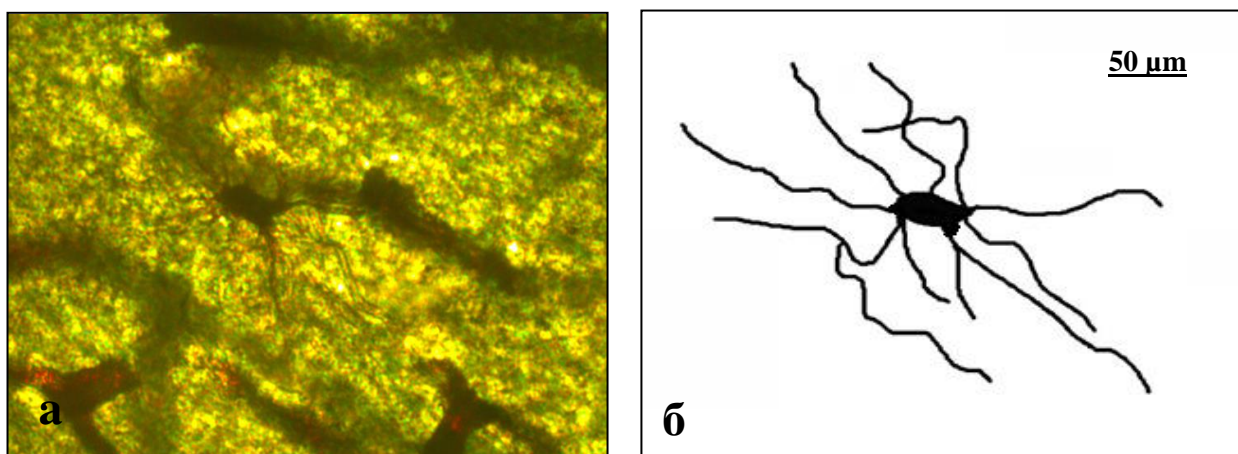
4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Квалитативна анализа неурона главног маслинастог једра

Неурони главног маслинастог једра анализирани су према изгледу тела и дендритског поља, броју примарних дендрита и њиховог правца пружања, присуству спина и разгранатости дендритске крошње. На основу изгледа тела и дендритског поља, уочене су мали и велики неурони. Према типу дендритске крошње, описани су мултиполарни и асиметрични неурони. Такође, квалитативном анализом процењена је топологија неурона, у односу на спољашњу и унутрашњу границу главног маслинастог једра, те су описани спољашњи гранични, унутрашњи гранични и централни неурони.

4.1.1. Мали неурони

Мали неурони главног маслинастог једра човека локализовани су појединачно између великих неурона, или формирају мање групе. Мали неурони главног маслинастог једра припадају мултиполарним неуронима. Са тела малих неурона издваја се три до осам примарних дендрита који се деле најчешће на две до три танке и дуге гране. Дендрити малих неурона се пружају у радијалном правцу у односу на неуронско тело (Слика 29а, 29б). Тела малих неурона су углавном округлог или овалног облика, док је њихово дендритско поље сферног облика. На дендритима малих неурона уочава се мањи број спорадично распоређених трнастих наставака.



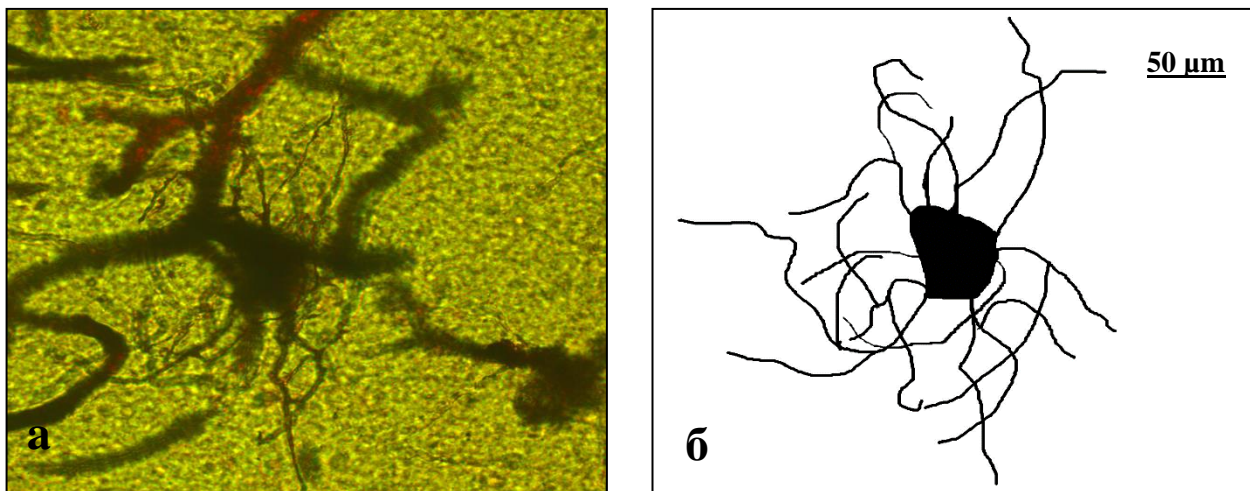
Слика 29. Приказ малог неурона главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

4.1.2. Велики неурони

Групу великих неурона главног маслинастог једра човека чине неурони који су распоређени углавном у централним и периферним деловима сиве масе испитиваног једра. Њихово тело је различитог облика, најчешће овално, али су уочени и неурони са полумесечастом, вретенастом, троугластом или срцоликом формом тела. Они поседују велики број примарних дендрита, од шест до 15, који се рачвају на секундарне и терцијарне гране (Слика 30а, 30б). Дебљина дендрита великих неурона се постепено смањује након дихотомног рачвања. Унутар групе великих неурона уочавају се трнасти наставци, ређе или гушће распоређени, углавном на дисталним деловима дендрита.

Квалитативном анализом слика свих неурона главног маслинастог једра из узорка, пронађено је 37 малих и 222 велика неурона.

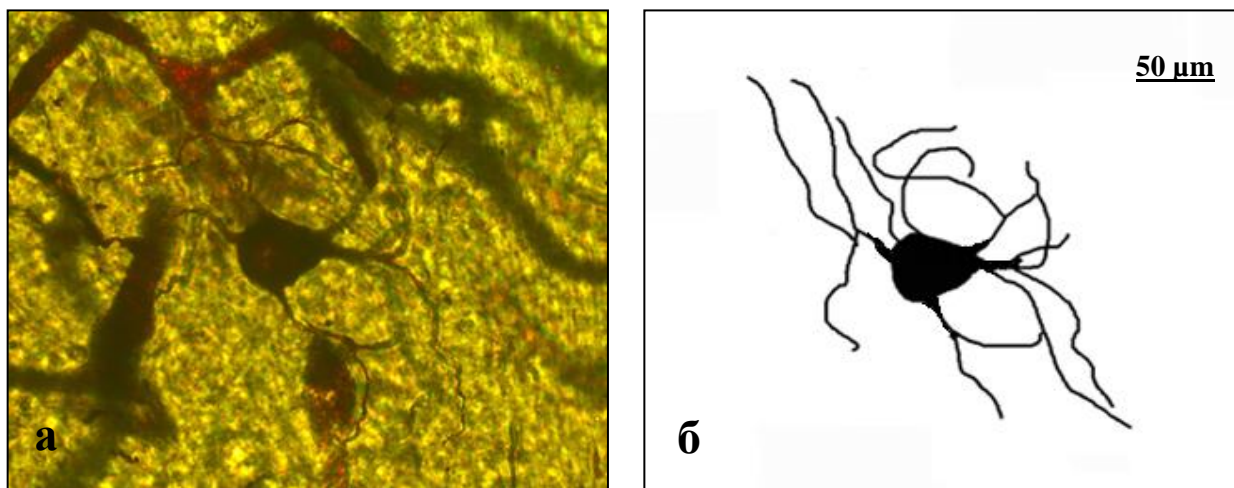
У односу на изглед дендритског поља неурона целокупног испитиваног узорка, уочени су мултиполарни и асиметрични неурони.



Слика 30. Приказ великог неурона главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

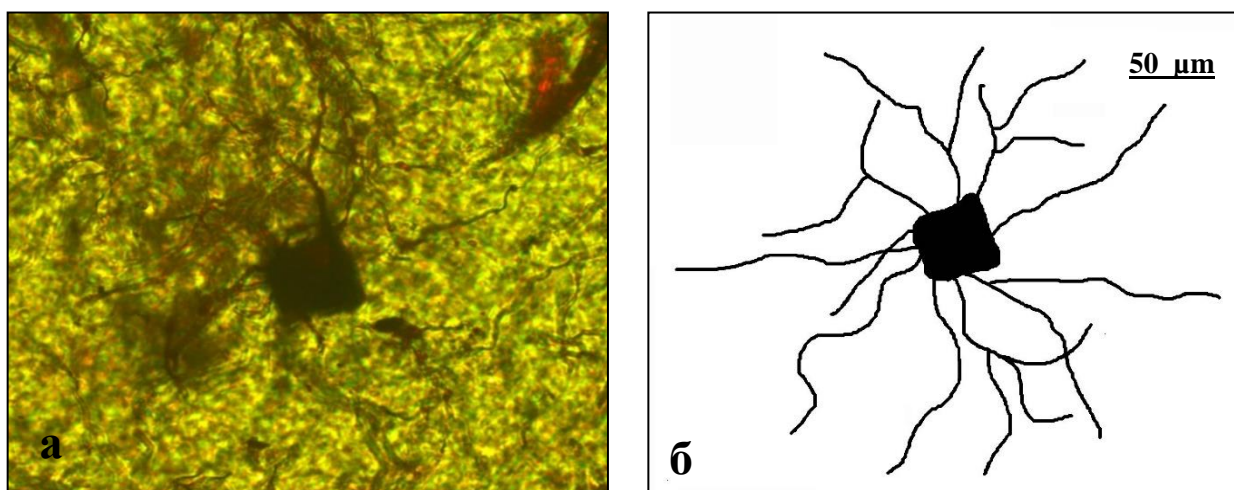
4.1.3. Мултиполарни неурони

Мултиполарни неурони имају тело овалног или лоптастог облика, са осам до 10 примарних дендрита који се пружају у различитом правцу (Слика 31а, 31б). Примарни дендрити мултиполарних неурона полазе са свих страна тела и гранају се на две до три генерације наставака. Посматрано у целини, мултиполарни неурони имају сферно дендритско поље и добро разгранату дендритску крошњу.



Слика 31. Приказ мултиполарног неурона главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

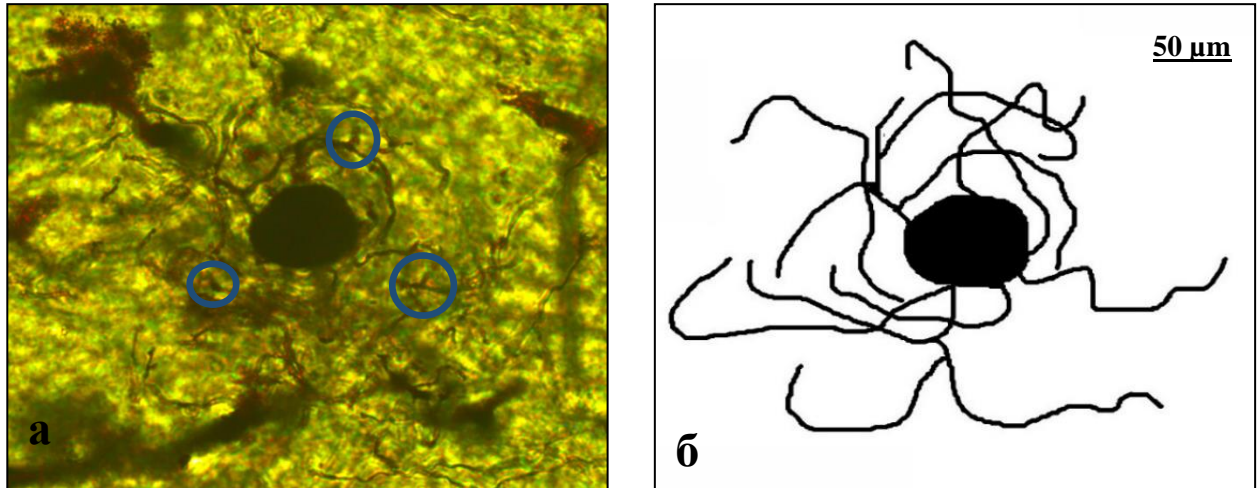
Правац простирања дендрита мултиполарних неурона је различит. На основу ове карактеристике, уочено је да један део мултиполарних неурона поседује дугачке и танке дендрите који се пружају праволинијски у радијалном правцу. Ови неурони су локализовани у централном делу сиве масе главног маслинастог једра, између спољашње и унутрашње границе једра (Слика 32а, 32б).



Слика 32. Приказ мултиполарног неурона са радијалним правцем пружања дендрита, на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

Други део мултиполарних неурона има наставке који се увијају спирално и кружно се простиру близу неуронског тела, враћајући се ка телу неурона и тако дајући неурону изглед „вунене лоптице“ (Слика 33а, 33б). Дендрити ових неурона су

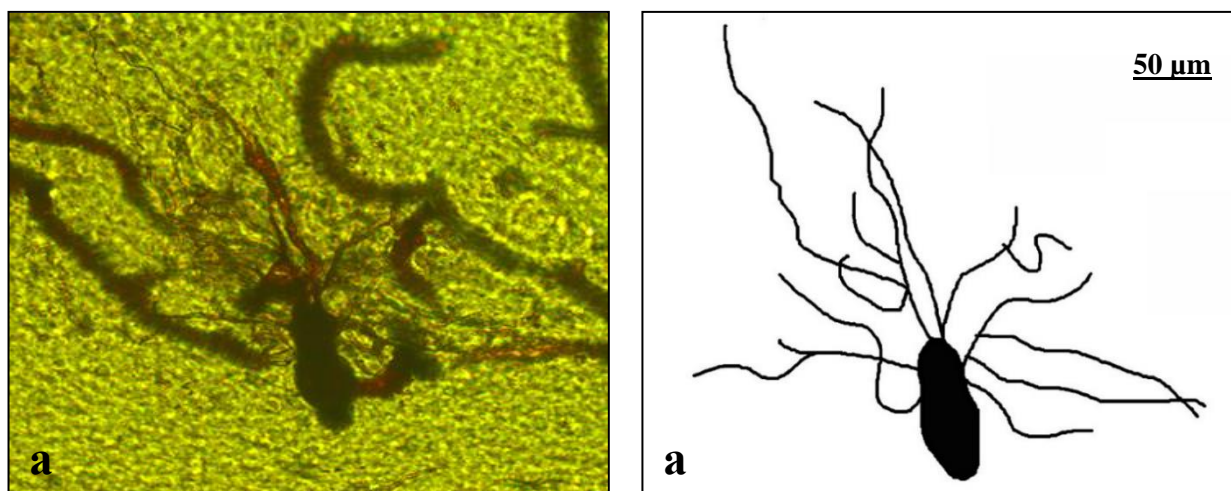
извијугани, а могу да се преклапају и увијају један око другог. На појединим мултиполарним неуронима, на дисталним крајевима дендрита, уочени су трнасти наставци (Слика 33а).



Слика 33. Приказ мултиполарног неурона са дендритима који се увијају око тела, на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б). Слика а приказује трнасте наставке на дендритима

4.1.4. Асиметрични неурони

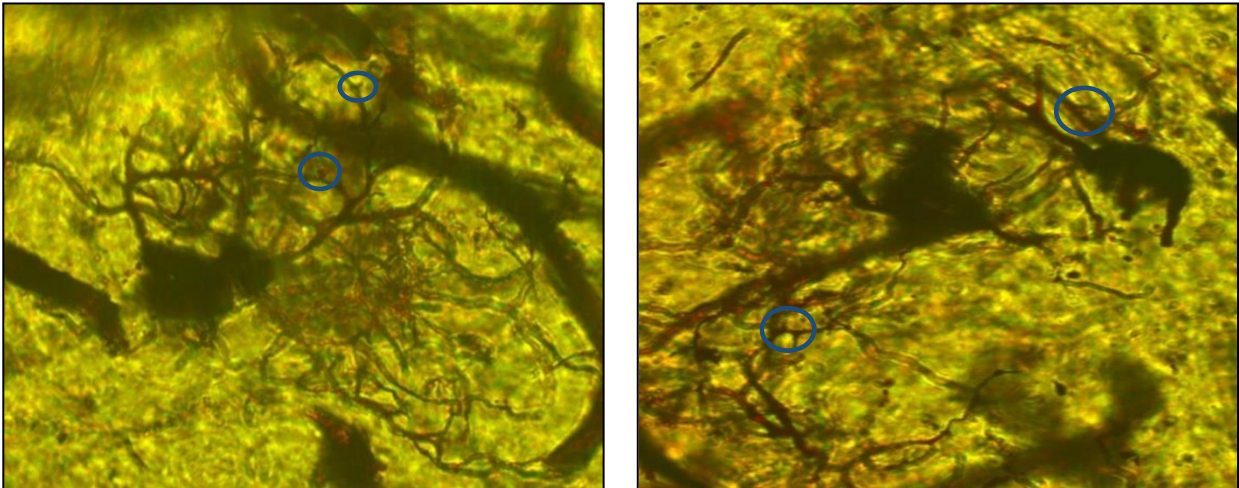
За разлику од мултиполарних неурона чије је дендритско поље сферног облика, карактеристику неурона асиметричног типа представља асиметричан облик дендритске крошње (Слика 34а, 34б). Облик тела асиметричних неурона подсећа на облик вретена, и издужено је. Асиметрични неурони су локализовани гранично, уз спољашњу или унутрашњу ивицу главног маслинастог једра. Дендрити асиметричних неурона полазе са једног пола и/или бочних страна тела и усмерени су ка централним деловима сиве масе главног маслинастог једра. Супротан пол тела ових неурона лишен је присуства дендрита и окренут је ка спољашњој, односно унутрашњој граници једра. Дендрити су им дуги и танки и простиру се таласасто, ка унутрашњости једра. Неурони овог типа су добро разгранати, а гледано у целини имају асиметричан облик.



Слика 34. Приказ асиметричног неурона главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

4.1.5. Парови неурона

Посматрајући организацију неурона унутар централних делова сиве масе главног маслинастог једра, уочени су неурони у паровима. Постављени су близу један другом, а тела им се скоро додирују. Њихови дендрити се пружају у свим правцима, али се најчешће кружно или спирално увијају близу тела неурона, враћајући се ка њему. Дендрити парова неурона простиру се вијугаво и међусобно се преклапају. Један од парова неурона поседује веће тело, кружног или овалног облика, док је други неурон мањи са телом неправилног или полумесечастог облика (Слика 35). Већи неурон у пару има већи број примарних дендрита, који су дугачки, са већим бројем рачвања. Карактеристике мањег неурона у пару су мањи број гранања тањих и краћих дендрита, као и ретко видљиви трнасти наставци дуж његових дендрита. Оба неурона у пару припадају мултиполарним неуронима. Такође, виђено је да дендрити неурона у пару поседују спинозне наставке (Слика 35). Унутар прве старосне групе пронађено је четири пара неурона, један пар неурона је уочен у другој старосној групи а у трећој старосној групи парови неурона нису виђени.

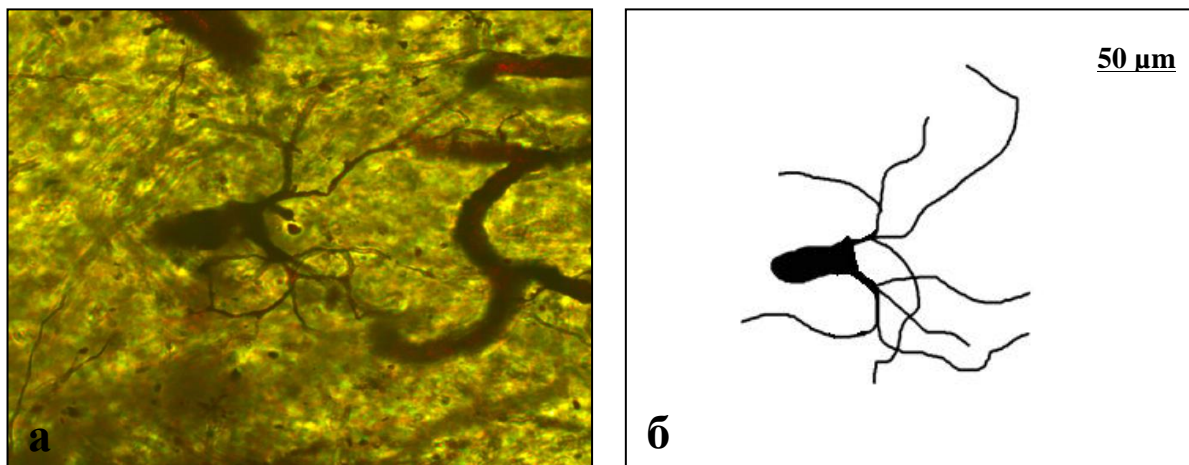


Слика 35. Приказ хоризонталних пресека (оптичких резова) парова неурона главног маслинастог једра. Означена места приказују трнасте наставке на дендритима

Према процени положаја свих неурона унутар главног маслинастог једра, односно према њиховој тополошкој расподели, уочени су спољашњи гранични неурони, унутрашњи гранични неурони и централни неурони.

4.1.6. Спољашњи гранични неурони

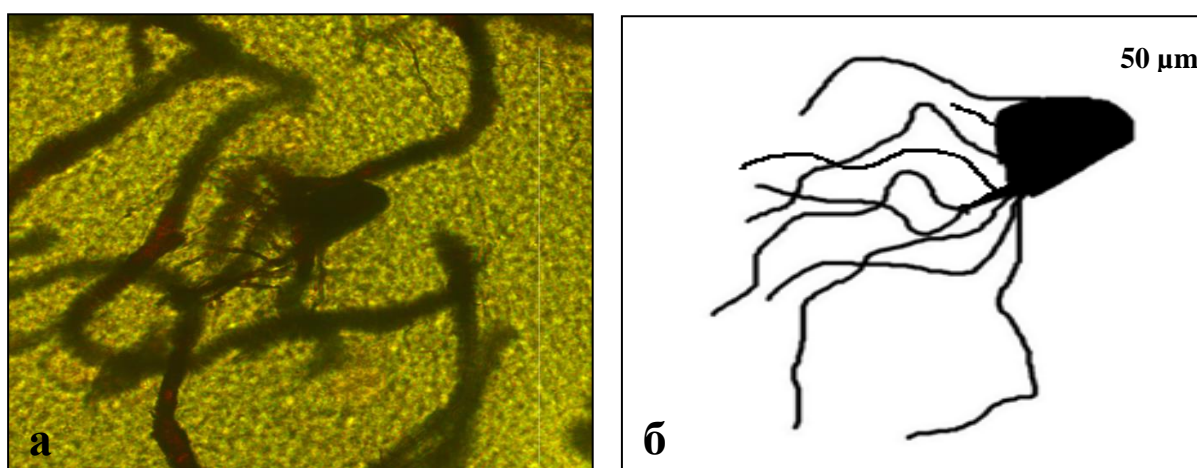
Спољашњи гранични неурони се тракасто респоредују у пределу спољашње границе сиве масе главног маслинастог једра. Својим положајем ова група неурона формира спољашњу границу једра и одваја га од околне беле масе продужене мождине. Тела спољашњих граничних неурона су најчешће елипсоидног или вретенастог облика. Са једног пола тела неурона полазе дужи и/или краћи дендрити, који су усмерени ка централним регионима главног маслинастог једра (Слика 36а, 36б). Аксонски брестуљак спољашњих граничних неурона је усмерен упоље, ка белој маси која окружује једро. Посматрано у целини, спољашњи гранични неурони имају асиметричну форму.



Слика 36. Приказ спољашњег граничног неурона главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

4.1.7. Унутрашњи гранични неурони

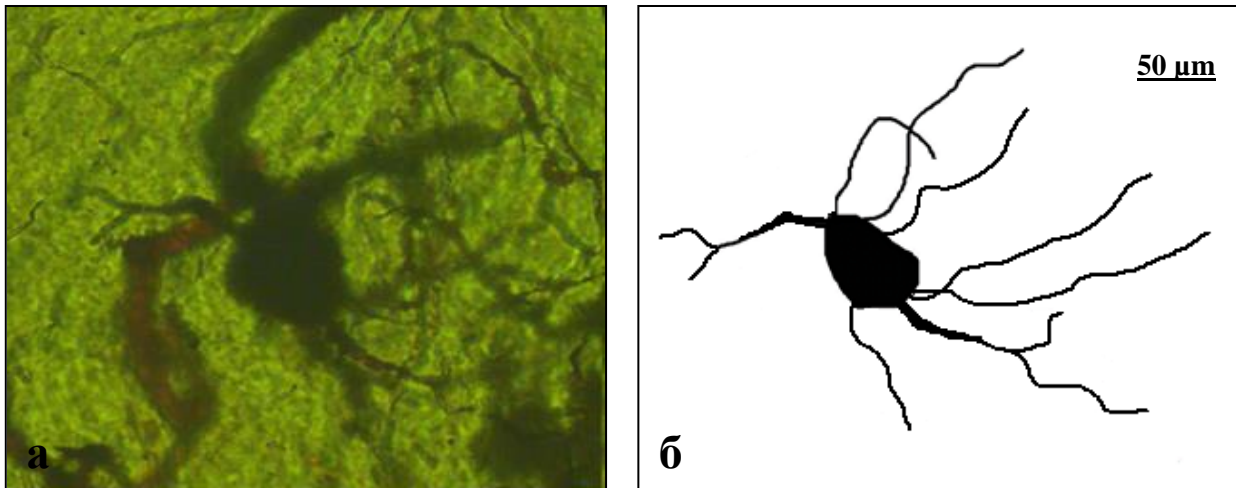
Према својој топологији, унутрашњи гранични неурони су смештени дуж унутрашње границе једра, чинећи граничну линију сиве масе главног маслинастог једра. Распоређују се у тракасту формацију и одвајају сиву масу једра од беле масе која се налази у конкавитету главног маслинастог једра. Према морфолошким особеностима, унутрашњи гранични неурони су веома слични спољашњим граничним неуронима. Имају вретенасто, издужено тело са поларно оријентисаним правцем пружања дендрита (Слика 37а, 37б). Дендрити се пружају таласасто и усмерени су ка сивој маси једра, а дендритска крошња има асиметричан облик.



Слика 37. Приказ унутрашњег граничног неурона главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

4.1.8. Централни неурони

Централна локализација неурона подразумева да се они налазе унутар средишњих делова сиве масе главног маслинастог једра. Равномерно су распоређени између трака спољашњих и унутрашњих граничних неурона. Њихово тело је кружно или овалног облика, са бројним дендритима који се зракасто пружају у околну сиву масу (Слика 38а, 38б). Посматрано у целини, наставци централних неурона граде сферно дендритско поље. Дендрити централних неурона су дугачки и покривени су трнастим наставцима. На централно локализованим неуронима број примарних дендрита износи од шест до 15, а они се потом гранају на две до три гране, чија се дебљина постепено смањује.



Слика 38. Приказ централног неурона главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

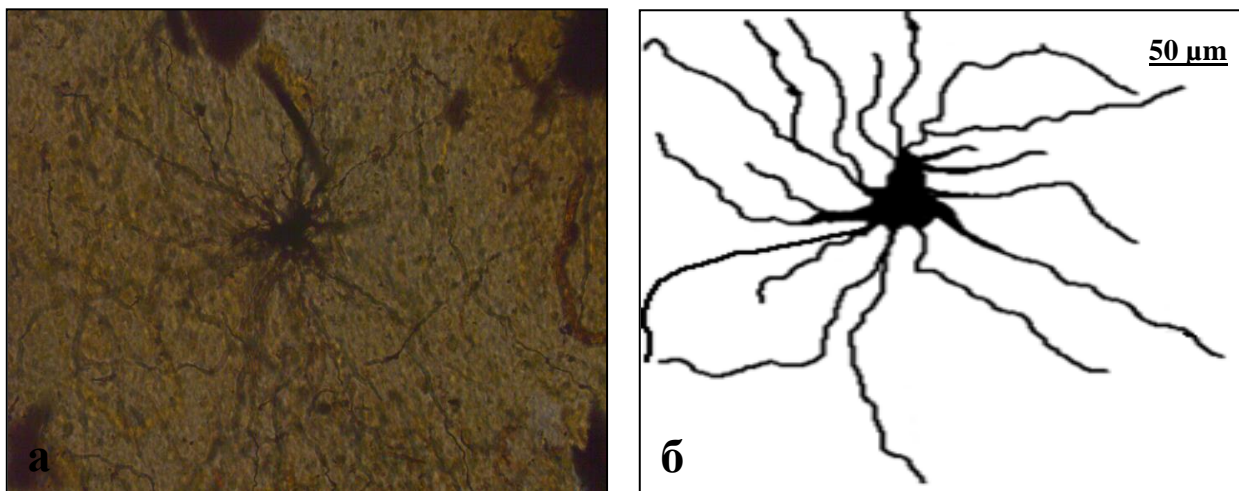
4.2. Квалитативна анализа глијалних ћелија главног маслинастог једра

Глијалне ћелије главног маслинастог једра квалитативно су описане и приказане према врстама (фиброзни и протоплазматични астроцити, олигодендроцити и микроглијалне ћелије), а посматране су им следеће карактеристике: тело и глијално поље, број примарних наставка, правац пружања наставка и разгранатост глијалне крошње. Квалитативном анализом изгледа тела и глијалног поља, нису установљене разлике које би их издвојиле у посебне групе.

Квалитативном анализом је обухваћено 294 слике астроцита (148 фиброзних и 146 протоплазматичних), 112 слика олигодендроцита и 13 слика микроглијалних ћелија.

4.2.1. Фиброзни астроцити

Фиброзни астроцити су визуализовани у околној белој маси која се налази унутра у односу на унутрашњу границу главног маслинастог једра. Уочен је велики број фиброзних астроцита који су дифузно распоређени, или формирају мање или веће групе ћелија. Тело фиброзних астроцита је звездастог или троугластог облика, а поседују дугачке и танке продужетке који се таласасто пружају упоље у односу на тело, у околни паренхим (Слика 39а, 39б). Поседују од осам до 20 наставка, који се најчешће не гранају или је присутно само једно рачвање. Структура продужетака фиброзних астроцита је глатка. Уочено је да наставци фиброзних астроцита допиру до околних крвних судова. У првој старосној групи пронађено је 48 фиброзних астроцита, у другој 46, а у трећој старосној групи виђена су 54 фиброзна астроцита.

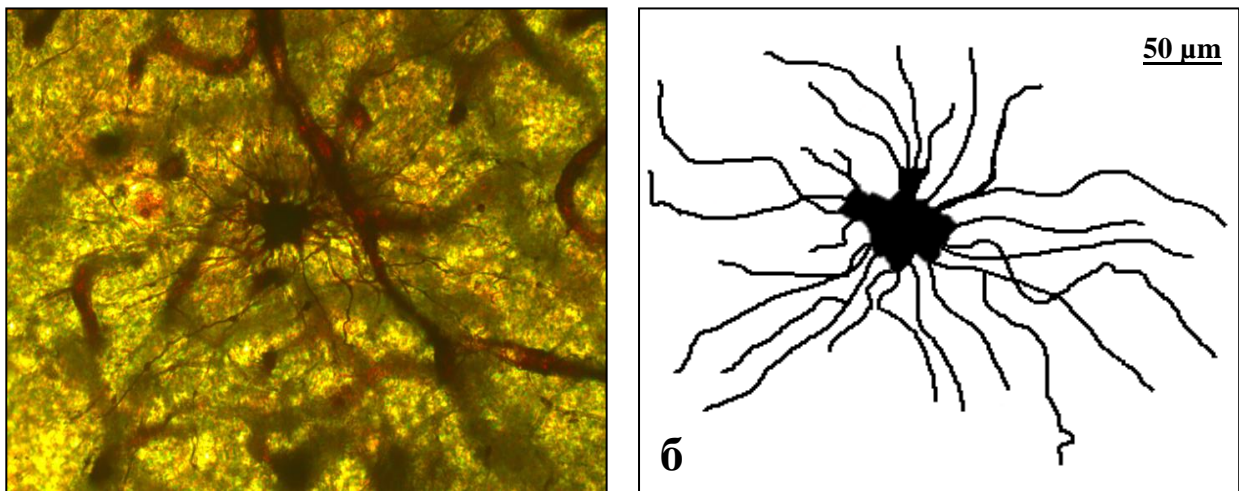


Слика 39. Приказ фиброзног астроцита главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

4.2.2. Протоплазматични астроцити

Протоплазматични астроцити су виђени у великом броју унутар сиве масе главног маслинастог једра. Локализовани су између спољашње и унутрашње границе испитиваног једра, односно унутар његове вијуге. Ове ћелије поседују тело које је најчешће звездастог облика али су уочени и астроцити са троугластим телом. Астроцитни наставци се пружају симетрично упоље од тела ћелије, у радијалном

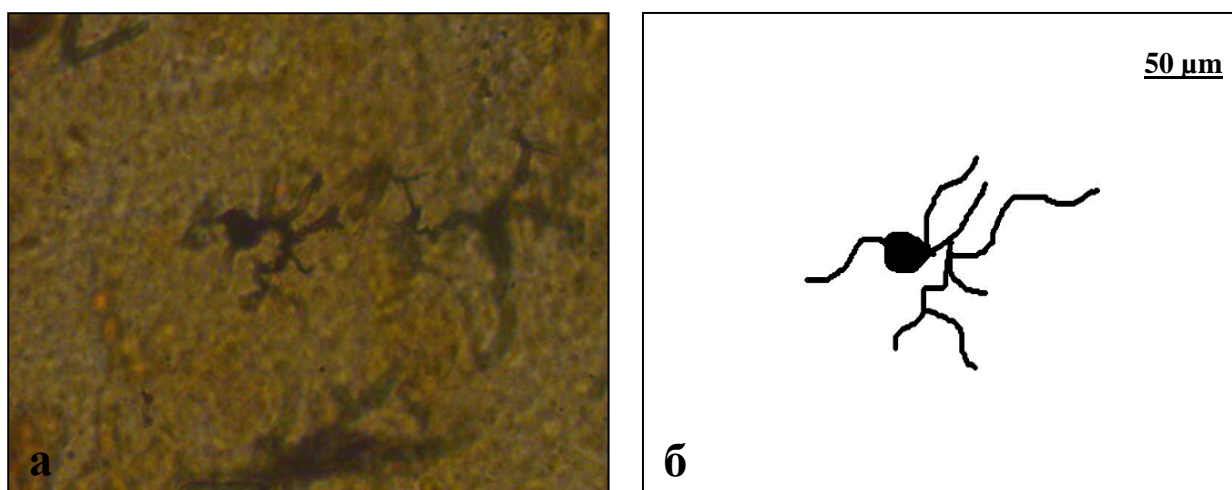
правцу (Слика 40а, 40б). Број продужетака је различит и креће се од шест до 15, а наставци су дебљи у односу на наставке фиброзних астроцита и нешто су краћи и извијуганији. На појединим протоплазматичним астроцитима уочена су малобројна ситна избочења, мехурастог облика. Многи од продужетака протоплазматичних астроцита се гранају а протежу се између дендрита неурона, допирући и до крвних судова. Виђено је 48 протоплазматичних астроцита у првој старосној групи, 47 у другој, а у трећој старосној групи пронађен је 51 протоплазматични астроцит.



Слика 40. Приказ протоплазматичног астроцита главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

4.2.3. Олигодендроцити

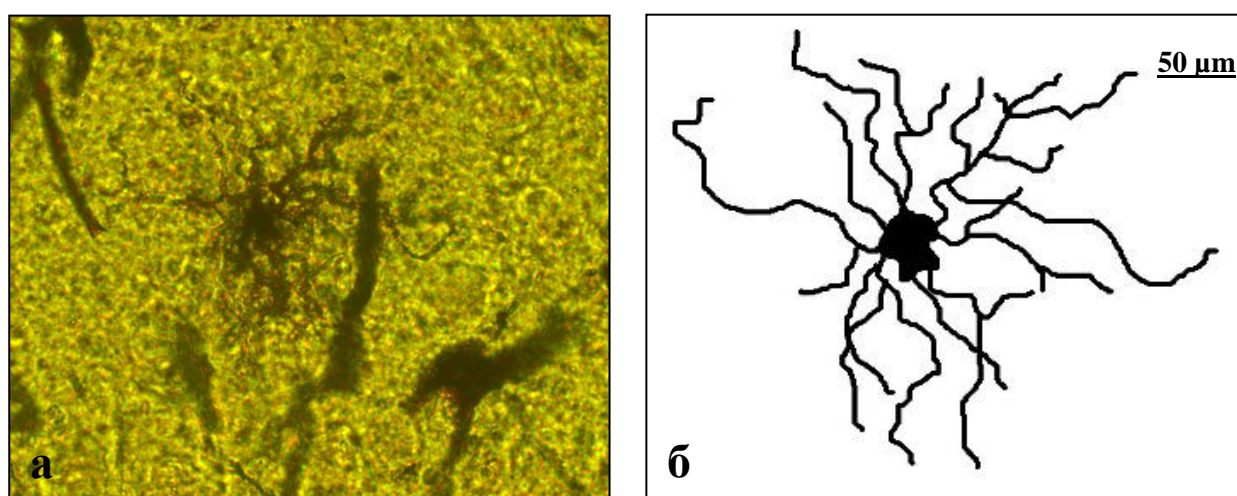
Олигодендроцитне глијалне ћелије су пронађене претежно унутар околне беле масе, у конкавитету вијуге главног маслинастог једра. Тело олигодендроцита је мало, округло, са присутним мањим бројем (од четири до осам) кратких наставака, који се ретко гранају (Слика 41а, 41б). Глатке су структуре. Продужци олигодендроцита полазе са свих страна тела ћелије и простиру се радијално. Уочено је 25 олигодендроцита у првој старосној групи, 50 у другој и 37 олигодендроцита у трећој старосној групи.



Слика 41. Приказ олигодендроцита главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

4.2.4. Микроглијалне ћелије

Микроглијалне ћелије су виђене у веома малом броју (13 слика), унутар сиве масе главног маслинастог једра. Њене основне морфолошке карактеристике су мало тело, неправилног облика и велики број кратких продужетака (Слика 42а, 42б). Наставци микроглијалних ћелија полазе са свих страна тела ћелије и зракасто се простиру у околни паренхим. На њима су уочени ситни и танки трнолики изданци, те микроглијална ћелија у целини поприма изглед „пахуљице“. Микроглијалне ћелије су уочене у првој (8) и другој старосној групи (5).



Слика 42. Приказ микроглијалне ћелије главног маслинастог једра на хоризонталном пресеку (оптичком резу) (а) и на бинарној слици (б)

Анализом разлика у квалитативним параметрима неурона и глијалних ћелија између старосних група, виђене су извесне промене у њиховој морфологији али их квалитативно није било могуће јасно утврдити и описати, те су оне у даљем раду квантитативно анализирани.

4.3. Квантитативна анализа неурона главног маслинастог једра

4.3.1. Квантитативна анализа слике неурона главног маслинастог једра

У овом истраживању морфолошке карактеристике неурона главног маслинастог једра човека квантификоване су мерењем и израчунавањем 22 параметра. Квантификација димензије тела и неуронског поља извршена је преко израчунавања површине тела (S_{nt}), површине неуронског поља (S_{np}), густине пројекције неуронског поља (ρ_{np}), ФД тела неурона ($(D_{bin})_{nt}$) и ФД неуронског поља ($(D_{bin})_{np}$). Облик неурона квантификован је израчунавањем следећих параметара: обим неуронског тела (P_{nt}), обим неуронског поља (P_{np}), неправилност пројекције границе неуронског поља (R_{np}), циркуларност неуронског тела (M_{nt}), циркуларност неуронског поља (M_{np}), ФД границе тела неурона ($(D_{out})_{nt}$) и ФД границе неуронског поља ($(D_{out})_{np}$). Параметри дендрита и гранања квантитативно су анализирани кроз: дужину свих дендрита (L_d), растојање максималног броја пресека дендрита и круга (R_{pd}), растојање максималног броја гранања дендрита (R_{gd}) и растојање максималног броја терминација дендрита (R_{td}). Сложеност дендритске крошње неурона квантификована је мерењем три параметра, добијених применом фракталне анализе и модификоване Шолове технике анализе слике. Својства дендритске крошње дефинишу се кроз: ФД скелетонизоване слике ($(D_{skel})_n$), максималан број пресека (N_{pd}) и лакунарност (Λ).

Табела 2 приказује испитивање карактера расподеле свих параметара на целокупном узорку неурона (259 слика). Сваки параметар је приказан средњом вредношћу (SV) и медијаном (Med). Дистрибуција параметара приказана је одређивањем искошености ($skjunis$, m_3) и ексцеса ($kurtosis$, m_4). Искошеност дистрибуције мери релативно растојање крајева, док ексцес процењује комбиновану величину дистрибуције, прецизније, величину вероватноће крајева. На крају, процена расподеле параметара (нормална расподела или не) извршена је анализом p вредности Колмогоров-Смирнов теста.

Табела 2. Анализа расподеле 22 параметра груписаних у пет особина неурона (величина, облик, дендрити, дужина и сложеност) на узорку од 259 слика неурона. Сваки параметар приказан је средњом вредношћу (SV), медијаном (Med), искошеношћу (m_3), ексцесом (m_4) и p вредношћу Колмогоров-Смирнов теста

Параметар	SV	Med	m_3	m_4	p
Величина					
S_{nt} (pix ²)	18891	18848	0,224	0,583	0,099
S_{np} (pix ²)	379118	362871	0,487	-0,156	0,040
ρ_{np}	0,0571	0,0517	1,340	3,499	< 0,001
$(D_{bin})_{nt}$	1,774	1,773	0,188	1,246	0,200
$(D_{bin})_{np}$	1,818	1,820	-0,251	0,089	0,200
Облик					
P_{nt} (pix)	476,3	474	4,275	43,994	< 0,001
P_{np} (pix)	2228	2214	0,145	-0,321	0,200
R_{np}	0,221	0,215	2,097	14,377	0,013
M_{nt}	1,038	1,063	-2,236	13,409	< 0,001
M_{np}	0,934	0,942	-0,808	1,436	0,007
$(D_{out})_{nt}$	1,094	1,089	0,904	0,928	< 0,001
$(D_{out})_{np}$	1,068	1,068	0,073	-0,480	0,200
Дендрити и гранање					
N_{pd}	5,93	6,00	0,027	-0,229	< 0,001
N_{gd}	4,63	4,00	1,026	1,266	< 0,001
N_{td}	12,63	12,00	0,784	1,048	< 0,001
Дужина					
L_d (pix)	4308,73	4218	0,439	0,299	0,200
R_{pd} (pix)	447,84	440,4	0,239	-0,508	0,200
R_{gd} (pix)	315,72	311,3	0,353	-0,030	0,007
R_{td} (pix)	815,39	811,5	0,667	0,937	0,010
Сложеност					
N_{pd}	11,21	11,00	0,367	0,328	0,200
$(D_{skel})_n$	1,146	1,146	-0,627	1,459	0,200
Λ	0,834	0,838	-0,076	0,399	0,005

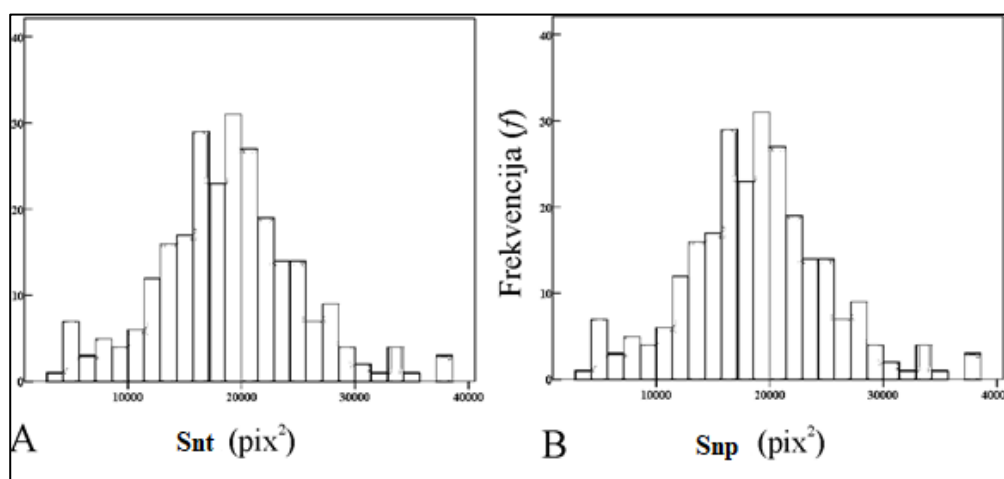
Нормална расподела је ако је $p > 0,05$

Анализом Табеле 2 види се да су само девет, од 22 параметра, нормално распоређени на овом узорку неурона главног маслинастог једра. Прецизније, по два параметра облика неурона (обим неуронског поља (P_{np}) и ФД границе неуронског поља ($(D_{out})_{np}$); два параметра дужине неурона (дужина свих дендрита (L_d) и растојање максималног броја пресека (R_{pd})) и два параметра сложености дендритске крошње (максималан број пресека дендрита са кругом (N_{pd}) и ФД скелетонизоване слике дендритске крошње ($(D_{skel})_n$). Нормалну расподелу имају и следећа три параметра

величине неурона: површина тела (S_{nt}), ФД тела ($D_{bin})_{nt}$) и ФД неуронског поља ($D_{bin})_{np}$). Због тога су у даљем раду ови параметри приказани средњом вредношћу (SV) и стандардном грешком (SG). Расподела осталих 13 параметара била је различита од нормалне дистрибуције и они су приказани медијаном (Med) и распонем вредности, од минималне до максималне ($Min-Max$).

4.3.2. Класификација неурона главног маслинастог једра

Могућност класификације целокупног узорка неурона главног маслинастог једра (259 слика) испитивана је анализом хистограма (зависност фреквенције од параметра) два геометријска параметра - површине тела (S_{nt}) и површине неуронског поља (S_{np}). Хистограми ова два параметра приказани су на Слици 43.



Слика 43. Хистограми два геометријска параметра (површина тела, S_{nt} (A) и површина неуронског поља, S_{np} (B)) који квантификују величину неурона главног маслинастог једра

У овом истраживању коришћене су препоруке класификовања нехомогених дистрибуција приказаних у претходним публикацијама, а које су описивале класификацију слика неурона зупчастог једра човека (287) и неурона путамена (288). Анализом Сlike 43 може се закључити да у оба случаја расподела параметара S_{nt} и S_{np} није бимодална. Такође, може се очекивати да ће се са повећањем узорка уочени екстреми (на крајевима расподеле) „утопити“ у унимодалну расподелу. На основу овога, може се тврдити да се неурони главног маслинастог једра човека не могу класификовати према геометријским параметрима површине тела и површине неуронског поља (S_{nt} и S_{np}).

4.3.3. Испитивање разлике између старосних група

Табела 3 приказује средње вредности и стандардне грешке девет параметара нормалне дистрибуције. Неурони треће старосне групе имају већу површину тела (S_{nt}) у односу на неуроне прве групе, а мањи обим неуронског поља (P_{np}) од неурона друге групе. Такође, ФД тела ($(D_{bin})_{nt}$) и неуронског поља ($(D_{bin})_{np}$) се разликују између група. Претходно уочене разлике нису довољне да се примети статистички значајна разлика у морфологији. Са друге стране, дужина свих дендрита (L_d) и растојање максималног броја пресека дендрита и круга (R_{pd}) најмањи су код неурона треће старосне групе. Висока значајна разлика постоји у максималној дужини дендрита (L_d) између све три старосне групе, док између прве и треће постоји значајна разлика у растојању максималног броја пресека дендрита (R_{pd}) (Табела 3). Такође, сложеност дендритске крошње неурона треће старосне групе значајно се разликује од остале две. Максималан број пресека дендрита и круга (N_{pd}) неурона треће старосне групе се значајно разликује од остале две (Табела 3), а ФД скелетонизоване слике ($(D_{skel})_n$) је високо или строго значајно различита. На крају, значајна разлика између прве и друге старосне групе постоји само у ФД скелетонизоване слике дендритске крошње неурона ($(D_{skel})_n$).

Табела 3. Средње вредности (SV) и стандардне грешке (SG) девет нормално дистрибуисаних параметара који квантификују величину, облик, дужину и сложеност дендритске крошње неурона. Постојање значајне разлике између група испитивано је једносмерном анализом варијансе, а разлике између група Бонеферони пост-хок тестом (*)

Параметар	Прва старосна група (92)	Друга старосна група (79)	Трећа старосна група (88)
Величина	$SV \pm SG$	$SV \pm SG$	$SV \pm SG$
S_{nt} (pix ²)	18455 ± 700	19134 ± 600	19129 ± 700
$(D_{bin})_{nt}$	1,776 ± 0,005	1,772 ± 0,005	1,774 ± 0,005
$(D_{bin})_{np}$	1,818 ± 0,005	1,823 ± 0,005	1,813 ± 0,005
Облик			
P_{np} (pix)	2168 ± 50	2253 ± 50	2167 ± 70
$(D_{out})_{np}$	1,068 ± 0,002	1,067 ± 0,002	1,068 ± 0,002
Дужина			
L_d (pix)	4667 ± 100***[3]	4532 ± 100***[3]	3733 ± 90
R_{pd} (pix)	460 ± 1*[3]	450 ± 1	433.7 ± 0.9
Сложеност			
N_{pd}	11,40 ± 0,02 *[3]	11,67 ± 0,03 *[3]	11,59 ± 0,02
$(D_{skel})_n$	1,163 ± 0,004 *[2], ***[3]	1,150 ± 0,005 **[3]	1,125 ± 0,005

* $p < 0,05$ статистичка значајност, ** $p < 0,01$ строга статистичка значајност и *** $p < 0,001$ висока статистичка значајност

Табела 4 приказује медијане и распоне вредности 13 параметара величине, облика, дендрита, дужине и сложености дендритске крошње неурона главног маслинастог једра, а чија се расподела разликује од нормалне дистрибуције. Утврђивање постојања значајне разлике између три старосне групе изведено је Крускал-Волисовим тестом. Ако је он указао на постојање значајности, свака комбинација два узорка испитана је Ман-Витнијевим (U) тестом.

Табела 4. Медијана (Med) и распон вредности ($Min-Max$) 13 параметара чија расподела не подлеже нормалној дистрибуцији, а који квантификују величину, облик, дендрите, дужину и сложеност дендритске крошње неурона. Постојање значајне разлике између старосних група испитивано је Крускал-Волисовим тестом, а комбинација два узорка испитана је Ман-Витнијевим (U) тестом (*)

Параметар	Прва старосна група (92)	Друга старосна група (79)	Трећа старосна група (88)
Величина неурона	$Med (Min-Max)$	$Med (Min-Max)$	$Med (Min-Max)$
S_{np} (pix ²)	350241 (85422-845963)	385329 (172349-798265)	350105 (81773-785769)
ρ_{np}	0,0501 (0,0144-0,1619)	0,0495 (0,0173-0,1149)	0,0567 (0,0115-0,1926)
Облик			
P_{nt} (pix)	468 (230-766)	478 (235-672)	479 (249-700)
R_{np}	0,215 (0,107-0,405)	0,217 (0,115-0,318)	0,214 (0,094-0,662)
M_{nt}	1,058 (0,801-1,272)	1,073 (0,703-1,221)	1,031 (0,128-1,207)
M_{np}	0,949 (0,673-1,245) *[3]	0,971 (0,632-1,293) *[3]	0,894 (0,366-1,176)
$(D_{out})_{nt}$	1,092 (1,054-1,184)	1,087 (1,051-1,194)	1,088 (1,045-1,167)
Дендрити и гранање			
N_d	6,0 (2-9)	6,0 (3-9)	6,0 (3-9)
N_{gd}	6,0 (1-15) [**2,3]	4,0 (1-14) [**3]	3,0 (1-9)
N_{td}	13,0 (7-23) [**3]	13,0 (6-23) [**3]	11,0 (5-19)
Дужина			
R_{gd} (pix)	330,7**[3] (138,9-554,5)	312,3*[3] (106,1-606,7)	300,0 (106,2-454,5)
R_{td} (pix)	834,6*[3] (550,5-1352,8)	817,5 (529,7-1235,4)	772,9 (491,3-1245,1)
Сложеност			
Λ	0,802 (0,472-1,127) [***3]	0,822 (0,556-1,093) [**3]	0,882 (0,544-1,241)

* $p < 0,05$ статистичка значајност, ** $p < 0,01$ строга статистичка значајност и *** $p < 0,001$ висока статистичка значајност

Анализа Табеле 4 показује да седам квантитативних параметара нису статистички различити између старосних група неурона. То су два параметра величине - површина тела неурона (S_{nt}) и густина пројекције неуронског поља (ρ_{np}), четири параметра облика, односно обим тела (P_{nt}), неправилност пројекције границе неуронског поља (R_{np}), циркуларност тела (M_{nt}) и ФД границе тела ($(D_{out})_{nt}$). Од параметара који

квантификују дендрите, број примарних дендрита (N_d) није статистички значајно различит између испитиваних старосних група.

Са друге стране, код шест квантитативних параметара уочена је статистички значајна разлика и то код неурона треће старосне групе (Табела 4). Наиме, трећа старосна група има најмању вредност пет параметара (циркуларност границе неуронског поља (M_{np}), максималан број гранања (N_{gd}), максималан број терминација (N_{td}), растојање максималног броја пресека дендрита и круга (R_{pd}) и растојање максималног броја терминација (R_{td}), а највећу вредност лакуарности (Λ). Статистички значајна разлика треће старосне групе у односу на прву и другу, постоји за циркуларност неуронског поља (M_{np}). За растојање максималног броја гранања (R_{gd}) постоји значајна разлика између друге и треће старосне групе, док је за растојање максималног броја терминација (R_{td}) уочена разлика само између прве и треће старосне групе (Табела 4). Строга значајна разлика између испитиваних старосних група постоји и код параметра максималног броја гранања (N_{gd}) и максималног броја терминација (N_{td}). Између прве и друге старосне групе уочена је строга разлика за растојање максималног броја гранања (R_{gd}), док је за лакуарност (Λ) уочена разлика између друге и треће старосне групе. Статистички значајна разлика између прве и друге старосне групе постоји само за максималан број гранања (N_{gd}) и то строга. На крају, висока значајна разлика постоји између прве и треће групе за лакуарност (Λ).

4.4. Квантитативна анализа глијалних ћелија главног маслинастог једра

4.4.1. Квантитативна анализа слика глијалних ћелија главног маслинастог једра

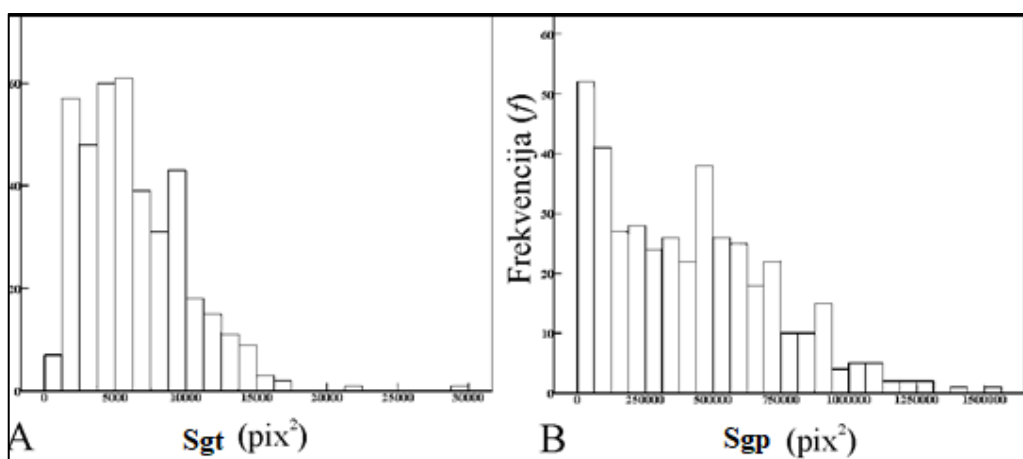
Квантитативна анализа слика глијалних ћелија главног маслинастог једра изведена је мерењем и израчунавањем 22 параметра који приказују следећих пет својстава слике: 1) величину глијалне ћелије, 2) облик глијалне ћелије, 3) глијалне наставке и гранање, 4) дужину глијалне ћелије и 5) сложеност глијалне крошње.

Морфологија глијалних ћелија испитивана је на узорку од 406 слика, подељених у три категорије: фиброзни астроцити (148 слика), олигодендроцити (112 слика) и протоплазматични астроцити (146 слика). С обзиром на то да су микроглијалне ћелије пронађене у малом броју (осам у првој и пет у другој старосној групи), параметри ових

ћелија су изузети из даље квантитативне анализе, и описане су само квалитативно (одељак 4.2.4).

4.4.2. Класификација глијалних ћелија главног маслинастог једра

Могућност класификације целог узорка глијалних ћелија испитивана је анализом хистограма два геометријска параметра који описују величину глијалне ћелије: површина тела (S_{gt}) и површина глијалног поља (S_{gp}). Хистограми (зависност фреквенције од параметра) ова два параметра приказани су на Слици 44. Анализа слике упућује на закључак да у оба случаја расподела параметара није бимодална. Такође се може очекивати да се са повећањем узорка уочени екстреми (на крајевима расподеле) могу „утопити“ у унимодалну расподелу. На основу овога, закључак овог истраживања је да се глијалне ћелије главног маслинастог једра не могу класификовати према геометријским параметрима величине тела (S_{gt}) и величине глијалног поља (S_{gp}).



Слика 44. Хистограми два геометријска параметра који квантификују величину глијалних ћелија главног маслинастог једра. А: површина тела (S_{gt}) и површина глијалног поља (S_{gp})

4.4.3. Испитивање разлике између старосних група

4.4.3.1. Фиброзни астроцити (ФА)

Табела 5 приказује анализу расподеле свих параметара груписаних у пет особина слика глијалних ћелија. Карактер расподеле утврђен је израчунавањем средње вредности (SV), медијане (Med), искошености (m_3) и ексцеса (m_4) сваког од 22 параметра слике ФА. Нормалност расподеле параметара утврђена је анализом p вредности Колмогоров-Смирнов теста. Из Табеле 5 се види да је за 14 параметара дистрибуција нормална, док за осам није. Због тога су у даљој анализи од осталих, издвојени нормално дистрибуисани параметри.

Табела 5. Анализа расподеле 22 параметра груписаних у пет особина глијалних ћелија (величина, облик, наставци, дужина и сложеност глијалне крошње) на узорку од 148 слика фибрознах астроцита. Сваки параметар приказан је средњом вредношћу (SV), медијаном (Med), искошеношћу (m_3), ексцесом (m_4) и p вредношћу Колмогоров-Смирнов теста

Параметар	SV	Med	m_3	m_4	p
Величина ФА					
S_{gt} (pix ²)	8692	8417	1,390	4,719	0,030
S_{gp} (pix ²)	571892	534956	0,816	1,054	0,200
ρ_{gp}	0,0173	0,0155	1,689	4,934	< 0,001
$(D_{bin})_{gt}$	1,728	1,722	0,174	0,066	0,200
$(D_{bin})_{gp}$	1,814	1,812	0,146	-0,386	0,200
Облик ФА					
P_{gt} (pix)	353	348	0,484	0,297	0,200
P_{gp} (pix)	2681	2736	-0,020	-0,048	0,200
R_{gp}	0,1353	0,1329	0,483	0,339	0,081
M_{gt}	0,861	0,850	-0,191	0,071	0,200
M_{gp}	0,954	0,951	-0,064	1,025	0,200
$(D_{out})_{gt}$	1,118	1,117	0,142	-0,736	0,015
$(D_{out})_{gp}$	1,063	1,059	0,371	-0,370	0,002
Наставци и гранање ФА					
N_{gn}	7,0	7,0	0,209	-0,312	< 0,001
N_{ggn}	2,6	2	2,148	7,205	< 0,001
N_{ign}	14,3	14,0	0,415	1,566	0,002
Дужина ФА					
L_{gn} (pix)	5604	5403	0,641	0,511	0,069
R_{pgn} (pix)	420,4	415,2	0,429	0,037	0,200
R_{ggn} (pix)	255,1	213,1	0,334	-0,080	< 0,001
R_{ign} (pix)	882,4	863,6	0,548	0,582	0,200
Сложеност ФА					
N_{pgn}	14,3	14,3	0,605	1,130	0,200
$(D_{skel})_g$	1,121	1,121	-0,352	-0,018	0,200
Λ	0,624	0,620	0,173	1,007	0,200

Нормална расподела параметра је ако је $p > 0,05$

Преглед Табеле 6 упућује на закључак да је трећа старосна група ФА значајно различита од прве и друге старосне групе по четири (од пет) особина слике. Када се посматра само величина ФА, статистички значајна разлика између прве и треће старосне групе примећена је код површине глијалног поља (S_{gp}), док је разлика између друге и треће групе уочена код ФД тела ФА ($(D_{bin})_{gt}$). Анализирајући облик ФА, висока статистичка значајност између треће и осталих старосних група констатована је за обим тела (P_{gt}) и циркуларност тела (M_{gt}). Иста значајност између треће и друге

старосне групе пронађена је у односу на неправилност пројекције границе глијалног поља (R_{gp}). Код истог параметра уочена је значајна разлика између прве и друге групе. Трећа старосна група се разликује од прве и друге у односу на растојање максималног броја пресека (R_{pgn}) и растојање максималног броја терминација (R_{tgn}). Висока статистичка значајност је између прве и треће групе, док је статистичка значајност примећена између друге и треће старосне групе. Између прве и друге групе значајна разлика је за растојање максималног броја пресека (R_{pgn}). Висока статистичка значајност је уочена за ФД скелетонизоване слике ФА ($(D_{skel})_g$) (трећа и прва), строга значајност за лакунарност (Λ) (трећа и друга), а значајност за максималан број пресека наставака ФА (N_{pgn}) (трећа и друга). На крају, висока значајност између прве и друге групе детектована је за ФД скелетонизоване слике крошње ФА ($(D_{skel})_g$) и за лакунарност (Λ).

Табела 6. Средње вредности (SV) и стандардне грешке (SG) 14 нормално дистрибуисаних параметара који квантификују величину, облик, дужину и сложеност глијалне кришње фиброзових астроцита (ФА). Постојање значајне разлике између група испитивано је једносмерном анализом варијансе, а разлике између група Бонеферони пост-хок тестом (*)

Параметар	Прва старосна група (48)	Друга старосна група (46)	Трећа старосна група (54)
Величина ФА	$SV \pm SG$	$SV \pm SG$	$SV \pm SG$
S_{gp} (pix ²)	654367 ± 30000 *[3]	541626 ± 40000	524362 ± 30000
$(D_{bin})_{gt}$	1,719 ± 0,008	1,71 ± 0,01 *[3]	1,747 ± 0,008
$(D_{bin})_{gp}$	1,816 ± 0,006	1,806 ± 0,007	1,820 ± 0,008
Облик ФА			
P_{gt} (pix)	377 ± 10 ****[3]	378 ± 10 ****[3]	311 ± 10
P_{gp} (pix)	2866 ± 70 *[3]	2611 ± 100	2577 ± 70
R_{gp}	0,133 ± 0,004 *[2]	0,151 ± 0,005 ****[3]	0,124 ± 0,004
M_{gt}	0,84 ± 0,02 ****[3]	0,78 ± 0,02 ****[3]	0,95 ± 0,02
M_{gp}	0,98 ± 0,02	0,93 ± 0,02	0,95 ± 0,02
Дужина ФА			
L_{gn} (pix)	5944 ± 200	5433 ± 300	5449 ± 300
R_{pgn} (pix)	462 ± 10 *[2], ****[3]	422 ± 10 *[3]	382 ± 10
R_{tgn} (pix)	961 ± 20 ****[3]	900 ± 40 *[3]	797 ± 20
Сложеност ФА			
N_{pgn}	14,2 ± 0,4	13,5 ± 0,5 *[3]	15,1 ± 0,5
$(D_{skel})_g$	1,167 ± 0,004 ****[2,3]	1,092 ± 0,006	1,103 ± 0,006
Λ	0,67 ± 0,01 ****[2],**[3]	0,59 ± 0,01	0,61 ± 0,01

* $p < 0,05$ статистичка значајност, ** $p < 0,01$ строга статистичка значајност и *** $p < 0,001$ висока статистичка значајност

Табела 7 показује да се параметри треће старосне групе, чија расподела одступа од нормалне, значајно разликују од остале две по величини и по наставцима глијалних ћелија. Наиме, трећа старосна група ФА се значајно разликује од осталих само по површини тела (S_{gt}), док према густини пројекције глијалног поља (ρ_{gp}) разлика постоји само између друге и треће старосне групе. За исти параметар (ρ_{gp}) уочена је значајна разлика и између прве и друге старосне групе. Што се тиче наставака ФА, трећа старосна група се строго разликује од прве по максималном броју гранања (N_{ggn}), а од друге по максималном броју терминација наставака (N_{tgn}).

Табела 7. Медијана (*Med*) и распон вредности (*Min-Max*) осам параметара чија расподела не подлеже нормалној дистрибуцији, а који квантификују величину, облик, наставке, дужину и сложеност глијалне крошње фиброзових астроцита (ФА). Постојање значајне разлике између старосних група испитивано је Крускал-Волисовим тестом, а комбинација два узорка испитана је Ман-Витнијевим (*U*) тестом (*)

Параметар	Прва старосна група (48)	Друга старосна група (46)	Трећа старосна група (54)
Величина ФА	<i>Med (Min-Max)</i>	<i>Med (Min-Max)</i>	<i>Med (Min-Max)</i>
S_{gt} (pix ²)	9539,5 (25729) *[3]	8926 (12975) *[3]	6533 (12180)
ρ_{gp}	0,0144 (0,0329) *[2]	0,0180 (0,0605) *[3]	0,0146 (0,0281)
Облик ФА			
$(D_{out})_{gt}$	1,106 (0,141)	1,118 (0,141)	1,127 (0,128)
$(D_{out})_{gp}$	1,057 (0,075)	1,058 (0,092)	1,065 (0,102)
Наставци и гранање ФА			
N_{gn}	7 (5)	7 (6)	7 (5)
N_{ggn}	3 (11) *[2], **[3]	2 (5)	2 (4)
N_{tgn}	14 (16)	14 (17) *[3]	15 (18)
Дужина ФА			
R_{ggn} (pix)	250,1 (381,5)	213,1 (306,4)	212,7 (319,7)

* $p < 0,05$ статистичка значајност, ** $p < 0,01$ строга статистичка значајност и *** $p < 0,001$ висока статистичка значајност

4.4.3.2. Олигодендроцити (О)

Анализу расподеле свих параметара груписаних у пет особина 112 слика О, приказује Табела 8. Резултати p вредности Колмогоров-Смирнов теста, показују да само шест параметара има нормалну расподелу. Конкретније, два параметра величине

(ФД тела O ($(D_{bin})_{gt}$) и ФД глијалног поља O ($(D_{bin})_{gp}$), три параметра облика (обим тела O (P_{gt}), неправилност пројекције границе глијалног поља O (R_{gp}) и ФД границе тела O ($(D_{out})_{gp}$) и један параметар сложености глијалне крошње O (ФД границе глијалног поља ($(D_{skel})_{gp}$)).

Табела 8. Анализа расподеле 22 параметра груписаних у пет особина глијалних ћелија (величина, облик, наставци, дужина и сложеност глијалне крошње) на узорку од 112 слика олигодендроцита (O). Сваки параметар приказан је средњом вредношћу (SV), медијаном (Med), искошеношћу (m_3), ексцесом (m_4) и p вредношћу Колмогоров-Смирнов теста

Параметар	SV	Med	m_3	m_4	p
Величина O					
S_{gt} (pix ²)	2607	2308,5	1,285	2,193	0,001
S_{gp} (pix ²)	92109	71012,5	3,480	16,837	< 0,001
ρ_{gp}	0,0381	0,0336	2,089	7,057	< 0,001
$(D_{bin})_{gt}$	1,641	1,635	0,014	-0,754	0,086
$(D_{bin})_{gp}$	1,771	1,777	-0,197	-0,129	0,200
Облик O					
P_{gt} (pix)	176	173	0,442	-0,436	0,200
P_{gp} (pix)	1062	980,5	1,477	2,635	< 0,001
R_{gp}	0,178	0,176	0,469	0,489	0,195
M_{gt}	1,001	1,018	-2,333	11,504	0,006
M_{gp}	0,921	0,915	-1,182	5,850	0,025
$(D_{out})_{gt}$	1,116	1,107	0,937	0,830	0,002
$(D_{out})_{gp}$	1,079	1,078	0,503	-0,089	0,200
Наставци и гранање O					
N_{gn}	4,3	4,0	0,168	-0,121	< 0,001
N_{ggn}	1,6	1,0	1,799	2,771	< 0,001
N_{tgn}	7,9	7,5	0,697	0,429	< 0,001
Дужина O					
L_{gn} (pix)	1538	1325	2,381	6,652	< 0,001
R_{pgn} (pix)	246,4	231,3	2,440	8,821	< 0,001
R_{ggn} (pix)	162,3	119,6	1,428	1,409	< 0,001
R_{tgn} (pix)	424,2	376,5	1,796	3,814	< 0,001
Сложеност O					
N_{pgn}	7,7	7,3	0,258	0,579	0,004
$(D_{skel})_g$	1,115	1,109	0,042	-0,435	0,070
Λ	0,444	0,432	2,089	8,128	< 0,001

Нормална расподела параметра је ако је $p > 0,05$

Анализа Табеле 9 показује постојање разлике између група у односу на облик и сложеност глијалне крошње. По параметру обима тела О (P_{gt}) уочена је разлика између прве и треће старосне групе, док према неправилности пројекције границе глијалног поља (R_{gp}) разлика се уочава између прве и друге старосне групе. Посматрајући сложеност глијалне крошње О постоји значајна разлика између прве групе у односу на другу и трећу и то према ФД скелетонизоване слике глијалне крошње О ($(D_{skel})_g$).

Табела 9. Средње вредности (SV) и стандардне грешке (SG) шест нормално дистрибуисаних параметара који квантификују величину, облик и сложеност глијалне крошње олигодендроцита (О). Постојање значајне разлике између старосних група испитивано је једносмерном анализом варијансе, а разлике између група Бонеферони пост-хок тестом (*)

Параметар	Прва старосна група (25)	Друга старосна група (50)	Трећа старосна група (37)
Величина О	$SV \pm SG$	$SV \pm SG$	$SV \pm SG$
$(D_{bin})_{gt}$	1,66 ± 0,01	1,64 ± 0,01	1,63 ± 0,01
$(D_{bin})_{gp}$	1,77 ± 0,01	1,770 ± 0,007	1,776 ± 0,008
Облик О			
P_{gt} (pix)	192 ± 6 *[3]	177 ± 7	165 ± 5
R_{gp}	0,20 ± 0,01 *[2]	0,168 ± 0,006	0,178 ± 0,009
$(D_{out})_{gp}$	1,081 ± 0,005	1,078 ± 0,003	1,079 ± 0,004
Сложеност О			
$(D_{skel})_g$	1,097 ± 0,006 *[2,3]	1,122 ± 0,005	1,118 ± 0,005

* $p < 0,05$ статистичка значајност, ** $p < 0,01$ строга статистичка значајност и *** $p < 0,001$ висока статистичка значајност

Анализа Табеле 10 показује да се трећа старосна група разликује од прве по површини тела О (S_{gt}), а прва од друге по густини пројекције глијалног поља (ρ_{gp}). Постоји строга статистичка значајност између друге и треће старосне групе у односу на ФД границе тела О ($(D_{out})_{gt}$). Наставци О прве и друге групе се строго значајно разликују по параметру максималног броја терминација (N_{tgn}). Између друге и треће групе постоји разлика у дужини свих наставака О (L_{gn}), растојању максималног броја пресека (R_{pgn}) и гранања (R_{ggn}). Строга значајност констатована је између треће и осталих група по растојању максималног броја терминација наставака О (R_{tgn}).

Разлика између треће групе О и остале две примећена је код два параметра дужине О (растојање максималног броја гранања (R_{ggn}) и терминација (R_{tgn})). Између прве и треће старосне групе уочена је разлика у величини тела (S_{gt}), обиму тела (P_{gt}), сложености глијалне крошње О ($(D_{skel})_g$) и лакуарности (Λ). Разлика између друге и

треће групе примећена је у ФД границе тела O ($D_{out,gt}$), дужини наставка (L_{gn}) и растојању максималног броја пресека (R_{pgn}). На крају, разлика између прве и друге групе O постоји у густини пројекције глијалног поља (ρ_{gp}), неправилности пројекције границе глијалног поља (R_{gp}) и максималном броју терминација (N_{tgn}).

Табела 10. Медијана (*Med*) и распон вредности (*Min-Max*) 16 параметара чија расподела не подлеже нормалној дистрибуцији, а који квантификују величину, облик, наставка, дужину и сложеност глијалне крошње олигодендроцита (O). Постојање значајне разлике између старосних група испитивано је Крускал-Волисовим тестом, а комбинација два узорка испитана је Ман-Витнијевим (U) тестом (*)

Параметар	Прва старосна група (25)	Друга старосна група (50)	Трећа старосна група (37)
Величина O	<i>Med (Min-Max)</i>	<i>Med (Min-Max)</i>	<i>Med (Min-Max)</i>
S_{gt} (pix ²)	2900 (4149) *[3]	2006.5 (6793)	2300 (2657)
S_{gp} (pix ²)	79167 (164795)	63619 (363217)	64775 (604576)
ρ_{gp}	0,0426 (0,1449) *[2]	0,0287 (0,0872)	0,0334 (0,0924)
Облик O			
P_{gp} (pix)	1095 (1099)	983 (1672)	932 (2001)
M_{gt}	0,970 (0,551)	1,012 (1,226)	1,067 (0,536)
M_{gp}	0,878 (0,775)	0,933 (1,120)	0,949 (0,636)
$(D_{out})_{gt}$	1,104 (0,111)	1,103 (0,119) **[3]	1,122 (0,182)
Наставци и гранање O			
N_{gn}	4 (4)	4 (5)	4 (5)
N_{ggn}	1 (3)	1 (4)	1 (4)
N_{tgn}	7 (5) **[2]	8 (8)	8 (9)
Дужина O			
L_{gn} (pix)	1375 (1226)	1476 (4987) *[3]	1209 (3468)
R_{pgn} (pix)	229,3 (175,7)	246,1 (331,3) *[3]	220,2 (436,3)
R_{ggn} (pix)	117,2 (159,4) *[3]	173,7 (244,5) *[3]	117,2 (242,0)
R_{tgn} (pix)	394,2 (319,3) **[3]	404,8 (834,3) **[3]	360,1 (825,8)
Сложеност O			
N_{pgn}	7,2 (5,0)	7,9 (9,6)	7,3 (10,9)
Λ	0,468 (0,170) **[3]	0,428 (0,493)	0,421 (0,209)

* $p < 0,05$ статистичка значајност, ** $p < 0,01$ строга статистичка значајност и *** $p < 0,001$ висока статистичка значајност

4.4.3.3. Протоплазматични астроцити (ППА)

Табела 11 приказује анализу расподеле свих параметара груписаних у пет особина 146 слика ППА. Анализа p вредности показује да 10 параметара има нормалну

расподелу. Конкретније, два параметра величине, односно ФД тела $((D_{bin})_{gt})$ и ФД глијалног поља $((D_{bin})_{gp})$, четири параметра облика (обим глијалног поља (P_{gp}) , циркуларност глијалног поља (M_{gp}) , ФД границе тела $((D_{out})_{gt})$ и ФД глијалног поља $((D_{out})_{gp})$, а један од параметара сложености глијалне крошње ППА (ФД скелетонизоване слике $((D_{skel})_g)$). Дистрибуција осталих параметара је различита од нормалне.

Табела 11. Анализа расподеле 22 параметра груписаних у пет особина глијалних ћелија (величина, облик, наставци, дужина и сложеност глијалне крошње) на узорку од 146 слика протоплазматичних астроцита (ППА). Сваки параметар приказан је средњом вредношћу (SV), медијаном (Med), искошеношћу (m_3), ексцесом (m_4) и p вредношћу Колмогоров-Смирнов теста

Параметар	SV	Med	m_3	m_4	p
Величина ППА					
S_{gt} (pix ²)	6725,8	6200,5	0,929	0,685	< 0,001
S_{gp} (pix ²)	5083212	447428	0,778	0,057	< 0,001
ρ_{gp}	0,0160	0,0140	2,895	14,599	< 0,001
$(D_{bin})_{gt}$	1,741	1,742	-0,015	-0,121	0,200
$(D_{bin})_{gp}$	1,820	1,815	0,327	0,127	0,200
Облик ППА					
P_{gt} (pix)	303	289	1,059	1,976	0,015
P_{gp} (pix)	2463,3	2463,5	0,092	-0,642	0,200
R_{gp}	0,129	0,126	1,143	2,002	< 0,001
M_{gt}	0,930	0,951	-0,784	0,236	0,002
M_{gp}	0,988	0,991	0,069	-0,420	0,200
$(D_{out})_{gt}$	1,121	1,121	0,220	-0,475	0,200
$(D_{out})_{gp}$	1,063	1,061	0,488	-0,147	0,082
Наставци и гранање ППА					
N_{gn}	6,9	7,0	0,074	0,004	< 0,001
N_{ggn}	2,5	2,0	1,194	1,052	< 0,001
N_{tgn}	14,2	14,0	0,741	1,776	< 0,001
Дужина ППА					
L_{gn} (pix)	5200	5152	0,685	0,745	0,058
R_{pgn} (pix)	405,9	410,1	0,275	-0,441	0,200
R_{ggn} (pix)	266,8	213,2	0,496	-0,706	< 0,001
R_{tgn} (pix)	826,0	822,0	0,189	-0,422	0,200
Сложеност ППА					
N_{pgn}	14,2	14,1	0,610	1,061	< 0,001
$(D_{skel})_g$	1,177	1,177	-0,230	-0,105	0,200
Λ	0,586	0,592	-0,812	1,331	0,005

Нормална расподела параметра је ако је $p > 0,05$

Анализа Табеле 12 показује постојање значајне разлике између свих старосних група. Висока статистичка разлика примећена је између прве и осталих старосних група за растојање максималног броја терминација (R_{tgn}), иста разлика прве и друге групе за неправилност пројекције границе глијалног поља (P_{gp}) и растојање максималног броја пресека (R_{pgn}). Строга статистичка разлика уочена је између прве и остале две старосне групе за дужину свих наставака ППА (L_{gn}), између прве и друге за ФД границе тела ППА ($(D_{out})_{gt}$), а између друге и треће групе за растојање максималног броја пресека и терминација (R_{pgn} и R_{tgn}). На крају, статистичка значајност запажена је између прве и треће групе за ФД границе тела ППА ($(D_{out})_g$), а између друге и треће старосне групе за обим глијалног поља (P_{gp}).

Табела 12. Средње вредности (SV) и стандардне грешке (SG) 10 нормално дистрибуисаних параметара који квантификују величину, облик, дужину и сложеност глијалне крошње протоплазматичних астроцита (ППА). Постојање значајне разлике између група испитивано је једносмерном анализом варијансе, а разлике између група Бонеферони пост-хок тестом (*)

Параметар	Прва старосна група (48)	Друга старосна група (47)	Трећа старосна група (51)
Величина ППА	$SV \pm SG$	$SV \pm SG$	$SV \pm SG$
$(D_{bin})_{gt}$	$1,74 \pm 0,01$	$1,733 \pm 0,008$	$1,754 \pm 0,009$
$(D_{bin})_{gp}$	$1,825 \pm 0,006$	$1,815 \pm 0,006$	$1,820 \pm 0,006$
Облик ППА			
P_{gp} (pix)	2711 ± 80 ***[2]	2160 ± 90 *[3]	2509 ± 100
M_{gp}	$0,99 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,02$	$0,98 \pm 0,02$
$(D_{out})_{gt}$	$1,134 \pm 0,005$ **[2],[3]	$1,113 \pm 0,004$	$1,112 \pm 0,004$
$(D_{out})_{gp}$	$1,063 \pm 0,003$	$1,064 \pm 0,003$	$1,063 \pm 0,003$
Дужина ППА			
L_{gn} (pix)	6035 ± 200 **[2,3]	4552 ± 200	5011 ± 200
R_{pgn} (pix)	444 ± 10 ***[2]	362 ± 9 **[3]	410 ± 10
R_{tgn} (pix)	938 ± 20 ***[2,3]	717 ± 30 **[3]	821 ± 30
Сложеност ППА			
$(D_{skel})_g$	$1,177 \pm 0,004$	$1,181 \pm 0,005$	$1,172 \pm 0,004$

* $p < 0,05$ статистичка значајност, ** $p < 0,01$ строга статистичка значајност и *** $p < 0,001$ висока статистичка значајност

Анализом Табеле 13 примећује се разлика између свих старосних група у морфологији ППА. Између треће и прве, као и треће и друге старосне групе постоји разлика у површини тела ППА (S_{gt}) и то висока, статистичка значајност у разликама између прве и друге старосне групе и статистичка значајност између прве и треће старосне групе. Такође, уочава се висока статистичка разлика и у вредностима обима тела (P_{gt}) и циркуларности тела (M_{gt}), као и у односу на максималан број гранања наставака ППА (N_{ggn}) (статистичка значајност). Висока статистички значајна разлика између прве и друге старосне групе констатована је за површину глијалног поља ППА (S_{gp}), број примарних наставака (N_{gn}), као и строга статистичка разлика у лакуарности (Λ). Између прве и треће старосне групе примећена је статистички значајна разлика за циркуларност тела ППА (M_{gt}). На крају, постојање разлике између друге и треће старосне групе констатовано је за површину тела (S_{gt}), површину глијалног поља (S_{gp}), обим тела (P_{gt}) и за лакуарност (Λ).

Коначна анализа Табела 12 и 13 показује постојање разлике између три старосне групе ППА. Према величини ћелије, разлика је примећена у два (од пет параметара), тако да је доминантна разлика између прве и друге групе (S_{gt} и S_{gp}). Посматрајући облик ћелије, разлика постоји у пет (од тестираних седам параметара), с тим да се прва старосна група разликује у четири параметра (P_{gt} , N_{ggn} , M_{gt} и $(D_{out})_{gt}$), од осталих група. Према дендритима, разлика постоји у два параметра, а обе старосне групе се разликују од прве само по максималном броју пресека наставака ППА са кругом (N_{pgn}). Дужина ППА различита је у свим параметрима, а разлика у поређењу прве са другом и трећом старосном групом, констатована је код дужине свих наставака ППА (L_{gn}) и растојања максималног броја терминација наставака (R_{tgn}). На крају, разлика у сложености глијалне крошње ППА постоји само између прве и друге старосне групе, за параметар лакуарности (Λ).

Табела 13. Медијана (*Med*) и распон вредности (*Min-Max*) 12 параметара чија расподела не подлеже нормалној дистрибуцији, а који квантификују величину, облик, наставке, дужину и сложеност глијалне крошње протоплазматичних астроцита (ППА). Постојање значајне разлике између старосних група испитивано је Крускал-Волисовим тестом, а комбинација два узорка испитана је Ман-Витнијевим (*U*) тестом (*)

Параметар	Прва старосна група (48)	Друга старосна група (47)	Трећа старосна група (51)
Величина ППА	<i>Med (Min-Max)</i>	<i>Med (Min-Max)</i>	<i>Med (Min-Max)</i>
S_{gt} (pix ²)	7946,5 (11303) ***[2], *[3]	4961 (11135) **[3]	6165 (13726)
S_{gp} (pix ²)	563450 (1077100) ***[2]	320814 (813229) **[3]	447380 (1173236)
ρ_{gp}	0,0136 (0,0268)	0,0159 (0,0251)	0,0132 (0,0679)
Облик ППА			
P_{gt} (pix)	354 (356) ***[2,3]	249 (278) **[3]	282 (239)
R_{gp}	0,134 (0,139) *[3]	0,126 (0,125)	0,115 (0,202)
M_{gt}	0,781 (0,733) ***[2,3]	1,042 (0,487)	1,006 (0,615)
Наставци и гранање ППА			
N_{gn}	7 (6) *[2]	7 (5)	7 (6)
N_{ggn}	2,5 (6) *[2,3]	2,0 (6)	2,0 (6)
N_{ign}	14 (15)	14 (10)	14 (13)
Дужина ППА			
R_{ggn} (pix)	299,6 (345,1) *[2]	212,7 (202)	213,1 (332,7)
Сложеност глијалне крошње ППА			
N_{pgn}	14,1 (14,5)	14 (9,6)	13,9 (11,7)
Λ	0,613 (0,222) **[2]	0,566 (0,332) *[3]	0,589 (0,286)

* $p < 0,05$ статистичка значајност, ** $p < 0,01$ строга статистичка значајност и *** $p < 0,001$ висока статистичка значајност

5. ДИСКУСИЈА

5.1. Квалитативна анализа неурона главног маслинастог једра човека

Неуроанатомске морфолошке студије базирају се, пре свега, на испитивању квалитативних особености неурона, као специфичних ћелија у људском организму. Опште је прихваћено да је детаљан опис структуре неурона основа за формирање класификација нервних ћелија, а затим и за даља неурофизиолошка испитивања. Централни нервни систем је грађен од мноштва различитих нервних ћелија, чије анатомске карактеристике диктирају њихову поделу на одговарајуће класе и типове. Неизоставно је овде напоменути да се одувек сматрало да функција неурона зависи од његових морфолошких карактеристика. У том смислу, оправдано би се могло поставити питање да ли је заправо грађа неурона детерминисана одговором неурона на пријем улазних сигнала?

У току интраутериног развоја смењују се прогресивне и регресивне промене, доводећи постепено до коначне морфолошке матурације неурона. Зрели неурони имају способност успостављања адекватних синаптичких веза и заузимају свој дефинитиван положај унутар циљане моздане структуре. На почетку развоја долази најпре до ремоделовања структуре неурона, регресивних промена дендритске крошње и смањења броја синапси (289). Касније фазе резултирају повећањем комплексности дендритске разгранатости и успостављањем дефинитивне структуралне и функционалне сложености неурона. Студије новијег датума су показале да је ћелијска композиција људског мозга веома комплексна и да се разликује у различитим регионима ЦНС-а (290-292). Истраживања морфолошких алтерација неурона током процеса старења фокусиране су пре свега на дендрите, с обзиром на то да они представљају примарну карику у процесуирању неуронских импулса.

Један од највећих, а може се рећи и најзначајнијих методолошких проблема које прате технике анализе неурона на хистолошким препаратима, јесте разликовање глијалних ћелија од малих неурона. Показало се да је хистолошко бојење употребом *NeuN (neuronal nuclei)* антитела, као маркера за праћење сазревања неурона и њиховог развоја и диференцијације, некомплетно и варијабилно (293). Диференцијација глијалних ћелија у односу на мале неуроне је посебно тешка у грануларном слоју малог мозга (293,294). Морфолошки критеријуми за разликовање глијалних ћелија од ћелија главног маслинастог једра су да ћелије у главном маслинастом једру имају једро са

већим појединачним нуклеолусом, без хетерохроматина и округлог је облика, са видљивом цитоплазмом (295). Олигодендроцити имају мање, округло или овално једро са густим хроматином и обично се налазе у близини неурона. Астроцити се визуализују као ћелије са великим, светлије обојеним и ређим хетерохроматином, без јасно дефинисаног нуклеолуса и са расејаним гранулама које се налазе на ивици ћелијске мембране. Микроглијалне ћелије имају мало издужено једро са згуснутим хроматином периферно.

Узимајући у обзир **изглед тела и дендритског поља**, у популацији неурона главног маслинастог једра, коришћених у овом истраживању, уочавају се две групе неурона: мали и велики неурони. Мали неурони се карактеришу малим ћелијским телом и малим дендритским пољем. За разлику од малих, великим неуронима су својствене особине великог тела, као и великог дендритског поља. Чињеница да је ова подела базирана на посматрању поменутих карактеристика неурона на хоризонталном микроскопском резу, упућује на потребу квантитативног потврђивања поменуте поделе, израчунавањем одговарајућих геометријских параметара. Могло би се претпоставити да велики неурони главног маслинастог једра припадају пројекционим неуронима, односно дугоаксонским неуронима који примају сигнале, интегришу их и емитују на удаљене нервне формације. Ово се може поткрепити и податком који говори да је комплекс маслинастих једара боље развијен код сисара са добрим моторичким способностима, а да су им неурони велики и мултиполарни (296). Мали неурони главног маслинастог једра би могли бити представници интернеурона, којих у главном маслинастом једру има око 10%, а мањег су дијаметра у односу на велике неуроне и једноставније су грађе. Интернеурони повезују спољашње са унутрашњим граничним неуронима, централне са граничним неуронима или међусобно неуроне истог тополошког распореда. Они граде бројне синаптичке контакте са дендритима, телима или аксонима оближњих неурона. Интернеурони су нервне ћелије које образују хистолошки и физиолошки матрикс и омогућавају комплексно функционисање нервних формација и центара. Садејство малих интернеурона са великим неуронима битно је због успостављања квалитетне локалне неуронске мреже која омогућава процесе учења, подсећања, груписања и упоређивања нових података са постојећим знањем. Претпостављамо да је њихова активност, да делују у оквиру локалних неуронских кругова унутар једра, условила и њихов морфолошки изглед. Интернеурони главног маслинастог једра смештени су између великих, мултиполарних неурона. Однос пројекционих неурона наспрам интернеурона износи 3:1 код примата

(297). Еволутивни развој главног маслинастог једра у корелацији је са формирањем и матурацијом једара малог мозга. С тим у вези, опис малих и великих неурона у овом истраживању у сагласности је са резултатима морфолошких студија на зупачастом једру човека (279,298).

Када се посматра **изглед дендритске крошње**, ова студија је проценила да постоје мултиполарни и асиметрични неурони. Мултиполарни неурони имају сферичан облик дендритске крошње, док је код асиметричних неурона крошња усмерена ка унутрашњости једра, односно, полази само са једног пола тела неурона. Слични резултати добијени су у студији *Rao* и сар. (2013) који наводе да у току феталног развоја, као и после рођења човека, доминирају мултиполарни неурони са округлим или овалним телом и сферичним дендритским пољем (14). Сматра се да је дендритска арборизација неурона главног маслинастог једра човека једна од најкомплекснијих у људском организму (21).

Према **правцу пружања дендрита**, бројне спроведене морфолошке студије класификовале су неуроне у три типа. Први тип су неурони који су најпре откривени у каудалним деловима помоћних маслинастих једара (медијалном и дорзалном) код пацова, свиње, веверице, мачке и мајмуна (62,299,300). Код овог типа неурона, дендрити се пружају у радијалном правцу у односу на тело неурона. Неколико година касније, присуство ових неурона установљено је и на хуманим узорцима маслинастих једара (14,71). Радијални тип гранања дендрита неурона маслинастих једара уочен је такође и код кокошака и голубова (301). Неурони са дендритима који се пружају кружно око тела ћелије и таласасто се враћају ка њему, припадају типу два. Овакав вид пружања дендрита је ретка и неуобичајена појава у неуроанатомији. Поменути неурони су преобладајуће присутни унутар главног маслинастог једра, а у мањем броју се могу детектовати у ростралном делу медијалног помоћног маслинастог једра. Неурони типа два су филогенетски старији у односу на тип један неуроне (62). Група неурона који су постављени уз границу главног маслинастог једра припадају типу три. Њихови дендрити су усмерени ка центру једра, а део тела који је окренут ка граници једра је лишен присуства дендрита (12). Ова подела неурона је слична уоченим карактеристикама неурона и у нашој студији, односно мултиполарним неуронима са радијалним и кружним правцем пружања дендрита. Обимно истраживање неурона маслинастих једара код различитих животиња и мале деце, од стране Пастирове показује да постоји и трећи тип неурона, који су асиметрични, а чији дендрити полазе са једног краја тела неурона (63). Тип три неурона, према Пастировој, одговара

асиметричним неуронима у нашем истраживању. Према топографији унутар једра ови неурони су распоређени у граничним деловима, дуж унутрашње и спољашње границе главног маслинастог једра. У прилог овоме говоре и резултати најновије студије *Nore Vrieler* и сар. (2019) који истичу да су неурони једара доњег маслинастог комплекса изузетно морфолошки хетерогени, и да је дендритска крошња усмерена циљано, директно ка извору информација (302).

Присуство спина је уочено на наставцима појединих неурона главног маслинастог једра одраслог човека. Спине су уочене на мултиполарним неуронима, као и на неуронима који су организовани у парове. Према Пастировој, већина дендрита неурона маслинастих једара је глатке структуре, са местимично присутним спинама (12). *Braak* и *Braak* (1983) описују велике жбунасте неуроне зупчастог једра човека који се карактеришу великом густином спина различитог облика и величине (303). Спинозни наставци су такође детектовани и описани на неуронима репатог једра и путамена човека, а њихова густина густина је различита (304). У случају зупчастог једра код мајмуна, дендрити малих неурона су глатки, док велики неурони поседују јасно уочљиве спине које су видљиве на електронском микроскопу (305). У овом истраживању, спинозни наставци на дендритима неурона са малим телом и малим дендритским пољем детектовани су, местимично, само на неким дендритима. Варијације у присуству спина на неуронима главног маслинастог једра човека можда могу да се повежу са променама које се дешавају у току фиксације препарата после смрти, случајном реакцијом на сребро нитрат (297) или природну еволутивну адаптацију неурона. *Leal* и сар. (1998) напомињу да старење узрокује регресивне промене трновитих продужетака дендрита, као и промене у изгледу дендритске арборизације (306). Спине на дендритима неурона главног маслинастог једра локализоване су на секундарним и терцијарним дендритима (307), као што је уочено и на неуронима у нашој студији. Ово би се такође могло објаснити и техником уз помоћ које вршена визуализација ћелија у нашој студији, односно, употребом светлосног а не електронског микроскопа. Електронском микроскопијом су спине на дендритима неурона главног маслинастог комплекса виђене као комплексни, дугачки и танки наставци. Трнасти наставци су карактеристични по великом степену покретљивости и особинама пластичности, а претпоставља се да имају улогу у процесима учења. Различит обим у визуализацији спина на дендритима главног маслинастог једра у нашој, и сродним студијама, могао би се делимично разјаснити непоузданошћу коришћене Голци технике, или је то ипак последица касније фиксације узорака након

смрти. Такође, изглед дендрита и густина спина подложније су варијацијама код човека, у односу на остале врсте, што постаје израженије у старијој животној доби (297). На крају, мали број бодљи на дендритима неурона главног маслинастог једра човека налази се и у чињеници да је део узорака нервног ткива, анализиран у овој студији, потиче од особа старије животне доби (рани и касни период старења).

Студије новијег датума су показале да поједини региони мозга нису организовани само кроз стубове и слојеве, већ и преко синаптички повезаних неурона у мање или веће групације, парове и кластере (308,309). **Парови неурона** су уочени у овом истраживању, а њихова карактеристика је да припадају мултиполарним неуронима, као и да су им дендрити покривени спинама. Електрофизиолошка испитивања су доказала да су неурони главног маслинастог комплекса међусобно повезани преко спинозних наставака њихових дендрита. На тај начин се формира специфичан образац конекције са изгледом гломерула, који је додатно заштићен глијалним ћелијама које му формирају „покривач“. *Mathy* (2012) је у свом истраживању морфолошки и биохемијски анализирао 72 пара неурона главног маслинастог једра пацова и објавио да оба неурона у пару имају карактеристике мултиполарних неурона са дендритима који се вијугаво крећу око тела неурона (71).

Многи биолошки системи се састоје се од ћелија које показују одређени степен комплексности и разгранатости, те широк спектар облика. Да би се разумело како неурон интегрише разноврсне улазне сигнале и креира најсврхисходнији одговор, неопходно је опсежно познавање његове морфологије и геометрије, али и положаја унутар испитиваног једра. Сматра се да се дендритска крошња може проширити и континуирано прилагођавати своју величину у складу са циљном територијом са којом је функционално повезана. Резултати квалитативне анализе **топологије неурона** главног маслинастог једра, показали су да неурони могу да буду смештени уз границу једра (спољашњи и унутрашњи гранични неурони) и у његовим централним деловима (централни неурони). У овом истраживању гранични неурони главног маслинастог једра имају асиметричну форму услед аксона који полази са једне стране и дендрита који полазе са друге стране ћелијског тела. Велики гранични неурони мајмуна по својој морфологији, у зависности од тога да ли се налазе уз спољашњу или унутрашњу границу једра, одговарају спољашњим односно унутрашњим граничним неуронима главног маслинастог једра одраслог човека (305). Резултати истраживања положаја неурона унутар зупчастог једра малог мозга, такође указују на постојање граничних неурона (279). Неурони попримају „зрелу“ форму и коначан морфолошки образац тек

након много фаза ремоделовања и селекције. Такође, дендритска крошња се грана да би обухватила улазне информације. Дакле, може се претпоставити да су гранични неурони развили „једностран“ образац гранања дендритске крошње као одговор на количину улазних, односно излазних информација. Оваква организација дендритске крошње неурона главног маслинастог једра последица је њихове усмерености према извору информационих система.

5.2. Квантитативна анализа неурона главног маслинастог једра

Сматра се, генерално, да морфологија ћелија диктира њене функционалне особености, међутим и даље је потребно усавршавати квантитативне технике анализе како би се још прецизније детерминисале морфофункционалне карактеристике неурона. Анатомска и функционална организација људског мозга је динамичан систем и мења се као одговор на различите стимулусе који могу да делују на организам.

5.2.1. Класификација неурона главног маслинастог једра

Досадашње студије које су се бавиле испитивањем неурона једара маслинастог комплекса користиле су углавном величину попречног пресека тела као критеријум за категоризацију величине неурона код животиња. *Scheibel* и *Scheibel* (1955) су описали мале неуроне маслинастог комплекса, промера тела од 7 до 10 μm код животиња (62). Више аутора је установило да су код сисара најбројнији неурони са средњим промером тела, од 20 до 25 μm (63,178). *De Zeeuw* и сар. (1998) су показали да је популација неурона главног маслинастог једра врло хомогена (310). Поред мањих неурона који су слабо заступљени (0,1%), пронашли су два типа неурона (који се разликују према изгледу дендритске крошње), од којих је најзаступљенији тип имао пречник тела од 15 до 30 μm . *Bozhilova-Pastirova* (1990) је утврдила да је на хуманим неуронима једара маслинастог комплекса мале деце, однос малих и великих неурона 0,4:1 што говори у прилог униформности величине ових неурона (63). Супротно томе, према резултатима ове студије, однос малих (37) и великих (222) неурона износио је 0,2:1. Овде је важно напоменути да су узорци истраживања *Bozhilova*-е *Pastirova*-е спроведени на мозговима мале деце, узраста 14 месеци, у фази раста и сазревања ЦНС-а, када још увек није успостављена коначна моделација неурона, нити њихова организација. Највероватнија разлика у резултатима свих ових

студија јесте та што не постоји јединствен систем класификације тела неурона према величини попречног пресека. Различити аутори имају различите мерне скале за поделу неурона на мале, средње или велике. С обзиром на то да сазнања на животињама и новорођенчади указују на постојање малих и великих неурона главног маслинастог једра, претпостављено је да ће таква заступљеност бити и код одраслих. Резултати анализе слика неурона главног маслинастог једра одраслог човека у овој студији јасно показују да претходна квалитативна класификација, изведена према ученој разлици у њиховој морфологији, нема квантитативну потпору. Наиме, на основу резултата представљених на Слици 43 може се закључити да расподела параметара површине тела (S_{nt}) није бимодална, те је квалитативна анализа неурона главног маслинастог једра човека показала да се они не могу класификовати према геометријском параметру површине тела (S_{nt}). Узимајући у обзир само величину тела, у популацији неурона главног маслинастог једра одраслог човека, коришћених у овој студији, јасно се уочава само један тип неурона. На основу овога може се закључити да су неурони главног маслинастог једра униформни по величини у свим старосним групама.

Разноврсне методе импрегнације неурона главног маслинастог једра довеле су до различитих скупова података. Различите припреме узорак метода које користе вирусно обележене ћелије често резултирају у геометријским недоследностима због смањења ткива и/или деформације у току експеримента. Насупрот томе, новије методе реконструкције неурона, бојених биоцитином или флуоросцентним маркером (*Alexa fluor*) због непотпуне пенетрације боје могу да оставе делове дендрита невидљивим, те се тако често потцени пун опсег дендритске арборизације. Метода која се највише користила кроз историју проучавања облика и изгледа неурона јесте импрегнација нервног ткива сребро-нитратом по Голцију. Иако ова метода импрегнише мањи број ћелија, карактерише је пребојеност комплетног тела неурона, готово свих дендритских грана, аксонског брежуљка и иницијалног сегмента аксона.

С обзиром на то да су у узорку ове студије најзаступљенији мултиполарни неурони са сферним дендритским пољем, за очекивати је било да ће ови резултати одговарати квантитативним резултатима површине неуронског поља. На основу резултата представљених на Слици 43 може се закључити да расподела параметара површине неуронског поља (S_{np}) није бимодална, те резултати статистичке анализе неурона показују да између њих не постоји јасна разлика у површини неуронског поља (S_{np}). На основу овога може се закључити да су неурони главног маслинастог једра униформни по величини неуронског поља унутар старосних група.

5.2.2. Квантитативне разлике неурона између старосних група

Неколико студија је испитивало морфолошке промене неурона главног маслинастог једра током процеса старења. Међутим, све су биле базиране на израчунавању промене броја неурона, а не на сам изглед неурона. Показало се, такође, да нису сви делови ЦНС-а једнако осетљиви на морфофункционалне промене које прате старење. Филогенетски млађи делови мозга, као што су церебрални и церебеларни кортекс, морфолошки ће бити више измењени у односу на филогенетски старије супкортикалне структуре (311).

Нумеричка промена неурона главног маслинастог једра током старења још увек је дискутабилна. Наиме, поједине студије су доказале да у току старења долази до смањења броја неурона једара доњег маслинастог комплекса (312), док су друге студије објавиле да њихов број остаје непромењен (22,206). Важно је имати на уму да је изузетно тешко испитивати број неурона током старења због постојања високог степена индивидуалних варијација. Практично је немогуће пратити један исти узорак неурона човека током старења и због тога истраживачи спроводе испитивања нервног система на животињским врстама (пацови, зечеви, мачке, пси, мајмуни). Савременије методе бројања неурона базирају се на прецизнијим прорачунима нервних и глијалних ћелија, али захтевају анализу комплетне структуре, а не само исечака. Оптичким фракционатором, базираном на 3D анализи слике могуће је најпрецизније израчунати укупан број ћелија у целокупном испитиваном узорку. Описан је и појам ретроградног губитка неурона главног маслинастог једра. Наиме, након одстрањивања малог мозга код експерименталних мишева, или након излагања алкохолним агенсима, као циљног пријемника за аферентне импулсе из главног маслинастог једра, долази до ретроградног пропадања неурона (313,314).

Број неурона главног маслинастог једра је по *Moatamed*-у (1966) око 430650 на једностраној оливи (22), а мањи број на оливама фетуса и новорођенчади (317784) (315). *Lasn* (2001) је израчунала да укупан број олигодендроцита и астроцита у једностраном главном маслинастом једру износи од 5 до 10 милиона, а број неурона је апроксимативно 800 000 (65). *Lasn* (2006) је такође показала да нема губитка неурона на мозговима људи различите старосне доби (од 17 до 95 година), док је забележен значајан пад броја неурона главног маслинастог једра код пацијената са Алцхајмеровом болешћу (34%) (178). Генерално говорећи, густина неурона унутар главног маслинастог једра код људи је мања ($16000/mm^3$) у поређењу са слепим

мишевима ($65000/mm^3$) (206), пацовима ($44000/mm^3$) (89) и веверицама ($23000/mm^3$) (63). Односно, густина неурона је обрнуто пропорционална телесној маси. С тим у вези, бизон и слон имају већу густину нервних ћелија унутар комплекса маслинастих једара и она износи 3000 ћелија у mm^3 . Поређењем са другим сисарима (свиња, веверица, мачка) неуронска густина једара маслинастог комплекса човека има тенденцију смањивања, уз повећање величине тела неурона. Физиолошки је ово објашњиво ако се узме у обзир чињеница да постепеним растом и развојем јединке, долази до успостављања већег броја синаптичких контаката између неурона услед пристизања већег броја улазних сигнала у ово једро (66,180).

Ова студија је квантитативном анализом слика неурона и глијалних ћелија процењивала карактеристике величине, облика, гранања дендрита и глијалних наставака, затим дужину неурона и глијалних ћелија, као и сложеност дендритске и глијалне крошње. Поменуте особине нервних и глијалних ћелија квантитативно су анализирани кроз 22 параметра и упоређиване су у односу на старосне групе ћелија.

Поређењем параметара који представљају величину неурона између три старосне групе, утврђено је да неурони треће старосне групе имају већу површину тела у односу на неуроне прве старосне групе, али да та разлика није статистички значајна. *Bozhilova-Pastirova* (2000) наводи да се средња вредност површине неуронског тела са старењем повећава (12). Студија *Villena*-а и сар. (1997) је показала да код пацова старих 24 недеље долази до повећања величине тела неурона у односу на животиње старе 3 недеље (316). Ово би се могло објаснити хистолошким и биохемијским променама у телу неурона током развоја и старења. Јасно је показано да се током старења дешава акумулација липофусцина, гвожђа и интранеуронских гранула унутар неурона (317,318). Интранеуронске грануле су сличне лизозомима и представљају један од хистолошких индикатора старења ћелија, а појављују се и код људи који болују од неуродегенеративних болести (317). Код шимпанза, на пример, њихово присуство није утврђено (18), што се може објаснити њиховим краћим животним веком (од 37 до 45 година) у односу на људски век, али и величином узорка који је обухваћен поменутиим истраживањем (три шимпанзе). У телима неурона се такође накупљају и протеини који су оштећени у току оксидативног стреса (319), а додатно се акумулирају и фрагменти оштећене ДНК. Дегенеративне промене на неуронима у току старења обухватају, такође, и оштећење ћелијског цитоскелета. Наиме, унутар продужетака неурона налазе се микротубули који се постепено разлажу и накупљају унутар тела неурона (320). Сви поменути супстрати се акумулирају у телу нервне ћелије, формирајући нерастворљиве

агрегате, те се на овај начин може објаснити појава неурона са већим телом у трећој старосној групи.

Анализом густине пројекције неуронског поља, као квантитативног параметра који дефинише величину неурона, показано да је да се она статистички значајно не мења кроз старосне групе неурона. Уочено је да је густина неуронског поља треће старосне групе нешто већа у односу на неуроне прве и друге старосне групе, али ова разлика није статистички значајна. Дакле, промена у густини неуронског поља није измењена у довољној мери да би изазвала значајну промену у величини целокупног неуронског поља, што поткрепљује претходни резултат ове студије о униформности величине неурона главног маслинастог једра. У складу са тим резултатом и *Porzionato* и сар. (2009) су показали да неурони главног маслинастог једра одраслих људи имају већи волумен и густину неуронског поља (321). С обзиром на то да, неурони овог истраживања унутар испитиваних старосних група имају приближно исту густину неуронског поља кроз сва три периода старења, могло би се претпоставити да њихова константност у функционисању остаје непромењена током процеса старења. Испуњеност неуронског поља дендритима, која остаје приближно иста током физиолошког старења указује и на то да очуваност синаптичких веза опстаје, а тиме највероватније и непромењена функција здравих неурона који физиолошки старе.

Посматрањем дендрита неурона и њиховог гранања, показано је да у касном периоду старења долази до значајне редукције максималног броја гранања и терминација. Такође, значајно се смањује и циркуларност неуронског поља, као и растојање максималног броја гранања и терминација дендрита од центра тела. Ово указује на то да су регресивне морфолошке промене које захватају дендритску крошњу најизраженије на периферним деловима целокупног неуронског поља, односно да захватају најпре апикалне делове дендрита, а онда базалне. У прилог овоме говори и резултат да се број примарних дендрита не разликује између старосних група испитиваних неурона. Дакле, регресивне промене неурона условљене старосним променама, квантитативно су значајне ако се посматра њихов периферни део. Новија студија је објавила да пројекциони неурони различитих врста старијих мајмуна поседују редуковану дендритску крошњу, али да је то израженије у апикалним деловима дендрита, у односу на базалне (322). Сматра се да је деструкција митохондрија одговорна за појаву ранијих промена на нивоу апикалног сегмента дендрита. Губитак *Miro1* протеина (енгл. *mitochondrially targeted proteins*) доводи до акумулације митохондрија у дисталним деловима дендрита и тако узрокује хистолошке

промене, а убрзо и морфолошке, у виду дегенерације дендрита. Зрели хумани неурони, којима је утврђен недостатак *Miro1* протеина, неповратно губе комплексност дендритске крошње, а тиме и капацитет за остваривање неуралних конекција (323). *Kabaso* и сар. (2009) су испитивали дистрибуцију и гранање дендрита пројекционих неурона мајмуна у току старења фокусирајући се на апикални и базални део неуронске крошње (324). Резултати су показали да старењем најпре долази до смањења разгранатости дендрита на крајевима неуронске крошње, а да средишњи и базални делови крошње остају једнако комплексни као и код млађих неурона. Слично истраживање је спроведено на пацовима где је такође показано да базални региони неуронске крошње не показују промене у дужини дендрита и густини крошње, док су поменуте промене детектоване на апикалним сегментима (325).

Квантификацијом параметара који детерминишу дужину дендрита и сложеност (фракталну димензију) дендритске крошње неурона узорка овог истраживања, утврђено је да неурони треће старосне групе имају статистички значајно краће дендрите, у односу на дужину дендрита неурона прве и друге старосне групе. Осим тога, фрактална димензија сложености дендритске крошње неурона треће старосне групе се највише разликује од сложености неурона прве старосне групе. Дакле, неурони старијих људи у овом истраживању имају краће дендрите и мање разгранату дендритску крошњу. Многе студије се слажу да у току физиолошког процеса старења долази до регресивних промена дендритске крошње пирамидалних неурона префронталне коре, темпоралног режња и прецентралне коре људи (179,326), примата (322,324), паса (327) и мишева (181). Такође, поређењем квантитативних параметара сложености дендритске крошње Пуркињеових ћелија млађих мачака, показано је да су они значајно мањи у односу на узорке старијих животиња (328). Укупна дужина дендрита неурона се смањује за 40% и статистички је значајана када се пореде пацови млађег и старијег узраста, а смањује им се такође и број примарних дендрита (за 20%) (329,330).

Максималан број пресека дендрита неурона са кругом, који квантификује сложеност крошње, разликује се само између неурона прве и друге старосне групе. Дакле, рани период старења је узроковао редукацију гранања неурона, а неурони треће старосне групе остају на истом нивоу разгранатости, одржавајући тако своју функцију и у касном периоду старења. Овим би се могло објаснити због чега густина испуњености неуронског поља дендритима у трећој старосној групи није статистички

значајно промењена. Лакуарност неурона, односно промена хомогености неурона, је статистички значајно већа на неуронима у касном периоду старења.

На основу резултата ове студије могло би се закључити да је старење период промена и прилагођавања мозга физиолошким процесима. Поједини процеси се одигравају на фином квалитативном нивоу, а други доводе до видљивих морфолошких промена нервних ћелија. Ако се упореди други период сазревања и касни период старења, види се да су промене велике и мерљиве, јер трећа старосна група неурона има најмању вредност пет параметара (циркуларност границе неуронског поља, максималан број гранања, максималан број терминација, растојање максималног броја пресека дендрита и круга и растојање максималног броја терминација, а највећу вредност параметра лакуарности). Поређењем раног и касног периода старења уочава се да се старосне промене које су започете у другом периоду сазревања настављају кроз рани период старења и доводе до изражених разлика које су уочене мерењем површине тела, обима неуронског поља, циркуларности неуронског поља, гранањем дендрита, дужином неурона и сложености дендритске крошње. Услед старења неуронима се повећава површина тела, а значајно смањује гранање и дужина неурона. Ово наводи на закључак да се гранање дендрита и дужина неурона мења током људског живота. Мозак старијих особа је вулнерабилан на биофизичке промене у можданом ткиву. Уједно долази и до промене интеракције старијих неурона са околним ћелијама. Услед смањења неуронског поља, старије ћелије имају значајно мањи број синапси које су директно одговорне за њихову комуникацију са околином. Неадекватан проток информација између неурона условљен је мењањем особина неурона. На основу резултата уочава се да је мењање облика нервних ћелија изузетно динамично код старијих особа.

5.3. Квантитативна анализа глијалних ћелија главног маслинастог једра

Могућност класификације глијалних ћелија према геометријским параметрима квантитативно је испитана анализом расподеле и утврђено је да она није бимодална, те се закључује да су глијалне ћелије униформне према величини тела и глијалног поља (Слика 44).

5.3.1. Квантитативне разлике глијалних ћелија између старосних група

Доступна литература оскудује у подацима о морфологији глијалних ћелија, нарочито током процеса старења. До сада спроведене студије базирале су се, најчешће, на утврђивање промене броја глијалних ћелија током старења и у неуродегенеративним обољењима. Са тим у вези, број олигодендроцита се старењем смањује за 30% (225). Паралелно са губитком олигодендроцита долази до повећања броја микроглијалних ћелија што је највероватније показатељ њихових одбрамбених способности. Међутим, укупан број астроцита остаје исти (331). Када се говори о броју олигодендроцита у кори великог мозга и једрима маслинастог комплекса, изгледа да се он не смањује старењем (178), док се дужина мијелинизованих аксона редукује за око 50% (332). *Lasn* и сар. (2001) су у својој студији испитивали укупан број астроцита и олигодендроцита унутар главног маслинастог једра особа оболелих од Алцхајмерове болести и здравих људи у процесу старења. Показано је да не постоји разлика у укупном броју олигодендроцита и астроцита између испитаника млађе и старије старосне доби (178).

Скуп свих промена које прате процес физиолошког старења доводе организам у стање хроничне инфламације ниског степена, односно неуроинфламације када се говори о променама можданог паренхима (333,334). Сматра се да је управо ово стање одговорно за настанак или погоршање неуродегенеративних болести за које је старост предиспонирајући фактор. Један од извора инфламације у току старења мозга су глијалне ћелије због тога што имају способност ослобађања различитих проинфламаторних агенаса. Старење на нивоу глијалне ћелије подразумева иреверзибилан губитак пролиферативног капацитета као одговор на изложеност потенцијално онкогеном агенсу (335). Генералан концепт астроглијалне патологије јесте да дисфункција глијалних ћелија резултира поремећајем хомеостазе ЦНС-а и онемогућава испољавање одбрамбених способности нервног ткива. Употребом квантитативне МРИ и техником мапирања промене сигнала показано је да унутар једара понса и мезенцефалона, као и у главном маслинастом једру долази до нагомилавања гвожђа и то преобладајуће локализованог унутар олигодендроцита. Квантитативном мултимодалном МРИ анализом *Lambert*-а и сар. (2013) показан је повећан интензитет *R1* сигнала (енгл. *longitudinal relaxation rate*) који указује на већу количину гвожђа у неуронима једара маслинастог комплекса и једрима понса (336). Са једне стране, гвожђе узрокује липидну пероксидацију, а са друге стране иницира

отпуштање глијалних неуротоксичних медијатора (336,337). Даљим напредовањем процеса старења јавља се интензивно нагомилавање гвожђа унутар астроцита. Претпоставља се да акумулација имунореактивног гвожђа унутар глијалних ћелија може да предиспонира неуроинфламаторни одговор možданог ткива (337).

Анализом параметара који квантификују величину и облик глијалних ћелија, резултати ове студије су показали да фиброзни и протоплазматични астроцити треће старосне групе имају мање тело, мању површину глијалног поља и мање обиме (тела и глијалног поља), у односу на ћелије прве старосне групе. Такође, астроцити унутар прве старосне групе имају сложенију глијалну крошњу у поређењу са параметрима сложености астроцита друге и треће старосне групе. Односно, фиброзни и протоплазматични астроцити имају мање вредности фракталне димензије скелетонизоване слике ћелије и мањи максимални број пресека наставака са кругом. Редуковане вредности дужине астроцитних наставака и максималан број гранања почињу да се јављају унутар узорака друге старосне групе и статистички су значајне, док напредовањем старења ове промене бивају још израженије. На астроцитима се смањује растојање од центра тела до максималног броја пресека наставака и круга, указујући на то да је њихова разгранатост најизраженија у близини тела, односно мање се простире у околину, а самим тим им је мања и површина глијалног поља. Астроцити повећавају имунореактивност GFAP током процеса старења и ово је доказано у неколико региона ЦНС-а (109,120,338). Такође, делују системским одговором и ослобађају IL-1 β , IL-6 и TNF α (339). Дакле, повећава им се метаболичка активност али на морфолошком нивоу разликује им се фенотип у зависности од врсте и брзине настајања промена. Наиме, код акутних патолошких стања астроцити реагују хипертрофијом тела, највероватније због повећања метаболизма да би заштитили здраве неуроне. На пример, акутна исхемија možданог паренхима ће изазвати активацију астроцита и индуковаће лучење неуропротективних цитокина, а на тај начин ће стимулисати репарацију оштећеног ткива (338). Морфолошки гледано, јавља се хипертрофија астроцита и астроцитоза. За разлику од акутних патолошких стања старење, као хроничан инфламаторан процес, довешће до постепеног и споријег ремоделовања астроцита који ће подлећи атрофичним променама. Претпоставља се да је ово карактеристика физиолошког процеса старења здравих мозгава. У сагласности са резултатима овог истраживања о смањеним вредностима величине астроцита код најстаријих узорака, говоре и резултати других студија на мозговима људи (105,340), пацова (341,342) и мајмуна (343,344) и свиња (192). Наведене студије истичу да се

ефекат старења на астроцитима најјасније уочава на њиховим наставцима, који од дугачких и витких форми постају краћи и извијуганији. Ако се посматра са функционалног становишта, атрофија астроцита у старењу смањиће и њихов капацитет за испољавање неуропротективних својстава. Односно, астроцити губе способност да контролишу екстраћелијску концентрацију GLU , те долази до поремећаја у синаптичкој трансмисији међу неуронима и оштећује се неуронска конекција. На овај начин би се могли објаснити и когнитивни дефицити старијих особа који немају удружена неуродегенеративна обољења. Иако су утврђене промене у структури цитоскелета астроцита током старења, (345) још увек нису спроведене студије које би испитале да ли су астроцитне промене у старењу одговорне за развој неуродегенеративних болести. Најновија студија *Robillard*-а и сар. (2015) анализирала је број и морфологију глијалних ћелија префронталног кортекса током процеса старења мајмуна и упоређивала ове промене у односу на старосне групе испитиваних животиња (346). Најпре су показали да код мајмуна старости 20 год. долази до продужавања астроцитних наставака у сивој маси. Промена дужине наставака глијалних ћелија није била праћена значајном променом величине тела, а није утврђена ни промена њиховог броја (346). Употребом Шолове технике анализе, *Robillard* (2015) је показао да су промене у гранању астроцитних наставака израженије у близини тела ћелије, на удаљености од 20 до 30 μm од центра тела неурона. Такође, иста студија је објавила да долази до повећања густине микроглијалних ћелија у сивој маси, а смањења у белој маси (346). Ово је забележено и у истраживању хипокампуса на експерименталним мишевима (347).

Посматрајући величину и облик олигодендроцита, резултати овог истраживања указују на то да олигодендроцити треће старосне групе имају мању површину и обим тела од узорака прве и друге старосне групе. Такође, олигодендроцити који припадају трећој старосној групи имају мање све параметре који квантификују дужину ћелије. Међутим, фрактална димензија скелетонизоване слике старијих олигодендроцита показује да они имају сложенију глијалну крошњу, а исто тако им је фрактална димензија границе тела већа. Уочено је да се око главног маслинатог једра налази велики број сателитских олигодендроцита који пружају неуронима добру трофичку подршку и утичу на повољан биохемијски састав околине неурона (131). Заједно са астроцитима, олигодендроцити обезбеђују усмереност и контролу кретања импулса, представљајући тако стабилизаторску везу између неурона. Могло би се претпоставити да олигодендроцити остају добро разгранати да би што дуже очували протективну

функцију за неуроне, али и услед чињенице да су у узорку мозгови људи без патолошких промена ЦНС-а односно, они који физиолошки старе. Ако им се смањује величина тела и дужина, као морфолошке промене које прате физиолошко старење, а сложеност им расте, могућа је и појава компензаторне реакције олигодендроцита у циљу очувања функције. Током фиксације ткива може да се јави и додатно повећање извијуганости наставака и на тај начин објасни већа сложеност олигодендроцитне крошње. Осим тога, глијални наставци нису статичне структуре, они пролазе кроз динамичне промене које рефлектују структуралне и функционалне измене неурона.

Смањен број олигодендроцита детектован је код оболелих од схизофреније, биполарног поремећаја и депресије (348,349). Демиелинизација и когнитивни дефицит су најчешће последице исхемије беле масе ЦНС-а, које се углавном повезују са старењем. Иако мозгови одраслих задржавају неуропластичност и регенеративне способности да би компензовали изгубљене мождане ћелије, мозгови старијих људи имају тенденцију да полако губе ендogene репаративне механизме. Чак и најмањи дефекти у интегритету мијелинског омотача узрокују поремећај спровођења импулса, а повећава се и ризик за развој неуролошких поремећаја. Дегенерација мијелина је рана и добро позната неуропатологија која је повезана са старијим животним добом, а појављује се пре испољавања симптома когнитивне дисфункције (350). Фрагменти оштећене ДНК акумулирају се у постмитотичком геному олигодендроцита и доводе до њихових морфолошких и функционалних оштећења (163,232).

Поједине квантитативне морфолошке промене глијалних ћелија између старосних група почињу да се јављају и унутар друге старосне групе, односно у раном периоду старења. Код астроцита, ово се односи на параметре сложености глијалне крошње и гранања наставака. У случају олигодендроцита, већа фрактална димензија сложености глијалне крошње уочава се већ код узорака друге старосне групе, а унутар треће је најизраженија. Дакле, морфолошке промене које захватају глијалне ћелије детектабилне су и у раном периоду старења, а не само код најстаријих узорака. На основу овога може се претпоставити да су глијалне ћелије високо реактивне на поремећај хомеостазе нервног ткива, у овом случају услед регресивних старосних промена, а да је њихова ремоделација заправо одбрамбени механизам. Могли бисмо, такође, закључити да је реакција глијалних ћелија главног маслиног једра различита у односу на тип глијалних ћелија.

Морфолошке и нумеричке промене глијалних ћелија у патолошким стањима ЦНС-а су изражене. Ако се узме у обзир да су сви типови глијалних ћелија у узорку

ове студије мање величине, претпостављамо да подлежу атрофичним променама, односно постепено старе. Дакле, глијалне ћелије су више реактивне на дејство екстринзичних патолошких фактора (оксидативни стрес, неуроендокрини фактори, патолошка агрегација протеина) него на ћелијске промене у току старења, као физиолошког процеса свих ткива унутар организма. Ако се посматра број примарних наставка фиброзових и протоплазматичних астроцита унутар све три испитиване старосне групе овог узорка, уочено је да се он статистички значајно не мења. Ово је случај, такође, и са бројем примарних олигодендроцитних наставка. Код свих типова глијалних ћелија, иако остаје исти број примарних наставка, њихова укупна дужина се смањује. На основу овога могло би се претпоставити да старосне промене захватају најпре периферне делове ћелија, а онда се постепено шире центрипетално ка телу. У прилог овоме указује и податак да се на свим глијалним ћелијама параметри који квантификују дужину (растојање максималног броја пресека, гранања и терминација наставака) смањују кроз старосне групе.

Са еволутивног становишта, током онтогенетског раста и развоја постепено долази до смањења броја неурона у главном маслинастом једру, кори великог мозга и базалним једрима, уз пратећи пораст броја глијалних ћелија (169). Ово је могуће објаснити чињеницом да процесом раста организма долази до селекције адекватно формираних и функционишућих неурона, који постепено успостављају сврсисходне синаптичке везе, а у исто време порастом активности глијалних ћелија као потпорних структура. Такође, у маслинастом једру фетуса и новорођенчади појава глиозе је физиолошки налаз и она се са растом и развојем јединке повећава све до адолесцентног периода (351).

Проинфламаторна реакција је карактеристичан одговор активираних микроглије и јавља се након оштећења неурона са циљем њиховог уклањања. Доступни литературни подаци су показали да се микроглијалне ћелије активирају и током старења, иако је за њих карактеристично да делују након повреде ЦНС-а или неког патолошког процеса (226,228,352). Наиме, јавља се промена у имунолошком фенотипу микроглијалних ћелија, односно долази до експресије главног хистокompatибилног комплекса гена класе II (енгл. *major histocompatibility complex class II*, МНС II). Процеси хипертрофије, пролиферације и повећане секреције цитокина и фактора раста од стране микроглијалних ћелија након оштећења неурона не прате и процес физиолошког старења. Дакле, током старења долази до извесних промена на нивоу микроглијалних ћелија, али оне нису истоветне са оним процесима који прате патолошка стања ЦНС-а.

Међутим, поставља се питање да ли су промене микроглијалних ћелија последица процеса старења или су оне настале као секундарни одговор на старење? Јасно се наводи да старење проузрокује морфолошке промене микроглијалних ћелија које су у стању мировања у можданом ткиву здравих особа. На пацовима је показано да у патолошким стањима микроглијалне ћелије хипертрофишу и редукује се разгранатост ћелијских наставка (353). Још увек не постоје подаци о томе да ли, старењем измењена микроглија, и даље има способност да у истој мери реагује и одговори на повреду можданог паренхима, као што то чини у млађем животном добу. Поставља се и питање да ли постоје неки други фактори, поред старења, који утичу на дисфункцију микроглијалних ћелија. Након изолације микроглијалних ћелија из мозга у старењу, показано је да их морфолошки одликује смањење дужине и броја наставка, а метаболички повећање цитокина, у односу на млађе мозгове.

5.4. Главно маслинасто једро и глијалне ћелије као потенцијалне мете у терапији

Као што је наведено у претходним одељцима, очувана морфофункционална веза између неурона и глијалних ћелија круцијална је за функционисање целокупног нервног система, а поремећај на овом нивоу доводи до разноврсних неуроинфламаторних и неуродегенеративних промена. Познато је да старењем долази до нарушавања морфолошких и хомеостатских карактеристика нервних и глијалних ћелија. Са друге стране, промене у току физиолошког старења су у исто време и карактеристика неуродегенеративних болести, али су тада оне израженије, интензивније и ирверзибилног су карактера. Са тим у вези, дегенерација неурона главног маслинастог једра доказана је у поремећајима који резултирају испадима у моторним функцијама. Због тога би било важно детерминисати квантитативне параметре на неуронима главног маслинастог једра код неуродегенеративних обољења.

Главна препрека функционалном опоравку након оштећења ЦНС-а је немогућност оштећених неурона да се регенеришу и обнове синаптичку повезаност. Глијалне ћелије обезбеђују неуронима метаболичке супstrate важне у исхрани и одржавају биохемијску хомеостазу микросредине нервног ткива. Глијалне ћелије могу да стимулишу виталност и регенерацију неурона. Последњих година се интензивно трага за лековима који би испољавали дејство на протективна својства глијалних ћелија и на тај начин успорили напредовање неуролошких болести. Потенцијалне

терапијске опције су усмерене на заштиту митохондрија, побољшање антиоксидативних механизма ћелија, стимулацију одстрањивања ћелијског дебриса и потенцирање имуносупресивних ефеката глијалних ћелија. Основни постулат на којем се базирају савремена истраживања јесте трансплантација и трансфер глијалних ћелија и повећање митотских капацитета, а тако и повећање шанси за опоравак оштећених неурона. Први покушаји трансплантације глијалних ћелија спроведени су са прекурсорима олигодендроцита код пацијената са повредом кичмене мождине (354). Терапијска дејства на глијалне ћелије интензивно се испитују клиничким студијама код демјелинизирајућих болести (леукодистрофије, мултипла склероза) и неуродегенеративних болести (Алцхајмерова болест, амиотрофична латерална склероза, Паркинсонова болест). Фармакотерапија је пре свега усмерена на смањење експресије TNF- α и интерлеукина које секретују активирани глијални ћелије.

Са аспекта будућих истраживања комплексне морфофункционалне структуре нервног система, корисна би била даља испитивања промена на неуронима и глијалним ћелијама главног маслинастог једра у току старења. Потребно је испитивати и додатне квантитативне параметре који би допринели већем броју података о динамици промена за време физиолошког старења, а будућа истраживања усмерити на проналажење метода који ће овај процес продужити и успорити.

6. ЗАКЉУЧЦИ

На основу дефинисаних хипотеза истраживања и добијених резултата квалитативне и квантитативне анализе неурона и глијалних ћелија главног маслинастог једра човека, изведени су следећи закључци:

1. Квалитативном проценом неурона главног маслинастог једра човека уочене су разлике у изгледу тела и дендритског поља. Резултати квантитативне анализе су показали да се неурони не могу класификовати према геометријским параметрима површине тела и површине неуронског поља.
2. Квантитативним испитивањем разлика између старосних група неурона, показано је да неурони треће старосне групе имају већу површину тела, а мању површину неуронског поља, мању фракталну димензију тела и неуронског поља од неурона прве старосне групе. Претходно уочене разлике нису довољне да се примети статистички значајна разлика у морфологији.
3. Неурони треће старосне групе имају статистички значајно мању дужину свих дендрита, максималан број пресека дендрита и круга, максималан број гранања и терминација дендрита у односу на прву и другу старосну групу, а у односу на прву и значајно мање растојање максималног броја пресека дендрита и круга.
4. Фрактална димензија скелетонизоване слике неурона и циркуларност тела су статистички значајно већи у првој и другој старосној групи у односу на трећу групу неурона. Трећа старосна група има високо значајно различиту лакунарност од неурона прве и друге старосне групе.
5. Резултати квантитативне анализе су показали да се глијалне ћелије главног маслинастог једра човека не могу класификовати према геометријским параметрима површине тела и површине неуронског поља.
6. Површина тела и глијалног поља, параметри квантификације облика и дужине глијалне ћелије, максималан број гранања, као и параметри сложености глијалне крошње, статистички су значајно мањи код фиброзових астроцита треће старосне групе у односу на прву и другу групу.
7. Између прве и друге старосне групе фиброзових астроцита постоји статистички значајна разлика у растојању максималног броја пресека наставака и круга, фракталној димензији скелетонизоване слике глијалне

- ћелије и лакунарности, у корист фиброзних астроцита прве старосне групе. Фиброзни астроцити друге старосне групе имају мањи максималан број гранања у односу на прву старосну групу.
8. Прва старосна група протоплазматичних астроцита, у односу на другу има значајно већу површину тела, већи обим глијалног поља, већу фракталну димензију тела, већу дужину свих наставака и веће растојање максималног броја пресека и терминација глијалних наставака.
 9. Протоплазматични астроцити треће старосне групе имају статистички значајно мању површину и обим тела, мању неправилност пројекције границе глијалног поља и мању циркуларност тела, од узорака прве старосне групе.
 10. Фрактална димензија тела, укупна дужина свих наставака и растојање максималног броја терминација наставака значајно је мање у трећој старосној групи протоплазматичних астроцита, у поређењу са првом и другом старосном групом.
 11. Површина и обим тела, сви параметри дужине (дужина свих наставака, растојање максималног броја пресека и гранања наставака и круга, растојање максималног броја терминација) и лакуарност, мањи су у трећој старосној групи олигодендроцита, у поређењу са осталим групама.
 12. Фрактална димензија тела и фрактална димензија скелетонизоване слике олигодендроцита је статистички значајно већа у трећој старосној групи, у односу на олигодендроците прве и друге старосне групе.
 13. На основу свих резултата морфолошке анализе нервних и глијалних ћелија главног маслинастог једра човека, закључује се да је мењање морфологије изузетно динамично код старијих особа.

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Levine ME, Lu AT, Quach A, Chen BH, Assimes TL, Bandinelli S, et al. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging*. 2018;10(4):573-91.
2. Ristanović D, Milošević NT, Štulić V. Application of modified Sholl analysis to neuronal dendritic arborization of the cat spinal cord. *J Neurosci Methods*. 2006;158(2):212-8.
3. Ristanović D, Milošević NT, Jelinek HF, Stefanović IB. Mathematical modelling of neuronal dendritic branching patterns in two dimensions: application to retinal ganglion cells in the cat and rat. *Biol Cybern*. 2009;100(2):97-108.
4. Mavroudis IA, Petrides F, Kazis D, Costa V, Baloyannis S. Golgi method: a 140 years old yet unique and powerful method for the study of the central nervous system. *Annals series on biological sciences*. 2017;6(1):44-54.
5. Marinković R. Anatomija centralnog nervnog sistema. Novi Sad: Medicinski fakultet Novi Sad; 1997.
6. Plić A, Blagotić M, Malobabić S, Radonjić V, Prostran M, Toševski J. Anatomija centralnog nervnog sistema. Beograd: Savremena administracija; 2005.
7. Гудовић Р, Бабовић С, Срдић Галић Б, Крстоношић Б. Анатомија централног нервног система за студенте медицине. Нови Сад: Медицински факултет Нови Сад; 2017.
8. Bowman J, Sladek JR. Morphology of the inferior olivary complex of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J Comp Neurol*. 1973;152(3):299-316.
9. Voogd J. Mammals. In: Nieuwenhuys R, Donkelaar HJ, Nicholson C, editors. The central nervous system of vertebrates. 1st ed. Berlin: Springer-Verlag; 1998.
10. Malobabić S, Krivokuća D, Puškaš L. Osnovni principi funkcionalne neuroanatomije. Beograd: Quark; 2007.
11. Rashed R, Emara S, Shinozaki A, Imagawa T, Uehara M. Qualitative and quantitative studies of the inferior olivary complex in the water buffalo (*Buballus bubalis*). *J Wet Med Sci*. 2007;69(2):143-7.
12. Bozhilova-Pastirova A, Ovtscharoff W. The inferior olivary complex. *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 2000;155(III-VI):1-84.
13. Robertson LT, Stoler WA. The structure and connections of the developing inferior olivary nucleus of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J Comp Neurol*. 1974;158(2):167-90.

14. Rao BN, Padmini MP. A study of neuronal profile of inferior olivary nuclear complex in foetal and adult human medulla. *Int J Anat Res.* 2013;1(2):36-9.
15. Arslan O. *Neuroanatomical bases of clinical neurology.* New York: Parthenon; 2001.
16. Ramón y Cajal S. *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertèbres.* Paris: Maloine; 1911.
17. Nelson BJ, Adams JC, Barmack NH, Mugniani E. Comparative study of glutamatedecarboxylase immunoreactive boutons in the mammalian inferior olive. *J Comp Neurol.* 1989;286(4):514-39.
18. Baizer JS, Wong KM, Sherwood CC, Hof PR, Witelson SF. Individual variability in the structural properties of neurons in the human inferior olive. *Brain Struct Funct.* 2018;223(4):1667-81.
19. Sultan F, Glickstein M. The cerebellum: comparative and animal studies. *Cerebellum.* 2007;6(3):168-76.
20. Kooy FH. The inferior olive of vertebrates. *Folia Neurobiol.* 1917;10(1):205-396.
21. Armstrong DM, Harvey RJ, Schild RF. Topographical localization in the olivocerebellar -projection: An electrophysiological study in the cat. *J Comp Neurol.* 1974;154(1):287-302.
22. Moatamed F. Cell frequencies in the human inferior olivary nuclear complex. *J Comp Neurol.* 1966;128(1):109-16.
23. Khale W, Frotscher M. *Color atlas of human anatomy.* Stuttgart, New York, Delhi, Rio de Janeiro: Thieme; 2015.
24. Stefanović B, Đorđević-Čamba V, Kojić Z, Bajčetić M, Četković M. *Integrativna neurobiologija.* Beograd: Mikro knjiga i B&M; 2003.
25. Pulvers NJ, Schenk J, Arai Y, Fei FJ, Saito K, Huttner BW. The origin of the neurons. *Genome Biol.* 2007;8(7):311.
26. Brown M, Keynes R, Lumsden A. *The developing brain.* Oxford: University Press; 2001.
27. Dance A. Uncovering the neuron's internal skeleton. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(49):13931-3.
28. Scheibel ME, Scheibel AB. Dendrite bundles, central programs and the olfactory bulb. *Brain Res.* 1975;95(2-3):407-21.
29. Pannese E. Morphological changes in nerve cells during normal aging. *Brain Struct Funct.* 2011;216(2):85-9.
30. Pašić M. *Fiziologija nervnog sistema.* Beograd: Naučna knjiga; 1987.

31. Salatino DR, Puglesi A. Neuron as an electric PAU. *Inter J Res Methodol Soc Sci.* 2018;4(3):59-76.
32. Garcia-Lopez P, Garcia-Marin V, Freire M. The discovery of dendritic spines by Cajal in 1888 and its relevance in the present neuroscience. *Prog Neurobiol.* 2007;83(2):110–30.
33. Araya R, Jiang J, Eisenthal KB, Yuste R. The spine neck filters membrane potentials. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103(47):17961-6.
34. Bloss E, Janssen W, Ohm TD, Yuk JF, Wadsworth S, Saardi MK, et al. Evidence for reduced experience - dependent dendritic spine plasticity in the aging prefrontal cortex. *J Neurosci.* 2011;31(21):7831-9.
35. De Paola V, Holtmaat A, Knott G, Song S, Wilbrecht L, Caroni P, et al. Cell type - specific structural plasticity of axonal branches and boutons in the adult neocortex. *Neuron.* 2006;49(6):861–75.
36. Anđelković Z, Somer Lj, Matavulj M, Lačković V, Lalošević D, Nikolić I, i dr. Čelija i tkiva. Niš: Bona Fides; 2002.
37. Mancuso JJ, Chen Y, Li X, Xue Z, Wong TCS. Methods of dendritic spine detection: from Golgi to high resolution optical imaging. *Neuroscience.* 2013;251:129-40.
38. Nimchinsky EA, Yasuda R, Oertner TG, Svoboda K. The number of glutamate receptors opened by synaptic stimulation in single hippocampal spines. *J Neurosci.* 2004;24(8):2054–64.
39. Alvarez VA, Sabatini BL. Anatomical and physiological plasticity of dendritic spines. *Ann Rev Neurosci.* 2007;30(1):79–97.
40. Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GC, Kasai H. Structural basis of long - term potentiation in single dendritic spines. *Nature.* 2004;429(6993):761–6.
41. Landis DM, Williams RS, Masters CL. Golgi and electronmicroscopic studies of spongiformencephalopathy. *Neurology.* 1981;31(5):538–49.
42. Stephens B, Mueller AJ, Shering AF, Hood SH, Taggart P, Arbuthnott GW, et al. Evidence of a breakdown of corticostriatal connections in Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2005;132(3):741–54.
43. Bittner T, Fuhrmann M, Burgold S, Ochs SM, Hoffmann N, Mitteregger G, et al. Multiple events lead to dendritic spine loss in triple transgenic Alzheimer's disease mice. *PloS one.* 2010;16(5):e15477.

44. Hercher C, Canetti L, Turecki G, Mechawar N. Anterior cingulate pyramidal neurons display altered dendritic branching in depressed suicides. *J Psychiatr Res.* 2010;44(5):286–93.
45. Morrison JH, Hof PR. Life and death of neurons in the aging brain. *1997;278(5337):412-9.*
46. Barr ML, Kiersmam JA. *The human nervous system: an anatomical viewpoint.* 6th ed. Philadelphia: JP Lippincott; 1993.
47. Thanapitak S, Toumazou C. A bionics chemical synapse. *IEEE Trans Biomed Circuits Syst.* 2013;7(3):296-306.
48. Carlson BM. *Human embryology and developmental biology.* 5th ed. Michigan: Saunders; 2014.
49. Gudović R, Marinković M, Aleksić S. Morfološke karakteristike olivarnog kompleksa u toku ontogeneze čoveka. *Med Pregl.* 1984;37:127-30.
50. Reeber LS, White JJ, George-Jones NA, Sillitoe AV. Architecture and development of olivocerebellar circuit topography. *Front Neural Circuits.* 2013;115(6):1-13.
51. Kølvråa M, Müller CF, Jahnsen H, Rekling CJ. Mechanisms contributing to cluster formation in the inferior olivary nucleus in brainstem slices from postnatal mice. *J Physiol.* 2014;529(1):33-47.
52. Sotelo C. Cellular and genetic regulation of the development of the cerebellar system. *Prog Neurobiol.* 2004;72(5):295–339.
53. Sotelo C, Chèdotal A. Development of the olivocerebellar system: migration and formation of cerebellar maps. *Prog Brain Res.* 2005;148:1–20.
54. Landsberg RL, Awatramani RB, Hunter NL, Farago AF, DiPietrantonio HJ, Rodriguez, CI, et al. Hindbrain rhombic lip is comprised of discrete progenitor cell populations allocated by Pax6. *Neuron.* 2005;48(6):933–47.
55. Wang VY, Rose MF, Zoghbi HY. Math1 expression redefines the rhombic lip derivatives and reveals novel lineages within the brainstem and cerebellum. *Neuron.* 2005;48(1):31–43.
56. Nichols DH, Bruce LL. Migratory routes and fates of cells transcribing the Wnt - 1 gene in the murine hindbrain. *Dev Dyn.* 2006;235(2):285–300.
57. Matano S, Hirasaki E. Volumetric comparisons in the cerebellar complex of anthropoidis, with special reference to locomotor types. *Am J Phys Anthropol.* 1997;103(2):173-83.

58. MacLeod CE, Zilles K, Schleicher A, Rilling JK, Gibson KR. Expansion of the neocerebellum in Hominoidea. *J Hum Evol.* 2003;44(4):401-29.
59. Nicholls J, Saunders N. Regeneration of immature mammalian spinal cord after injury. *Trends Neurosci.* 1996;19(6):229–34.
60. Panigrahy A, Rosenberg PA, Assmann S, Foley EC, Kinney HC. Differential expression of glutamate receptor subtypes in human brainstem sites involved in perinatal hypoxia - ischemia. *J Comp Neurol.* 2000;427(2):196-208.
61. Kinney HC, McHugh T, Miller K, Belliveau RA, Assmann SF. Subtle developmental abnormalities in the inferior olive: an indicator of prenatal brainstem injury in the sudden infant death syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2002;61(5):427-41.
62. Scheibel ME, Scheibel AB. The inferior olive; a Golgi study. *J Comp Neurol.* 1955;102(1):71-131.
63. Bozhilova-Pastirova A. Ultrastructure of the inferior olivary complex in the ground squirrel (*Citellus Citellus L*). *Eksp Med Morphol.* 1990;29(3):1-8.
64. Gudović R, Milutinović B. Regressing changes in inferior olivary nucleus compared to changes of Purkinje cells during development in humans. *J Himforsch.* 1996;37(1):67-72.
65. Lasn H, Winblad B, Bogdanovic N. The number of neurons in the inferior olivary nucleus in Alzheimer's disease and normal aging: A stereological study using the optical fractionator. *J Alzheimers Dis.* 2001;3(2):159-68.
66. Llinás R, Sasaki K. The functional organization of the olivo - cerebellar system as examined by multiple Purkinje cell recordings. *Eur J Neurosci.* 1989;1(6):587-602.
67. De Zeeuw CI, Chorev E, Devor A, Manor Y, Van Der Giessen RS, De jeu MT, et al. Deformation of network connectivity in the inferior olive of connexin 36 - deficient mice is compensated by morphological and electrophysiological changes at the single neuron level. *J Neurosci.* 2003;23(11):4700-11.
68. Hoogenraad N. A brief history of the discovery of the mitochondrial unfolded protein response in mammalian cells. *J Bioenerg Biomembr.* 2017;49(4):293-5.
69. De Zeeuw CI, Hoogenraad CC, Goedknecht E, Hertzberg E, Neubauer A, Grosveld F, et al. CLIP-115, a novel brain - specific cytoplasmic linker protein, mediates the localization of dendritic lamellar bodies. *Neuron.* 1997;19(6):1187–99.
70. Llinás R, Volkind RA. The olivo - cerebellar system: functional properties as revealed by harmaline - induced tremor. *Exp Brain Res.* 1973;18(1):69-87.

71. Mathy ARD. Structure and function in the inferior olivary nucleus [disertation]. UCL University College London; 2012.
72. Bazzigaluppi P, Ruigrok T, Saisan P, De Zeeuw CI, de Jeu M. Properties of the nucleo - olivary pathway: an *in vivo* whole - cell patch clamp study. PloS One. 2012;7(9):e46360.
73. Benardo LS, Foster RE. Oscillatory behavior in inferior olive neurons: mechanism, modulation, and aggregates. Brain Res Bull. 1986;17(6):128-37.
74. Nagy Z, Westerberg H, Klingberg T. Maturation of white matter is associated with the development of cognitive functions during childhood. J Cogn Neurosci. 2004;16(7):1227-33.
75. Connors BW, Long MA. Electrical synapses in the mammalian brain. Annu Rev Neurosci. 2004;27:393-418.
76. Ruigrok TJ, De Zeeuw CI, Voogd J. Hypertrophy of inferior olivary neurons: a degenerative, regenerative or plasticity phenomenon. Eur J Morphol. 1990;28(2-4):224-39.
77. Eccles JC. An instruction - selection theory of learning in the cerebellar cortex. Brain Research. 1977;127(2):325-52.
78. Jang SH, Chang PH, Kwon HG. The neural connectivity of the inferior olivary nucleus in the human brain: A diffusion tensor tractography study. Neurosci Lett. 2012;523(1):67-70.
79. Bebin J. The central tegmental tract. J Comp Neurol. 1956;90(2):287-332.
80. Chan-Palay V. A light microscope study of the cytology and organization of neurons in the simple mammalian nucleus lateralis: columns and swirls. Z Anat Entwicklungsgesch. 1973;141(2):125-50.
81. Gellman R, Gibson AR, Houk JC. Inferior olivary neurons in the awake cat: detection of contact and passive body displacement. J Neurophysiol. 1985;54(1):40-60.
82. Llinás R, Welsh JP. On the cerebellum and motor learning. Curr Opin Neurobiol. 1993;3(6):958-65.
83. Powers RE, DeSouza EB, Walker LC, Price DL, Vale WW, Young WS 3rd. Corticotropin releasing factor as a transmitter in the human olivocerebellar pathway. Brain Res. 1987;415(2):347-52.
84. Bondy CA. Transient IGF - I gene expression during the maturation of functionally related central projection neurons. J Neurosci. 1991;11(11):3442-55.

85. Xue HG, Yang CY, Yamamoto N. Afferent sources to the inferior olive and distribution of the olivocerebellar climbing fiber in cyprinid. *J Comp Neurol.* 2008;507(3):1409-27.
86. Walker G, Limaye K, Jankowitz BT, Jadhav AP. Hypertrophic olivary degeneration after cerebellar hemorrhage. *J Clin Neurosci.* 2017;43:162-4.
87. Ropper AH, Samuels MA, Klen JP. Adams and Victor's principles of neurology. 10th ed. Arizona State: Mc Graw Hill; 2014.
88. Winkelman B, Frens M. Motor coding in floccular climbing fibers. *J Neurophysiol.* 2006;95(4):2342-51.
89. Sugihara I, Wu HS, Shinoda J. Morphology of single olivocerebellar axons labeled with biotinylated dextran amine in the rat. *J Comp Neurol.* 1999;414(2):131-48.
90. Eccles JC. The ionic mechanisms of excitatory and inhibitory synaptic action. *Ann N Y Acad Sci* 1966;137(2): 473-94.
91. Suigahara I, Fujita H, Na J, Quy PN, Li BY, Ikeda D. Projections of reconstructed single Purkinje cell axons in relation to the cortical and nuclear aldolase C compartments of the rat cerebellum. *J Comp Neurol.* 2009;512(2):282-304.
92. Dumm RP, Strick PL. An unfolded map of the cerebellar dentate nucleus and its projections to the cerebral cortex. *J Neurophysiol.* 2003;89(1):634-9.
93. Ito M. Experimental verification of Marr-Albus' plasticity assumption for the cerebellum. *Acta Biol Acad Sci Hung.* 1982;33(2-3):189-99.
94. McCrea RA, Bishop GA, Kitai ST. Intracellular staining of Purkinje cells and their axons with horseradish peroxidase. *Brain Res.* 1976;118(1):132-6.
95. Giaquinta G, Casabona A, Smecca G, Bosco G, Perciavalle V. Cortical control of cerebellar dentato - rubral and dentate - olivary neurons. *Neuroreport.* 1999;10(14):3009-13.
96. Wegiel J, Wisniewski HM, Dziewiatkowski J, Badmajew E, Tarnawski M, Reisberg B, et al. Cerebellar atrophy in Alzheimer's disease - clinicopathological correlations. *Brain Res.* 1999;818(1):41-50.
97. Crill WE. The neurophysiology of the olivo - cerebellar system. *Int J Neurol.* 1970;7(2):294-301.
98. Dias-Ferreira E, Sousa N, Costa RM. Frontocerebellar connectivity: climbing through the inferior olive. *Front Neurosci.* 2010;4(1):37.

99. Bean AJ, During MJ, Deutch AY, Roth RH. Effects of dopamine depletion on striatal neurotensin: biochemical and immunohistochemical studies. *J Neurosci.* 1989;9(12):4430-8.
100. Liu T, Xu D, Ashe J, Bushara K. Specificity of inferior olive response to stimulus timing. *J Neurophysiol.* 2008;100(3):1557-61.
101. Rio-Hortega P. Cytology and cellular pathology of the nervous system. *Eugen Rev.* 1932;24(3):219-21.
102. Prinz M, Mildner A. Microglia in the CNS: immigrants from another world. *Glia.* 2011;59(2):177-87.
103. Azevedo FAC, Carvalho LRB, Grinberg LT, Farfel JM, Ferretti REL, Leite REP, et al. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled - up primate brain. *J Comp Neurol.* 2009;513(5):532-41.
104. Šerban M. Osnovi histologije. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2006.
105. Jyothi HJ, Vidyadhara DJ, Mahadevan A, Philip M, Parmar SK, Manohari SG, et al. Aging causes morphological alterations in astrocytes and microglia in human substantia nigra pars compacta. *Neurobiol Aging.* 2015;36(12):3321-33.
106. Sild M, Ruthazer ES. Radial glia: progenitor, pathway and partner. *Neuroscientist.* 2011;17(3):288-302.
107. Grosche J, Kettenmann H, Reichenbach A. Bergmann glial cells form distinct morphological structures to interact with cerebellar neurons. *J Neurosci Res.* 2002;68(2):138-149.
108. Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, Francke M, Wiedemann P, Skatchkov SN, et al. Müller cells in the healthy retina and diseased retina. *Prog Retin Eye Res.* 2016;51(1):1-40.
109. Kuno R, Yoshida Y, Nitta A, Nabeshima T, Wang J, Sonobe Y, et al. The role of TNF - alpha and its receptors in the production of NGF and GDNF by astrocytes. *Brain Res.* 2006;1116(1):12-8.
110. Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5(2):146-56.
111. Tacconi MT. Neuronal death: is there a role for astrocytes? *Neurochem Res.* 1998;23(5):759-65.

112. Clarke LE, Liddelow SA, Chakraborty C, Münch AE, Heiman M, Barres BA. Normal aging induces A1 - like astrocyte reactivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(8):1896-905.
113. Matias I, Morgado J, Gomes FCA. Astrocyte heterogeneity: impact to brain aging and disease. *Front Aging Neurosci*. 2019;11:59.
114. Thaler JP, Yi CX, Schur EA, Guyenet SJ, Hwang BH, Dietrich MO, et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *J Clin Invest*. 2012;122(1):153-62.
115. Valdearcos M, Robblee MM, Benjamin DI, Nomura DK, Xu AW, Koliwad SK. Microglia dictate the impact of saturated fat consumption on hypothalamic inflammation and neuronal function. *Cell Rep*. 2014;9(6):2124-38.
116. Kim JG, Suyama S, Koch M, Jin S, Argente-Arizón P, Argente J, et al. Leptin signaling in astrocytes regulates hypothalamic neuronal circuits and feeding. *Nat Neurosci*. 2014;17(7):908-10.
117. Acaz-Fonseca E, Avila-Rodriguez M, Garcia-Segura LM, Barreto GE. Regulation of astroglia by gonadal steroid hormones under physiological and pathological conditions. *Prog Neurobiol*. 2016;144(1):5-26.
118. Argente-Arizón P, Guerra-Cantera S, Garcia-Segura LM, Argente J, Chowen A. Glial cells and energy balance. *J Mol Endocrinol*. 2017;58(1):59-71.
119. Jukkola P, Guerrero T, Gray V, Gu C. Astrocytes differentially respond to inflammatory autoimmune insults and imbalances of neural activity. *Acta Neuropathol Commun*. 2013;1:70.
120. Volterra A, Liaudet N, Savtchouk I. Astrocyte Ca²⁺ signalling: an unexpected complexity. *Nat Rev Neurosci*. 2014;15(5):327-35.
121. Bezzi P, Volterra A. Identification and staining of distinct populations of secretory organelles in astrocytes. *Cold Spring Harb Protoc*. 2014;1(5):2014.
122. Frohman EM, Frohman TC, Dustin ML, Vayuvegula B, Choi B, Gupta A, et al. The induction of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression on human fetal astrocytes by interferon- λ , tumor necrosis factor α , lymphotoxin, and interleukin - 1: relevance to intracerebral antigen presentation. *J Neuroimmunol*. 1989;23(2):117-24.
123. Dani JW, Chernjawvsky A, Smith SJ. Neuronal activity triggers calcium waves in hippocampal astrocyte networks. *Neuron*. 1992;8(3):429-40.
124. Blomstrand F, Aberg ND, Eriksson PS, Hansson E, Ronnback L. Extent of intercellular calcium wave propagation is related to gap junction permeability and

- level of connexin - 43 expression in astrocytes in primary cultures from four brain regions. *Neuroscience*. 1999;92(1):255-65.
125. Hanson MG Jr, Shen S, Wiemelt AP, McMorris FA, Barres BA. Cyclic AMP elevation is sufficient to promote the survival of spinal motor neurons in vitro. *J Neurosci*. 1998;18(18):7361-71.
126. Ludwin SK. The pathology of the oligodendrocyte. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1997;56(1):111-24.
127. Fields DR. A new mechanism of nervous system plasticity: activity - dependent myelination. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(12):756-67.
128. Bartzokis G, Lu PH, Mintz J. Quantifying age - related myelin breakdown with MRI: novel therapeutic targets for preventing cognitive decline and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2004;6 Suppl 6:S53-9.
129. Nave KA. Myelination and support of axonal integrity by glia. *Nature*. 2010;468(7321):244-52.
130. Dai X, Lercher LD, Clinton PM, Du Y, Livingston DL, Viera C, et al. The trophic role of oligodendrocytes in the basal forebrain. *J Neurosci*. 2003;23(13):5846-53.
131. Streit WJ, Braak H, Del Tredici K, Leyh J, Lier J, Khoshbouei H, et al. Microglial activation occurs late during preclinical Alzheimer's disease. *Glia*. 2018;66(12):2550-62.
132. Kim SU, de Vellis J. Microglia in health and disease. *J Neurosci Res*. 2005;81(3):302-13.
133. Chan WY, Kohsaka S, Rezaie P. The origin and cell lineage of microglia: new concepts. *Brain Res Rev*. 2007;53(2):344-54.
134. Luo XG, Ding JQ, Chen SD. Microglia in the aging brain: relevance to neurodegeneration. *Mol Neurodegener*. 2010;12(5):1-9.
135. Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*. 2005;308(5726):1314-8.
136. Banati RB. Neuropathological imaging: in vivo detection of glial activation as a measure of disease and adaptive change in the brain. *Brit Med Bul*. 2003;65:121-31.
137. Taylor DL, Jones F, Kubota ES, Pockok JM. Stimulation of microglial metabotropic glutamate receptor, mGlu2 triggers TNF α - induced neurotoxicity in concert with microglial derived FasL. *J Neurosci*. 2005;25(11):2952-64.
138. Lull ME, Block ML. Microglial activation and chronic neurodegeneration. *Neurotherapeutics*. 2010;7(4):354-65.

139. Marin-Teva JL, Cuadros MA, Martin-Oliva D, Navascuès J. Microglia and neuronal cell death. *Neuron Glia Biol.* 2011;7(1):25-40.
140. Hristova M, Cuthill D, Zbarsky V, Acosta-Saltos A, Wallace A, Blight K, et al. Activation and deactivation of periventricular white matter phagocytes during postnatal mouse development. *Glia.* 2010;58(1):11-28.
141. Elizondo-Vega R, Cortes-Campos C, Barahona MJ, Oyarce KA, Carril AC, Garcia-Robles MA. The role of tanycytes in hypothalamic glucosensing. *J Cell Mol Med.* 2015;19(7):1471-82.
142. Houle JD, Tessler A. Repair of chronic spinal cord injury. *Exp Neurol.* 2003;182(2):247–60.
143. Jessen RK. Glial cells. *Int J Biochem & Cell Biol.* 2004;36(1):1861-7.
144. Vasile F, Dossi E, Rouach N. Human astrocytes: structure and functions in the healthy brain. *Brain Struct Funct.* 2017;222(5):2017-29.
145. Mucke L. Molecular profile of reactive astrocytes - implications for their role in neurologic disease. *Neuroscience.* 1993;54(1):15-36.
146. Jäkel S, Dimou L. Glial cells and their function in the adult brain: a journey through the history of their ablation. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:24.
147. Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci.* 2007;10(11):1387–94.
148. Raff MC, Barres BA, Burne JF, Coles HS, Ishizaki Y, Jacobson MD. Programmed cell death and the control of cell survival: lessons from the nervous system. *Science.* 1993;262(5134):695-700.
149. Walton NM, Sutter BM, Laywell ED, Levkoff LH, Kearns SM, Marshall GP, et al. Microglia instruct subventricular zone neurogenesis. *Glia.* 2006;54(8):815-25.
150. Sierra A, Encinas JM, Deudero JJ, Chancey JH, Enikopolov G, Overstreet-Wadiche LS, et al. Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis - coupled phagocytosis. *Cell Stem Cell.* 2010;7(4):483-95.
151. Combs CK, Karlo JC, Kao SC, Landreth GE. β -amiloid stimulation of microglia and monocytes results in TNF α - dependent expression of inducible nitric oxide synthase and neuronal apoptosis. *J Neurosci.* 2001;21(4):1179-88.
152. Patel CD, Tewari PB, Chaunsali L, Sontheimer H. Neuron - glia interactions in the pathophysiology of epilepsy. *Nat Rev Neurosci.* 2019;20:282-97.

153. Brizzee KR, Vogt J, Kharetchko X. Postnatal changes in glia/neuron index with a comparison of methods of cell enumeration in the white rat. *Progr Brain Res.* 1964;4(1):136–49.
154. Ndubaku U, de Bellard ME. Glial cells: old cells with new twists. *Acta Histochem.* 2008;110(3):182-95.
155. Bandeira FC, Lent R, Herculano-Houzel S. Changing numbers of neuronal and non - neuronal cells underlie postnatal brain growth in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(33):14108-13.
156. Hyden H. Satellite cells in the nervous system. *Sci Am.* 1961;205(6):62–70.
157. Ransom BR, Sontheimer H. The neurophysiology of glial cells. *J Clin Neurophysiol.* 1992;9(2):224-51.
158. Ridet JL, Malhotra A, Privat A, Gage FH. Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function. *TINS.* 1997;20(12):570-7.
159. Berry M, Butt AM, Wilkin G, Perry VH. Structure and function of glia in the central nervous system. In: *Greenfield's Neuropathology.* 7th ed. Bristol: Taylor & Francis; 2002.
160. Mattson MP, Arumugam TV. Hallmarks of brain aging: adaptive and pathological modification by metabolic states. *Cell Metab* 2018;27(6):1176-99.
161. Zhan Y, Paolicelli RC, Sforzini F, Weinhard L, Bolasco G, Pagani F, et al. Deficient neuron - microglia signaling results in impaired functional brain connectivity and social behavior. *Nat Neurosci.* 2014;17(3):400-6.
162. Ely JT, Krone CA. Aging: predictions of a new perspective on old data. *Exp Biol Med.* 2002;227(11):939-42.
163. Weinert BT, Timiras PS. Theories of aging. *J Appl Physiol.* 2003;95(4):1706-16.
164. Straub RH, Cutolo M, Zietz B, Schölmerich J. The process of aging changes interplay of the immune, endocrine and nervous system. *Mech Ageing Dev.* 2001;122(14):1591-611.
165. Troen BR. The Biology of Aging. *Mt Sinai J Med.* 2003;70(1):3-22.
166. Campisi J. Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence aging phenotypes. *Exp Gerontol.* 2003;38(1-2):5-11.
167. Verkhratsky AJ, Petersen OH. Neuronal calcium stores. *Cell Calcium.* 1998;24(5-6):333-43.
168. World Health Organization. *Men ageing and health: achieving health across the life span.* Geneva: World Health Organization; 2001.

169. Khutoryan BM. Quantitative characterization of the cellular elements of human cerebellar nuclei at different ages. *Neurosci Behav Physiol.* 2005;35(1):5-7.
170. Anderton BH. Changes in the aging brain in health and disease. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1997;352(1363):1781-92.
171. Anderton BH. Ageing of the brain. *Mech Ageing Dev.* 2002;123(7):811-17.
172. Wyss-Coray T, Lin C, Sanan DA, Mucke L, Masliah E. Chronic overproduction of transforming growth-factor β 1 by astrocytes promotes Alzheimer's disease - like microvascular degeneration in transgenic mice. *Am J Pathol.* 2000;156(1):139-50.
173. Pakkenberg B, Gundersen HJ. Neocortical neuron number in humans: effect of sex and age. *J Comp Neurol.* 1997;384(2):312-20.
174. Yankner BA, Lu T, Loerch P. The aging brain. *Annu Rev Pathol.* 2008;3:41-66.
175. Raz N, Rodrigue KM. Differential aging of the brain: patterns, cognitive correlates and modifiers. *Neurosci Biobehav Rev.* 2006;30(6):730-48.
176. Brody H. Organization of the cerebral cortex. III. A study of aging in the human cerebral cortex. *J Comp Neurol.* 1955;102(2):511-56.
177. Haug H, Kühl S, Mecke E, Sass NL, Wasner K. The significance of morphometric procedures in the investigation of age changes in cytoarchitectonic structures of human brain. *J Hirnforsch.* 1984;25(4):353-74.
178. Lasn H. The principal inferior olivary nucleus in aging and Alzheimer's disease [dissertation]. Stockholm, Sweden; 2006.
179. Nakamura S, Akiguchi I, Kameyama M, Mizuno N. Age - related changes of pyramidal cell basal dendrites in layers III and V of human motor cortex: a quantitative Golgi study. *Acta Neuropathol.* 1985;62(3-4):281-4.
180. Scheibel ME, Tomiyasu U, Scheibel AB. The aging human Betz cell. *Exp Neurol.* 1997;56(3):598-609.
181. Shimada A, Tsuzuki M, Keino H, Satoh M, Chiba Y, Saitoh Y, et al. Apical vulnerability to dendritic retraction in prefrontal neurones of ageing SAMP10 mouse: a model of cerebral degeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2006;32(1):1-14.
182. Luebke JI, Chang YM, Moore TL, Rosene DL. Normal aging results in decreased synaptic excitation and increased synaptic inhibition of layer 2/3 pyramidal cells in the monkey prefrontal cortex. *Neuroscience.* 2004;125(1):277-88.
183. Walhovd KB, Westlye LT, Amlien I, Espeseth T, Reinvang I, Raz N, et al. Consistent neuroanatomical age - related volume differences across multiple samples. *Neurobiol Aging.* 2011;32(5):916-32.

184. Draganski B, Ashburner J, Hutton C, Kherif F, Frackowiak RS, Helms G. Regional specificity of MRI contrast parameter changes in normal ageing revealed by voxel - based quantification (VBQ). *Neuroimage*. 2011;55(4):1423-34.
185. Vaillancourt DE, Spraker MB, Prodoehl J, Zhou XJ, Little DM. Effects on aging on the ventral and dorsal substantia nigra using diffusion tensor imaging. *Neurobiol Aging*. 2012;33(1):35-42.
186. Hanley T. "Neuronal fall - out" in the ageing brain: a critical review of the quantitative data. *Age Ageing*. 1974;3(3):133–51.
187. Devaney KO, Johnson HA. Neuron loss in the aging visual cortex of man. *J Gerontol*. 1980;35(6):836– 41.
188. Mattson MP, Magnus T. Ageing and neuronal vulnerability. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7(4):278-94.
189. Yuan J, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system. *Nature*. 2000;407(6805):802-9.
190. Schulz R. Ueber artificielle, cadaveröse und pathologische Veränderungen des Rückenmarks. *Neurologisches Centralblatt*. 1883;2(529-536):553-9.
191. Hodge CF. Changes in ganglion cell from birth to senile death. Observations on man and honey - bee. *J Physiol*. 1894;17(1-2):129-34.
192. Martinelli C, Sartori P, Ledda M, Pannese E. A study of mitochondria in spinal ganglion neurons during life: quantitative changes from youth to extremely advanced age. *Tissue Cell*. 2006;38(2):93-8.
193. Zhang C, Hua T, Zhu Z, Luo X. Age - related changes of structures in cerebellar cortex of cat. *J Biosci*. 2006;31(1):55-60.
194. Peters A, Sethares C. The effects of age on the cells in layer 1 of primate cerebral cortex. *Cereb Cortex*. 2002;12(1):27-36.
195. Bowley MP, Cabral H, Rosene DL, Peters A. Age changes in myelinated nerve fibers of the cingulate bundle and corpus callosum in the rhesus monkey. *J Comp Neurol*. 2010;518(15):3046–64.
196. Peters A, Sethares C, Luebke R. Synapses are lost during aging in the primate prefrontal cortex. *Neuroscience*. 2008;152(4):970-81.
197. Vaughkan DW. Age - related deterioration of pyramidal cell basal dendrites in rat auditory cortex. *J Comp Neurol*. 1977;171(4):501-16.
198. Esiri MM. Ageing and the brain. *J Pathol*. 2007;211(2):181-7.

199. Woodruff-Pak DS, Cronholm JF, Sheffield JB. Purkinje cell number related to rate of classical conditioning. *Neuroreport*. 1990;1(2):165-8.
200. Woodruff-Pak DS, Vogel III RW, Ewers M, Coffey J, Boyko OB, Lemieux SK. Assessed volume of cerebellum correlates with associative learning. *Neurobiol Learn Mem*. 2001;76(3):342-57.
201. Gatz M, Pedersen NL, Berg S, Johansson B, Johansson K, Mortimer JA, et al. Heritability for Alzheimer's disease: the study of dementia in Swedish twins. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1997;52(2):117-25.
202. Sapolsky RM, Uno H, Rebert CS, Finch CE. Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *J Neurosci*. 1990;10(9):2897-902.
203. Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ. Glial pathology in major depressive disorder: an approach to investigate the coverage of blood vessels by astrocyte endfeet in human postmortem brain. *Methods Mol Biol*. 2019;193(8):247-54.
204. Nag TC, Wadhwa S. Ontogeny of two calcium - binding proteins (calbindin D - 28K and parvalbumin) in the human inferior olivary complex and their distribution in the adults. *J Chem Neuroanat*. 2004;27(3):183-92.
205. Greene JRT, Radenahmad N, Wilcock GK, Neal JW. Accumulation of calbindin in cortical pyramidal cells with aging: a putative protective mechanism which fails in Alzheimer's disease. *Neuropath and Appl Neurobiol*. 2001;27(5):339-42.
206. Escobar A, Sampedro ED, Dow RS. Quantitative data on the inferior olivary nucleus in man, cat and vampire bat. *J Comp Neurol*. 1968;132(3):397-400.
207. Dickstein DL, Kabaso D, Rocher AB, Luebke JI, Wearne SL, Hof PR. Changes in the structural complexity of the aged brain. *Aging Cell*. 2007;6(3):275-84.
208. Keller JN. Age - related neuropathology, cognitive decline, and Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*. 2006;5(1):1-13.
209. Dickson DW, Schmidt ML, Lee VM, Zhao ML, Trojanowski JQ. Immunoreactivity profile of hippocampal CA2/3 neurites in diffuse Lewy body disease. *Acta Neuropathol*. 1996;87(3):269-76.
210. Rajkowska G. Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells. *Biol Psychiatry*. 2000;48(8):766-77.
211. Bakić M. Morfometrijske i imunohistohemijske karakteristike parahipokampalne kore velikog mozga čoveka tokom procesa starenja [doktorska disertacija]. Medicinski fakultet Niš; 2013.

212. Geula C, Nagykerly N, Wu CK, Bu J. Loss of calbindin - D28K from aging human cholinergic basal forebrain: relation to plaques and tangles. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2003;62(6):605-16.
213. Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1988;1(8):623-34.
214. Rodriguez MJ, Bernal F, Andres N, Malpesa Y, Mahy N. Excitatory amino acids and neurodegeneration: a hypothetical role of calcium precipitation. *Int J Dev Neurosci.* 2000;18(2-3):299-307.
215. Mark LP, Prost PW, Ulmer JW, Smith MM, Daniels DL, Strottmann JM, et al. Pictorial review of glutamate excitotoxicity: fundamental concepts for neuroimaging. *Am J Neuroradiol.* 2001;22(10):1813-24.
216. Kim GW, Chan PH. Oxidative stress and neuronal DNA fragmentation mediate age - dependent vulnerability to the mitochondrial toxin, 3 - nitropropionic acid, in the mouse striatum. *Neurobiol Dis.* 2001;8(1):114-26.
217. Peters A, Josephson K, Vincent SL. Effects of aging on the neuroglial cells and pericytes within area 17 of the rhesus monkey cerebral cortex. *Anat Rec.* 1991;229(3):384-98.
218. Verkhratsky A, Parpura V. Neuroglial and psychiatric disorders as a neuroglial failure. *Period Biol.* 2014;116(2):115-24.
219. Zlokovic BV. The blood - brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron.* 2008;57(2):178-201.
220. Lynch MA, Murphy JK, Deighan FB, O'Reilly JA, Gun'ko YK, et al. The impact of glial activation in the aging brain. *Aging Dis.* 2010;1(3):262-78.
221. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP - thirty - one years (1969-2000). *Neurochem Res.* 2000;25(9-10):1439-51.
222. Finch CE. Neurons, glia, and plasticity in normal brain aging. *Neurobiol Aging.* 2003;24 Suppl 1:S123-7.
223. Porchet R, Probst A, Bouras C, Draberova E, Draber P, Riederer BM. Analysis of glial fibrillary protein in the human entorhinal cortex during aging and in Alzheimer's disease. *Proteomics.* 2003;3(8):1476-85.
224. Pelvig DP, Pakkenberg H, Stark AK, Pakkenberg B. Neocortical glial cell numbers in human brains. *Neurobiol Aging.* 2008;29(11):1754-62.

225. Fabricius K, Jacobsen JS, Pakkenberg B. Effect of age on neocortical brain cells in 90+ year old human females - a cell counting study. *Neurobiol Aging*. 2013;34(1):91-9.
226. Sheffield LG, Berman NE. Microglial expression of MHC class II increases in normal aging of nonhuman primates. *Neurobiol Aging*. 1998;19(1):47-55.
227. Peters A, Sethares C, Moss MB. How the primate fornix is affected by age. *J Comp Neurol*. 2010;518(19):3962-80.
228. Ogura K, Ogawa M, Yoshida M. Effects of ageing on microglia in the normal rat brain: immunohistochemical observations. *Neuroreport*. 1994;5(10):1224-6.
229. Harry GJ. Microglia during development and aging. *Pharmacol Ther*. 2013;139(3):313-26.
230. Streit WJ, Sammons NW, Kuhns AJ, Sparks LD. Dystrophic microglia in the aging human brain. *Glia*. 2004;45(2):208-12.
231. Peinado MA, Quesada A, Pedrosa JA, Torres MI, Martinez M, Esteban FJ, et al. Quantitative and ultrastructural changes in glia and pericytes in the parietal cortex of the aging rat. *Microsc Res Tech*. 1998;43(1):34-42.
232. Sulzer D, Mosharov E, Talloczy Z, Zucca FA, Simon JD, Zecca L. Neuronal pigmented autophagic vacuoles: lipofuscin, neuromelanin and ceroid as macroautophagic responses during aging and disease. *J Neurochem*. 2008;106(1):24-36.
233. Lang EJ, Apps R, Bengtsson F, Cerminara NL, De Zeeuw CI, Ebner TJ, et al. The roles of the olivocerebellar pathway in motor learning and motor control. A consensus paper. *Cerebellum*. 2017;16(1):230-52.
234. Pinto AD, Lang AE, Chen R. The cerebellothalamocortical pathway in essential tremor. *Neurology*. 2003;60(12):1985-7.
235. Llinás R, Yarom Y. Oscillatory properties of guinea - pig inferior olivary neurons and their pharmacological modulation: an in vitro study. *J Physiol*. 1986;376:163-82.
236. Bushara K. We cannot cure ataxia, we can only eradicate it. *JAMA Neurol*. 2013;70(9):1099.
237. Louis ED, Babij R, Cortès E, Vonsattel JPG, Faust PL. The inferior olivary nucleus: a postmortem study of essential tremor cases versus controls. *Mov Disord*. 2013;28(6):779-86.
238. Hallett M. Neurophysiologic studies of functional neurologic disorders. *Handb Clin Neurol*. 2016;139:61-71.

239. Welsh JP, Llinás R. Some organizing principles for the control of movement based on olivocerebellar physiology. *Prog Brain Res.* 1997;114:449-61.
240. Fernandez AM, de la Vega AG, Torres-Aleman I. Insulin-like growth factor I restores motor coordination in a rat model of cerebellar ataxia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(3):1253-8.
241. Koeppen AH. The pathogenesis of spinocerebellar ataxia. *Cerebellum.* 2005;4(1):62-73.
242. Pranzatelli MR, Tailor PT. Modulation of brainstem 5-HT_{1C} receptors by serotonergic drugs in the rat. *Gen Pharmacol.* 1994;25(6):1279-84.
243. Park JH, Ryoo S, Moon SY, Seo SW, Na DL. Truncal ataxia from infarction involving the inferior olivary nucleus. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2012;21(6):507-8.
244. Gerrits NM, Voogd J, Magras IN. Vestibular afferents of the inferior olive and the vestibulo-olivo - cerebellar climbing fiber pathway to the flocculus in the cat. *Brain Res.* 1985;332(2):325-36.
245. Ito M. The molecular organization of cerebellar long-term depression. *Nat Rev Neurosci.* 2002;3(11):896-902.
246. Ozawa T, Onodera O. Multiple system atrophy: clinicopathological characteristics in Japanese patients. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2017;93(5):251-8.
247. Cavanagh JB. Is Purkinje cell loss in Leigh's disease an excitotoxic event secondary to damage to inferior olivary nuclei? *Neuropathol Appl Neurobiol.* 1994;20(6):599-603.
248. Bauman ML, Kemper TL. Neuroanatomic observations of the brain in autism: a review and future directions. *Int J Dev Neurosci.* 2005;23(2-3):183-7.
249. Welsh JP, Yamaguchi H, Zeng X H, Kojo M, Nakada Y, Takagi A, et al. Normal motor learning during pharmacological prevention of Purkinje cell long-term depression. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(47):17166-71.
250. Patay Z, Enterkin J, Harreld JH, Yuan Y, Löbel U, Rumboldt Z, et al. MR imaging evaluation of inferior olivary nuclei: comparison of postoperative subjects with and without posterior fossa syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2014;35(4):797-802.
251. Kitajima M, Korogi Y, Shimomura O, Sakamoto Y, Hirai T, Miyayama H, et al. Hypertrophic olivary degeneration: MR imaging and pathologic findings. *Radiology.* 1994;192(2):539-43.

252. Goto N, Kaneko M. Olivary enlargement: chronological and morphometric analyses. *Acta Neuropathol.* 1981;54(4):275-82.
253. Tilikete C, Desestret V. Hypertrophic olivary degeneration and palatal or oculopalatal tremor. *Front Neurol.* 2017;8:302.
254. Sabat S, Mannering N, Agarwal A. Hypertrophic olivary degeneration: Case series and review of literature. *J Neurol Sci.* 2016;370:180-6.
255. Elnekiedy A, Naguib N, Hamed W, Mekky J, Hassan HHM. MRI and neurological presentation of hypertrophic olivary degeneration. *Egypt J Radiol Nucl Med.* 2016;47(3):1019-29.
256. Ota S, Tsuchya K, Anno M, Nizato K, Akiyama H. Distribution of cerebello - olivary degeneration in idiopathic late cortical cerebellar atrophy: clinicopathological study of four autopsy cases. *Neuropathology.* 2008;28(1):43-50.
257. Yoshii F, Tomiyasu H, Watanabe R, Ryo M. MRI signal abnormalities of the inferior olivary nuclei in spinocerebellar ataxia type 2. *Case Rep Neurol.* 2017;9(3):267-71.
258. Elble RJ. Central mechanisms of tremor. *J Clin Neurophysiol.* 1996;13(2):133-44.
259. Walker C, Baborie A, Crooks D, Wilkins S, Jenkinson MD. Biology, genetics and imaging of glial cell tumours. *Br J Radiol.* 2011;84(2):90-106.
260. Shinohara Y, Kinoshita T, Kaminou T, Watanabe T, Ogawa T. Hypertrophic olivary degeneration after surgical resection of brain tumors. *Acta Radiol.* 2013;54(4):462-6.
261. Sanverdi SE, Oguz KK, Haliloglu G. Hypertrophic olivary degeneration in children: four new cases and a review of the literature with an emphasis on the MRI findings. *Br J Radiol.* 2012;85(1013):511-6.
262. Kim JS, Moon SY, Choi KD, Kim JH, Sharpe JA. Patterns of ocular oscillation in oculopalatal tremor: imaging correlations. *Neurology.* 2007;68(14):1128-35.
263. Nguyen-Vu TDB, Kimpo RR, Rinaldi JM, Kohli A, Zeng H, Deisseroth K, et al. Cerebellar Purkinje cell activity drives motor learning. *Nat Neurosci.* 2013;16(12):1734-6.
264. Barres BA. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron.* 2008;60(3):430-40.
265. Philips T, Rothstein JD. Glial cells in amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol.* 2014;256:111-20.
266. Yung YC, Chanraud S, Sullivan EV. Neuroimaging of Wernicke's encephalopathy and Korsakoff's syndrome. *Neuropsychol Rev.* 2012;22(2):170-80.

267. Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis – the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med.* 2006;354(9):942-55.
268. Lucchinetti C, Lassmann H. The neuropathology of multiple sclerosis. In: Jessen KR, Richardson WD, editors. *Glial cell development: basic principles and clinical relevance.* 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 2001.
269. Braak H, Del Tredicki K. Poor and protracted myelination as a contributory factor to neurodegenerative disorders. *Neurobiol Aging.* 2004;25(1):19-23.
270. Brosnan CF, Raine CS. The astrocyte in multiple sclerosis revisited. *Glia.* 2013;61(4):453-65.
271. Ponath G, Park C, Pitt D. The role of astrocytes in multiple sclerosis. *Front Immunol.* 2018;19:9:217.
272. Pavlović DM, Pavlović AM, Žugić S. Patogeneza Alchajmerove bolesti. *Vojnosanit Pregl.* 2007;64(11):765-72.
273. Beauquis J, Vinuesa A, Pomilio C, Pavia P, Galvan V, Saravia F. Neuronal and glial alterations, increased anxiety, and cognitive impairment before hippocampal amyloid deposition in PDAPP mice, model of Alzheimer's disease. *Hippocampus.* 2014;24(3):257-69.
274. Rodriguez JJ, Noristani HN, Verkhratsky A. Microglial response to Alzheimer's disease is differentially modulated by voluntary wheel running and enriched environments. *Brain Struct Funct.* 2015;220(2):941-53.
275. Nistér M, Uhrbom L, Hesselager G, Westermarck B. Glial tumors of the CNS. In: Jessen KR, Richardson WD, editors. *Glial cell development: basic principles and clinical relevance.* 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 2001.
276. Carmingnoto G, Haydon PG. Astrocyte calcium signaling and epilepsy. *Glia.* 2012;60(8):1227-33.
277. Lalošević D, Somer LJ, Đolai M, Lalošević V, Mažibrada J, Krnojelac D. *Mikroskopska laboratorijska tehnika u medicini.* Novi Sad: Medicinski fakultet Novi Sad; 2005.
278. Milošević NT, Ristanović D, Jelinek HF, Rajković K. Quantitative analysis of dendritic morphology of the α and δ retinal ganglion cells in the rat: a cell classification study. *J Theor Biol.* 2009;259(1):142-50.
279. Марић Д. Квантитативна и квалитативна анализа неурона зупчастог једра код човека [докторска дисертација]. Медицински факултет Нови Сад; 2010.

280. Grbatinić I, Milošević N. Classification of adult human dentate nucleus border neurons: artificial neural networks and multidimensional approach. *J Theor Biol.* 2016;404:273-84.
281. Rajković N, Krstonošić B, Milošević N. Box-counting method of 2D neural image: method modification and quantitative analysis demonstrated on images from the monkey and human brain. *Comp Math Methods Med.* 2017;8967902.
282. Milošević NT, Vraneš V. Digital images of multipolar neurons from the human dentate nucleus: topographic and morphometric analysis accompanied with the classification by cluster analysis. In: Banaszak G, Milewski J, Waliszewski P, editors. *Arithmetic Methods in Mathematical Physics and Biology*, Warszawa, Poland, 2018.
283. Costa LF, Cesar RM. *Shape analysis and classification: Theory and practice*. 1st ed. Florida: CRC Press; 2000.
284. Ristanović D, Milošević NT, Stefanović IB, Marić D, Popov I. Cell image area as a tool for neuronal classification. *J Neuronal Methods.* 2009;182(2):272-8.
285. Fernández E, Jelinek HF. Use of fractal theory in neuroscience: methods, advantages, and potential problems. *Methods.* 2001;24(4):309–21.
286. Jelinek HF, Milošević NT, Ristanović D. Fractal dimension as a tool for classification of rat retinal ganglion cells. *Riv Biol.* 2008;101:146-50.
287. Ristanović D, Milošević NT, Marić D. On the classification of normally distributed neurons: an application to human dentate nucleus. *Biol Cybern.* 2011;104(3):175-83.
288. Krstonošić B, Milošević NT, Gudović R, Marić DL, Ristanović D. Neuronal images of the putamen in the adult human neostriatum: a revised classification supported by a qualitative and quantitative analysis. *Anat Sci Res.* 2012;87(3):115-25.
289. Marin-Padilla M. Neurogenesis of the climbing fibers in the human cerebellum: a Golgi study. *J Comp Neurol.* 1985;35(1):82-96.
290. Hilgetag CC, Barbas H. Are there ten times more glia than neurons in the brain? *Brain Struct Funct.* 2009;213(4-5):365–6.
291. Lent R, Azevedo FA, Andrade-Moraes CH, Pinto AV. How many neurons do you have? Some dogmas of quantitative neuroscience under revision. *Eur J Neurosci.* 2012;35(1):1–9.
292. Herculano-Houzel S. The glia/neuron ratio: How it varies uniformly across brain structures and species and what that means for brain physiology and evolution. *Glia.* 2014;62(9):1377–91.

293. Lyck L, Santamaria ID, Pakkenberg B, Chemnitz J, Schröder HD, Finsen B, et al. An empirical analysis of the precision of estimating the numbers of neurons and glia in human neocortex using a fractionator - design with sub - sampling. *J Neurosci Methods*. 2009;182(2):143– 56.
294. Andersen BB, Korbo L, Pakkenberg B. A quantitative study of the human cerebellum with unbiased stereological techniques. *J Comp Neurol*. 1992;326(4):549– 56.
295. Alafuzoff I. Techniques in neuropathology. *Handb Clin Neurol* 2017;147:3-7.
296. Ibe CS, Onyeansi BI, Hambolu JO. Functional histology of the olivary nucleus in the African giant pouched rat (*Cricetomys gambianus*, Waterhouse-1840). *OJVR*. 2014;81(1):1-7.
297. Graveland GA, Williams RS, DiFiglia MA. Golgi study of the human neostriatum: neurons and afferent fibers. *J Comp Neurol*. 1985;234(3):317-33.
298. Mihajlović P, Zečević N. Development of the human dentate nucleus. *Human Neurobiol*. 1986;5(3):189-97.
299. Gwyn DG, Rutherford JG, Nicholson GP. An electron microscopic study of the direct spino - olivary projection to the inferior olivary nucleus in the rat. *Neurosci Lett*. 1983;42(3):243-8.
300. Foster RE, Peterson BE. The inferior olivary complex of guinea pig: cytoarchitecture and cellular morphology. *Brain Res Bull*. 1986;17(6):785-800.
301. Furber SE. A Golgi study of the development of the inferior olivary nuclear complex in the chicken. *J Comp Neurol*. 1984;225(2):244-58.
302. Vrieler N, Loyola S, Rabinowitz YY, Hoogendorp J, Medvedev N, Hoogland TM, et al. Variability and directionality of inferior olive neuron dendrites revealed by detailed 3D characterization of an extensive morphological library. *Brain Struct Funct*. 2019;224(4):1677-95.
303. Braak H, Braak E. Morphological studies of local circuit neurons in the cerebellar dentate nucleus of man. *Human Neurobiol*. 1983;2(2):49-57.
304. Крстоношић Б. Морфолошка анализа дводимензионалне пројекције неостријатума код човека [докторска дисертација]. Медицински факултет Нови Сад; 2013.
305. Chan-Palay V. Cerebellar dentate nucleus: organization, cytology and transmitters. 1st ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 1977.

306. Leal S, Anrade JP, Paula-Barbosa MM, Madeira MD. Arcuate nucleus of the hypothalamus: effect of age and sex. *J Comp Neurol*. 1998;401(1):65-88.
307. De Zeeuw CI, Chorev E, Devor A, Manor Y, Van Der Giessen RS, De Jeu MT, et al. Deformation of network connectivity in the inferior olive of connexin 36 - deficient mice is compensated by morphological and electrophysiological changes at the single neuron level. *J Neurosci*. 2003;23(11):4700-11.
308. Ko H, Hofer SB, Pichler B, Buchanan KA, Sjöström PJ, Mrsic-Flogel TD. Functional specificity of local synaptic connections in neocortical networks. *Nature*. 2011;473(7345):87-91.
309. Perin R, Telefont M, Markram H. Computing the size and number of neuronal clusters in local circuits. *Front Neuroanat*. 2013;7:1.
310. De Zeeuw CI, Simpson JI, Hoogenraad CC, Galjart N, Koekkoek SKE, Tom JH, et al. The inferior olivary network. *Trends Neurosci*. 1998;21:391-400.
311. Raz N, Torres D, Spencer WD, White K, Acker JD. Age - related regional differences in cerebellar vermis observed in vivo. *Arch Neurol*. 1992;49(4):412-6.
312. Olszewski J, Baxter D. *Cytoarchitecture of the human brain stem*. 2nd ed. Basel: Karger; 1954.
313. Wetts R, Herrup K. Interaction of granule, purkinje and inferior neurons in Lurcher chimaeric mice. *J Embriol Exp Morph*. 1982;68:87-98.
314. Watts LT, Rathinam ML, Schenker S, Henderson GI. Astrocytes protect neurons from ethanol - induced oxidative stress and apoptotic death. *J Neurosci Res*. 2005;80(5):655-66.
315. Monagle RD, Brody H. The effects of age upon the main nucleus of the inferior olive in the human. *J Comp Neurol*. 1974;155(1):61-6.
316. Villena A, Diaz F, Requena V, Chavarria I, Rius F, Perez de Vargas I. Quantitative morphological changes in neurons from the dorsal lateral geniculate nucleus of young and old rats. *Anat Rec*. 1997;248(1):137-41.
317. Ikeda K, Akyama H, Arai T, Kondo H, Haga C, Iritani S, Tsuchiya K. Alz - 50/Gallyas - positive lysosome - like intraneuronal granules in Alzheimer's disease and control brains. *Neurosci Lett* 1998;258(2):113-6.
318. Gilissen EP, Leroy K, Yilmaz Z, Kövari E, Bouras C, Boom A, et al. A neuronal aging pattern unique to humans and common chimpanzees. *Brain Struct Funct*. 2016;221(1):647-64.

319. Moreno-Garcia A, Kun A, Calero O, Medina M, Calero M. An overview of the role of lipofuscin in age - related neurodegeneration. *Front Neuroci.* 2018;12(1):426.
320. Trojanowski JQ, Lee VM. The role of tau in Alzheimer's disease. *Med Clin North Am.* 2002;86(3):615-27.
321. Porzionato A, Macchi V, Parenti A, De Caro R. Morphometric analysis of infant and adult medullary nuclei through optical disector method. *Anat Rec. (Hoboken)* 2009;292(10):1619-29.
322. Duan H, Wearne SL, Rocher AB, Macedo A, Morrison JH, Hof PR. Age - related dendritic and spine changes in corticocortically projecting neurons in masaque monkeys. *Cereb Cortex.* 2003;13(9):950-61.
323. López-Doménech G, Higgs NF, Vaccaro V, Roš H, Cárcamo-Arancibia IL, MacAskill AF, et al. Loss of dendritic complexity precedes neurodegeneration in a mouse model with disrupted mitochondrial distribution in mature dendrites. *Cell Rep.* 2016;17(2):317-27.
324. Kabaso D, Coskren PJ, Henry BI, Hof PR, Wearne SL. The electrotonic structure of pyramidal neurons contributing to prefrontal cortical circuits in macaque monkeys is significantly altered in aging. *Cer Cortex.* 2009;19(10):2248–68.
325. Alpar A, Ueberham U, Bruckner MK, Seeger G, Arendt T, Gartner U. Different dendrite and dendritic spine alterations in basal and apical arbors in mutant human amyloid precursor protein transgenic mice. *Brain Res.* 2006;1099(1):189-98.
326. de Brabander JM, Kramers RJ, Uylings HB. Layer - specific dendritic regression of pyramidal cells with ageing in the human prefrontal cortex. *Eur J Neurosci.* 1998;10(4):1261-9.
327. Mervis R. Structural alterations in neurons of aged canine neocortex: a Golgi study. *Exp Neurol.* 1978;62(2):417-32.
328. Zhang C, Zhu Q, Hua T. Effects of ageing on dendritic arborizations, dendritic spines and somatic configurations of cerebellar Purkinje cells of old cat. *Pakistan J Zool.* 2011;43(6):1191-6.
329. Andrews TJ, Daqing LI, Halliwell J, Cowen T. The effect of age on dendrites in the rat superior cervical ganglion. *J Anat.* 1994;184(Pt1):111-7.
330. Schwarz EC, Thompson JM, Connor NP, Behan M. The effects of aging on hypoglossal motoneurons in rats. *Disphagia.* 2009;24(1):40-8.

331. Grosche A, Grosche J, Tackenberg M, Scheller D, Gerstner G, Gumprecht A, et al. Versatile and simple approach to determine astrocyte territories in mouse neocortex and hippocampus. *PLoS One*. 2013;8(7):e69143.
332. Pakkenberg B, Pelvig D, Marner L, Bundgaard MJ, Gundersen HJ, Nyengaard JR, et al. Aging and the human neocortex. *Exp Gerontol*. 2003;38(1-2):95-9.
333. Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, et al. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age - related diseases. *Ageing Res Rev*. 2009;8(1):18-30.
334. Lucin KM, Wyss-Coray T. Immune activation in brain aging and neurodegeneration: too much or too little? *Neuron*. 2009;64(1):110-22.
335. Campisi J, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(9):729-40.
336. Lambert C, Chowdhury R, Fitzgerald THB, Fleming SM, Lutti A, Hutton C, et al. Characterizing aging in the human brainstem using quantitative multimodal MRI analysis. *Front Hum Neurosci*. 2013;7:462.
337. Zecca L, Youdim MB, Riederer P, Connor JR, Crichton RR. Iron, brain aging and neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5(11):863-73.
338. Liddel SA, Barres BA. Reactive astrocytes: production, function and therapeutic potential. *Immunity*. 2017;46(6):957-67.
339. Yu AC, Lau LT. Expression of interleukin - 1 alpha, tumor necrosis factor alpha and interleukin - 6 genes in astrocytes under ischemic injuru. *Neurochem Int*. 2000;36(4-5):369-77.
340. Heneka MT, O'Banion MK, Terwel D, Kummer MP. Neuroinflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neural Transm*. 2010;117(8):919-47.
341. Cerbai F, Lana D, Nosi D, Petkova-Kirova P, Zecchi S, Brothers HM, et al. The neuron - astrocyte - microglia triad in normal brain ageing and in model of neuroinflammation in the rat hippocampus. *PLoS One*. 2012;7(9):e45250.
342. Tynan RJ, Beynon SB, Hinwood M, Johnson SJ, Nilsson M, Woods JJ, et al. Chronic stress - induced disruption of the astrocyte network is driven by structural atrophy and not loss of astrocytes. *Acta Neuropathol*. 2013;126(1):75-91.
343. Kanaan NM, Kordower JH, Collier TJ. Age - related changes in glial cells of dopamine midbrain subregions in rhesus monkeys. *Neurobiol Aging*. 2010;31(6):937-52.

344. Lee KM, Chiu KB, Didier PJ, Baker KC, MacLean AG. Naltrexone treatment reverses astrocyte atrophy and immune dysfunction in self-harming macaques. *Brain Behav Immun.* 2015;50:288-97.
345. Cotrina ML, Nedergaard M. Astrocytes in the aging brain. *J Neurosci Res.* 2002;67(1):1-10.
346. Robillard NK, Lee MK, Chiu BK, MacLean GA. Glial cell morphological and density changes through the lifespan of rhesus macaques. *Brain Behav Immun.* 2015;55:60-9.
347. Giovanolli S, Notter T, Richetto J, Labouesse MA, Vuillermont S, Riva MA, et al. Late prenatal immune activation causes hippocampal deficits in the absence of persistent inflammation across aging. *J Neuroinflammation.* 2015;12:221-39.
348. Uranova NA, Vostrikov VM, Orlovskaya DD, Rachmanova VI. Oligodendroglial density in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders: a study from the Stanley Neuropathology Consortium. *Schizophr Res.* 2004;67(2-3):269-75.
349. Vostrikov VM, Uranova NA, Rakhmanova VI, Orlovskaya DD. Lowered oligodendroglial cell density in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2004;104(1):47-51.
350. Frokhan F, Yang C, Beheshti I, Matsuda H, Wu S. Age - related gray and white matter changes in normal adult brains. *Aging Dis.* 2017;8(6):899-909.
351. Solcher H. Sind faserглиosen im hirnstamm bei kindern eine physiologische erscheinung? *Acta Neuropathol.* 1973;26(1):81-4.
352. Dickson DW, Cristal HA, Mattiace LA, Masur DM, Blau AD, Davies P, et al. Identification of normal and pathological aging in prospectively studied nondemented elderly humans. *Neurobiol Aging.* 1992;13(1):179-89.
353. Conde JR, Wolfgang J, Streit J. Microglia in the aging brain. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2006;65(3):199-203.
354. Almad AA, Maragakis JN. Glia: an emerging target for neurological disease therapy. *Stem Cell Res Ther.* 2012;3(5):37.

8. ПРИЛОЗИ

8.1. Списак скраћеница

АТП - аденозин-три-фосфат
ГАВА - гама-амино-бутерна киселина
GLU - глутамат
GJ - *gap junction*
NO - азот моноксид
MDJ - мезендијенцефалично једро
IGF - *insulin-like growth factor*
DCN - *deep cerebellar nuclei*
TNF α - *tumor necrosis factor alpha*
GFAP - *glial fibrillary acidic protein*
ХОД - хипертрофична оливарна дегенерација
CRF – *corticotropin releasing factor*
NeuN - *neuronal nuclei*
BDNF - *brain derived neurotrophic factor*
NGF - *nerve growth factor*
IL - 1 β - интерлеукин један бета
IL - 6 - интерлеукин шест
5-НТ - пет-хидрокситриптамин
НА - норадреналин
DTI - *diffusion tensor imaging*
МОГ - *myelin oligodendrocyte glycoprotein*
ЦЈ - црвено једро
ГМЈ - главно маслинасто једро
мпј - медијално помоћно маслинасто једро
дпј - дорзално помоћно маслинасто једро
ЕААТ2 - *excitatory amino acid transporter two*
NMDA - *N-methyl-D-aspartate*
Miro1 - *mitochondrially targeted protein one*