

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Dr Mila V. etkovi -Milisavljevi

ANALIZA MIKROVASKULARIZACIJE I
IMUNOHISTOHEMIJSKIH
KARAKTERISTIKA GANGLIJSKIH I
EKTOPI NIH GANGLIJSKIH ELIJA
TRIGEMINALNOG NERVA

doktorska disertacija

Beograd, 2013

**UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE**

Dr. Mila V. etkovi -Milisavljevi

**ANALYSIS OF MICROVASCULARIZATION
AND IMMUNOHISTOCHEMICAL
CHARACTERISTICS OF GANGLION AND
ECTOPIC GANGLION CELLS OF
TRIGEMINAL NERVE**

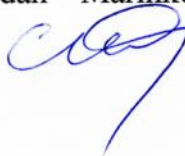
Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013



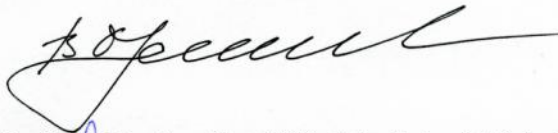
Mentor: Prof. dr Vaso Antunović, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Komentor: Prof. dr Slobodan Marinković, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu



Članovi komisije za ocenu završene doktorske disertacije:

Prof. dr Vladimir Bumbaširević, predsednik, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu



Prof. dr Danica Grujičić, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu



Prof. dr Spomenka Mujović, profesor u penziji, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu



Doktorska teza je realizovana na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu i nastala je kao rezultat ostvarivanja istraživačkih ciljeva projekata koje u okviru Osnovnih istraživanja finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, za istraživački period 2002-2015. godine.

Svom mentoru, prof. dr Vasi Antunoviću, zahvaljujem se na toleranciji, neophodnoj podršci i stručnoj pomoći u svim fazama izrade ove doktorske teze.

Želela bih da se zahvalim svom komentoru, prof. dr Slobodanu Marinkoviću, na korisnim savetima i neosebnoj pomoći u toku uobličavanja ovog rada.

Ovom prilikom se najsrdačnije zahvaljujem prof. dr Gordani Basti-Jovanović i prof. dr Veri Todorović na poverenju, izuzetnoj požrtvovanosti i uložnim naporima tokom izrade teze.

Kolektivu Instituta za histologiju i embriologiju "Dr Aleksandar Kostić" Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu zahvalna sam na razumevanju i stalnoj brizi da ne zastanem u najznačajnijim koracima na putu stručnog i naučnog usavršavanja.

Stručnom timu Galen Fokusa hvala za stalnu tehničku podršku i presudan doprinos da se zamisao teze kvalitetno pretoči u preparate, podatke i slike.

ANALIZA MIKROVASKULARIZACIJE I IMUNOHISTOHEMIJSKIH KARAKTERISTIKA GANGLIJSKIH I EKTOPI NIH GANGLIJSKIH ELIJA TRIGEMINALNOG NERVA

REZIME

Posebne mikromorfološke karakteristike vaskularizacije trigeminalnog nerva i ganglionu i bliski neurovaskularni odnosi sa okolnim sudovima, kao i njihov mogu i klinički značaj bili su prvi razlozi ove studije. Drugi cilj studije bio je da se prouče morfološke i imunohistohemijske karakteristike ektoptičkih i ganglijskih neurona u trigeminalnom nervu i ganglionu.

Krvni sudovi 25 trigeminalnih nerava odraslih osoba, posle injiciranja mešavine tuša i želatina u arterijski sistem, mikrodisekovanu su i proučavani pod stereomikroskopom. Četrdeset humanih trigeminalnih nerava i ganglionu poreklom od 20 osoba, dobijenih rutinskom obdukcijom, proučavani su posle histološkog bojenja metodom Klüver-Barrera, trihromnih bojenja Azan i Masson tehnikom i imunohistohemijskih reakcija na neke od neuronskih markera, neuropeptida i neurotransmitera.

Trigeminalne granice namenjene nervu, od dve do pet, polazile su od dve ili tri od sledećih arterija: superolateralna pontinska (92%), a. cerebelli inferior anterior (ACIA) (88%), inferolateralna pontinska (72%) i a. cerebelli superior (ACS) (12%). Trigeminalne arterijice su bile prosečno prečnika od 0,220 mm. Jedan sud je vaskularizovao bilo motorni deo trigeminalnog stabla, ili senzorni deo ili oba. Trigeminalni sudovi su formirali proksimalni i distalni arterijski prsten oko nerva. Proksimalni prsten se nalazio u nivou spoja korenog dela nerva i ponsa. Njegove centralne grane su pratile trigeminalni nerv na putu ka glavnom senzornom i motornom jedru, dok su periferne longitudinalne granice pratile snopove nerva ka ganglionu. Distalni arterijski prsten, esto nekompletan, obuhvatao je središnji deo nerva, neposredno pre njegovog ulaska u arahnoidni omotač. Najčešće neurovaskularni kontakt trigeminalnog nerva bio je sa ACS (20%), sa petroznom ili Dendijevom venom (24%) i sa ACIA (12%). Inferolateralno stablo i meningohipofizialno stablo, koja polaze od unutrašnje karotidne arterije, kao i grane srednje moždane arterije

su bili glavni sudovi koji su vaskularizovali trigeminalni ganglion. Trigeminalne arterije koje su od njih polazile su bile prosečno prečnika od 0,220 mm.

Ukupno 73 izmeštena (ektopični) neurona je tokom naših istraživanja pronađeno u 90% izučavanih osoba. Ektopični neuroni su uočeni u 65% trigeminalnih nerava, bilo u senzornom delu (32,5%), motornom delu (22,5%) ili u oba (10,0%). Dijametri ćelija varirali su od 12,3×25,1 μm do 45,1×66,7 μm (prosečno, 27,2×42,4 μm), a površine od 247 do 2256 μm² (prosečno, 945 μm²). Neurone je okruživalo 2 do 17 izduženih satelitskih ćelija po preseku. Na svim studiranim neuronima imunska reakcija je bila pozitivna na neuron specifični enolazu (NSE), protein genski product 9.5 (PGP9.5), neurofibrilarni protein (NFP) i sinaptofizin (Syn), a u nekim neuronima na peptid regulisan kalcitoninim genom (CGRP) (24,14%), holecistokinin (CCK) (13,79%), somatostatin (SST) (17,24%), supstancu P (SP) (15,52%), vazoaktivni intestinalni polipeptid (VIP) (8,62%), neuropeptid Y (NPY) (10,34%) i serotonin (Ser) (10,34%). Najčešće prisutna je bila imunska reakcija na CGRP, SST, SP i CCK. Poredili smo dobijene rezultate sa rezultatima dobijenim primenom sličnih merenja, kao i imunohistohemijskih reakcija na ganglijskim ćelijama trigeminalnog gangliona.

Proučavane karakteristike vaskularizacije trigeminalnog nerva mogu da budu korisna osnova u dekompresionoj neurovaskularnoj hirurgiji. Zaključili smo da su izmešteni neuroni u trigeminalnom nervu morfološki i imunohistohemijski identični senzornim neuronima u trigeminalnom ganglionu.

ključne reči: trigeminalni nerv; trigeminalni ganglion; trigeminalne arterije; petrozna vena; trigeminalna neuralgija; izmešteni (ektopični) neuroni; ganglijske ćelije; satelitske ćelije; imunohistohemija

Naučna oblast: Histologija i embriologija

ANALYSIS OF MICROVASCULARIZATION AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF GANGLION AND ECTOPIC GANGLION CELLS OF TRIGEMINAL NERVE

ABSTRACT

Specific micromorphological characteristics of the trigeminal nerve and ganglion blood supply and close neurovascular relationships with surrounding vessels, as well as their possible clinical significance were the first reasons for this study. The second aim of this study was to examine the morphology and the immunohistochemical features of displaced and ganglion cells in the trigeminal nerve and ganglion.

The vasculature of 25 adult trigeminal nerves and ganglions were microdissected and examined under the stereoscopic microscope, after injecting their arteries with a mixture of India ink and gelatin. Forty human trigeminal nerves and ganglions of twenty persons, obtained during routine autopsy, were examined following Klüver-Barrera, Azan and Masson trichrome histological stainings, and immunohistochemical reactions against certain neuronal markers, neuropeptides and neurotransmitters.

The trigeminal nerve vessels, which varied between two and five in number, arose from two or three of the following arteries: the superolateral pontine (92%), anterior inferior cerebellar (AICA) (88%), inferolateral pontine (72%), and superior cerebellar (SCA) (12%). The trigeminal vascular twigs had a mean diameter of 0.220 mm. A single vessel may supply either the motor portion of the nerve root, or the sensory portion or both. The trigeminal vasculature formed the proximal and distal rings. The proximal ring was located at the trigeminal root entry zone. Its central branches extended along the trigeminal nerve to the principal sensory and motor trigeminal nuclei while its peripheral longitudinal twigs followed the trigeminal nerve fascicles. The incomplete distal arterial ring embraced the middle portion of the trigeminal nerve before the level of its entrance into the arachnoid sleeve. The most frequent contact of the trigeminal nerve was noticed with the SCA (20%), the petrosal or Dandy's vein (24%), and the AICA (12%). The inferolateral trunk, the meningohypophyseal trunk, branches of the internal carotid

artery, and the middle meningeal artery were the main vessels supplying the trigeminal ganglion. The trigeminal vascular twigs had a mean diameter of 0.220 mm.

A total number of 73 displaced (ectopic) neurons were investigated, which were present in 90% of individuals studied. Displaced neurons were found in 65.0 % of the nerves, either in the sensory portion (32.5%), motor portion (22.5%) or both (10.0%). Neuronal diameter varied from 12.3×25.1 μm to 45.1×66.7 μm (mean, 27.2×42.4 μm), and in area between 247 and 2256 μm^2 (mean, 945 μm^2). Each neuron was surrounded by 2 to 17 elongated satellite cells per slice. The immune reaction was positive in all the neurons studied for neuron-specific enolase (NSE), protein gene product 9.5 (PGP9.5), neurofilament protein (NFP) and synaptophysin (Sy), and in some neurons for calcitonin gene-related peptide (CGRP) (24.14%), cholecystokinin (CCK) (13.79%), somatostatin (SST) (17.24%), substance P (SP) (15.52%), vasoactive intestinal polypeptide (VIP) (8.62%), neuropeptide Y (NPY) (10.34%), and serotonin (Ser) (10.34%). The immune reactions were most frequent against the CGRP, SST, SP and CCK. We compared obtained data with the results of the similar measurements and immunohistochemical reactions performed on ganglion cells bodies in the trigeminal ganglion.

The observed characteristics of the trigeminal nerve vasculature could be the useful basis for decompressive neurovascular surgery. We concluded that displaced neurons in the trigeminal nerve morphologically and immunohistochemically were identical with the sensory neurons in the trigeminal ganglion.

Keywords: trigeminal nerve; trigeminal ganglion; trigeminal arteries; petrosal vein; trigeminal neuralgia; displaced neurons; ganglion cell; satellite cell; immunohistochemistry

Scientific field: Histology and Embryology

S A D R Ž A J

UVOD 4

Mikroneuromorfološke i histološke karakteristike trigeminalnog gangliona 7

Imunohistohemijske karakteristike ganglijskih elija 9

Supstanca P (SP) 9

Peptid vezan za gen za kalcitonin, Calcitonin gene-related peptide (CGRP) 10

Somatostatin (SST) 11

Neuropeptid Y (NPY) 11

Vazoaktivni intestinalni polipeptid (VIP) 12

Serotonin (Ser) 13

S100 protein 13

Sinaptofizin (Sy) 14

Neuron-specifi na enolaza (NSE) 15

Protein gen produkt 9.5 (PGP9.5) 15

Glijalni fibrilarni kiseli protein (GFAP) 16

C-kit proto-onkogen (CD117)	16
Satelitske elije	17
Mikroneuromorfološke i histološke karakteristike trigeminalnog živca	19
Vezivni matriks	24
Aksoni i mijelinski omota	26
Švanove elije i oligodendrociti	31
Mijelin	31
Švanove elije	32
Oligodendrociti	35
Dužina centralnog segmenta trigeminalog nerva	37
Mikromorfološke karakteristike arterija trigeminalnog gangliona	39
Mikromorfološke karakteristike arterija trigeminalnog živca	39
Karakteristike intratrigeminalog vaskularnog sistema	43
Arterije i arteriole, venule i vene	43
Prekapilari i kapilari	46
Periciti	47
Bazi ne karakteristike embrionalnog razvoja trigeminalog kompleksa	48
Uloga neuropeptida u trigeminovaskularnom sistemu	46
Mastociti	51
CILJEVI ISTRAŽIVANJA	52
MATERIJAL I METODE	53
A) Mikromorfološka istraživanja trigeminalne vaskularizacije	53
B) Histochemijska i imunohistochemijska istraživanja trigeminalnog živca i gangliona	55
B.1. Uzorak istraživanja i njegova priprema	55
B.2. Histochemijske metode bojenja	59

REZULTATI 66

Mikromorfološke karakteristike peritrigeminalne arterijske vaskularizacije i intratrigeminalne vaskularne mreže 66

Odnosi sa bliskim krvnim sudovima 68

Mikromorfološke karakteristike perineurijalne arterijske vaskularizacije 70

Arterijska vaskularizacija motornog korena 72

Arterijska vaskularizacija senzornog korena 72

Tipovi vaskularizacije trigeminalnog korena 73

Mikromorfološke karakteristike periganglijske arterijske vaskularizacije 75

Karakteristike intratrigeminalnog vaskularnog sistema 77

Arterije i arteriole, venule i vene 78

Prekapilari i kapilari 79

Ektopi ne nervne elije 81

Mikromorfološke karakteristike ektopi nih nervnih elija 81

Imunohistohemijska analiza ektopi nih nervnih elija 85

Ganglijske nervne elije 92

Mikromorfološke karakteristike i imunohistohemijska analiza ganglijskih nervnih elija 92

Neuron-specifi na enolaza (NSE) 92

Protein gen produkt 9.5 (PGP9.5) 93

Protein neurofilamenata (NFP) 94

Sinaptofizin (Sy) 95

Peptid vezan za gen za kalcitonin (CGRP) 96

Holecistokinin (CCK) 98

Somatostatin (SST) 99

Supstanca P (SP) 101

Vazoaktivni intestinalni polipeptid (VIP) 103

Neuropeptid Y (NPY) 114

Bombezin (Bom)	115
Serotonin (Ser)	116
C-kit/CD117	117
Mastociti	120

DISKUSIJA 122

Mikromorfološke karakteristike peritrigeminalne arterijske vaskularizacije i intratrigeminalne vaskularne mreže 122

Odnosi sa bliskim krvnim sudovima 122

Mikromorfološke karakteristike peritrigeminalne arterijske vaskularizacije 123

Mikromorfološke karakteristike arterija trigeminalnog gangliona 126

Karakteristike intratrigeminalnog vaskularnog sistema 127

Ektopične i ganglijske nervne vlakne 131

ZAKLJUČCI 141

LITERATURA 143

U V O D

Termin *trigeminus* potječe od latinskih riječi *tres*-tri i *geminus*-blizanac, označava trojke. Winslow (Jakob Benignus Winslow, 1669-1760.), danski anatom, dao je nervu naziv trigeminus kao asocijaciju na njegove tri završne grane (Skinner, 1970; Persaud, 1997). Sve do XVI veka zadržala se Galenova (Galen iz Pergama, 130-200.) deskripcija 7 pari kranijalnih nerava, od kojih su 3. i 4. par pripadali sadašnjem V lobanjskom živcu (Sakai, 2003). Falopije (Gabriel Fallopius, 1523-1562.), Vealijeve uenik a kasnije predava u Padovi, uz sva značajna anatomska otkrića prvi je opisao trigeminalni kao zaseban nerv (Singer, 1957). Meckel (Johan Friedrich Meckel, 1714-1774) je posebno poznat po detaljnoj deskripciji trigeminusa 1748., u svom delu "Tractatus de quinto pare nervorum cerebri". Francois Chaussier (1746-1828) prateći grananje V kranijalnog nerva nazvao ga je *n. trifacialis* (Skinner, 1970; Persaud, 1997).

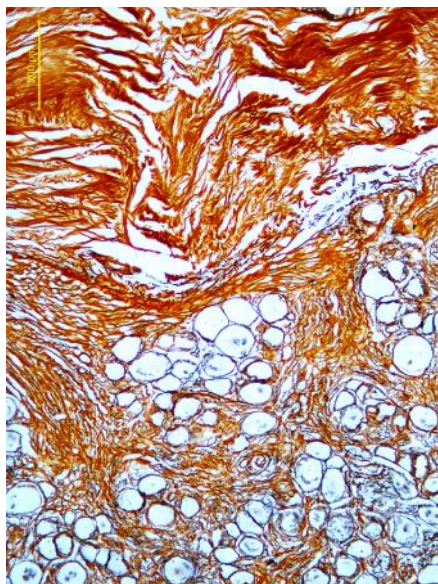
Hipokrat (Hippocrates iz Kosa, rođen oko 460 pne.), osnivač medicine i medicinske terminologije, koristio je termin *ganglion*, grčki rečnik koja označava čvor

ili tumor pod kožom. Galen je terminom ganglion nazivao složene nervne centre. Smatra se da je Vjesan (Raymond Vieussens, 1641-1716), profesor anatomije u Monpeljeu, u delu *Neurologia Universalis* iz 1685., zaslužan za sadašnje korišćenje oznake ganglion za izdvojeni skup tela nervnih elija. Ehremberg je prvi prikazao ganglijske elije na neobojenim presecima i nazvao ih je ganglijskim korpuskulima. Koliker (Rudolf Albert von Kolliker, 1817-1905), švajcarski anatom, uoio je da nervno vlakno i ganglijska elija ine celinu. Trigeminalni, Gaserov ganglion, kao što je slučaj i sa drugim ganglionima, dobio je ime prema nervu kome je pridodat, kao i prema naučniku koji ga je opisao. Gaser (Johann Ludwig Gasser, 1723-1765), profesor anatomije u Beču, iako nepoznat u naučnim krugovima, zahvaljujući predlogu svog studenta Hirša (Raymund Balthasar Hirsch) postao je slavan i za sva vremena povezan sa trigeminalnim ganglionom. Međutim, postoji i objašnjenje da je pravi predlog bio Kaserov ganglion, po imenu drugog, mnogo značajnijeg, italijanskog anatoma, Giulio Casserio (Julius Casserius, 1561-1616), koji je proučavao uvo i grkljan i objavio *Tabulae anatomicae*, umetničko delo sa anatomske detaljima, ali je greškom u izgovoru i pisanju imena ozvaničen naziv Gaserov ganglion (Skinner, 1970).

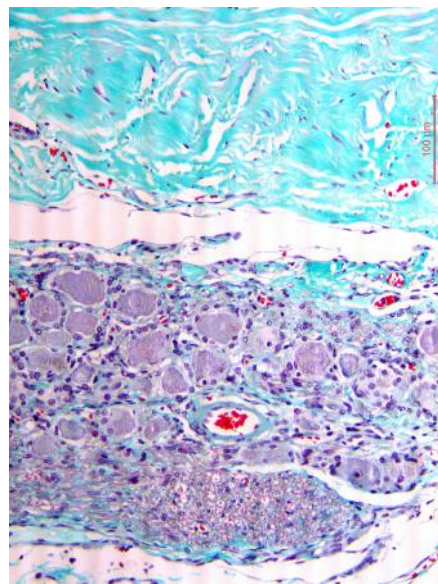
Trigeminalno stablo obuhvata trigeminalni ganglion i trigeminalni nerv. Trigeminalni ganglion, *ganglion trigeminale*, smešten u trigeminalnoj duralnoj duplji na vrhu prednje strane piramide temporalne kosti, sadrži pseudounipolarne nervne elije čiji centralni nastavci ine senzorni deo trigeminalnog nerva, a periferni formiraju tri završna senzorna nervna stabla. Trigeminalni nerv, *nervus trigeminus* (V), je najveći kranijalni nerv. Može se izdvojiti 6 segmenata nerva zavisno od njegovih anatomskih odnosa sa nervnim i koštanim strukturama. Tri segmenta prethode završnom grananju i to su: pontinski u površinskom delu ponsa (1), cisternalni, preganglijski ili prepleksusni do ulaska u Mekelovu duralnu duplju (*cavum trigeminale*) (2) i ganglijski ili pleksusni (3). Preostala tri segmenta pripadaju završnim nervnim granama: *n. ophthalmicus* (V₁), *n. maxillaris* (V₂) i *n. mandibularis* (V₃) i opisuju se postganglijski ili postpleksusni (4), foramino-fisuralni u izlazu iz lobanje izlaznim otvorima (u *fissura orbitalis superior*, *foramen rotundum*, odnosno *foramen ovale*) (5) i ekstrakranijalni segment (6), van lobanjske duplje (Williams, 1999; Ziyal i sar., 2004).

Mikroneuromorfološke i histološke karakteristike trigeminalnog gangliona

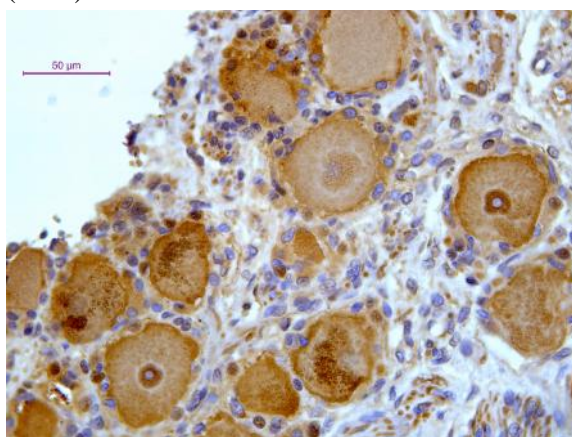
Ganglion trigeminale s. semilunare (Gasser) je najveći i senzorni ganglion glave. Leži na prednjoj strani petroznog dela temporalne kosti u blizini njegovog vrha, obavijen periganglijskim vezivnim tkivom koje je analogno perineurijumu. Smešten je u duralnoj duplji, *cavum trigeminale* (Meckel) (slike 1a, 1b). Trigeminalni ganglion je srpastog ili oblika mladog meseca. Iz njegove konkavne zadnje površine izlaze snopi i vlakana centralnih produžetaka ganglijskih elija i formiraju lepezasti pleksusni segment trigeminalnog nerva. Prednja i u šupljinu hilusa udubljena konveksna površina šalje periferne produžetke ganglijskih elija koji se udružuju u tri glavna snopa vlakana; oftalmički, maksilarni i mandibularni. U ganglionu se nalaze tri tipa neuronarni: pseudounipolarne (unipolarne) elije sfernog ili ovoidnog oblika perikariona, različite veličine, organizovanih u grupe između kojih prolaze fascikulusi mijelinizovanih ili nemijelinizovanih nervnih vlakana (slike 2a, 2b). Svaki perikarion ganglijske elije je obavijen kapsulom od plosnatih epiteloidnih, kapsularnih elija (ganglijski gliociti ili satelitske elije) (slike 2a, 2b, 3a, 3b) (Williams, 1999). Na morfološkoj osnovi ganglijske elije se tradicionalno dele na dve klase: velike svetle (A) i male tamne (B) (Gaik i sar., 1973) (slika 3b). Zna se da debela mijelinska vlakna (A) polaze od velikih svetlih A- elija, a tanka mijelinizovana (A) i nemijelinizovana (C) vlakna vode poreklo od malih tamnih B- elija. Analizom veličine izdvojeno je tri grupe ganglijskih elija: male (20-30 μm) povezane sa kutanim granama, elije srednje veličine (30-50 μm) povezane sa kornealnim vlaknima i velike elije (50-80 μm) povezane sa oralnim i perioralnim granama uključujući i zubnu pulpu (Moses, 1963; Sugimoto i sar., 1986; Lazarov, 2002). Od svake ganglijske elije odvajaju se jedan nemijelinizovani akson (dendro-aksonski nastavak) koji je izdužen u jednom delu, neposredno pre završne, T oblika bifurkacije na periferni i centralni nastavak. Periferni produžeci ganglijskih elija ulaze u sastav oftalmičke, maksilarne i mandibularne završne grane. Centralni produžeci ganglijskih elija formiraju senzorni koren trigeminalnog nerva. Po ulasku u pons centralni produžeci se najpre granaju na kratke ushodne i duge nishodne grane. Ushodne grane se završavaju na elijama *nucleus principalis*, a nishodna vlakna formiraju *tractus spinalis* i završavaju se u *nucleus spinalis nervi trigemini*.



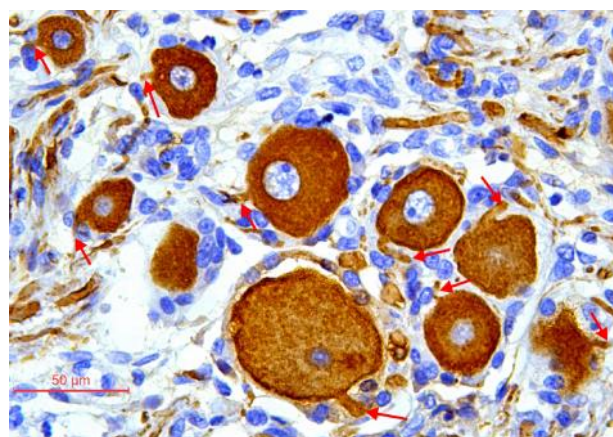
Slika 1a. Ganglion trigeminale pokriven durom. (Bojenje na retikulin) (100x).



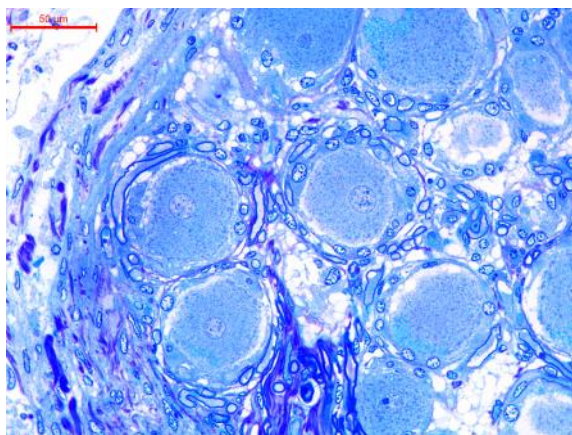
Slika 1b. Ganglion trigeminale pokriven durom. (Masson) (200x).



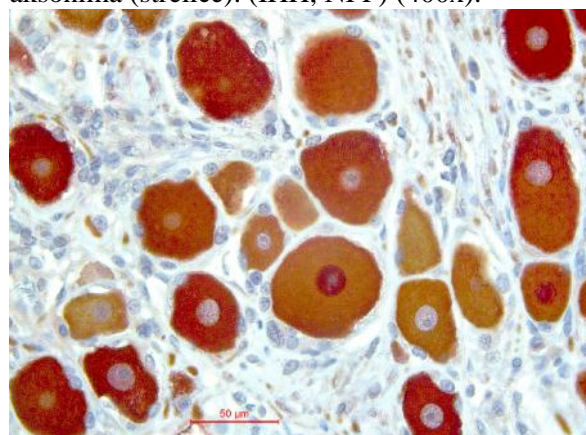
Slika 2a. Ganglion trigeminale - ganglijske elije. (IHH, PGP9.5) (400x).



Slika 2b. Ganglion trigeminale - pseudounipolarne ganglijske elije sa aksonima (strelice). (IHH, NFP) (400x).



Slika 3a. Ganglion trigeminale. (Toluidin plavo) (400x).



Slika 3b. Ganglion trigeminale – morfološki različite ganglijske elije: velike svetle i male tamne, kao i velike tamne i male svetle. (IHH, NSE) (400x).

Imunohistohemijske karakteristike ganglijskih elija

Supstanca P (SP), prvi otkriveni neuropeptid u CNS-u ranih tridesetih godina, opisan kao atropin rezistentni faktor, pripada grupi tahikinina, zajedno sa neurokininom A (NKA) i neurokininom B (NKB). U humanom trigeminalnog ganglionu izme u 16 i 32% ganglijskih elija pokazuje SP imunoreaktivnost. Najve i broj tih elija su pseudounipolarne, male do srednje veli ine (9-40 μm), bez posebnog rasporeda u ganglionu. Postojanje SP pozitivnih neurona u humanom trigeminalnom ganglionu ukazuje na postojanje SP pozitivne inervacije centralnog i perifernog trigeminalog podru ja, kao što su senzorna jedra V kranijalnog nerva, oko, nazalna mukoza i moždani krvni sudovi (Del Fiacco i sar., 1990). Reakcija je zapažena u mijelinskim A i u amijelinskim C vlaknima izme u ganglijskih elija. Posebno je uo ljiivo postojanje SP pozitivnih nervnih vlakana koja grade pericelularnu mrežu oko SP negativnih ganglijskih elija, ali bez sinapsnog kontakta (Ng i sar., 1993).

Uloga oslobo ene SP u ki menoj moždini i drugim senzornim podru jima je da u estvuje u transmisiji i modulaciji informacija vezanih za bol. Oslobo ena SP na krajevima perifernih nerava igra ulogu u antidromnim fenomenima kože, kao što su antidromna ekstravazacija plazme i vazodilatacija ili u regulaciji aktivnosti simpati kih ganglionu (Ribeiro-da-Siva, 2000). Oslobo anje SP iz trigeminalnih vlakana moždanica izaziva arterijsku vazodilataciju, degranulaciju mastocita i ekstravazaciju plazme (Messlinger i sar., 2011). SP imunoreaktivni neuroni u trigeminalnom ganglionu pokazuju dva na ina distribucije imunoreaktivnosti. U jednoj grupi elija imunoreaktivnost je bila predominantna u perinuklearnoj zoni, dok se drugoj grupi neurona raspore ivala difuzno u citoplazmi (imunoreaktivnost i).

tip imunoreaktivnosti odgovara perinuklearnoj lokalizaciji Goldži aparata, a reakcija je tipi na za distribuciju citoplazmatskih organela karakteristi nih za elije koje imaju gustu mrežu granularnog endoplazmatskog retikuluma (Kai-Kai, 1988).

Calcitonin gene-related peptide (CGRP) je, pored NKA, drugi kolokalizuju i peptid sa SP u mnogim neuronima spinalnih ganglija (Hokfelt i sar., 2001). Enkefalini, endogeni opioidni peptidi (EK) kolokalizuju sa SP u trigeminalnom ganglionu i spinalnom jedru trigeminusa i imaju inhibitorno modulatornu ulogu (Quartu i sar., 1994).

Peptid vezan za gen za kalcitonin, Calcitonin gene-related peptide (CGRP) je najšire rasprostranjen neuropeptid. Najviša koncentracija CGRP imunoreaktivnih nervnih vlakana u donjem delu moždanog stabla na ena je u površinskom sloju senzorne trigeminalne zone. CGRP imunoreaktivna vlakana su koncentrisana u spinalnom i glavnom jedru trigeminusa, kao i u jedrima solitarnog trakta. U ki menoj moždini CGRP eksprimiraju i aksoni su uglavnom nemijelinizovani ili malog dijamera mijelinizovani i grade gotovo 30% primarnih aferentnih aksona Lissauer-ovog snopa (Unger i sar., 1991).

CGRP imunoreaktivne elije ine 35-50% neurona trigeminalnog gangliona a 40-50% neurona spinalnih ganglija. Primarni somatosenzorni sistem koji sadrži CGRP polazi iz trigeminalnog gangliona, završavaju i u spinalnom trigeminalnom jedru, a iz spinalnih ganglija završava se u zadnjim rogovima ki mene moždine. Dorzalna rizotomija indukuje smanjenje CGRP do 85%. Najve i broj CGRP pozitivnih senzornih elija su malog dijametra (manje od 30 μm), okrugle ili ovalne naj eš e, imaju sporo sprovodna vlakna, nemijelinizovana C i mala mijelinizovana A , a manji broj, 10-15%, su A / (Rethelyi i sar., 1989; Lazarov, 2002).

U trigeminalnom ganglionu oko neimunoreaktivnih ganglijskih elija uo eno je postojanje pericelularnih korpastih mreža CGRP i SP imunoreaktivnih vlakana. Postojanje ovakvih pericelularnih korpastih mreža imunoreaktivnih vlakana ukazuje na mogu nost intraganglionarne interneuronske nesinapti ke interakcije (Quartu i sar., 1990; Cady i sar., 2011).

CGRP pokazuje širok spektar bioloških efekata (uklju uju i i snažnu vazodilataciju) na razna tkiva, kao što su mozak (senzorne, motorne i integrativne funkcije), srce, glatki i skeletni miši i. Ovi efekti su posredovani aktivacijom specifi nih plazma membranskih receptora. Kako su CGRP pozitivne elije lokalizovane u raznim delovima nervnog sistema to ukazuje na mogu i uticaj ovog peptida na razli ite funkcije: miris, sluh, u enje, hranjenje, autonomne funkcije i vid (Van Rossum i sar., 1997).

Nervi koji sadrže CGRP inervišu krvne sudove razli itih delova tela i deluju vazodilatatorno. Cerebralni krvni sudovi su gusto inervisani CGRP pozitivnim nervnim vlaknima poreklom iz trigeminalnog gangliona, koja dovode do dilatacije moždanih krvnih sudova, pove anja vaskularne permeabilnosti i pove avaju cerebralni protok (antidromno otpuštanje CGRP po aktivaciji). Ova vlakna otpuštaju CGRP (iako sadrže substancu P, neurokinin A, NPY i VIP) kao posledica tretmana

kapsaicinom, tokom primarne glavobolje ili cerebralnog insulta (Tsai i sar., 1988; Edvinsson, 2001). Oslobođanje CGRP iz trigeminalnih vlakana moždanica izaziva arterijsku vazodilataciju, degranulaciju mastocita i ekstravazaciju plazme, što je od značaja za razvoj migrene (Messlinger i sar., 2011). Trigeminalna nervna vlakna koja sadrže CGRP doprinose inflamaciji i bolu u inervisanim tkivima i imaju ulogu u započinjanju i održavanju periferne i centralne senzitivacije (Cady i sar., 2011).

Somatostatin (SOM ili SST ili SS), tajnovit regulatorni peptid, je prvi put opisan 1973. godine kao hormon hipotalamusa koji inhibira sekreciju hormona rasta (GH). Široka distribucija somatostatinergetičkih neurona i sst receptora u mozgu ukazuje na ulogu somatostatina u drugim neuralnim funkcijama koje nisu vezane za neuroendokrinu kontrolu. Somatostatin deluje kao važan modulator neuronske ekscitabilnosti (Dal Monte i sar., 2003).

Nađena je populacija malih ganglijskih elija u trigeminalnom ganglionu, različitih od onih koje sadrže SP, koje sadrže SST za koji se smatra da ima funkciju neurotransmitera ili neuromodulatora. Druga grupa istraživača pokazuje parcijalnu koegzistenciju SST i SP u humanom trigeminalnom ganglionu. SST imunoreaktivni (IR) neuroni su značajno malobrojniji od SP grupe i čine 8% od ukupnog broja ganglijskih elija. Slično elijama koje sadrže SP, SST-IR neuroni su osetljivi na tretman kapsaicinom. SST-IR neuroni pripadaju grupi malih ganglijskih elija koje su raspoređene bez neke vidne regionalne pravilnosti u ganglionu, razbacani između velikih, nebojenih neurona. Ultrastrukturno, imunoreaktivni materijal u neuronskoj somi je lociran u blizini Goldžijevog aparata i izgleda kao precipitat na njegovoj membrani. Nasuprot tome, nema SST imunoreaktivnosti u perikarionima senzornih neurona mezencefala kod jedra trigeminusa. Opisana je interakcija SST i SP, što uzrokuje inhibiciju otpuštanja SP, kao i posledične vazodilatacije (Lazarov, 2002).

Neuropeptid Y (NPY) prvi put je opisan 1982. godine kao peptid u moždanom tkivu. NPY je neurotransmiter koga sintetiziraju i oslobađaju neuroni, a građena je od 36 aminokiselinskih rezidua. Simpatički neuroni na periferiji predstavljaju njegov glavni izvor gde kolokalizuje sa noradrenalinom (NA). Potvrđeno je da je NPY simpatički kotransmiter koji izaziva vazokonstrikciju nezavisno od kateholamina, kao i modulator autonomnog kardiovaskularnog odgovora. NPY je takođe uključen u fenomene kao što je: anksioznost; deluje

anksioliti ki, depresija; deluje antidepresivno, zapam ivanje, regulaciju konvulzija; deluje antikonvulzivno, voljno uzimanje alkohola i droga; smanjuje uzimanje i ublažava apstinencijalne sindrome. Povoljni efekti NPY mogu e je da su rezultat njegove sposobnosti da inhibira osloba anje glutamata (Pedrazzini i sar., 2003).

Normalni trigeminalni ganglion ne poseduje NPY-IR ganglijske elije (manje od 1% svih ganglijskih elija je IR), sem nekih perivaskularnih nerava koji pokazuju NPY-IR. Kao posledica ošte enja grana trigeminusa, 14 dana po transekciji, pojavljuje se NPY imunoreaktivnost kod oko 20% srednjih do velikih ganglijskih elija (dijametra ve eg od 25 μ m) i na inicijalnim segmentima aksona. Vremenom broj IR elija opada i posle dva meseca pada na 3,5%. Funkcionalni zna aj povredom izazvane pojave NPY ostaje nerazjašnjen. Pokazano je da transekcijom stimulisani neuroni u toku regeneracije aktiviraju transkripciju peptida i transport NPY ka periferiji u nervne terminale vlakana koja se regenerišu (Wakisaka i sar., 1993; Fristad i sar., 1996; Lazarov, 2002).

Vazoaktivni intestinalni polipepid (VIP) je prvi put izolovan iz tankog creva svinje zahvaljuju i njegovoj sposobnosti da izaziva vazodilataciju krvnih sudova. Pove ava nivo cAMP u korteksu, striatumu, hipotalamusu, hipokampusu, talamusu i mezencefalonu. VIP uzrokuje glikogenolizu u korteksu, vazodilataciju izolovanih cerebralnih arterija. Pospešuje preživljavanje embrionalnih neurona ki mene moždine u kulturi. VIP obezbe uje neuroprotekciju kao rezultat sekrecije aktivnog zavisnog neurotrofi nog faktora (ADNF) i drugih citokina iz astrocita. Tokom neurogeneze VIP može stimulisati proliferaciju, diferencijaciju, rast neurita i preživljavanje neurona. On je integrativni regulator rasta i razvoja tokom embriogeneze. PACAP može da spasi neurone od smrti apoptozom i toksi nosti uzrokovane glutamatom. Zbog neuroprotektivnog efekta VIP i sli nih peptida razmatra se o njihovom koriš enju u le enju Alzheimer i/ili Parkinson-ove bolesti (Di-Cicco-Bloom i sar., 1997; Gozes i sar., 2000; Often i sar., 2000).

VIP pozitivne ganglijske elije ine 10-12% ukupnog broja neurona trigeminalnog gangliona. To je subpopulacija neurona male i srednje veli ine perikariona. VIP-IR tanka nervna vlakna i ta kaste strukture, verovatno nervni terminali, okružuju malu populaciju trigeminalnih elija. Ganglijske elije mezencefali kog jedra ne pokazuju imunoreaktivnost na VIP (Lazarov, 2002).

Serotonin (Ser) je hemijski identifikovan kao 5-hidroksitriptamin (5-HT) 1948. godine u trombocitima. Naen je u GIT-u i CNS-u i pokazano je da ima funkciju neurotransmitera i lokalnog hormona u perifernom vaskularnom sistemu. Postoji 7 glavnih 5-HT receptora, 5-HT₁₋₇. 5-HT₁ receptori postoje uglavnom u mozgu, a podtipovi se međusobno razlikuju na osnovu regionalne distribucije i farmakološke specifičnosti. Deluju kao inhibicioni presinapsni receptori tako što inhibišu adenilat ciklazu, što dovodi do smanjenja intracelularnog cAMP. 5-HT_{1A} podtip receptora je posebno važan u mozgu u regulaciji raspoloženja i ponašanja. 5-HT_{1B} podtip receptora nalazi se na moždanim arterijama (vazokonstrikcija), a među perifernim efektima izdvaja se inhibicija ekstravazacije plazme uzrokovana stimulacijom trigeminalnog gangliona. Podtip 5-HT_{1D} koji postoji na cerebralnim krvnim sudovima smatra se da je važan u nastanku migrene. 5-HT₂ receptori su posebno značajni na periferiji. Dejstvo na glatke mišiće krvnih sudova (ekscitatorno) i trombocite je posredovano 5-HT_{2A} receptorom. Deluju ekscitatorno na endotelne ćelije koje otpuštaju NO što izaziva vazodilataciju. 5-HT₃ receptori postoje uglavnom u PNS-u, posebno na nociceptivnim senzornim neuronima, ali i u CNS-u, posebno u area postrema gde su uključeni u refleks povraćanja. Preko ovih receptora koji su direktno povezani sa membranskim jonskim kanalima Ser ispoljava jak ekscitatorni efekat. 5-HT₄ receptori pojavljuju se uglavnom u enteričkom nervnom sistemu (i u CNS-u). Deluju ekscitatorno i izazivaju povećanje gastrointestinalnog motiliteta (Hoyer i sar., 2002; Rang i sar., 2003).

Oko 86 % neurona srednje veličine perikariona (30-60 µm), 9 % velikih neurona (većih od 60 µm) i oko 5% malih neurona (manjih od 30 µm) u humanom trigeminalnom ganglionu ekspresira 5-HT_{1B} i 5-HT_{1D} receptore koji kolokalizuju sa CGRP, SP i NOS. Pokazano je da 5-HT_{1B/D} agonisti ublažavaju napad migrene snižavaju i nivo oslobađanja CGRP iz trigeminalnog senzornog sistema, deluju i inhibiciono na CGRP transkripciju (Hou i sar., 2001).

S100 familija proteina je nazvana zbog njihove rastvorljivosti u 100% zasićenom rastvoru amonijum sulfata. Članovi S100 familije međusobno se razlikuju uglavnom po dužini i C-terminalnoj ekstenziji što uslovljava specifičnost biološke aktivnosti svakog proteina. Široko je prisutan u CNS-u i PNS-u. S100 proteini imaju ulogu u regulaciji proteinske fosforilacije, enzimske aktivnosti, u održavanju dinamike konstituenta citoskeleta, održavanju Ca²⁺ homeostaze, faktora

transkripcije, elijskom rastu i diferencijaciji, kao i u inflamatornim odgovorima (Donato, 2001).

Astroцити ослобађaju i експримирају S100B, који показује паракрине i аутокрине ефекте на neurone i glija елије. Njegova sekrecija je stimulirana agonistima 5-HT_{1A} receptora. Ekstracelularni S100 proteini показују regulatorne ефекte на елије инфламације, neurone, astroците, микроглијалне елије i ендотелне елије. Prisustvo S100B u raznim područjima mozga je regulirano serotoninom. Ekstracelularni S100B показује dvojni ефекat на neurone u zavisnosti od koncentracije. U malim nM dozama стимулише раст i екстензију neurita, a u većim μM dozama uzrokuje neuronsku smrt apoptozom (Pinto i sar., 2000). Pokazano je da S100B indukuje ekspresiju iNOS-a i povećava njegovu aktivnost u astroцитима (Donato, 2003). Trauma i ishemija mozga je povezana sa povišenjem koncentracije S100B, verovatno zbog destrukcije astroцита. Isti je uzrok i povišenja njegovog nivoa u neurodegenerativnim, inflamatornim i psihijatrijskim bolestima (Rothermundt i sar., 2003).

Ganglijske елије велике (> 80 μm u 93,1%) i srednje veličine (> 40 μm u 10,5%) perikariona u trigeminalnom ganglionu показују S100 imunoreaktivnost u 59% елијске популације (Ichikawa i sar., 1997).

Sinaptofizin (Sy) je glavni integralni, 38-kDa, membranski glikoprotein, jedan od najzastupljenijih u malim presinapsnim vezikulama i tako je glavni Ca²⁺ vezujući protein. Široko je zastupljen u sinapsama svih delova nervnog sistema, gde se smatra da je uključen u egzocitozu skladištenih neurotransmitera. Imunoelektronmikroskopske studije показују da se SYN pojavljuje kako u normalnim sinapsama CNS-a i PNS-a, tako i u neoplastičnim sinapsama, kao i u neuroendokriniм елијama u malim vezikulama (40-80 nm) (Wiedenmann i sr., 1988). Koristan je marker za određivanje mesta sinapsne transmisije, degeneraciju i regeneraciju sinapsi i dijagnostiku neuroendokriniх tumora. Njegova ekspresija u toku razvoja CNS-a prati sinaptogenezu i razlikuje se kod neonatusa i odrasle osobe (Rehm i sar., 1986; Schlaf i sar., 1996.).

Koncentracija SYN sa godinama se smanjuje u hipokampusu i različitim kortikalnim regionima. Kod pacijenata sa Alzheimer-ovom bolešću SYN IR je značajno redukovana u frontalnom korteksu i hipokampusu i u korelaciji je sa oštećenjem kognitivnih sposobnosti. Stimulativno dejstvo obogaćene sredine na kognitivni i neuralni razvoj ogleda se u povećanju nivoa enzima, debljine korteksa,

broja dendritskih spina i grananja, sinaptičkih kontakata i transmisije i veličine neurona. Ovo dejstvo se odražava i na značajno povećanje broja presinapsnih vezikula u frontalnom korteksu, kao i na SYN ekspresiju u hipokampusu i nekim kortikalnim regionima. Modulacija SYN može da igra ulogu u poboljšanju prostorne memorije (Frick i sar., 2003).

Podaci iz literature ukazuju na SYN IR opada oko tela motornih nervnih elija koje se nalaze na istoj strani na kojoj je izvršena transekcija nerva, gde je SYN uzet kao marker sinapsnog plasticiteta. Kod ljudi u godinama opisana su tri tipa SYN IR: intaktan tip, tačasto raspoređen oko elijskih tela i difuzan, homogeni tip (Tiraihi i sar., 2004).

SYN imunoreaktivnost u prednjim i bočnim stubovima bele mase kičmene moždine prikazuje se kao prstolike projekcije dendrita iz ivica sive mase, gde se nalaze tela elija, u unutrašnju trećinu bele mase. Ove zone prstolike imunoreaktivnosti smanjuju se i išezavaju prema periferiji i ne dostižu subpinalni sloj tkiva (Gilmore i sar., 2000).

Neuron-specifični enolaza (NSE) je glikolitički enzim (2-fosfo-D-glicerat hidrolaza) koji katalizuje interkonverziju 2-fosfoglicerata i fosfoenolpiruvata. To je dimer molekulske težine 78 000 sa tri podtipa, α , β i γ . Izoenzim α za koga je dokazano da postoji u visokim koncentracijama jedino u elijama nervnog i neuroendokrinog porekla, postao je poznat kao NSE. To je visokosolubilan citoplazmatski protein koji se po pravilu oslobađa kao posledica neuronskog oštećenja. Povišeni nivoi NSE su pokazani u cerebrospinalnom likvoru i serumu u nekoliko neuroloških poremećaja, kao što su cerebralna ishemija, intracerebralni hematomi, subarahnoidna hemoragija, cerebralna trauma i inflamatorne bolesti. Pretpostavlja se da se kao rezultat oštećenja mozga specifični neuronski i/ili glialni proteini, kao što su NSE, S-100B i GFAP, otpuštaju iz moždanih elija i pojavljuju u sistemskoj cirkulaciji verovatno direktno prošavši kroz oštećenu krvno-moždanu barijeru (Stevens i sar., 1999; Herrmann i sar., 2000; Lamers i sar., 2003).

Protein gen produkt 9.5 (PGP9.5) je jedan od glavnih proteina mozga, čini 1 do 5% svih rastvorljivih proteina mozga. PGP9.5 je citoplazmatski protein od 212 amino kiselina i nalazi se u neuronima i ganglijama, kao i u difuznim neuroendokrinim tkivima, ali ne i u drugim elijama mozga. Funkcija PGP9.5 je

nepoznata, ali je njegova tkivna distribucija paralelna sa drugim neuronskim markerom, neuron-specifi na enolaza (NSE) (Wilkinson i sar., 1989; Hamzeh i sar, 2000).

Pokazano je tako e da se PGP9.5 eksprimira u epitelnim elijama distalnih tubula, jajnim i elijama žutog tela ovarijuma, Leydig-ovim i Sertolijevim elijama. Neuron PNS-a, gangliona, migriraju i zreli neuroni mezencefalona i senzorne epitelijalne elije retine i semicirkularnih duktusa su posebno intenzivno obojeni i pokazuju i pozitivno nuklearno bojenje. Zreli neuroni ekspimiraju PGP9.5 mnogo inenzivnije od nezrelih, što je u korelaciji sa povišenjem metaboli kih aktivnosti kod njih (Schofield i sar, 1995; Sekiguchi i sar., 2003).

Glijalni fibrilarni kiseli protein (GFAP) je glavni, 8-9 nm, intermedijarni filament u zrelih astrocitima CNS-a. Kao lan citoskeletne proteinske familije smatra se da je vrlo važan u modulaciji astrocitnog motiliteta i oblika, tako što obezbe uje strukturalnu stabilnost nastavaka astrocita. Kao posledica povrede u CNS-u, kao rezultat traume ili genetskog poreme aja, astrociti postaju reaktivni i odgovaraju na tipi an na in, astroglijozom. Astroglijoza se karakteriše ubrzanom sintezom GFAP i ogleda se u pove avanju proteinskog sadržaja što se potvr uje imunocitohemijskom reakcijom sa GFAP antitelom. Biohemijske karakteristike GFAP-a su: nerastvorljivost u vodenim rastvara ima, tendencija ka agregaciji ili polimerizaciji, osetljivost na neutralne proteaze, široka rasprostranjenost astrocita koji ga sadrže. (Eddleston i sar., 1993).

Primarno GFAP je dobijen iz tkiva mozga kao plak protein kod multiple skleroze (MS). Veliki MS plak primarno se sastoji od fibroznih astrocita prožetih glijalnim filamentima i demijelinizovanih aksona (Eng i sar., 1970).

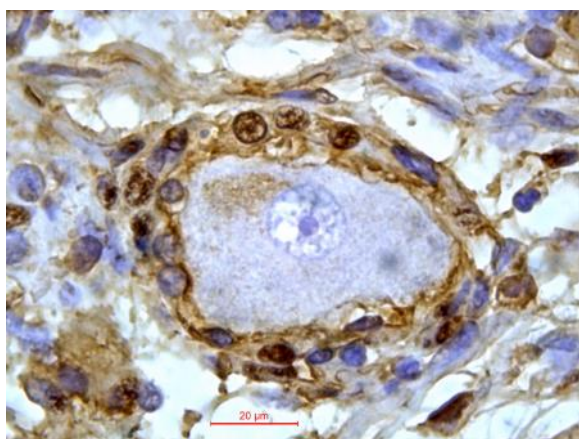
C-kit proto-onkogen (CD117, tirozin-protein kinaza kit, mast/stem elijski faktor rasta) je protein kontrolisan KIT genom. Putevi protein kinazne signalne transdukcije igraju važne uloge u regulaciji nocicepcije. Centralna uloga c-kit je u podešavanju odgovora senzornih neurona na prirodne stimulanse. C-kit omogu ava klju nu regulaciju osetljivosti nociceptora na toplotu i reguliše funkciju senzornih mehanocceptivnih neurona. Gubitak c-kit dovodi do mehanoreceptorskog hipersenzitiviteta. Me u malim senzornim neuronima c-kit protein je prisutan u TrkA

populaciji i mnogi od c-kit pozitivnih neurona koekspimiraju CGRP ili SP (Milenkovic i sar., 2007).

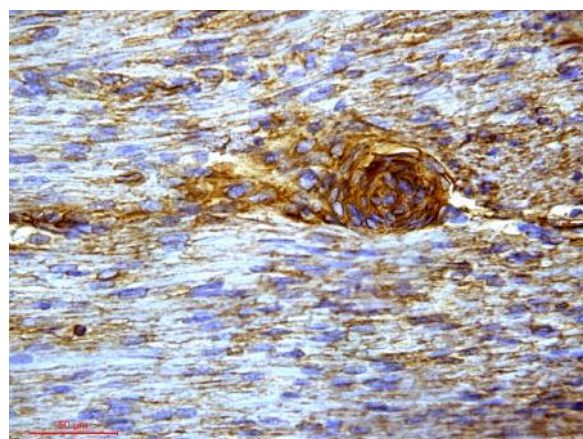
C-kit obeležava ne samo neurone ve i Kahalove intersticijalne elije, mastocite, makrofage i glijalne elije u trigeminalnom ganglionu (Rusu i sar., 2011).

Satelitske elije

Satelitske elije (S) potpuno obavijaju ganglijske, ali i ektopi ne neurone u trigeminalnom nervu u vidu jednog, a retko dva ili tri koncentri na sloja i zajedno ine morfološke i funkcionalne jedinice (slike 4, 5) (Pannese i sar. 2010). Ukoliko histološki presek prolazi kroz periferni deo ektopi nog neurona, prikazivanje dva ili više slojeva predstavlja, zapravo, pseudostratifikaciju. Me utim, mi smo zapažali slojeviti raspored S i na presecima kroz jedro ektopi nih neurona (etkovi - Milisavljevi , 2005). Ina e, umnožavanje S i formiranje više njihovih slojeva registrovano je nakon eksperimentalnog prekidanja aksona ganglijskih neurona. S su mnogo zna ajnija struktura od samo “prstena oko neurona“ (Hanani, 2005; 2010).



Slika 4. Ganglion trigeminale, ganglijska elija – slojevit raspored satelitskih elija. (IHH, S-100) (1000x).



Slika 5. Ektopi na ganglijska elija potpuno obavijena satelitskim elijama. (IHH, S-100) (400x).

Satelitske elije predstavljaju specijalan tip glija elija koje su, zbog svog perineuronskog položaja i interakcije sa ganglijskim elijama, sli ne protoplazmatskim astrocitima (Hanani, 2005). To dokazuje i injenica da satelitske elije mogu da se transformišu u astrocite, mada je zapažena i njihova transformacija

u oligodendrocite i Švanove elije. Sli nog su embrionalnog porekla kao i Švanove elije i poti u iz nervnog grebena.

Satelitske elije su male, spljoštene i tamnije od ganglijskih neurona oko kojih se nalaze. Pritom ih me usobno, ali mestimi no, povezuje pukotinasti spoj (*gap junction*). Broj ovih spojeva pove a va se ak pet puta nakon ošte enja aksona ganglijskih elija (Cherkas i sar., 2004; Jasmin i sar., 2010). Ina e, S , kao i astrociti, imaju membranski potencijal i pokazuju elektri nu aktivnost u vidu Ca^{2+} talasa.

Satelitske elije kontinuirano obavijaju senzorne elije u ganglijama, kao i ektopi ne neurone koje smo evidentirali u korenu trigeminusa. Ekstracelularni prostor izme u njih i neurona ima pre nik od samo 20 nm (Hanani, 2005; Pannese i sar. 2010). Kontinuirani sloj S štiti neurone i održava homeostazu u njihovoj mikrosredini, što odgovara nekoj vrsti krvno moždane barijere. Zbog toga neke toksine supstance, npr. jedinjenja žive, ne dopiru do neurona jer te supstance preuzimaju S . Sli no, S preuzimaju oko neurona K^+ jone, kao i GABA i glutamat, koji se zatim mogu hemijski promeniti. Tako, S pretvaraju glutamat u glutamin jer sadrže glutamin sintetazu, koja je specifi ni marker satelitskih elija (Hanani, 2005). Protektivna uloga S ogleđa se i u lu enju pojedinih neurotrofina (npr. BDNF), koji pomažu preživljavanje ganglijskih neurona. Tako e, S lu e i protektivni citokin (eritropoetin) koji smanjuje frekvencu apoptoze ganglijskih elija.

Bliski odnosi izme u satelitskih i ganglijskih elija omogu uju i njihovu me usobnu komunikaciju. Jedan od glavnih mesindžera u toj komunikaciji jeste azot oksid (NO) (Hanani, 2005). Osloba anje CGRP (SP i ATP) iz ganglijskih elija u ganglionu je signal koji pove a va njegovu sintezu i dalje osloba anje. To dovodi do ekscitacije S i iz njih osloba anja molekula inflamacije, citokina i NO, što dovodi do senzitivizacije i aktivacije neurona. Tako aktivacija neurona i S u jednom delu trigeminalnog ganglionu izaziva inflamatornu kaskadu koja uklju uje druge neurone i S (Durham i sar., 2010; Villa i sar., 2010).

S u ganglionu imaju i funkcije imunskog sistema. Imaju leukocitni fenotip, sa karakteristikama makrofaga tako da kontrolišu lokalne virus specifi ne T elije i štite ganglijske elije inficirane herpes virusom od ošte enja, kao i neinficirane elije od infekcije (Velzen i sar., 2009).

Satelitske elije imaju veliki broj razli itih receptora za koje se, izme u ostalog, vezuju razne supstance sa nociceptivnim efektom. Tako, S sadrže ET_B receptore za endotelin, B_2 receptor za bradikinin, P_2 receptore za ATP, kao i

kanabinoidni receptor CB1 (Hanani, 2005, Weick i sar., 2003; Gu i sar., 2010). Zato se smatra da S imaju ulogu u genezi neuropatskog bola u raznim oboljenjima, a verovatno i u neuralgiji trigeminusa (Cherkas i sar., 2004; Villa i sar., 2010). Ulogu u ovom domenu imaju i citokini, prostaglandini i pojedini faktori rasta (BDNF) koje luče satelitske elije. Zahvaljujući i svemu navedenom, S vrše senzitivizaciju ganglijskih neurona, što dovodi do njihove spontane električne aktivnosti (Hanani, 2005; Suadicani i sar., 2010).

Intersticijalne elije (I, slične Kahalovim intersticijalnim elijama), vretenastog oblika sa dugim nastavcima, su uglavljene u perielijski pokrivač ganglijskih elija trigeminalnog ganglion sačinjen od S. Kako je površina tela ganglijske elije neravna i prekrivena brojnim perikarijalnim produžecima pretpostavlja se da njihov direktan kontak sa S i I ima značaj za procese međusobne interakcije (Popescu i sar., 2010; Rusu i sar., 2011).

Mikroneuromorfološke i histološke karakteristike trigeminalnog živca

Intrakranijalnim delom trigeminalni nerv se pruža od trigeminalnog ganglion (*ganglion trigeminale*) do lateralnog dela ventralne površine ponsa u nivou rostralnog segmenta pedunculus cerebellaris mediusa. Smešten je u gornjem delu pontocerebelarne cisterne (*cisterna pontocerebellaris*) subarahnoidnog prostora (*spatium subarachnoideum*) zajedno sa VII i VIII kranijalnim nervima i *a. cerebelli inferior anterior*. Arahnoidna opna neposredno pred duralni porus prijanja kao rukav, obavija i prati trigeminalni nerv i nastavlja oko trigeminalnog ganglion (Yasargil, 1984).

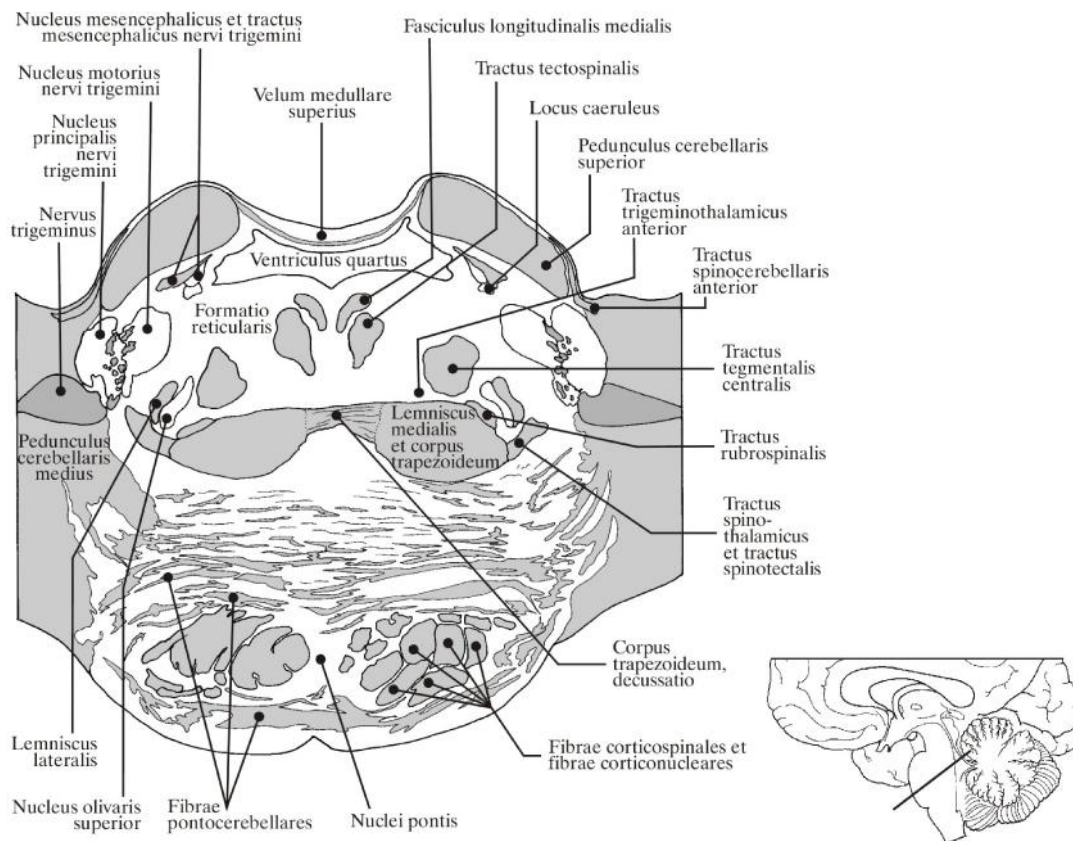
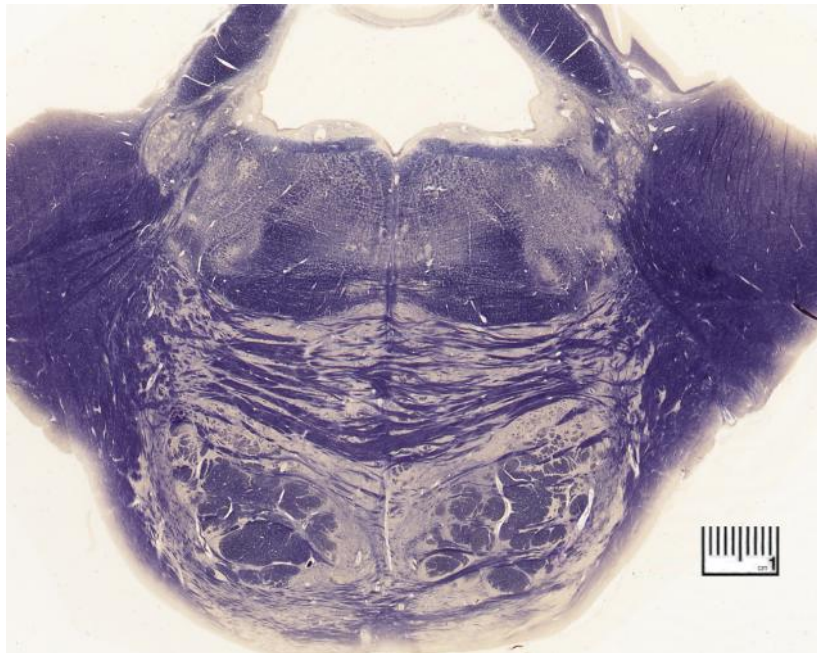
Nerv se sastoji se od dva dela ili korena, debljeg senzitivnog ili senzornog (*radix sensoria*) i tanjeg motornog (*radix motoria*). Po etni deo motornog korena izbija iz ponsa sa nekoliko korena i a koji su najčešće neposredno rostralno (iznad), rostralno i rostromedijalno i rostroventralno od senzornog korena. Motorni snopovi prate i sa medijalne strane se podvlače pod senzorni koren i semilunarni ganglion da bi se pridružili mandibularnoj grani. Senzorni koren ulazi u pons približno na sredini između njegove gornje i donje granice (*fossa prepontina* i *fossa postpontina*). Na preseku uz sam pons senzorni koren je oblika elipse sa uglom od 40°-50° između dužeg prečnika i uzdužne osovine ponsa. U okviru korenog dela trigeminusa senzorna vlakna tri završna stabla ostaju na okupu i bez obzira na manju ili veću rotaciju

zadržavaju topografsku lokalizaciju od gangliona ka ponsu; V₁ dorzomedijalno, V₂ u sredini i V₃ ventrolateralno (Gudmundsson i sar., 1971; Emmons i sar., 1971; Pelletier i sar., 1974; Stechison i sar., 1996; Hatayama, 2004).

Senzorna (senzitivna) nervna vlakna u sastavu V kranijalnog živca prenose kako eksteroreceptivne tako i proprioceptivne impulse. Eksteroreceptivni impulsi: ose aj bola, promene temperature i dodira (nociceptivne, termalne i taktilne senzacije), prenose se sa kože lica, sluznice nosne i usne duplje, zuba i najvećeg dela kranijalne dure mater. Vlakna iz pojedina nih kožnih taktilnih receptora i iz sekundarnog završetka miši nih vretena pripadaju grupi II senzornih nerava ili A₁ i A₂, prose nog dijametra oko 8 mikrometara (µm). Vlakna koja prenose ose aj promene temperature, grubog dodira i ubodnog bola su vlakna tipa A₁, prose nog pre nika 3 µm. Vlakna tipa A₂ su tipa mijelinizovana vlakna. Vlakna koja prenose ose aj promene temperature, grubog dodira, bola i svraba su nemijelinizovana vlakna tipa C, prose nog pre nika 0,5 - 2 µm. Proprioceptivni impulsi: ose aj stati kog položaja i kretanja (kinestezija) i dubokog pritiska, prenose se iz zuba, periodoncijuma, nepca, ligamenata temporomandibularnog zgloba i mastikatornih miši a. Vlakna iz anulospiralnih završetaka miši nih vretena pripadaju grupi Ia senzornih nerava ili A₁, prose nog pre nika oko 17 µm. Motorna (branhiomotorna) nervna vlakna u sastavu V kranijalnog živca inervišu mastikatorne miši e, m. tensor tympani, m. tensor veli palatini, m. mylohyoideus i venter anterior m. digastrici. Motorna nervna vlakna su mijelinizovana tipa A₁, prose nog dijametra 14 µm (Carpenter, 1991; Guyton, 1991; Guyton i sar., 2003).

Elektrofiziološka ispitivanja su pokazala da se proprioceptivna vlakna iz mastikatornih miši a isključivo pružaju kroz motorni koren trigeminalog živca. Nervna vlakna odgovorna za termalne stimulanse se uniformno raspoređuju u senzornom korenu trigeminalog živca. Kako nociceptivni i termalni sistemi imaju sličnu neuroanatomsku distribuciju proizilazi da se i nervna vlakna odgovorna za modalitet bola u nervu takođe uniformno raspoređuju (Pelletier i sar., 1974). Studije tokom kojih su selektivno presećani delovi trigeminalog korena a potom su analizirane zone degeneracije u trigeminalnim jedrima potvrdile su da ne postoje posebna područja korenog stabla trigeminusa gde se grupišu vlakna iz sve tri završne grane koja odgovaraju istom modalitetu ose aja (Kerr, 1963; Emmons i sar., 1971).

Nucleus principalis nervi trigemini leži u rostralnom delu ponsa, lateralno od motornog jedra trigemina. Sadrži male i srednje neurone na kojima se završavaju vlakna koja provode impulse taktilnih senzacija i senzacija pritiska (slika 6).

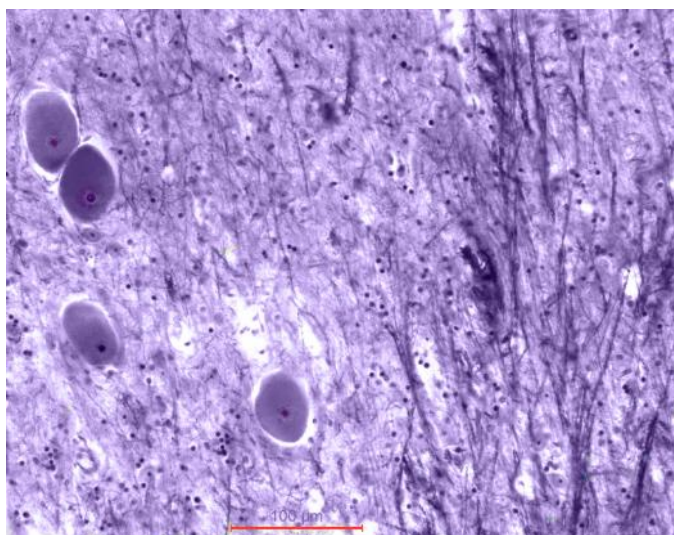


Slika 6. Transverzalni presek kroz srednju trećinu ponsa (Klüver-Barrera)

Nucleus (tractus) spinalis nervi trigemini je dugo jedro koje iz ponsa nastavlja kroz produženu moždinu sve do zadnjih rogova kičmene moždine u visini prva tri cervikalna segmenta. Uobičajeno se deli na tri segmenta. Dva mala, gornja dela, pars oralis i pars interparietalis, primaju senzorna taktilna vlakna iz usta i nosa. Glavni i najveći deo, pars caudalis, prima taktilne, nociceptivne i termalne informacije iz područja glave. Kaudalni deo spinalnog jedra na preseku podsećajući na četiri lamine zadnjih rogova kičmene moždine. Lamine III i IV su označene kao magnocelularni slojevi. Čelije u lamini I i spoljašnjem delu lamine II su nociceptivni specifični neuroni, a vlakna koja sadrže supstancu P i enkefaline završavaju se na čelijama lamine I (Carpenter, 1991; FitzGerald, 1996; Williams, 1999).

Aksoni koji polaze od čelija *nucleus principalis* i *nucleus (tractus) spinalis nervi trigemini* uglavnom se ukrštaju i prelaze na suprotnu stranu. Formiraju snop, *tractus trigeminothalamicus anterior* i pridružuju se *lemniscus medialis*. Manji, neukršteni deo je *tractus trigeminothalamicus posterior*. Vlakna se završavaju u *nucleus ventralis posteromedialis thalamus*. Aksoni čelija thalamus nastavljaju do donjeg dela somatosenzornog korteksa, do širokog područja za lice. Aksoni iz senzornih jedara odlaze i u kičmenu moždinu, retikularnu formaciju, jedra kranijalnih živaca i mali mozak. Ova vlakna su uključena u veliki broj refleksa (suzenje, salivacija, povraćanje, kihanje) od kojih je kornealni refleks među najvažnijima (Carpenter, 1991; FitzGerald, 1996; Williams, 1999).

Nucleus mesencephalicus nervi trigemini je uzano jedro smešteno uz spoljašnju granicu periakveduktne sive mase, od nivoa motornog jedra pa sve do rostralne granice mezencefalona. Čelije ga velike pseudounipolarne čelije što jedro čini jedinstvenim u CNSu, tako da ima sve karakteristike senzornog gangliona formiranog migracijom ganglijskih čelija tokom embrionalnog razvoja (slika 7). Periferni produžeci ganglijskih čelija polaze iz proprioceptivnih receptora glave. Centralni produžeci ganglijskih čelija obrazuju *tractus mesencephalicus*, snop vlakana koji podsećajući na srp, koja se završavaju na čelijama motornog jedra kao i *nucleus supratrigeminalis*, tako da se ceo kompleks jedara uključuje u kontrolu mastikacije.



Slika 7. Nucleus mesencephalicus n. trigemini - ganglijske elije uz tractus mesencephalicus (vlakna desno od elija), (Klüver-Barrera) (200x).

Nucleus motorius nervi trigemini ini ovalan stub velikih motoneurona neposredno medijalno od nucleus principalis (slika 6). Na njegovom gornjem polu izdvaja se grupica elija retikularne formacije, označena kao nucleus supratrigeminalis, značajnih za automatsku kontrolu mastikacije. Svesnu kontrolu žvakanja vrši primarno motorno kortikalno polje preko vlakana kortikonuklearnog puta, koji bilateralno inerviraju motorno jedro trigeminusa (Keusters 1986; Carpenter, 1991; FitzGerald, 1996; Marinković i sar., 1998; Go i sar., 2001).

Nervna vlakna kranijalnih živaca pružaju se u malim snopovima nazvanim fascikulusi, koji su u kontinuitetu usmereni od centra ka periferiji. Pojedina ili grupe vlakana mogu da napuštaju fascikulus i pridružuju se drugom, što označavamo anastomozama fascikulusa. Velikina, broj i način grananja fascikulusa je drugačiji kod različitih nerava na različitim nivoima. Vezivni omotač okružuje kako celitavo nervno stablo (epineurium), fascikuluse (perineurium), tako i pojedina nervna vlakna (endoneurium).

Epineurium ima mezodermalno poreklo i građeno je od kondenzovanog vezivnog tkiva. Sadrži fibroblaste, kolagen tipa I i III i promenljivu količinu masnog tkiva. U njemu se nalaze i krvni sudovi (vasa nervorum).

Perineurium se pruža od prelazne zone centralnog dela nerva, gde ga čini pia mater, ka periferiji. Sadrži slojeve pljosnatih poligonalnih elija (porekla od fibroblasta). Ove elije karakteristično sadrže brojne pinocitozne vezikule i često snopove mikrofilamenata. Prisustvo vezikula i nalazi da su perineurialne elije bogate

enzimima fosforilacije dokazuju da je perineurium metabolički aktivna barijera. Pretpostavlja se da perineurium zajedno sa krvno-nervnom barijerom igra važnu ulogu u održavanju osmotskog pritiska unutar fascikulusa.

Endoneurium obuhvata intrafascikularno vezivno tkivo isključujući i perineurijalne pregrade unutar fascikulusa. Građen je od kolagena tipa I uglavnom organizovanog u snopove paralelne duž osovini nerva. Kondenzovan je oko endoneurijumskih sudova i nervnih vlakana. Fibrozne i elijske komponente endoneurijuma utopljene su u endoneurijumsku tečnost koja ima diskretno veći pritisak u pore nego sa pritiskom u epineurijumu. Smatra se da je funkcija ove razlike u pritiscima da smanji endoneurijalnu kontaminaciju nervnih vlakana toksinima supstancama. Glavni elijski sastav endoneurijuma su Švanove elije povezane sa aksonima i endotelijalne elije. Ostale elije koje su prisutne u endoneurijumu su fibroblasti (4% od svih prisutnih elija), makrofagi (4%) i mastociti (retki u humanim živcima).

Endoneurijumski sadržaj perifernog nerva je zaštićen krvno-nervnom barijerom i celularnim elementima perineurijuma. Barijera postoji na nivou zidane nefenestriranih endoneurijumskih kapilara, gde su endotelne elije povezane «tight junction» vezama i okružene kontinuiranom bazalnom laminom (Rhodin, 1974; Peters i sar. 1976; Davis i sar., 1997).

Vezivni matriks

Površinski deo primarnih i sekundarnih fascikulusa korena trigeminusa predstavlja perineurijum, dok u unutrašnjosti fascikulusa postoji endoneurijum (Peters i sar. 1976).

Perineurijum trigeminalnog nerva formiraju fibroblasti i kolagena vlakna (Slika 8a). Pod svetlosnim mikroskopom, na poprečnim preseccima, perineurijum je u vidu kružnog i tankog, ali slojevitog omotača. Fibroblasti formiraju dva ili više redova, mada su mestimično prisutni samo u jednom sloju.

Pod elektronskim mikroskopom fibroblasti su obično zdepasti, sa talasastom abneuralnom površinom. Centralno postavljeno jedro je veliko, sa veći omkoliinom difuzno raspoređenog heterohromatina i s nukleolusom karakteristične ultrastrukture.

Citoplazma sadrži sve vrste organela, sa izraženim poliribozomima i granuliranim endoplazmatskim retikulumom.

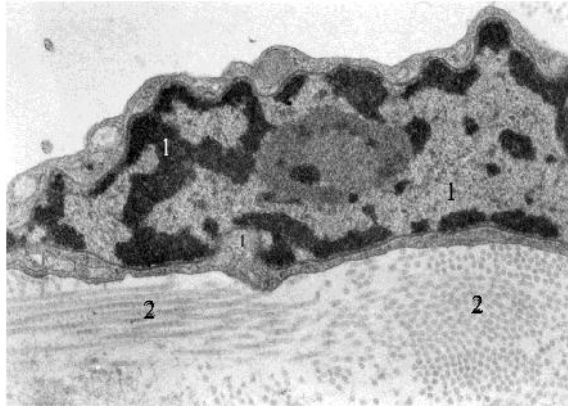
Kolagena vlakna su gusto poreana. Mada su neki snopi i postavljeni koso, dominira longitudinalna orijentacija, tj. paralelna sa uzdužnom osovinom fascikulusa. Kolagena vlakna su debela, sa karakterističnim strijacijama (slika 8a). Kroz vezivnu stromu prolaze manji krvni sudovi, od kojih se odvajaju ogranci za unutrašnje delove fascikulusa (Četković i Milisavljević, 2005).

Perineurijum ostalih živaca je sličan istom vezivnom omotaču u korena trigemina (Rhodin, 1974; Peters i sar. 1976; Davis i sar., 1997). Razlika je u tome što su fibroblasti više spoljošteni i što u velikim perifernim živcima formiraju čak do deset slojeva oko fascikulusa.

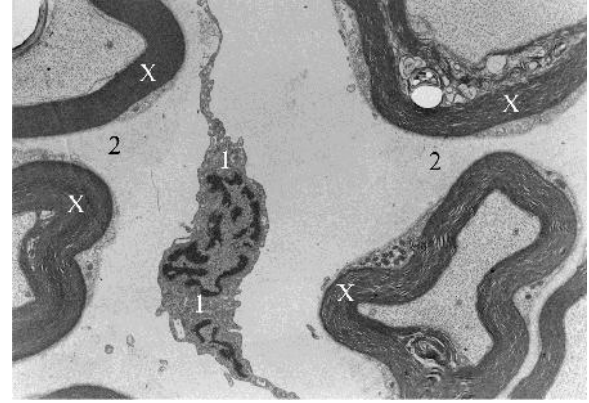
Endoneurijum oko pojedinačnih aksona formiraju Švanove elije, fibroblasti i kolagena vlakna (slika 8b). Fibroblasti obuhvataju do 25% elijskih profila endoneurijuma, dok ostatak pripada Švanovim elijama.

Fibroblasti su izduženi, nepravilne površine, bez bazalne lamine, sa nešto bleim jedrom i sa veomali granuliranim endoplazmatskim retikulumom i mikrofilamentima, sa velikim brojem malih produžetaka (slike 8a, 8b). Produžeci sa somom elije mestimi formiraju džepove ispunjene kolagenim fibrilama. Svaki fibroblast ima po dva ili više jako dugih i tankih produžetaka (slika 8b), koji stupaju u kontakt sa produžecima susednih fibroblasta. Svojim produžecima međusobno se povezuju najčešće po tipu interdigitacija. Fibroblasti sa svojim produžecima redovno obavijaju po nekoliko mijelinskih vlakana (slika 8b), a ne pojedinačne aksone.

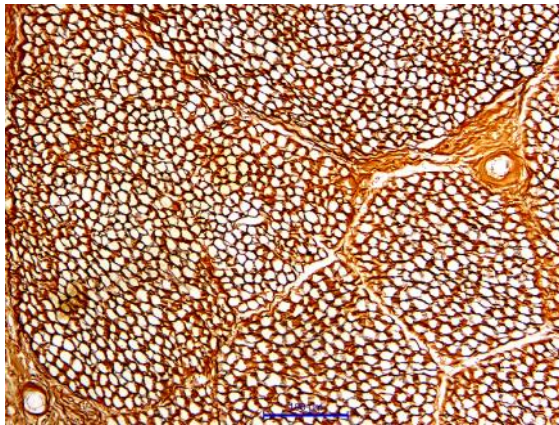
Kolagena vlakna endoneurijuma su tanka. Pod svetlosnim mikroskopom smo zapazili da vlakna formiraju razne, talasaste snopove. Fina kolagena vlakna u spoljašnjem delu endoneurijuma pružaju se longitudinalno, a oko samih Švanovih elija i aksona raspoređena su u raznim pravcima. Najgušća vlakna ispunjavaju uzane prostore između susednih aksona (slike 8b, 9a, 9b) (Peters i sar. 1976; Chernousov i sar., 2000; Četković i Milisavljević, 2005).



Sl. 8a. Fibroblast (1) i kolagena vlakna (2) perineurijuma. (EM) (21000x).



Sl. 8b. Fibroblast (1) i kolagena vlakna (2) endoneurijuma između 4 mijelinskih aksona (X). (EM) (12000x).



Sl. 9a. Retikulinska vlakna endoneurijuma fascikulusa trigeminusa na poprečnom preseku. (Bojenje na retikulin, 200x).



Sl. 9b. Retikulinska vlakna endoneurijuma fascikulusa trigeminusa na uzdužnom preseku. (Bojenje na retikulin, 400x).

Aksoni i mijelinski omota

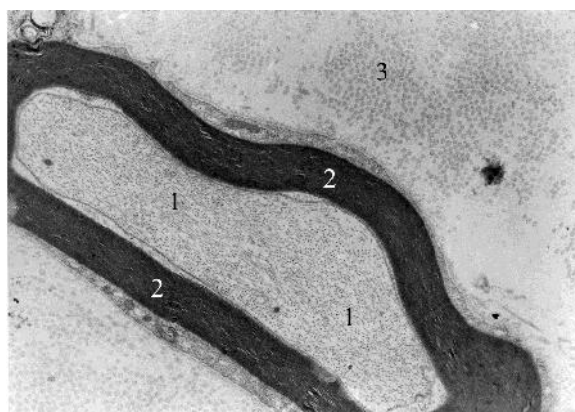
Aksoni se najbolje vizuelizuju primenom imunohistohemijske reakcije na neurofibrilarni protein (NFP) (slike 74, 75). Na uzdužnim presecima preko pojedinih aksona je konstantan, osim u nivou Ranvijevog nodusa, gde je prenik veći.

Pod elektronskim mikroskopom jasno se zapaža aksolema i aksoplazma sa određenim organelama i delovima citoskeleta (slika 10). Aksolema kontinuirano obavija aksoplazmu i amijelinskih i mijelinskih vlakana. U poslednjem slučaju, postoji vrlo uzak periaksonski prostor između aksoleme i unutrašnjeg dela mijelinskog cilindra. Ovaj prostor je samo mestimično, u pojedinim mijelinskim vlaknima, delimično proširen (slike 10, 20).

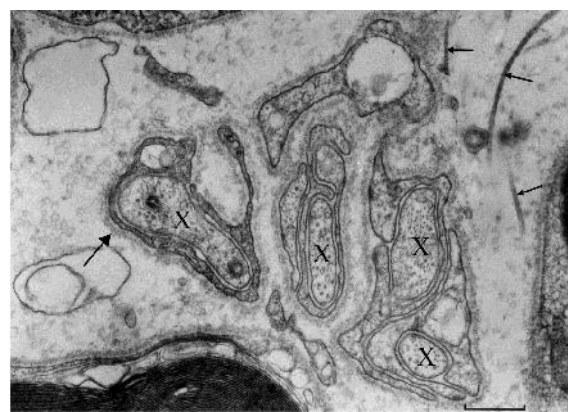
U aksoplazmi postoji veliki broj neurofilamenata i mestimi no mikrotubula, koji se pružaju paralelno sa uzdužnom osovinom aksona (slika 10). Tako e se zapažaju mitohondrije i povremeno delovi glatkog endoplazmatskom retikuluma (slika 20), dok ribozomi nisu prisutni (etkovi -Milisavljevi , 2005).

Morfološke i ultrastrukturne osobine aksona trigeminusa iste su kao i u drugim perifernim žvcima (Rhodin, 1974; Peters i sar., 1976; Davis i sar., 1997). U raznim oboljenjima zapažaju se odre ene ultrastrukturne promene aksona nerava. Tako, u slu aju neuralgije trigeminusa u predelu neurovaskularne kompresije postoji degeneracija aksona, koja se manifestuje pojavom ogromnog broja neurofilamenata i džinovskih mitohondrija u aksoplazmi (Deevor i sar., 2002). Pojedini aksoni pokazuju znake atrofije. Neki aksoni su edematozni. U nivou fokalne demijelinizacije aksoni su ogoljeni. Po nekoliko ovakvih aksona me usobno su u kontaktu, što predstavlja osnovu za pojavu efapti ke transmisije. Najzad, u centru kompresije korena trigeminusa postoji potpuna destrukcija aksona (Marinkovi i sar., 2009).

Na osnovu svog odnosa prema mijelinskom omota u, razlikuju se dve vrste aksona, mijelinski i amijelinski. Amijelinske aksone okružuju jedan ili više produžetaka Švanovih elija pokrivenih bazalanom laminom (slika 11). Ultrastruktura ovih nervnih vlakana ista je kao i kod mijelinskih aksona.



Sl. 10. Popre ni presek aksona (1) i njegovog mijelinskog omota a (2). (3) kolagena vlakna. (EM) (20000x).

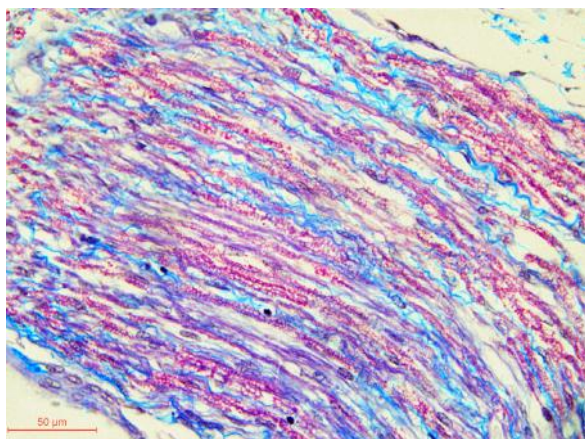


Sl. 11. etiri amijelinska aksona (X) na popre nom preseku, obavijena produžecima Švanovih elija na ijoj površini se zapaža bazalna lamina (velika strelica). Uzdužno prese ena kolagena vlakna (male strelice). (EM) (28000x).

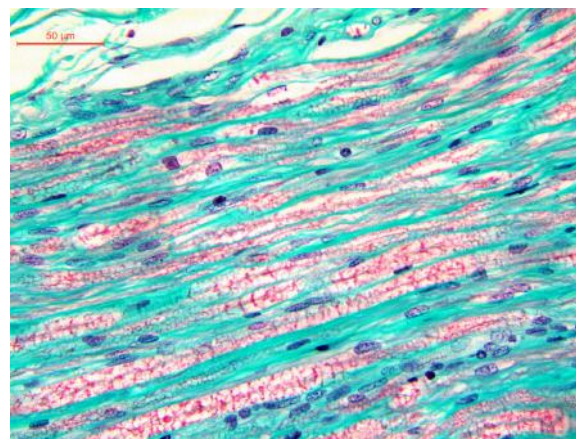
Mijelinski omota oko aksona prikazuje se primenom histochemijskih bojenja (Azan, Kliver-Barera, Mason, toluidin plavo), a naročito imunohistochemijskim reakcijama na mijelin bazni protein (MBP).

Na isečcima bojenim po Azanu mijelinski omota i se boje intenzivno crvenom bojom (slika 12). Primenom metode po Masonu dobijaju se purpurno crveni mijelinski omota i (slika 13). Bojeni po metodi Klivera i Barere omota i su plave boje (slika 14). Primenom monoklonskih antitela na mijelinski bazni protein (MBP) perifernih mijelinskih omota a dobija se mrka boja omota a (slika 15). Mijelinski omota i su različitog gustine u dva osnovna dela trigeminusa. Njihova gustina je izrazito veća u motornom nego u senzornom delu živca, što se jasno zapaža i na transverzalnim (slika 16) i na uzdužnim presecima (slika 17). Drugim rečima, intermijelinski (endoneurijumski) prostor je mnogo manji u motornom nego u senzornom delu trigeminusa. Intenzivnom plavom bojom s primesom ljubičaste prikazuju se mijelinski omota i nakon bojenja toluidin plavim (slika 18).

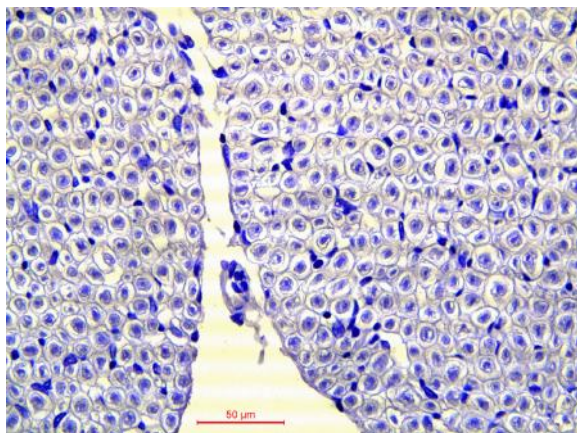
Na poprečnim presecima mijelinski omota ima osnovni, kružni ili ovalni oblik. U pojedinim delovima korena ovaj oblik je malo izmenjen pojavom blagih undulacija omota a (slika 18). Prečnik mijelinskog kruga, kao i debljina samog omota a, uvek je veći kod većih aksona nego kod manjih. Mestimično, pojedini mijelinski omota i imaju veću debljinu od očekivane u odnosu na prečnik aksona ("hipermijelinizacija").



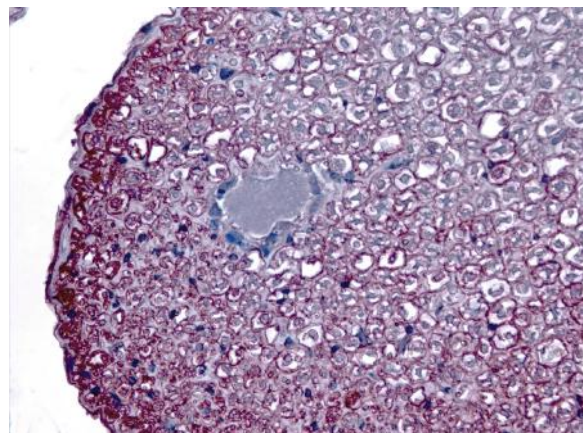
Sl. 12. Uzdužni presek fascikulusa trigeminalnog nerva. (Azan, 400x).



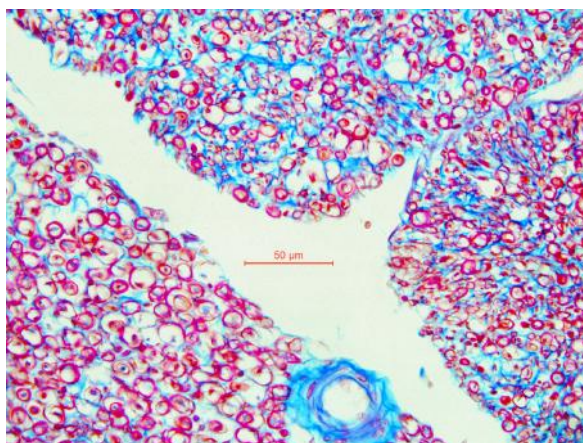
Sl. 13. Uzdužni presek fascikulusa trigeminalnog nerva. (Mason, 400x).



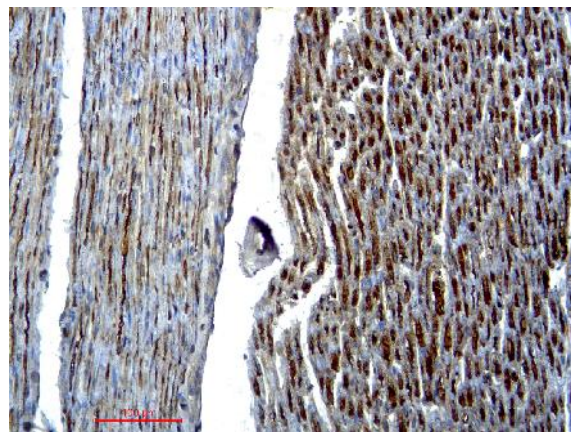
Sl. 14. Popre ni presek fascikulusa trigeminalnog nerva. (Kliver-Barera 400x).



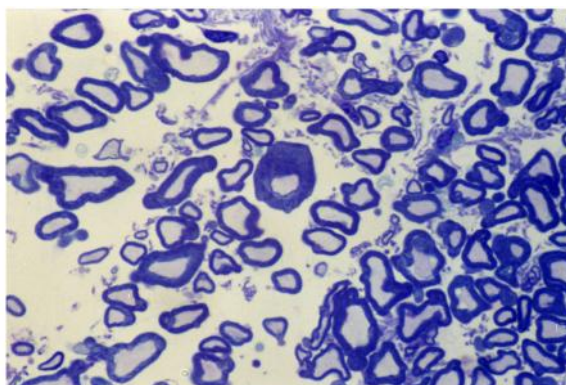
Sl. 15. Popre ni presek fascikulusa trigeminalnog nerva sa ektopi nom nervnom elijom. (IHH, MBP) (400x).



Sl. 16. Popre ni presek fascikulusa trigeminalnog nerva, mijelinizovani aksoni motornog (levo) i senzornog korena (desno). (Azan, 400x).



Sl. 17. Razlika dijametara debljih mijelinizovanih aksona u motornom korenu (desno) i senzornom korenu (levo) na uzdužnom preseku trigeminusa. (IHH, NSE) (200x).



Sl. 18. Mijelinski omota i bojeni toluidin plavim.

Detalji strukture mijelinskog omota a najvidljiviji su pod elektronskim mikroskopom (slike 19, 20). Manji mijelinski cilindri sa svojim aksonom locirani su u okviru some Švanove elije (slika 19). Ve i cilindri sa svih strana obavijeni su tankim slojem abaksonalne citoplazme sa pojedinim organelama. Samo s jedne strane omota a i to u nivou srednjeg dela mijelinskog segmenta, nalazila se soma Švanove elije sa jedrom (slika 20). Svaki mijelinski segment odre enog aksona formira samo jedna Švanova elija.

Mijelinski omota je multilamelarna formacija spiralno uvijene dvostruke plazmaleme Švanovih elija. Na preseku omota a jasno se razlikuju koncentri ne "lamelle", tj. glavne guste linije (periode) i izme u njih uzane guste linije (intraperode) (slika 20). Na presecima kroz Schmith-Lantermann-ove useke registruje se karakteristi no raslojavanje lamela (slika 22). U pojedinim delovima nekih mijelinskih omota a zapaža se delimi na delamelizacija, odnosno blago razdvajanje koncentri nih lamela s pove anim interlamelarnim prostorom (Rhodin, 1974; Davis i sar., 1997; Schreder, 2001; etkovi -Milisavljevi , 2005).

U pojedinim autoimunskim oboljenjima PNS-a i CNS-a, npr. u multiploj sklerozi, dolazi do stvaranja antitela protiv MBP (Davis i sar., 1997). Zbog autoimunske reakcije u samom mijelinu, nastaje fokalna demijelinizacija pra ena poreme ajem provodljivosti aksona. Drasti ne promene mijelinskog omota a zapažene su u slu aju neuralgije trigeminusa (Love i sar., 2001; Deevor i sar., 2002; Marinkovi i sar., 2009). U ovom oboljenju registrovana je, najpre, undulantna delaminacija, dakle talasasto raslojavanje omota a. Tako e je zapažena mestimi na delaminacija, tj. gubitak pojedinih lamela i istanjenje omota a. U pojedinim delovima nastaje i degeneracija omota a. Najzad, karakteristi na je fokalna demijelinizacija. Ovaj potpuni gubitak mijelinskog omota a zahvata nekoliko susednih segmenata mijelina na mestu neurovaskularne kompresije korena trigeminusa.

Švanove elije i oligodendrociti

Mijelin

Mijelin je spiralna multilamelarna specijalizovana membrana koja obavija aksone ve eg pre nika od 1 μm . Regulišu i proteosintezu u perikarionu, od koga, uglavnom zavisi kalibar njegovog aksona, neuron e sam odrediti da li e nastupiti mijelinizacija ili ne. Zreli segmenti mijelinskog omota a su dužine 14-18 nm zavisno od preparacije. Mijelinski omota se opisuje kao pljosnati glijalni produžetak koji se spiralno obmotava oko aksona. Ekstracelularni i intracelularni prostori glijalnog produžetka se gube, a spoljašnje i unutrašnje strane membrane glijalne elije postaju vrsto priljubljene. Elektronska mikroskopija mijelina pokazuje male guste linije (intraperiode) na mestima spajanja spoljašnjih površina, a glavne guste linije (periode) na mestima spajanja unutrašnjih citoplazmatskih površina. Schmidt-Lanterman-ove incizure su kosi prekidi interparanodalnog mijelina gde je izgubljena kompaktnost mijelinske membrane. Iako je mijelinski omota u CNS-u i PNS-u razli itog elijskog porekla, histološki detalji i molekulske komponente imaju sli nu funkciju. Mijelinizovani aksoni su u celini obavijeni mijelinskim omota em osim na nivou Ranvieovih (Ranvier) nodusa, malih pukotina (dužine manje od 1 μm), direktno izloženih ekstracelularnoj sredini (Peters i sar., 1991).

Mijelinski omota može da se podeli na dva domena, kompaktni i nekompaktni mijelin. Svaki od njih sadrži nepreklapaju i set proteina. Dok kompaktni mijelin formira ispup enje mijelinskog omota a, nekompaktni mijelin se nalazi u paranodusima (spoljašnja granica mijelinskog omota a) i u Schmidt-Lanterman-ovim incizurama (tunelasti prekidi kompaktnog mijelina). Bazalna lamina Švanovih elija sadrži laminin 2 (sastavljen od 2/merozin, 1 i 1 lamininskih lanaca), kolagen tipa IV, fibronektin, N-sindekan i glipikan (Scherer, 1996). Bazalna adaksonalna membrana Švanove elije sadrži integrin 6 4 i distroglikan, koji se verovatno vezuju za laminin 2.

Mijelinizacija u centralnom kao i u perifernom nervnom sistemu prati ontogenezu. Po inje relativno kasno, u 4. mesecu intrauterinog života i traje postnatalno nedeljama, pa ak i godinama. Postoji uska povezanost procesa mijelinizacije i elijske proliferacije. Mijelinizaciji prethodi proliferacija interfascikularnih oligodendrocita u CNS-u, odnosno Švanovih elija u PNS-u. Ovaj

proces je označen kao pripremni period i završava se na samom početku mijelinizacije. Mijelinski omotač povećava brzinu provođenja akcionog potencijala duž aksona. Brzina provođenja impulsa raste linearno sa prečnikom aksona sa mijelinskim omotačem, dok kod amijelinskog vlakna povećanje brzine prati kvadratni koren povećanja dijametra (Fields, 2008). Oligodendrociti stvaraju mijelin u CNS-u, a Švanove elije u PNS-u. Njihovi mijelinski omotači su strukturno slični, sastoje se od više slojeva specijalizovane elijske membrane koja se spiralno obavija oko aksona, ali se međusobno i razlikuju.

Švanove elije

Švanove elije su nazvane imenom nemačkog fiziologa koji ih je prvi opisao (Theodor Schwann, 1669-1760.) (Skinner, 1970; Persaud, 1997). Poreklom su iz nervnog grebena i pripadaju glijalnim elijama perifernog nervnog sistema. Zadržavaju sposobnost da se dele u slučajevima regeneracije aksona. Mitotska aktivnost Švanovih elija dostiže maksimum između 15. i 20. dana posle transekcije nerva PNS-a, a proliferacija se zaustavlja kada je akson kompletno regenerisan. U zreлом nervnom tkivu raspoređene su u lancu duž aksona. Svaka Švanova elija mijelinizuje između 0,15 i 1,5 mm aksona. Što je deblji akson, duža su područja mijelinizacije jedne glijalne elije. Nezrele Švanove elije su velike i okrugle sa ovalnim jezgrom i gustom citoplazmom, a zrele elije u ovalnom nukleusu sadrže periferno lociran heterohromatin, dok im se u nemijelinizujućim zonama citoplazme nalazi veći broj mitohondrija. Zrele forme Švanovih elija koje produkuju mijelin karakteriše prisustvo nekoliko mijelinskih proteina, uključujući i glavni mijelinski protein Po, mijelin bazni protein (MBP), mijelin-pridružen glikoprotein (MAG) (koji se može vezati za molekule na aksonskoj površini), periferni mijelinski protein (PMP-22). One ne pokazuju prisustvo receptora za NGF, N-CAM, GFAP, transmembranski glikoprotein L1. Sve Švanove elije imaju Ca^{2+} -vezujućeg proteina S-100 i galakto cerebrozid (GC).

Veći deo citoplazme Švanove elije je spolja od mijelinskog omotača. Granulirani endoplazmatski retikulum i Golđi aparat, kao i kod elija drugih tipova, su perinuklearno postavljeni, a novo sintetisani proteini se sprovode spolja od

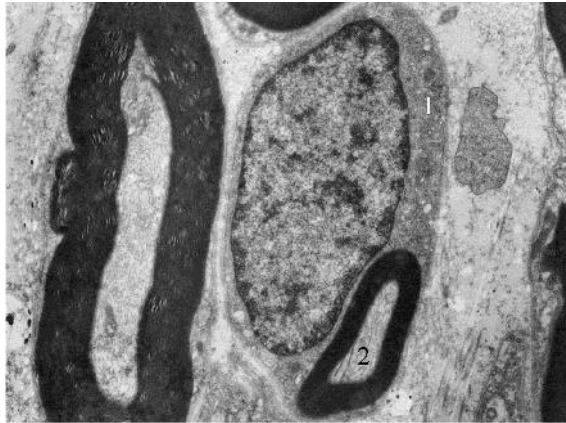
mijelinskog omota a (Gould i sar., 1990). Bo ne granice Švanovih elija su prekrivene mikrovilima koji sadrže F-aktin i voltažno-senzitivne Na⁺ kanale. Vrhovi mikrovila su u kontaktu sa nodalnom aksolomom. Opisano je da u CNS-u perinodalni astrociti imaju sličnu funkciju kao mikrovili u PNS-u.

Švanove elije obavijaju mijelinska vlakna i formiraju mijelinski omotačve ih aksona u perifernom nervnom sistemu. Jedna Švanova elija obavija oko 100 μm samo jednog aksona. Švanove elije koje ne uestvuju u stvaranju mijelinskog omotača imaju značajnu ulogu u održavanju funkcionalnosti aksona i neurona (Bhatheja i sar., 2006). Otvane Švanove elije uestvuju u regeneraciji oštećenog nerva. One usmeravaju i stimulišu rast aksona od oko 1mm na dan kroz tunel koji same formiraju (Jonsson i sar., 2013). Na površini ovih elija nalazi se bazalna lamina koja je u kontaktu sa amorfnim ekstracelularnim matriksom endoneurijuma, u kojoj produkciji uestvuju sa fibroblastima. U bazalnoj lamini Švanovih elija nalaze se glikoprotein laminin-2 (merozin), heparan sulfatni proteoglikani (perlekan i sindekan) i kolagen IV (Chernousov i sar., 2000). Oko Švanovih elija prisutni su drugi oblici kolagena, koje ove elije sintetizuju zajedno sa fibroblastima. Osim fibrilarnih komponenti, u matriksu oko Švanovih elija nalaze se agrin, fibronektin, dekorin i vezikan.

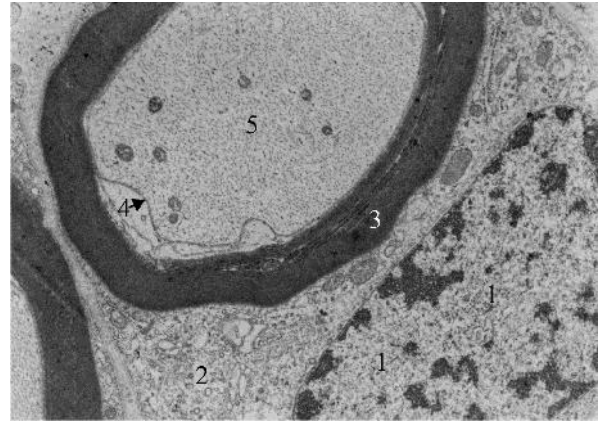
Za vezivanje spomenutih supstanci postoje odgovarajući i receptori na površini Švanovih elija: integrini (za vezivanje laminina, fibronektina i kolagena), glipikan-1 (za vezivanje laminina i subjedinice kolagena) i -dystroglikan (za vezivanje laminina i agrina). Ovi receptori i navedene komponente matriksa omogućuju i adheziju samih Švanovih elija.

U životnom trigeminusu, osim u parapatentinskom delu s centralnim mijelinom, zapaža se ogroman broj Švanovih elija. One oko većine aksona formiraju manje ili veće mijelinske omotače (slika 19), dok malobrojna vlakna malog prečnika obavijaju bez stvaranja mijelinskog omotača.

Švanove elije na poprečnim presecima imaju ovalan izgled (slika 19), dok su na uzdužnim presecima elongirane, sa jakim ispupčenim delom same u nivou jedra. Nukleus je takođe ovalan, sa difuzno raspoređenim heterohromatinom (slika 19). U citoplazmi se nalazi veliki broj mitohondrija, ribozoma, poliribozoma, delova endoplazmatskog retikuluma, kao i Golđi aparat i pojedinačni lizozomi (slika 20).



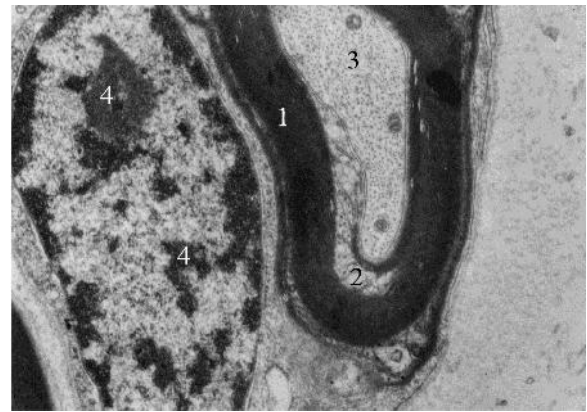
Sl. 19. Švanova elija (1) sa mijelinskim omota em oko malog aksona (2). (EM) (16000x).



Sl. 20. Deo Švanove elije i mijelinski omota oko ve eg aksona. (1) jedro, (2) citoplazma, (3) mijelinski omota , (4) aksolema, (5) akson sa neurofilamentima, neurotubulima i mitohondrijama. (EM) (20000x).



Sl. 21. Deo Švanove elije sa -telima (strellice). (EM) (50000x).



Sl. 22. Mijelinski omota (1) prese en u nivou Šmit-Lantermanovog useka (2). (3) akson, (4) jedro Švanove elije. (EM) (20000x).

U citoplazmi nekih Švanovih elija zapažaju se tzv. -tela i multilamelarna tela. Prva grupa formacija je jako izdužena i velike elektronske gustine (slika 21). Na ve em uve anju EM uo ava se da imaju lamelarnu strukturu. Lamele su me usobno paralelne i gusto pore ane (slika 21). Ove formacije se nalaze u perifernom delu citoplazme, u vidu malih grupa od po dva do etiri -tela. Multilamelarna tela imaju ovalan izgled. Sastoje se od tankih lu nih lamela. Tako e su postavljena u perifernom delu elije, bilo kao pojedina na ili u grupama do šest formacija (Davis i sar., 1997; etkovi -Milisavljevi , 2005).

Na ise cima trigeminusa svaka Švanova elija formira samo jedan mijelinski omota (slika 19). Ukoliko je omota malih dimenzija, on se prakti no nalazi u samoj citoplazmi elije (slika 19). Što se ti e amijelinskih aksona, oni su uvek van tela Švanove elije. Za ove aksone Švanova elija daje duge i tanke produžetke. Jedan od produžetaka direktno obavija akson, dok se oko njega kružno postavlja jedan ili dva dodatna produžetka (Rhodin, 1974; Peters i sar., 1976; etkovi -Milisavljevi , 2005).

Najzad, ekstracelularnu površinu plazmaleme Švanove elije pokriva bazalna lamina, koja je tanka i ve e elektronske gustine (Slika 19). Bazalna lamina je uvek kontinuirana, tako da postoji i oko mijelinskih i amijelinskih aksona.

Švanove elije, osim zaštite amijelinskih vlakana i formiranja mijelinskog omota a oko ve ih aksona, imaju i mnoge druge uloge u perifernom nervnom sistemu (Chernousov i sar., 2000; Hanani, 2005). One u estvuju u razvoju i regeneraciji nerva, neuronima daju trofi ku potporu, modulišu neuromuskularnu sinapti ku aktivnost, prezentuju antigene T limfocitima, a jedna od glavnih uloga jeste formiranje ekstracelularnog matriksa, odnosno endoneurijuma perifernih živaca (Bhatheja i sar., 2006; Jonsson i sar., 2013).

Oligodendrociti

Oligodendrociti formiraju mijelinski omota centralnih delova aksona trigeminalnog nerva, za razliku od perifernog dela trigeminusa s perifernim tipom mijelinskog omota a (Peters i sar., 1976). Nastavci jednog oligodendrocita obuhvataju i do 50 aksona stvaraju i oko svakog mijelin dužine 1 μ m.

Oligodendrociti, poreklom iz nervne cevi, razvijaju se tokom embriogeneze i ranog postnatalnog života iz ograni ene periventrikularne oblasti (Vallstedt i sar., 2004). Nastaju kao poslednja grupa elija CNSa od oligodendrocitnih progenitorskih elija i migriraju do ciljnih nervnih tkiva gde sazrevaju u elije koje stvaraju mijelin sve do uzrasta od 25-30 godina. Smatra se da citoskelet oligodenrocita, preko niza intra elijskih i ekstra elijskih signalnih molekula, tokom sazrevanja reguliše grananje elijskih nastavaka, obuhvatanje aksona i formiranje mijelinskih slojeva (Fields, 2008). Ove intrafascikularne mijelinizuju e elije CNS-a, ultrastrukturno pokazuju prisustvo okruglog nukleusa sa citoplazmom bogatom mitohondrijama, mikrotubulima i glikogenom. Sli no astrocitima mogu biti sa krupnim,

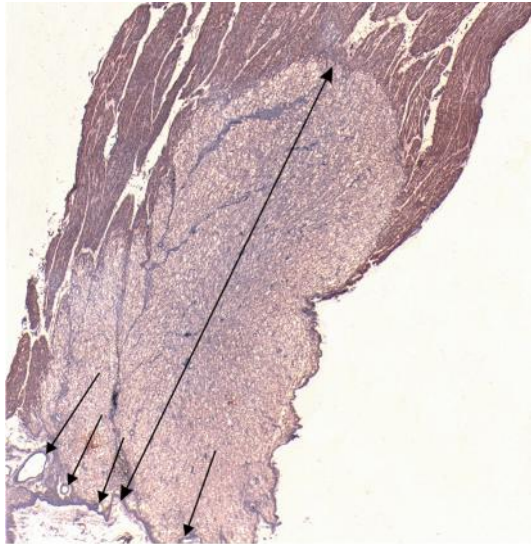
euromati nim nukleusom i bledom citoplazmom ili sa heterohromati nim nukleusom i gustom citoplazmom. Svaki oligodendrocit u toku jednog dana proizvede 175×10^{-12} grama mijelina, što je trostruko veća težina od težine same ćelije. Oligodendrociti nemaju bazalnu laminu ni mikrovile, a njihove incizure nemaju molekularne markere, kao što su Cx32, MAG ili E-cadherin (Peters i sar., 1991). Oligodendrociti ekspimiraju galaktocerebrozid (gal C), ugljenu anhidrazu II (CAII), mijelin oligodendrocitni bazni protein (MOBP) (u glavnoj gustoj liniji kompaktnom mijelina), 2'3'-ciklički nukleotid 3'-fosfodiesterazu (CNPase), transferin, mijelin oligodendrocitni glikoprotein (MOG) (Johns i sar., 1999). Oligodendrociti, fenotipski heterogena populacija glijalnih ćelija, prema Del Rio Hortega dele se na tipove I-IV, zavisno od razlika u morfologiji, metabolizmu i biohemizmu, kao i longitudinalnoj i radialnoj dimenziji mijelnog omotača. Oligodendrociti tipa I i II su morfološki slični u tome što mijelinizuju brojne aksonne malog dijametra, a mijelinski omotač ima nekoliko lamela i kratku internodalnu dužinu (Stensaas i sar., 1968). Oligodendrociti tipa III mijelinizuju mali broj aksona velikog dijametra, stvaraju i mijelinski omotač sa brojnim lamelama veće internodalne dužine, zavisno od dijametra aksona. Fenotipski oligodendrocit tipa IV je sličan tipu III, ali njegovo ćelijsko telo je direktno vezano za pojedinačni akson velikog prečnika koji mijelinizuje.

Pored određenih sličnosti Švanovih ćelija i oligodendrocita, postoje i odgovarajuće razlike. Jedna od njih jeste da oligodendrociti ne poseduju bazalnu laminu na svojoj površini, što se koristi za diferenciranje centralnog i perifernog mijelnog omotača (Peters i sar., 1976). Glavni sastojak bazalne lamine jeste laminin-2 (merozin). Bazalna lamina je od ključnog značaja za mijelinizaciju perifernih aksona (Chernousov i sar., 2000). Molekularne komponente mijelina CNS-a i PNS-a se međusobno preklapaju. Obe sadrže velike količine lipida, naročito holesterola i sfingolipida, uključujući i galaktocerebrozide, sulfatide i proteolipidni protein, poznat kao Wofgram-ov protein (WP). Ključni proteolipidni protein (PLP) je glavni protein kompaktnog mijelina CNS-a. Lipidi mijelina CNS-a sadrže 25-28% holesterola, 27-30% galaktosfingolipida, 40-45% fosfolipida. Mijelin PNS-a sadrži manje cerebrozida i sulfatida, a znatno više sfingomijelina nego mijelin CNS-a (Grove, 2000).

Dužina centralnog segmenta trigeminalog nerva

Trigeminalni nerv, kao i ostali kranijalni nervi, pojavljuje se iz površine ponsa svojim centralnim glijalnim segmentom. Ovaj periferni produžetak CNS-a, sa mijelinom koji stvaraju oligodendrociti, ulazi kako u senzorni tako i u motorni koren. Centralni deo korena trigeminusa sadrži glijalne elije koje su posebno brojne na mestu spoja sa perifernim delom nerva (CNS-PNS prelazna zona), gde više slojeva nastavaka astrocita obrazuju "astrocitnu (glijalnu) kupolu", konkavnu prema centralnom delu, kroz koju se probijaju aksoni iz jednog u drugi deo nerva. Ova mikroarhitektonika glijalne kupole odgovara i u kontinuitetu je sa površinom mozga, gde nastavci astrocita formiraju subpialni glijalni sloj. Ovaj kompleks nazvan subpialna astrocitna bazalna lamina je osnova "lamine kribroze" vidljive svetlosnom mikroskopijom. Astrocitni nastavci su iregularno povezani spojevima tipa fascia occludens i macula adherens (Maxwell i sar., 1969 ; Williams, 1999 ; Peker i sar., 2006).

Primenom imunohistohemijskog bojenje na GFAP i MBP pokazali smo centralni, glijalni segment nerva i odredili njegovu dužinu, kako u motornom, tako i u senzornom korenu (Slike 23, 24). Podaci koji se odnose na maksimalnu dužinu centralnog, po etnog, glijalnog dela trigeminalog nerva, od površine ponsa do najispupenije tačke glijalne kupole ukazuju da je ovaj segment u motornom delu korena mnogo kraći nego u senzornom gde iznosi 2 - 6 mm, prosečno 3,6 mm (Lang, 1991). Drugi podaci opisuju da je CNS-PNS prelazna zona debljine 2 - 2,5 mm, a dužina glijalnog konusa 8 - 10 mm. Naši nalazi da se maksimalna dužina centralnog dela trigeminalog nerva, od površine ponsa do najispupenije tačke glijalne kupole, u senzornom korenu kretala od 3,1 - 10 mm, prosečno $4,91 \pm 2,10$ mm, a u motornom od 0,5 - 1 mm, prosečno $0,77 \pm 0,14$ mm odgovaraju rezultatima prvog autora (Četković i sar., 2011).



Slika 23. Longitudinalni presek kroz centralni senzorni segment trigeminusa (duža strelica) i krvnim sudovima korenog dela (kra e strelice), (IHH, MBP) (20x).



Slika 24. Longitudinalni presek kroz centralni senzorni (duža strelica) i motorni deo trigeminusa (kra a strelica), (IHH, GFAP).

Klinički značaj centralnog domena trigeminalnog nerva je veliki jer brojna oboljenja nerva su vezana za ovaj segment koji je mnogo osetljiviji od perifernog segmenta. Nalazi jasno ukazuju da neuralgija trigeminusa povezana sa vaskularnom kompresijom nastaje zbog demijelinizacije (Lagares i sar., 2010; Guclu i sar., 2011). Vlakna bez mijelina ili sa istanjenim mijelinom su se uvek nalazila u korenog delu nerva, gde je mijelinizacija centralnog porekla. Do propadanja mijelinskog omota verovatno dolazi zbog oštećenja oligodendrocita i astrocita ili kao posledica oštećenja endoneurijumskih krvnih sudova i rezultiraju e ishemije nerva (Bowsher, 1997; Love i sar., 1998; Broggi, 1999, Marinkovi i sar., 2009). Eksperimentalne studije su pokazale da demijelinizovana nervna vlakna u bliskom kontaktu mogu da budu izvor ektoptih nervnih impulsa, koji se spontano šire i na susedna vlakna koja normalno ne bi bila stimulisana. Tako bi vlakna koja prenose taktilne impulse indukovala spontanu aktivnost vlakana koja prenose nociceptivne impulse (Smith i sar., 1980; 1982). Analizom uzoraka trigeminusa dobijenih rizotomijom kod pacijenata obolelih od multiple skleroze koji su patili od trigeminale neuralgije (u polovini slučajeva uzrokovane vaskularnom kompresijom) tako e je na ena demijelinizacija u proksimalnom (centralnom) delu korena trigeminusa, uz dodatnu

glijozu i razne stepene zapaljenja. Nalaz je pokazivao brojne nastavke astrocita koji se uvlače između i obavijaju demijelinizovane aksone ili grupe aksona u direktnom kontaktu (Broggi, 2000; Love i sar., 2001).

Mikromorfološke karakteristike arterija trigeminalnog gangliona

Trigeminalni ganglion vaskularizuju subduralne grane *a. carotis internae* i *a. meningea mediae* koje mu prilaze sa oftalmičke i mandibularne strane (Milisavljević i sar., 2003).

Inferolateralno stablo (ILS), grana intrakavernoznog segmenta *a. carotis internae*, pošto pre i preko VI kranijalnog nerva, obično daje tri grane od kojih zadnja u stvari u vaskularizaciji medijalnog dela gangliona (Lasjaunias i sar., 1977; Willinsky i sar., 1987).

Meningohipofizealno stablo (MHS), grana intrakavernoznog segmenta *a. carotis internae*, obično daje tri tentorijalne granice i zajedno sa tentorijumom malog mozga vaskularizuje i duralni pokrivač gangliona kroz koji tanki sudovi prilaze ganglionu odozgo (Bergmann, 1942; Krisht i sar., 1994).

A. meningea media (AMM), koja u lobanju ulazi kroz *foramen spinosum*, najčešće daje dve, ređe jednu, a najređe tri trigeminalne granice za spoljašnju, mandibularnu stranu gangliona. One se ređe odvajaju direktno od AMM, već najčešće od njene petrozne granice (Montes i sar., 1989).

Sve arterije koje pristupaju trigeminalnom ganglionu nastavljaju svoj put njegovom ventralnom stranom (Montes i sar., 1989; Krisht i sar., 1994).

Mikromorfološke karakteristike arterija trigeminalnog živca

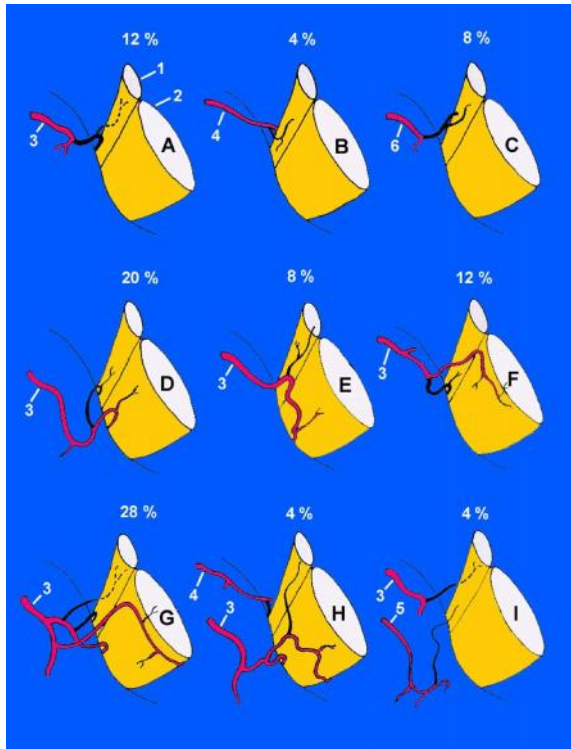
Studija mikromorfologije krvnih sudova nerava je od velikog istraživačkog ali i praktičnog kliničkog značaja. Krvni sudovi su deo cirkulatornog sistema koji omogućavaju razmenu metabolita, imunske funkcije i humoralnu regulaciju funkcija nerava. Poremećaji cirkulacije, kako na nervu tako i u njemu, mogu da vode do motornih ili senzornih ispada kao posledica degenerativnih promena u nervnim vlaknima.

Razvoj mikrovaskularne dekompreseone neurohirurgije, pogotovo endoskopskom metodom, stimulisao je mikromorfološka istraživanja odnosa krvnih sudova i lobanjskih segmenata kranijalnih nerava (Kabatas i sar., 2009). Kompresija korenog dela trigeminalog nerva arterijom ili venom dokazana je u preko 80% pacijenata sa trigeminalom neuralgijom. Neuralgija trigeminusa, me u najbolnijim znanim iskustvima, je oboljenje nerva koje prati iznenadan, oštar, površinski bol na licu u predelu inervacionog područja jedne ili više završnih grana ovog živca. Lagan dodir, kontakt hrane sa oralnom mukozom tokom žvakanja, pokreti na licu, hladno a, obi no provociraju napad bola. Izme u bolnih epizoda pacijent obi no nema nikakvih simptoma. U 70% slu ajeva pogo ena je samo jedna grana trigeminusa, naj eš e *n. maxillaris* (52%), zatim *n. mandibularis* (39%), dok je područje inervacije dve grane zahva eno u 25% pacijenata (Bowsher, 1997). Uzorci trigeminusa dobijeni rizotomijom i obra eni standardnim histološkim metodama pokazuju da u svim slu ajevima kompresije nerva susednim krvnim sudom na periferiji fascikulusa postoje zone demijelinizovanih nervnih vlakana. Ogoljena nervna vlakna se grupišu u snopove sa mestima gde i po nekoliko vlakana obavija tanak mijelin. Vlakna bez mijelina ili sa istanjenim mijelinom su se uvek nalazila u korenom delu nerva, gde je mijelinizacija centralnog porekla. Nalazi jasno ukazuju da neuralgija trigeminusa povezana sa vaskularnom kompresijom nastaje zbog demijelinizacije (Bowsher, 1997; Love i sar., 1998; Broggi, 1999). Eksperimentalne studije su pokazale da demijelinizovana nervna vlakna u bliskom kontaktu mogu da budu izvor ektopi nih nervnih impulsa, koji se spontano bo no šire i na susedna vlakna koja normalno ne bi bila stimulisana. Tako bi vlakna koja prenose taktilne impulse indukovala spontanu aktivnost vlakana koja prenose nociceptivne impulse (Smith i sar., 1980; 1982). Analizom uzoraka trigeminusa dobijenih rizotomijom kod pacijenata obolelih od multiple skleroze koji su patili od trigeminale neuralgije (u polovini slu ajeva uzrokovane vaskularnom kompresijom) tako e je na ena demijelinizacija u proksimalnom (centralnom) delu korena trigeminusa, uz dodatnu glijozu i razne stepene zapaljenja. Nalaz je pokazivao brojne nastavke astrocita koji se uvla e izme u i obavijaju demijelinizovane aksone ili grupe aksona u direktnom kontaktu (Broggi, 2000; Love i sar., 2001).

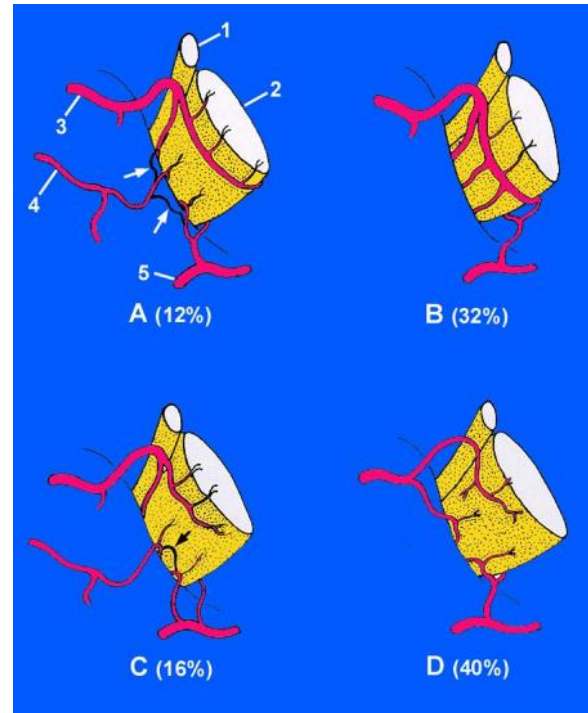
Pontinske grane *a. basilaris*, vaskularizuju intrakranijalni, koreni deo trigeminalog nerva (Gillilan, 1975; Duvernoy, 1978; etkovi i sar., 2011). Arterije namenjene vaskularizaciji trigeminalog nerva polaze iz više izvora koji svi vode

poreklo od *a. basilaris*. Trigeminalne grane se odvajaju od superolateralne pontinske arterije, inferolateralne pontinske arterije, posterolateralne pontinske arterije, *a. cerebelli inferior anterior* (direktno ili od njene pedunkularne grane), bazilarne arterije direktno ili od same *a. cerebelli superior*. Duge pontinske arterije dobijaju svoja opisna imena zavisno od nivoa odvajanja od *a. basilaris* i strane sa koje pristupaju korenom delu trigeminusa. Posterolateralna pontinska arterija je najdistalnija pontinska grana *a. basilaris*, neposredno pre njenog završnog grananja na desnu i levu *a. cerebelli superior*. Pruža se rostralnom granicom ponsa prema mezencefalonu i pored pontinskih daje i trigeminalnu granu koja pristupa dorzalnoj strani korenog dela trigeminusa. Superolateralna pontinska arterija se od bazilarne arterije odvaja kaudalno u odnosu na prethodnu arteriju i daje trigeminalu granu koja pristupa odozgo ventralnom delu nerva. Inferolateralna pontinska arterija nastaje još kaudalnije kao grana bazilarne arterije, a njena trigeminala grana pristupa odozdo ventralnom delu nerva. *A. cerebelli superior* na svom putu upolje oko moždanog stabla, najčešće je u kontaktu sa korenim delom trigeminalog nerva, pogotovo lateralnom granom svoga stabla. Svojom trigeminalnom granicom može da učestvuje u vaskularizaciji rostralnog, gornjeg dela korena trigeminusa. *A. cerebelli inferior anterior*, preko svoje pedunkularne grane ili direktno, može da doprinese vaskularizaciji kaudalnog, donjeg dela korena trigeminusa. Trigeminalocerebelarna arterija, grana *a. basilaris*, kada postoji je u stvari lateralna pontinska arterija sa završetkom na cerebelumu. Tako učestvuje u vaskularizaciji korenog dela trigeminusa. Cisternalni segment V kranijalnog živca obično dobija dve do tri trigeminalne grane iz neke od navedenih arterija, a gotovo uvek iz superolateralne pontinske arterije (Crtež 1) (Watt i sar., 1935; Hardy i sar., 1978; Willinsky i sar., 1987; Marinković i sar., 1995; Milisavljević i sar., 2003; Četković i sar., 2011).

Posmatrajući na in grananja trigeminalnih arterija u odnosu na dužinu celog intrakranijalnog, korenog dela trigeminalog nerva, kao i prisustvo anastomoti njih sudova, izdvojili smo četiri tipa vaskularizacije trigeminalog nerva. Kod prvog tipa (12%) uočena su dva arterijska prstena, proksimalni i distalni, koja okružuju koren nerva (Crtež 2A). Drugi tip vaskularizacije (32%) karakteriše prisustvo jednog vaskularnog prstena, bilo proksimalnog ili distalnog (Crtež 2B). Nepotpuni arterijski prsten je postojao kod trećeg tipa (16%) (Crtež 2C). U ostalim slučajevima (40%) arterijski prstenovi nisu postojali (Crtež 2D) (Milisavljević i sar., 2003; Četković - Milisavljević, 2005).



Crtež 1. Arterije trigeminalnog nerva: motorni koren (1) i senzorni koren (2) trigeminalog nerva. (3) superolateralna, (4) posterolateralna i (5) inferolateralna pontinska arterija; (6) trigeminocerebelarna arterija ili trigeminalna grana bazilarne arterije. Uo iti da jedna arterija može da vaskularizuje samo motorni koren (A, B, C) ili oba korena, motorni i senzorni (D-H). Motorni koren može biti snabdeven dvema granama koje polaze od iste arterije (G) ili iz dva izvora (H, I). Navedeni procenti javljanja su iznad odgovaraju eg crteža.



Crtež 2. etiri tipa (A-D) vaskularizacije trigeminalnog korena. (A) Dva arterijska prstena; (B) jedan prsten; (C) diskontinuirani prstenovi; (D) odsustvo prstenova. (1) Motorni koren; (2) senzorni koren; (3) superolateralna ili re e posterolateralna, gornja cerebelarna, trigeminalna ili trigeminocerebelarna arterija; (4) inferolateralna pontinska arterija; (5) prednja donja cerebelarna arterija ili njena grana za srednji cerebelarni pedunkulus. Strelice ozna avaju fine anastomoze. Procenti su dati u zagradama.

Koreni deo trigeminalog nerva poseduje sve elemente mikrocirkulatorne mreže. Pia mater u estvuje u izgradnji epineurijalnog i perineurijalnog omota a nerva i sadrži arteriole ($18,0 \pm 0,5 \mu\text{m}$), koje se granaju na prekapilare ($15,9 \pm 0,4 \mu\text{m}$), koji daju pijalnu kapilarnu mrežu. Samo intrapijalni kapilari (pre nika $7,3 \pm 0,1 \mu\text{m}$) probijaju pijalni omota i pružaju se krivudavo, longitudinalno uz snopove nerava u endoneurijumu. Venule nastaju u pijalnom omota u (pre nika $26,0 \pm 1,2 \mu\text{m}$). U korenom delu trigeminalog nerva, za razliku od ganglijskog dela i tri završne grane,

nisu prime ene arteriovenske anastomoze (uobi ajeno u epineurijumu), a ni prekapilarni sfinkteri (uobi ajeno u perineurijumu). Arteriovenske anastomoze doprinose preraspodeli krvi u površinskom sloju nerva, a prekapilarni sfinkteri obezbe uju optimalnu regulaciju protoka krvi u dubljim slojevima stabla nerva. Odsustvo adaptivnih mikrocirkulatornih struktura u korenom delu trigeminusa ine ovaj deo daleko osetljivijim na bilo koji agens koji kompromituje cirkulaciju (Smoliar i sar., 1998).

Karakteristike intratrigeminalog vaskularnog sistema

Ve opisane ekstratrigeminale arterije daju manje ogranke koji ulaze u koren i ganglion trigeminusa i vaskularizuju sve neuronske i paraneuronske strukture. U živcu i ganglionu smo zapazili male arterije, arteriole, prekapilare, kapilare, venule i male vene.

Gusta vaskularna mreža ispunjava trigeminalni ganglion. U samom ganglionu kapilari su izuvijanog toka i pokazuju nejednak lumen, sa povremenim ampularnim proširenjima. Ganglijske elije su u potpunosti okružene kapilarnom mrežom (Bergmann, 1942).

Arterije i arteriole, venule i vene

Male arterije postoje gotovo isključivo u površinskom delu fascikulusa živca, tj. u samom vezivnom, pijalnom omota u ili izme u njega i površinskih grupa mijelinskih aksona fascikulusa. Arterije pod elektronskim mikroskopom (EM) imaju tri tipa na sloja: tuniku intimu, tuniku mediju i tuniku adventiciju.

Tunica intima sastojali se od endotelne elije i vrlo uzanog subendotelnog prostora (slika 25). Na granici sa tunikom medijom postoji sloj sa EM karakteristikama lamine elastike interne.

Endotelne elije formiraju kontinuiran jednoredni sloj koji oblaže lumen arterija (slika 25). Izuzev u sudovima koji su u stanju konstrikcije, endotelne elije izgledaju spljošteno, osim u nivou jedra. Na lumenskoj strani elija zapažaju se retke pinocitotične vezikule, kao i kratki citoplazmatski produžeci. U citoplazmi postoje sve tipične organele. Specifična Vajbel-Paladeova tela su retko prisutna. Jedro sadrži gust heterohromatin, koji je u delu bio lokalizovan periferno, uz jedrovu opnu.

Između u susjednih ćelijama uvijek postoji tesan spoj (tight junction). Ablumenski dio endotelne ćelije retko formira kontakt sa glatkim mišićnim ćelijama tunike medije (mioendotelni spoj).

Lamina elastica interna ima svetliji izgled pod EM (slika 25). Uz njenu lumensku stranu jasno se zapaža bazalna lamina endotelne ćelije, a uz ablumensku stranu postoji bazalna lamina glatkih mišićnih ćelija. Elastična lamina ima homogen, sitnozrnasti izgled. U pojedinim delovima lamina se cepa na dva uža dela između u kojih se nalazi po jedna mišićna ćelija (Četković -Milisavljević, 2005).

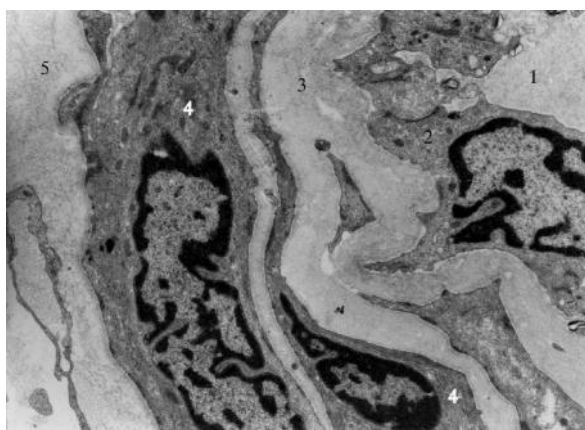
Glavni elementi tunicae mediae su glatke mišićne ćelije (slika 25). One najčešće formiraju tri ili četiri koncentrična sloja u zidu arterije. Ćelije imaju produžetke, ponekad izrazito duge i tanke. Produžeci formiraju pukotinasti spoj (*gap junction*) sa jednom od susjednih ćelija (slika 25), bilo s njenim produžetkom ili sa somom. Na površini ćelija jasno se zapaža bazalna lamina. Sarkoplazma je tamna, s velikim brojem mitohondrija i pinocitoznih vezikula. Jasno se zapažaju miofibrile s aktinskim i miozinskim vlaknima, kao i gusta tela (*dense bodies*), naročito uz sarkolemu. Jedro izgleda segmentirano sa gustim heterohromatinom, naročito na periferiji. Između u redovima susjednih mišićnih ćelija postoji svetli sloj, sa, mestimično, manjim kolekcijama tanjih kolagenih vlakana.

Tunica adventitia pretežno se sastoji od fibroblasta i kolagenih fibrila. Fibroblasti su imali tipičan izgled. Njihovi produžeci često su bili veoma dugi i tanki (slika 25). Oni su činili kontinuirani sloj oko krvnog suda. Mestimično su formirali "džepove" ispunjene kolagenim vlaknima (slika 25). Spomenuta vlakna postojala su u relativno velikom broju u adventicijalnom omotaču. Vlakna su pretežno longitudinalno orijentisana. Samo na dva preseka adventicije zapazili smo nekoliko amielinskih nervnih vlakana.

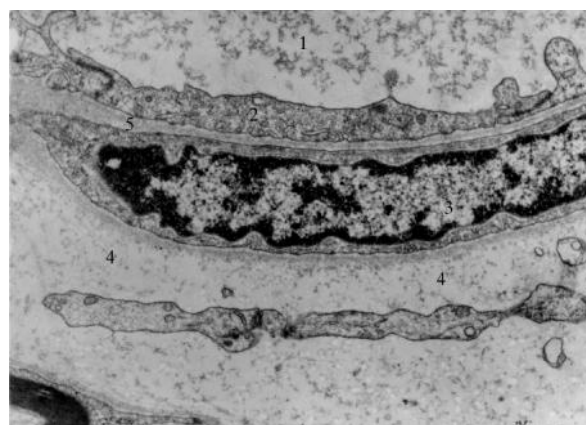
Arteriole su u principu imaju istu EM građu kao i arterije. Međutim, u njihovom zidu najčešće postoji samo jedan mišićni sloj (slika 26). Lamina elastica interna ne postoji. Fibroblastni sloj adventicije mestimično je diskontinuiran (Slika 26). Za razliku od arterija koje imaju površinsku lokalizaciju, arteriole se pretežno nalaze interfascikularno u trigeminalom živcu.

Sliku ultrastrukture zida imaju venule i male vene (slika 27), osim što im je lumen širi i relativno nepravilan. Međutim, u citoplazmi njihovih endotelne ćelije povremeno se zapaža ogroman broj Vajbel-Paladovih telašaca (slika 27).

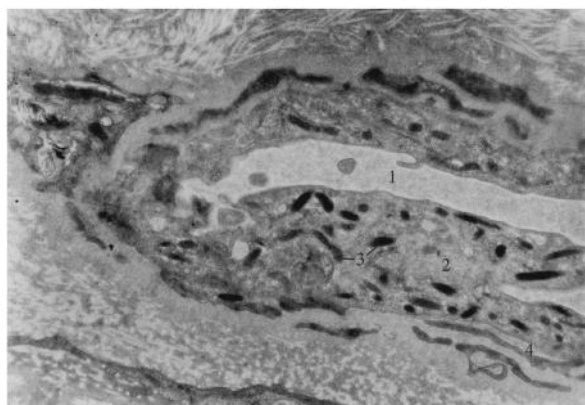
Naši rezultati ultrastrukturnih prouavanja arterija i arteriola u korenu trigeminusa praktično se poklapaju sa opisima građe cerebralnih sudova (Dahl, 1976; Peters i sar., 1976; Roggendorf i sar., 1976; etkovi -Milisavljevi, 2005; etkovi i sar., 2011). Što se tiče patoloških promena, one se najčešće manifestuju u vidu ateroskleroze (Kumar i sar., 2003). U ovom oboljenju promene najviše zahvataju subendotelni sloj, a naknadno endotelne ćelije i glatke mišićne ćelije. Što se tiče krvnih sudova perifernih živaca, osim ateroskleroze, može se pojaviti i amiloidoza, kao i razni oblici vaskulitisa (Schreder, 2001). U vezi samog nervusa trigeminusa, karakteristična je pojava neurovaskularne kompresije njegovog korena sa poremećajem intratrigeminale cirkulacije (Deevor i sar., 2001; Marinkovi i sar., 2007; Kabatas i sar., 2009).



Sl. 25. Poprečni presek zida arterije trigeminusa. (1) lumen arterije, (2) endotelna ćelija, (3) lamina elastica interna, (4) glatka mišićna ćelija, (5) tunica adventitia sa kolagenim vlaknima i produžetkom fibroblasta. (EM) (18000x).



Sl. 26. Poprečni presek arteriole trigeminusa. (1) lumen, (2) endotelna ćelija, (3) glatka mišićna ćelija, (4) tunica adventitia sa kolagenim vlaknima i produžetkom fibroblasta (5) bazalna lamina. (EM) (16200x).



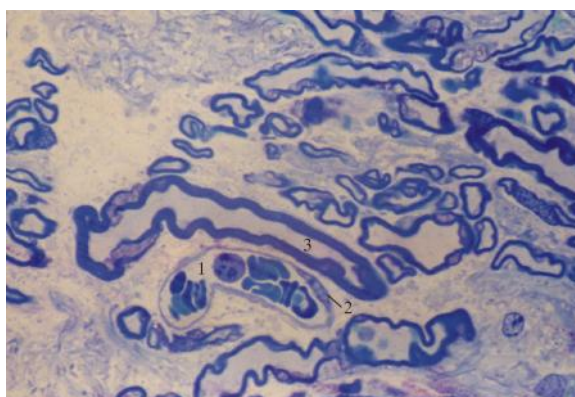
Sl. 27. Poprečni presek venule trigeminusa. (1) lumen, (2) endotelna ćelija, (3) Valbel-Paladova telašca, (4) bazalna lamina. (EM) (28000x).

Prekapilari i kapilari

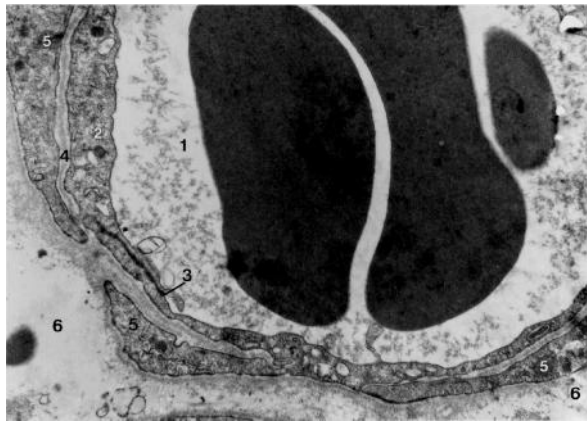
Endoneurijumski kapilari pružaju se longitudinalno duž živca, dakle paralelno sa aksonima. Isto tako, zalaze i transverzalno, formiraju i gracilnu mrežu oko grupica mijelinskih aksona. Pojedini kapilari iz ove mreže zalaze i u ove male grupe aksona. Ovi naši nalazi poklapaju se sa rezultatima drugih autora (Smoliar i sar., 1998). Što se tiče ultrastrukture, ključna činjenica jeste postojanje kontinuiranog, nefenestriranog endotelnog omota sa tesnim spojevima (tight junction) kapilara i prekapilara. Ovo omogućuje postojanje pandana hemato-encefanoj barijeri u moždanom parenhimu. Hemato-neuralna barijera je od ključnog značaja za normalno funkcionisanje aksona perifernih živaca (Sarin, 2010).

Mikrosudovi, naročito kapilari i prekapilari, perifernih živaca mogu da budu zahvaćeni mnogim oboljenjima metaboličkog, toksičkog, imunskog i inflamatornog karaktera (Schreder, 2001). Jedno od najčešćih oboljenja ovog tipa jeste dijabetes. Ovako nastale mikroangiopatije mogu da izazovu neuropatije, dakle funkcionalna ali i strukturna oštećenja perifernih živaca.

Na polutankim presecima endoneurijumskih kapilara jasno se zapaža jedan red kontinuiranih endotelnih ćelija sa jako izduženim jedrom, kao i produžeci pericita, što govori o kontinuiranom, nefenestriranom tipu kapilara (slika 28). Detalji građe mikrosudova najbolje se vide na EM (slika 29). Endotelne ćelije na poprečnim presecima, osim u nivou jedra, su veoma spljoštene. Uvek su povezane tesnim spojem, u njihovoj blizini su često postojali mikroprodužeci u lumenskom delu. Bazalna lamina endotelnih ćelija je stopljena sa bazalnom laminom pericita. U perikapilarnom prostoru nalazi se manji broj kolagenih vlakana (slika 29) (Četković-Milisavljević, 2005). Podaci ukazuju da IgG difunduje u perivaskularni parenhim spinalnih gangliona, gde ne postoji restriktivna krvno moždana barijera (Azzi i sar., 1990).



Sl. 28. Intrafascikularni kapilar trigeminusa i okolni mijelinski aksoni. (1) lumen kapilara, (2) jedro endotelne ćelije, (3) akson sa mijelinskim omotom. (Toluidin plavo).



Sl. 29. Poprečni presek kapilara trigeminusa. (1) lumen sa eritrocitima, (2) endotelna ćelija, (3) tesni spoj (tight junction), (4) bazalna lamina, (5) pericit, (6) perivaskularni prostor. (EM) (14000x).

Periciti

Periciti (muralne, Ružeove ćelije) su ćelije koje nalazimo u kapilarima i postkapilarnim venulama krvnih sudova. Utopljeni su u bazalnu laminu koja se nastavlja na bazalnu laminu endotelnih ćelija. Svojim zvezdastim citoplazmatskim nastavcima prstasto se pružaju duž abluminalne površine endotelijalnog tubusa, obuhvataju i nekoliko endotelnih ćelija, pa čak i nekoliko kapilara. Pericit sa endotelnom ćelijom ostvaruje i do 1000 kontakata tipa pericitni citoplazmatski izvrat – endotelna invaginacija. Drugi tip kontakata je označen kao adhezione ploče, sa odgovarajućim adhezionim molekulima, koje sadrže fibronektin i snopove mikrofilamenata. Krvni mikrosudovi CNS-a su pokriveni najvećim brojem pericita, u odnosu 1:1 do 1:3, u odnosu na broj endotelnih ćelija, što je oko 30% pokrivenosti njihove abluminalne strane (Armulik i sar., 2011).

Mikrovaskularni periciti svojim jedinstvenim položajem, zajedno sa endotelnim ćelijama i bazalnom laminom, služe kao značajni integratori, koordinatori i efektori mnogih neurovaskularnih funkcija, kao što je angiogeneza, formiranje i održavanje krvno-moždane barijere, vaskularna stabilnost i angioarhitektura, regulacija kapilarne cirkulacije krvi i odstranjivanje toksičnih ćelijskih produkata, što je od velikog značaja za homeostazu CNS-a i neuralnu funkciju. Nedostatak pericita u CNS-u dovodi do oštećenja krvno-moždane barijere, poremećaja perfuzije mozga i neurodegenerativnih promena (Winkler i sar., 2011; 2012).

Bazi ne karakteristike embrionalnog razvoja trigeminalog kompleksa

Stvaranje nervnog sistema oveka odvija se prenatalno, ali dalje usavršavanje neurona i uspostavljanje njihovih veza nastavlja se i posle rođenja.

Vrlo rano po oplodnji povećava se broj ćelija u blastuli, bez vidljivog porasta same blastule. Sledeći korak u razvoju je stvaranje useka na površini blastule (Hensenovog vora ili blastopore kod amfibija). Postepeno se odvija gastrulacija u toku koje dolazi do invaginacije zida blastule i stvaranja triju germinativnih slojeva: ektoderma, mezoderma i endoderma. U sledećoj fazi razvoja - fazi neurule - dominira razvoj nervnog sistema. Naime, na dorzalnoj strani embriona formira se primitivni usek koji polazi od Hensenovog vora i pruža se kranijalno (16. dan intrauterinog razvoja kod oveka). Lateralno od primitivnog useka zadebljava ektoderm i formira neuralnu ploču. Stvaranje neuroektoderma, koji predstavlja germinativni epitel nervnog sistema odvija se pod uticajem subektodermalno lociranog mezoderma, koji preko difuzibilnog agensa indukuje razvoj ektoderma u neuralnu ploču, što je primer primarne neuralne indukcije (Spemann, 1924; Saxen, 1980). Veću trećinu nedelji intrauterinog života neuralna ploča, građena najpre od kuboidalnih, a potom od cilindričnih ćelija povezanih u sincicijum, udubljuje se i stvara neuralni oluk (neural groove). Prominiraju i krajevi oluka nazvani su neuralni nabori i u četvrtoj nedelji intrauterinog razvoja međusobno se približavaju zatvaraju i postojeći neuralni oluk u neuralnu cev. Ostatak ovog procesa neurulacije počinje u cervikalnom delu napredujući rostralno i kaudalno u isto vreme, s tim što kranijalni i kaudalni delovi neuralne cevi u početku komuniciraju sa amnionskom šupljinom pomoću dva otvora (neuroporus cranialis i neuroporus caudalis). Otvori se normalno zatvaraju do kraja četvrte nedelje intrauterinog razvoja, u protivnom se razvijaju kongenitalne malformacije, npr.: rachischisis i spina bifida. U toku daljeg razvoja neuralna cev će se diferencirati u centralni nervni sistem.

Od brojnih delova neuralnih nabora koji ne ulaze u sastav neuralne cevi, prvi put kod embriona od oko 3,5 nedelje, stvara se neuralni greben ili kresta (*neural crest*). Neuralni greben nastavlja da se razvija do 4,5 nedelje u mozgu, a u kičmenoj moždini znatno duže. Odvajanje ćelija grebena od neuralnih nabora uključuje lokalno prekidanje bazalne lamine i gubljenje intercelularnih spojeva. Od progenitorskih ćelija neuralnog grebena, koje pokazuju izuzetnu sposobnost migracije, nastaju periferni ganglionski neuroni (spinalnih i kranijalnih nerava, ali i autonomnog sistema),

nekoliko tipova potpornih elija (satelitske elije gangliona, Švanove elije, i delimično leptomeningealne elije), melanociti, endokrine i slične elije (hromafine elije medule nadbubrežne žlezde, C elije tiroidne žlezde i delimično APUD elije digestivnog sistema), ali i ektomezenhim posebno u faringealnim lukovima.

Prekursori ganglijskih elija TG vode poreklo iz trigeminalnog dela nervnog grebena (uglavnom iz 2. rombomere), kao i iz bliske neurogene trigeminale plakode (lokalno zadebljanje ektoderma), koja ima dva dela: maksilo-mandibularni i oftalmički (Begbie and Graham, 2001; Barlow, 2002; McCabe i sar., 2004; Streit, 2004; O'Rahilly, 2007). Elije iz navedenih lokacija počinju da migriraju zahvaljujući integrinima, tj. elijskim receptorima za laminin i fibronektin u ekstracelularnom matriksu. Migracija, kao i diferenciranje prekursora elija u ganglijske elije, vrši se pod uticajem određenih faktora rasta: neurotrofnog faktora poreklom iz mozga (brain-derived neurotrophic factor - BDNF), faktora rasta nerava (nerve growth factor - NGF), neurotrofnog faktora 3 (NT-3) i 4/5 (NT-4/5). Za ove procese neophodni su i receptori tirozin kinaze (Trk). NGF dovode do elongacije aksona, a NT-3 do aksonske terminalne arborizacije (Ulupinar i sar., 2000). Aksoni osetljivi na NGF stimulaciju su pretežno TrkA pozitivni, dok TrkA i TrkC pozitivni aksoni reaguju na NT-3 stimulaciju (Ozdinler i sar., 2004).

Nakon završene migracije, elije se grupišu u svoje ganglione ekspresijom adhezivnih molekula superfamilija imunoglobulina G i katherina (Zigmond i sar., 1999). Opstanak ganglijskih elija direktno zavisi od spomenutih neurotrofina, naročito od BDNF, NT-3 i NT-4/5 (Streit, 2004). Mada su neke od njih pseudounipolarne elije (za deo n. maxillaris-a), većina pripada bipolarnim neuronima sa perifernim i centralnim produžetkom. Periferni produžetak izdužuje se prema perifernom ciljnom regionu, tj. prema području lica. Elongaciju centralnog produžetka, koji raste u suprotnom smeru, izaziva NGF (Ozdinler i sar., 2004). Ovi centralni aksoni ubrzo ulaze u moždano stablo, gde formiraju *tractus n. trigemini* (Erzurumlu i sar., 1995). Mijelinizacija vlakana trigeminusa započinje u 4. mesecu intrauterinog života.

Uloga neuropeptida u trigeminovaskularnom sistemu

Trigeminovaskularni system ine aksoni koji inervišu krvne sudove mozga i dure mater, ija se tela nalaze u trigeminalnom ganglionu. Periferni nastavci ovih pseudounipolarnih ganglijskih elija završavaju se na intra i ekstracerebralnim krvnim sudovima, dok se centralni nastavci prekidaju sinapsama na nervnim elijama spinalnog jedra trigeminusa u kaudalnom delu moždanog stabla. CGRP, SP i neurokinin A, peptidi sa snažnim vazodilatatornim dejstvom na eni su u ovim trigeminalnim ganglijskim elijama (Goadsby, 2002). NPY i VIP produkuju simpati ka i parasimpati ka vlakna (Messlinger i sar., 2011).

Osloba anje SP i CGRP iz trigeminalnih vlakana dure izaziva arterijsku vazodilataciju, degranulaciju mastocita i ekstravazaciju plazme, proces ozna en kao neurogena inflamacija. CGRP je od klju nog zna aja za razvoj migrene (Messlinger i sar., 2011). Trigeminalna nervna vlakna koja sadrže CGRP doprinose inflamaciji i bolu u inervisanim tkivima i imaju ulogu u zapo injanju i održavanju periferne i centralne senzitivacije (Cady i sar., 2011).

Periferna senzitivacija dovodi do pove ane osetljivosti u mnogim bolnim sindromima uklju uju i migrenu. Odnosi se na stanje gde nociceptivni aksoni pokazuju pove anu osetljivost na spojašnje mehane ili termalne nadražaje, na mestima zapaljenja ili povrede, ili ak i bez spoljašnjeg stimulansa. Intrakranijalna hipersenzitivnost uklju uje senzitivaciju nociceptivnih vlakana koja inervišu duru mater. Ekscitaciju i senzitivaciju nociceptivnih vlakana izaziva niz medijatora koji nastaju na mestu povrede i inflamacije; bradikinin, histamin, serotonin, prostaglandin E₂, citokini, interleukini, a naro ito azot oksid, koji izaziva lokalnu inflamaciju meninga i stvara glavobolju. CGRP i SP indirektno dovode do senzitivacije nociceptivnih vlakana, tako što deluju na osloba anje histamina, serotonina i azot oksida degranulacijom mastocita (Burstein i sar., 2011).

Centralna senzitivacija je stanje kada nociceptivni neuroni spinalnog trigeminalnog jedra pokazuju pove anu nadražljivost, što se klini ki manifestuje kao smanjen prag bola i preteran odgovor na bol. Za ovo stanje tokom migrene vezan je fenomen alodinija, koji ozna ava hiperiritaciju izazvanu uobi ajenim aktivnostima (ešljanje, brijanje ili nošenje nakita). U inicijalnoj fazi senzitivacije nociceptivna c vlakna, koja sadrže CGRP i SP, oslobaaju neuropeptide u spinalnom trigeminalnom

jedru. Održavanje senzitivacije je posledica aktivacije multiplih intracelularnih puteva (Burstein i sar., 2011).

Mastociti

Mastociti su elije imunskog sistema koje sadrže brojne granule i u estvuju u odvijanju trenutnih alergijskih reakcija i inflamacije. Poti u iz prekursorskih elija kostne srži koje eksprimiraju CD34 molekul, a mastocitni faktor rasta je potreban za njihov razvoj. Aktivacija mastocita indukuje egzocitozu i fuziju citoplazmatskih granula sa plazmalemom, što dovodi do brzog osloba anja karakteristi nih granula u intersticijum. Snažan stimulans je agregacija FceRI receptora izazvana Ag-IgE kompleksima. IgE molekule stvaraju plazmociti, elije imunskog sistema koje stvaraju antitela. FceRI stimulacija zapo inje signalnu kaskadu koja uklju uje aktivaciju tirozin kinaza, kao što su Syk, Lyn i BTK i fosforilaciju mnogih proteina adaptacije, koji igraju važnu ulogu u polimerizaciji mikrotubula, translokaciji granula do plazmaleme i degranulaciji mastocita. Degranulaciju izazivaju fizi ki faktori, toksini, endogeni medijatori i imunski mehanizmi. Njihove granule sadrže medijatore zapaljenja, kao što su heparin, histamin, serotonin, proteaze, lipidni medijatori (tromboksan, prostaglandin D2, leukotrien C4 i trombocitni aktiviraju i faktor) i citokini (Nishida i sar., 2005). -triptaza je proteaza koja je najsnažniji medijator skladiran u sekretornim granulama mastocita. Ima važnu ulogu u zapaljenju i služi kao marker aktivacije mastocita iz kojih se osloba a i stimuliše sekreciju susednih mastocita. Mastocitna triptaza aktivira proteazom aktivirane receptore (PAR-2), što dovodi do ekscitacije senzornih neurona (koji ove receptore eksprimiraju u 60% slu ajeva) i stimuliše osloba anje SP i CGRP iz njih (koji se eksprimiraju u 40% aksona) (Payne i Kam, 2004).

Mastocite nalazimo u dobro vaskularizovanim i inervisanim tkivima, posebno u blizini grani nih predela spoljašnje i unutrašnje sredine, kao što je koža, sluznica respiratornog i digestivnog sistema. Dura mater je intrakranijalna struktura bogato inervisana nociceptivnim vlaknima u kojoj uz krvne sudove nalazimo i brojne mastocite. Aktivisana meningealna nociceptivna vlakna oslobaaju neuropeptide, kao što su SP i CGRP, koji pokre u aktivaciju i degranulaciju duralnih mastocita (Levy i sar., 2007).

CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1) Određivanje mikromorfoloških karakteristika peritrigeminalne arterijske vaskularizacije i intratrigeminalne vaskularne mreže; poreklo arterija, kalibri, odnosi sa ganglionom i stablom nerva, na in grananja i anastomoze grana (peritrigeminalnih i intratrigeminalnih).

2) Histochemijskim i imunohistochemijskim metodama identifikovanje, klasifikovanje i određivanje mernih karakteristika ganglijskih elija u ganglionu trigeminusa, ali i ektope njih neurona u samom stablu trigeminusa.

3) Imunohistochemijskim metodama istraživanje prisustva i lokalizacije potencijalnih neurotransmitera i neuromodulatora u ganglijskim elijama gangliona i ektope nim neuronima trigeminalnog nerva.

MATERIJAL I METODE

A) MIKROMORFOLOŠKA ISTRAŽIVANJA TRIGEMINALNE VASKULARIZACIJE

Mikromorfološka i morfometrijska istraživanja vaskularizacije trigeminalnih nerava i gangliona izvršena su na 15 celih mozgova (30 preparata nerava), kao i 30 trigeminalnih gangliona dobijenih sa kadavera osoba oba pola (8 muških i 7 ženskih), starosti od 46 - 84 godine (prose no $68,4 \pm 9,6$), bez patoloških promena na moždanim strukturama, obdukovanih na Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Za va enje mozga iz lobanje koriš ena je uobi ajena tehnika obdukcije sa pažljivim odsecanjem trigeminalnog nerva uz duralni otvor kroz koji ulazi u Mekelovu duplju (vidi niže). Izva eni mozak je, u posudi odgovaraju e veli ine, potapan u fiziološki rastvor, u ve u *a. basilaris* je uvla ena plasti na kanila, a obe *aa. communicantes posteriores* su podvezivane. U vertebro-bazilarni arterijski sistem je, nakon ispiranja fiziološkim rastvorom i 4% neutralnim puferisanim rastvorom formaldehida, injicirana 5% mešavina rastopljenog želatina i crnog tuša. Mozak je zatim, po uklanjanju viška mešavine toplom vodom i o vrš avanju želatina u hladnoj vodi, fiksiran u 10% rastvoru formalina i glicerola u trajanju od 30 dana (slika 30) (Duvernoy, 1978). Trigeminalni ganglion je va en u bloku sa okolnim koštanim strukturama baze lobanje i durom, uklju uju i i kavernozi segment unutrašnje karotidne arterije. U izolovani segment unutrašnje karotidne arterije fiksirana je plasti na kanila kroz koju je u arterijski sistem gangliona injiciran najpre fiziološki rastvor, zatim rastvor formalina, a na kraju i rastvor crnog tuš želatina, poštuju i ve opisanu proceduru kod injiciranja krvnih sudova mozga (slika 31).

Mikrodisekcija injiciranih krvnih sudova trigeminalog nerva i gangliona pomoću mikroinstrumenata i sva merenja okular mikrometrom obavljena su pod Leica MZ6 stereomikroskopom na 25 probranih, dobro injiciranih nerava i gangliona, osoba starosti od 46 - 74 godine (prosečno $65,9 \pm 8,3$). Svi preparati su fotografisani Canon Power Shot A710 digitalnim foto aparatom, a svi detalji pod stereo mikroskopom snimljeni su Leica DFC295 digitalnom kamerom. Vaskularna mreža trigeminalog nerva i gangliona i topografski odnosi sa okolnim arterijama i venama ucrtavani su u unapred pripremljenu šemu.



Slika 30. Injicirani krvni sudovi moždanog stabla, (tuš želatin).

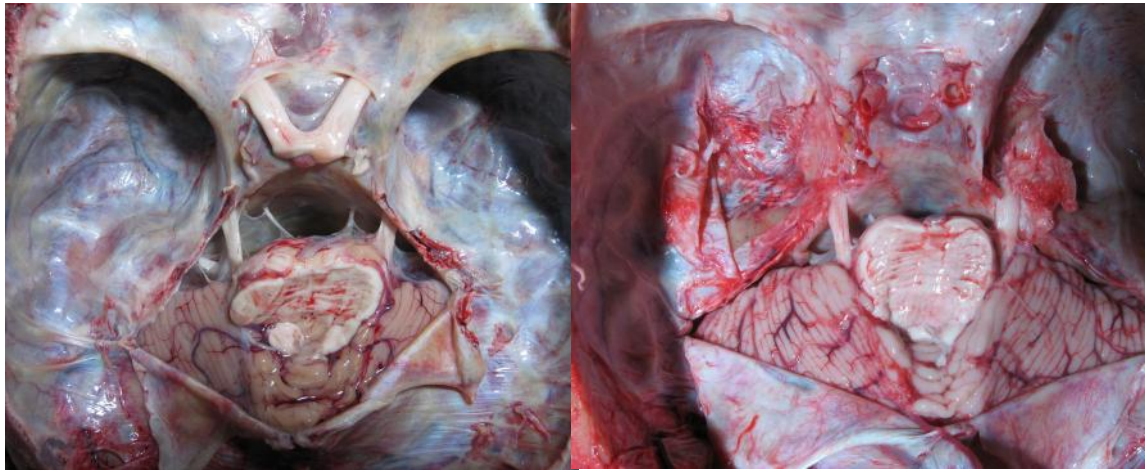
Slika 31. Injicirani krvni sudovi trigeminalnog gangliona, (tuš želatin).

B) HISTOHEMIJSKA I IMUNOHISTOHEMIJSKA ISTRAŽIVANJA TRIGEMINALOG ŽIVCA I GANGLIONA

B.1. Uzorak istraživanja i njegova priprema

Istraživanje je obavljeno na 20 parova trigeminalnih nerava i gangliona (ukupno 40 preparata, osoba oba pola 14 muških i 6 ženskih), bez znakova promena na strukturama centralnog nervnog sistema (CNS), starosti od 26 do 79 godina (prose no $55,65 \pm 15,74$). Materijal je dobijen tokom regularnih obdukcija sa Instituta za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, a od nastupanja smrti do uzimanja materijala nije proteklo više od 8 - 24 asa. Kako je *n. trigeminus*, bez obzira na veli inu, gracilan i nepristupa an u lobanjskoj duplji, koristili smo posebnu metodu pristupanja i odsecanja nerva i gangliona. Po otvaranju kalvarije lagano smo odizali frontalne lobuse velikog mozga, presecali smo oba opti ka nerva, obe unutrašnje karotidne arterije u nivou prednjeg klinoidnog nastavka i infundibulum hipofize. Daljim pažljivim odizanjem mozga od baze lobanje slede i kranijalni nervi koje smo presecali bili su okulomotorni nervi. Popre nim rezom presecali smo moždano stablo na granici ponsa i mezencefalona i uklanjali veliki mozak iz lobanje. Najdelikatniji deo uzimanja uzorka bio je pristup stablu trigeminalnog nerva koji je sakriven pod najmedijalnijim delom pripojne ivice tentorijuma malog mozga. Oštrim skalpelom, od središnje linije upolje, uz zadnju stranu petroznog dela temporalne kosti, odsecali smo pripoj tentorijuma za gornju ivicu piramide temporalne kosti i odizali tentorijum malog mozga. Najpre je vršeno odvajanje trigeminalnog nerva od moždanog stabla širokim opsecanjem površine ponsa u dubinu od oko 1 mm, a zatim opsecanje dure koja pokriva trigeminalni ganglion i odlubljuvanje gangliona sa površine temporalne kosti. Tako je u celini uziman preparat trigeminalnog nerva i gangliona (slike 32-34).

Materijal za histohemijske i imunohistohemijske metode bojenja je pripreman na standardan na in. Trigeminalni nervi i ganglioni su fiksirani u 4% neutralnom puferisanom rastvoru formaldehida tokom 24 asa u volumenu 20 puta ve em od volumena tkiva koje se fiksira. Rutinskom procedurom, koja obuhvata dehidraciju, prosvetljavanje, impregnaciju i kalupljenje u paraplustu (Bio-Plast plus, BioOptica, Italy), uzorci su pripremani za pravljenje preseka. Pravljeni su serijski tkivni preseci debljine 4 - 5 μm na mikrotomu Leica RM 2245.



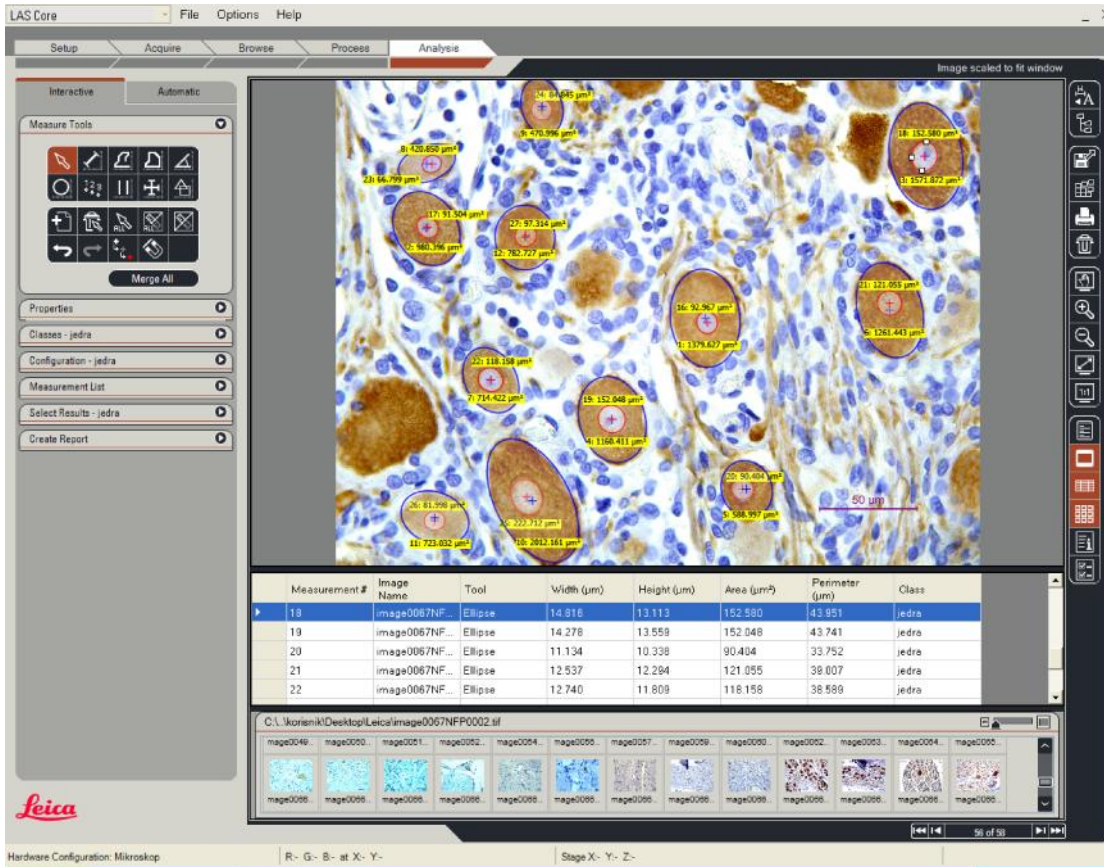
Slika 32. Baza lobanje po uklanjanju mozga posle presecanju moždanog stabla u nivou gornjeg dela ponsa i po odizanju duralnog tentorijuma da bi se otkrili trigeminalni nervi.

Slika 33. Odizanje dure koja prekriva trigeminalni ganglion.



Slika 34. Fiksirani celi preparati levog i desnog trigeminalnog nerva i gangliona.

Od ukupno 40 uzoraka trigeminalnih živaca i gangliona 15 je se eno poprečno a 25 dužno. Preseci su montirani na specijalne visokoadhezivne staklene ploče Superfrost Ultra Plus® (Menzel-Glaser, Nemačka), sušeni 60 minuta u termostatu na 56°C, a potom bojani. Svi preparati su analizirani pod Leica DMLS mikroskopom, snimljeni su Leica DFC295 digitalnom kamerom, a za morfometrijsku analizu korišćen je softver Leica Interactive Measurements (slike 35, 36). Rekonstrukcijom je pokazano je da se nukleolus približno nalazi u centru ganglijske ćelije, pa su i sva naša merenja obavljena samo na presecima ćelija sa vidljivim jedarcem, što je i najširi deo ćelije (Palmer i Holland, 1988).



Slika 35. Merenje jedara i tela ganglijskih elija koriš enjem softvera Leica Interactive Measurements.



Slika 36. Deo seta obojenih preparata jednog kalupa.

B.2. Histochemijske metode bojenja

Bojenje po Klüver Barrera

Luxol fast blue boji nervna vlakna plavo do plavo-zeleno. Cresyl violet je boja koja se koristi za identifikaciju neurona jer boji plavo do purpurno Nissl-ovu supstancu i nukleusni hromatin (Gurr, 1960; Ralis i sar., 1973; Wulff, 2004).

Trihromno bojenje po Heidenhain-u (Azan)

Ovim bojenjem neuroglijalne elije, mijelinski omota i i eritrociti u krvnim sudovima boje se crveno, miši na vlakana u sklopu zidova krvnih sudova trigeminalnog živca i gangliona svetlocrveno do žuto, a kolagena vlakna vezivnog omota a nerva i gangliona plavo (Švob, 1974; Bancroft i sar., 2008).

Trihromno bojenje po Masson-u

Mijelinski omota , glatke miši ne elije krvnih sudova vaskularne mreže trigeminusa i eritrociti se boje crveno. Svetlozeleno do zeleno boji se kolagen vezivnog omota a perifernog nerva, kao i kolagena vlakna krvnih sudova (Gurr, 1953; Gurr, 1958; Wulff, 2004; Bancroft i sar., 2008).

Gomori metoda za retikulinska vlakna

Rastvorom srebra ovom metodom retikulinska vlakna se boje tamno braon do crno (Bancroft i sar., 2008).

B.3. Imunohistochemijske metode bojenja

Tkivni preseci trigeminalnog živca i gangliona ispitivani su imunohistochemijski primenom slede ih tkivnih markera: 1. pan-neuronskih (neuron specifi ne enolaze-NSE, sinaptofizina-Sy, proteina neurofilamenta-NFP, proteinskog genskog produkta 9.5-PGP9.5); 2. markera neuroglijskih elija (S-100 proteina i kiselog fibrilarnog glijalnog proteina-GFAP); 3. neuropeptida (supstance P-SP, CGRP, somatostatina-SO, serotoninina-Ser, vazoaktivnog intestinalnog polipeptida-

VIP, bombesina-Bom, NPY); 4. markera perifernog mijelina (baznog proteina mijelina-MBP); i 5. endotelnih markera (CD31, CD34 i Von Willebrand-ovog faktora) (tabela 1). Za detekciju svih navedenih markera, osim endotelnih, primenjena je visokospecifi na i senzitivna imunohistohemijska metoda - obeležena streptavidin-biotin metoda u kojoj je streptavidin obeležen peroksidazom (DAKO LSAB+/HRP), dok su endotelni markeri detektovani imunohistohemijski primenom DAKO EnVision+ metode, tako e obeležene peroksidazom.

B.3.a. DAKO LSAB⁺/HRP procedura

Primarna antitela

Primarna antitela i razblaženja antiseruma koriš ena u toku imunohistohemijske metode bojenja DAKO LSAB+/HRP prikazana su u tabeli 1.

Princip primenjene imunohistohemijske metode - obeležene streptavidin - biotin metode (DAKO LSAB⁺)

DAKO LSAB⁺ kit obeležen peroksidazom bazira se na SAB (streptavidin-biotin) metodi, ali koristi visoko rafiniranu avidin-biotin tehniku u kojoj biotinizirano sekundarno antitelo reaguje sa nekoliko streptavidinskih molekula konjugovanih peroksidazom. Na avidinu se nalaze 4 vezuju a mesta za biotin. Me utim, zbog molekularne orijentacije biotin-vezuju ih mesta, stvarno se vezuje manje od 4 molekula biotina.

Protokol primenjene imunohistohemijske metode

U toku postupka imunohistohemijskog bojenja trostepenom LSAB⁺ imunohistohemijskom metodom vršeno je demaskiranje antigena, blokiranje endogene peroksidaze, inkubiranje preseka sa primarnim antitelom, inkubacija sa biotoniziranim anti-mišjim, anti-kozjim i anti-ze jim imunoglobulinima, inkubacija sa streptavidinskim konjugatom na peroksidazu rena i kona no, inkubacija u rastvoru

supstrat-hromogena. Nakon svih navedenih procedura preseci su bojeni Meyer-ovim hematoksilinom i montirani u vodeni medijum.

Demaskiranje antigena

Demaskiranje odre enih antigena detektovanih ovom procedurom sprovedeno je nakon uobi ajenog postupka deparafinizacije preparata, zagrevanjem preseka u rastvoru 0,01M citratnog pufera pH 6, u mikrotalasnoj pe nici, na 680 W, u toku 21 minuta.

Poznato je da formaldehid, pored toga što kao fiksativ omogu ava odli nu o uvanost morfoloških detalja, izaziva u tkivu molekulske promene koje uti u na trodimenzionalnu strukturu proteina. Promene uklju uju tercijarnu i kvaternarnu strukturu, što dovodi do maskiranja epitopa, dok primarna i sekundarna ostaju nedirnuti. Naime, formalin u tkivu dovodi do formiranja hidrosimetilenskih mostova izme u proteinskih aminokiselinskih ostataka (Pierse, 1980). Ove veze su odgovorne za maskiranje epitopa i smanjeno ili sasvim onemogu eno vezivanje odgovaraju eg antitela. Smatra se da Ca^{2+} joni, koji su ina e fiziološki prisutni u znatnim koli inama u svim tkivima, tako e u estvuju u formiranju ovih veza i mostova. Hidrosimetilenske grupe formiraju koordinativne veze sa Ca^{2+} jonima ili olakšavaju stvaranje popre nih veza sa kiseonikovim atomima iz bo nih ostataka glutamata i aspartata kao i sa karboksilnim grupama glavnog polipeptidnog lanca.

Mehanizam toplotom indukovano demaskiranja antigena, primenjenog u našoj proceduri imunohistohemijskog bojenja, nije u potpunosti objašnjen. Smatra se da termalna denaturacija proteina ima za posledicu osloba anje epitopa i poboljšanje imunohistohemijskog bojenja (Cattoretti i sar., 1993, Pilleri, 1997). Soli u puferima u koje se uzorci uranjaju pri zagrevanju služe da pomognu rasplitanje tercijarne struktura antigena. Primenjena toplota obezbe uje energiju neophodnu za raskidanje hidrosimetilenskih mostova izme u kalcijumovih jona i drugih dvovalentnih metalnih katjona i proteina. Uloga pufera je da precipitira ili helatizira oslobo ene metalne jone i spre i ponovo uspostavljanje veza (Morgan i sar., 1994).

Blokiranje endogene peroksidaze, inkubiranje preseka sa primarnim antitelom i postupak izvođenja Dako LSAB+/HRP vizuelizacione imunohistohemijske metode

Nakon izvršene deparafinizacije i postupka demaskiranja antigena, blokirana je endogena peroksidaza sa 3 % vodenim rastvorom H₂O₂, 10 min. na sobnoj temperaturi. Zatim su tkivni preseki inkubirani sa primarnim antitelom u vlažnoj komori, na sobnoj temperaturi u trajanju od 1 h. Nakon toga vršena je inkubacija sa biotiniziranim anti-mišjim, anti-kozjim i anti-zečjim imuno-globulinima 30 min. na sobnoj temperaturi. U sledećoj etapi preseki su tretirani streptavidinskim konjugatom na peroksidazu rena, 30 min. na sobnoj temperaturi. Na kraju, preseki su inkubirani u rastvoru supstrat-hromogena, upotrebom DAB+kita (3,3'-diamino-benzidin tetrahidrohlorid i H₂O₂; DAKO Liquid DAB+ Substrate Chromogen System, Code No. K3468, proizvođač DAKO, Danska) ili 3-amino-9-etilkarbazola (DAKO AEC+ Substrate Chromogen, Lot No. 01475, proizvođač DAKO, Danska) u trajanju od 10 min. na sobnoj temperaturi. Preparati su kontrastirani Mayer-ovim hematoksilinom i uklapani u vodeni medijum (Aquatex-OC 261903, proizvođač Merk, Nemačka).

Kontrola kvaliteta i specifičnosti imunohistohemijskog bojenja

Imunohistohemijska bojenja izvršena su uz kontrolu kvaliteta i specifičnosti bojenja primenom "pozitivnih" i "negativnih" kontrola prema propozicijama UK NEQAS (engl. UK National External Quality Assessment for Immunocytochemistry).

"Pozitivni" kontrolni uzorci za testiranje svih ispitivanih neuropeptida bili su uzorci tankog i debelog creva oveka, s obzirom da se ovi neuropeptidi sekretuju iz elemenata difuznog neuroendokrinog sistema creva (neuroendokrinih elija i enteričkog nervnog sistema). Kao "negativna" kontrola u toku imunohistohemijskog bojenja služili su tkivni preseki uzoraka ispitivanih trigeminalnih živaca kojima se dokazuje ekspresija markera, ali su u toku procedure bojenje tretirani neimunskim serumom umesto primarnim antitelom.

B.3.b. DAKO EnVision⁺/HRP procedura

Metodom DAKO EnVision⁺/HRP imunohistohemijski smo dokazivali prisustvo CD31, CD34 i F-VIII na ispitivanom materijalu.

Primarna antitela

Primarna antitela i razblaženja antiseruma koriš ena u toku imunohistohemijske metode bojenja DAKO EnVision+/HRP prikazana su u tabeli 1.

Princip primenjene imunohistohemijske metode - obeležene streptavidin - biotin metode (DAKO LSAB+)

Ovo je vrlo jednostavna, dvostepena procedura vrlo visoke detekcione mo i. Vizuelizacioni reagens sadrži sekundarna antitela kao i molekule peroksidaze rena, koji su vezani za zajedni ki nosa dekstranskog polimera. Po dvadeset molekula sekundarnih antitela i po sto molekula peroksidaze je konjugovano na jednom molekulu polimera. S obzirom na ovakvu strukturu sekundarnog sloja ova tehnika omogu ava višestruku amplifikaciju signala. Enzimatska konverzija naknadno dodatog hromogena rezultuje u stvaranju vidljivog reakcionog produkta na mestu prisutnog antigena. Kao hromogen u EnVision tehnici za vizualizaciju se koristi boja novi fuksin (new fuchsin).

Tabela 1. Pregled primarnih antiseruma koriš enih u imunohistohemijskoj analizi

Primarni antiserum i klon	Imunogen	Proizvo a / Kataloški broj	Razblaženje antitela
Sinaptofizin (mo mišji anti-sinaptofizin) (clone SY38)	Presinapsne vezikule iz gove eg mozga	Dako Denmark A/S M 0776	1:10
NSE (mo mišji anti-humani NSE) (BBS/NC/VI-H14)	- enolaza iz humanog mozga	Dako A/S, Denmark M 0873	1:100
S-100 (po ze ji anti-S-100 protein)	S-100 protein izolovan iz mozga krave	Dako A/S, Denmark Z 0311	1:400
Protein neurofilamenta (mo mišji anti-humani NFP) (clone 2F11)	Protein NF izolovan iz mozga oveka	Dako Denmark A/S M 0762	1:50
NFP (mo mišji anti-humani NFP 200 kD) (clone RT97)	Protein NF izolovan iz mozga pacova	Leica Newcastle, UK NCL-NF200	
PGP 9.5 (po ze ji anti-PGP 9.5)	PGP 9.5 izolovan iz gove eg mozga	Dako Denmark A/S Z 5116	1:100
VIP (po ze ji anti-VIP)	Prirodni VIP svinje	Serotec, UK PEPA 41	1:400
	VIP humanog porekla	Abcam, UK Ab8556	1:20

SP (po ze ji anti-SP)	Sintetska SP	Serotec, UK PEPA 40	1:1000
SP (mo mišji anti-SP)		Abcam, UK Ab14184	1:1000
Somatostatin (po ze ji anti-somatostatin)	Sintetski cikl ni (1-14) somatostatin	Dako Denmark A/S A 0566	1:200
CGRP (po ze ji anti-CGRP)	Sintetski CGRP	Serotec, UK PEPA 27	1:1000
		Abcam, UK Ab139264	1:50
Bombesin (po ze ji anti-bombesin)	Sintetski bombesin-14	Serotec, UK PEPA 23	1:6000
	Sintetski bombesin	Abcam, UK Ab86037	1:2000
NPY (po ze ji anti-NPY)	Sintetski NPY	Euro-Diagnostica, Holland B 48-1	1:400
		Abcam, UK Ab43824	
Serotonin (mo mišji anti-serotonin) (clone 5HT-H209)	Sintetski 5-HT hidrohlorid	Dako Denmark A/S M 0758	1:50
CD31 (mo mišji anti-humani CD31) (clone JC70A)	Membrane elija slezine pacijenta sa leukemijom upastih elija	Dako Denmark A/S M 0823	1:20
CD34 (mišji monoklonski anti-humani CD34)	Membrane endotelnih elija dobijene iz humane placente	Dako Denmark A/S M 7165	1:25
Von Willebrand-ov faktor (mo mišji anti-humani Von Willebrand-ov faktor) (clone F8/86)	Von Willebrand-ov faktor izolovan iz humane plazme	Dako Denmark A/S M 0616	1:25
GFAP (mo mišji anti-humani GFAP) (6F2)	GFAP izolovan iz humanog mozga	Dako Denmark A/S M 0761	1:50
MBP (mo mišji anti-humani MBP)	Protein od 43 kD izolovan iz PNS-a	Euro-Diagnostica, Holland 2232MME	1:10
	Pre iš en humani MBP	Abcam, UK Ab62631	1:500
CD117, c-kit (po ze ji anti-humani CD117)	Peptid aminokiselina 963-976 citoplazmatskog c- terminalnog dela c-kit	Dako Denmark A/S A4502	1:400
Mastocitna triptaza (mo mišja anti-humana)	Mastocitna triptaza izolovana iz humanih plu a	Dako Denmark A/S M 7052	1:100

NSE - neuron specifi na enolaza; VIP - vazoaktivni intestinalni polipeptid; SP - supstanca P; CGRP - proteinski produkt gena za kalcitonin; GFAP - kiseli fibrilarni glijalni protein; MBP - bazni protein mijelina; NFP – protein neurofilamenata; 5-HT - 5-hidroksitriptamin

Protokol primenjene imunohistohemijske metode

U toku imunohistohemijskog bojenja metodom EnVision+/HRP na deparafinisanim ploicama prvo je izvršeno demaskiranje epitopa antigena, a potom blokiranje endogene peroksidaze, nanošenje primarnog antitela, vizuelizacionog reagensa i rastvora mešavine supstrat-hromogena. Nakon svih navedenih procedura preseki su bojeni Mayer-ovim hematoksilinom i montirani u vodeni medijum (Aquatex-OC 261903, proizvođač Merck, Nemačka).

Demaskiranje antigena

Demaskiranje antigena vršeno je zagrevanjem preparata u vodenom kupatilu na temperaturi od 99°, 40 min., u komercijalnom rastvoru za demaskiranje (0,01 M citratni pufer, pH 6, sa dodatkom antimikrobnih supstanci).

Blokiranje endogene peroksidaze, inkubiranje preseka sa primarnim antitelom i postupak izvođenja vizuelizacione imunohistohemijske metode

Blokiranje endogene peroksidaze vršeno je u 3% rastvoru vodonik peroksida, 5 min. Zatim su tkivni preseki inkubirani sa primarnim antitelom u vlažnoj komori, na sobnoj temperaturi, 1 h. Nakon toga vršena je inkubacija preseka u vizuelizacionom reagensu, pod istim uslovima. Na kraju, preseki su inkubirani u rastvoru supstrat-hromogena, upotrebom DAB+kita (3,3'-diamino-benzidin tetrahidrohlorid i H₂O₂; DAKO Liquid DAB+ Substrate Chromogen System, Code No. K3468, proizvođač DAKO, Danska) ili 3-amino-9-etilkarbazola (DAKO AEC+ Substrate Chromogen, Lot No. 01475, proizvođač DAKO, Danska) u trajanju od 10 min. na sobnoj temperaturi. Preparati su kontrastirani Mayer-ovim hematoksilinom i uklapani u vodeni medijum (Aquatex-OC 261903, proizvođač Merck, Nemačka).

Kontrole u toku imunohistohemijskog bojenja

Kao kontrolni uzorci korišćeni su normalni uzorci zida debelog creva ovekagde se na endotelu krvnih sudova jasno ekspimiraju CD31, CD34 i Von Willebrand-ov faktor. Kao "negativna" kontrola u toku imunohistohemijskog bojenja služili su tkivni preseki uzoraka ispitivanih trigeminalnih živaca i gangliona kojima se dokazuje

ekspresija markera, ali su u toku procedure bojenje tretirani neimunskim serumom umesto primarnim antitelom.

Statisti ka analiza

U radu su koriš ene metode deskriptivne i inferencijalne statistike. Od metoda deskriptivne statistike koriš ene su mere centralne tendencije i mere varijabiliteta i to: aritmeti ka sredina sa standardnom devijacijom, minimalne i maksimalne vrednosti, kao i relativni brojevi za kategorijalne varijable. Od metoda inferencijalne statistike koriš ene su metode za procenu zna ajnosti razlike i to: Student-ov t test za vezane uzorke i numeri ka jednofaktorska analiza varijanse, kao i metode za procenu zna ajnosti povezanosti – Pearson-ov koeficijent linearne korelacije.

Statisti ka analiza je uradjena koriš enjem statisti kog programa SPSS (SPSS for Windows, release 17.0, SPSS, Chicago, IL).

REZULTATI

Mikromorfološke karakteristike peritrigeminalne arterijske vaskularizacije i intratrigeminalne vaskularne mreže

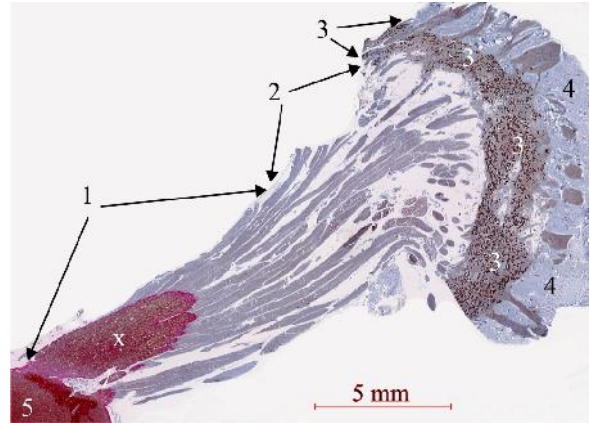
Trigeminalni nerv se cisternalnim delom pruža od nivoa duralnog porusa, kroz koji ulazi u Meklovu duralnu duplju, do lateralnog dela ventralne površine ponsa u koju ponire kroz *pedunculus cerebellaris medius*. Smešten je u gornjem delu pontocerebelarne cisterne (*cisterna pontocerebellaris*). Arahnoidna opna obavija i prati trigeminalni nerv i nastavlja oko trigeminalnog gangliona. Ganglijski ili pleksusni segment intrakranijalnog dela trigeminalnog nerva, „*plexus triangularis*“, sadržan je u Mekelovoj duralnoj duplji i hilusnoj pe ini trigeminalnog gangliona. ine ga fascikulusi vlakana lepezasto rasuti od duralnog porusa do konkavne, udubljene površine gangliona (slike 37a, 37b, 38).

Trigeminalni nerv se sastoji se od dva korena, debljeg senzornog (*radix sensoria*) i tanjeg motornog (*radix motoria*). Po etni deo motornog korena izbija iz ponsa sa nekoliko koren i a koji su naj eš e neposredno rostralno (iznad) senzornog korena. Motorni snopovi prate i sa medijalne strane se podvla e pod senzorni koren i semilunarni ganglion da bi se pridružili mandibularnoj grani. U okviru korenog dela trigeminusa senzorna vlakna tri završna stabla ostaju na okupu i bez obzira na manju ili ve u rotaciju zadržavaju topografsku lokalizaciju od gangliona ka ponsu; oftalmi ki deo dorzomedijalno, maksilarni deo u sredini i mandibularni deo ventrolateralno. Svaki deo nerva, a naro ito senzorni segment, podeljen je na fascikuluse (slika 39). U svakom fascikulusu nalazi se veliki broj mijelinskih i amijelinskih aksona, kolagenih vlakana, kao i odgovaraju i celularni elementi: ektopi ni neuroni sa satelitskim elijama, Švanove elije i fibroblasti.

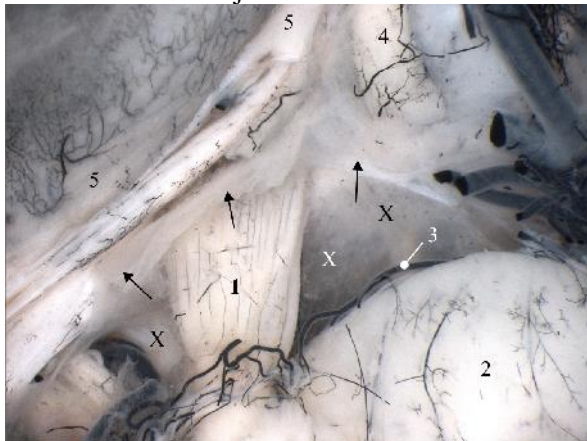
Trigeminalni ganglion je smešten u Mekelovoj duralnoj duplji. Opisuje se da je srpastog ili oblika mladog meseca. Transverzalni presek kroz ganglion pokazuje ovakav raspored ganglijskih elija. Na sagitalnom preseku kroz ganglion uo ava se grupisanje ganglijskih elija u traku koja se previja i posuvra a unazad, obrazuju i prostor, ispunjen trigeminalnim vlaknima, otvoren unazad. Na frontalnom preseku traka ganglijskih elija se na obe bo ne stane previja naniže obuhvataju i odozgo snopove nervnih vlakana. Zajedno, približna slika gangliona je najbliža obliku kifle udubljene duž konkavne površine u duboku sinusnu šupljinu (slike 40a, 40b).



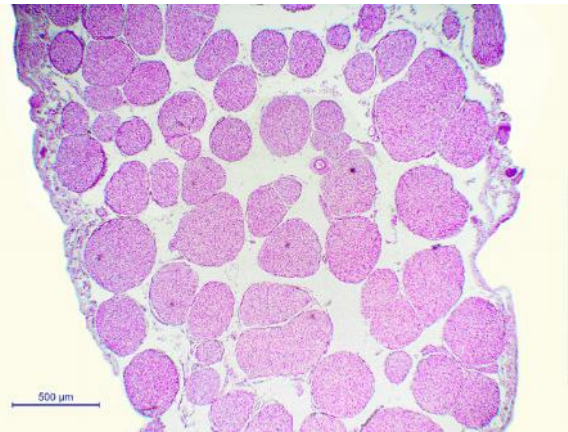
Sl. 37a. Segmenti trigeminalog nerva: (1) cisternalni, (2) pleksusni, (3) zona trigeminalnog gangliona, (4) n. ophthalmicus, (5) n. maxillaris, (6) n. mandibularis, (7) dura mater na bazi lobanje.



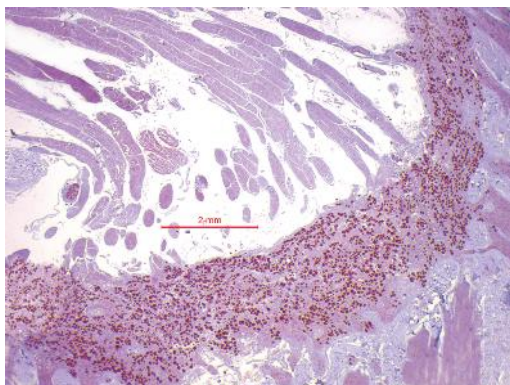
Sl. 37b. Segmenti trigeminalog nerva: (1) cisternalni (x - parapontinski deo sa centralnim mijelinom), (2) pleksusni, (3) zona trigeminalnog gangliona sa ganglijskim elijama, (4) dura mater, (5) pons. (IHH, GFAP/NSE). (6,3x).



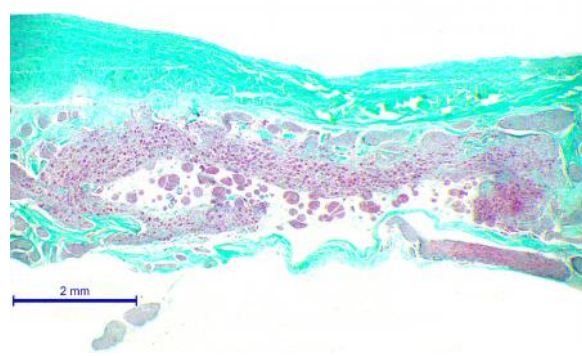
Sl. 38. Arahnoidna opna (strelice) gradi pontocerebelarnu cisternu (X) u kojoj je cisternalni deo trigeminusa (1). (2) pons, (3) superolateralna pontinska arterija, (4) okulomotorni nerv, (5) dura mater (leva strana, pogled odozgo).



Sl. 39. Fascikularna organizacija trigeminalnog nerva na transverzalnom preseku. (hematoksilin eozin) (40x).



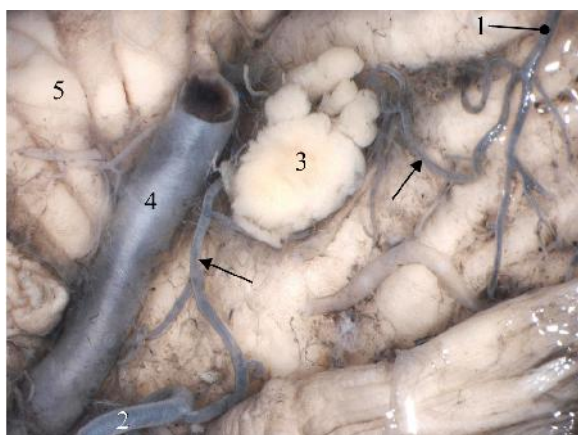
Sl. 40a Transverzalni presek kroz ganglion. (IHH, NSE) (40x).



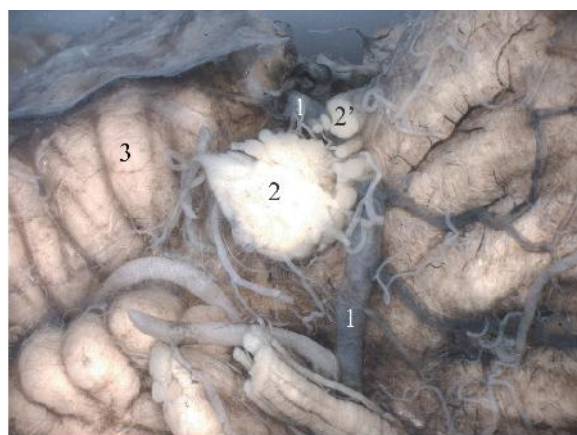
Sl. 40b Frontalni presek kroz trigeminalni ganglion pokriven debelim slojem dure. (Masson, 400x).

Odnosi sa bliskim krvnim sudovima

Proučavanje odnosa korenog dela trigeminalnog nerva i velikih krvnih sudova u njegovoj blizini dobija na značaju razvojem mikrovaskularne dekompresione neurohirurgije u pacijenata sa trigeminalom neuralgijom. Za kompresiju nerva krvnim sudom bitan je njihov prisan kontakt, pa smo samo notirali krvne sudove koji neposredno dodiruju ili probijaju trigeminalni nerv. Na našem materijalu uoči ili smo nekoliko sudova koji su manjim ili većim delom svoga stabla bili uz sam nerv.



Sl. 41. Trigeminalne grane (strelice) inferolateralne pontinske arterije (1) i donje zadnje cerebelarne arterije (2) za trigeminalni nerv (3). (4) vena petrosa priljubljena uz dorzalnu površinu nerva, (5) cerebelum.



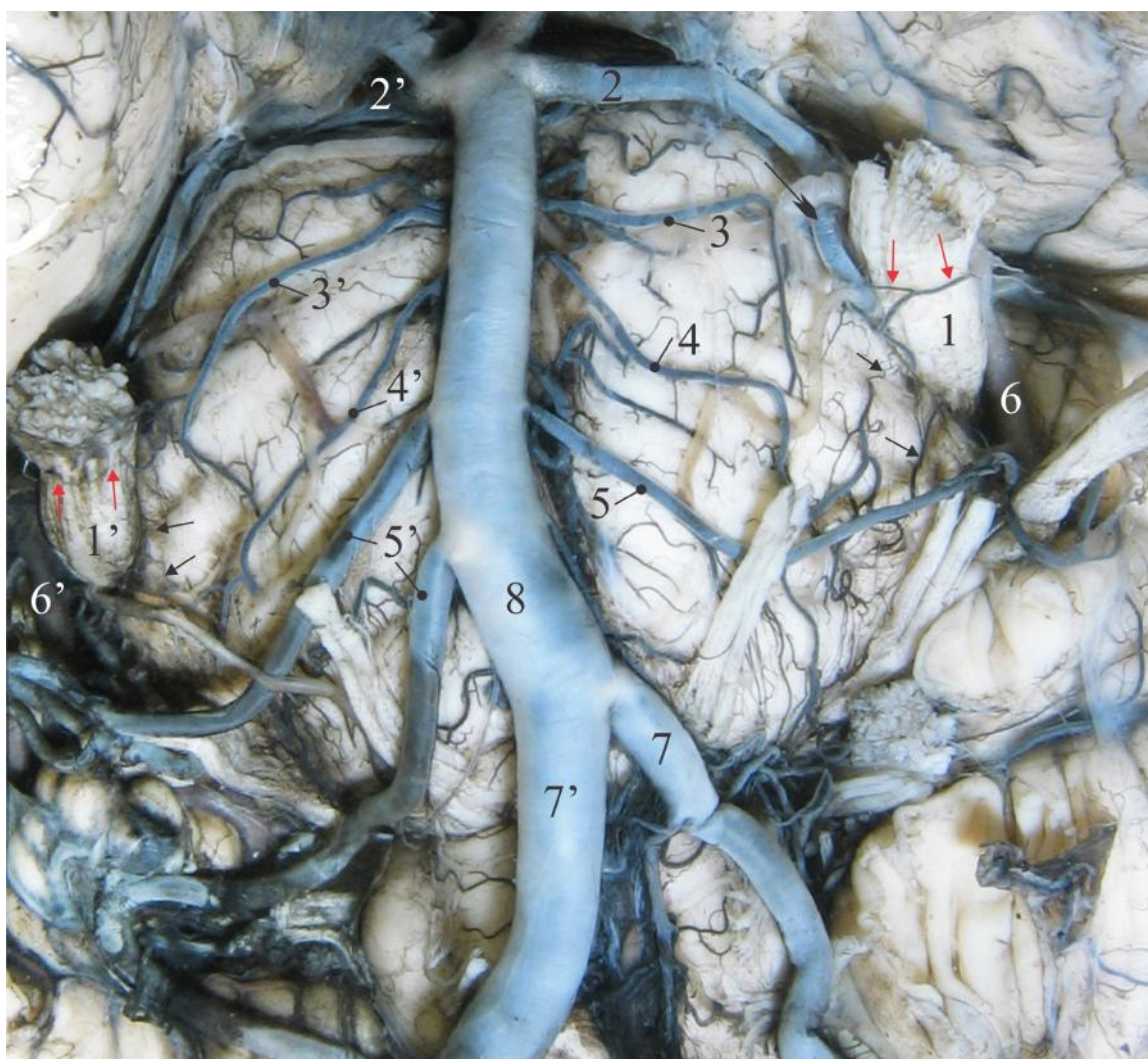
Sl. 42. Vena petrosa (1) provlači se sa ventralne strane između motornog (2') i senzornog (2) korena trigeminalnog nerva. (3) cerebelum.

Vena petrosa, Dandy-jeva vena, pritoka *sinus petrosus superior*-a, prihvata vene gornje i srednje cerebelarne nožice i prednjeg dela malog mozga. Vene ponsa, medule i predela četvrte komore tako se u nju ulivaju. Ušestruka je, u 64% slučajeva, neposredno dorzalno od mesta spoja senzornog korena i ponsa. Petrozna vena se pruža u anterolateralnom smeru, iza i nešto iznad trigeminalnog nerva, do mesta svoga ušestručenja. Na 3 (12%) naša preparata Dendijeva vena se pružala u bliskom kontaktu, priljubljena uz dorzalnu površinu nerva (slika 41), a u 3 (12%) slučajeva trigeminalnom nervu je prilazila sa ventralne strane, dok je u 2 (8%) slučajeva punim kalibrom prolazila između korenskih snopova nerva kao svojom ušestručenom (slika 42).

Arteria cerebelli superior, na svom putu upolje oko moždanog stabla, najčešće je u kontaktu sa korenim delom trigeminalnog nerva, stablom na 8 (32%) hemisfera u blizini a na 2 (8%) u direktnom kontaktu, a lateralnom granom, na 15 (60%) hemisfera u blizini a na 3 (12%) u direktnom kontaktu sa gornjom površinom nerva (slika 43).

Superolateralna pontinska arterija, bo na grana *a. basilaris*, svojim završnim granicama prilazi trigeminalnom nervu i vaskularizuje ga. U 2 (8%) slučajeva arterija se punim kalibrom probijala između snopova motornog i senzornog korena obuhvatajući i nerv sa donje strane i nastavljala oko živca dajući i granice za njega (slika 49).

Arteria cerebelli inferior anterior kao bo na grana po etnog dela *a. basilaris* usmerena je upolje, obilazi oko ponsa, ka gornjoj površini malog mozga. Iste svojom izraženom krivinom dodiruje facijalni i vestibulokohlearni kranijalni nerv, do nivoa *meatus acusticus internus*-a. U 3 (12%) slučajeva postoji ili smo neurovaskularni kontakt krivine arterije i donjeg dela trigeminalnog nerva (slika 47).

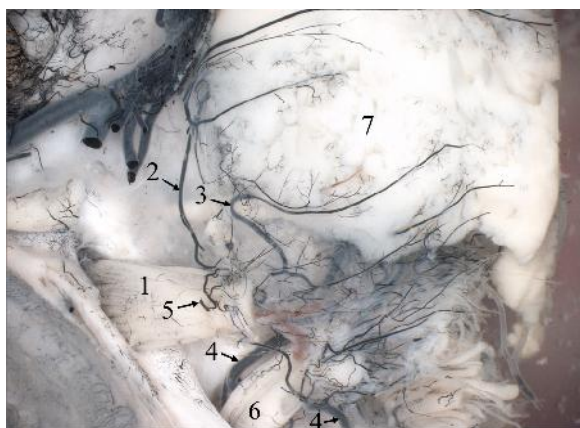


Sl. 43. Pogled na ventralnu stranu ponsa i arterije koje vaskularizuju trigeminalni nerv (1, levi i 1', desni nerv). (2) leva ACS (velika strelica, izražena krivina lateralne grane ACS); (2') desna ACS; (3) leva superolateralna pontinska arterija (crvene strelice, distalni, nepotpuni arterijski prsten); (3') desna superolateralna pontinska arterija (crvene strelice, distalni, nepotpuni arterijski prsten); (4) leva inferolateralna pontinska arterija (crne strelice, proksimalne trigeminalne granice); (4') desna inferolateralna pontinska arterija (crne strelice, proksimalne trigeminalne granice); (5) leva ACIA; (5') dve desne ACIA; (6) leva vena petrosa; (6') desna vena petrosa; (7) leva vertebralna arterija; (7') desna vertebralna arterija; (8) bazilarna arterija.

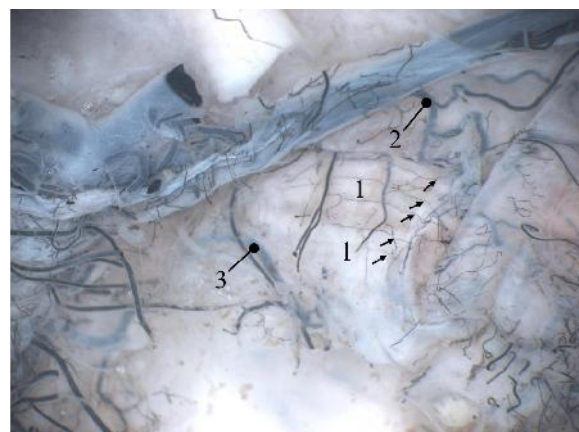
Mikromorfološke karakteristike perineurijalne arterijske vaskularizacije

Arteria basilaris svojim pontinskim granama vaskularizuje cisternalni deo trigeminalog nerva. Trigeminalne arterije su arterijski sudovi namenjeni vaskularizaciji trigeminalog nerva koji polaze iz više grana, koje sve vode poreklo od *a. basilaris*. Trigeminalne grane se odvajaju od superolateralne pontinske arterije (SPA), inferolateralne pontinske arterije (IPA), *a. cerebelli inferior anterior* (ACIA), (direktno ili od njene pedunkularne grane) ili od same *a. cerebelli superior* (ACS). Duge pontinske arterije dobijaju svoja opisna imena zavisno od nivoa odvajanja od *a. basilaris* (AB) i njenih grana, kao i strane sa koje pristupaju korenom delu trigeminusa (slika 43).

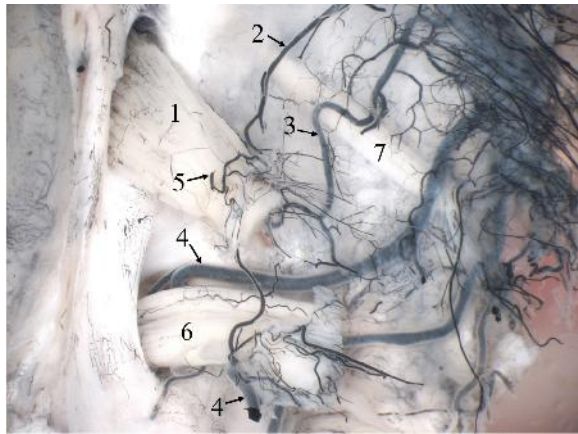
Superolateralna pontinska arterija se od *a. basilaris* odvaja kaudalno u odnosu na gornju cerebelarnu arteriju i daje trigeminalu granu koja pristupa odozgo ventralnom delu nerva. Ova arterija je i naj eš i izvor vaskularizacije trigeminalog nerva u 23 (92%) slu aja sa 1-3 gran ice, kalibra 110 - 320 μm (prose no 230 μm) (slike 43-49).



Sl. 44. Levi trigeminus (1) vaskularizuju gran ice superolateralne (2) i inferolateralne pontinske arterije (3), kao i ACIA (4) i ACS (5). (6) facijalis i vestibulokohlearni nervi, (7) presek i disekcija u nivou ponsa.



Sl. 45. Fine arterijske grane (strelice) za desni trigeminus (1) poreklom iz superolateralne (2) i inferolateralne pontinske arterije (3).



Sl. 46. Levi trigeminus (1) vaskularizuju granice superolateralne (2) i inferolateralne pontinske arterije (3), kao i ACIA (4) i ACS (5). (6) facijalis i vestibulokohlearni nervi, (7) n. abducens.



Sl 47. Desni trigeminus (1) dobija granice (strelice) iz superolateralne (2) i inferolateralne pontinske arterije (3) i ACIA (4). (5) ACS, (6) AB.

Inferolateralna pontinska arterija, kao grana *a. basilaris*, nastaje još kaudalnije a njena trigeminalna grana pristupa odozdo ventralnom delu nerva. Davala je 1 - 2 granice za 18 (72%) trigeminalnih nerava, pre nika 120-240 μm (prose no 180 μm) (slike 43-49).

A. cerebelli inferior anterior, preko svoje pedunkularne grane ili direktno, doprinosi vaskularizaciji kaudalnog, donjeg dela korena trigeminusa. Ova grana po etnog segmenta *a. basilaris* usmerena je upolje ka gornjoj površini malog mozga. Vrlo esto je u blizini trigeminalog nerva, a ne retko svojom izraženom krivinom dodiruje VII i VIII kranijalni nerv, do nivoa *meatus acusticus internus*-a. Predstavljala je drugi najzastupljeniji izvor vaskularizacije trigeminalog nerva, u 22 (88%) slu ajeva. Davala je jednu granicu za nerv, pre nika 140 - 340 μm (prose no 240 μm), re e direktno a eš e od bo ne, pedunkularne grane, namenjene vaskularizaciji *pedunculus cerebellaris medius*-a (slike 43-47).

A. cerebelli superior na svom putu upolje oko moždanog stabla, iako je vrlo blizu ili u kontaktu sa korenim delom trigeminalog nerva, svojom trigeminalnom granicom pre nika 210 - 230 μm (prose no 220 μm), samo u 3 (12%) slu aja u estvovala je u vaskularizaciji rostralnog, gornjeg dela korena trigeminusa.

Cisternalni segment V kranijalnog živca, u celini, obi no je dobijao 2 do 5 trigeminalih gran ica iz neke od navedenih arterija (prose no 3,6), kalibra od 110 do 340 μm (prose no 220 μm) (tabela 2).

Tabela 2. Arterije i trigeminalne gran ice koje vaskularizuju trigeminalni nerv

Arterija	Frekvencija (%)	Broj trigem. gran ica (X)	Pre nik (μm); interval (X)
Superolateralna pontinska arterija	23 (92)	1 - 3	110 - 320 (230)
Inferolateralna pontinska arterija	18 (72)	1 - 2	120 - 240 (180)
Prednja donja cerebelarna arterija	22 (88)	1	140 - 340 (240)
Gornja cerebelarna arterija	3 (12)	1	210 - 230 (220)
Ukupno	25 (100)	2 - 5 (3,6)	110 - 340 (220)

Arterijska vaskularizacija motornog korena

Motorni koren trigeminalnog nerva je naj eš e vaskularizovan superolateralnom pontinskom arterijom, 23 (92%) nerva, a retko inferolateralnom pontinskom arterijom, 1 (4%) slu aj, odnosno gornjom cerebelarnom arterijom, na 1 (4%) hemisferi. Ovaj koren obi no snabdeva jedna arterija (92%), a retko dve arterije (8%) (tabela 3).

Arterijska vaskularizacija senzornog korena

Senzorni koren trigeminalnog nerva je naj eš e vaskularizovan trigeminalnim granama superolateralne pontinske arterije, u 23 (92%) slu aja, granama inferolateralne pontinske arterije, u 18 (72%) slu aja i granama prednje donje cerebelarne arterije, u 22 (88%) slu aja. Završne i bo ne grane jedne trigeminale arterije, pre nika od 40 do 210 μm (prose no 120 μm), mogu da vaskularizuju jedan, dva ili sva tri dela senzornog korena. Oftalmički deo, V1, je naj eš e (92%) snabdeven granama superolateralne pontinske arterije, maksilarni deo, V2, granama superolateralne (72%) i inferolateralne (72%) pontinske arterije, a mandibularni deo, V3, iz prednje donje cerebelarne arterije (88%) (tabela 4).

Tabela 3. Arterijska vaskularizacija motornog korena trigeminalog nerva

Arterija	Frekvencija (%) na 25 nerava
Superolateralna pontinska arterija	23 (92)
Inferolateralna pontinska arterija	1 (4)
Gornja cerebelarna arterija	1 (4)

Tabela 4. Arterijska vaskularizacija senzornog korena trigeminalog nerva

Arterija	Frekvencija (%) i deo trigeminalnog nerva na 25 nerava
Gornja cerebelarna arterija	1 (4) V1
Superolateralna pontinska arterija	23 (92) V1, 18 (72) V2
Inferolateralna pontinska arterija	18 (72) V2
Prednja donja cerebelarna arterija	22 (88) V3

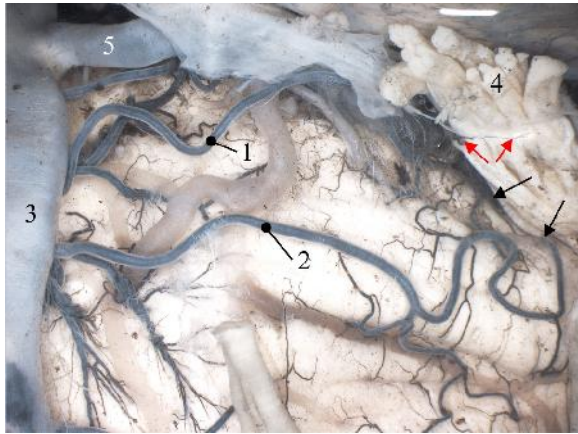
Tipovi vaskularizacije trigeminalog nerva

Trigeminale arterije prilaze trigeminalom živcu uz njegov proksimalni (parapontinski) i središnji deo. Opisali smo proksimalni i središnji nivo pristupa ovih sudova.

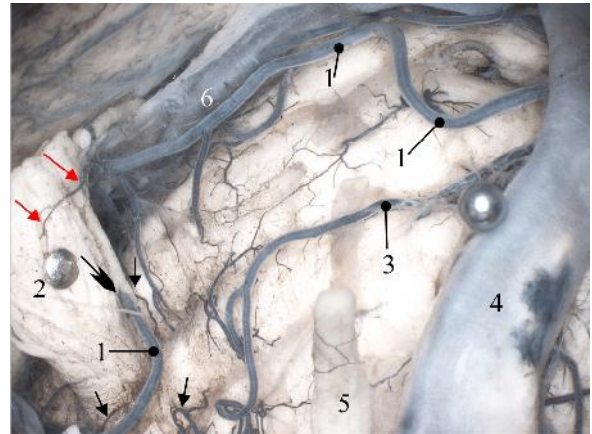
Arterije proksimalnog nivoa vaskularizuju kako po etni deo nerva tako i pontinski deo korena živca. Pristupaju trigeminusu uz samu površinu ponsa, obuhvataju deo nerva koji ponire i daju fine grane centrifugalno i centripetalno koje prate nervne fascikuluse. Arterije koje u estvuju u vaskularizaciji nerva uvek mu i prilaze na ovaj na in (slike 50, 51).

Arterije središnjeg nivoa ine grane trigeminalnih arterija koje se uzdižu sa površine ponsa i popre no pružaju po središnjem delu živca. Uvek su grane trigeminalnih arterija koje prilaze i parapontinskom delu nerva. Njihove grane su usmerene distalno ka trigeminalnom ganglionu (slika 43).

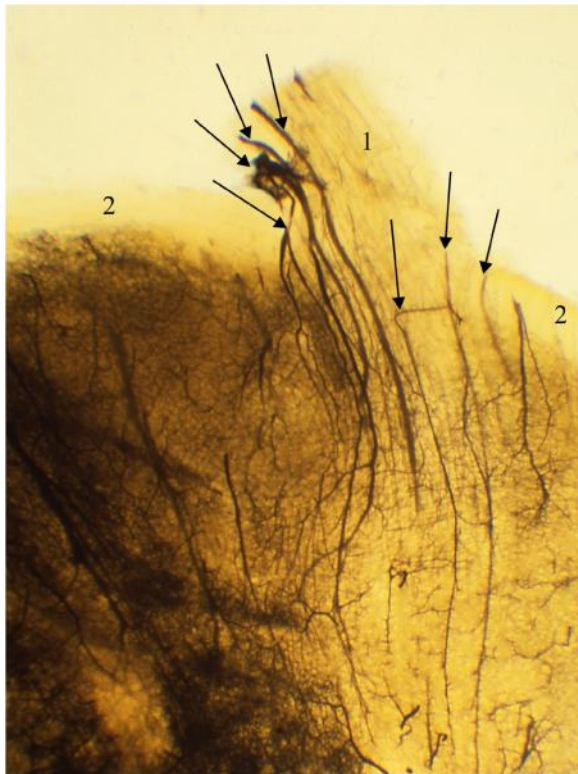
Anastomoze me u granama trigeminalnih arterija postoje u svim slu ajevima. Nalaze se u proksimalnom nivou vaskularizacije, na mestu ulaska nerva u pons, gde se ina e susti u arterija razli itog porekla. Našli smo od jedne do etiri anastomoze po nervu, prose no 2,3, pre nika 60 - 140 μm (prose no 120 μm) (slika 51).



Sl. 48. Trigeminalne granice proksimalnog (crne strelice) i središnjeg nivoa (crvene strelice) poreklom iz superolateralne (1) i inferolateralne pontinske grane (2) bazilarne arterije (3) za levi trigeminalni nerv (4). (5) ACS.



Sl. 49. Superolateralna pontinska arterija (1) provlači se između vlakana (velika strelica) i daje arterije središnjeg (crvene strelice) i proksimalnog nivoa (crne strelice) desnog trigeminusa (2). (3) inferolateralna pontinska arterija, (4) AB, (5) n. abducens, (6) ACS.



Sl. 50. Centralne granice trigeminalnih arterija (strelice) prate nervna vlakna (1) i poniru u tkivo ponsa (2) (prosvetljen 1 mm deo transverzalni presek ponsa i trigeminalnog nerva, arterije injicirane tuš želatinom).



Sl. 51. Gornja strana desnog trigeminusa (1) sa arterijskim sudovima (strelice), poreklom iz proksimalnog arterijskog prstena, koji prate nervne fascikuluse, kao i intrapontinski sudovi istog porekla (male strelice). (2) distalni arterijski prsten, (3) n. abducens, (4) n. facialis.

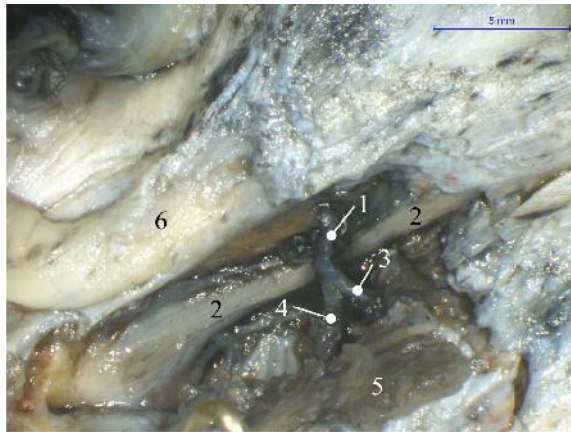
Mikromorfološke karakteristike periganglijske arterijske vaskularizacije

Ganglion trigeminusa vaskularizuju subduralne arterije koje mu prilaze sa oftalmičke i mandibularne strane. Od intrakavernoznog segmenta *a. carotis internae* polazi kratko inferolateralno stablo (ILS) koje svojom trigeminalnom granicom prilazi medijalnoj strani gangliona. Meningohipofizealno stablo (MHS), tako je grana intrakavernoznog segmenta *a. carotis internae*, svojom tentorijalnom granicom zajedno sa tentorijumom malog mozga vaskularizuje i duralni pokrivač gangliona, kroz koji tanki sudovi prilaze ganglionu odozgo. *A. meningea media* (AMM), po ulasku u lobanju kroz *foramen spinosum*, šalje trigeminalnu granicu ka lateralnoj, mandibularnoj strani gangliona (slike 52-57).

Inferolateralno stablo (ILS) je najvažniji izvor arterijske vaskularizacije trigeminalnog gangliona. Odvaja se od središnjeg dela kavernoznog, horizontalnog segmenta *a. carotis internae*, u 23 (92%) slučajeva kao jedna arterija a u 2 (8%) slučajeva podijeljeno na dve nezavisne arterije. Usmereno u polje, u kavernoznom sinusu ILS je neposredno ispod trohlearnog nerva a iznad *n. abducens*-a, koje tako je vaskularizuje zajedno sa okolnom durom. Najčešće se deli na dve završne grane: oftalmičku, koja nastavlja uz oftalmičku granu trigeminusa ka gornjoj orbitalnoj pukotini i trigeminalnu granu. Trigeminalna grana se podvlači pod ganglion i nastavlja njegovom donjom stranom prateći bočnim ograncima maksilarnu i mandibularnu granu trigeminusa na putu ka odgovarajućim otvorima lobanje. Od ILS odvajale su se 1 - 2 trigeminalne granice, kalibra 140 - 430 μm (prosečno 260 μm) (slike 52, 57).

A. meningea media (AMM) je stalna duralna arterija koja ulazi u lobanju kroz *foramen spinosum*. Neposredno od stabla intrakranijalnog dela AMM polazile su, u gotovo svim slučajevima, 23 (92%), jedna do dve konstantne trigeminalne grane, prečnika 110 - 340 μm (prosečno 220 μm) koje prilaze i vaskularizuju mandibularni deo gangliona i okolnu duru (slike 53, 57) (tabela 5).

Meningohipofizealno stablo (MHS), grana koja polazi u nivou po etne krivine intrakavernoznog segmenta *a. carotis internae*, postojalo je na svim preparatima (100%). Pored donje hipofizne i klivalne arterije, svojom tentorijalnom granicom, kalibra 90 - 260 μm (prosečno 178 μm), u svim slučajevima, vaskularizuje i duralni pokrivač. Splet paralelnih, tankih granica probija se između u vezivnih vlakana dure i odozgo se spuštaju prema nervnom tkivu gangliona (slike 54-56).



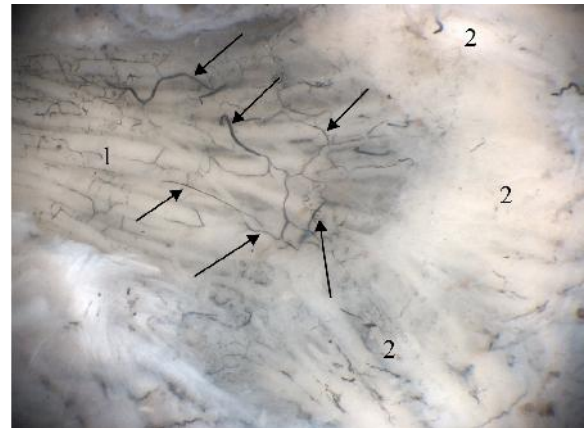
Sl. 52. ILS (1) prelazi preko n. abducens (2), deli se na oftalmičku (3) i trigeminalnu granu (4) koja se podvlači i se pod desni ganglion (5). (6) n. oculomotorius.



Sl. 53. Trigeminalna granica (1) AMM (2) prilazi mandibularnom delu desnog gangliona (3). (4) desni trigeminalni nerv.



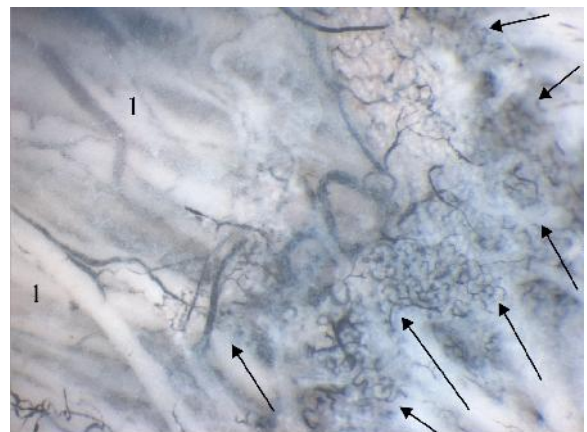
Sl. 54. Probijne grane (streljice) kroz duralni pokrivač (1) (odignut) dospevaju do desnog gangliona (2). (3) desni trigeminalni nerv.



Sl. 55. Arterijska mreža (streljice) završnog, pleksusnog segmenta trigeminalnog nerva (1). (2) desni trigeminalni ganglion.



Sl. 56. MHS (1) daje tentorijalnu granicu (2) za duru (3) (uklonjena) desnog gangliona (4). (5) desni trigeminalni nerv.



Sl. 57. Arterijska mreža trigeminalnog gangliona (streljice) sa brojnim petljama oko ganglijskih elija. (1) desni trigeminalni nerv.

Trigeminalna gran ica AMM se naj eš e anastomozuje sa istoimenog granom ILS u arterijsku arkadu donje strane gangliona ija krivina prati konkavitet gangliona. Arterijski luk svojim granama vaskularizuje ganglijske elije, nervna vlakna, kao i periost temporalne kosti (slike 55, 57).

Vaskularna mreža arterijskih sudova koji pristupaju trigeminalnom ganglionu i vena koje izvode krv, posebno je razvijena i u potpunosti okružuje ganglion. Medijalna strana gangliona, u bliskom je odnosu sa kavernoznim sinusom i dovodnim arterijskim granama inferolateralnog stabla. Lateralna strana gangliona dobija arterijsku vaskularizaciju iz stabla srednje moždani ne arterije. Arterijska arkada koja nastaje anastomoziranjem dva opisana izvora vaskularizacije gangliona obrazuje arterijsku mrežu spoljašnje obodne strane gangliona, obuhvataju i nervna vlakna trigeminalnih grana koje izlaze iz gangliona.

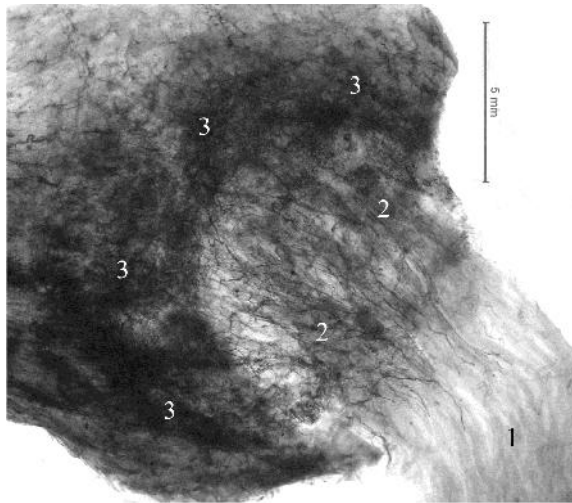
Tabela 5. Arterije i trigeminalne gran ice koje vaskularizuju trigeminalni ganglion

Arterija	Frekvencija (%)	Broj trigem. gran ica (X)	Pre nik (µm): interval (X)
Inferolateralno stablo	25 (100)	1 - 2	140 - 430 (260)
Meningohipofizealno stablo	25 (100)	1	90 - 260 (178)
A. meningea media	23 (92)	1 - 2	110 - 340 (214)
Ukupno	25 (100)	3 - 5 (3,34)	90 - 430 (220)

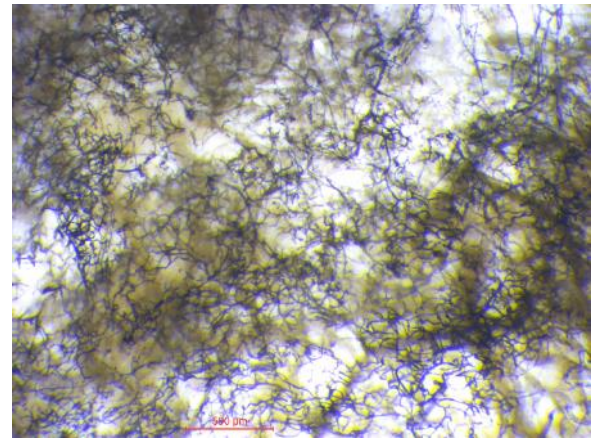
Karakteristike intratrigeminalog vaskularnog sistema

Ve opisane ekstratrigeminale arterije daju manje ogranke koji ulaze u koren i ganglion trigeminusa i vaskularizuju sve neuronske i paraneuronske strukture. U živcu i ganglionu smo zapazili male arterije, arteriole, prekapilare, kapilare, venule i male vene.

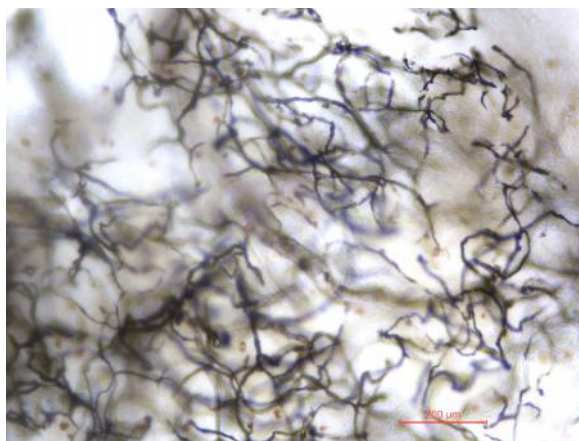
Gusta vaskularna mreža ispunjava trigeminalni ganglion. U samom ganglionu kapilari su razgranati, izuvijanog toka sa brojnim petljama oko ganglijskih elija. Ganglijske elije su u potpunosti okružene kapilarnom mrežom (slike 58-61).



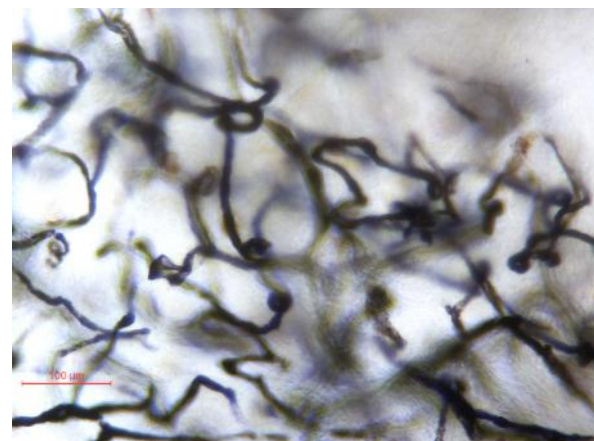
Sl. 58. Kapilarna mreža pleksusnog dela (2) trigeminalnog nerva (1) i trigeminalnog gangliona (3) (ceo prosvetljen injiciran preparat) (16x).



Sl. 59. Kapilarna mreža trigeminalnog gangliona (prosvetljen preparat trigeminalnog gangliona, arterije injicirane tuš želatinom, detalj) (40x).



Sl. 60. Kapilarna mreža trigeminalnog gangliona (prosvetljen preparat trigeminalnog gangliona, arterije injicirane tuš želatinom, detalj) (100x).



Sl. 61. Kapilarna mreža trigeminalnog gangliona (prosvetljen preparat trigeminalnog gangliona, arterije injicirane tuš želatinom, detalj) (200x).

Arterije i arteriole, venule i vene

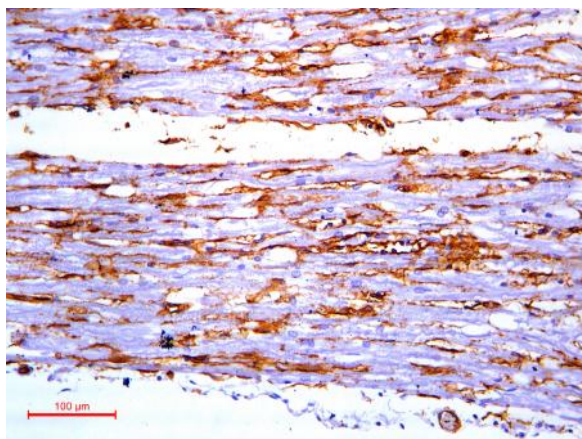
Male arterije postojale su gotovo isključivo u površinskom delu fascikulusa živca, tj. u samom vezivnom, pijalnom omotaču ili između njega i površinskih grupa mijelinskih aksona fascikulusa (slike 55, 57).

Brojna arterijska stabla u potpunosti okružuju trigeminalni ganglion i pristupaju strukturama gangliona sa svih strana, iz duralnog omotača, medijalnog i lateralnog prostora oko gangliona unutar Mekelove duplje, ili kroz sam hilus i periganglijski prostor na mestu polaska trigeminalnih grana.

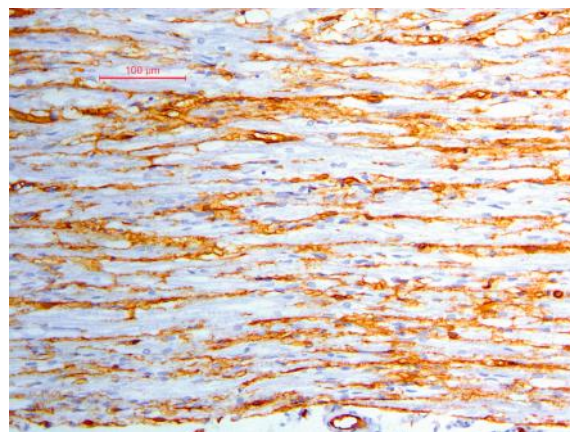
Prekapilari i kapilari

Za vizuelizovanje intratrigeminalih mikrosudova pod svetlosnim mikroskopom koristili smo histoheimijske metode bojenja, kao i imunohistoheimijsku reakciju na endotelni marker CD34. Ovom imunohistoheimijskom metodom zapazili smo gracilnu kapilarnu mrežu između grupica mijelinskih aksona unutar fascikulusa trigeminusa, bilo senzornog ili motornog dela (slike 62-64). Endoneurijumski kapilari pružaju se longitudinalno duž fascikulusa živca, dakle paralelno sa aksonima, bilo u motornom ili senzornom delu. Isto tako, zalaze i transverzalno, formiraju i gracilnu mrežu oko grupica mijelinskih aksona. Pojedini kapilari iz ove mreže zalaze i u ove male grupe aksona. Kapilari su se često nalazili veoma blizu mijelinskih aksona živca. Uo ili smo stalno postojanje kapilara u neposrednoj blizini ektope njih ganglijskih elija, što govori o njihovoj metaboličkoj aktivnosti (slika 65).

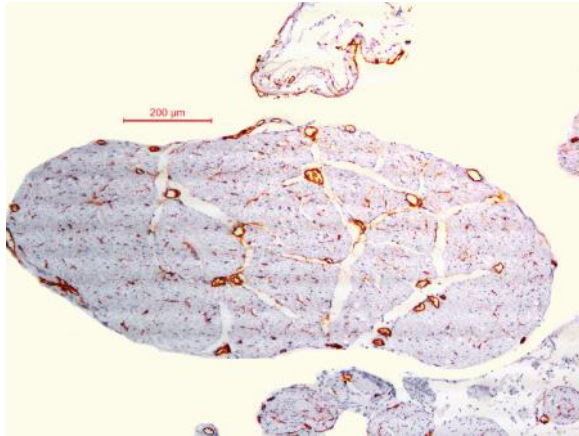
Kapilarna mreža u samom ganglionu je posebno intenzivna i gusta. Ganglijske elije, pored kompletnog pokrivača koji imaju satelitske elije, dobijaju razgranatu kapilarnu pokrivaču sa isprepletanim korpastom raspoređenim vezivnim vlaknima (slike 66, 67).



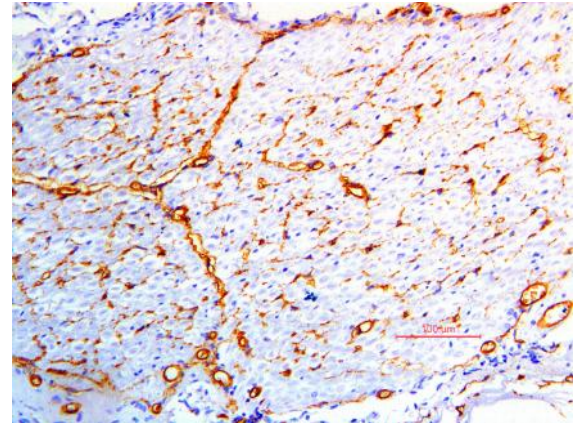
Sl. 62. Intrafascikularna kapilarna mreža motornog fascikulusa na uzdužnom preseku. (IHH, CD34) (200x).



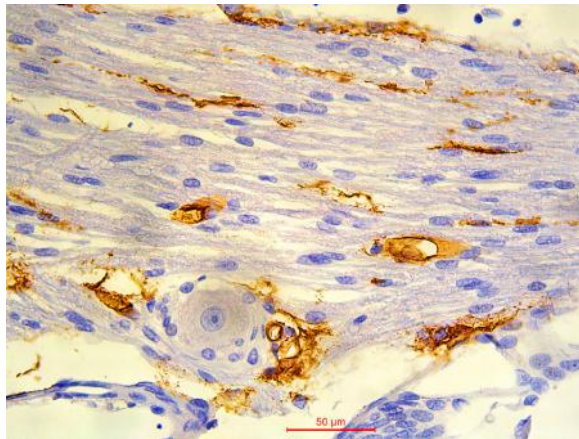
Sl. 63. Intrafascikularna kapilarna mreža senzornog fascikulusa na uzdužnom preseku. (IHH, CD34) (200x).



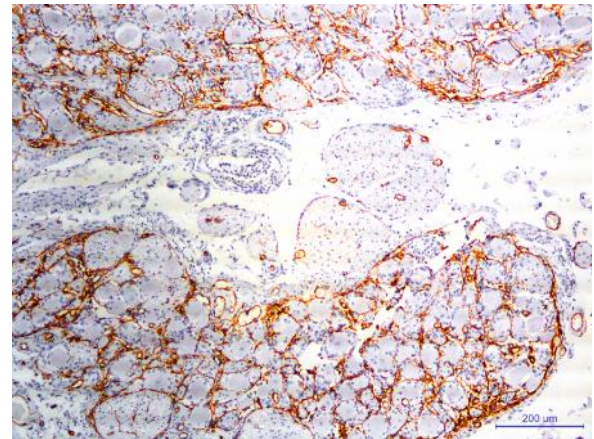
Sl. 64a. Intrafascikularna kapilarna mreža trigeminusa na poprečnom preseku. (IHH, CD34) (100x).



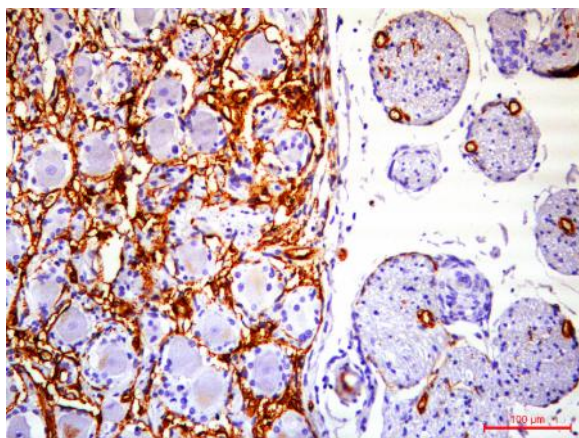
Sl. 64b. Intrafascikularna kapilarna mreža trigeminusa na poprečnom preseku. (IHH, CD34) (200x).



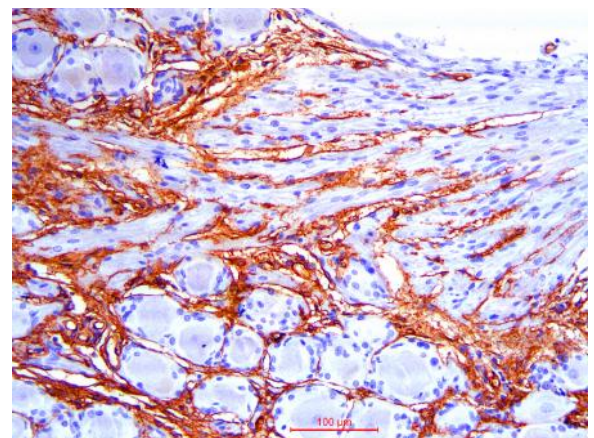
Sl. 65. Kapilarna mreža ektopične nervne elije trigeminusa na uzdužnom preseku. (IHH, CD34) (40x).



Sl. 66. Intraganglijska kapilarna mreža trigeminusa na poprečnom preseku gangliona. (IHH, CD34) (100x).



Sl. 67a. Intraganglijska kapilarna mreža trigeminusa na poprečnom preseku gangliona. (IHH, CD34) (200x).



Sl. 67b. Intraganglijska kapilarna mreža trigeminusa na poprečnom preseku gangliona. (IHH, CD34) (200x).

Ektopi ne nervne elije

Mikromorfološke karakteristike ektopi nih nervnih elija

Proučavano je 40 trigeminalnih nerava (TN) poreklom od 20 osoba, 14 muških i 6 ženskih), starosti od 26 do 79 godina (prose no $55,65 \pm 15,74$). Ektopi ni neuroni su pronađeni u 26 TN (18 osoba), odnosno u 65% nerava ili 90% osoba (tabela 6). Kod 8 (40%) osoba (prose ne starosti 52,2 godine) izmešteni neuroni su uočeni kako na desnom tako i na levom TN, u 10 (50%) osoba (prose ne starosti 58,2 godine) bilo u desnom ili u levom TN, a kod 2 (10%) osobe (prose ne starosti 56,5 godina) nije bilo ektopi nih neurona u TN.

Identifikovali smo 73 ektopi ne nervne elije, 21 malu, 48 srednje veličine i 4 velike. Najčešće smo nalazili izdvojene (singularne) nerone (slika 68), a retko male grupe od dve (slika 70) ili tri elije. Neuroni su obično bili ovalnog oblika, prose ne površine od $944,6 \pm 434,8 \mu\text{m}^2$ (površine od 247 - 2256 μm^2). Prose na vrednost veličine neurona bila je $27,2 \pm 6,9 \times 42,4 \pm 9,8 \mu\text{m}$ (tabela 6). Prose ni prenik ektopi nih neurona iznosio je $34,8 \pm 7,8 \mu\text{m}$. Bledi, okrugli nukleus, koji je obično zauzimao centralnu poziciju soma, prose no je bio veličine $9,7 \times 9,8 \mu\text{m}$ i prose ne površine $77,9 \pm 30,9 \mu\text{m}^2$ (površine od 18,1 do 157,7 μm^2) (tabele 6-8). Uočavao se tamni nukleolus (slika 68).

Tabela 6. Merne karakteristike ektopi nih ganglijskih elija

Broj nerava (%)	Ganglijske elije, R2 x R1		Ganglijske elije, površina	
	Dijametri (μm): min-max (X)		Površina (μm^2): min-max (X \pm Sd)	
	Soma	Nukleus	Soma	Nukleus
26 (65)	12,3 x 25,1 - - 45,1 x 66,7 (27,2 x 42,4)	4,5 x 5,2 - - 13,9 x 14,6 (9,7 x 9,8)	247,1 - 2256,3 (944,6 \pm 434,8)	18,1 - 157,7 (77,9 \pm 30,9)

Tabela 7. Merne karakteristike tela ektopi nih ganglijskih elija

	X (~m)	Sd (± ~m)	Se (± ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	27,196	6,888	0,806	12,258	45,097
R1	42,379	9,83	1,15	25,087	66,677
RX	34,788	7,84	0,92	18,964	54,4
Obim	112,193	25,209	2,95	63,192	173,383
	X (~m²)	Sd (± ~m²)	Se (± ~m²)	Min (~m²)	Max (~m²)
Površina	944,584	434,798	50,889	247,139	2256,284

Tabela 8. Merne karakteristike jedara ektopi nih ganglijskih elija

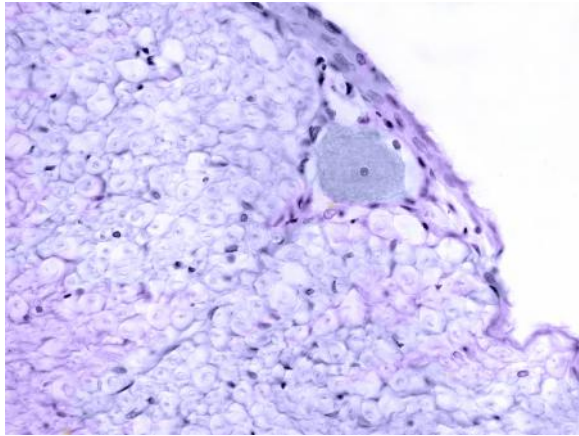
	X (~m)	Sd (± ~m)	Se (± ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	9,743	1,97	0,231	4,479	13,878
R1	9,793	2,114	0,247	5,151	14,607
Obim	30,712	6,295	0,737	15,163	44,561
	X (~m²)	Sd (± ~m²)	Se (± ~m²)	Min (~m²)	Max (~m²)
Površina	77,925	30,92	3,619	18,12	157,729

Tabela 9. Položaj ektopi nih ganglijskih i satelitskih elija

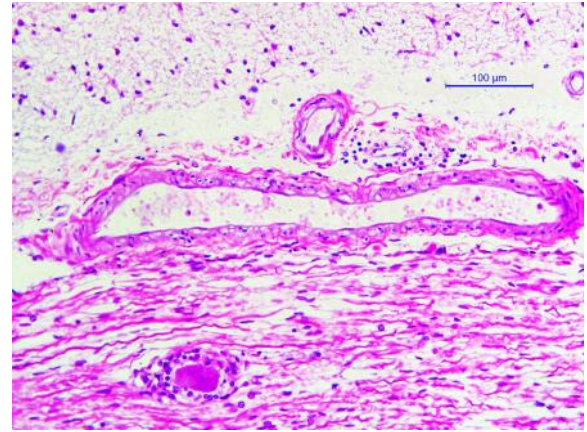
Ganglijske elije (G)			Satelitske elije (S)			
Broj G (%) po tre inama trigeminalnog nerva:			Broj S po preseku neurona: min-max (X ± SD)	Broj slojeva elija (%)		
proksimalna	srednja	distalna		1	2	3
14 (19,2%)	23 (31,5%)	36 (49,3%)	2 – 17 (6,23 ± 3,08)	(90)	(5)	(5)

Tabela 10. Frekvencija položaja 73 ektopi ne ganglijske elije u 26 trigeminalna živca

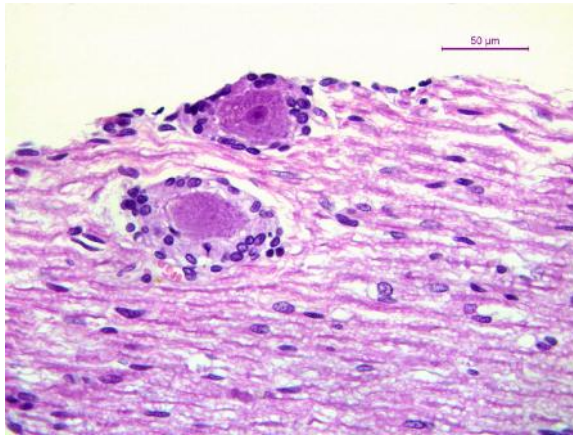
Delovi trigeminalnog živca a) Broj delova (%) b) Broj neurona (%)			Senzorni delovi nerva Broj neurona (%)			Fascikulusni odnosi Broj neurona (%)		
Senzorni	Motorni	Oba	Oftal. V1	Maks. V2	Mand. V3	Perifasc.	Interfasc.	Intrafasc.
a) 13 (32,5)	9 (22,5)	4 (10)	19 (45,3)	8 (19)	15 (35,7)	16 (21,9)	25 (34,3)	32 (43,8)
b) 28 (38,4)	19 (26)	26 (35,6)						



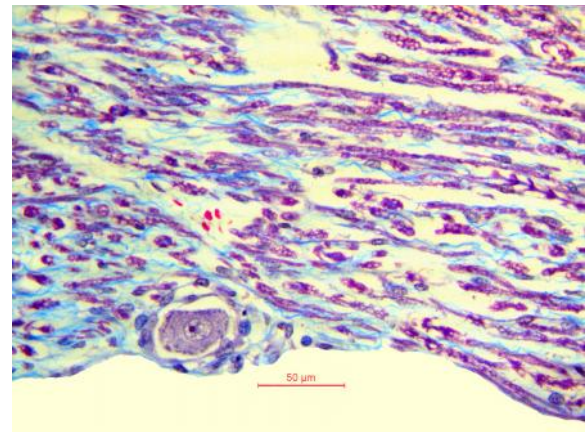
Sl. 68. Ektopi ni neuron koji leži ispod perineurijuma. (Klüver-Barrera) (400x).



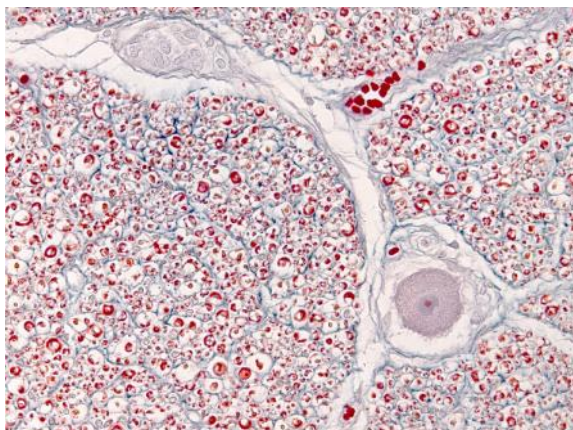
Sl. 69. Ektopi ni neuron u blizini ve eg krvnog suda uz pons. (hematoksilin eozin) (200x).



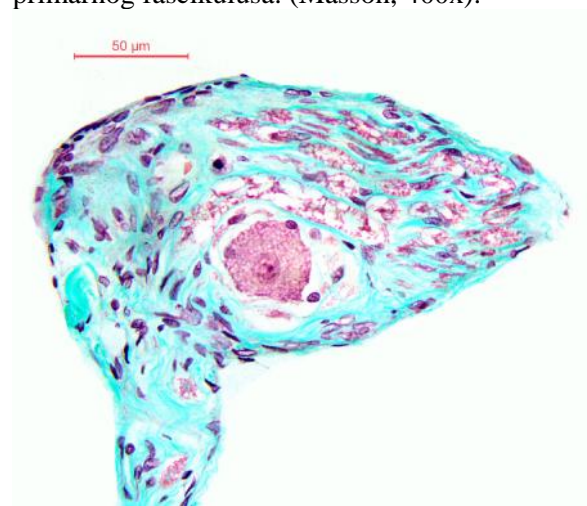
Sl. 70. Dva ektopi na neurona okružena satelitskim elijama na periferiji dužnog preseka fascikulusa. (hematoksilin eozin) (400x).



Sl. 71. Ektopi ni neuron na površini primarnog fascikulusa. (Masson, 400x).



Sl. 72. Ektopi ni neuron u sredini primarnog fascikulusa. (Azan, 400x).



Sl. 73. Ektopi ni neuron u sredini fascikulusa. (Masson, 400x).

Ektopi ni neuroni su naj eš e locirani u distalnoj tre ini intrakranijalnog dela trigeminalnog nerva, u 36 (49,3%) nerava, nešto re e u srednjoj tre ini nerva, u 23 (31,5%) nerava, a najre e u proksimalnoj tre ini, u 14 (19,2%) nerava, sve do glijalne granice prema centralnom mijelinu. Svaki neuron posebno bio je okružen sa 2 do 17, prose no $6,23 \pm 3,08$, satelitskih elija sa karakteristi nim izduženim jedrima. Ove elije su uvek odvajale susedne neurone (slika 70). Koncenti no pore ane oko ganglijskih elija, satelitske elije su naj eš e obrazovale jedan (u 90% slu ajeva), a retko dva (u 5%) ili tri sloja (u 5%) (slike 69, 70) (tabela 9). Analizom je zapažena potencijalna imunoreaktivnost satelitskih elija na Sy, CGRP, NPY i Ser.

Ektopi ni neuroni su prona eni ve om frekvencom (32,5%) u senzornom nego motornom korenu (22,5%), a retko u oba korena istog TN (tabela 10). Senzorni koren sadržao je od 1 do 6 neurona (prose no 2,5), dok je u motornom korenu na eno izme u 1 i 5 neurona (prose no 2,4). Od 73 prona ena neurona, 28 je postojalo samo u senzornom delu, dok je 19 elija bilo isklju ivo u motornom delu. Preostala 26 neurona se nalazilo u oba dela, odnosno 14 u senzornom a 12 u motornom delu istog TN (tabela 10).

Jedan ili više od ukupno 42 neurona na enih u senzornom korenu su naj eš e bili u oftalmi kom delu nerva, njih 19, a najre e u maksilarnom delu, samo 8 (tabela 10). Me utim, nema statisti ki zna ajne razlike izme u njihovog položaja u tri dela trigeminalog nerva ($F = 1,970$; $p > 0,05$). Svi ektopi ni neuroni su na eni samo me u aksonima okruženim mijelinskim omota em perifernog porekla. Parapontinski deo senzornog korena sa mijelinom centralnog porekla je u celini bez ijednog izmeštenog neurona.

Uo eni su razli iti položaji ganglijskih elija u odnosu na snopove nervnih vlakana (fascikuluse) senzornih i motoronih korenova trigeminalog nerva (tabela 10). Tako su neki neuroni bili smešteni površinski u primarnim fascikulusima, u 16 (21,9%) slu ajeva, neposredno ispod perineurijuma (subperineurijalne elije) (slika 71), ili retko unutar ovog omota a. U nekim slu ajevima perineurijum i dva susedna sekundarna fascikulusa obrazovali su trouglasti prostor za ganglijsku eliju (slika 68). Neuroni su ponekad bili veoma blizu susednim ekstratrigeminalnim krvnim

sudovima, npr. ve im granama *a. cerebelli superior* ili *a. cerebelli inferior anterior* (slika 69) ili odgovaraju im venama.

Interfascikulusni neuroni, 25 (34,3%) elija, su bili smešteni izme u dva susedna sekundarna snopa nervnih vlakana. U pet slu ajeva, me utim, izmešteni neuroni su bili smešteni u sredini primarnog fascikulusa, na mestu gde su se tri sekundarna snopa nervnih vlakana me usobno susretala (slika 72). Neuroni su bili okruženi perineurijumom susednih sekundarnih fascikulusa (interperineurijalne elije).

Ektopi ni neuroni su naj eš e registrovani unutar sekundarnih fascikulusa, u 32 (43,8%) slu aja (tabela 10), ali se mogu na i u bilo kom delu sekundarnog fascikulusa, npr. ispod njegovog perineurijuma ili u perifernom, središnjem ili centralnom delu (slika 73). Ovakvi neuroni su bili smešteni izme u malih grupa nervnih vlakana okruženih endoneurijumom (interendoneurijalne elije). Intrafascikulusni i interfascikulusni neuroni su tako e ponekad vi eni blizu susednih ekstratrigeminalnih sudova (slika 69).

Imunohistohemijska (IHH) analiza ektopi nih nervnih elija

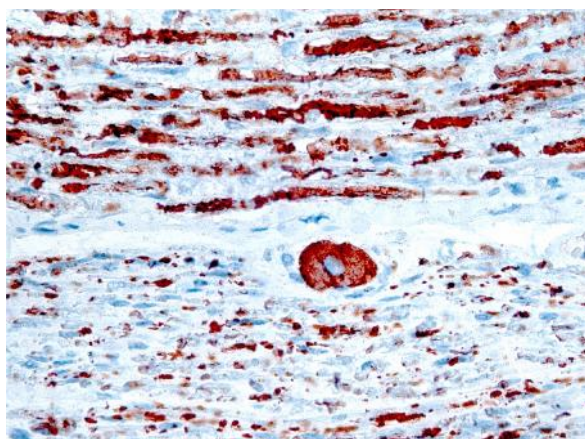
Imunohistohemijsko (IHH) bojenje imalo je za cilj pre svega da primenom pan-neuronskih markera potvrdi prirodu izmeštenih neurona KTN. U tu svrhu primenjeno je IHH bojenje na PGP9.5, NSE, Sy i NFP (slike 74-88). Za identifikaciju neuropeptida/biogenih amina, primenjeno je IHH bojenje na CGRP, SP, Ser, SST, CCK, VIP, NPY i Bom (slike 89-97).

Sve spomenute supstance su identifikovane u ektopi nim neuronima, izuzev bombenzina (tabela 11). Diskretna imunska reakcija (+) uo ena je u VIP-ergi kim neuronima, a umerena imunoreaktivnost (++) u Ser-ergi kim i SP-ergi kim elijama (tabela 11). U svim ostalim slu ajevima registrovana je intenzivna reaktivnost (+++). Najzad, koegzistiranje imunoreaktivnosti je notirano u 9 ektopi nih neurona (14,8%), a odnosi se na SST i Ser, SST i CGRP, SP.

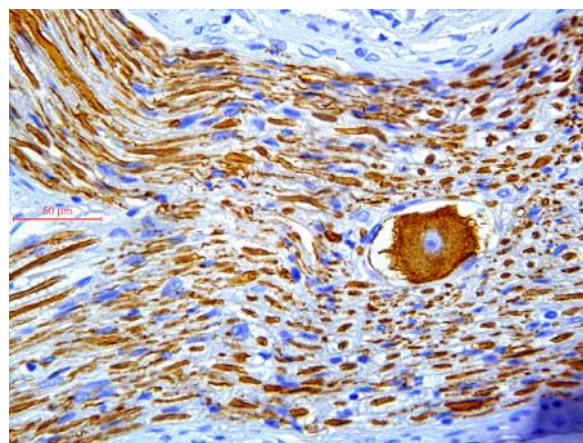
Tabela 11. Imunohistohemijske reakcije ektopi nih ganglijskih elija

Polipeptidi, neuropeptidi i biogeni amini	Frekvenca (%) na 58 neurona*	Intenzitet reakcije
CGRP	14 (24,14)	+++
CCK	8 (13,79)	+++
SST	10 (17,24)	+++
SP	9 (15,52)	++
Ser	6 (10,34)	++
VIP	5 (8,62)	+
NPY	6 (10,34)	+++
Bom	0,00	-

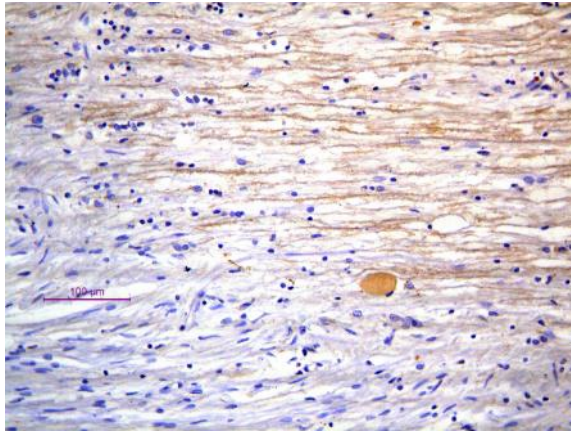
* Na ostalih 15 ektopi nih neurona ura ene su druge imunocitohemijske reakcije za identifikaciju neuron specifi nih proteina



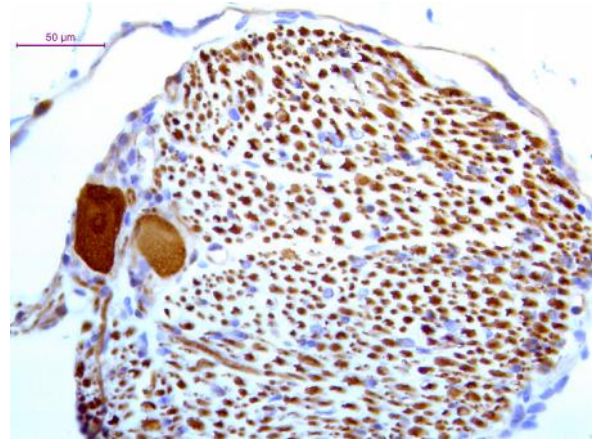
Sl. 74. Ektopi ni neuron ispod perineurijuma senzornog korena (dole), uz motorni koren (gore) na uzdužnom preseku. (IHH, NFP) (400x).



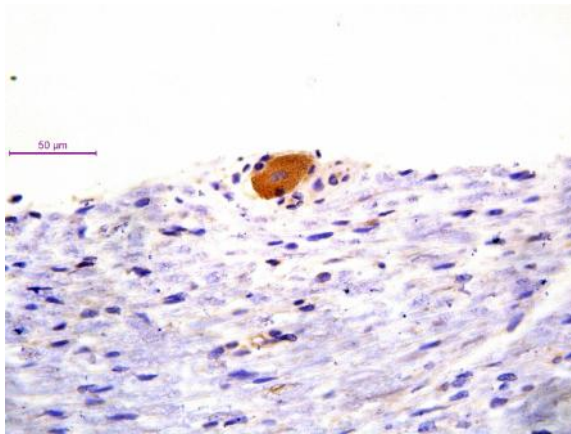
Sl. 75. Ektopi ni neuron unutar fascikulusa na uzdužnom preseku. (IHH, NFP) (400x).



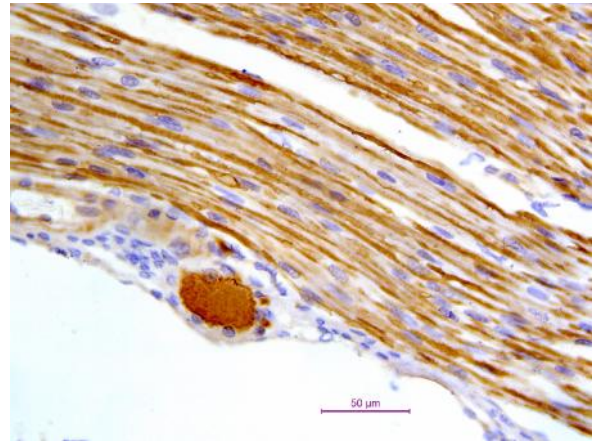
Sl. 76. Ektopi ni neuron na samoj granici centralnog (desno) i perifernog mijelina trigeminalnog nerva. (IHH, Sy) (200x).



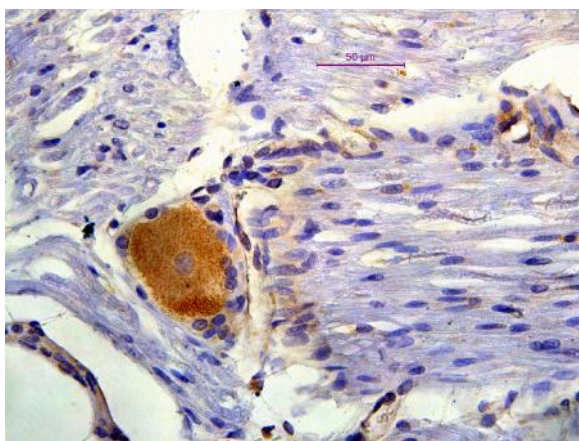
Sl. 77. Dva ektopi na neurona u perineurijumu na poprečnom preseku (IHH, NSE) (400x).



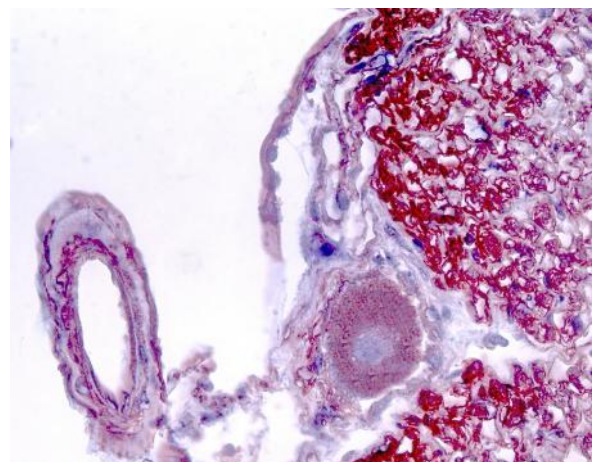
Sl. 78. Ektopi ni neuron na periferiji fascikulusa. (IHH, Sy) (400x).



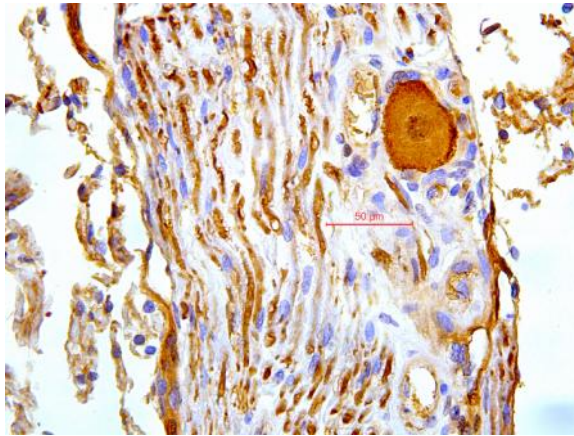
Sl. 79. Ektopi ni neuron u perineurijumu na dužnom preseku (IHH, NSE) (400x).



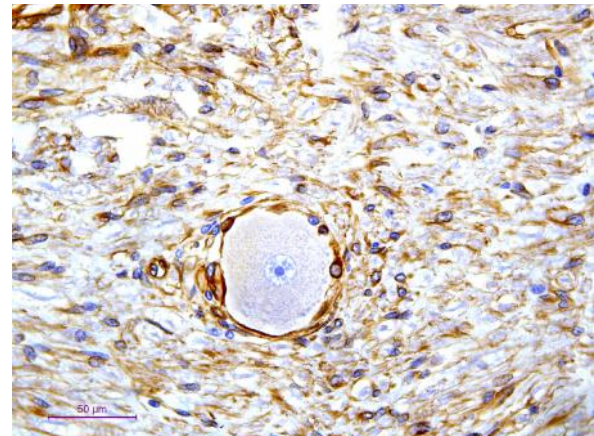
Sl. 80. Ektopi ni neuron interfascikularno postavljen. (IHH, Sy) (400x).



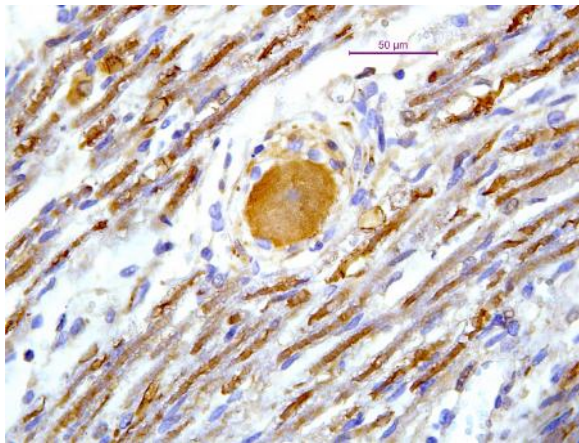
Sl. 81. Ektopi ni neuron u perineurijumu, u neposrednoj blizini arterije. (IHH, MBP) (400x).



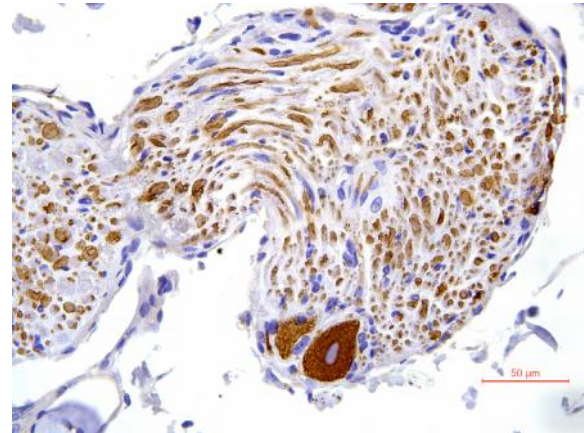
Sl. 82. Imunohistohemijska reakcija na protein gen produkt. (IHH, PGP9.5) (400x).



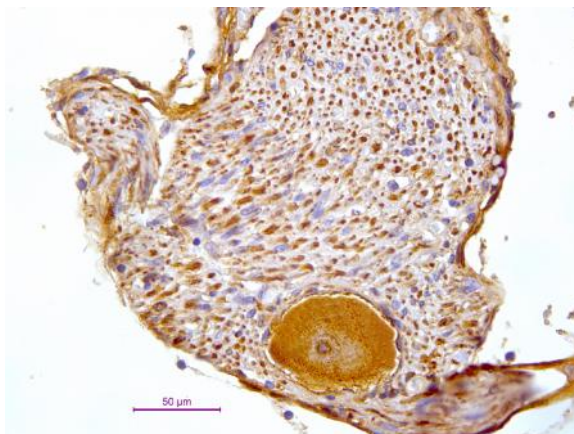
Sl. 83. Ektopi ni neuron unutar fascikulusa. (IHH, S-100) (400x).



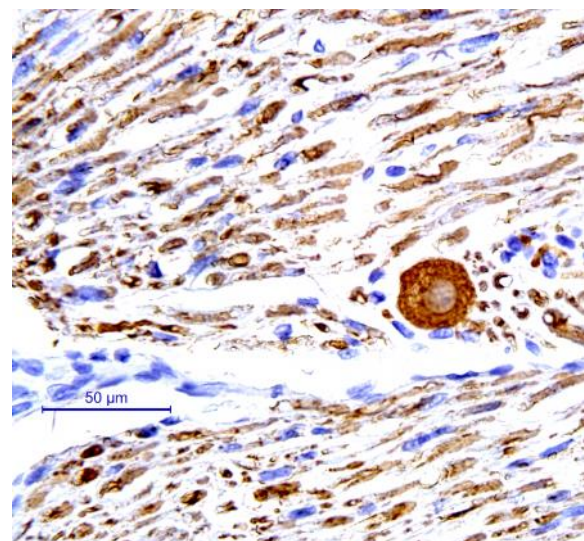
Sl. 84. Ektopi ni neuron interfascikularno postavljen. (IHH, PGP9.5) (400x).



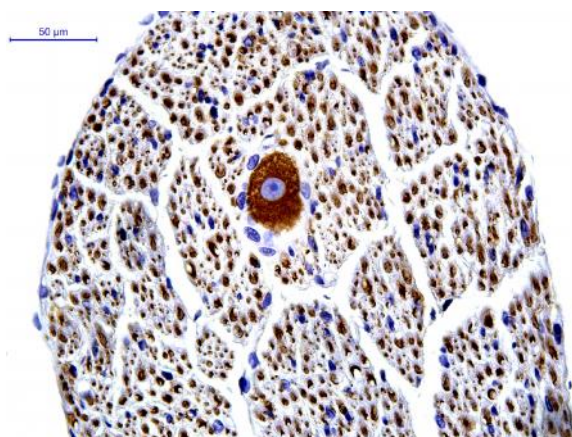
Sl. 85. Imunohistohemijska reakcija na neurofilamentozni protein. (IHH, NFP) (400x).



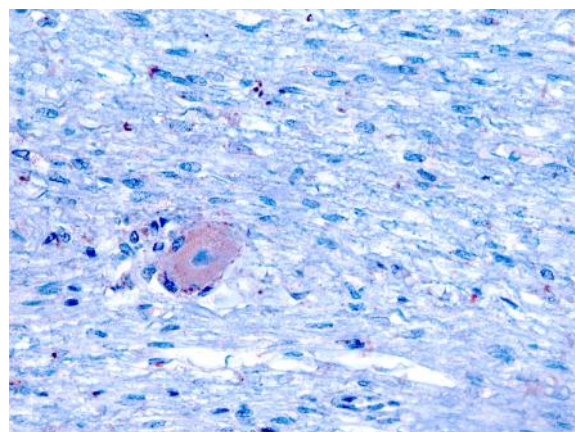
Sl. 86. Intrafascikularno postavljen ektopi ni neuron. (IHH, PGP9.5) (400x).



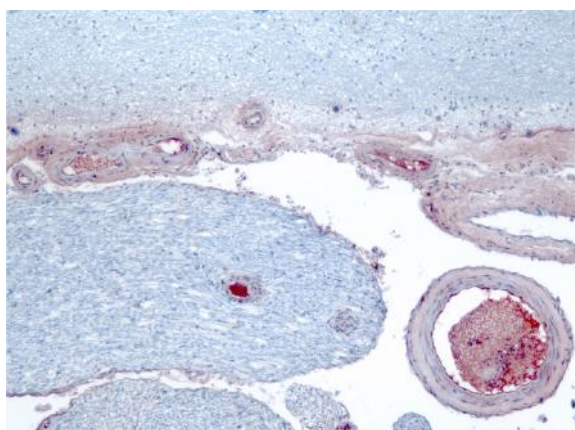
Sl. 87. Interfascikularno postavljen ektopi ni neuron. (IHH, NFP) (400x).



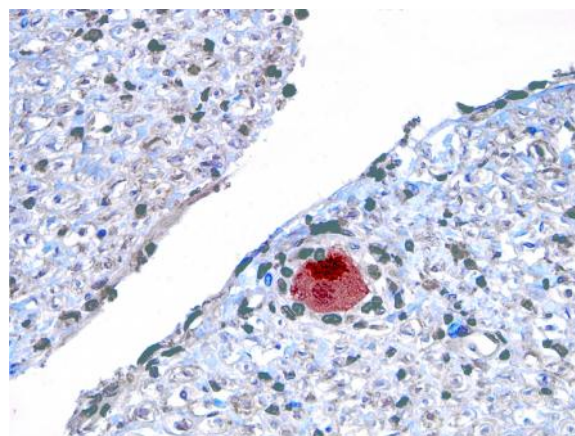
Sl. 88. Imunohistohemijska reakcija na neurofilamentozni protein. (IHH, NFP) (400x).



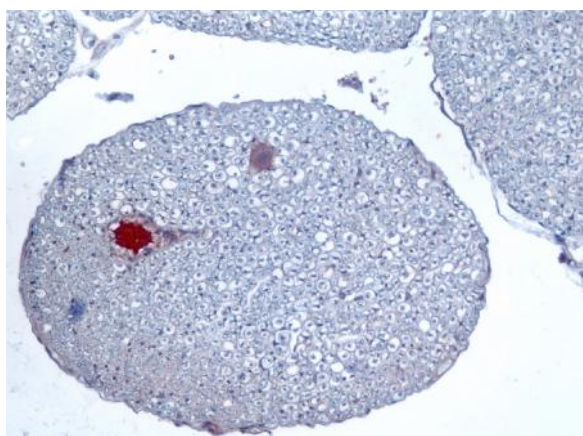
Sl. 89. Imunohistohemijska reakcija na serotonin. (IHH, Ser) (400x).



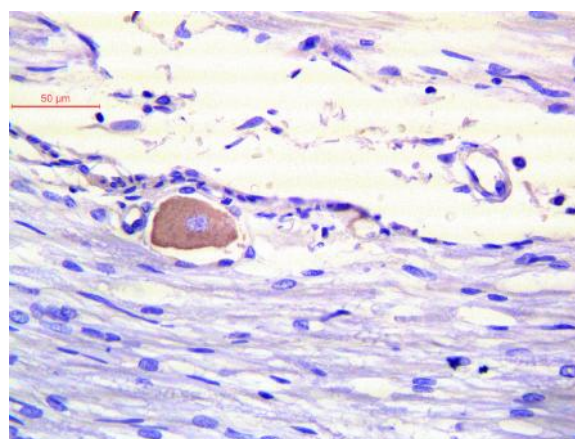
Sl. 90. Intrafascikularni ektopi ni neuron u neposrednoj blizini peritrigeminalne arterije i vene. (IHH, CGRP) (100x).



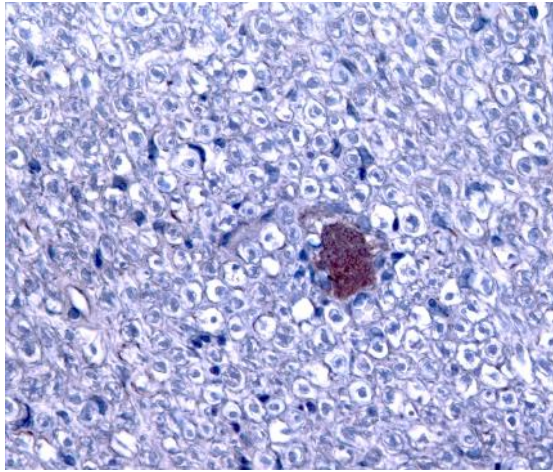
Sl. 91. Imunohistohemijska reakcija na neuropeptide Y. (IHH, NPY) (400x).



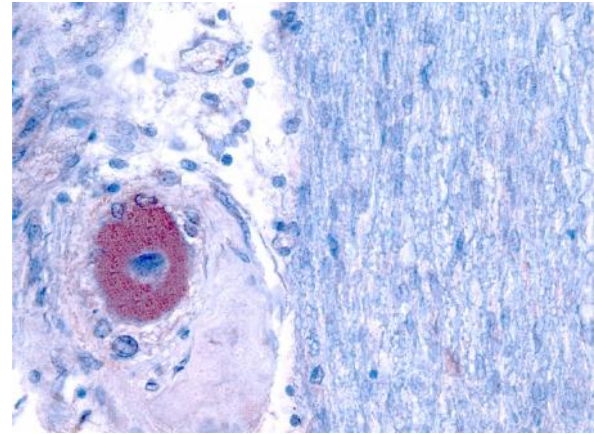
Sl. 92. Dva intrafascikularna ektopi na neurona u motornom korenu. (IHH, CGRP) (200x).



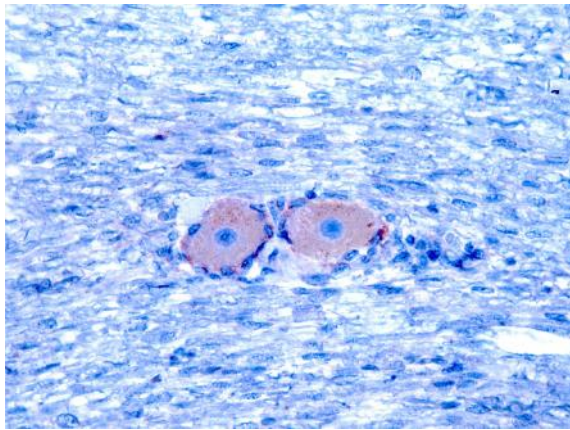
Sl. 93. Ektopi ni neuron u perineurijumu na dužnom preseku (IHH, c-kit) (400x).



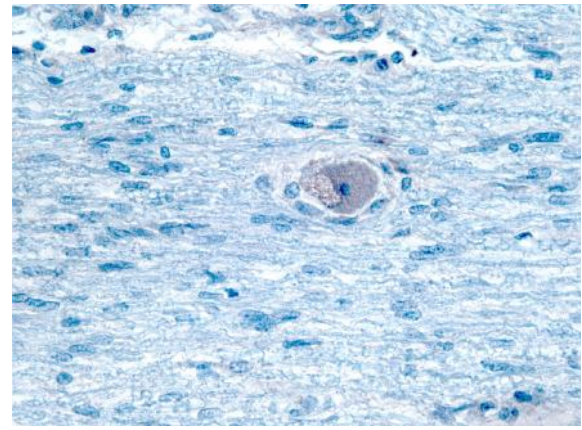
Sl. 94. Imunohistohemijaska reakcija na supstancu P. (IHH, SP) (400x).



Sl. 95. Singularan ektopni neuron na poprenom preseku fascikulusa. (IHH, SST) (400x).



Sl. 96. Dva intrafascikularna ektopni na neurona. (IHH, VIP) (400x).



Sl. 97. Negativna imunohistohemijaska reakcija na bombezin. (IHH, Bom) (400x).

Ganglijske nervne elije

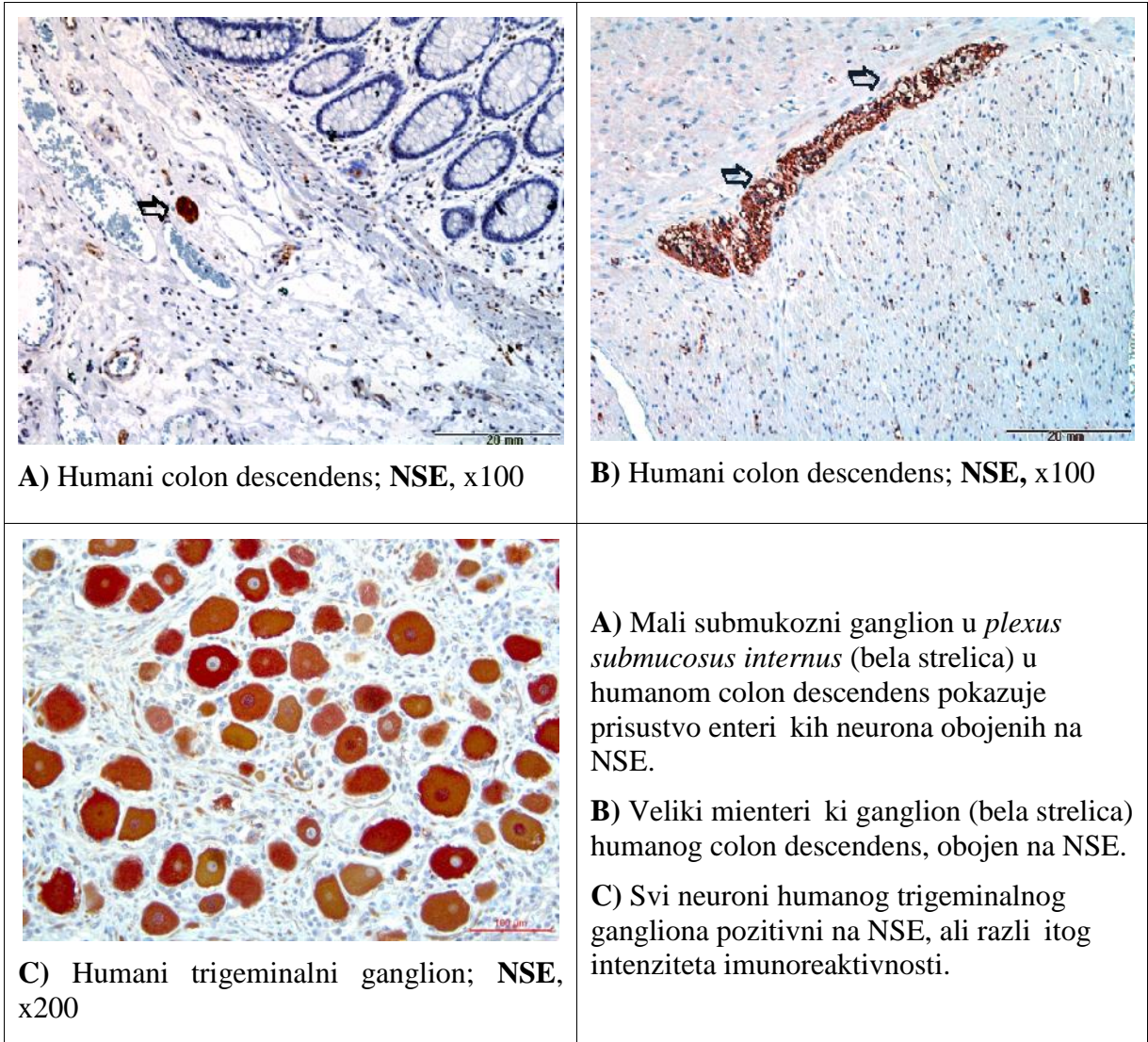
Mikromorfološke karakteristike i imunohistohemijska (IHH) analiza ganglijskih nervnih elija

Imunohistohemijskim (IHH) bojenjem primenom pan-neuronskih markera potvrdili smo prirodu neurona trigeminalnog gangliona. U tu svrhu primenjeno je IHH bojenje na NSE, PGP9.5, NFP i Sy (slike 98-101). Za identifikaciju neuropeptida/biogenih amina primenjeno je IHH bojenje na CGRP, SP, Ser, SST, CCK, VIP, NPY i Bom (slike 102-109).

Sve spomenute supstance su identifikovane u ganglijskim elijama, izuzev bombenzina, serotonina i NPY (tabela 12). Diskretna imunska reakcija (+) uo ena je u VIP-ergi kim neuronima, a umerena imunoreaktivnost (++) u SP-ergi kim elijama (tabela 12). U svim ostalim slu ajevima registrovana je intenzivna reaktivnost (+++).

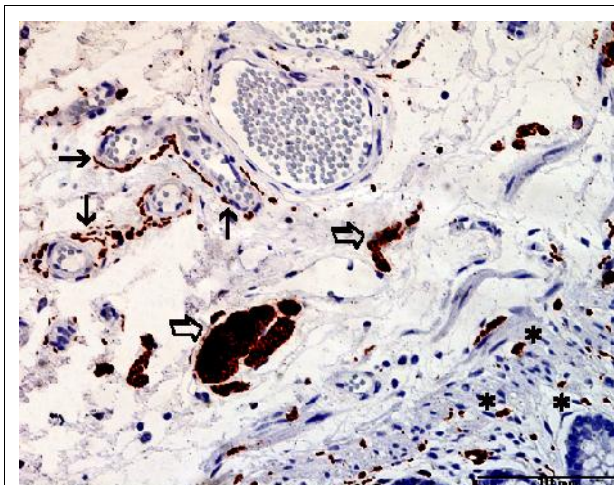
Tabela 12. Imunohistohemijske reakcije ganglijskih elija

Polipeptidi, neuropeptidi i biogeni amini	Frekvencija (%)	Intenzitet reakcije
CGRP	37,5	+++
CCK	7,3	+++
SST	9,1	+++
SP	15,4	++
VIP	9,7	+
Ser	0,00	-
NPY	0,00	-
Bom	0,00	-

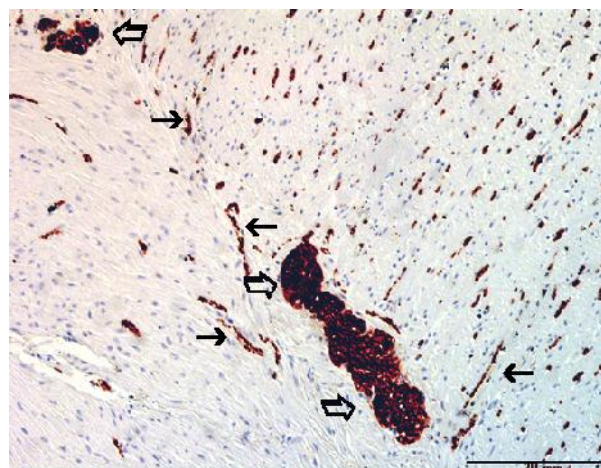


Slika 98. Imunohistohemija NSE u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglionu

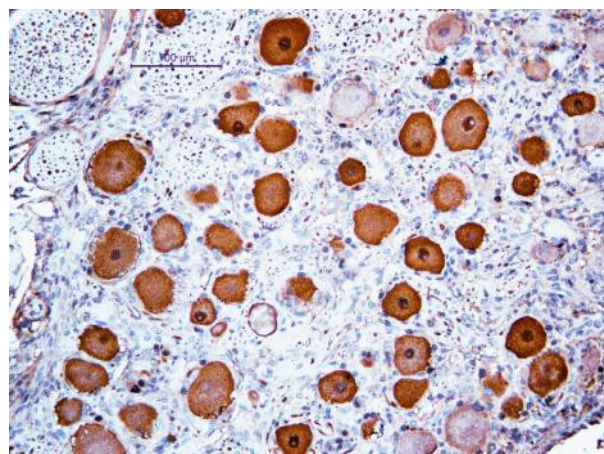
Svi neuroni humanog trigeminalnog gangliona pozitivni na NSE, ali različitog intenziteta imunoreaktivnosti (slika 98C).



A) Humani colon descendens; **PGP9.5**, x200



B) Humani colon descendens; **PGP9.5**, x100



C) Humani trigeminalni ganglion; **PGP9.5**, x200

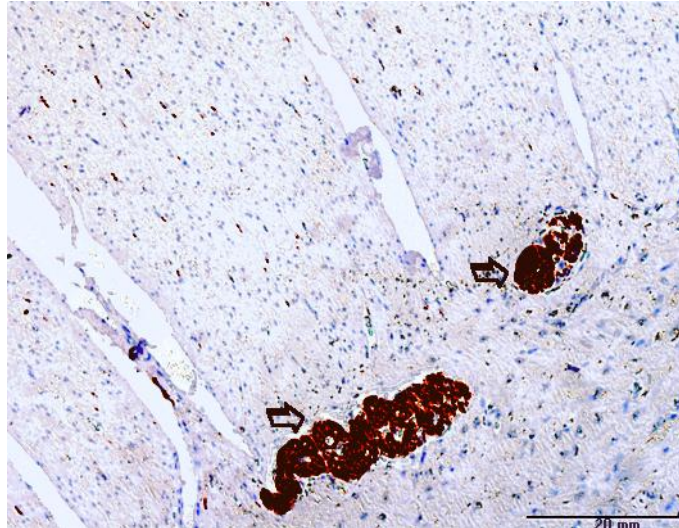
A) Prisustvo PGP9.5 imunoreaktivnog submukoznog gangliona (bela strelica) i brojnih, uglavnom perivaskularnih (crne strelice), nervnih vlakana u *plexus submucosus internus* humanog colon descendens; brojni varikoziteti nervnih vlakana prisutni su u mukozi, u blizini kripti (zvezdice).

B) Jaka PGP9.5 imunopozitivnost u mienteri kom ganglionu (bele strelice) i mnoga nervna vlakna u cirkularnom i longitudinalnom mišićnom sloju humanog colon descendens (crne strelice).

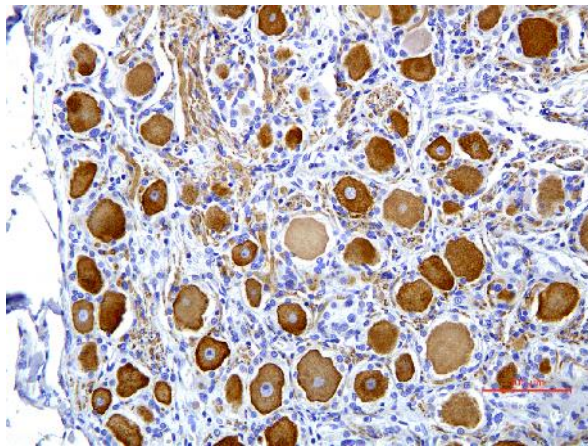
C) Mnogi PGP9.5 obojeni neuroni vide se u humanom trigeminalnom ganglionu. Međutim, neke stanice ne pokazuju PGP9.5 reaktivnost.

Slika 99. Imunohistohemija PGP9.5 u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglionu

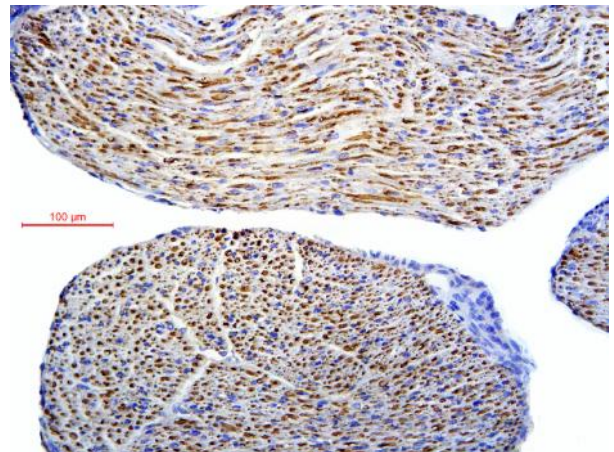
Mnogi imunoreaktivni PGP9.5 neuroni vide se u humanom trigeminalnom ganglionu, međutim, neke stanice ne pokazuju PGP9.5 reaktivnost (slika 99C).



A) Humani colon descendens; NFP, x100



B) Humani trigeminalni ganglion; NFP, x200



C) Trigeminalni nerv; NFP, x200.

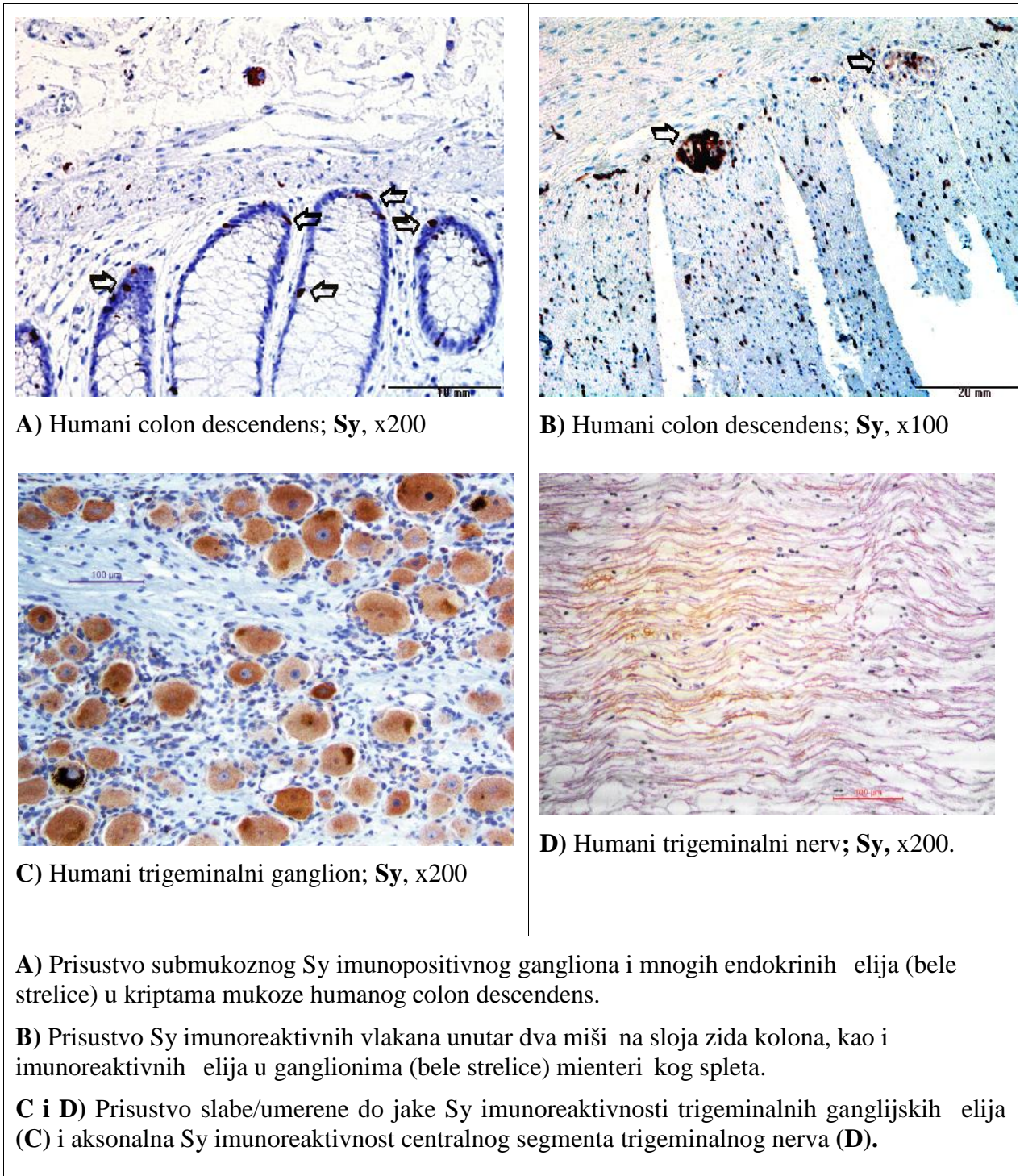
A) Mijenterički ganglion jako imunopozitivan na NFP.

B) NFP detektovani u grupi ganglijskih ćelija.

C) Transverzalni (dole) i longitudinalni (gore) preseči trigeminalnih fascikulusa pokazuju jaku aksonalnu NFP imunoekspresiju.

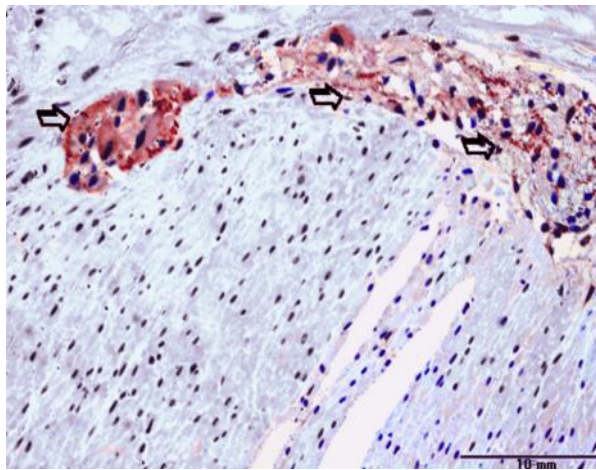
Slika 100. Imunohistohemija NFP u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglionu

Svi neuroni humanog trigeminalnog gangliona pozitivni na NFP, ali različitog intenziteta imunoreaktivnosti (slika 100B).

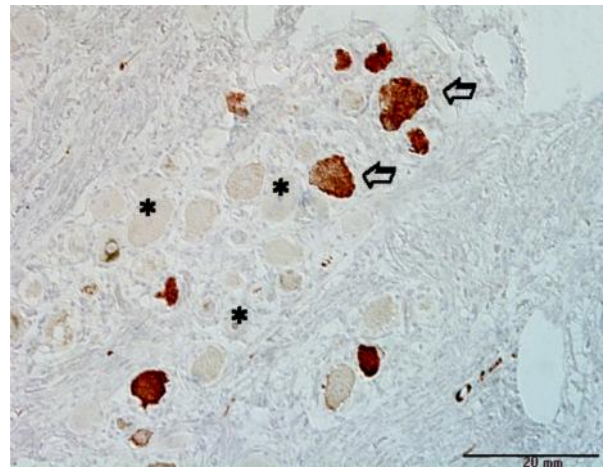


Slika 101. Imunohistohemija Sy u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglionu

Prisustvo slabe/umerene do jake Sy imunoreaktivnosti trigeminalnih ganglijskih elija (slika 100C).



A) Humani colon descendens; **CGRP**, x200.



B) Humani trigeminalni ganglion; **CGRP**, x100.

A) Mienteri ki ganglion sa mnogim CGRP pozitivnim ganglijskim elijama i nervnim vlaknima (bele strelice).

B) Umerena do jaka CGRP imunoreaktivnost u mnogim neuronima (bele strelice) u trigeminalnom ganglionu; veliki broj neurona je imunonegativan (zvezdice).

Slika 102. Imunohistohemija CGRP u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglion

Istraživanje je obavljeno na 40 trigeminalnih gangliona (TG) poreklom od 20 osoba, 14 muških i 6 ženskih), starosti od 26 do 79 godina (prose no $55,65 \pm 15,74$). Merne karakteristike CGRP pozitivnih ganglijskih elija odre ene su na 90 elija, što je inilo 37,5% ukupnog broja ganglijskih elija analiziranih vidnih polja. CGRP imunoreaktivnost nervnih elija bila je jaka, a prema prose nom dijametru izdvajamo 26 malih, 59 srednje veli ine i 5 reaktivnih velikih elija (slika 102). Prose na površina CGRP neurona bila je $1055,9 \pm 488,1 \mu\text{m}^2$ (od $425,4 - 2515,8 \mu\text{m}^2$). Prose na vrednost veli ine neurona bila je $33,1 \pm 7,7 \times 38,8 \pm 8,6 \mu\text{m}$ (tabela 13). Prose ni pre nik ovih neurona iznosio je $35,9 \pm 7,98 \mu\text{m}$. Okrugli nukleus prose no je bio veli ine $10,1 \times 11,0 \mu\text{m}$ i prose ne površine $89,1 \pm 31,2 \mu\text{m}^2$ (površine od $41,1$ do $200,0 \mu\text{m}^2$) (tabele 13-15).

Tabela 13. Merne karakteristike CGRP pozitivnih ganglijskih elija

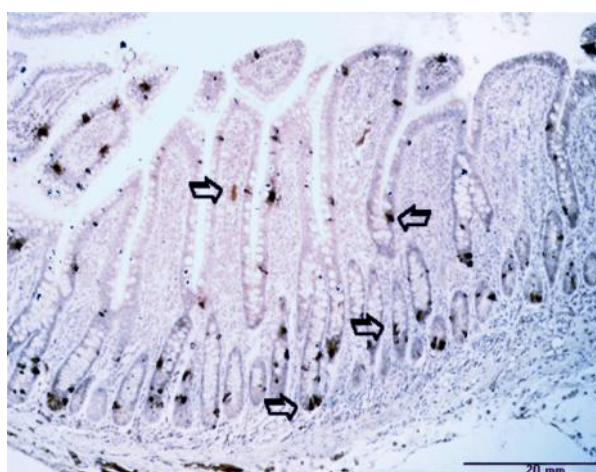
Broj (%) CGRP elija	Ganglijske elije, R2 x R1		Ganglijske elije, površina	
	Dijametri (μm): min-max (X)		Površina (μm^2): min-max (X \pm Sd)	
	Soma	Nukleus	Soma	Nukleus
90 (37,5)	20,2 x 25,8 - - 53,7 x 65,4 (33,1 x 38,8)	6,9 x 7,5 - - 15,3 x 18,3 (10,1 x 11)	425,4 - 2515,8 (1055,9 \pm 488,1)	41,1 - 200 (89,1 \pm 31,3)

Tabela 14. Merne karakteristike tela CGRP pozitivnih ganglijskih elija

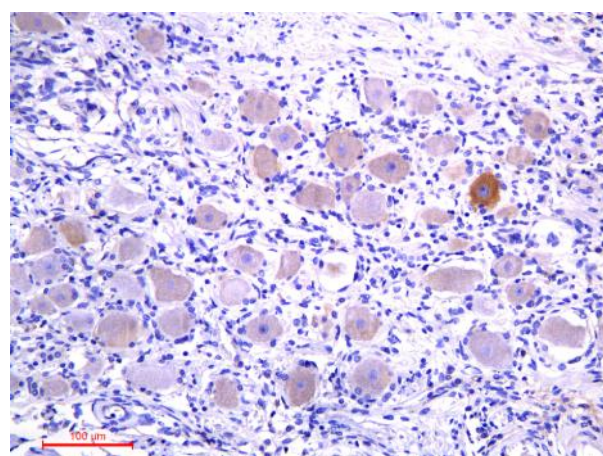
	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	33,08	7,717	0,813	20,155	53,717
R1	38,824	8,578	0,904	25,803	65,373
RX	35,952	7,98	0,84	23,508	57,186
Obim	113,421	25,117	2,648	74,584	181,488
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	1055,584	488,086	51,449	425,367	2515,837

Tabela 15. Merne karakteristike jedara CGRP pozitivnih ganglijskih elija

	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	10,059	1,796	0,189	6,89	15,311
R1	11,012	1,987	0,209	7,533	18,291
Obim	33,187	5,63	0,593	22,787	51,063
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	89,142	31,256	3,295	41,123	199,998



A) Humani jejunum; CCK, x100.



B) Humani trigeminalni ganglion; CCK, x200.

A) Brojne razbacane CCK stvaraju e elije (bele strelice) u kriptama i površinskom delu epitela kontrolne jejunalne mukoze.

B) Usamljena, CCK pozitivna ganglijska elija.

Slika 103. Imunohistohemija CCK u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglionu

Merne karakteristike CCK pozitivnih ganglijskih elija određene su na 61 eliji, što je činilo 7,3% ukupnog broja ganglijskih elija analiziranih vidnih polja (tabela 16). CCK imunoreaktivnost nervnih elija bila je intenzivna, a prema prosečnom dijametru izdvajamo 14 malih, 40 srednje veličine i 7 reaktivnih velikih elija (slika 103). Prosečna površina CCK neurona bila je $1210,9 \pm 560,8 \mu\text{m}^2$ (od $435,8 - 2730,2 \mu\text{m}^2$). Prosečna vrednost veličine neurona bila je $35,9 \pm 8,8 \times 40,9 \pm 9,2 \mu\text{m}$. Prosečna prečnik ovih neurona iznosio je $38,4 \pm 8,8 \mu\text{m}$. Okrugli nukleus prosečno je bio veličine $10,4 \times 11,0 \mu\text{m}$ i prosečna površina $91,3 \pm 25,5 \mu\text{m}^2$ (površine od $46,5$ do $164,9 \mu\text{m}^2$) (tabele 16-18).

Tabela 16. Merne karakteristike CCK pozitivnih ganglijskih elija

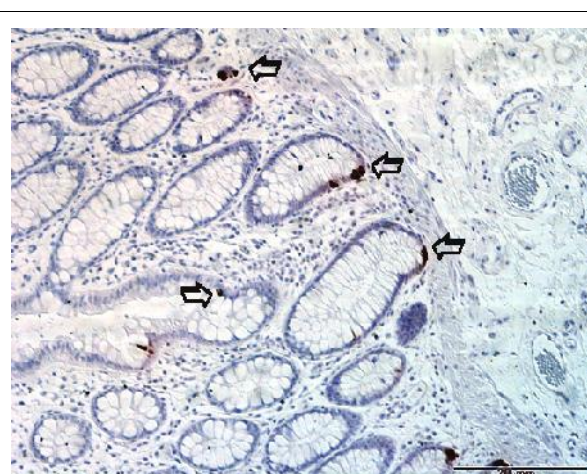
Broj (%) CCK elija	Ganglijske elije, R2 x R1		Ganglijske elije, površina	
	Dijametri (μm): min-max (X)		Površina (μm^2): min-max (X \pm Sd)	
	Soma	Nukleus	Soma	Nukleus
61 (7,3)	22,3 x 24,8 - - 55,2 x 68,1 (35,9 x 40,9)	7,2 x 7,6 - - 14,9 x 14,6 (10,4 x 11,0)	435,8 - 2730,2 (1210,9 \pm 560,8)	46,5 - 164,9 (91,3 \pm 25,5)

Tabela 17. Merne karakteristike tela CCK pozitivnih ganglijskih elija

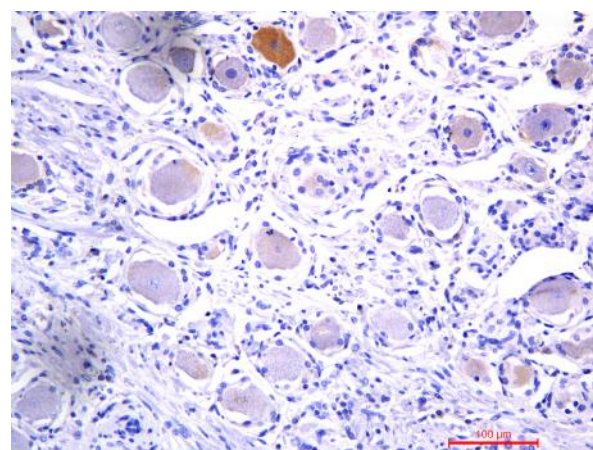
	X (~m)	Sd (± ~m)	Se (± ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	35,92	8,831	1,131	22,338	55,188
R1	40,885	9,241	1,183	24,841	68,131
RX	38,402	8,833	1,131	23,589	59,577
Obim	121,034	27,79	3,558	74,212	189,086
	X (~m²)	Sd (± ~m²)	Se (± ~m²)	Min (~m²)	Max (~m²)
Površina	1210,854	560,75	71,797	435,811	2730,243

Tabela 18. Merne karakteristike jedara CCK pozitivnih ganglijskih elija

	X (~m)	Sd (± ~m)	Se (± ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	10,399	1,605	0,206	7,238	14,901
R1	10,997	1,592	0,204	7,619	14,645
Obim	33,663	4,727	0,605	24,234	45,56
	X (~m²)	Sd (± ~m²)	Se (± ~m²)	Min (~m²)	Max (~m²)
Površina	91,329	25,464	3,26	46,51	164,926



A) Humani colon descendens; SST, x100.



B) Humani trigeminalni ganglion; SST, x200.

A) Jako imunoreaktivne SST proizvode endokrine elije (bele strelice) razbacane u kriptama kolona.

B) Fotomikrografija pokazuje samo jednu umereno/jako SST imunopozitivnu nervnu eliju trigeminalnog gangliona.

Slika 104. Imunohistohemija SST u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglionu

Morfometrijska analiza SST pozitivnih ganglijskih elija vršena je na 60 elija, što je činilo 9,1% ukupnog broja ganglijskih elija analiziranih vidnih polja (tabela 19). SST imunoreaktivnost nervnih elija bila je intenzivna, a prema prosečnom dijametru izdvajamo 17 malih i 43 reaktivnih elija srednje veličine (slika 104). Prosečna površina SST neurona bila je $822,1 \pm 190,2 \mu\text{m}^2$ (od $448,4 - 1225,2 \mu\text{m}^2$). Prosečna vrednost veličine neurona bila je $20,4 \pm 4,0 \times 35,1 \pm 3,9 \mu\text{m}$. Prosečna površina ovih neurona iznosila je $32,3 \pm 3,7 \mu\text{m}$. Okrugli nukleus prosečno je bio veličine $9,7 \times 10,2 \mu\text{m}$ i prosečna površina $79,7 \pm 22,6 \mu\text{m}^2$ (površine od $40,5 - 146,8 \mu\text{m}^2$) (tabele 19-21).

Tabela 19. Merne karakteristike SST pozitivnih ganglijskih elija

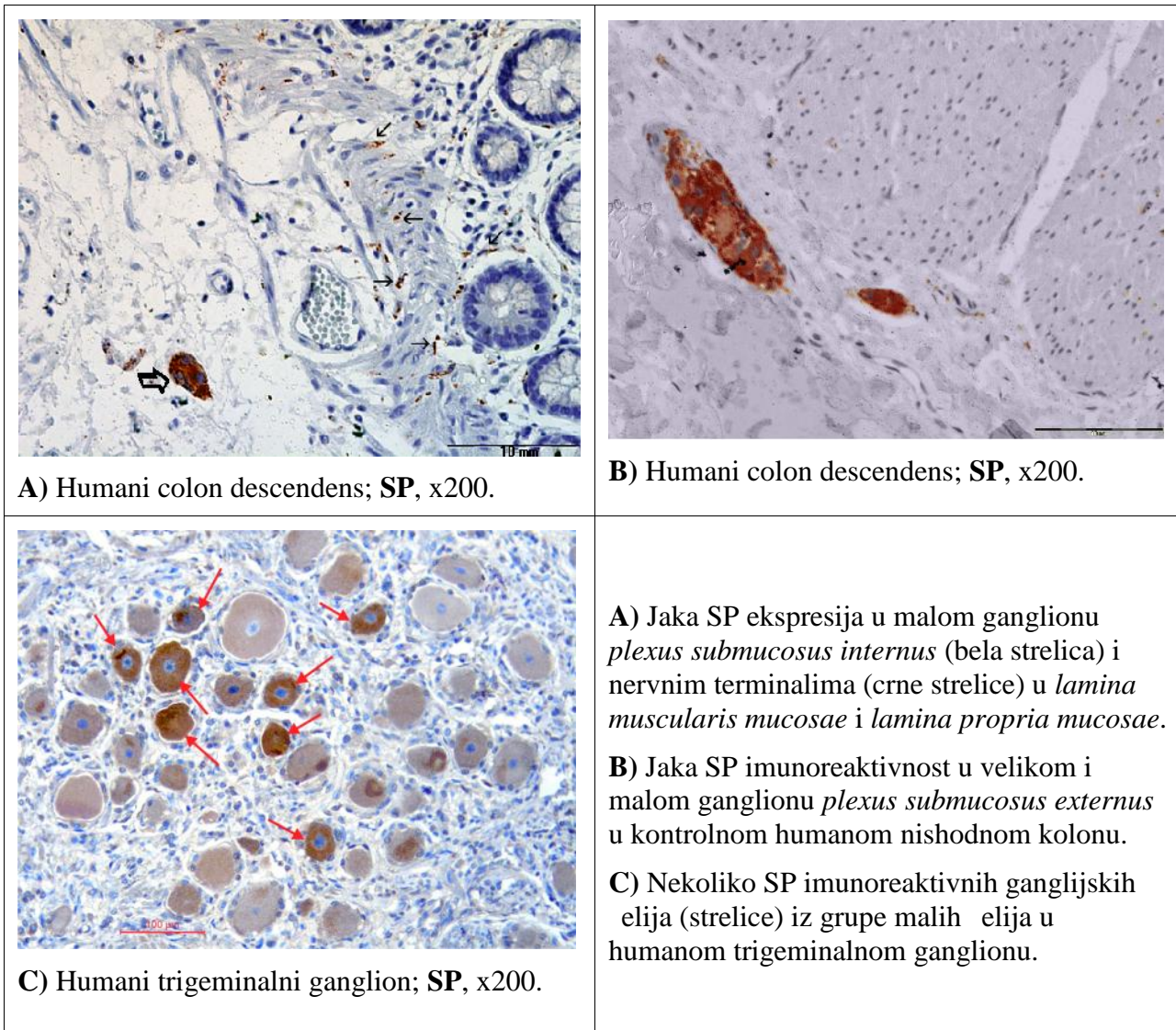
Broj (%) SST elija	Ganglijske elije, R2 x R1		Ganglijske elije, površina	
	Dijametri (μm): min-max (X)		Površina (μm^2): min-max (X \pm Sd)	
	Soma	Nukleus	Soma	Nukleus
60 (9,1)	20,4 x 27,7 - - 36,7 x 45,8 (29,4 x 35,1)	6,5 x 7,6 - - 13,1 x 14,3 (9,7 x 10,2)	448,4 - 1225,2 (822,1 \pm 190,2)	40,5 - 146,8 (79,7 \pm 22,6)

Tabela 20. Merne karakteristike tela SST pozitivnih ganglijskih elija

	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	29,439	4,003	0,517	20,366	36,66
R1	35,145	3,962	0,511	27,655	45,788
RX	32,292	3,753	0,484	24,198	39,928
Obim	101,934	11,739	1,515	76,969	126,782
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	822,111	190,208	24,556	448,366	1225,17

Tabela 21. Merne karakteristike jedara SST pozitivnih ganglijskih elija

	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	9,738	1,589	0,205	6,476	13,092
R1	10,241	1,357	0,175	7,628	14,28
Obim	31,425	4,421	0,571	22,816	43,035
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	79,71	22,619	2,92	40,547	146,826



Slika 105. Imunohistohemija SP u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglion

Merne karakteristike SP pozitivnih ganglijskih elija prikazane su na 60 elija, što je činilo 15,4% ukupnog broja ganglijskih elija analiziranih vidnih polja (tabela 22). SP imunoreaktivnost nervnih elija bila je umerena, a prema prosejnom preniku izdvojili smo 55 malih i 5 reaktivnih elija srednje veličine (slika 105). Prosejna površina SP neurona bila je $551,9 \pm 108,0 \mu\text{m}^2$ (od $348,8 - 789,0 \mu\text{m}^2$). Prosejna vrednost veličine neurona bila je $23,9 \pm 3,1 \times 29,2 \pm 2,9 \mu\text{m}$. Prosejni prenik ovih neurona iznosio je $26,6 \pm 2,6 \mu\text{m}$. Okrugli nukleus prosejno je bio veličine $8,5 \times 9,5 \mu\text{m}$ i prosejna površina $64,3 \pm 14,8 \mu\text{m}^2$ (površine od $34,3 - 103,4 \mu\text{m}^2$) (tabele 22-24).

Tabela 22. Merne karakteristike SP pozitivnih ganglijskih elija

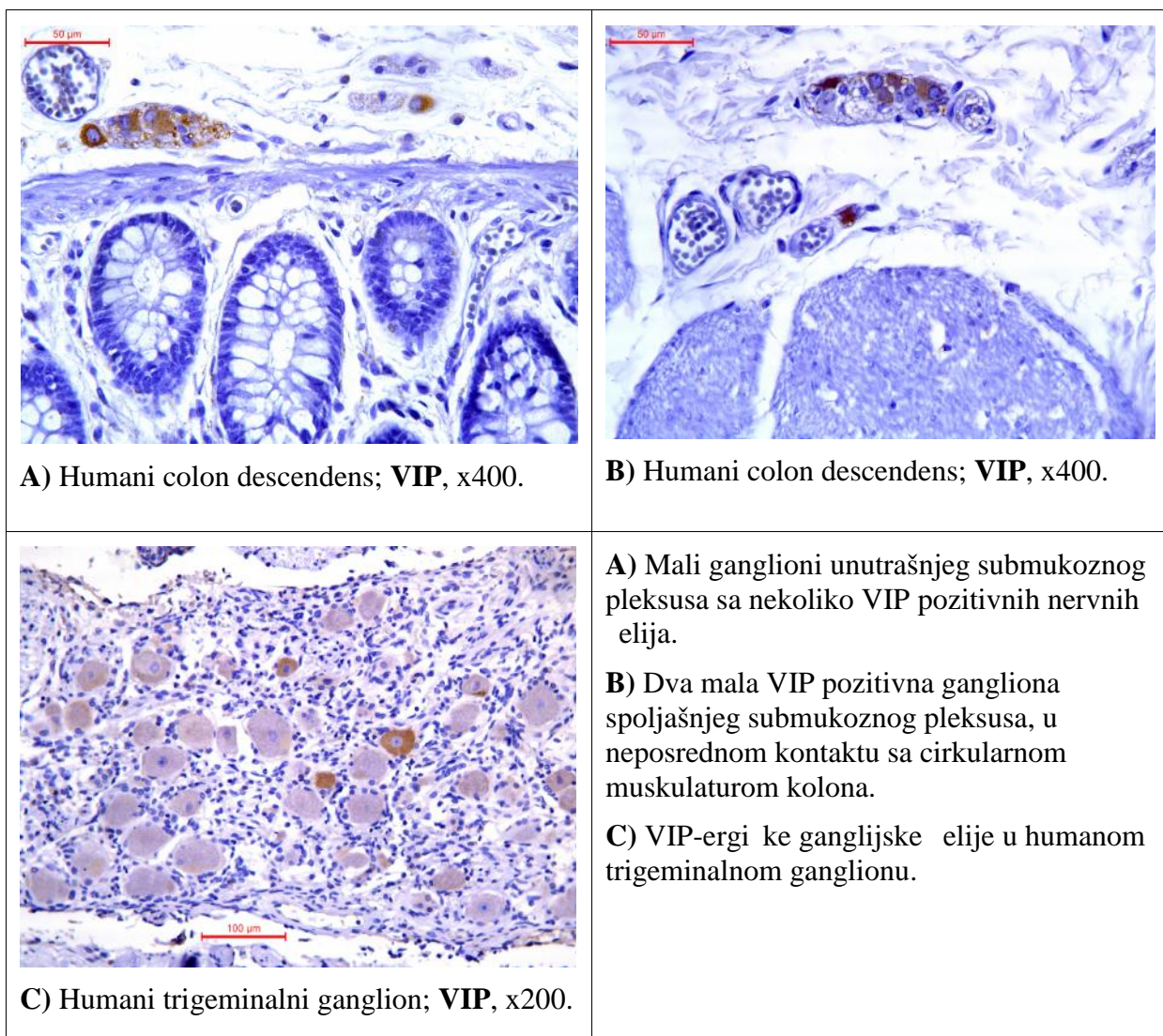
Broj (%) SP elija	Ganglijske elije, R2 x R1		Ganglijske elije, površina	
	Dijametri (μm): min-max (X)		Površina (μm^2): min-max ($X \pm \text{Sd}$)	
	Soma	Nukleus	Soma	Nukleus
60 (15,4)	17,6 x 23,9 - - 31,5 x 36,2 (23,9 x 29,2)	5,7 x 6,5 - - 11,9 x 12,9 (8,5 x 9,5)	348,8 - 789,0 (551,9 \pm 108,0)	34,3 - 103,4 (64,3 \pm 14,8)

Tabela 23. Merne karakteristike tela SP pozitivnih ganglijskih elija

	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	23,915	3,148	0,406	17,556	31,501
R1	29,212	2,926	0,378	23,943	36,226
RX	26,564	2,596	0,335	21,427	31,696
Obim	113,421	8,132	1,05	68,406	99,646
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	551,96	108,019	13,945	348,827	789,028

Tabela 24. Merne karakteristike jedara SP pozitivnih ganglijskih elija

	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	8,528	1,181	0,152	5,714	11,907
R1	9,531	1,246	0,161	6,52	12,976
Obim	28,476	3,272	0,422	21,172	36,303
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	64,349	14,751	1,904	34,27	103,373



Slika 106. Imunohistohemija VIP u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglion

Morfometrijska analiza VIP pozitivnih ganglijskih elija vršena je na 60 elija, što je činilo 9,7% ukupnog broja ganglijskih elija analiziranih vidnih polja (tabela 25). VIP imunoreaktivnost nervnih elija bila je slaba do umerena, a prema prosečnom dijametru izdvajamo 14 malih i 46 reaktivnih elija srednje veličine (slika 106). Prosečna površina VIP neurona bila je $887,7 \pm 227,1 \mu\text{m}^2$ (od $430,9 - 1352,2 \mu\text{m}^2$). Prosečna vrednost veličine neurona bila je $30,0 \pm 4,0 \times 37,1 \pm 5,2 \mu\text{m}$. Prosečna dužina ovih neurona iznosila je $33,6 \pm 4,4 \mu\text{m}$. Okrugli nukleus prosečno je bio veličine $9,7 \times 10,7 \mu\text{m}$ i prosečna površina $82,8 \pm 19,9 \mu\text{m}^2$ (površine od $46,1 - 119,3 \mu\text{m}^2$) (tabele 25-27).

Tabela 25. Merne karakteristike VIP pozitivnih ganglijskih elija

Broj (%) VIP elija	Ganglijske elije, R2 x R1		Ganglijske elije, površina	
	Dijametri (μm): min-max (X)		Površina (μm^2): min-max (X \pm Sd)	
	Soma	Nukleus	Soma	Nukleus
60 (9,7)	21,1 x 26,0 - - 36,2 x 47,5 (30,0 x 37,1)	6,5 x 7,9 - - 12,5 x 13,4 (9,7 x 10,7)	430,9 - 1352,2 (887,7 \pm 227,1)	46,1 - 119,3 (82,8 \pm 19,9)

Tabela 26. Merne karakteristike tela VIP pozitivnih ganglijskih elija

	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	29,979	4,072	0,526	21,136	36,222
R1	37,135	5,247	0,677	25,955	47,532
RX	33,557	4,436	0,572	23,546	41,877
Obim	106,113	14,049	1,814	74,357	132,754
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	887,693	227,129	29,322	430,858	1352,204

Tabela 27. Merne karakteristike jedara VIP pozitivnih ganglijskih elija

	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	9,711	1,428	0,184	6,493	12,522
R1	10,726	1,341	0,173	7,885	13,438
Obim	32,187	3,994	0,516	24,413	38,845
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	82,826	19,926	2,572	46,108	119,323

Tabela 28a. Deskriptivni statistički parametri za površinu ganglijskog neurona prema ispitivanim grupama

Površina ganglijskog neurona†	N	X	Sd	95% interval poverenja		min	max
				Donja granica	Gornja granica		
CGRP	90	1055,94	488,09	953,72	1158,17	425,37	2515,84
SST	60	822,11	190,21	772,97	871,25	448,37	1225,17
VIP	60	887,69	227,13	829,02	946,37	430,86	1352,20
CCK	61	1210,85	560,75	1067,24	1354,47	435,81	2730,24
SP	60	551,96	108,02	524,06	579,86	348,83	789,03
Ukupno	331	920,25	431,78	873,56	966,94	348,83	2730,24

† sve ispitivane karakteristike imaju normalnu raspodelu

Postoji visoko statistički značajna razlika u prosejnoj vrednosti površine ganglijskog neurona između ispitivanih grupa ($F=27,657$; $p<0,001$).

Grafikon 1. Deskriptivni statistički parametri za površinu ganglijskog neurona prema ispitivanim grupama (1. CGRP; 2. SST; 3. VIP; 4. CCK; 5. SP)

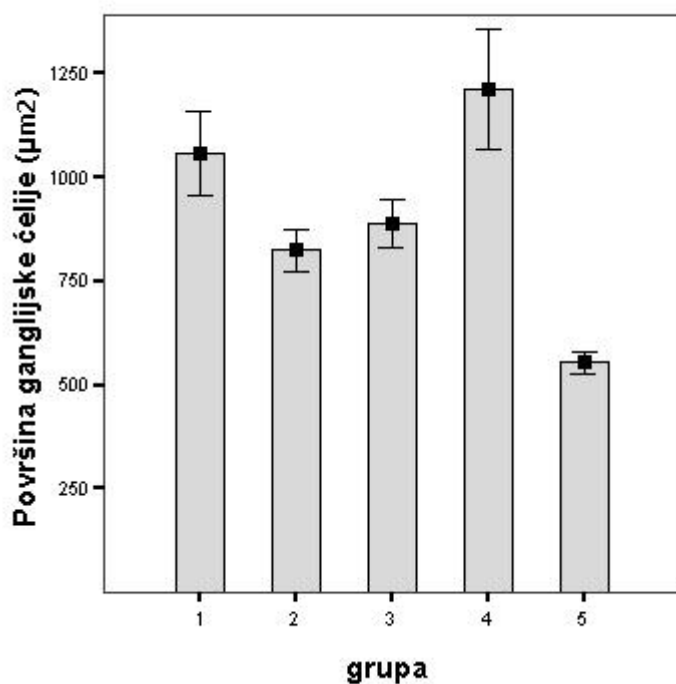


Tabela 28b. Deskriptivni statistički parametri za površinu elije ektopi nog neurona prema ispitivanim grupama

Površina elije ektopi nog neurona†	N	X	Sd	95% interval poverenja		min	max
				Donja granica	Gornja granica		
CGRP	14	956,64	234,07	821,50	1091,79	658,23	1337,86
SST	11	810,26	174,28	693,17	927,34	598,85	1244,71
VIP	5	842,08	212,63	578,07	1106,09	593,02	1172,05
CCK	8	958,53	173,37	813,59	1103,47	636,53	1159,08
SP	9	449,61	140,24	341,82	557,41	247,14	670,63
Ukupno	47	813,42	264,39	735,80	891,05	247,14	1337,86

† sve ispitivane karakteristike imaju normalnu raspodelu

Postoji visoko statistički značajna razlika u prosejnoj vrednosti površine elije ektopi nog neurona između ispitivanih grupa ($F= 11,080$; $p<0,001$).

Grafikon 2. Deskriptivni statistički parametri za površinu elije ektopi nog neurona prema ispitivanim grupama (1. CGRP; 2. SST; 3. VIP; 4. CCK; 5. SP)

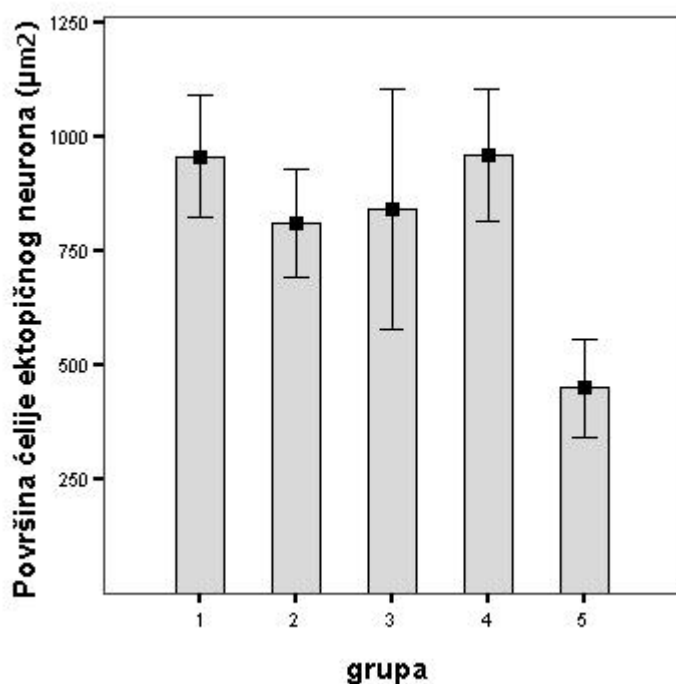


Tabela 28c. Deskriptivni statistički parametri za površinu jedra ganglijskog neurona prema ispitivanim grupama

Površina jedra ganglijskog neurona†	N	X	Sd	95% interval poverenja		min	max
				Donja granica	Gornja granica		
CGRP	90	89,14	31,26	82,60	95,69	41,12	200,00
SST	60	79,71	22,62	73,87	85,55	40,55	146,83
VIP	60	82,83	19,93	77,68	87,97	46,11	119,32
CCK	61	91,33	25,46	84,81	97,85	46,51	164,93
SP	60	64,35	14,75	60,54	68,16	34,27	103,37
Ukupno	331	82,20	25,89	79,40	85,00	34,27	200,00

† sve ispitivane karakteristike imaju normalnu raspodelu

Postoji visoko statistički značajna razlika u prosejnoj vrednosti površine jedra ganglijskog neurona između ispitivanih grupa ($F= 12,263$; $p<0,001$).

Grafikon 3. Deskriptivni statistički parametri za površinu jedra ganglijskog neurona prema ispitivanim grupama (1. CGRP; 2. SST; 3. VIP; 4. CCK; 5. SP)

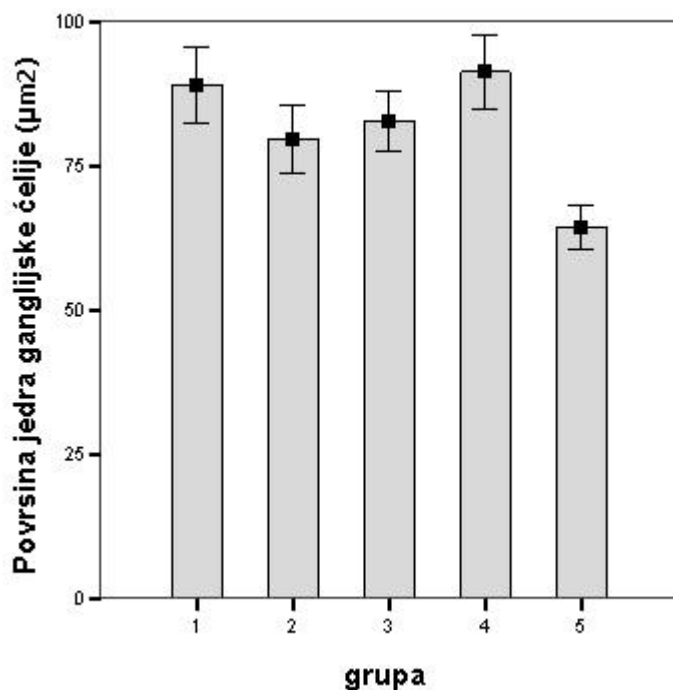


Tabela 28d. Deskriptivni statistički parametri za površinu jedra ektopičnog neurona prema ispitivanim grupama

Površina jedra ektopičnog neurona†	N	X	Sd	95% interval poverenja		min	max
				Donja granica	Gornja granica		
CGRP	14	95,50	24,93	81,10	109,90	57,45	137,09
SST	11	69,12	24,89	52,40	85,85	25,67	122,04
VIP	5	73,53	28,42	38,25	108,82	46,43	113,90
CCK	8	75,05	18,32	59,73	90,36	54,83	102,10
SP	9	55,76	19,91	40,46	71,06	31,80	87,84
Ukupno	47	75,90	26,62	68,08	83,71	25,67	137,09

† sve ispitivane karakteristike imaju normalnu raspodelu

Postoji visoko statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti površine jedra ektopičnog neurona između ispitivanih grupa ($F= 4,363$; $p<0,001$).

Grafikon 4. Deskriptivni statistički parametri za površinu jedra ektopičnog neurona prema ispitivanim grupama (1. CGRP; 2. SST; 3. VIP; 4. CCK; 5. SP)

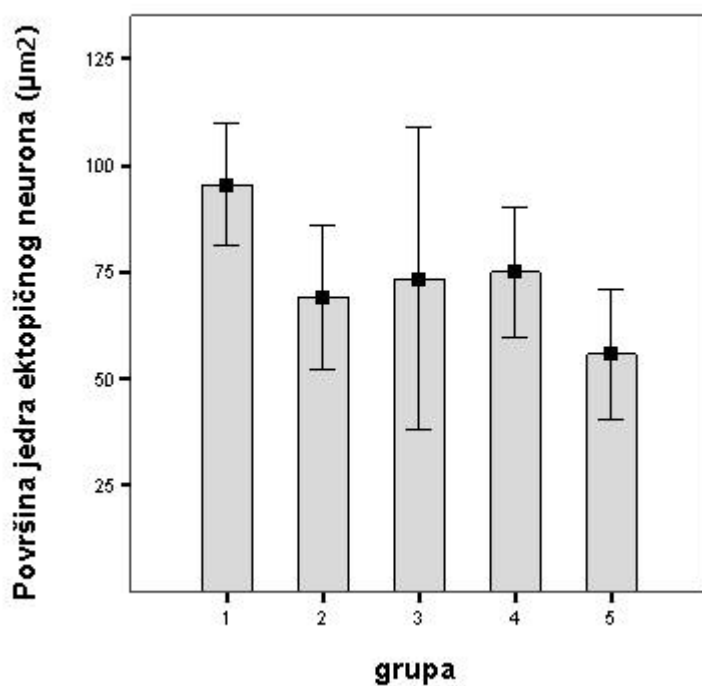


Tabela 28e. Ispitivanje značajnosti razlike u prosejnoj vrednosti površine elije i jedra ganglijskog i ektopinog neurona u ispitivanim grupama

Ispitivana karakteristika†	N	Ganglijski neuron X ± Sd	Ektopini neuron X ± Sd	t	p
CGRP					
Površina elije (µm ²)	14	972,68 ± 401,12	956,64 ± 234,07	0,156	>0,05
Površina jedra (µm ²)	14	98,17 ± 41,80	95,50 ± 24,93	0,228	>0,05
SST					
Površina elije (µm ²)	11	756,24 ± 124,58	810,26 ± 174,28	1,175	>0,05
Površina jedra (µm ²)	11	67,66 ± 9,71	69,12 ± 24,89	0,173	>0,05
VIP					
Površina elije (µm ²)	5	760,07 ± 170,23	842,08 ± 212,63	0,538	>0,05
Površina jedra (µm ²)	5	842,08 ± 212,63	73,53 ± 28,42	0,528	>0,05
CCK					
Površina elije (µm ²)	8	1159,31 ± 352,10	958,53 ± 173,37	1,248	>0,05
Površina jedra (µm ²)	8	92,76 ± 21,47	75,05 ± 18,32	1,517	>0,05
SP					
Površina elije (µm ²)	9	512,29 ± 43,28	449,61 ± 140,24	1,344	>0,05
Površina jedra (µm ²)	9	64,99 ± 9,63	55,76 ± 19,91	1,214	>0,05

† sve ispitivane karakteristike imaju normalnu raspodelu

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini elije izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u CGRP grupi ($t=0,156$; $p>0,05$).

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini jedra izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u CGRP grupi ($t=0,228$; $p>0,05$).

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini elije izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u SST grupi ($t=1,175$; $p>0,05$).

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini jedra izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u SST grupi ($t=0,173$; $p>0,05$).

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini elije izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u VIP grupi ($t=0,538$; $p>0,05$).

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini jedra izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u VIP grupi ($t=0,528$; $p>0,05$).

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini elije izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u CCK grupi ($t=1,248$; $p>0,05$).

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini jedra izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u CCK grupi ($t=1,517$; $p>0,05$).

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini elije izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u SP grupi ($t=1,344$; $p>0,05$).

Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj površini jedra izme u ganglijskog i ektopi nog neurona u SP grupi ($t=1,214$; $p>0,05$).

Grafikon 5. Prose ne vrednosti a) površine elije i b) jedra ganglijskog i ektopi nog neurona u ispitivanim grupama

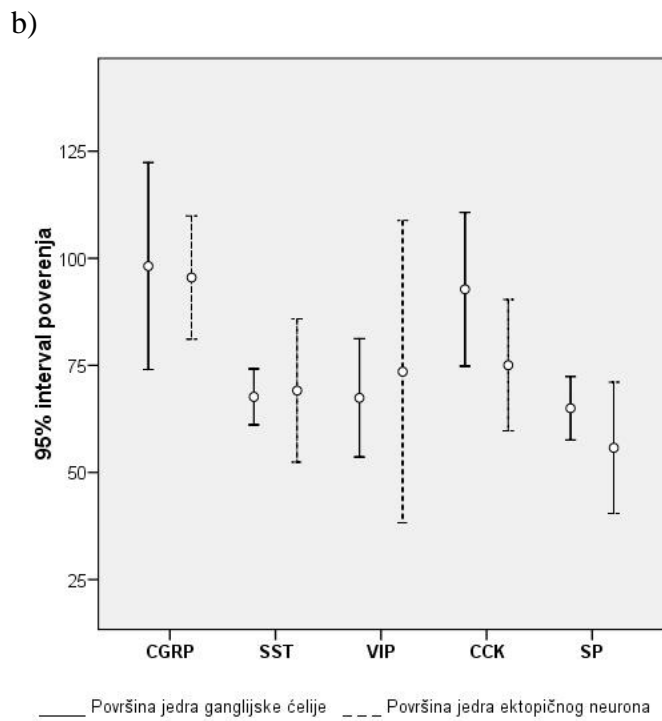
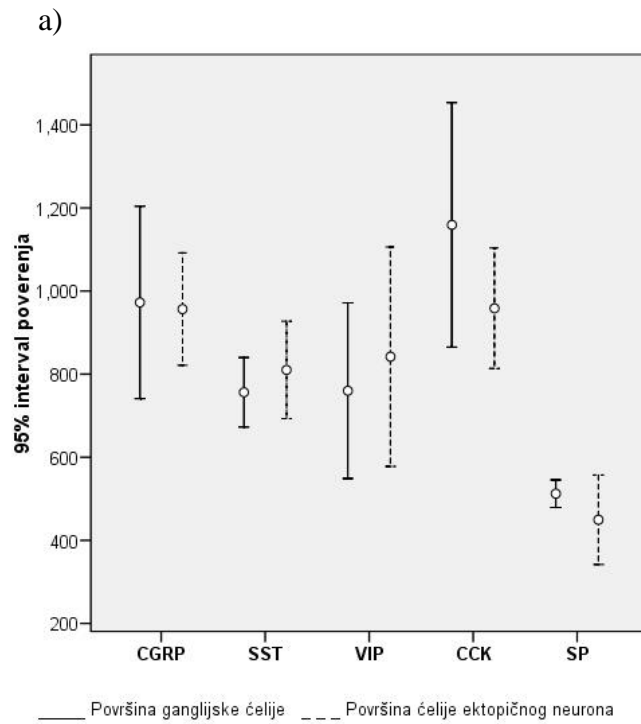


Tabela 28f. Ispitivanje značajnosti povezanosti vrednosti površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona i površine jedra ganglijskog i ektopi nog neurona u ispitivanim grupama

Povezanost	Parametar	CGRP	SST	VIP	CCK	SP
Površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona	r	0,784	0,667	0,734	0,733	0,675
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	N	90	60	60	61	60
Površine jedra ganglijskog i ektopi nog neurona	r	0,319	0,138	0,407	0,158	0,618
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	N	14	11	5	8	9

r - Pearson-ov koeficijent korelacije; p - verovatnoća; N - broj elija

Postoji visoko statistički značajna povezanost između vrednosti površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona u CGRP grupi ($r=0,784$; $p<0,001$).

Ne postoji statistički značajna povezanost između vrednosti površine jedra ganglijskog i ektopi nog neurona u CGRP grupi ($r=0,319$; $p>0,05$).

Postoji visoko statistički značajna povezanost između vrednosti površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona u SST grupi ($r=0,667$; $p<0,001$).

Ne postoji statistički značajna povezanost između vrednosti površine jedra ganglijskog i ektopi nog neurona u SST grupi ($r=0,138$; $p>0,05$).

Postoji visoko statistički značajna povezanost između vrednosti površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona u VIP grupi ($r=0,734$; $p<0,001$).

Ne postoji statistički značajna povezanost između vrednosti površine jedra ganglijskog i ektopi nog neurona u VIP grupi ($r=0,407$; $p>0,05$).

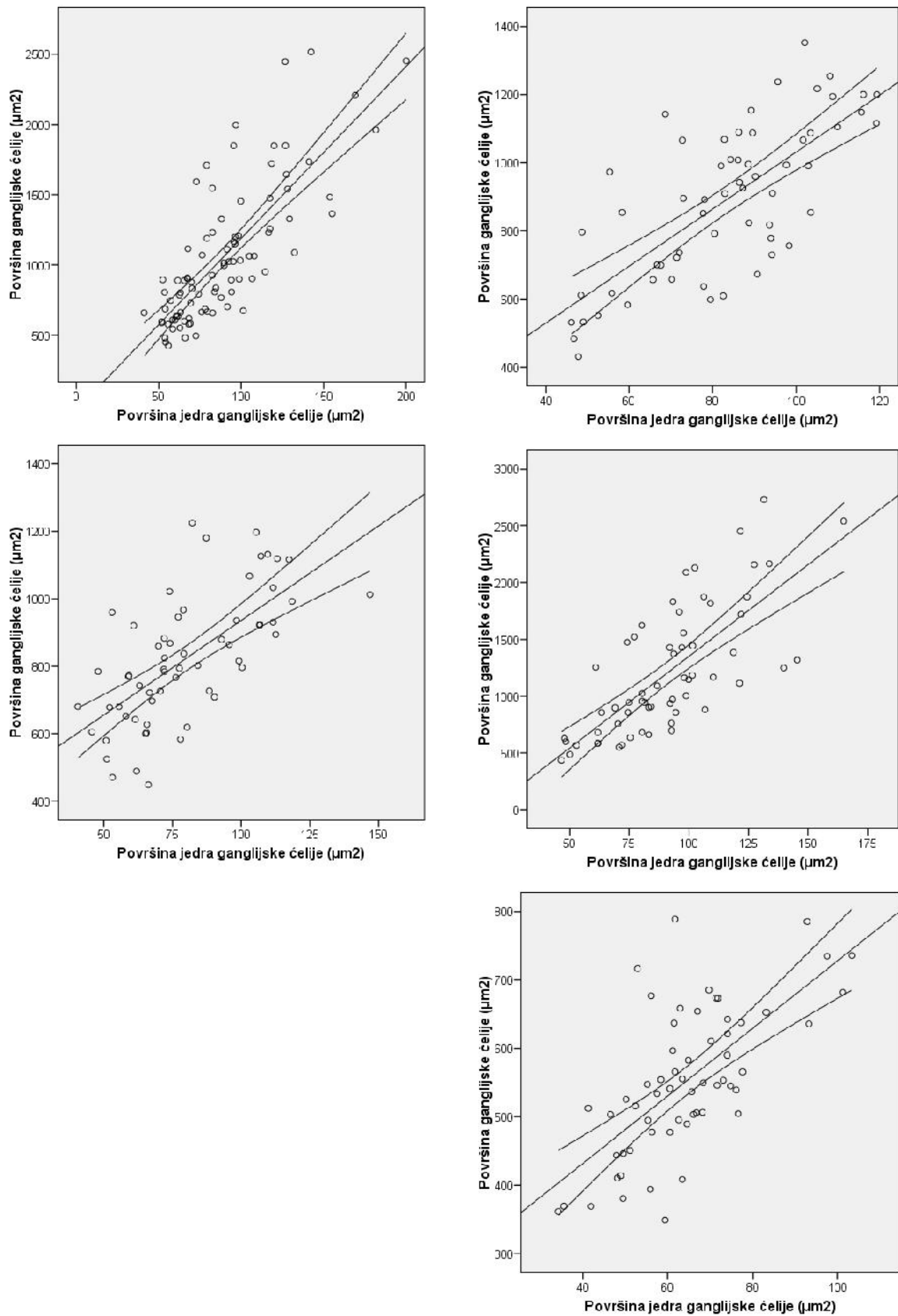
Postoji visoko statistički značajna povezanost između vrednosti površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona u CCK grupi ($r=0,733$; $p<0,001$).

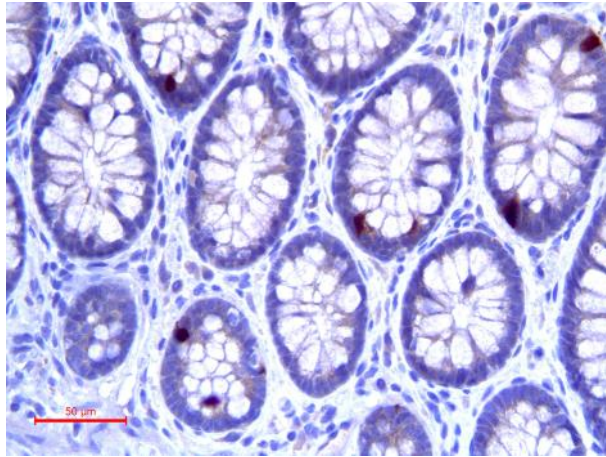
Ne postoji statistički značajna povezanost između vrednosti površine jedra ganglijskog i ektopi nog neurona u CCK grupi ($r=0,158$; $p>0,05$).

Postoji visoko statistički značajna povezanost između vrednosti površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona u SP grupi ($r=0,675$; $p<0,001$).

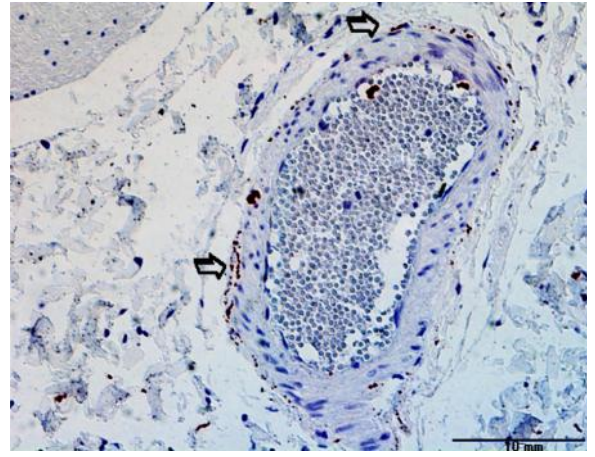
Ne postoji statistički značajna povezanost između vrednosti površine jedra ganglijskog i ektopi nog neurona u SP grupi ($r=0,618$; $p>0,05$).

Grafikon 6. Povezanost vrednosti površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona u ispitivanim grupama (s leva na desno grafikoni za grupe CGRP; SST; VIP; CCK; SP)

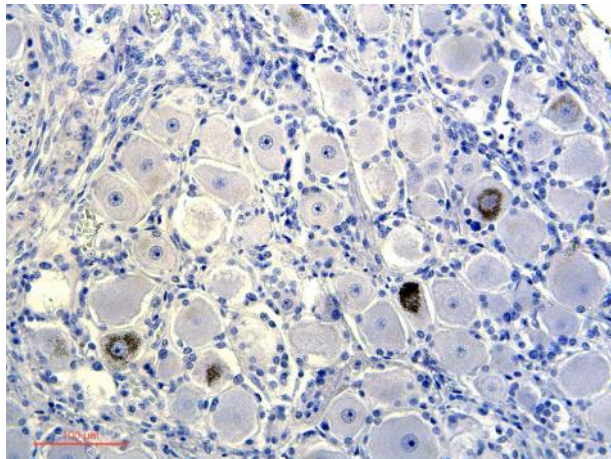




A) Humani colon descendens; NPY, x400.



B) Humani colon descendens; NPY, x200.

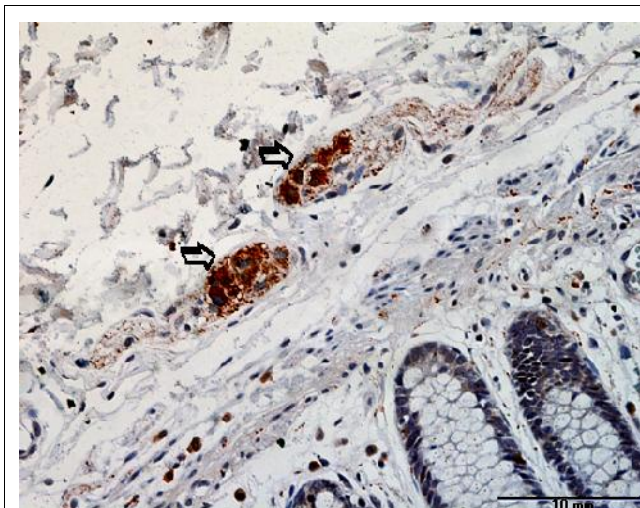


C) Humani trigeminalni ganglion, NPY, x200.

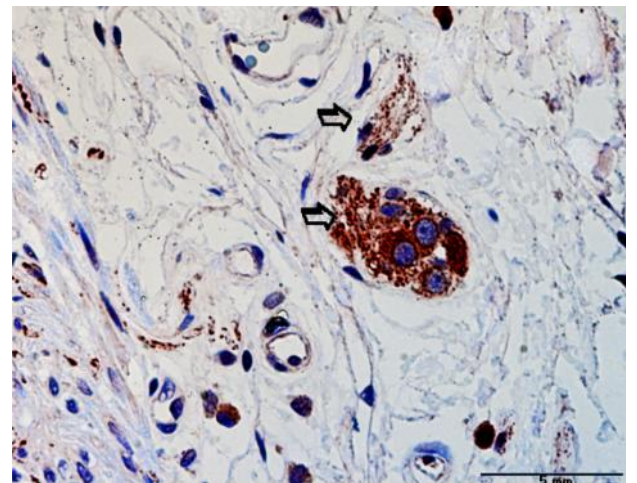
- A)** NPY imunoreaktivne endokrine ćelije razabacane u epitelu kriptata kolona.
- B)** Jasno uočljiva NPY imunoreaktivna nervna vlakna (bele strelice) u adventiciji vene srednje veličine u submukozi kolona.
- C)** Nervne ćelije trigeminalnog gangliona NPY nereaktivne (prisustvo lipofuscina u ćelijama).

Slika 107. Imunohistohemija NPY u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglionu

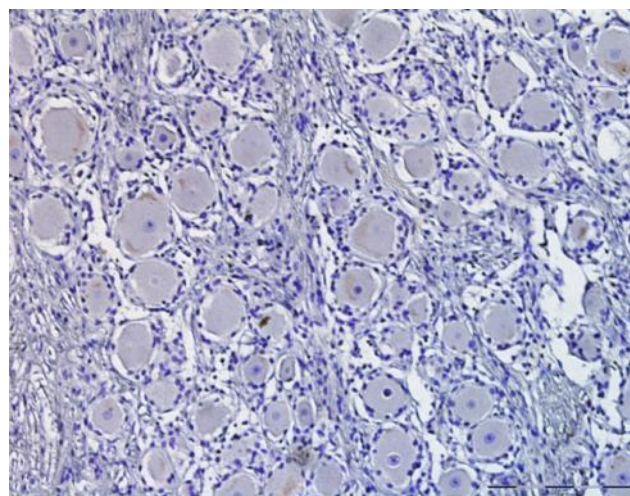
Nervne ćelije trigeminalnog gangliona NPY nereaktivne (slika 107C).



A) Humani colon descendens; **Bom**, x200.



B) Humani colon descendens; **Bom**, x400.



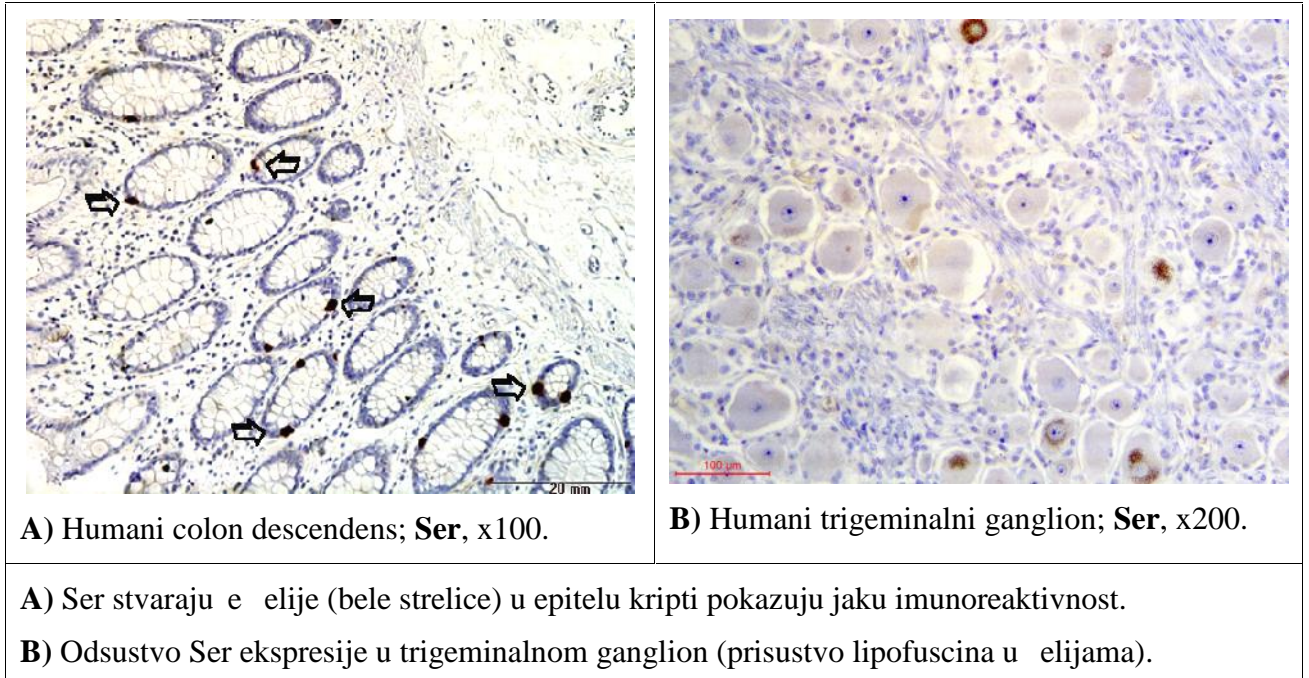
C) Humani trigeminalni ganglion; **Bom**, x100.

A i B) Submukozni ganglioni (bele strelice) u *plexus submucosus internus* sa brojnim Bom imunoreaktivnim enteričkim neuronima. Tako je, relativno visoka gustina jako imunoreaktivnih varikoziteta nervnih terminala na čela je u *lamina muscularis mucosae*.

C) Trigeminalni ganglion sa telima neurona koji su ne reaktivni na Bom.

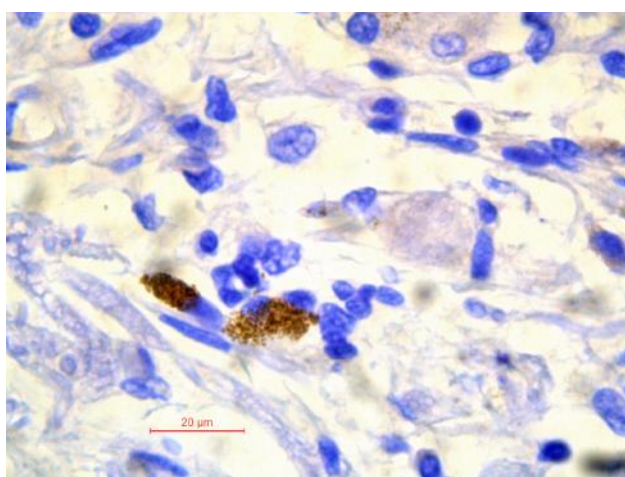
Slika 108. Imunohistohemija Bom u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglion

Nervne ćelije trigeminalnog ganglionu Bom nereaktivne (slika 108C).

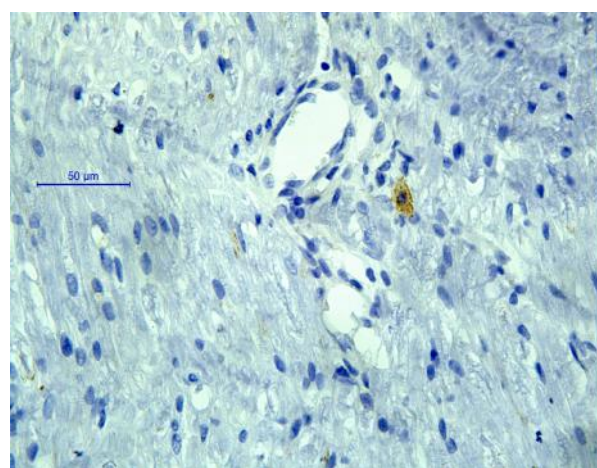


Slika 109. Imunohistohemija Ser u humanim kontrolnim tkivima i trigeminalnom ganglionu

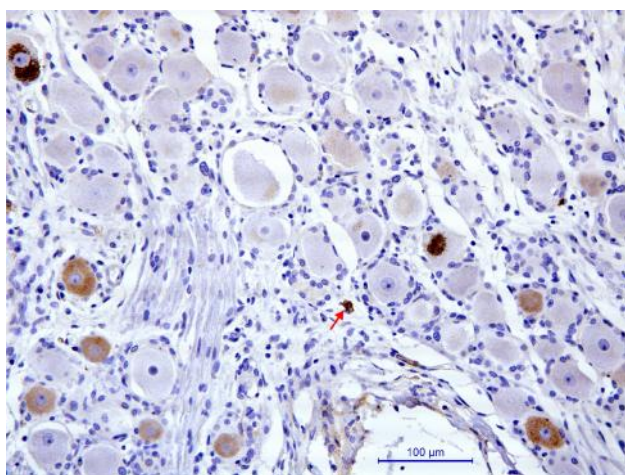
Nervne elije trigeminalnog ganglionu Ser nereaktivne (slika 109B).



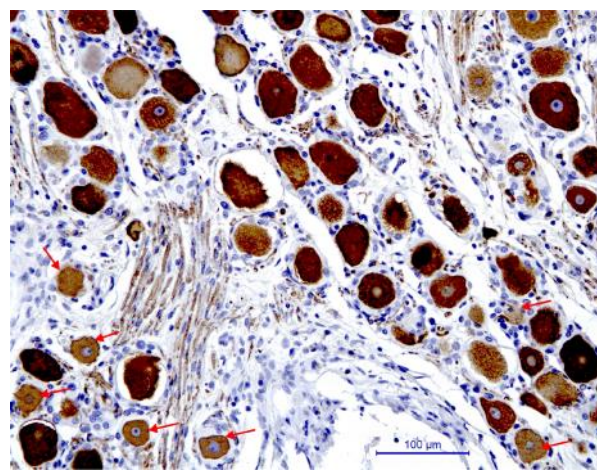
A) Humani trigeminalni ganglion; **c-kit**, x1000



B) Humani trigeminalni nerv; **c-kit**, x400



C) Humani trigeminalni ganglion; **c-kit**, x200



D) Humani trigeminalni ganglion; **NFP**, x200.

A) Prisustvo c-kit imunopozitivnih mastocita u humanom trigeminalnom ganglionu.

B) Prisustvo c-kit imunopozitivnog mastocita u humanom trigeminalnom nervu u blizini interfascikularnih krvnih sudova.

C) Prisustvo slabe do umerene c-kit imunoreaktivnosti malih trigeminalnih ganglijskih elija (strelice, mastocit).

D) Prisustvo slabe do umerene NFP imunoreaktivnosti malih trigeminalnih ganglijskih elija (strelice) slede eg preseka koje odgovaraju c-kit pozitivnim elijama prethodnog preseka.

Slika 110. Imunohistohemija c-kit u humanom trigeminalnom ganglionu

Merne karakteristike c-kit pozitivnih ganglijskih elija prikazane su na 50 elija, što je inilo 15,4% ukupnog broja ganglijskih elija analiziranih vidnih polja (tabela 29). C-kit imunoreaktivnost nervnih elija bila je slaba do umerena, a prema

prose nom pre niku izdvojili smo 2 male i 48 reaktivnih elija srednje veli ine (slika 110). Prose na površina c-kit neurona bila je $1013,0 \pm 207,2 \mu\text{m}^2$ (od 633,2 - 1599,6 μm^2). Prose na vrednost veli ine neurona bila je $34,3 \pm 4,2 \times 37,3 \pm 3,3 \mu\text{m}$. Prose ni pre nik ovih neurona iznosio je $35,8 \pm 3,6 \mu\text{m}$. Okrugli nukleus prose no je bio veli ine $11,0 \times 11,6 \mu\text{m}$ i prose ne površine $101,3 \pm 23,4 \mu\text{m}^2$ (površine od 53,5 – 170,7 μm^2) (tabele 29-31).

Tabela 29. Merne karakteristike c-kit pozitivnih ganglijskih elija

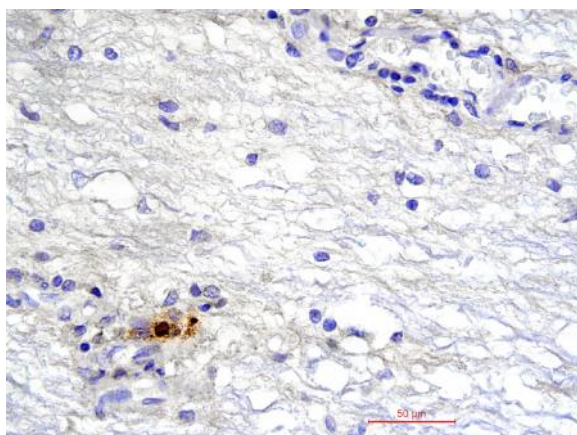
Broj (%) c-kit elija	Ganglijske elije, R2 x R1		Ganglijske elije, površina	
	Dijametri (μm): min-max (X)		Površina (μm^2): min-max (X \pm Sd)	
	Soma	Nukleus	Soma	Nukleus
50 (15,4)	27,2 x 29,7 - - 44,8 x 45,5 (34,3 x 37,3)	7,6 x 8,6 - - 14,8 x 14,7 (11,0 x 11,6)	633,2 - 1599,6 (1013,0 \pm 207,2)	53,5 – 170,7 (101,3 \pm 23,4)

Tabela 30. Merne karakteristike tela c-kit pozitivnih ganglijskih elija

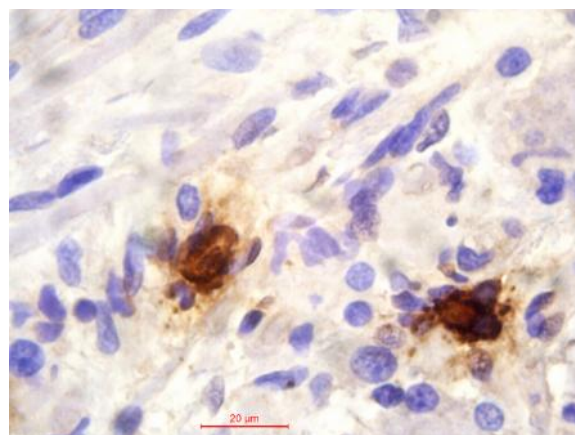
	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	34,256	4,194	0,593	27,153	44,805
R1	37,331	3,318	0,469	29,69	45,458
RX	35,793	3,576	0,506	28,421	45,131
Obim	112,622	11,173	1,58	89,377	141,788
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	1013,041	207,156	29,296	633,159	1599,643

Tabela 31. Merne karakteristike jedara c-kit pozitivnih ganglijskih elija

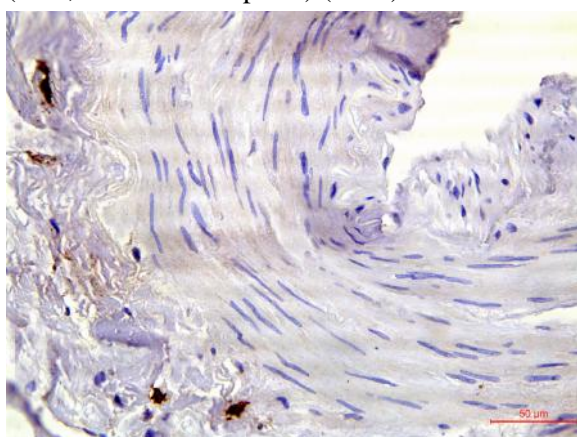
	X (~m)	Sd (\pm ~m)	Se (\pm ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	11,034	1,504	0,213	7,578	14,841
R1	11,554	1,299	0,184	8,759	14,647
Obim	35,527	4,109	0,581	26,107	46,319
	X (~m ²)	Sd (\pm ~m ²)	Se (\pm ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	101,256	23,411	3,311	53,464	170,716



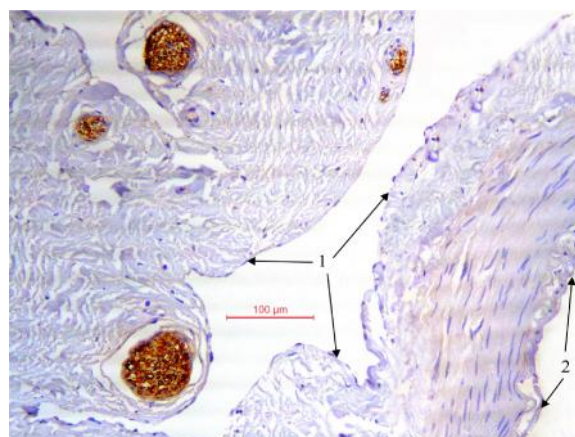
Slika 111a. Triptaza pozitivni mastocit u centralnom segmentu trigeminalnog nerva (IHH, mastocitna triptaza) (400x).



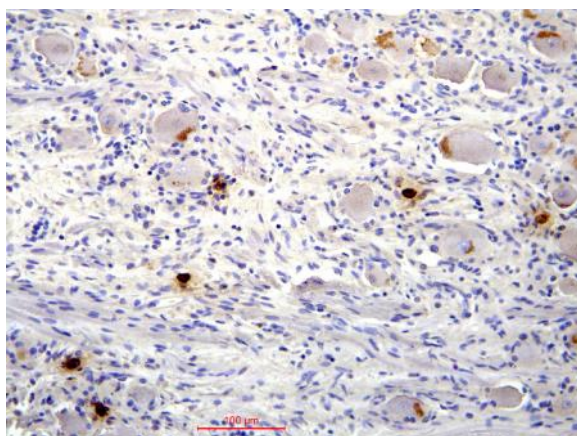
Slika 111b. Triptaza pozitivni mastociti u humanom trigeminalnom ganglion (IHH, mastocitna triptaza) (1000x).



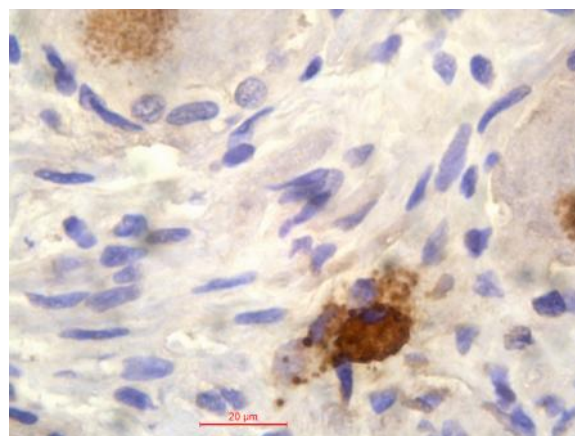
Slika 112a. Triptaza pozitivni mastociti u adventiciji srednje moždani ne arterije (*a. meningea media*) (IHH, mastocitna triptaza) (400x).



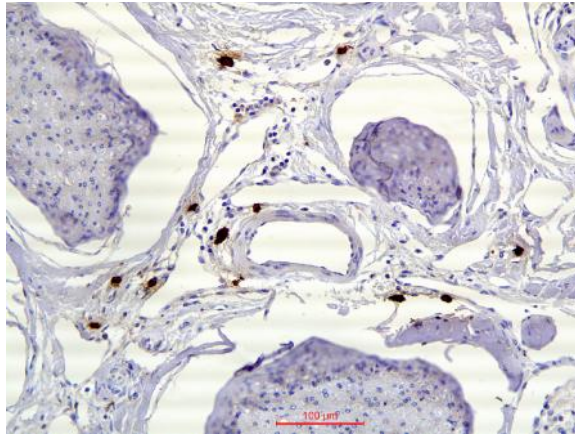
Slika 112b. Sensorna nervna vlakna u duri uz srednju moždani nu venu (1) i arteriju (2) (IHH, NFP) (200x).



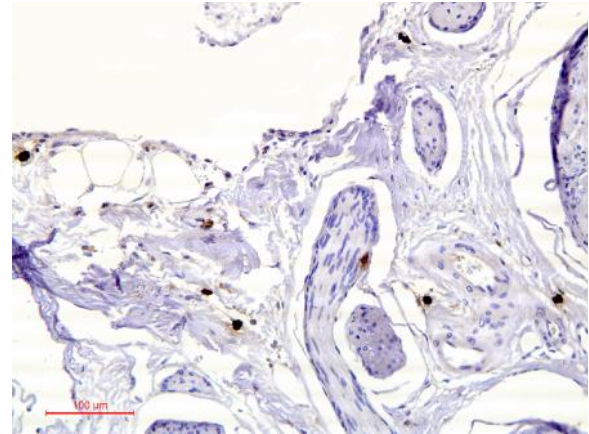
Slika 113a. Triptaza pozitivni mastociti u humanom trigeminalnom ganglion (IHH, mastocitna triptaza) (200x).



Slika 113b. Triptaza pozitivni mastocit u humanom trigeminalnom ganglion (IHH, mastocitna triptaza) (1000x).



Slika 114a. Triptaza pozitivni mastociti u perifernom delu trigeminalnog gangliona (IHH, mastocitna triptaza) (200x).



Slika 114b. Triptaza pozitivni mastociti u perifernom delu trigeminalnog gangliona (IHH, mastocitna triptaza) (200x).

Morfometrijska analiza triptaza pozitivnih mastocita vršena je na 47 elija, a određivanje broja ovih elija na 60 analiziranih vidnih polja trigeminalnog gangliona. Prosečan broj mastocita po kvadratnom milimetru preparata gangliona iznosio je 1,3, a kretao se od 0 do 6 elija. Imunoreaktivnost mastocita bila je intenzivna (slika 111b, 113a, 113b). Prosečna površina triptaza pozitivnih mastocita bila je $124,9 \pm 16,5 \mu\text{m}^2$ (od $92,4 - 153,7 \mu\text{m}^2$). Prosečna vrednost veličine elije bila je $10,6 \pm 1,1 \times 15,0 \pm 1,4 \mu\text{m}$. Prosečni prečnik ovih elija iznosio je $12,8 \pm 0,8 \mu\text{m}$ (tabele 32, 33).

Tabela 32. Merne karakteristike triptaza pozitivnih mastocita u trigeminalnom ganglionu

Broj mastocita/mm ² : min-max (X)	Mastociti, R2 x R1	Mastociti, površina
	Dijametri (μm): min-max (X)	Površina (μm ²): min-max (X ± Sd)
	Soma	Soma
0-6 (1,3)	8,3 x 9,4 - - 13,2 x 17,2 (10,6 x 15,0)	92,4 - 153,7 (124,9 ± 16,5)

Tabela 33. Merne karakteristike tela triptaza pozitivnih mastocita u trigeminalnom ganglionu

	X (~m)	Sd (± ~m)	Se (± ~m)	Min (~m)	Max (~m)
R2	10,63	1,135	0,166	8,279	13,214
R1	14,978	1,378	0,201	9,348	17,15
RX	12,804	0,83	0,121	11,06	14,281
Obim	40,907	2,639	0,385	35,344	45,761
	X (~m ²)	Sd (± ~m ²)	Se (± ~m ²)	Min (~m ²)	Max (~m ²)
Površina	124,889	16,464	2,401	92,402	153,711

U samom trigeminalnom nervu mastocite smo retko nalazili, uvek u blizini krvnih sudova (slika 110B), a izuzetno retko u centralnom segmentu nerva (slika 111a). Prisustvo mastocita smo registrovali u blizini stabla i grana, kao i u adventiciji srednje moždani ne arterije i vena i u slojevima duralnog pokrivača (slika 112a). Prosečan broj mastocita po kvadratnom milimetru preparata dure sa srednjim moždanim sudovima iznosio je 6,8, a kretao se od 5 do 8 celija. Nismo uočili da je distribucija mastocita vezana za blizinu senzornih nervnih vlakana (slika 112b). Najviše mastocita je nađeno u perifernoj zoni gangliona, medijalno uz kavernozni sinus, lateralno uz spinozni otvor i stablo srednje moždani ne arterije, kao i po obodu uz početne segmente tri velike grane trigeminusa, gde je i vaskularna mreža gangliona najrazvijenija (slike 114a, 114b). U ovom predelu postojalo je od 7 do 14 mastocita, prosečno 11,4 po kvadratnom milimetru površine preseka.

DISKUSIJA

Mikromorfološke karakteristike peritrigeminalne arterijske vaskularizacije i intratrigeminalne vaskularne mreže

Odnosi sa bliskim krvnim sudovima

Proučavanje odnosa korenog dela trigeminalnog nerva i velikih krvnih sudova u njegovoj blizini dobija na značajnom razvojem mikrovaskularne dekompresione neurohirurgije u pacijenata sa trigeminalom neuralgijom (Shi-Ting i sar., 2004). Kompresija korenog dela trigeminalnog nerva arterijom ili venom dokazana je u preko 80% pacijenata sa trigeminalom neuralgijom (Love i sar., 2001). Naša studija normalnih odnosa krvnih sudova i nervnog stabla trigeminusa na injiciranim preparatima pruža korisne informacije o neurovaskularnom kontaktu i kompresiji kod normalnih osoba. Kako je za kompresiju nerva krvnim sudom u trigeminalnoj neuralgiji bitan njegov prislan kontakt sa nervom, u našem radu registrovali smo samo krvne sudove koji neposredno dodiruju ili probijaju trigeminalni nerv. Na našem materijalu uočili smo nekoliko sudova koji su manjim ili većim delom svoga stabla bili uz sam trigeminalni nerv. Na samom nervu nisu postojali ostisci sudova što bi ukazivalo na kompresiju. Kako nemamo podataka o postojanju bilo kakvih ispada u inervacionom području trigeminalnih nerava koje smo proučavali ne možemo da tvrdimo da su bliski odnosi nerava i sudova izazivali bilo kakve poremećaje, već smo samo registrovali njihove topografske odnose.

Naši podaci da se Dandy-jeva vena voluminoznim stablom pružala priljubljena uz dorzalnu površinu nerva u 12% slučajeva, u 12% slučajeva trigeminalnom nervu je prilazila sa ventralne strane, a još u 8% prolazila kroz sam nerv, odgovaraju sličnim nalazima drugih autora, u 10-14% slučajeva (Haines i sar., 1980; Shi-Ting i sar., 2004; Četković i sar., 2011).

Arteria cerebelli superior (ACS) je naj češće bila u kontaktu sa korenim delom trigeminalnog nerva, stablom na 8 (32%) hemisfera u blizini a na 2 (8%) u direktnom kontaktu, a lateralnom granom, na 15 (60%) hemisfera u blizini a na 3 (12%) u direktnom kontaktu sa gornjom površinom nerva. Rezultati u literaturi, od 87% (Hardy i sar., 1978; etkovi i sar., 2011) do 100% (Haines i sar., 1979, 1980), kao i naši rezultati, ukazuju da normalno blizak odnos nerva i ove arterije može u nekim slučajevima i da postane uzrok kompresije nerva. U 70% slučajeva neuralgije trigeminusa pogođena je samo jedna grana trigeminusa, naj češće n. maxillaris (52%), zatim n. mandibularis (39% pacijenata), što odgovara bliskom odnosu ACS i dorzalne i kaudalne strane nerva (Bowsher, 1997).

Arteria cerebelli inferior anterior, koja je često u bliskom odnosu sa facijalnim i vestibulokohlearnim kranijalnim nervima, u 12% slučajeva prislanjala se uz donji deo ventralne strane trigeminalnog nerva, što odgovara 11% kontakata opisanih u literaturi (Haines i sar., 1980).

Sličan opis našem neuobičajenom slučaju da se superolateralna pontinska arterija punim kalibrom, u 8% slučajeva probija između korenova ventromedijalnog dela nerva postoji u literaturi (Haines i sar., 1980).

Mikromorfološke karakteristike peritrigeminale arterijske vaskularizacije

Pontinske grane *a. basilaris* vaskularizuju intrakranijalni, koreni deo trigeminalnog nerva (Gillilan, 1975; Duvernoy, 1978). Arterije namenjene vaskularizaciji trigeminalnog nerva polaze iz više izvora koji svi vode poreklo od *a. basilaris*. Termin trigeminala grana ili trigeminala arterija u našim analizama se odnosi na sud koji direktno vaskularizuje cisternalni segment nerva, za razliku od uopštenog prikaza u literaturi gde trigeminale arterije svojim granama vaskularizuju i okolne strukture (Watt i sar., 1935; Gillilan, 1975). Takva arterija je namenjena isključivo nervu, ali naj češće nije direktna grana magistralnih, velikih sudova. Trigeminalne grane se odvajaju od superolateralne pontinske arterije, inferolateralne pontinske arterije, *a. cerebelli inferior anterior* (direktno ili od njene pedunkularne grane), bazilarne arterije direktno ili od same *a. cerebelli superior*. Cisternalni segment V kranijalnog živca obično dobija dve do tri trigeminale granice iz neke od navedenih arterija, a gotovo uvek iz superolateralne pontinske arterije (Watt i sar.,

1935; Hardy i sar., 1978; Willinsky i sar., 1987; Marinkovi i sar., 1995; etkovi i sar., 2011).

Superolateralna pontinska arterija, grana *a. basilaris* bila je i naj eš i izvor snabdevanja trigeminalog nerva, u 23 (92%) slu aja sa 1 - 3 gran ice, kalibra 110 - 320 μm (prose no 230 μm).

A. cerebelli inferior anterior, preko svoje pedunkularne grane ili direktno, predstavlja drugi najzastupljeniji izvor vaskularizacije trigeminalog nerva, u 22 (88%) slu ajeva. Daje jednu gran icu za nerv, pre nika 140 - 340 μm (prose no 240 μm), re e direktno a eš e od bo ne, pedunkularne grane, namenjene vaskularizaciji *pedunculus cerebellaris medius*-a.

Inferolateralna pontinska arterija, grana *a. basilaris*, svojom trigeminalom granom pristupa odozdo ventralnom delu nerva. Davala je 1 - 2 gran ice za 18 (72%) trigeminalih nerava, pre nika 120 - 240 μm (prose no 180 μm).

A. cerebelli superior svojom trigeminalnom gran icom pre nika 210 - 230 μm (prose no 220 μm), samo u 3 (12%) slu aja u estvovala je u vaskularizaciji gornjeg dela korena trigeminusa.

Cisternalni segment V kranijalnog živca obi no dobija 2 do 5 trigeminalih gran ica iz neke od navedenih arterija (prose no 3,6), kalibra od 110 do 340 μm (prose no 220 μm).

Retki su istraživa i koji su u svojim nalazima detaljno opisali vaskularizaciju trigeminusa. Zbog nedostatka preciznih podataka u literaturi naše rezultate možemo da poredimo samo sa vrednostima jedne grupe autora (Marinkovi i sar., 1995; Rusu i sar., 2009; etkovi i sar., 2011). Podaci do kojih smo mi došli na našem materijalu i odnose se na poreklo i kalibre trigeminalih sudova, potvr uju rezultate navedenih autora uz minimalna odstupanja.

Analize funkcionalne organizacije vlakana u okviru korenog dela trigeminusa pokazuju da senzorna vlakna tri završna stabla ostaju na okupu i bez obzira na rotaciju zadržavaju topografsku lokalizaciju od ganglionu ka ponsu; oftalmi ki deo dorzomedijalno, maksilarni deo u sredini i mandibularni deo ventrolateralno (Gudmundsson i sar., 1971; Emmons i sar., 1971; Pelletier i sar., 1974; Stechison i sar., 1996; Hatayama, 2004). Naši rezultati o vaskularizaciji pojedinih delova korena trigeminusa mogu imati klini ki zna aj, jer i ovi krvni sudovi mogu da budu pogo ni aterosklerozom. Motorni koren trigeminusa je naj eš e vaskularizovan superolateralnom pontinskom arterijom, u 23 (92%) slu aja. Senzorni koren je

naj če je vaskularizovan trigeminalnim granama superolateralne pontinske arterije, u 23 (92%) slučajeva i granama prednje donje cerebelarne arterije, na 22 (88%) nerava. Oftalmički deo senzornog korena je naj če je, u 23 (92%) nerava, snabdeven granama superolateralne pontinske arterije, maksilarni deo granama superolateralne (72%) i inferolateralne pontinske arterije (72%), a mandibularni deo iz prednje donje cerebelarne arterije (88%).

Trigeminalne arterije prilaze trigeminalom živcu uz njegov proksimalni (parapontinski) i središnji deo. Opisali smo proksimalni i središnji nivo pristupa ovih sudova. Arterije proksimalnog nivoa vaskularizuju kako po etni deo nerva tako i pontinski deo korena živca sa motornim i senzornim pontinskim jedrom. Pristupaju trigeminusu uz samu površinu ponsa, i u svim slučajevima obuhvataju deo nerva koji ponire i daju fine grane centrifugalno i centripetalno koje prate nervne fascikulose (Duvernoy, 1978; Marinković i sar., 1995; Petković i sar., 2011). Anastomoze među granama trigeminalnih arterija postoje u svim slučajevima i to u proksimalnom nivou vaskularizacije. Arterije središnjeg nivoa daju fine grane trigeminalnih arterija koje se uzdižu sa površine ponsa i poprečno pružaju po središnjem delu živca. Njihove grane su usmerene distalno ka trigeminalnom ganglionu. Ovakav raspored najfinijih peritrigeminalnih krvnih sudova može da bude od velikog kliničkog značaja.

Neuralgija trigeminusa, oboljenje nerva koje prati oštar, površinski bol na licu u predelu inervacionog područja jedne ili više završnih grana ovog živca, je naj če je izazvana vaskularnom kompresijom korenog dela trigeminalog nerva arterijom ili venom većeg kalibra. U 70% slučajeva pogođena je samo jedna grana trigeminusa, naj če je n. maxillaris (52%), zatim n. mandibularis (39%), dok je područje inervacije dve grane zahvaćeno u 25% pacijenata (Bowsher, 1997). U svim slučajevima kompresije nerva susednim krvnim sudom na periferiji fascikulusa postoje zone demijelinizovanih nervnih vlakana (Lagares i sar., 2010). Do propadanja mijelinskog omotača centralnog porekla verovatno dolazi zbog oštećenja oligodendrocita i astrocita ili kao posledica oštećenja endoneurijumskih krvnih sudova i rezultirajuće ishemije nerva. (Bowsher, 1997; Love i sar., 1998; Broggi, 1999). S obzirom da se u korenom delu trigeminusa nalazi fina arterijska mreža (proksimalni nivo sudova), moguće je da ishemija nerva dolazi baš zbog kompresije na ove najtanje grane koje vaskularizuju centralni mijelin nerva. Tokom neurohirurškog pristupa nervu i hirurškog otvaranja njegovog arahnoidnog omotača (arahnoidna opna obavija, prijanja kao rukav i prati trigeminalni nerv) za održavanje integriteta nerva značajno je da se

sa uvaju krvni sudovi kako proksimalnog, tako i središnjeg nivoa (Sindou i sar., 2002; Kabatas i sar., 2009). Opisani su tako e slu ajevi trigeminalne neuralgije bez dijagnostikovanog neurovaskularnog kontakta (Revuelta i sar., 2006; Baechli i Gratzl 2007).

Nalazi jasno ukazuju da neuralgija trigeminusa povezana sa vaskularnom kompresijom nastaje zbog demijelinizacije (Lagares i sar., 2010; Guclu i sar., 2011). Vlakna bez mijelina ili sa istanjenim mijelinom su se uvek nalazila u korenom delu nerva, gde je mijelinizacija centralnog porekla (Peker i sar., 2006). Do propadanja mijelinskog omota a verovatno dolazi zbog ošte enja oligodendrocita i astrocita ili kao posledica ošte enja endoneurijumskih krvnih sudova i rezultiraju e ishemije nerva (Bowsher, 1997; Love i sar., 1998; Broggi, 1999, Marinkovi i sar., 2007; 2009). Eksperimentalne studije su pokazale da demijelinizovana nervna vlakna u bliskom kontaktu mogu da budu izvor ektopi nih nervnih impulsa, koji se spontano bo no šire i na susedna vlakna koja normalno ne bi bila stimulisana. Tako bi vlakna koja prenose taktilne impulse indukovala spontanu aktivnost vlakana koja prenose nociceptivne impulse (Smith i sar., 1980; 1982). Analizom uzoraka trigeminusa dobijenih rizotomijom kod pacijenata obolelih od multiple skleroze koji su patili od trigeminale neuralgije (u polovini slu ajeva uzrokovane vaskularnom kompresijom) tako e je na ena demijelinizacija u proksimalnom (centralnom) delu korena trigeminusa, uz dodatnu glijozu i razne stepene zapaljenja. Nalaz je pokazivao brojne nastavke astrocita koji se uvla e izme u i obavijaju demijelinizovane aksone ili grupe aksona u direktnom kontaktu (Broggi, 2000; Love i sar., 2001).

Mikromorfološke karakteristike arterija trigeminalnog gangliona

Trigeminalni ganglion vaskularizuju grane *a. carotis internae* i *a. meningea mediae* koje mu prilaze sa oftalmi ke i mandibularne strane (Milisavljevi i sar., 2003).

Inferolateralno stablo (ILS), grana intrakavernoznog segmenta *a. carotis internae*, u estvuje u vaskularizaciji medijalnog dela gangliona (Lasjaunias i sar., 1977; Willinsky i sar., 1987). ILS je najzna ajniji izvor arterijske vaskularizacije trigeminalnog gangliona. Odvaja se od središnjeg dela kavernoznog dela unutrašnje karotidne arterije u 92% slu ajeva kao jedna arterija a u 8% podeljeno na dve nezavisne arterije. Naj eš e se deli na dve završne grane, oftalmi ku i trigeminalnu.

Trigeminalna grana se podvla i pod ganglion. Od ILS odvajale su se 1 - 2 trigeminalne grane, kalibra 140 - 430 μm (prose no 260 μm).

Meningohipofizealno stablo (MHS), grana koja polazi u nivou po etne krivine intrakavernoznog segmenta *a. carotis internae*, svojom tentorijalnom granicom vaskularizuje i duralni pokriva ganglion, kroz koji tanki sudovi prilaze ganglionu odozgo (Bergmann, 1942; Krisht i sar., 1994). Splet paralelnih, tankih granica probija se izme u vezivnih vlakana dure i odozgo se spuštaju prema nervnom tkivu ganglion, što smo našim istraživanjem potvrdili.

A. meningeae media (AMM), stalna duralna arterija, u gotovo svim sluajevima, (92%), jednom do dve trigeminalne grane, prenika prose no 220 μm , vaskularizovala je mandibularni deo ganglion i okolnu duru. One se re e odvajaju direktno od AMM, ve naj eš e od njene petrozne granice (Montes i sar., 1989). Sve arterije koje pristupaju trigeminalnom ganglionu nastavljaju da se pružaju njegovom ventralnom stranom (Montes i sar., 1989; Krisht i sar., 1994). Navedeni autori isti u da se trigeminalne grane pružaju donjom stranom ganglion gde se anastomozuju sa malim sudovima koji tako e pristupaju ganglionu pošto u lobanju u u kroz *foramen ovale* i *rotundum*, kroz koje e ina e iz lobanje iza i mandibularna i maksilarna grana trigeminusa. Naši preparati su pokazali bogatu vaskularnu mrežu naro ito u perifernoj zoni ganglion, medijalno uz kavernozni sinus, lateralno uz spinozni otvor i stablo srednje moždane arterije, kao i po obodu uz po etne segmente tri velike grane trigeminusa. Periganglijska vaskularna mreža sastavljena od trigeminalnih granica i vena pratilja, okružena je duralnom kapsulom ganglion, od koje se izme u sudova provla e brojna vezivna vlakna, na putu ka tkivu ganglion.

Karakteristike intratrigeminalog vaskularnog sistema

Naši rezultati prouavanja arterija i arteriola u trigeminalnom nervu prakti no se poklapaju sa opisima grane cerebralnih sudova (Dahl, 1976; Peters i sar., 1976; Roggendorf i sar., 1976). Što se ti e patoloških promena, one se naj eš e manifestuju u vidu ateroskleroze (Kumar i sar., 2003). U ovom oboljenju promene najviše zahvataju subendotelni sloj, a naknadno endotelne elije i glatke mišine elije. Što se ti e krvnih sudova perifernih živaca, osim ateroskleroze, može da se pojavi amiloidoza, kao i razni oblici vaskulitisa (Schreder, 2001). U vezi samog

trigeminalnog nerva, karakteristična je pojava neurovaskularne kompresije njegovog korena sa poremećajem intratrigeminalne cirkulacije (Deevor i sar., 2001).

Endoneurijumski kapilari pružaju se longitudinalno duž živca, dakle paralelno sa aksonima. Isto tako, zalaze i transverzalno, formiraju i gracilnu mrežu oko grupica mijelinskih aksona. Pojedini kapilari iz ove mreže zalaze i u ove male grupe aksona. Ovi naši nalazi poklapaju se sa rezultatima drugih autora (Smoliar i sar., 1998). Što se tiče ultrastrukture, ključna činjenica jeste postojanje kontinuiranog endotelnog omotača sa tesnim spojevima (*tight junction*) kapilara i prekapilara. Ovo omogućuje postojanje pandana hemato-encefaloj barijeri u moždanom parenhimu. Hemato-neuralna barijera je od ključnog značaja za normalno funkcionisanje aksona perifernih živaca.

Mikrosudovi, naročito kapilari i prekapilari, perifernih živaca mogu da budu zahvaćeni mnogim oboljenjima metaboličkog, toksičkog, imunskog i inflamatornog karaktera (Schreder, 2001). Jedno od najčešćih oboljenja ovog tipa jeste dijabetes. Ovako nastale mikroangiopatije mogu da izazovu neuropatije, dakle funkcionalna ali i strukturna oštećenja perifernih živaca.

Detaljan opis intraganglijskog vaskularnog sistema je redak i sem pojedinih starijih proučavanja gotovo i da nema podataka. Opšte je prihvaćeno da su kapilari u samom trigeminalnom ganglionu spiralno izvijani i krivudavi sa povremenim kruškastim, ampularnim proširenjima (Bergmann, 1942). Naši prosvetljeni preparati gangliona, gde je prethodno u arterijski sistem injicirana mešavina tuša i želatina, jasno pokazuju brojnost i komplikovan izgled u prostoru tortuoznih kapilara. Međutim, nismo uočili bilo kakvu iregularnost kalibra kapilara. Mišljenja smo da preseki kroz ganglion i krivine kapilara, koje su brojne i iznenadne, daju privid širenja krvnog suda na mestu skretanja, a da stvarne promene u smislu ampularne dilatacije nema.

Ektopični i ganglijske nervne ćelije

Izmešteni ili ektopični neuroni trigeminalnog nerva opisani su kod oveka, majmuna, pacova, mačke i psa (Peters, 1935; Stibbl, 1939; Schmidek, 1968; Mira,

1971, 1972; Marinković i sar., 2010). Prema podacima većine navedenih autora, izmeštene, ektopične ganglijske ćelije bile su prisutne u svakom korenu trigeminalnog nerva (TN). Međutim, mi smo zapazili ove neurone u 26 TN (18 osoba), odnosno u 65% nerava ili 90% osoba. Kod 40% osoba izmešteni neuroni su uođeni kako na desnom tako i na levom TN, u 50% osoba bilo u desnom ili u levom TN, a kod 10% osobe nije bilo ektopičnih neurona u TN. Međutim u razlozima za ovu razliku u rezultatima navešćemo dve činjenice tehničke prirode. Prvo, mi smo TN odsecali u nivou duralnog porusa kroz koji prolazi, odnosno 2 mm medijalno od trigeminalnog ganglionu (TG), baš da bismo izbegli neurone smeštene u perifernim i bliskim delovima nerva u odnosu na TG. Drugo, mi nismo bili u mogućnosti da bojimo svaki od nekoliko hiljada rezova dobijenih od 40 proučavanjeh TN. To može da bude razlog ne otkrivanja izmeštenih neurona u nekim TN. S druge strane, vrlo pažljivo smo proučavali ili izmešćemo u 60 i 80 bojjenih rezova svakog TN. U isto vreme, u jednom slučaju analizirali smo 381 plodicu istog TN i ektopične neurone nismo pronašli ni na jednom mestu. Vrlo je moguće da izmešteni neuroni budu odsutni u nekim slučajevima. U svakom slučaju prisustvo ektopičnih trigeminalnih ganglijskih ćelija ođigledno je pre pravilo nego izuzetak.

Identifikovali smo 73 ektopične nervne ćelije, 21 malu, 48 srednje veličine i 4 velike. Najčešće smo nalazili izdvojene neurone, a retko male grupe od dve ili tri ćelije. Kako smo pokazali u našoj studiji izmešteni neuroni su bili prosečnog dijametra $27,2 \times 42,4 \mu\text{m}$ (od $12,3 \times 25,1 \mu\text{m}$ i $45,1 \times 66,7 \mu\text{m}$) (tabela 6). Neki od autora (Mira, 1972) navode sličnu prosečnu veličinu ($25 \times 47 \mu\text{m}$), ali takođe i prosečne vrednosti od $48 \times 65 \mu\text{m}$ (Mira i sar., 1971). Prosečna površina ektopičnih neurona u našoj studiji bila je $944,6 \pm 434,8 \mu\text{m}^2$ (od $247 - 2256 \mu\text{m}^2$). Površina ganglijskih ćelija, na primer u trigeminalnom ganglionu pacova (Ichikawa i sar., 1997), kretala se između 207 i $2774 \mu\text{m}^2$.

Razlika u veličini ektopičnih ćelija objašnjava se već postojećim razlikama ganglijskih ćelija trigeminalnog ganglionu koje su podeljene u tri grupe (Lazarov, 2002; Hanani, 2005). Prvoj grupi pripadaju veliki svetli (A) neuroni, veličine $50-80 \mu\text{m}$, sa mijelinizovanim aksonima tipa A α i A β koji polaze iz mehanoreceptora u predelu lica. U drugoj grupi su srednje ćelije veličine $30-50 \mu\text{m}$. Najzad, trećoj grupi pripadaju mali tamni (B) neuroni dimenzija $20-30 \mu\text{m}$. Njihovi aksoni, koji predstavljaju A δ i mijelinska C vlakna, odgovorna su za transmisiju nociceptivnih

senzacija. Svi ganglijski neuroni u potpunosti su okruženi satelitskim glijalnim elijama, tako da nemaju sianpsne kontakte (Cherkas i sar., 2004; Hanani, 2005).

Svaki izmešteni neuron bio je okružen sa naj eš e jednim a retko dva ili tri koncentri no pore ana sloja satelitskih elije. Dva ili tri sloja satelitskih elije vi aju se tokom proliferacije ovih elija kao posledica aksotomije. Tada se tako e pove ava i broj pukotinastih spojeva izme u satelitskih elija (Hanani, 2005).

Ektopi ni neuroni su naj eš e locirani u distalnoj tre ini intrakranijalnog dela trigeminalnog nerva, u 49,3% nerava, nešto re e u srednjoj tre ini nerva, u 31,5% nerava, a najre e u proksimalnoj tre ini, u 19,2% nerava, sve do glijalne granice prema centralnom mijelinu. Glijalna barijera koja odvaja dva u potpunosti razli ita dela nerva je krajnja granica do koje dopiru ektopi ne ganglijske elije i kroz koju ne mogu da pro u, pa pošto ih nema u centralnom delu nerva to je još jedna potvrda da migriraju iz trigeminalnog gangliona, a ne iz moždanopg stabla prema njemu.

Da bismo odredili prirodu ektopi nih neurona uporedili smo ih sa ganglijskim elijama trigeminalnog gangliona (TG) i mezencefali kog jedra trigeminusa (MJT). Ganglijske elije u samom trigeminalom ganglionu su ovalne, njihovo jedro gotovo po pravilu ima centralnu poziciju i okružene su satelitskim elijama. Ve ina elija je embrionalno bipolarnog karaktera, dok su elije odraslog uglavnom pseudounipolarnog izgleda (Scott i Atkinson, 1999). Ganglijske elije MJT uglavnom predstavljaju velike ovalne neurone sa ekscentri no postavljenim jedrima i bez satelitskih elija. Same elije MJT su me usobno povezane pukotinastim spojevima (Lazarov, 2002; Pose i sar., 2003).

Ako sa podacima o ganglijskim elijama (Peters, 1935; Stibbe, 1939; Schmidek, 1968; Mira, 1971; 1972) uporedimo osobine naših ektopi nih neurona u korenu trigeminusa, jasno je da su ovi neuroni srednje do velike ovalne elije koje mogu da pripadaju bilo kojoj od ove dve grupe elija, TG ili MJT. Me utim, na osnovu centralnog položaja njihovog jedra i prisustva satelitskih elija, one o igledno odgovaraju ganglijskim elijama trigeminalnog gangliona.

Da bismo potvrdili naše morfološke opservacije izvršili smo imunohistohemijsku analizu kako ektopi nih ganglijskih elija tako i ganglijskih elija TG. Nijedan od autora koji su konstatovali prisustvo ektopi nih neurona u korenu trigeminusa ovakvu analizu nije prikazao (Peters, 1935; Stibbe, 1939; Schmidek, 1968; Mira, 1971, 1972). U okviru imunohistohemijskog istraživanja ispitali smo prisustvo pojedinih neuronskih proteina, odgovaraju ih neuropeptida,

biogenih amina, kao i nekih neurotransmitera. Osnovni cilj je bio da i imunohistohemijski i morfometrijski, a ne samo morfološki, potvrdimo da ektopi ne ganglijske elije predstavljaju senzorne neurone (Zigmond i sar., 1999; Lazarov, 2002; Chan i Lowe, 2002; Marinkovi i sar., 2010).

Primenom pan-neuronskih markera najpre smo potvrdili nervnu prirodu izmeštenih neurona TN, kao i ganglijskih elija TG. U tu svrhu primenjeno je IHH bojenje na NSE, PGP9.5, Sy i NFP

NSE je proteinski enzim tipa enolaza koji ima tri subjedinice (Chan i Lowe, 2002). U neuronima se nalazi samo gama-subjedinica NSE. Imunska reakcija na NSE bila je pozitivna, ali različitog intenziteta u svim ektopi nim i ganglijskim neuronima. U literaturi nismo našli podatke o NSE u elijama trigeminalnog gangliona.

PGP9.5 je jedan od glavnih proteina mozga. Njegova tkivna distribucija paralelna je sa drugim neuronskim markerom, neuron-specifičnom enolazom (NSE) (Hamzeh i sar, 2000). Ekspimirao se u mnogim trigeminalnim neuronima. Međutim, neke elije nisu pokazivale PGP9.5 imunoreaktivnost.

Sy predstavlja glikoprotein zida presinapsnih vezikula (Zigmond i sar., 1999). Pošto se sinaptofizin, kao i ostali proteini i polipeptidi, sintetizuje na ribozomima perikariona, slaba, umerena do jaka imunska reakcija je pozitivna i u telu neurona, a ne samo u aksonskim terminalima. Sintetizuje se u TG neuronima i transportuje aksonima do završetaka u trigeminalnim jedrima medule. Antitela su reagovala sa Sy u svim ektopi nim i ganglijskim neuronima.

NFP je protein citoskeleta neurona, najviše neurofilamenata, koji su značajni strukturni elementi nervnih elija. Neurofilamenti se sastoje od tri glavna polipeptida, označena kao neurofilamentni triplet ili subjedinice, sa molekulskim težinama od 200, 160 i 68 kDa. Prisustvo fosforilisanе forme 200 kDa subjedinice neurofilamenata je osnova za diskriminaciju dva tipa ganglijskih elija trigeminusa, velikih svetlih (VS) (koje sadrže i fosforilisanu i nefosforilisanu formu 200 kDa) i malih tamnih (MT) nociceptivnih elija (koje sadrže samo nefosforilisanu formu 200 kDa) (Rusu i sar., 2011). NFP je marker za neurone ali i njihove produžetke, naročito aksone. U našoj studiji imunska reakcija je bila izraženo pozitivna u svim ektopi nim i ganglijskim neuronima, kao i u svim aksonima trigeminusa, osim u MT elijama, gde je zbog nedostatka 200 kDa subjedinice, imunska reakcija bila slaba do umerena po primeni specifičnih antitela RT97, pa se zbog toga ove elije označavaju kao NF-siromašne (nociceptivne), za razliku od VS elija koje se označavaju kao NF-bogate.

Od glavnih proteina nervnih elija vršili smo i imunsku reakciju na S-100 protein, iako se on nalazi i u glija elijama, te nije specifičan samo za neurone (Ichikawa i sar., 1997; Hanani, 2005).

Za identifikaciju neuropeptida/biogenih amina, primenjeno je IHH bojenje na CGRP, supstancu P (SP), serotonin (Ser), somatostatin (SST), holecistokinin (CCK), vazoaktivni intestinalni polipeptid (VIP), neuropeptid Y (NPY) i bombesin (Bom) (tabela 11).

CGRP je polipeptid koji se nalazi u mnogim neuronima centralnog i perifernog nervnog sistema. CGRP postoji u 35-50% neurona trigeminalnog gangliona (Quartu i sar., 1992; Del Fiacco i sar. 1994; Lazarov, 2002; Marinkovi i sar., 2010). Mi smo ovaj polipeptid registrovali u 24,14% ektonih neurona (tabela 11) i 37,5% neurona ganglion (tabela 12). CGRP imunopozitivne elije pokazivale su intenzivnu reaktivnost. Inače, CGRP ima ekscitatorni efekat na neurone u trigeminalnom ganglionu (TG), odnosno dovodi do depolarizacije ganglijskih elija (Lazarov, 2002). CGRP ima veliku ulogu, između ostalog, u interneuronskoj nesinaptičkoj interakciji, trigemino-vaskularnom sistemu mozga, u razvoju migrene, kao i neuralgiji trigeminusa (Edvinsson i sar., 1998; Cady i sar., 2011; Messlinger i sar., 2011). Uo ili smo koegzistiranje CGRP i SST, kao i sa SP, u 14,8% slučajeva.

CCK se nalazi u mnogim neuronima, naročito njegov oblik CCK-8. Što se tiče trigeminalnog gangliona, CCK je zapažen i u velikim i u malim elijama (Del Fiacco i Quartu, 1994; Lazarov, 2002). Mi smo ga registrovali u 13,79% ektonih neurona i 7,3% ganglijskih elija, a elije su pokazivale intenzivnu imunoreaktivnost. CCK isto koegzistira sa drugim neuropeptidima (Lazarov, 2002). Inače, CCK je potencijalni neurotransmiter.

SST takođe ima ulogu i neurotransmitera i neuromodulatora. Somatostatin se nalazi samo u 8% ganglijskih elija trigeminusa. (Del Fiacco i Quartu, 1994; Lazarov, 2002). Mi smo ga zapazili u 17,24% ektonih neurona i 9,1% ganglijskih. SST imunopozitivne elije pokazivale su intenzivnu reaktivnost. Za imunsku reakciju je karakteristično da se ne odvija homogeno u perikarionu. Zapravo, precipitati nastaju u predelu Goldži aparata (Lazarov, 2002). SST, kao inhibitorni neuropeptid, može da spreči oslobađanje supstance P iz presinapsnih zadebljanja.

SP je takođe i neurotransmiter i neuromodulator. Imunska reakcija u perikarionu kreće se od slabe do intenzivne, a najčešće je umerena (Ng i sar., 1993), verovatno zbog upotrebe poliklonskih antitela. Supstanca P nalazi se u oko 17%

ganglijskih elija trigeminusa (Del Fiacco i sar., 1990; Lazarov, 2002). SP neuroni su malih dimenzija, što najverovatnije znači da njihovi aksoni pripadaju amijelinskim C vlaknima i tankim mijelinskim A vlaknima, ali grupi SP neurona pripadaju i oni veći ih perikariona aksona tipa A. Ovi aksoni su odgovorni za prenos nociceptivnih senzacija. SP-ergički neuroni TG takođe sadrže adenozične (A_1) receptore i ATP (P_2) receptore, koji takođe igraju ulogu u nocicepciji (Del Fiacco i sar., 1990; Lazarov, 2002; Weick i sar., 2003). Na oslobađanje SP iz vezikula može da utiče i somatostatin, kao i histamin iz mastocita trigeminalnog gangliona (Lazarov, 2002). Dok SST vrši inhibiciju oslobađanja SP, histamin stimuliše njeno oslobađanje (Tani i sar., 1990). Lezijom aksona ganglijskih elija drastično se smanjuje količina SP. Mi smo registrovali supstancu P u 15,52% ektopičnih neurona i 15,4% ganglijskih elija, a elije su pokazivale umerenu imunoreaktivnost. Inače, SP često koegzistira ili kolokalizuje sa određenim neurotransmiterima i neuropeptidima, često sa CGRP, CCK, SST, galanin, neurokinin A, enkefalini (Del Fiacco i Quartu, 1994; Lazarov, 2002)

Kolokalizacija predstavlja postojanje neurotransmitera i neuropeptida ili, pak, dva ili više neuropeptida u istim presinapsnim vezikulama (Zigmond i sar., 1999). Koegzistencija označava prisustvo dve ili više navednih supstanci u presinapsnom zadebljanju aksona, ali u različitim vezikulama. Inače, SP najčešće koegzistira sa CGRP, a u nekim ganglijskim neuronima i sa CCK, galaninom, neurokininom A i nekim drugim neuropeptidima (Del Fiacco i Quartu, 1994; Lazarov, 2002). U ektopičnim neuronima uočeno ili smo koegzistenciju SP i NPY, što do sada, prema našim saznanjima, nije spomenuto u literaturi.

VIP se nalazi u 10-12% ganglijskih neurona trigeminalnog gangliona (Lazarov, 2002). U ektopičnim neuronima trigeminusa VIP smo registrovali samo u 8,62%, a imunska reakcija je bila slaba (tabela 11), dok je procenat zastupljenosti u ganglijskim elijama veći, 9,7% (tabela 12).

NPY je peptid karakterističan za simpatičke neurone, dok mu je koncentracija u senzornim ganglionima vrlo mala (Fristad i sar., 1996; Lazarov, 2002; Gehlert, 2004). Ima ga u manje od 1% elija u trigeminalnom ganglionu, gde je prisutan u većim ganglijskim elijama. Međutim, u ektopičnim neuronima mi smo registrovali neuropeptid Y u velikom procentu, 10,34%, dok ga u ganglijskim elijama gangliona nije bilo. NPY imunopozitivne ektopične elije pokazivale su intenzivnu reaktivnost.

Interesantno je da u slučaju oštećenja aksona ganglijskih neurona nastaje povećanje sinteze NPY (Wakisaka i sar., 1993; Fristad i sar., 1996).

Bom se nalazi u pojedinim neuronima centralnog i perifernog nervnog sistema. Međutim, imunska reakcija na Bom bila je negativna kako u ektopičnim neuronima trigeminusa tako i u ganglijskim elijama.

Od neurotransmitera, osim spomenutih SP, SST i CCK, ispitali smo serotonin (Ser). Ovaj klasični neurotransmiter nalazi se u elijama *nuclei raphes* moždanog stabla, kao i u pojedinim perifernim neuronima (Carpenter, 1991; Zigmond i sar., 1999). Međutim, Ser ne postoji u ganglijskim elijama trigeminusa, kao ni bilo koji drugi monoamin neurotransmiter (Lazarov, 2002). Ove elije imaju, zapravo, samo serotoninergičke receptore (5-HT_{1R} i 5-HT_{3R}). Trigeminalne ganglijske elije sintetiziraju glutamate i GABA. S druge strane, mi smo uočili umerenu imunsku reakciju na Ser u 10,34% ektopičnih neurona (tabela 11).

Prisustvo c-kit/CD117 pozitivnih ganglijskih elija u trigeminalnom ganglionu je prikazano, a u našim istraživanjima u ganglionu je registrovano 15,4% imunopozitivnih ganglijskih elija, 2 male i 48 reaktivnih elija srednje veličine, slabe do umerene c-kit imunoreaktivnosti (Rusu i sar., 2011). Ovaj marker je povezan sa nocicepcijom, naročito u akutnom bolu i ekspresiraju ga male i srednje trigeminalne elije, što smo potvrdili (Sun i sar., 2009). Kako su nociceptivne elije trigeminalnog ganglionu male i u isto vreme NF-siromašne, pokazali smo imunskom reakcijom da su one i c-kit pozitivne, što omogućava njihovu identifikaciju (Rusu i sar., 2011).

Ako se uporede imunohistohemijske karakteristike ektopičnih neurona trigeminalnog nerva i elija u trigeminalnom ganglionu, zapaža se velika sličnost, ali i određene razlike. Naime, oigledno je da i jedna i druga vrsta neurona sadrže iste sekretorne produkte: CGRP, NFP, Sy, CCK, SST, SP, VIP i NPY. S druge strane, veći procenat ganglijskih elija TG sadrži CGRP i VIP, dok je obrnuta situacija u vezi sa CCK, NPY, Ser i SST. Što se tiče ganglijskih elija mezencefalnog jedra trigeminusa, one u normalnim okolnostima kod sisara ne sintetiziraju neuropeptide (Lazarov, 2002). U okviru klasičnih neurotransmitera, u ganglijskim elijama TG nalaze se ekscitatorna aminokiselina glutamat (Glu) i inhibitorna gama-aminobuterna kiselina (GABA) (Lazarov, 2002). Od monoaminskih neurotransmitera, uključujući i serotonin, nijedan nije registrovan. S druge strane, mi smo dokazali prisustvo Ser u ektopičnim neuronima. Oigledno je da ektopične ganglijske elije po svim kriterijumima odgovaraju ganglijskim elijama trigeminalnog ganglionu, a ne MJT.

Morfometrijska analiza obuhvatila je merenja pre nika jedara, ektopi nih neurona i ganglijskih elija, kao i njihovih površina. Grupe preparata ektopi nih i ganglijskih elija, CGRP, CCK, SST, SP i VIP, su formirane s obzirom na imunoreaktivnost. Sva naša merenja obavljena su samo na presecima elija sa vidljivim jedrom i jedarcem, što je i najširi deo elije (Palmer i Holland, 1988). Statisti ka analiza podataka naših merenja sažetih u tabelama (tabele 13-27) pokazala je da postoji visoko statisti ki zna ajna razlika u prose noj vrednosti površine ganglijskog neurona izme u ispitivanih grupa ($F=27,657$; $p<0,001$), kao i u prose noj vrednosti površine elije ektopi nog neurona izme u ispitivanih grupa ($F= 11,080$; $p<0,001$), što u celini govori o razli itim elijskim grupama. Isto se odnosi i na prose ne vrednosti površina jedara ispitivanih grupa ektopi nih i ganglijskih elija. Tako e smo zaklju ili da ne postoji statisti ki zna ajna razlika u prose noj površini elije, odnosno jedra izme u ganglijskog i ektopi nog neurona, u svim grupama ($p>0,05$), odnosno da postoji visoko statisti ki zna ajna povezanost izme u vrednosti površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona u svim grupama ($p<0,001$). Ovaj zaklju ak je potvrda statisti ke analize koja je pokazala da ektopi ne i ganglijske elije imaju potpuno identi ne merne karakteristike po ispitivanim grupama.

Da bismo objasnili postojanje ektopi nih neurona sa embrionalnog aspekta, izneli smo pretpostavku da pojava ektopi nih neurona u TN predstavlja posledicu “hipermigracije” elija trigeminalog ganglion.

Prekursori ganglijskih elija TG vode poreklo iz trigeminalnog dela nervnog grebena (uglavnom iz 1. i 2. rombomere), kao i iz bliske neurogene trigeminale plakode, koja ima dva dela: maksilo-mandibularni i oftalmi ki (Begbie and Graham, 2001; Barlow, 2002; McCabe i sar., 2004; Streit, 2004; O’Rahilly i sar., 2007). elije iz navedenih lokacija po inju da migriraju zahvaljuju i integrinima, tj. elijskim receptorima za laminin i fibronektin u ekstracelularnom matriksu. Migracija, kao i diferenciranje prekursori kih elija u ganglijske elije, vrši se pod uticajem odre enih faktora rasta: neurotrofnog faktora poreklom iz mozga (brain-derived neurotrophic factor - BDNF), faktora rasta nerava (nerve growth factor - NGF), neurotrofnog faktora 3 (NT-3) i 4/5 (NT-4/5) (Ozdinler i sar., 2004). Za ove procese neophodni su i receptori tirozin kinaze (Trk). Proneuralni faktor transkripcije neurogenin I je klju ni regulator razvoja senzornih neurona. Tokom razvoja neuroni uti u na diferencijaciju glijalnih elija. Dvosmerna neuron-glija interakcija je presudna za normalan razvoj trigeminalnih neurona, satelitskih i Švanovih elija (Durham i Garrett, 2010).

Nakon završene migracije, elije se grupišu u svoje ganglione ekspresijom adhezivnih molekula superfamilija imunoglobulina G i katherina (Zigmond i sar., 1999). Opstanak ganglijskih elija direktno zavisi od spomenutih neurotrofina, naro ito od BDNF, NT-3 i NT-4/5 (Streit, 2004). Mada su neke od njih pseudounipolarne elije (za deo *n. maxillaris-a*), ve ina pripada bipolarnim neuronima sa perifernim i centralnim produžetkom. Periferni produžetak izdužuje se prema perifernom ciljnom regionu, tj. prema podru ju lica. Elongaciju centralnog produžetka, koji raste u suprotnom smeru, izaziva NGF (Ozdinler i sar., 2004). Ovi centralni aksoni ubrzo ulaze u moždano stablo, gde formiraju *tractus n. trigemini* (Erzurumlu i sar., 1995).

Na osnovu embrioloških razmatranja o igledne su dve injenice. Prvo, da se ganglijske elije u trigeminalom ganglionu grupišu nezavisno od signala iz ciljnog tkiva, kako iz perifernog (u predelu lica) tako i iz centralnog, tj. iz moždanog stabla (Scott i Atkinson, 1999). Dakle, tek nakon grupisanja ganglijskih elija dolazi do intenzivnije elongacije perifernog i centralnog produžetka elija i uspostavljanja kontakta sa ciljnim tkivom. Drugo, agregaciju elija i formiranje trigeminalog gangliona omogu uje ekspresija adhezivnih molekula (Zigmond i sar., 1999). Prema tome, u slu aju ektopi nih neurona verovatno je u pitanju slabija ekspresija adhezivnih molekula pojedinih ganglijskih elija, zbog ega one nastavljaju migraciju u koren trigeminusa. Neurotrofini i njihovi Trk receptori mogu tako e da igraju ulogu u ovoj produženoj migraciji. Naime, zbog estog prisustva ektopi nih neurona u stablu humanog trigeminusa, mogu e je da se radi o genetskoj predeterminaciji njihovog položaja u nervu (Mira i sar., 1971; Mira 1972).

Ganglijske elije mezencefalnog trigeminalog jedra (MJT), koje su pseudounipolarnog tipa, poti u isklju ivo od nervnog grebena (Lazarov, 2002). Periferni produžeci ovih elija rastu duž korena trigeminalog živca da bi došli do ciljnog tkiva, tj. do odgovaraju ih mastikatornih i ekstraokularnih miši a, pulpe zuba i periodoncijuma (Scott i Atkinson, 1999; Lazarov, 2002). Proprioceptivna vlakna za ove miši e i za pulpu pružaju se duž motornog dela korena trigeminusa, a vlakna za periodoncijum prolaze ili kroz motorni ili senzorni deo korena. S druge strane, centralni produžeci, zajedno sa telima ganglijskih elija MJT, ulaze u moždano stablo, gde bifurkacijom daju dva snopa: ushodni *tractus mesencephalicus* i nishodni Probstov trakt. Ina e, ganglijske elije MJT uglavnom predstavljaju velike ovalne

neurone sa ekscentrično postavljenim jedrima i bez satelitskih elija (Lazarov, 2002; Pose i sar., 2003).

Na osnovu histohemijskih i morfoloških ispitivanja jasno je da su ektopi ni neuroni u korenu trigeminusa mnogo sličniji elijama trigeminalnog gangliona nego elijama mezencefala i drugih jezdra. Ektopi ni neuroni mogu da pripadaju svim tri kategorije elija TG. Od 73 otkrivenih i analiziranih elija, poštujemo i prihvaćamo njihovu klasifikaciju, izdvajamo 21 malu, 48 srednjih i 4 velike ektope ne nervne elije. Prema tome, aksoni ektope nih neurona mogu da se svrstaju u grupu A₁ i A₂, kao i A₁ i C vlakana. Periferni produžeci ektope nih neurona prve grupe verovatno polaze iz mehanoreceptora lica. U neuronima druge grupe ustanovili smo prisustvo, između ostalog, supstance P i CGRP, koji su direktno uključeni u nociceptivni sistem (Lazarov, 2002; Hanani, 2005; Marinković i sar., 2010).

Uzimajući u obzir sve navedene morfološke, morfometrijske i biohemijske sličnosti, naš definitivni zaključak jeste da ektopi ni neuroni u trigeminalnom nervu predstavljaju hiperaktivne elije iz trigeminalnog gangliona.

Što se tiče potencijalnog patofiziološkog značaja ektope nih neurona, najinteresantnije je razmatranje u kontekstu neuralgije trigeminusa. U osoba s ovim oboljenjem zapažen je neurovaskularni kontakt, odnosno kompresija senzornog dela korena trigeminusa od strane *a. cerebelli superior* ili *a. cerebelli inferior anterior*, odnosno njihovih većih grana, kao i odgovarajućih okolnih vena (Love i Coakham, 2001; Deevor i Rappaport, 2002; Choudhari, 2007). Mi smo u našoj studiji zapazili pojedine ektope ne neurone senzornog dela korena u neposrednoj blizini većih ekstratrigeminalnih sudova. Neki od tih neurona pokazivali su imunoreaktivnost na SP i CGRP, što ukazuje na to da verovatno pripadaju nociceptivnom sistemu trigeminusa (Marinković i sar., 2010). Upravo je poremećaj ovog sistema odgovoran za pojavu intenzivnog bola u osoba s neuralgijom koji ne reaguje na analgetike.

Poremećaj se sastoji u ektope koj transmisiji električnih impulsa između demijelinizovanih aksona na mestu kompresije, zatim u spontanoj pojavi električnih impulsa i dugotrajnom naknadnom pražnjenju senzornih neurona trigeminusa (Love i Coakham, 2001; Deevor i Rappaport, 2002; Burchiel i Baumann, 2004; Marinković i sar., 2009).

U osoba s neuralgijom trigeminusa koja je rezistentna na medikamentozni tretman postoji mogućnost primene neurohirurških procedura. Perkutane tehnike usmerene na trigeminalni ganglion su destruktivne i uključuju radiofrekventnu

termokoagulaciju, balon kompresiju i perkutanu rizolizu glicerolom. Ove procedure u velikom procentu dovode do oslobađanja od bola, ali je glavni neželjeni rezultat gubitak senzibiliteta. Hirurgija gama nožem, odnosno korišćenje usmerenog i fokusiranog zraka radijacije, pored senzornih komplikacija ima i problem sa visokom cenom korišćenja. Nedestruktivna neurohirurgija je mikrovaskularna dekompresija korena živca, tj. odvajanje i izolovanje strukture, bilo tumora, dela arahnoidne ili krvnog suda koji vrši kompresiju nerva (Brisman 2006; Baechli i sar., 2007; Oberman, 2010, Skarp i sar., 2010). U većine pacijenata ova procedura dovodi do izlječenja. Međutim, u nekoliko procenata bolesnika vraćaju se neuropatski bol. Ukoliko ektopi ni neuroni imaju ulogu u neuralgiji, rekurentni simptomi mogli bi da se objasne prisustvom ektopičnih neurona u motornom delu živca koji ostaje intaktan nakon rizotomije senzornog dela nerva. Interesantno je da eksperimentalni podaci pokazuju da pojava neuropatskog bola može da nastane i nakon lezije motornih aksona (Hanani, 2005).

Ektopični neuroni i njihove satelitske ćelije mogu, bar teoretski, da doprinesu razvoju patogeneze trigeminalne neuralgije jer sadrže, međutim u ostalim, SP i CGRP, neuropeptide uključene u nociceptivni sistem. Osim moguće uloge ektopičnih neurona u neuropatskom bolu, postoji i velika mogućnost uloge i satelitskih ćelija. Satelitske ćelije kontinuirano obavijaju nervne ćelije u ganglionu, kao i ektopične neurone koje smo evidentirali u korenu trigeminusa. Satelitske ćelije međusobno povezuje pukotinasti spoj (*gap junction*). Ovi spojevi su intercelularni kanali koji omogućavaju direktnu električnu i biohemijsku komunikaciju između ćelija. Broj ovih spojeva povećava se svak pet puta nakon oštećenja aksona ganglijskih ćelija (Cherkas i sar., 2004; Jasmin i sar., 2010). Kontinuirani sloj S₁₀₀ štiti neurone i održava homeostazu u njihovoj mikrosredini, što odgovara nekoj vrsti krvno moždane barijere. To može da bude od posebnog značaja jer podaci ukazuju da IgG difunduje u perivaskularni parenhim spinalnih gangliona, gde ne postoji restriktivna krvno moždana barijera, što može da znači da su kapilari i trigeminalnog ganglion fenestrirani (Azzi i sar., 1990). Zbog toga neke toksične supstance, npr. jedinjenja žive, ne dopiru do neurona jer te supstance preuzimaju S₁₀₀. Slično, S₁₀₀ preuzimaju oko neurona K⁺ jone, kao i GABA i glutamat, koji se zatim mogu hemijski promeniti. Tako, S₁₀₀ pretvaraju glutamat u glutamin jer sadrže glutamin sintetazu, koja je specifični marker satelitskih ćelija (Hanani, 2004). Protektivna uloga S₁₀₀ ogleda se i u ulogu pojedinih neurotrofina (npr. BDNF), koji pomažu preživljavanje ganglijskih

neurona. Tako e, S lu e i protektivni citokin (eritropoetin) koji smanjuje frekvencu apoptoze ganglijskih elija. S imaju leukocitni fenotip, sa karakteristikama makrofaga tako da kontrolišu lokalne virus specifi ne T elije i štite ganglijske elije inficirane herpes virusom od ošte enja, kao i neinficirane elije od infekcije (Velzen i sar., 2009).

Bliski odnosi izme u satelitskih i ganglijskih elija omogu uju i njihovu me usobnu komunikaciju preko pukotinastih spojeva i parakrine signalizacije. Jedan od glavnih mesindžera u toj komunikaciji jeste azot oksid (NO) (Hanani, 2004). Osloba anje CGRP (SP i ATP) iz ganglijskih elija u ganglionu je signal koji pove ava njegovu sintezu i dalje osloba anje. To dovodi do ekscitacije S i iz njih osloba anja molekula inflamacije, citokina i NO, što dovodi do senzitivizacije i aktivacije neurona. Tako aktivacija neurona i S u jednom delu trigeminalnog ganglionu izaziva inflamatornu kaskadu koja uklju uje druge neurone i S (Durham i sar., 2010; Villa i sar., 2010).

Satelitske elije imaju veliki broj razli itih receptora za koje se, izme u ostalog, vezuju razne supstance sa nociceptivnim efektom. Zato se smatra da S imaju ulogu u genezi neuropatskog bola u raznim oboljenjima, a verovatno i u neuralgiji trigeminusa (Cherkas i sar., 2004; Villa i sar., 2010). Ulogu u ovom domenu imaju i citokini, prostaglandini i pojedini faktori rasta (BDNF) koje lu e satelitske elije. Zahvaljuju i svemu navedenom, S vrše senzitivizaciju ganglijskih neurona, što dovodi do njihove spontane elektri ne aktivnosti (Hanani, 2004; Suadicani i sar., 2010).

U samom trigeminalnom nervu mastocite smo retko nalazili, uvek u blizini krvnih sudova, a izuzetno retko u centralnom segmentu nerva. Prose an broj mastocita po kvadratnom milimetru preparata ganglionu iznosio je 1,3, a kretao se od 0 do 6 elija. Imunoreaktivnost mastocita bila je intenzivna. Prisustvo mastocita smo registrovali u blizini stabla i grana, kao i u adventiciji srednje moždani ne arterije i vena i u slojevima duralnog pokriva a. Prose an broj mastocita po kvadratnom milimetru preparata dure sa srednjim moždani nim sudovima iznosio je 6,8, a kretao se od 5 do 8 elija. Nismo uo ili da je distribucija mastocita vezana za blizinu senzornih nervnih vlakana, što je u saglasnosti sa drugim nalazima (Strassman i sar., 2004). Najviše mastocita je na eno u perifernoj zoni ganglionu, medijalno uz kavernozni sinus, lateralno uz spinozni otvor i stablo srednje moždani ne arterije, kao i po obodu uz po etne segmente tri velike grane trigeminusa, gde je i vaskularna

mreža gangliona najrazvijenija. U ovom predelu postojalo je od 7 do 14 mastocita, prosečno 11,4 po kvadratnom milimetru površine preseka. Mastocite obično nalazimo u dobro vaskularizovanim i inervisanim tkivima, posebno u blizini graničnih predela spoljašnje i unutrašnje sredine. Dura mater je intrakranijalna struktura bogato inervisana nociceptivnim vlaknima u kojoj uz krvne sudove nalazimo i brojne mastocite. Aktivisana meningealna nociceptivna vlakna oslobađaju neuropeptide, kao što su SP i CGRP, koji pokreću arterijsku vazodilataciju, ekstravazaciju plazme i degranulaciju duralnih mastocita što izaziva proces označen kao neurogena inflamacija (Levy i sar., 2007; Messlinger i sar., 2011).

ZAKLJU CI

Na osnovu rezultata našeg istraživanja zaključujemo da:

- Petrozna vena je bila u neposrednom kontaktu sa trigeminalnim nervom u 24% slučajeva, a još u 8% prolazila je kroz sam nerv; gornja cerebelarna arterija je dodirivala nerv u 8% slučajeva svojim stablom, a u 12% svojom spoljašnjom završnom granom; prednja donja cerebelarna arterija u 12% slučajeva prislanjala se uz donji deo ventralne strane trigeminalnog nerva.
- Stablo trigeminusa dobijalo je vaskularizaciju od odgovarajućih dugih pontinskih grana i cerebelarnih grana bazilarne arterije: od superolateralne pontinske arterije (92% nerava), inferolateralne pontinske arterije (72%), gornje cerebelarne arterije (12%) i prednje donje cerebelarne arterije (88%).
- Nerv je vaskularizovalo 2 do 5 trigeminalnih granica iz neke od navedenih arterija za pons (prosečno 3,6), pre nika od 110 do 340 μm (prosečno 220 μm).
- Motorni koren trigeminusa najčešće je vaskularizovala superolateralna pontinska arterija (92%), dok su ostali sudovi uostvovali u 8% nerava.
- Senzorni koren trigeminusa najčešće su snabdevale krvlju takođe superolateralna pontinska arterija (92%) i grane prednje donje cerebelarne arterije (88% nerava).
- Između trigeminalnih arterija i njihovih ogranaka postojale su anastomoze, prosečno 2,3 po živcu, pre nika 60-140 μm (prosečno 120 μm).
- Ganglion trigeminusa na svim preparatima vaskularizuju granice inferolateralnog stabla i meningohipofizealnog stabla unutrašnje karotidne arterije, kao i trigeminalna grana srednje moždane arterije, u 92% slučajeva, pre nika 90 - 430 μm (prosečno 220 μm).

- Intratrigeminalni kapilari formirali su u nervnim fascikulusima gracilnu mrežu oko pojedinih fascikulusa aksona. Od mreže su se odvajali kapilari za grupice aksona.
- Kapilari trigeminalnog gangliona su izuvijanog toka i u potpunosti okružuju ganglijske elije.
- Ektopi ni ganglijski neuroni postojali su u 65% korenova trigeminusa. Identifikovali smo 73 ektopi ne nervne elije, 21 malu, 48 srednje veličine i 4 velike.
- Prosečna vrednost prečnika ovih ovalnih elija iznosila je $27,2 \times 42,4 \mu\text{m}$, a njihove površine $944,6 \mu\text{m}^2$. Neuroni su postojali samo u senzornom (32,5%) ili u motornom korenu (22,5%), kao i u oba korena istovremeno (10%). Ektopi ni neuroni najčešće su se nalazili u oftalmičkom delu (45,3%) senzornog korena. Ektopi ni neuroni najčešće su bili prisutni unutar nervnih fascikulusa (43,8%). Svaki neuron je bio okružen sa prosečno 6,23 satelitskih elija po preseku, najčešće poređanih u jednom sloju.
- Primenom pan-neuronskih markera, IHH bojenjem na NSE, PGP9.5, Sy i NFP potvrdili smo nervnu prirodu ektopičnih elija.
- Imunohistohemijske reakcije u ektopičnim neuronima bile su pozitivne na CGRP (+++) u 24,14%, CCK (+++) u 13,79%, SST (+++) u 17,24%, SP (++) u 15,52%, VIP (+) u 8,62%, NPY (+++) u 10,34% i na serotonin (++) u 10,34% neurona, a negativne na bombezin.
- Imunohistohemijske reakcije u neuronima gangliona bile su pozitivne na CGRP (+++) u 37,5%, CCK (+++) u 7,3%, SST (+++) u 9,1%, SP (++) u 15,4%, VIP (+) u 9,7% neurona, a negativne na bombezin, NPY i na serotonin.

- Veći i procenat ganglijskih elija TG sadrži CGRP i VIP, dok veći i procenat ektopi nih neurona sadrži CCK, NPY, Ser i SST.
- Prisustvo c-kit/CD117 pozitivnih ganglijskih elija je registrovano 15,4% elija u trigeminalnom ganglionu, 2 male i 48 reaktivnih elija srednje veličine, slabe do umerene c-kit imunoreaktivnosti. Imunskom reakcijom smo pokazali da su c-kit pozitivne ganglijske elije u isto vreme NF-siromašne i da pripadaju grupi malih do srednjih tamnih elija, koje su označene kao nociceptivne.
- Prosečan broj mastocita po kvadratnom milimetru preparata ganglionu iznosio je 1,3, a kretao se od 0 do 6 elija. Prosečan broj mastocita po kvadratnom milimetru preparata dure sa srednjim moždanim sudovima iznosio je 6,8, a kretao se od 5 do 8 elija. Najviše mastocita je nađeno u perifernoj zoni ganglionu, od 7 do 14, prosečno 11,4 po kvadratnom milimetru površine preseka. Imunoreaktivnost mastocita bila je intenzivna.
- Postoji visoko statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti površine ganglijskog neurona između u ispitivanih grupa ($p < 0,001$), kao i u prosečnoj vrednosti površine elije ektopi nog neurona između u ispitivanih grupa formiranih po IHH markeru ($p < 0,001$), što u celini govori da se u ispitivanju radilo o različitim elijskim grupama.
- Statističkim metodama smo zaključili da postoji visoko statistički značajna povezanost između u vrednosti površine elije ganglijskog i ektopi nog neurona u svim grupama formiranim po IHH markeru ($p < 0,001$), što u celini govori da se u ispitivanju radilo o istim elijskim grupama.
- Uzimajući u obzir sve navedene morfološke, morfometrijske i biohemijske sličnosti, naš definitivni zaključak jeste da ektopi ni neuroni u trigeminalnom nervu predstavljaju hipermigratorne elije iz trigeminalnog ganglionu.

L I T E R A T U R A

Amankwah KS, De Boni U. Ultrastructural localization of filamentous actin within neuronal interphase nuclei in situ. *Exp Cell Res* 210:315-325, 1994.

Armulik A, Genove G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. *Dev Cell* 21:193-215, 2011.

Azzi G, Bernaudin JF, Bouchaud C, Bellon B, Fleury-Feith J. Permeability of the normal rat brain, spinal cord and dorsal root ganglia microcirculations to immunoglobulins G. *Biology of the Cell* 68: 31-36, 1990.

Baechli H, Gratzl. Microvascular decompression in trigeminal neuralgia with no vascular compression. *Eur Surg Res* 39(1):51-57, 2007.

Bancroft JD, Gamble M. *Theory and practice of histological techniques*. Churchill Livingstone Elsevier, Edinburgh-Toronto 2008.

Barlow LA. Cranial nerve development: placodal neurons ride the crest. *Current Biol* 12:R171-R173, 2002.

Battifora H, Koppinski M. The influence of protease digestion on the immunostaining of keratins. *J Histochem Cytochem* 34:1095-1103, 1986.

Bederson JB, Wilson CB. Evaluation of microvascular decompression and partial sensory rhizotomy in 252 cases of trigeminal neuralgia. *J Neurosurg* 71(3):359-367, 1989.

Begbie J, Graham A: Integration between the epibranchial placodes and the hindbrain. *Science* 294:595-598, 2001.

Bergmann L. Studies on the blood vessels of the human Gasserian ganglion. *Anat Rec* 82:609-628, 1942.

Bhatheja K, Field J. Schwann cells: Origins and role in axonal maintenance and regeneration. *Int J Biochem Cell Biol* 38:1995-1999, 2006.

Binaschi A, Bregola G, Simonato M. On the role of somatostatin in seizure control: clues from the hippocampus. *Rev Neurosci* 14:285-301, 2003.

Bowsher D. Trigeminal neuralgia: an anatomically oriented review. *Clin Anat* 10:409-415, 1997.

Brenner M. Structure and transcriptional regulation of the gfap gene. *Brain Pathol* 4:245-257, 1994.

Brisman R. Microvascular decompression vs. gamma knife radiosurgery for typical trigeminal neuralgia: preliminary findings. *Stereotact Funct Neurosurg* 85(2-3):94-98, 2006.

Broggi G, Ferroli P, Franzini A, Pluderi M, La Mantia L, Milanese C. Role of microvascular decompression in trigeminal neuralgia and multiple sclerosis. *Lancet* 354:1878-1879, 1999.

Broggi G, Ferroli P, Franzini A, Servello D, Dones I. Microvascular decompression for trigeminal neuralgia: comments on a series of 250 cases, including 10 patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 68:59-64, 2000.

- Burchiel KJ, Baumann TK. Pathophysiology of trigeminal neuralgia: new evidence from a trigeminal ganglion intraoperative microneurographic recording. Case report. *J Neurosurg* 101:872-873, 2004.
- Burstein R, Jakubowski M, Rauch S. The science of migraine. *J Vestib Res* 21(6):305-14, 2011.
- Cady RJ, Glenn JR, Smith KM, Durham PL. Calcitonin gene-related peptide promotes cellular changes in trigeminal neurons and glia cellular changes in trigeminal neurons and glia implicated in peripheral and central sensitization. *Mol Pain* 7:94-105, 2011.
- Carpenter MB. Core text of neuroanatomy. Williams & Wilkins, Baltimore-Tokyo 1991, pp 119-122, 176-182.
- Cattoreti G, Pilleri S, Parravicini C, Becker MHG, Poggi S, Bifulco C. Antigen unmasking on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. *J Pathol* 171:83-89, 1993.
- Cerda-Reverter JM, Larhammar D. Neuropeptide Y family of peptides: structure, anatomical expression, function, and molecular evolution. *Cell Biology* 78(3):371-392, 2000.
- etkovi M, Antunovi V, Marinkovi S, Todorovi V, Vitoševi Z, Milisavljevi M. Vasculature and neurovascular relationships of the trigeminal nerve root. *Acta Neurochir* 153(5):1051-1057, 2011.
- etkovi -Milisavljevi M. Mikromorfološke, histohemijske i imunohistohemijske karakteristike trigeminusnog živca u oveka. Magistarska teza, Beograd 2005.
- Chada SR, Hollenbeck PJ. Nerve growth factor signaling regulates motility and docking of axonal mitochondria. *Current Biology* 14(14):1272-1276, 2004.
- Chan JR, Watkins TA, Cosgaya JM, Zhang CZ, Chen L, Reichardt LF, Shooter EM, Barres BA. NGF controls axonal receptivity to myelination by Schwann cells or oligodendrocytes. *Neuron* 43(2):183-191, 2004.
- Cherkas PS, Huang TY, Pannicke T, Tal M. The effects of axotomy on neurons and satellite cells in mouse trigeminal ganglion. *Pain* 110:290-298, 2004.
- Chernousov MA, Carey DJ. Schwann cell extracellular matrix molecules and their receptors. *Histol Histopathol* 15(2):593-601, 2000.
- Chiang CY, Dostrovsky JO, Iwata K, Sessle BJ. Role of glia in orofacial pain. *Neuroscientist* 17:303-320, 2011.
- Choudhari K. Quadruple vessel involvement at root entry zone in trigeminal neuralgia. *Clin Neurol Neurosurg* 109:203-205, 2007.
- irovi M. Mijelin i bazni proteini mijelina mozga. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu-CIBIF, Beograd 2000.
- Colombaioni L, Garci-Gil M. Sphingolipid metabolites in neural signalling and function. *Brain Res Brain Res Rev* 46(3):328-355, 2004.
- Dahl E. Electron microscopic observations on human intracranial arteries: changes seen with aging and atherosclerosis. In: *The cerebral vessels wall*, edited by Cervos-Navarro J. Raven Press, New York 1976, pp. 61-66.
- Dal Monte M, Petrucci C, Cozzi A, Allen JP, Bagnoli P. Somatostatin inhibits potassium-evoked glutamate release by activation of the SST(2) somatostatin receptor in the mouse retina. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 367:188-192, 2003.
- Davis RL, Robertson DM. Textbook of neuropathology. Williams & Wilkins, Baltimore-Wroclaw 1997.
- Del Fiacco M, Quartu M, Floris A, Diaz G. Substance P-like immunoreactivity in the human trigeminal ganglion. *Neuroscience Letters* 110:16-21, 1990.
- Del Fiacco M, Quartu M, Priestley JV, Setzu MD. GAP-43 persist in adulthood and coexists with SP and CGRP in human trigeminal sensory neurons. *Neuro Report* 5:2349-2352, 1994.
- Del Fiacco M, Quartu M. Somatostatin, galanin and peptide histidine isoleucine in the newborn and adult human trigeminal ganglion and spinal nucleus: immunohistochemistry, neuronal morphometry and colocalization with substance P. *J Chem Neuroanat* 7:171-184, 1994.
- Delitala A, Brunori A, Chiappetta F. Microsurgical posterior fossa exploration for trigeminal neuralgia: a study on 48 cases. *Minim Invasive Neurosurg* 44(3):152-156, 2001.

- Devor M, Govrin-Lippmann R, Rappaport HZ. Mechanism of trigeminal neuralgia: an ultrastructural analysis of trigeminal root specimens obtained during microvascular decompression surgery. *J Neurosurg* 96:532-543, 2002.
- Dickinson T, Fleetwood-Walker SM. VIP and PACAP: very important in pain? *TiPS* 20:324-329, 1999.
- Donato R. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Micros Res Tech* 60:540-551, 2003.
- Donato R. S100: A multigenic family of calcium-modulated proteins of the ef-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* 33:637-668.
- Durham PL, Garrett FG. Development of functional units within trigeminal ganglia correlates with increased expression of proteins involved in neuron-glia interactions. *Neuron Glia Biol* 16:1-11, 2010.
- Duvernoy HM. Human brainstem vessels. Springer-Verlag, Berlin-New York 1978.
- Eddleston M, Mucke L. Molecular profile of reactive astrocytes; implications for their role in neurologic diseases. *Neurosci* 54:15-36, 1993.
- Edvinsson L. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and the pathophysiology of headache. *CNS Drugs* 15(10):745-753, 2001.
- Emmons F, Rhoton A. Subdivision of the trigeminal sensory root. *J Neurosurg* 35:585-591, 1971.
- Eng LF, Gerstl B, Vanderhaeghen JJ. A study of proteins in old multiple sclerosis plaques. *Trans Am Soc Neurochem* 1:42, 1970.
- Erzulmuru RS, Jhaveri S: Target influences on the morphology of trigeminal axons. *Exp Neurol* 135:1-16, 1995.
- Esper RM, Loeb JA. Rapid axoglial signaling mediated by neuroregulin and neurotrophic factors. *J Neurosci* 24(27):6218-6227, 2004.
- Faissner A, Steindler D. Boundaries and inhibitory molecules in developing neural tissues. *Glia* 13:233-254, 1995.
- Falls DL. Neuroregulins: functions, forms, and signaling strategies. *Exp Cell Res* 284:14-30, 2003.
- Fernandez-Carballeda C, Garcia-Salazar F, Perez-Calvo J, Garcia-Leal R, Gutierrez FA, Carrillo R. Management of recurrent trigeminal neuralgia after failed microvascular decompression. *Neurocirurgia* 15(4):345-352, 2004.
- Fields D. White matter matters. *Scientific American* 298:54-61, 2008.
- FitzGerald MJT. Neuroanatomy, basic and clinical. WB Saunders Company, London-Tokyo 1996, pp 164-170.
- Frick KM, Fernandez SM. Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. *Neurobiol Aging* 24:615-626, 2003.
- Fristad I, Heyeraas KJ, Kvinnsland IH. Neuropeptide Y expression in the trigeminal ganglion and mandibular division of the trigeminal nerve after inferior alveolar nerve axotomy in young rats. *Exp Neurol* 142:276-286, 1996.
- Gaik GC, Farbman AI. The chicken trigeminal ganglion. I. Anatomical analysis of the neuron types in the adult. *J Morphol* 141:43-56, 1973.
- Gehlert DR. Introduction to the reviews on neuropeptide Y. *Neuropeptides* 38:135-140, 2004.
- Gerdes J, Becker MHG, Key G, Cattoreti G. Immunohistochemical detection of tumour growth factor (KI-67 antigen) in formalin-fixed and routinely processed tissues. *J Pathol* 168:85-91, 1992.
- Gillilan LA. Anatomy and embryology of the arterial system of the brain stem and cerebellum. In: *Handbook of Clinical Neurology*, Vinken PJ, Bruyn GW (eds). North-Holland Publishing Company, Amsterdam 1975, pp 24-44.
- Gilmore SA, Sims TJ. Synaptophysin immunoreactivity in spinal white matter of young adult rats. *Int J Devl Neuroscience* 18:557-564, 2000.
- Go JL, Kim PE, Zee C. The trigeminal nerve. *Seminars in Ultrasound, CT, and MRI* 22(6):502-520, 2001.

- Goadsby PJ. Pathophysiology of cluster headache: a trigeminal autonomic cephalgia. *Lancet* 1:251-257, 2002.
- Gould RM, Mattingly G. Regional localization of RNA and protein metabolism in Schwann cells in vivo. *J Neurocytol* 19:285-301, 1990.
- Gown A, de Wever N, Battifora H. Microwave-based antigenic unmasking. A revolutionary new technique for routine immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem* 1:256-268, 1993.
- Gozes I, Brenneman DE. A new concept in the pharmacology of neuroprotection. *J Mol Neurosci* 14:61-68, 2000.
- Gu Y, Chen Y, Zhang X, Li GW, Wang C, Huang LYM. Neuronal soma-satellite glial cell interactions in sensory ganglia and the participation of purinergic receptors. *Neuron Glia Biol* 6:53-62, 2010.
- Guclu B, Sindou M, Meyronet D, Streichenberger N, Simon E, Mertens P. Cranial nerve vascular compression syndromes of the trigeminal, facial and vago-glossopharyngeal nerves: comparative anatomical study of the central myelin portion and transitional zone; correlations with incidences of corresponding hyperactive dysfunctional syndromes. *Acta Neurochir* 153:2365-2375, 2011.
- Gudmundsson K, Rhoton A, Rushton J. Detailed anatomy of the intracranial portion of the trigeminal nerve. *J Neurosurg* 35:592-600, 1971.
- Gunion MW, Tache Y. Bombesin microinfusion into the paraventricular nucleus suppresses gastric acid secretion in the rat. *Brain Res* 411:156-161, 1987.
- Gunjigake KK, Goto T, Nakao K, Kobayashi S, Yamaguchi K. Activation of satellite glial cells in rat trigeminal ganglion after upper molar extraction. *Acta Histochem Cytochem* 42:143-149, 2009.
- Gurr E. *Methods of analytical histology and histo-chemistry*. Leonard Hill Limited, London 1958.
- Guyton A. *Basic neuroscience*. WB Saunders Company, Philadelphia-Tokyo 1991.
- Haines SJ, Jannetta P, Zorub D. Microvascular relations of the trigeminal nerve, an anatomical study with clinical correlation. *J Neurosurg* 52:381-386, 1980.
- Haines SJ, Martinez J, Jannetta P. Arterial cross compression of the trigeminal nerve at the pons in trigeminal neuralgia. *J Neurosurg* 50:257-259, 1979.
- Hamzeh H, Gaudillere A, Sabido O. Expression of PGP9.5 on Langerhans' cells and their precursors. *Acta Derm Venereol* 80:14-16, 2000.
- Han SJ, Hong SH, Kim CG, Lee JB, Choi DK, Kim KR, Kim CG. Synapsin IIB interacts with the C-terminal SH2 and SH3 domains of PLCGAMMA1 and inhibits its enzymatic activity. *Cell Biol Int* 28(12):943-948, 2004.
- Hanani M. Satellite glial cells in sensory ganglia: from form to function. *Brain Res Rew* 48:457-476, 2005.
- Hanani M. Satellite glial cells: more than just "rings around the neuron". *Neuron Glia Biol* 6(1):1-2, 2010.
- Hardy DG, Rhoton AL. Microsurgical relationships of the superior cerebellar artery and the trigeminal nerve. *J Neurosurg* 49:669-678, 1978.
- Hatayama T. Intraoperative mapping of the trigeminal nerve root during MVD. *ICS* 1259:347-352, 2004.
- Herrmann M, Vos PE, Wunderlich MT, de Bruijn CH, Lamers KJ. Release of glial tissue-specific protein after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. *Stroke* 31:2670-2677, 2000.
- Hokfelt T, Pernow B, Wahren J. Substance P: A pioneer amongst neuropeptides. *J Intern Med* 249:27-40, 2001.
- Hollenbeck PJ, Ruthel G. Sorting out the neuron. *Nature* 397:653-655, 1999.
- Hou M, Kanje M, Longmore J, Tajti J, Uddman R, Edvinsson L. 5-HT_{1B} et 5-HT_{1D} receptors in the human trigeminal ganglion: co-localization with calcitonin gene-related peptide, substance P and nitric oxide synthase. *Brain Res* 909:112-120, 2001.
- Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 71:533-554, 2002.

- Hu WP, You XH, Guan BC, Ru LQ. Substance P potential 5-HT₃ receptor-mediated current in rat trigeminal ganglion neurons. *Neurosci Lett* 365:147-152, 2004.
- Huang E, Richardt L. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 24:677-736, 2001.
- Humbert W, Cuisinier F, Voegel JC, Pevet P. A possible role of collagen fibrils in the process of calcification observed in the capsule of the pineal gland in aging rats. *Cell Tissue Res* 288:435-439, 1997.
- Ichikawa H, Schulz S, Hollt V, Sugimoto T. The somatostatin SST2A receptor in the rat trigeminal ganglion. *Neurosci* 120:807-813, 2003.
- Ichikawa H, Jacobowitz DM, Sugimoto T. S100 protein-immunoreactive primary sensory neurons in the trigeminal and dorsal root ganglia of the rat. *Brain Res* 748:253-257, 1997.
- Iwata K, Miyachi S, Imanishi M, Tsuboi Y, Kitagawa J. Ascending multisynaptic pathways from the trigeminal ganglion to the anterior cingulate cortex. *Exp Neurol* 227:69-78, 2011.
- Jannetta P. Gross description of the human trigeminal nerve and ganglion. *J Neurosurg* 26:109-111, 1967.
- Jasmin L, Vit JP, Bhargava A, Ohara PT. Can satellite glial cells be therapeutic targets for pain control? *Neuron Glia Biol* 6:63-71, 2010.
- Johns TG, Bernard CCA. The structure and function of myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Neurochem* 72:1-9, 1999.
- Jones BJ, Blackburn TP. The medical benefit of 5-HT research. *Pharmacol Biochem Behav* 71:555-568, 2002.
- Jonsson S, Wiberg R, McGrath A, Novikov L, Wiberg M. Effect of delayed peripheral nerve repair on nerve regeneration, Schwann cell function and target muscle recovery. *PLOS* 8:1-13, 2013.
- Juaneda C, Dumont Y, Quirion R. The molecular pharmacology of CGRP and related peptide receptor subtypes. *TIPS* 21:432-438, 2000.
- Kabatas S, Karasu A, Civelek E, Sabanci AP, Hepgul KT, Teng YD. Microvascular decompression as a surgical management for trigeminal neuralgia: long-term follow-up and review of the literature. *Neurosurg Rev* 32:87-94, 2009.
- Kai-Kai MA. Cytochemistry of the trigeminal and dorsal root ganglia and spinal cord of the rat. *Comp Biochem Physiol* 93A(1):183-193, 1989.
- Kask A, Harro J, von Horsten S, Redrobe JP, Dumont Y, Quirion R. The neurocircuitry and receptor subtypes mediating anxiolytic-like effects of neuropeptide Y. *Neurosci Biobehav Rev* 26:259-283, 2002.
- Katoh K, Tohyama M, Noguchi K, Senba E. Axonal flow blockade induces alpha-CGRP mRNA expression in rat motoneurons. *Brain Res* 599:153-157, 1992.
- Kerr FWL. The divisional organization of afferent fibers of the trigeminal nerve. *Brain* 86:721-732, 1963.
- Keusters D. The nervus trigeminus. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 40(1):123-141, 1986.
- Krisht A, Barnett D, Barrow D, Bonner G. The blood supply of the intracavernous cranial nerves: an anatomic study. *Neurosurgery* 34:275-279, 1994.
- Kumar V, Cotran R, Robbins S. Basic pathology. Saunders, Philadelphia-Tokyo 2003.
- Lagares A, Rivas JJ, Jimenez L, Cicuendez M, Avendaño C. Central demyelination in the pathogenesis of trigeminal neuralgia associated with cerebellopontine angle tumors: case report with ultrastructural trigeminal root analysis. *Neurosurgery* 66(4):E841-842, 2010.
- Lamers KJB, Vos P, Verbeek MM, Rosmalen F, van Geel WJA, van Engelen BGM. Protein S-100B, neuron-specific enolase (NSE), myelin basic protein (MBP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in cerebrospinal fluid (CSF) and blood of neurological patients. *Brain Res Bull* 61:261-264, 2003.
- Lang E, Naraghi R, Tanrikulu L, Hastreiter P, Fahlbusch R, Neundörfer B, Tröscher-Weber R. Neurovascular relationship at the trigeminal root entry zone in persistent idiopathic

facial pain: findings from MRI 3D visualisation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76:1506-1509, 2005.

Lang J. Clinical anatomy of the posterior fossa and its foramina. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1991, pp 42, 82-85.

Lasjaunias P, Moret J, Mink J. The anatomy of the inferolateral trunk of the internal carotid artery. *Neurorad* 13:215-220, 1977.

Lazarov NE. Comparative analysis of the chemical neuroanatomy of the mammalian trigeminal ganglion and mesencephalic trigeminal nucleus. *Prog Neurobiol* 66:19-59, 2002.

Leong AS-Y, Milios J. An assessment of the efficacy of the microwave antigen-retrieval procedure on a range of tissue antigens. *Appl Immunohistochem* 1:267-284, 1993.

Levy D, Burstein R, Kainz V, Jakubowski M, Strassman A. Mast cell degranulation activates a pain pathway underlying migraine headache. *Pain* 130:166-176, 2007.

Love S, Coakham HB. Trigeminal neuralgia. pathology and pathogenesis. review article. *Brain* 124:2347-2360, 2001.

Love S, Gradidge T, Coakham H. Trigeminal neuralgia due to multiple sclerosis: ultrastructural findings in trigeminal rhizotomy specimens. *Neuropathol Appl Neurobiol* 27:238-244, 2001.

Love S, Hilton D, Coakham H. Central demyelination of the Vth nerve root in trigeminal neuralgia associated with vascular compression. *Brain Pathol* 8:1-12, 1998.

Maguire JJ. Discovering orphan receptor function using human in vitro pharmacology. *Curr Opin Pharmacol* 3:135-139, 2003.

Marinkovi S, etkovi M, Gibo H, Todorovi V, Jan i J, Milisavljevi M. Immunohistochemistry of displaced sensory neurons in the trigeminal nerve root. *Cells Tissues Organs* 191(4):326-335, 2010.

Marinkovi S, Gibo H, Todorovi V, Anti B, Kova evi D, Milisavljevi M, etkovi M. Ultrastructure and immunohistochemistry of the trigeminal myelinated axons in patients with neuralgia. *Clin Neurolog Neurosurg* 111(10):795-800, 2009.

Marinkovi S, Gibo H. The blood supply of the trigeminal nerve root, with special reference to the trigeminocerebellar artery. *Neurosurg* 37(2):309-317, 1995.

Marinkovi S, Milisavljevi M, Kostić V. Funkcionalna i topografska neuroanatomija. Nauka, Beograd 1998.

Marinkovi S, Todorovi V, Gibo H, Bude M, Drndarevi N, Peši D, Jokovi M, etkovi M. The trigeminal vasculature pathology in patients with neuralgia. *Headache* 47:1334-1339, 2007.

Martinez V, Tache Y. Bombesin and the brain-gut axis. *Peptides* 21:1617-1625, 2000.

Maxwell DS, Kruger L, Pineda A. The trigeminal nerve root with special reference to the central-peripheral transition zone: an electron microscopic study in the macaque. *Anat Rec* 164(1):113-125, 1969.

McCabe KL, Manzo A, Gammill LS, Bronner-Fraser M. Discovery of genes implicated in placode formation. *Develop Biol* 274:462-477, 2004.

McLennan AJ, Marks L, Gaskin AA, Lee N. Embryonic expression pattern of H218, a G-protein coupled receptor homolog, suggests roles in early mammalian nervous system development. *Neuroscience* 79:217-224, 1997.

Medeiros MS, Turner AJ. Metabolism and functions of neuropeptide Y. *Neurochem Res* 21:1125-1132, 1996.

Messlinger K, Fisher MJ, Lennerz JK. Neuropeptide effects in the trigeminal system: pathophysiology and clinical relevance on migraine. *Keio J Med* 60:82-89, 2011.

Milenkovic N, Frahm C, Gassmann M, Griffel C, Erdmann B, Brichmeler C, Lewin G, Garratt A. Nociceptive tuning by stem cell factor/c-kit signaling. *Neuron* 56:893-906, 2007.

Milisavljevi M, Marinkovi S, etkovi M. Blood Supply of the Trigeminal Ganglion and Nerve Root. *International Congress Series* 1240:1101-1106, 2003.

Mira K. Nerve cells in the trigeminal nerve roots of rat. *Naturwissenschaften* 59(11):520-521, 1972.

- Mira KM, Elnaga IA, El-Sherif H. Nerve cells in the intracranial part of the trigeminal nerve of man and dog. *J Neurosurg* 34:643-646, 1971.
- Miyasaka H, Okabe S, Ishiguro K, Uchida T, Hirokawa N. Interaction of the tail domain of high molecular weight subunits of neurofilaments with the cooh-terminal region of tubulin and its regulation by protein kinase II. *the journal of biological chemistry* 268(30):22695-22702, 1993.
- Montes M, Jimenes B. Anatomie mesoscopique de l'apport arteriell d'origine meningee pour le ganglion de Gasser. *Bul Ass Anat* 73:27-30, 1989.
- Moody TW, Hill JM, Jensen RT. VIP as a trophic factor in the cns and cancer cells. *Peptides* 24:163-177, 2003.
- Morgan JM, Navabi H, Schmid KW, Jasani B. Possible role of tissue-bound calcium ions in citrate mediated high-temperature antigen retrieval. *J Pathol* 147:301-304, 1994.
- Morita K, Sasaki H, Fujimoto K, Furuse M, Tsukita S. Claudin-11/OSP-based tight junctions of myelin sheaths in brain and sertoli cells in testis. *J Cell Biol* 145:579-588, 1999.
- Moser KV, Reindl M, Blasig I, Humpel C. Brain capillary endothelial cells proliferate in response to NGF, express NGF receptors and secrete NGF after inflammation. *Brain Research* 1017:53-60, 2004.
- Moses M. Comparative ultrastructure of the trigeminal ganglion. *Anat Rec* 145:263-264, 1963.
- Mullins DE, Zhang X, Hawes BE. Activation of extracellular signal regulated protein kinase by neuropeptide Y and pancreatic polypeptide in CHO cells expressing the NPY Y(1), Y(2), Y(4) and Y(5) receptor subtypes. *Regul Pept* 105:65-73, 2002.
- Ng KY, Yung H, Wong YH, Wise H. The role of glial cells in influencing neurite extension by dorsal root ganglion cells. *Neuron Glia Biol* 6:19-29, 2010.
- Ng YK, Wong WC, Ling EA. A qualitative and quantitative study of substance P immuno-cytochemistry of the trigeminal ganglion in the monkey. *Anat Embryol* 188:53-61, 1993.
- Nishida KS, Yamasaki S, Ito Y, Kabu K, Hattori K, Tezuka T. FceRI-mediated mast cell degranulation requires calcium-independent microtubule-dependent translocation of granules to the plasma membrane. *J Cell Biol* 170:115-126, 2005.
- Nixon RA, Sihag RK. Neurofilament phosphorylation: a new look at regulation and function. *Trends Neurosci* 14(11):501-506, 1991.
- O'Rahilly R, Müller F. The development of the neural crest in the human. *J Anat* 211:335-351, 2007.
- Oberman M. Treatment options in trigeminal neuralgia. *Ther Adv Neurol Disord* 3:107-115, 2010.
- Oftan D, Sherki Y, Melamed E, Fridkin M, Breneman DE, Gozes I. Vasoactive intestinal peptide (VIP) prevents neurotoxicity in neuronal cultures: relevance to Parkinson's disease. *Brain Res* 854:257-262, 2000.
- Ohanian J, Ohanian V. Sphingolipids in mammalian cell signalling. *Cell Mol Life Sci* 58(14):2053-2068, 2001.
- Olias G, Viollet C, Kusserow H, Epelbaum J, Meyerhof W. Regulation and function of somatostatin receptors. *J Neurochem* 89:1057-1091, 2004.
- Ozdinler PH, Ulupinar E, Erzumru RS. Local neurotrophin effects on central trigeminal axon growth patterns. *Devel Brain Res* 151:55-66, 2004.
- Palmer J. Nucleolar eccentricity in trigeminal ganglion neurons. *J Anat (Lond)* 157:163-168, 1988.
- Pannese E. The structure of the perineuronal sheath of satellite glial cells (SGCs) in sensory ganglia. *Neuron Glia Biol* 6:3-10, 2010.
- Patel YC. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol* 20:157-198, 1999.
- Payne V, Kam PCA. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia* 59:695-703, 2004.
- Pedrazzini T, Pralong F, Grouzmann E. Neuropeptide Y: the universal soldier. *Cell Mol Life Sci* 60:350-377, 2003.

- Peker S, Kurtkaya O, Uzun I, Pamir MN. Microanatomy of the central myelin-peripheral myelin transition zone of the trigeminal nerve. *Neurosurgery* 59(2):354-359, 2006.
- Pelletier V, Poulos D, Lende R. Functional localization in the trigeminal root. *J Neurosurg* 40:504-513, 1974.
- Pennisi E, Gruccu G, Manfredi M, Palladini G. Histometric study of myelinated fibers in the human trigeminal nerve. *J Neurol Sci* 105(1):22-28, 1991.
- Persaud TVN. *A history of anatomy*. Charles Thomas Publisher Ltd., Springfield 1997.
- Peters A, Palay SL, Webster HD. *The fine structure of the nervous system*, 3rd edn. Oxford University Press, New York 1991, pp 494.
- Peters GA. The presence of sensory nerve cells in the central root of the trigeminal nerve. *J Comp Neurol* 62:349-360, 1935.
- Pierse AGE. *Histochemistry, theoretical and applied*. Churchill Livingstone, Edinburgh-Toronto 1980.
- Pilleri SA, Roncador G, Ceccarelli C, Piccioli M, Briskomatis A, Sabattini E. Antigen retrieval techniques in immunohistochemistry: comparison of different methods. *J Pathol* 183:116-124, 1997.
- Pinto SS, Gottfried C, Mendez A, Goncalves D, Karl J, Goncalves CA, Wofchuk S, Rodnight R. Immunoccontent and secretion of S100B in astrocyte cultures from different brain regions in relation to morphology. *FEBS Lett* 486:203-207, 2000.
- Pireli SA, Roncador G, Ceccarelli C, Piccioli M, Briskomatis A, Sabattini E. Antigen retrieval technique in immunohistochemistry: comparison of different methods. *J Pathol* 183:116-123, 1997.
- Popescu LM, Faussone-Pellegrini MS. Telocytes-a case of serendipity. *J Cell Mol Med* 14:729-740, 2010.
- Pose I, Sampogna S, Chase MH, Morales FR. Mesencephalic trigeminal neurons are innervated by nitric oxide synthase-containing fibers and respond to nitric oxide. *Brain Res* 960:81-89, 2003.
- Quartu M, Del Fiacco M. Enkephalins occur and colocalize with substance P in human trigeminal ganglion neurones. *Neuro Report* 5(4):465-468, 1994.
- Quartu M, Floris A, Del Fiacco M. Substance P and calcitonin gene-related peptide-like immunoreactive pericellular baskets in human trigeminal ganglion. *Bas Appl Histochem* 34:177-181, 1990.
- Rajagopal R, Chen Z, Lee F, Chao M. Transactivation of trk neurotrophin receptors by G-protein-coupled receptor ligands occurs on intracellular membranes. *J Neurosci* 24(30):6650-6658, 2004.
- Ralis HM, Beesley RA, Ralis ZA. *Techniques in neurohistology*. Butterworths, London 1973.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Pharmacology*. Churchill Livingstone, Edinburgh-Toronto 2003, pp 26-48, 130-132, 184-192, 198-216, 239, 385, 406, 468-470, 562-584.
- Rehm H, Wiedenmann B, Betz H. Molecular characterization of synaptophysin, a major calcium-binding protein of the synaptic vesicle membrane. *EMBO J* 5:535-541, 1986.
- Rethelyi M, Metz CB, Lund PK. Distribution of neurons expressing calcitonin gene-related peptide mRNAs in the brain stem, spinal cord and dorsal root ganglia of rat and guinea-pig. *Neurosci*, 29:225-239, 1989.
- Revuelta-Gutierrez R, Lopez-Gonzalez MA, Soto-Hernandez JL. Surgical treatment of trigeminal neuralgia without vascular compression: 20 years of experience. *Surg Neurol* 66(1):32-36, 2006.
- Rhodin JAG. *Histology. A text and atlas*. New York-Oxford University Press, London-Toronto 1974.
- Ribeiro-da-Siva A, Hokfelt T. Neuroanatomical localisation of substance P in the CNS and sensory neurons. *Neuropeptides* 34(5):256-271, 2000.

Riederer BM, Monnet-Tschudi F, Honegger P. Development and maintenance of the neuronal cytoskeleton in aggregated cell cultures of fetal rat telencephalon and influence of elevated K⁺ concentrations. *J Neurochem* 58(2):649-658, 1992.

Roggendorf W, Cervos-Navarro J, Matakas F. The ultrastructural criteria of intracerebral arterioles. In: *The cerebral vessels wall*, edited by Cervos-Navarro J. Raven Press, New York 1976, pp. 23-31.

Rothermundt M, Peters M, Prehn JHM, Arolt V. S100B in brain damage and neurodegeneration. *Microsc Res Tech* 60:614-632, 2003.

Rusu MC, Ivascu RV, Cergan R, Paduraru D, Podoleanu L. Typical and atypical neurovascular relations of the trigeminal nerve in the cerebellopontine angle: an anatomical study. *Surg Radiol Anat* 31(7):507-516, 2009.

Rusu MC, Pop F, Hostiu S, Dermengiu D, Lala AI, Ion DA, Manoiu VS, Mirancea N. The human trigeminal ganglion: c-kit positive neurons and interstitial cells. *Ann Anat* 193:403-411, 2011.

Sadler TW. *Langman's medical embryology*. Williams & Wilkins, Baltimore 1995.

Sakai T, Ikeda R, Tsukisawa M. Galen „On the anatomy of nerves“: translation from the greek text and discussion. *Nippon Ishigaku Zasshi* 49(3):403-454, 2003.

Sarin H. Physiologic upper limits of pore size of different blood capillary types and another perspective on the dual pore theory of microvascular permeability. *J Angiogenes Res* 2:1-19, 2010.

Satoh T, Onoda K, Date I. Preoperative simulation for microvascular decompression in patients with idiopathic trigeminal neuralgia: visualization with three-dimensional magnetic resonance cisternogram and angiogram fusion imaging. *Neurosurg* 60(1):104-113, 2007.

Scherer SS. Molecular specializations at nodes and paranodes in peripheral nerve. *Microsc Res Technique* 34:452-461, 1996.

Schlaf G, Salje C, Poethke R, Felgenhauer K, Mader M. A novel enzyme-linked immunosorbent assay for determination of synaptophysin as compared with other quantification procedures. *J Neuroimmun* 67:59-65, 1996.

Schmidek HH. Ganglion cells located in the root of the trigeminal nerve in man. *Neurochirurgia (Stuttg.)* 11(2):74-77, 1968.

Schofield JN, Day INM, Thompson RJ, Edwards YH. PGP9.5, a ubiquitin C-terminal hydrolase; pattern of mRNA and protein expression during neural development in the mouse. *Dev Brain Res* 85:229-238, 1995.

Schroder JM. *Pathology of peripheral nerves*. Springer, Berlin-Tokyo 2001.

Scott L, Atkinson ME. Compartmentalisation of the developing trigeminal ganglion into maxillary and mandibular division does not depend on target contact. *J Anat* 195:137-145, 1999.

Sekiguchi S, Yoshikawa Y, Tanaka S, Kwon J, Ishii Y, Kyuwa S, Wada K, Nakamura S, Takahashi K. Immunohistochemical analysis of protein gene product 9.5, a ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase, during placental and embryonic development in the mouse. *Exp Anim* 52(4):365-369, 2003.

Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. Antigen retrieval immunohistochemistry: past, present, and future. *J Histochem Cytochem* 45:327-343, 1997.

Shi S-R, Key M, Kolra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 39:741-746, 1991.

Shi-Ting L, Qinggang P, Ningtao L, Feng S, Zhong L, Yuhang G. Trigeminal neuralgia: what are the important factors for good operative outcomes with microvascular decompression. *Surg Neurol* 62:400-405, 2004.

Silverman JD, Kruger L. Calcitonin gene-related peptide-immunoreactive innervation of the rat head with emphasis on specialized sensory structures. *J Comp Neurol* 280:303-330, 1989.

Singer Ch. *A short history of anatomy from the greeks to harvey*. Dover Publications, Inc., New York 1957.

- Skarp M, Tuniz F. Use of the arachnoid membrane of the cerebellopontine angle to transpose the superior cerebellar artery in microvascular decompression for trigeminal neuralgia: technical note. *Neurosurgery* 66:88-91, 2010.
- Skinner HA. The origin of medical terms. Hafner Publishing Company, New York 1970.
- Smith KJ, McDonald WI. Spontaneous and mechanically evoked activity due to central demyelinating lesion. *Nature* 286:154-155, 1980.
- Smoliar E, Smoliar A, Sorkin L, Belkin V. Microcirculatory bed of the human trigeminal nerve. *Anat Rec* 250:245-249, 1998.
- Spindel ER, Giladi E, Segerson TP, Nagalla S. Bombesin-like peptides: of ligands and receptors. *Recent Prog Horm Res* 48:365-391, 1993.
- Sporns O, Zwi JD. The small world of the cerebral cortex. *Neuroinformatics* 2(2):145-162, 2004.
- Stainier DY, Gilbert W. Pioneer neurons in the mouse trigeminal sensory system. *Neurobiol* 87:923-927, 1990.
- Stechison M, Moller A, Lovely T. Intraoperative mapping of the trigeminal nerve root: technique and application in the surgical management of facial pain. *Neurosurg* 38(1):76-82, 1996.
- Stensaas Lj, Stensaas SS. Astrocytic neuroglial cells, oligodendrocytes and microglia in the spinal cord of the toad. I Light Microscopy. *Z Zellforsch* 84:473-489, 1968.
- Stevens H, Jakobs C, de Jager AEJ, Cunningham RT, Korf J. Neurone-specific enolase and N-acetyl-aspartate as potential peripheral markers of ischaemic stroke. *Eur J Clin Invest* 29:6-11, 1999.
- Stibee EP. Some observations on the surgery of trigeminal neuralgia. *Br J Surg* 24:122-129, 1936.
- Strassman AM, Weissner W, Williams M, Ali S, Levy D. Axon diameters and intradural trajectories of the dural innervation in the rat. *J Comp Neurol* 473:364-376, 2004.
- Streit A: Early development of the cranial sensory system: from a common field to individual placodes. *Develop Biol* 276(1):1-15, 2004.
- Suadicani S, Cherkas P, Zuckerman J, Smith D, Spray D, Hanani M. Bidirectional calcium signaling between satellite glial cells and neurons in cultured mouse trigeminal ganglia. *Neuron Glia Biol* 6:43-51, 2010.
- Sugimoto T, Takemura T, Sakai A, Ishimaru M. Cell size analysis of trigeminal primary afferent neurons comprising individual peripheral branches of the rat mandibular nerve. *Exp Neurol* 93:565-573, 1986.
- Sun YG, Gracias NG, Drobish JK, Vasko MR, Gereau RW, Chen ZF. The c-kit signaling pathway is involved in the development of persistent pain. *Pain* 144:178-186, 2009.
- Suzuki N, Hardebo JE, Owman CH. Origins and pathways of cerebrovascular nerves storing SP and CGRP in rat. *Neurosci* 31(2):427-438, 1989.
- Švob M. Histološke i histohemijske metode. Svjetlost, Sarajevo 1974.
- Tiraihi T, Rezaie MJ. Synaptic lesions and synaptophysin distribution change in spinal motoneurons at early stages following sciatic nerve transection in neonatal rats. *Develop Brain Res* 148:97-103, 2004.
- Toman RT, Payne SG, Watterson KR, Maceyka M, Lee NH, Milstien S, Bigbee JW, Spiegel S. Differential transactivation of sphingosine-1-phosphate receptors modulates NGF-induced neurite extension. *J Cell Biol* 166(3):381-392, 2004.
- Tsai S-H, Tew JM, McLean JH, Shipley MT. Cerebral arterial innervation by nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide (CGRP): I. Distribution and origin of CGRP perivascular innervation in the rat. *J Comp Neurol* 271:435-444, 1988.
- Ulupinar E, Jacquin MF, Erzurumlu RS. Differential effects of NGF and NT-3 on embryonic trigeminal axon growth patterns. *J Comp Neurol* 425:202-218, 2000.
- Unger JW, Lange W. Immunohistochemical mapping of neurophysins and calcitonin gene-related peptide in the human brainstem and cervical spinal cord. *J Chem Neuroanat* 4:299-309, 1991.

- Vallstedt A, Klos JM, Ericson F. Multiple dorsoventral origins of oligodendrocyte generation in the spinal cord and hindbrain. *Neuron* 45:55-67, 2004.
- Van Rossum D, Hanisch U, Quirion R. Neuroanatomical localization, pharmacological characterization and functions of CGRP, related peptides and their receptors. *Neurosci Biobehav Rev* 21(5):649-678, 1997.
- Velzen M, Laman J, KleinJan A, Poot A, Osterhaus A, Verjans G. Neuron-interacting satellite glial cells in human trigeminal ganglia have an APC phenotype. *J Immunol* 183:2456-2461, 2009.
- Villa G, Fumagalli M, Verderio C, Abbracchio M, Ceruti S. Expression and contribution of satellite glial cell purinoceptors to pain transmission in sensory ganglia: an update. *Neuron Glia Biol*, 6:31-42, 2010.
- Vit JP, Jasmin L, Bhargava A, Ohara PT. Satellite glial cells in the trigeminal ganglion as a determinant of orofacial pain. *Neuron Glia Biol* 2:247-257, 2006.
- Wakisaka S, Takikita S, Sasaki Y, Kato J, Tabata MJ, Kurisu K. Cell size-specific appearance of neuropeptide Y in the trigeminal ganglion following peripheral axotomy of different branches of the mandibular nerve of the rat. *Brain Res* 620:347-350, 1993.
- Watt JC, McKillop AN. Relations of arteries to roots of nerves in posterior cranial fossa in man. *Arch Surg* 30:336-345, 1935.
- Weick M, Cherkas PS, Hartig W, Pannicke T. P2 receptors in satellite glial cells in trigeminal ganglia of mice. *Neurosci* 120:969-977, 2003.
- Wiedenmann B, Rehm H, Knierim M, Becker C-M. Fractionation of synaptophysin-containing vesicles from rat brain and cultured PC12 pheochromocytoma cells. *FEBS Letters* 240(1,2):71-77, 1988.
- Wilkinson KD, Lee K, Deshpande S, Hughes PD, Boss JM, Pohl J. The neuron-specific protein PGP 9.5 is a ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase. *Science* 246:670-673, 1989.
- Williams PL. *Gray's anatomy*. Churchill Livingstone, Edinburgh-Toronto 1999, pp 902-1027.
- Willinsky R, Lasjaunias P, Berenstein A. Intracavernous branches of the internal carotid artery: comprehensive review of their variations. *Surg Radiol Anat* 9:201-215, 1987.
- Winckler B, Forscher P, Mellman I. A diffusion barrier maintains distribution of membrane proteins in polarized neurons. *Nature* 397:698-701, 1999.
- Winkler EA, Bell R, Zlokovic B. Central nervous system pericytes in health and disease. *Nat Neurosci* 14:1398-1405, 2011.
- Winkler EA, Sengillo JD, Bell RD, Wang J, Zlokovic BV. Blood-spinal cord barrier pericyte reductions contribute to increased capillary permeability. *J Cereb Blood Flow Metab* 32:1841-1852, 2012.
- Wulff S. *Guide to special stains*. DakoCytomation, Carpinteria 2004.
- Yasargil M. *Microneurosurgery*. Vol I. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1984, pp 5-53.
- Ziyal I, Sekhar L, Ozgen T, Soylemezoglu F, Alper M, Beser M. The trigeminal nerve and ganglion: an anatomical, histological, and radiological study addressing the transtrigeminal approach. *Surg Neurol* 61(6):564-573, 2004.
- Ziyal IM, Sekhar LN, Ozgen T, Söylemezo lu F, Alper M, Be er M. The trigeminal nerve and ganglion: an anatomical, histological, and radiological study addressing the transtrigeminal approach. *Surg Neurol* 61:564-573, 2004.

BIOGRAFIJA

Ime i adresa: MILA V. ETKOVI -MILISAVLJEVI , Institut za histologiju i embriologiju "Aleksandar . Kostić", Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Višegradska 26, tel.: 360-7145; e-mail: mcetko@eunet.rs

Datum i mesto rođenja: 22.3.1970., Sremska Mitrovica

Braća i sestre: udata, majka dvoje dece

Poznavanje stranih jezika: engleski i ruski

Fakultetsko obrazovanje:

-1997., doktor medicine, Medicinski fakultet u Beogradu

Postfakultetsko obrazovanje:

-1997/98. upisane poslediplomske studije iz Citologije, histohemije i elektronske mikroskopije

-27.01.2005. odbranjena magistarska teza „Mikromorfološke, histohemijske i imunohistohemijske karakteristike trigeminusnog živca u oveka“, pred komisijom u sastavu: profesor dr Vladimir Bumbaširević, predsednik, profesor dr Živana Milićević i profesor dr Vera Todorović (Institut za medicinska istraživanja).

Profesionalno iskustvo:

1992-1993. demonstrator na Histološkom institutu Medicinskog fakulteta u Beogradu

1999-2005. asistent pripravnik na Institutu za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu

od 2005. asistent na Institutu za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu

Nastavno iskustvo:

od 1999. nastava Histologije i embriologije za studente medicine na Institutu za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu

od 2000. nastava Histologije i embriologije na engleskom jeziku za studente medicine na Institutu za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu

od 2003-2005. nastava Anatomije sa histologijom za studente Farmaceutskog fakulteta u Beogradu

Članstvo u profesionalnim udruženjima:

Srpsko anatomsko društvo, Sekcija za kliničku i primenjenu anatomiju SLD

Učestvovanje na projektima:

- Mikromorfološka i imunohistohemijska proučavanja lobanjskih segmenata moždanih živaca (projekat broj 145107, MNTRS za period od 2006-2010), saradnik na projektu
- Strukturna, ultrastrukturna i imunohistohemijska ispitivanja parenhima i vaskularizacije mozga, hipofize i nadbubrega (projekat broj 145087, MNTRS za period od 2006-2010), saradnik na projektu
- Građevina i vaskularizacija vidnog sistema (projekat broj 175030, MNTRS za period od 2011-2015), saradnik na projektu
- Antioksidativna zaštita i potencijali za diferencijaciju i regeneraciju mezenhimalnih matičnih ćelija iz različitih tkiva tokom procesa starenja (projekat broj 175061, MNTRS za period od 2011-2015), saradnik na projektu

Autor je 9 radova objavljenih u celini u časopisima indeksiranim u Current Contents-u, 5 radova objavljenih u celini u časopisima uključenim u bazu podataka Medline, 26 radova štampanih kao izvodi u zbornicima međunarodnih i domaćih skupova, kao i delova 2 udžbenika.

Изјава о ауторству

Потписани-а МИЛА ЋЕТКОВИЋ МИЛИСАВЉЕВИЋ

број уписа _____

Изјављујем

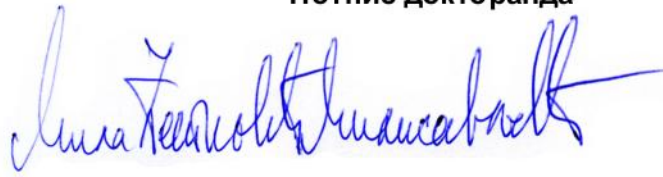
да је докторска дисертација под насловом

АНАЛИЗА МИКРОВАСКУЛАРИЗАЦИЈЕ И ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКИХ
КАРАКТЕРИСТИКА ГАНГЛИЈСКИХ И ЕКТОПИЧНИХ ГАНГЛИЈСКИХ ЋЕЛИЈА
ТРИГЕМИНАЛНОГ НЕРВА

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, мај 2013. године



Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора МИЛА ЋЕТКОВИЋ МИЛИСАВЉЕВИЋ

Број уписа _____

Студијски програм _____

Наслов рада АНАЛИЗА МИКРОВАСКУЛАРИЗАЦИЈЕ И
ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКИХ КАРАКТЕРИСТИКА ГАНГЛИЈСКИХ И
ЕКТОПИЧНИХ ГАНГЛИЈСКИХ ЋЕЛИЈА ТРИГЕМИНАЛНОГ НЕРВА

Ментор Проф. др ВАСО АНТУНОВИЋ
Коментор Проф. др Слободан Маринковић

Потписани _____



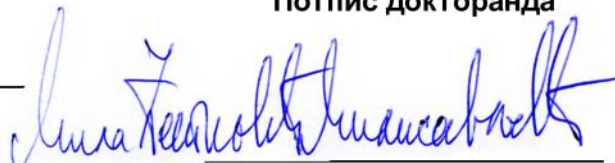
изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, мај 2013. године



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

**АНАЛИЗА МИКРОВАСКУЛАРИЗАЦИЈЕ И ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКИХ
КАРАКТЕРИСТИКА ГАНГЛИЈСКИХ И ЕКТОПИЧНИХ ГАНГЛИЈСКИХ ЋЕЛИЈА
ТРИГЕМИНАЛНОГ НЕРВА**

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Београду, мај 2013. године _____

Потпис докторанда