

KVALITATIVNA ANALIZA NEURONA ZUPČASTOG JEDRA ODRASLOG ČOVEKA

*Dušica Marić, Radmila Gudović, Bojana Krstonošić, Biljana Srdić, Mirjana Milošević,
Dušan Sedlarević*

Zavod za anatomiju, Medicinski fakultet Novi Sad, Srbija

Sažetak

Iako postoje brojni podaci u literaturi o morfologiji i razvoju zupčastog jedra čoveka, malo je kvalitativnih informacija koje govore o izgledu neurona zupčastog jedra odraslog čoveka. Neuroni su uzeti sa trideset humanih malih mozgova i impregnisani Goldži metodom. Isečci tkiva dobijeni su u toku redovnih obdukcionih postupaka odraslih osoba i uzimani su isključivo isečci zupčastog jedra bez vidljivog oštećenja moždanog tkiva. Na osnovu kvalitativne analize uočili smo dve osnovne klase neurona: mali i veliki multipolarni neuroni. Klasa velikih neurona je podeljena na tri podklase na osnovu oblika ćelijskog tela, broja primarnih dendrita, oblika dendritske krošnje i položaja neurona u zupčastom jedru. Klasifikacija neurona zupčastog jedra čoveka je do sada bila kvalitativno analizirana kod fetusa i prevremeno rođene dece. Ova studija predstavlja prvu kvalitativnu analizu i klasifikaciju velikih multipolarnih neurona zupčastog jedra odraslog čoveka.

Ključne reči: zupčasto jedro, čovek, neuroni

Uvod

Iako aktuelna literatura obiluje podacima o spoljašnjoj građi zupčastog jedra čoveka, o unutrašnjoj strukturi, vrstama neurona i njihovoj topologiji postoji malo podataka. Veliki broj istraživanja opisuje morfologiju zupčastog jedra sisara sličnih čoveku: mačke (Snider, 1942; Matsushita, 1970; Sotelo, 1973), zeca (Snider i Stowel, 1942; Matsushita i Iwahori, 1970), pacova (Chan-Palay, 1973; Ito, 1983) i majmuna (Daron, 1960; Fix, 1975; Fink et al., 2006). Malo je podataka u literaturi o njegovoj neuronskoj organizaciji kod odraslog čoveka.

Jedan od prvih opisa neuronskog rasporeda i sastava zupčastog jedra dali su Sakoci i Lugaro još u XIX veku (Saccozzi, 1887, Lugaro, 1895). Naredna istraživanja su potvrđivala rezultate ovih autora. Čan Palej (Chan-Palay, 1973) među prvima je dala kompletnu morfološku klasifikaciju neurona na osnovu istraživanja jedara pacova i majmuna. Klasifikovala je neurone zupčastog jedra na šest grupa prema morfološkim osobinama. Sličnu klasifikaciju napravio je Mihajlović (Mihajlović i Zečević, 1986) u istraživanju na fetalnom materijalu zupčastog jedra čoveka.

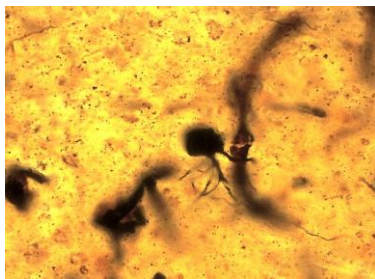
Poznato je da zupčasto jedro ima dva filogenetski različita dela, stariju dorzomedijalnu laminu i mlađu ventrolateralnu laminu, koja gradi najveći deo mase jedra. Naučni podaci navode da se zupčasto jedro sastoji od multipolarnih neurona, veličine tela od 22 do 35 μm sa razgranatom dendritskom krošnjom. Prema veličini tela, na humanom materijalu odraslog čoveka opisana su samo dva tipa neurona: veliki neuroni smešteni u rostralnom delu jedra i mali neuroni raspoređeni svuda po sivoj masi jedra (Braak i Braak, 1983).

Izučavanje neurona zupčastog jedra neophodno je zbog lakšeg razumevanja neuroloških poremećaja koji nastaju u toku fetalnog i postnatalnog perioda. Saznanje da je zupčasto jedro podeljeno na motorni i kognitivni deo (Gilman et al., 1981) olakšalo je objašnjenje simptomatologije, koja se javlja usled povreda ili oboljenja određenog dela zupčastog jedra.

Cilj ovog rada bila je kvalitativna analiza neurona zupčastog jedra, opis morfologije i klasifikacija neurona prema obliku, veličini tela i topološkim svojstvima levog i desnog zupčastog jedra odraslog čoveka.

Materijal i metode

Uzorak neurona uzet je sa 30 obostranih isečaka humanog zupčastog jedra, oba pola (15 osoba ženskog pola i 15 osoba muškog pola), starosti od 23 do 75 godina. Posle uobičajenog obdukcionog postupka svežeg humanog lešnog materijala na Zavodu za sudsku medicinu u Novom Sadu, uzimani su isecci levog i desnog zupčastog jedra. Uzorci tkiva zupčastog jedra impregnisani su srebro-nitratom uz pomoć Kopš-Bubenet metode (Lalošević, 2005). Histološki rezovi zupčastog jedra, debljine 90 μm , analizirani su optičkim mikroskopom *LEICA DC 100* (proizvođač: Leica Microsystem Wetzlar GmbH, Germany; korisnik: Zavod za anatomiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu) korišćenjem sistema uvećanja 400x (Slika 1. uvećanje objektiva 40x, uvećanje okulara 10x). Impregnisani neuroni slikani su digitalnom kamerom *LEICA DC 100* uz prateći kompjuterski program *DC 100 Program*. Slike optičkih rezova svakog od snimljenih neurona digitalizovane su pomoću javno dostupnog programa za obradu slike Image J (proizvođač: National Institute of Health, USA, www.rsb.info.nih.gov/ij). Izdvojeno je 320 binarnih slika neurona. Generisanje skeletonizovane slike izvedeno je u programu Image J, primenom komande *skeletonize* na binarnoj slici neurona.



Slika 1. Slika impregnisanog neurona zupčastog jedra odraslog čoveka (uvećanje objektiva 40x i okulara 10x)

Figure 1. Image of impregnated neuron of the human adult dentate nuclei (obj. 40x, occ. 10x)

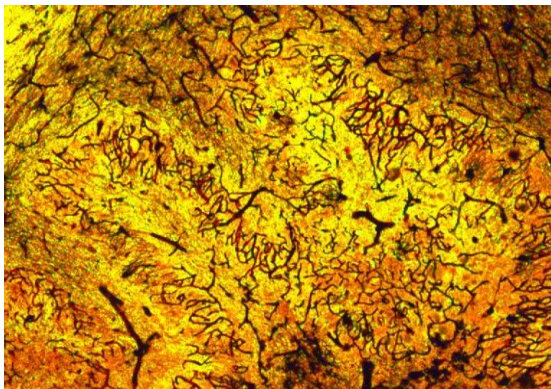
Neuroni su analizirani u dorzomedijalnoj i ventrolateralnoj lamini levog i desnog zupčastog jedra i klasifikovani na osnovu veličine tela, dendritskog polja i položaja.

Rezultati

Na uzorku od 320 neurona analizirali smo oblik i veličinu tela, broj primarnih dendrita, veličinu dendritskog polja, oblik dendritske krošnje i njenog položaja u zupčastom jedru. Na osnovu ovih morfoloških kriterijuma klasifikovali smo neurone u dve osnovne klase: mali i

veliki neuroni. Zbog specifične metode impregnacije samo se na pojedinim neuronima prikazao aksonski brežuljak i inicijalni segment, tako da akson nije uziman kao kriterijum u kvalitativnoj klasifikaciji neurona zupčastog jedra.

Analizirajući dorzomedijalni i ventrolateralnu laminu desnog i levog zupčastog jedra utvrđene su sličnosti u izgledu i rasporedu neurona (Slika 2).



Slika 2. Dorzomedijalna i ventrolateralna lamina zupčastog jedra odraslog čoveka (uvećanje objektiva 5x, okulara 10x)

Figure 2. Dorsomedial and ventrolateral lamina of the human adult dentate nucleus (obj. 5x, occ 10x)

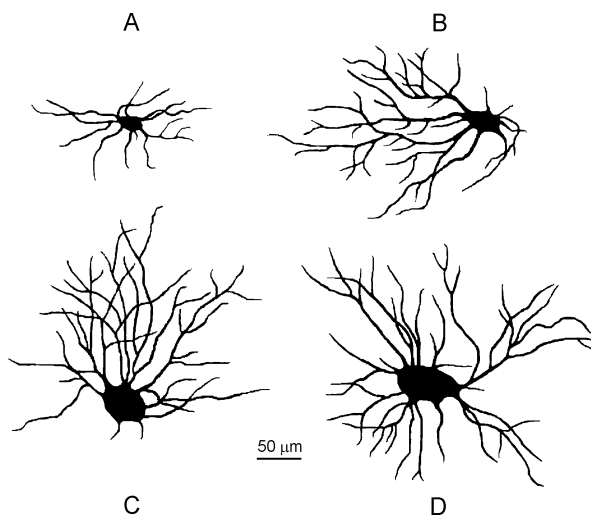
Mali neuroni su multipolarni, okruglog ili vretenastog tela sa brojnim, radijalno raspoređenim, primarnim dendritima. Sa tela polazi četiri do osam glatkih primarnih dendrita koji se dele na dve do tri kratke grane i prave slabo razgranatu dendritsku krošnju. Dendritsko polje je sfernog oblika (Slika 3A). Raspoređeni su ravnomerno između velikih neurona unutar središnjeg dela zupčastog jedra.

Veliki neuroni zupčastog jedra pripadaju, takođe, klasi multipolarnih neurona, različitog oblika tela i dendritskog polja. Usled specifičnog položaja u zupčastom jedru, neuroni su klasifikovani u tri potklase: spoljašnji granični neuroni, unutrašnji granični neuroni i centralni neuroni.

Spoljašnji granični neuroni imaju telo izduženog oblika sa brojnim primarnim dendritima. Sa jednog kraja tela polazi četiri do dvanaest dugih, tankih dendrita, koji se granaju dva do pet puta. Većina dendrita je glatka, dok samo poneki imaju bodlje. Na suprotnom kraju tela nalazi se aksonski brežuljak. Dendritsko polje ima oblik tetraedra (Slika 3B). Ova vrsta neurona formira izvijuganu traku od jednog reda ćelija duž spoljašnje četvrtine sive mase lamine zupčastog jedra.

Unutrašnji granični neuroni imaju telo izduženog oblika sa četiri do dvanaest dugih, tankih dendrita, koji se granaju dva do pet puta i polaze sa jednog kraja tela. Većina dendrita je glatka, dok samo poneki imaju bodlje. Na suprotnom kraju tela nalazi se inicijalni segment i aksonski brežuljak. Dendritsko polje ima oblik tetraedra (Slika 3C). Neuroni formiraju izvijuganu traku od jednog reda ćelija duž unutrašnje četvrtine sive mase lamine zupčastog jedra.

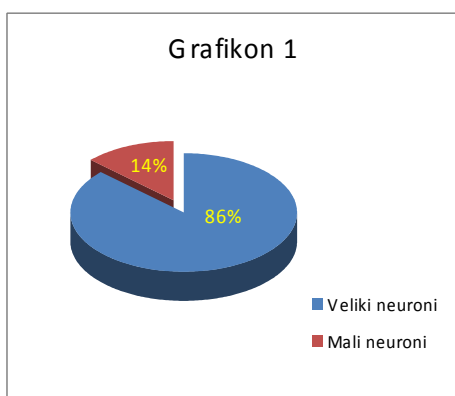
Centralni neuroni imaju veliko, okruglo ili ovalno telo sa radijalno raspoređenim primarnim dendritima. Od tela polazi pet do deset primarnih dendrita koji se četiri do pet puta dihotomno računaju i završavaju sa jednom do dve ascendentne i descendentne grane. Predstavljaju najrazgranatiju potklasu neurona zupčastog jedra. Dendritsko polje ima oblik sfere (Slika 3D). Raspoređeni su ravnomerno između malih i velikih neurona unutar središnjeg dela zupčastog jedra.



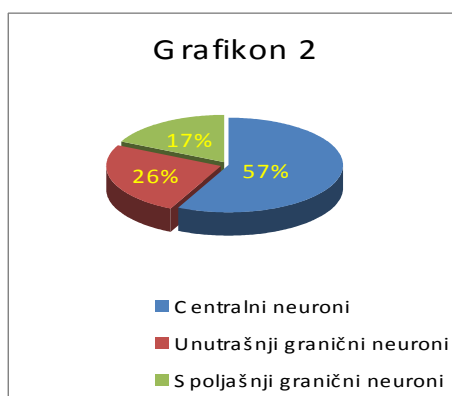
Slika 3. Binarne slike četiri vrste neurona zupčastog jedra odraslog čoveka: mali neuron (A), veliki unutrašnji granični neuron (B), veliki spoljašnji granični neuron (C) i veliki centralni neuron (D)

Figure 3. Representative binary images of four cell groups in the human adult dentate nuclei: small (A), large medial border (B), large lateral border (C) and large central neurons (D)

Kvalitativna analiza neurona zupčastog jedra čoveka izvedena je na 320 slika neurona, od kojih je 45 malih i 275 velikih neurona (Grafikon 1). U klasi velikih neurona izdvojilo se 48 spoljašnjih graničnih neurona, 71 unutrašnjih graničnih neurona i 156 centralnih neurona (Grafikon 2).



Grafikon 1. Procenat malih i velikih neurona zupčastog jedra
Figure 1. Percentage of the small and large neurons of the human dentate nucleus



Grafikon 2. Procenat velikih neurona zupčastog jedra
Figure 2. Percentage of the large neurons of the human dentate nucleus

Diskusija

Neuroni zupčastog jedra odraslog čoveka analizirani su u dorzomedijalnoj i ventrolateralnoj lamini levog i desnog zupčastog jedra. Neuroni su posmatrani duž spoljašnje i unutrašnje ivice, kao i unutar središnjeg dela sive mase jedra obe lamine. Prema položaju u zupčastom jedru, mali neuroni su ravnomerno raspoređeni unutar sive mase jedra obe lamine. Spoljašnji i unutrašnji granični neuroni imaju gotovo identičnu morfologiju. Jedina morfološka razlika između njih je položaj aksonskog brežuljka, orijentacija aksona i dendritskog polja. Dve potklase velikih graničnih neurona su raspoređene duž spoljašnje i unutrašnje četvrtine sive mase obe lamine levog i desnog zupčastog jedra. Centralni neuroni su smešteni ravnomerno duž unutrašnje dve četvrtine sive mase obe lamine levog i desnog zupčastog jedra.

Poređenje rezultata kvalitativne analize neurona čoveka sa neuronima zupčastog jedra majmuna pokazuje da između četiri klase neurona čoveka i šest klasa neurona majmuna (Chan-Palay, 1973) postoje sličnosti u morfologiji ali i razlike, posebno u gustini bodlja, broju primarnih dendrita i orijentaciji dendritske krošnje, koje jasno određuju ove dve vrste sisara. S obzirom na to da je kod čoveka došlo do porasta neocerebeluma u odnosu na majmuna i da izuvijanost jedra dostiže maksimalnu vrednost kod čoveka, nije bilo moguće podeliti zupčasto jedro čoveka na iste zone kao što je urađeno kod majmuna.

Rezultati analize neurona zupčastog jedra u prenatalnom i postnatalnom periodu razvoja (Mihajlović i Zečević, 1986.) i odraslog čoveka pokazuju da između odgovarajućih klasa postoji očigledna razlika u broju primarnih dendrita, gustini bodlja i razgranatosti dendritske krošnje. Morfologija odraslih neurona, koji su zauzeli definitivan položaj i stekli konačnu kompleksnost oblika zrele ćelije, najčešće se razlikuje od neurona u razvoju koji prolaze kroz različite stadijume sazrevanja (Marin-Padilla, 1985). Uzimajući u obzir navedene činjenice o promeni morfologije neurona u toku razvoja, nismo bili u mogućnosti da poredimo klase neurona definisane u ovoj studiji sa klasama neurona zupčastog jedra čoveka u razvoju.

Kvalitativna analiza neurona zupčastog jedra čoveka pokazala je da morfologija malih i velikih neurona ne zavisi od položaja u jedru, kao ni od toga da li neuroni potiču iz levog i desnog zupčastog jedra. Oblik tela i broj primarnih dendrita ukazuje da klase i potklase neurona zupčastog jedra pripadaju klasi multipolarnih neurona, što odgovara rezultatima istraživanja na čoveku (Braak i Braak, 1983) i majmunu (Chan-Palay, 1973).

Prema literaturnim podacima o zupčastom jedru karakteristike malih neurona su malo telo i dendritsko polje, kratak akson i jednostavna dendritska krošnja, dok veliki neuroni poseduju veliko telo i dendritsko polje, dugačak akson i složenu dendritsku krošnju, što odgovara našim rezultatima. Poznata je činjenica da broj ulaznih informacionih sistema određuje veličinu i kompleksnost dendritske krošnje (Kimberley, 2000). Pretpostavljamo da razvijenost dendritske krošnje malih i velikih neurona ukazuje na razliku u njihovim funkcionalnim svojstvima. Razlika u izgledu dendritskog polja između velikih graničnih neurona koji su asimetričnog oblika, i centralnih neurona koji su radijalnog oblika, sugerise na postojanje razlika u veličini ulaznih informacija koje dolaze do ovih neurona.

Dendriti velikih neurona zupčastog jedra čoveka su uglavnom glatki, dok samo poneki imaju bodlje. Brak (Braak i Braak, 1983) opisuje velike žbunaste neurone čiji dendriti imaju bodlje različitog oblika i veličine. Veliki neuroni zupčastog jedra majmuna poseduju jasno uočljive bodlje (Chan-Palay, 1973). Odsustvo bodlji na našim preparatima neurona zupčastog jedra čoveka može da se poveže sa procesom fiksacije preparata ili slučajnom reakcijom na srebro-nitrat (Graveland et al., 1985). Moguće je da odsustvo bodlji predstavlja i evolutivnu adaptaciju neurona čoveka u odnosu na neurone majmuna. Lil i saradnici (Leal et al., 1988) ukazuju da u toku procesa starenja organizma dolazi do regresivnih promena na

dendritima neurona, u vidu smanjenja dendritske krošnje i prisustva bodlji. Odsustvo bodlji na našim uzorcima zupčastog jedra je verovatno posledica toga što je većina isečaka nervnog tkiva pripadala osobama starije životne dobi. Složenost oblika i strukture neurona usko je povezana sa njegovom funkcijom. Tokom vremena dolazi do promene veličine neuronske krošnje, te ona zavisi od starosti neurona.

U pojedinim bolestima narušava se prirodno okruženje neurona, što se odražava na izgled i broj neurona (Khutoryan, 2005). Rezultati ove studije ukazuju na potrebu daljih istraživanja struktura malog mozga, sa posebnim osvrtom na razvoj i evoluciju ne samo kod zdravih osoba nego i u patološkim stanjima organizma.

Zaključak

Kvalitativna analiza nervnih ćelija zupčastog jedra odraslog čoveka pokazala je da postoje razlike neurona u morfološkim svojstvima i topologiji. Na osnovu kvalitativne analize neurona zupčastog jedra odraslog čoveka ustanovljene su dve osnovne klase: mali i veliki neuroni. Na osnovu topoloških i morfoloških osobina neurona zupčastog jedra omogućena je podela velikih neurona u tri potklase: spoljašnji granični neuroni, unutrašnji granični neuroni i centralni neuroni. Nije utvrđeno da postoje razlike između klasa neurona dorzomedijalne i ventrolateralne lamine levog i desnog zupčastog jedra.

Literatura

- Braak H, Braak E. Morphological studies of local circuit neurons in the cerebellar dentate nucleus of man. *Human Neurobiol.* 1983;2:49-57.
- Chan-Palay, V. A light microscope study of the cytology and organization of neurons in the simple mammalian nucleus lateralis: columns and swirls. *Z Ana. Entw Gesch.* 1973;141:125-150.
- Daron GH. Morphology of the cerebellar dentate nucleus in a chimpanzee. *Anat Rec.* 1960;138:81-92.
- Ito M. *The cerebellum and neural control.* New York: Raven, 1984.
- Fix JD. Dentate nucleus of *Ateles ater*: Cytomorphometric analysis. *Acta Anat.* 1975;93:228-239.
- Fink AJ, Englund C, Daza RA, Pham D, Lau C, Nivison M, Kowalczyk T, Hevner RF. Development of the deep cerebellar nuclei: transcription factors and cell migration from the rhombic lip. *J Neurosci.* 2006;15:26(11):3066-3076.
- Gilman S, Bloedel JR, Lechtenberg R. *Disorders of the cerebellum.* Philadelphia, Pa: Fa Davis Co. 1981.
- Graveland GA, Williams RS, DiFiglia MA. Golgi study of the human neostriatum: Neurons and afferent fibers. *J Comp Neurol.* 1985;34:317-333.
- Khutoryan BM. Quantitative characterization of the cellular elements of human cerebellar nuclei at different ages. *Neurosci Behav Physiol.* 2005;35:5-7.
- Kimberley Mc Allister A. Cellular and molecular mechanisms of dendrite growth. *Cerebral Cortex.* 2000;10:963-973.
- Lalošević D, Somer Lj, Đolai M, Lalošević V, Mažibrada J, Krnojelac D. *Mikroskopska laboratorijska tehnika u medicini.* Novi Sad Medicinski fakultet; 2005.
- Leal S, Anrade JP, Paula-Barbosa MM, Madeira MD. Arcuate nucleus of the hypothalamus: effect of age and sex. *J Comp Neurol.* 1998;401:65-88.
- Lugaro E. Sulla struttura del nucleo dentate del cervello nell'uomo. *Monit Zool Ital.* 1895;6:5-12.
- Marin-Padilla M. Neurogenesis of the climbing fibers in the human cerebellum: a Golgi study. *J Comp Neurol.* 1985;35:82-96.
- Matsushita M, Iwahori N. Structural organization of the interpositus and the dentate nuclei. *Brain Res.* 1971;35:17-36.
- Mihajlović P, Zečević N. Development of the human dentate nucleus. *Human Neurobiol.* 1986; 5:189-197.

Saccozzi A. Sul nucleo dentato del cervelletto, Riv. Sperimentale di Freniatria Med. Legale 1887;13:93-99.

Snider RS, Stowell A. Evidence of tactile sensibility in the cerebellum of the cat. Fed Proc. 1942;1:82.

Sotelo C, Angaut P. The fine structure of the cerebellar central nuclei in the cat. I. Neurons and neuroglial cells. Exp Brain Res. 1973;16:410-430.

QUALITATIVE ANALYSIS NEURONS IN THE ADULT HUMAN DENTATE NUCLEUS

Dušica Marić, Radmila Gudović, Bojana Krstonošić, Biljana Srdić, Mirjana Milošević, Dušan Sedlarević

Abstract

Although many relevant findings regarding to the morphology and cytoarchitectural development of the dentate nucleus have been presented so far, very little qualitative information has been collected on neuronal morphology in the adult human dentate nucleus. The neurons were labelled by Golgi staining from thirty human cerebella, obtained from medico-legal forensic autopsies of adult human bodies and free of significant brain pathology. The human dentate neurons were qualitatively analyzed and these cells were classified into two main classes: the small and the large multipolar neurons. Considering the shape of the cell body, number of the primary dendrites, shape of the dendritic tree and their position within the dentate nucleus, three subclasses of the large multipolar neurons have been recognized. The classification of neurons from the human dentate nucleus has been qualitatively confirmed in fetuses and premature infants. This study represents the first qualitative analysis and classification of the large multipolar neurons in the dentate nucleus of the adult human.

Key words: dentate nucleus, human, neurons