

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Jelena S. Boljanović

**ANALIZA MIKROMORFOLOŠKIH I  
IMUNOHISTOHEMIJSKIH  
KARAKTERISTIKA GORNJEG  
VRATNOG SIMPATIČKOG GANGLIONA  
ČOVEKA**

doktorska disertacija

Beograd, 2024

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Jelena S. Boljanović

**ANALYSIS OF MICROMORPHOLOGICAL  
AND IMMUNOHISTOCHEMICAL  
CHARACTERISTICS OF HUMAN  
SUPERIOR CERVICAL SYMPATHETIC  
GANGLION**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2024

## **MENTORI I ČLANOVI KOMISIJE:**

### **Mentor:**

1. *Dr Milan Milisavljević*, redovni profesor,  
Institut za anatomiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

### **Komentor:**

2. *Dr Milan Latas*, redovni profesor,  
Klinika za psihijatriju, UKCS, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

### **Članovi komisije:**

1. *Dr Ana Starčević*, docent,  
Institut za anatomiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

2. *Dr Darko Laketić*, docent,  
Institut za anatomiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

3. *Dr Milica Velimirović Bogosavljević*, docent,  
Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

4. *Dr Aleksandra Dožić*, docent,  
Institut za anatomiju, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

5. *Dr Zdravko Vitošević*, redovni profesor,  
Institut za anatomiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Prištini, Kosovska Mitrovica

Datum odbrane doktorske disertacije: \_\_\_\_\_

## **Zahvalnica**

Želim da iskoristim ovu priliku da izrazim svoju duboku zahvalnost mojim mentorima, profesoru Milanu Milisavljeviću i profesoru Milanu Latasu na neizmernoj podršci koju sam dobila tokom pripreme ove doktorske teze. Njihova stručnost, posvećenost i konstruktivna kritika su mi omogućili da istrajem u istraživanju.

Takođe, veliku zahvalnost dugujem profesoru Laslu Puškašu, profesorki Valentini Blagojević, profesoru Srđanu Milovanoviću i pokojnom profesoru Branislavu Filipoviću, koji su uticali na moj profesionalni rast i razvoj i bili inspiracija za prevazilaženje izazova.

Zahvalnost dugujem i članovima Katedre za užu naučnu oblast Anatomija Medicinskog fakulteta u Beogradu za razumevanje i podršku tokom izvođenja ovog istraživanja.

Zahvaljujem se i Laboratoriji za vaskularnu anatomiju, BeoLab laboratoriji, laboratorijama Instituta za histologiju i embriologiju i Instituta za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Zahvaljujem se i članovima komisije za ukazano poverenje i poštovanje:

- Prof. dr Zdravku Vitoševiću
- Doc. dr Ani Starčević
- Doc. dr Darku Laketiću
- Doc. dr Milici Velimirović Bogosavljević
- Doc. dr Aleksandri Dožić

Ovu tezu posvećujem svojim roditeljima, bez čije bezgranične ljubavi i безусловnog poverenja ovoga ne bi ni bilo.

Takođe, veliku zahvalnost dugujem profesorki Mili Ćetković Milisavljević sa Instituta za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu i docentu Dejanu Ćetkoviću sa Stomatološkog fakulteta u Beogradu koji su mi nesebično pomogli u definisanju metodologije i oblikovanju rada.

Ovim putem želim da se zahvalim i dr Nemanji Brankoviću iz Pejsmejker centra „Prof. dr Milan-Bane Đorđević“ Univerzitetskog kliničkog centra Srbije koji mi je pomogao prilikom analize i obrade podataka.

Zahvaljujem se i dr Nikoli Bogosavljeviću, dr Marku Vujačiću i dr Dejanu Aleksandriću sa Instituta za ortopediju Banjica koji su svojim trudom značajno doprineli unapređenju kvaliteta publikovanog rada i njegovoj realizaciji.

## **Analiza mikromorfoloških i imunohistohemijskih karakteristika gornjeg vratnog simpatičkog ganglionu čoveka**

### **Sažetak**

Razlog za ovo istraživanje bilo je pitanje da li u gornjem vratnom simpatičkom ganglionu čoveka (GVSG) postoji neujednačen raspored mreže krvnih sudova i mastocita koji bi eventualno mogli da utiču na nervne ćelije i aksone u određenom delu ganglionu. Cilj ovog rada bila je mikromorfološka analiza distribucije malih krvnih sudova, mastocita i ganglijskih neurona u proksimalnom i distalnom delu gornjeg vratnog simpatičkog ganglionu čoveka (GVSG). Primenjene su statističke analize da bi se otkrile moguće metričke regionalne razlike u njihovim gustinama. Petnaest humanih GVSG injiciranih obojenim tušem i želatinom su mikrodisekovani i ispitivani. U drugoj grupi se nalazilo pet GVSG koji su pripremljeni i serijski isečeni za imunohistohemijsko bojenje na CD34, mastocitnu triptazu, NPY, VIP, SP, SOM i CGRP. Pomoću imunohistohemijskog bojenja prikazali smo intraganglijske mikrosudove kao i mastocite unutar GVSG i fokusirali se na odabranu grupu neuropeptida: NPY, VIP, SP, SOM i CGRP. Mikroskopska polja dva dela GVSG su analizirana za sledeće kvantifikacije: gustina mikrosudova (GMS), gustina mastocita (GMA), broj i merenja parametara ganglijskih ćelija, i distribucija i merne karakteristike imunohistohemijski obojenih ganglijskih neurona. Prosečan broj CD34 pozitivnih mikrosudova u mikroskopskim poljima, GMS je imala vrednost 83 za gornje delove i 82,7 za donje delove GVSG. GMA je bila 4,5 u proksimalnim delovima a 4,7 u distalnim delovima GVSG. Prosečan broj ganglijskih neurona u mikroskopskim poljima bio je 19,5 u proksimalnim delovima i 19,8 u distalnim delovima GVSG. Uočili smo da 24,3% GVSG neurona u proksimalnom i 32% u distalnom delu ganglionu ekspimiraju NPY, 16,6% i 16,4% VIP, nije postojala ekspresija SP, 13,3% i 14,3% ekspimiraju SOM, a 12,2% i 13,5% ekspimiraju CGRP. Gustina CD34 pozitivnih mikrosudova, gustina mastocita pozitivnih na triptazu, i gustina, srednji prečnici i srednje površine ganglijskih neurona nisu se značajno razlikovale u dva posmatrana dela, gornjem i donjem delu GVSG. Analizirali smo metričke karakteristike NPY, VIP, SOM i CGRP pozitivnih i negativnih ganglijskih neurona u dva različita dela, proksimalnom i distalnom delu GVSG. Da zaključimo, uz pomoć imunohistohemijskog bojenja, proučavali smo proksimalno-distalnu distribuciju ganglijskih neurona u vezi sa ekspresijom imunoreaktivnosti za različite neuropeptide: NPY, VIP, SOM i CGRP. Ispitivali smo intraganglijske mikrosudove, mastocite kao i neurone unutar GVSG. Distribucija mikrosudova, mastocita i neurona u dva dela GVSG je bila ujednačena bez specifičnih mikromorfoloških varijacija, postoji homogeni vaskularni i ćelijski obrazac unutar GVSG. Intraganglijska mreža krvnih sudova i klasteri ganglijskih neurona su pravilno raspoređeni unutar GVSG. Intraganglijski mastociti su brojni i ujednačeno prisutni, verovatno sa potencijalom modulacije funkcije simpatičkih ganglijskih ćelija.

**Ključne reči:** mikromorfološka analiza; ganglijski neuroni; mastociti; mikrosudovi; gornji vratni simpatički ganglion; imunohistohemijsko bojenje

**Naučna oblast:** Medicina

**Uža naučna oblast:** Neuroanatomija

**UDK broj:**

## **Analysis of micromorphological and immunohistochemical characteristics of human superior cervical sympathetic ganglion**

### **Abstract**

The reason for this investigation was the question of whether within the human superior cervical sympathetic ganglion (SCSG) there is an uneven layout of blood vessel network and of mast cells, which could possibly influence the nerve cells and axons in a specific portion of the ganglion. The aim of this study was the micromorphological analysis of the distribution of microvessels, mast cells and ganglionic neurons in two parts, proximal and distal of the human superior cervical sympathetic ganglions (SCSGs). Statistical analyses were applied to detect the possible metric regional differences in their densities. Fifteen injected human SCSGs with colored India ink and gelatin were microdissected and examined. Second group of five human SCSGs was prepared and serially sliced for CD34, mast cell tryptase, NPY, VIP, SP, SOM and CGRP immunostaining. By means of immunohistochemical staining, we depicted the intraganglionic microvessels as well as mast cells within the SCSG, and we focused on a selected group of neuropeptides: NPY, VIP, SP, SOM and CGRP. The microscopic fields of two parts of the SCSGs were analyzed for the following quantifications: microvessel density (MVD), mast cell density (MCD), ganglionic cell count and measurements, and distribution and metric characteristics of immunolabeled ganglionic neurons. The mean number of CD34-positive microvessels in microscopic fields, the MVD, had a value of 83 for the upper parts, and 82.7 for the lower parts of SCSGs. The mean number of tryptase-positive mast cells in microscopic fields, the MCD, was 4.5 in the proximal parts, and 4.7 in the distal parts of SCSGs. The mean number of ganglionic neurons in microscopic fields was 19.5 in the proximal parts, and 19.8 in the distal parts of SCSGs. We observed that 24.3% of SCSG neurons in the proximal and 32% in the distal part expressed NPY, 16.6% and 16.4% expressed VIP, no expression of SP existed, 13.3% and 14.3% expressed SOM, and 12.2% and 13.5% expressed CGRP respectively. The density of CD34-positive microvessels, the density of tryptase-positive mast cells, and the density, mean diameters and mean areas of ganglionic neurons were not significantly different in two observed parts, upper and lower of the SCSGs. We analyzed metric characteristics of NPY, VIP, SOM and CGRP positive and negative ganglionic neurons in two distinct parts, proximal and distal of the SCSGs. In conclusion, by means of immunohistochemical staining, we studied the proximal-distal distribution of ganglionic neurons, related to the expression of immunoreactivity for different neuropeptides: NPY, VIP, SOM and CGRP. We examined the intraganglionic microvessels, mast cells as well as the neurons within the SCSGs. The distributions of microvessels, mast cells, and neurons in two parts of the SCSGs were uniform with no specific micromorphological variations, there is a homogenous vascular and cellular pattern within the SCSGs. The intraganglionic network of blood vessels and clusters of ganglionic neurons are uniformly arranged within the SCSG. The intraganglionic mast cells are numerous and uniformly present, possibly with the potential of modulating the function of sympathetic ganglionic cells.

**Key words:** micromorphological analysis; ganglionic neurons; mast cells; microvessels; superior cervical sympathetic ganglion; immunohistochemical staining

**Scientific field:** Medicine

**Scientific subfield:** Neuroanatomy

**UDC number:**

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>1.1. Pregled neuroanatomskih karakteristika autonomnog nervnog sistema</b> .....	1
1.1.1. Centralni deo autonomnog nervnog sistema .....	1
1.1.2. Periferni deo autonomnog nervnog sistema .....	2
1.1.3. Anatomske karakteristike gornjeg vratnog simpatičkog gangliona .....	7
1.1.4. Mikromorfološka organizacija nervnog sistema .....	11
<b>1.2. Mikromorfološka struktura gornjeg vratnog simpatičkog gangliona</b> .....	12
1.2.1. Glijalne satelitske ćelije (GSC) .....	14
1.2.2. Mastociti u GVSG .....	16
1.2.3. Ganglijske nervne ćelije (GNC) u gornjem vratnom ganglionu .....	18
1.2.3.1. Neuropeptid Y (NPY) .....	18
1.2.3.2. Supstanca P (SP) .....	19
1.2.3.3. Vazoaktivni intestinalni peptid (VIP) .....	20
1.2.3.4. Peptid povezan sa kalcitoninskim genom (calcitonin gene-related peptide - CGRP) .....	20
1.2.3.5. Somatostatin (SOM) .....	20
1.2.3.6. $\beta$ -triptaza .....	21
1.2.3.7. CD34 .....	21
1.2.4. Topografska organizacija neurona i značaj GVSG u kliničkoj praksi ....	21
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	23
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	24
3.1. Uzorak istraživanja .....	24
3.2. Ispitivanje periganglijske arterijske vaskularizacije GVSG .....	24
3.3. Ispitivanje intraganglijske arterijske vaskularizacije GVSG .....	25
3.4. Određivanje karakteristika distribucija mastocita u tkivu GVSG .....	28
3.5. Određivanje broja i morfoloških mernih karakteristika ganglijskih i satelitskih ćelija u GVSG .....	28
3.6. Određivanje broja i morfoloških mernih karakteristika ganglijskih ćelija u GVSG koje pokazuju imunoreaktivnost na neuropeptide: NPY, VIP, SP, SOM i CGRP .....	30
3.7. Statistička obrada rezultata .....	31
<b>4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA</b> .....	32
4.1. Gornji vratni simpatički ganglion (GVSG), mikromorfološka analiza.....	32
4.2. Ispitivanje periganglijske arterijske vaskularizacije GVSG .....	34
4.3. Ispitivanje intraganglijske arterijske vaskularizacije GVSG .....	35
4.4. Određivanje karakteristika distribucije mastocita u tkivu GVSG .....	37
4.5. Određivanje broja i morfoloških mernih karakteristika ganglijskih i satelitskih ćelija u GVSG .....	39
4.6. Određivanje broja i morfoloških mernih karakteristika ganglijskih ćelija u GVSG koje pokazuju imunoreaktivnost na neuropeptide: NPY, VIP, SP, SOM i CGRP .....	46
4.6.1. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na neuropeptid Y (NPY) .....	46
4.6.2. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na vazoaktivni intestinalni peptid (VIP) .....	54
4.6.3. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na supstancu P (SP) .....	56
4.6.4. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na somatostatin (SOM) .....	57
4.6.5. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na peptid povezan sa kalcitoninskim genom (CGRP) .....	59
<b>5. DISKUSIJA</b> .....	63
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	70
<b>7. LITERATURA</b> .....	71



# 1. UVOD

## 1.1. Pregled neuroanatomskih karakteristika autonomnog nervnog sistema

U morfološkom smislu nervni sistem je podeljen na centralni i periferni nervni sistem. Centralni nervni sistem čine mozak i kičmena moždina a perifernom nervnom sistemu pripadaju ganglioni i živci (12 pari kranijalnih i 31 par spinalnih živaca). U funkcionalnom smislu, nervni sistem se deli na telesni ili somatski i autonomni nervni sistem (ANS). Oba sistema ne mogu da funkcionišu jedan bez drugog i zajedno čine morfološku i funkcionalnu celinu (Mtui i sar., 2004; Milisavljević i sar., 2004). Autonomni nervni sistem funkcioniše autonomno, bez uticaja volje i u poređenju sa somatskim nervnim sistemom sastoji se iz različitih tipova nervnih ćelija i vlakana. Pre svega, odgovoran je za održavanje unutrašnjeg stanja organizma. Ima funkciju u regulaciji refleksnih aktivnosti vezanih za održanje života i u regulaciji životno važnih funkcija kao što su: disanje, krvni pritisak, rad srca, telesna temperatura, metabolizam, varenje, balans vode i elektrolita, proizvodnja telesnih tečnosti (pljuvačka, znoj, suze), mikcija, defekacija, seksualna aktivnost itd. (Waschke i sar., 2019). Naziv autonomni potiče od toga što ovaj deo nervnog sistema deluje na organizam bez uticaja volje. ANS je povezan sa ostalim funkcijama nervnog sistema, kao i sa radom endokrinih žlezda. Jako brzo može da utiče i promeni funkcije organa i organizma (npr. za nekoliko sekundi može duplo da ubrza rad srca). Sastoji se iz tri dela: simpatičkog, parasimpatičkog i enteričnog nervnog sistema. Simpatički i parasimpatički sistem su u svojoj aktivnosti obično antagonisti tj. imaju suprotne funkcije ali mogu da budu i sinergisti (npr. seksualni čin). Simpatički nervni sistem aktivira funkcije tela a parasimpatički nervni sistem ih deaktivira. Da bi organizam kao celina funkcionisao na fiziološki način neophodno je da postoji ravnoteža između simpatikusa i parasimpatikusa. Ukoliko ravnoteža ne postoji dolazi do poremećaja funkcije i oboljenja unutrašnjih organa (Standring i sar., 2016).

Funkcija autonomnog nervnog sistema je slično organizovana kao i kod somatskog nervnog sistema, u osnovi njegove funkcije se nalazi refleksni luk. Impulsi koji polaze iz receptora unutrašnjih organa prenose se aferentnim (viscerosenzitivnim) vlaknima u centre autonomnog nervnog sistema, gde se integrišu, zatim transformišu i vraćaju eferentnim (visceromotornim) vlaknima do efektoru, tj. do žlezda i glatkih mišića. Eferenti deo čine dva neurona, preganglijski i postganglijski a njihova sinapsa je u ganglionima. Većina struktura organizma koje su autonomno inervisane, dobijaju i simpatička i parasimpatička vlakna (Standring i sar., 2016).

Morfološki, autonomni nervni sistem (ANS) ima dva dela: centralni i periferni.

### 1.1.1. Centralni deo autonomnog nervnog sistema

Centralni deo ANS čine centri simpatikusa i parasimpatikusa. Tela preganglijskih neurona se nalaze u kičmenoj moždini (simpatikus i parasimpatikus) i u moždanom stablu (parasimpatička jedra kranijalnih živaca) (Standring i sar., 2016).

Normalna regulacija autonomnog nervnog sistema se ne odvija na nivou ganglija ili na nivou kičmene moždine već osim ovih nižih centara, postoje i viši centri autonomnog nervnog sistema, koji se nalaze u međumozgu, moždanom stablu, malom mozgu, limbičkom sistemu (*gyrus cinguli*, orbitofrontalna kora, insula, *rinencephalon*, *hippocampus*) i nelimbičkim delovima kore velikog mozga. Svi centri su međusobno povezani i grade autonomnu mrežu (McCorry, 2007). Oštećenje mozga može biti praćeno i oštećenjem autonomnog nervnog sistema koje je ponekad i inkompatibilno sa životom. Kičmena moždina i autonomni ganglioni svakako igraju važnu ulogu u autonomnoj regulaciji, međutim ključna kontrola je ipak na supraspinalnom nivou. Komunikacija postoji između delova koji primaju visceralne signale i delova koji kontrolišu eferentne izlaze, potom između delova za efektornu kontrolu simpatičkog sistema na jednoj strani i parasimpatičkog sistema na drugoj strani, i na kraju između mesta za autonomnu kontrolu somatskih, limbičkih i

endokrinih delova. Ovaj sistem čini autonomnu centralnu mrežu. Konekcije između kičmene moždine i moždanog stabla uglavnom imaju ulogu u kratkoročnoj kontroli ANS a veze između hipotalamusa, moždanog stabla i kičmene moždine omogućuju dugotrajnu kontrolu, metaboličku i reproduktivnu regulaciju. Veze između limbičkog sistema, hipotalamusa, moždanog stabla i kičmene moždine imaju hijerarhijski najvišu ulogu u autonomnoj regulaciji (Dougherty, 2020).

Hipotalamus predstavlja najznačajniji integracioni centar autonomnog nervnog sistema. Predstavlja i centar nagonskog života a putem komunikacije sa hipofizom reguliše i rad endokrinog sistema. Učestvuje i u motivacionom ponašanju i odgovoru na emocije kao deo limbičkog sistema. Mnoga jedra hipotalamusa imaju autonomnu funkciju. *Nc. paraventricularis* se sastoji iz dve morfološke klase neurona koje se dele u tri funkcionalne kategorije. Prva kategorija se sastoji iz magnocelularnih neurona, sadrže vazopresin i oksitocin, drugu klasu čine parvocelularni neuroni koji takođe imaju endokrinu ulogu i ostvaruju vezu sa hipofizom i konačno treću kategoriju takođe čine parvocelularni neuroni koji vrše centralnu autonomnu kontrolu. Povezani su sa brojnim autonomnim centrima, uključujući *nc. dorsalis nervi vagi*, autonomna relejna jedra moždanog stabla, *nc. intermediolateralis medullae spinalis*, tako da imaju direktan uticaj i na simpatički i na parasimpatički nervni sistem. *Nc. praeopticus medialis* je seksualno dimorfno jedro, učestvuje u seksualnom ponašanju. *Nc. suprachiasmaticus* ima ključnu ulogu u cirkadijalnom ritmu. *Nc. dorsomedialis*, *nc. ventromedialis*, *nc. paraventricularis et area lateralis hypothalami* ostvaruju veze sa autonomnim jedrima moždanog stabla (*nc. parabrachialis*, *nc. tractus solitarii*, *nc. ambiguus et. nc. dorsalis nervi vagi*) kao i sa simpatičkim i parasimpatičkim jedrima kičmene moždine. Na ovaj način hipotalamus reguliše aktivnost unutrašnjih organa. Lateralni deo hipotalamusa je uključen u kontrolu kardiovaskularne funkcije, kontrolu uzimanja hrane i oslobađanja insulina. Hipotalamus se sa ostalim delovima ANS povezuje preko tri glavna puta: *fasciculus longitudinalis dorsalis*-a (FLD), the medial forebrain bundle i preko *tractus trigeminothalamicus*-a. Po značaju se izdvaja FLD. Polazi iz *nc. paraventricularis hypothalami*, pruža se ka periakveduktnoj sivoj masi srednjeg mozga i retikularnoj formaciji srednjeg mozga i naniže ka kičmenoj moždini. Aksoni ovog puta dolaze do *nc. parabrachialis*, *locus coeruleus*, *nc. ambiguus*, *nuclei raphes* itd. (Dougherty, 2020).

Retikularna formacija moždanog stabla je povezana sa mnogobrojnim delovima centralnog nervnog sistema. Predstavlja složen sistem sastavljen iz velikog broja jedara koja imaju ključnu ulogu u održavanju stanja svesti, budnog stanja, u disanju, radu srca, funkciji kardiovaskularnog sistema, funkcionisanju drugih organa i organizma kao celine. Moždano stablo sadrži jedra koja učestvuju u održavanju homeostaze organizma (*nc. solitarius* i *nc. parabrachialis*) (Mtui i sar., 2004).

Mali mozak takođe ima ulogu u kontroli autonomnih motornih funkcija. Kora velikog mozga iz navedenih autonomnih centara prima informacije o stanju i funkciji unutrašnjih organa. Refleksi kičmene moždine regulišu mikciju i defekaciju i na taj način učestvuju u autonomnoj kontroli (Waschke i sar., 2019).

### **1.1.2. Periferni deo autonomnog nervnog sistema**

Periferni deo autonomnog nervnog sistema čine autonomna vlakna i autonomni ganglioni. Ganglioni predstavljaju grupe tela neurona autonomnog nervnog sistema, koji se nalaze izvan centralnog nervnog sistema. Dele se na ganglione simpatikusa i parasimpatikusa (Standring i sar., 2016).

**1) Simpatički nervni sistem** je dobio naziv po otrovnoj biljci *Atropa Belladonna*. U doba renesanse žene su shvatile da ukoliko ukapaju atropin, tj. alkaloid ove biljke, dolazi do širenja zenica što se u to vreme smatralo idealom ženske lepote. Sistem je dobio ime po italijanskoj reči *sympatico* što znači mio, bogougodan (Filipović i Đulejić, 2018). Simpatikus

je ergotropni sistem, tj. sistem potrošnje energije. Ovaj deo autonomnog nervnog sistema se aktivira prilikom stresa, napora i fizičke aktivnosti, i potom prenosi signale koji dovode telo u stanje pripravnosti, pri čemu dolazi do ubrzavanja metabolizma. Organizam se priprema za vanredne situacije, tj. za „borbu ili beg“, najveća količina krvi se preusmerava ka mišićima, dolazi do povećanja aktivnosti tela, ubrzanog rada srca (tahikardije), vazokonstrikcije, širenja bronha (bronhodilatacije), širenja zenica (*mydriasis*), pojačanog znojenja što dovodi do toga da telo oslobađa uskladištenu energiju, povećava se mišićna snaga. U digestivnom traktu dolazi do smanjenog motiliteta, tj. smanjenih pokreta želuca i creva kao i smanjene sekrecije digestivnih žlezda. U urinarnom traktu dolazi do retencije urina. Na ovaj način se usporavaju procesi koji su manje bitni u hitnim situacijama, kao što su varenje hrane i mokrenje. Simpatikus doprinosu povećanju snage organizma tokom vanrednih, kriznih situacija. Simpatikus inervira gotovo sve organe i tkiva našeg organizma (McCorry, 2007).

**2) Parasimpatički deo autonomnog nervnog sistema** je trofotropni sistem, tj. sistem stvaranja i očuvanja energije. Aktivira se u stanju mirovanja, npr. za vreme odmora i spavanja. Tada dolazi do usporenog rada srca (bradikardije), vazodilatacije, suženja bronha (bronhokonstrikcije), suženja zenica (*miosis*), ubrzanog varenja, ubrzanih pokreta želuca, pojačane sekrecije digestivnih žlezda, ubrzanog pražnjenja urina. Parasimpatikus reguliše lučenje pljuvačke i suza, mokrenje, erekciju, omogućuje akomodaciju oka. Oporavlja organizam, povećava rezervnu snagu i dovodi do ubrzanja metabolizma (McCorry, 2007).

Simpatički spinalni centar se nalazi u bočnim stubovima sive mase kičmene moždine od donjeg dela osmog vratnog do drugog slabinskog segmenta (C8-L2) gde se nalaze tela preganglijskih neurona. Na ovaj način dolazi do izvlačenja lateralne kolumne jedarnim formacijama koje nose naziv *nucleus intermediolateralis*, *nucleus intercalatus et nucleus commissuralis dorsalis* (Marinković i Milisavljević, 2001). Aksoni preganglijskih neurona imaju mijelinski omotač debljine 1.5 do 4 mikrometara. Preganglijski simpatički neuroni koriste acetilholin kao glavni neurotransmiter. Preganglijska simpatička vlakna su dugačka jer su simpatički ganglioni udaljeni od ciljnih organa, tj. efektor (McCorry, 2007). Tela postganglijskih ćelija se nalaze u ganglionima parnog lanca, tj. *truncus sympathicus-a*. Ganglioni ovog stabla nose naziv paravertebralni ganglioni. Šest velikih gangliona se nalaze izvan glavnog stabla, oko ishodišta velikih visceralnih grana abdominalne aorte i nose naziv prevertebralni (preaortalni) ganglioni. To su:

- *Ganglion coeliacum*, parni ganglion, nalazi se na mestu odvajanja *truncus coeliacus-a*
- *Ganglion mesentericum superius*, neparni ganglion, nalazi se na mestu odvajanja *a. mesentericae superior*
- *Ganglion aorticorenale*, parni ganglion, nalazi se na mestu odvajanja desne i leve *a. renalis*
- *Ganglion mesentericum inferius*, neparni ganglion, nalazi se na mestu odvajanja *a. mesentericae inferior* (Milisavljević i sar., 2004).

Prevertebralni ganglioni grade velike autonomne spletove a po značaju se izdvajaju: *plexus cardiacus* (za inervaciju srca), *plexus pulmonalis* (za inervaciju pluća), *plexus coeliacus* (za inervaciju organa abdomena), *plexus pelvicus* (za inervaciju organa karlice) (Standring i sar., 2016).

Treću grupu simpatičkih gangliona čine paramuralni ganglioni koji se nalaze u neposrednoj blizini zidova unutrašnjih organa i intramuralni ganglioni u samim zidovima unutrašnjih organa. Aksoni postganglijskih neurona su duži u odnosu na aksone preganglijskih neurona i završavaju se u unutrašnjim organima. Glavni neurotransmiter preganglijskih simpatičkih vlakana je acetil-holin a glavni neurotransmiter postganglijskih simpatičkih vlakana noradrenalin. Simpatičke sinapse sa ciljnim organima su uglavnom adrenergičke, koriste adrenalin i noradrenalin kao prenosioc informacija (Standring i sar., 2016).

Vlakna koja povezuju prevertebralne ganglione formiraju *plexus aorticus abdominalis*. Živci koji povezuju paravertebralne i prevertebralne ganglione su splanhnični: *n. splanchnicus major*, *n. splanchnicus minor*, *n. splanchnicus imus*, *nn. splanchnici lumbales* (Milisavljević i sar., 2004).

Važna karakteristika simpatičkog nervnog sistema po kojoj se razlikuje u odnosu na parasimpatički nervni sistem jeste da svih 31 par spinalnih živaca sadrže postganglijska simpatička vlakna. 8% svih vlakana u spinalnom živcu pripadaju simpatičkim vlaknima. Na ovaj način simpatička nervna vlakna dolaze do krvnih sudova i znojnih žlezda kože. Većina krvnih sudova tela (posebno vene i arteriole) dobija samo simpatička nervna vlakna tako da su znojenje i tonus glatkih mišića krvnih sudova pod kontrolom isključivo simpatičkog dela autonomnog nervnog sistema (Standring i sar., 2016).

Parasimpatičkom nervnom sistemu pripadaju dva centra: spinalni i kranijalni. Spinalni centar se nalazi u bočnim stubovima sive mase kičmene moždine i prostire se od drugog do četvrtog sakralnog segmenta (S2-S4) gde su smeštena tela preganglijskih neurona. Preganglijska parasimpatička vlakna se pružaju u sastavu spinalnog živca i dolaze do parasimpatičkih intramuralnih gangliona koji se nalaze u zidovima unutrašnjih gangliona. U ganglionima su smeštena tela postganglijskih neurona čija vlakna dolaze do ciljnih organa, spajaju se sa postganglijskim simpatičkim vlaknima i grade spletove koji omogućuju autonomnu inervaciju (Waschke i sar., 2019). Kranijalni centar čine parasimpatička jedra III (*nuclei accessorii n. oculomotorii* odnosno *nc. parasympathicus* ili *nc. supraoculomotorius*), VII (*nc. salivatorius superior*), IX (*nc. salivatorius inferior*) i X (*nc. dorsalis nervi vagi*) kranijalnog živca. Jedra sadrže tela preganglijskih parasimpatičkih neurona. Preganglijska vlakna se pružaju u sastavu odgovarajućeg moždanog živca i dolaze do jednog od parasimpatičkih gangliona glave i vrata (*ganglion ciliare*, *ganglion oticum*, *ganglion pterygopalatinum et ganglion submandibulare*) gde se prekidaju. U ganglionima se nalaze tela postganglijskih parasimpatičkih neurona. Njihovi postganglijski aksoni inervišu unutrašnje mišiće oka (*m. sphincter pupillae* i *m. ciliaris*), omogućuju suženje zenice (*miosis*) i akomodaciju oka (prilagođavanje oka blizini predmeta), potom *glandulu lacrimalis*, *parotis*, *submandibularis et sublingualis* i na taj način omogućuju produkciju pljuvačke i suza (Mtui i sar., 2004).

**3) Enterički nervni sistem** se sastoji iz mreže neurona i upravlja funkcijom gastrointestinalnog trakta. Može da deluje nezavisno od simpatičkog i parasimpatičkog nervnog sistema a može biti i pod njihovim uticajem. Enterički nervni sistem može da funkcioniše samostalno, tj. nezavisno od mozga i kičmene moždine ali je pod kontrolom *n. vagus*-a i prevertebralnih simpatičkih gangliona (Standring i sar., 2016). Neuroni enteričkog nervnog sistema kontrolišu lučenje enzima gastrointestinalnog trakta kao i motorne funkcije. Sistem se nalazi u zidovima tankog creva, pre svega jejunuma. Mišićni omotač jejunuma (*tunica muscularis*) je građen iz glatkih mišićnih ćelija, koje su podeljene u dva sloja: sloj uzdužnih vlakana (*stratum longitudinale*) i sloj kružnih vlakana (*stratum circulare*). U kružnom mišićnom sloju se nalazi Auerbahov nervni splet (*plexus myentericus* Auerbach) koji omogućuje peristaltične pokrete creva čiji je zadatak da omoguće potiskivanje hrane ka ileumu i potom ka debelom crevu. U podsluzokožnom sloju zida creva (*tunica submucosa*) se nalazi Majšnerov nervni splet (*plexus submucosus* Meissner). Simpatikus i parasimpatikus imaju modulatorno dejstvo na enteralni nervni sistem; potpuno isključivanje simpatikusa i parasimpatikusa ne dovodi do zaustavljanja funkcije digestivnog trakta (Marinković i sar., 2016).

Simpatičko stablo (*truncus sympathicus*) je parno stablo koje se pruža paravertebralno desno i levo od kičmenog stuba. Pruža se od baze lobanje do trtične kosti i obično se sastoji iz 21 do 24 gangliona. Sastavljen je iz sledećih delova:

1) Vratni deo (*pars cervicalis*), ima tri gangliona

2) Grudni deo (*pars thoracica*), najčešće ima 11 gangliona, koliko i grudnih pršljenova, nalaze se u gornjem i zadnjem medijastinumu u nivou glave rebra (*caput costae*). Broj gangliona je varijabilan i kreće se od 10 do 12. Prvi grudni ganglion je srastao sa donjim vratnim ganglionom i na taj način formiraju zvezdasti ganglion (*ganglion stellatum*). Od grudnih gangliona se odvajaju parijetalne i visceralne grane. Parijetalne grane se pridružuju grudnim živcima (*nn. intercostales*) (Standring i sar., 2016).

Visceralne grane su:

- *Rr. cardiaci thoracici*, odvajaju se od prvih 5 gangliona (T1-T5). Ove grane zajedno sa *n. cardiacus superior, medius et inferior* iz vratnog dela simpatičkog stabla i sa parasimpatičkim granama *n. vagus*-a formiraju *plexus cardiacus superficialis et profundus* za simpatičku i parasimpatičku inervaciju srca (Marinković i sar., 2016).

- *Rr. aortici*, odvajaju se od prvih 5 gangliona (T1-T5), dolaze do grudne aorte (*aorta thoracica*), obavijaju je i grade *plexus aorticus thoracicus*. Vlakna poreklom iz grudnog dela lanca manje inervišu miokard a više SA i AV čvor (Marinković i sar., 2016).

- *Rr. pulmonales*, odvajaju se od drugog, trećeg i četvrtog gangliona (T2-T4). Ova postganglijska simpatička vlakna se spajaju sa parasimpatičkim vlaknima *n. vagusa*-a i formiraju *plexus pulmonalis anterior et posterior* za autonomnu inervaciju pluća (Marinković i sar., 2016).

- *Rr. oesophageales*, odvajaju se od drugog do četvrtog ili od drugog do petog grudnog gangliona (T2-T4 ili T2-T5). Ova postganglijska simpatička vlakna se spajaju sa parasimpatičkim granama *n. vagus*-a i formiraju *plexus oesophagealis anterior et posterior* za autonomnu inervaciju jednjaka (Marinković i sar., 2016).

- *N. splanchnicus major* je specifična visceralna grana grudnog dela simpatičkog stabla jer ne sadrži postganglijska već simpatička preganglijska vlakna. Ne inerviše organe grudne duplje, već prolazi kroz dijafragmu i inerviše organe trbušne duplje. Najčešće nastaje od gangliona T5-T9 ili T5-T10, prolazi kroz *crus dextrum ili sinistrum* dijafragme i dolazi do *ganglion coeliacum*-a od koga polaze postganglijska vlakna koja dolaze do organa abdomena (Marinković i sar., 2016).

- *N. splanchnicus minor* takođe ne sadrži postganglijska već preganglijska simpatička vlakna i inerviše organe abdomena. Najčešće nastaje od gangliona T9-T10 ili T9-T11. Prolazi kroz *crus dextrum ili sinistrum* dijafragme i dolazi do *gangliona aorticorenale* od koga polaze postganglijska vlakna i dolaze do organa trbušne duplje (Marinković i sar., 2016).

- *N. splanchnicus minimus*, predstavlja varijabilnu granu. Ukoliko postoji, sadrži preganglijska simpatička vlakna koja se prekidaju u nekom od prevertebralnih gangliona trbušne duplje. (Marinković i sar. 2016).

Splanhnični živci sadrže i simpatičke grane za krvne sudove – *rr. vasculares* koje se pružaju preko *plexus aorticus abdominalis, plexus iliacus communis, plexus iliacus externus i plexus iliacus internus* (Standring i sar., 2016).

Grudni deo simpatičkog stabla prolazi kroz prečagu, najčešće kroz lumbalni deo (*crus dextrum ili sinistrum*) i nastavlja se na slabinski deo simpatičkog stabla (Standring i sar., 2016).

3) Slabinski deo (*pars lumbalis*) se nalazi u retroperitoneumskom prostoru trbušne duplje, bočno u odnosu na kičmeni stub, u blizini pripojnih snopova *m. psoas major*-a. Ima četiri gangliona koji se nalaze anterolateralno u odnosu na tela lumbalnih pršljenova. Pozicionirani su lateralno u odnosu na trbušnu aortu pa se nazivaju jos i paraaortični ganglioni. Ganglioni su međusobno povezani spojničnim granama, *rr. interganglionares*. Od gangliona se odvajaju sledeće grane:

- *N. splanchnicus lumbalis I*, odvaja se od prvog lumbalnog gangliona, daje postagnlijska simpatička vlakna za *plexus coeliacus, plexus renalis i plexus mesentericus inferior* (Marinković i sar., 2016).

-*N. splanchnicus lumbalis II*, odvaja se od drugog lumbalnog gangliona, daje postganglijska simpatička vlakna za *plexus aorticus abdominalis* i *plexus mesentericus inferior*.

-*N. splanchnicus lumbalis III*, odvaja se od trećeg ili četvrtog lumbalnog gangliona, daje postganglijska simpatička vlakna za *plexus hypogastricus superior*.

-*N. splanchnicus lumbalis IV*, odvaja se od četvrtog lumbalnog gangliona, daje simpatička postganglijska vlakna za *plexus hypogastricus superior et inferior*

Jedan deo simpatičkih vlakana se pridružuje somatskim živcima da bi se omogućila inervacija odgovarajućih arterija. Imaju ulogu u vazokonstrikciji (Marinković i sar., 2016).

4) Krsni deo (*pars sacralis*) leži iza rektuma, sastoji se iz četiri-pet gangliona koji se nalaze anteriorno u odnosu na sakralnu kost a medijalno u odnosu na gornja tri krsna otvora (*foramina sacralia anteriora*). Predstavlja nastavak lumbalnog dela simpatičkog stabla iz retroperitoneumskog prostora trbušne duplje. Simpatička stabla imaju svoj završetak ispred trtične kosti gde je pozicioniran *ganglion impar*. Kroz krsne ganglione prolaze simpatička vlakna poreklom iz bočnih rogova sive mase kičmene moždine L1-L2 segmenata i iz njih izlaze kao *nn. splanchnici sacrales* koji kao i ostali splanhnični živci sadrže preganglijska simpatička vlakna. Mali broj vlakana se u ganglionima prekida i iz njih izlaze kao postganglijska simpatička vlakna. Preganglijska vlakna se prekidaju u pelvičnim prevertebralnim ganglionima, *plexus intermesentericus-a*, *plexus hypogastricus superior-a* i *plexus pelvici-a*. Kroz ganglione sakralnog dela simpatičkog stabla prolaze i dovodna vlakna za *plexus hypogastricus inferior* (Blagojević i sar., 2021).

Simpatičko stablo je preko *rr. communicantes* povezano sa spinalnim živcima. Bela mijelinizovana spojnička grana (*r. communicans albus*) predstavlja skup preganglijskih simpatičkih vlakana koja se odvajaju od spinalnog živca i dolaze do *truncus sympathicus-a* gde se ponašaju različito. Prva grupa dolazi do gangliona simpatičkog stabla i grade sinapse sa ganglijskim ćelijama. Postganglijski aksoni ovih ćelija se potom vraćaju u spinalni živac kao nemijelinizovana vlakna tj. *r. communicans griseus*, i preko prednjih i zadnjih grana spinalnih živaca odlaze na periferiju za inervaciju krvnih sudova (posebno arteriola) i tvorevina kože (znojne žlezde i mišići dlaka). Druga grupa preganglijskih aksona takođe odlazi do gangliona simpatičkog stabla, odakle polaze postganglijska vlakna koja formiraju odgovarajuće simpatičke živce i završavaju se u zidovima unutrašnjih organa. Treća grupa se ne prekida u simpatičkom stablu, već izlaze iz stabla, obrazuju splanhnične živce i završavaju se u prevertebralnim ganglionima, od kojih potom polaze postganglijska vlakna, koja u zidovima unutrašnjih organa inervišu glatke mišiće i žlezde (Mtui i sar., 2004).

Vratni deo simpatičkog stabla (*truncus sympathicus, pars cervicalis*) se nalazi u duplikaturi pretkičmenog lista vratne fascije (*lamina prevertebralis fasciae cervicalis*), dorzalno u odnosu na *n. vagus* i zajedničku karotidnu arteriju (*a. carotis communis*) a ventralno u odnosu na poprečne nastavke vratnih pršljenova i prevertebralne mišiće (*mm. prevertebrales*). Sastoji se iz tri gangliona koji su nastali spajanjem prvobitno odvojenih i segmentalno raspoređenih vratnih gangliona: *ganglion cervicale superius, ganglion cervicale medius, ganglion cervicale inferius*. Gornji i donji vratni ganglion su stalni ganglion a srednji ganglion može da nedostaje. U nivou prvog rebra se nastavlja na grudni deo simpatičkog stabla (*truncus sympathicus, pars thoracica*) a naviše na unutrašnji karotidni živac (*n. caroticus internus*) (Standring i sar., 2016).

Međuganglijske grane (*rr. interganglionares*) međusobno povezuju tri navedena gangliona vratnog dela simpatičkog stabla sa iste strane. Međuganglijske grane između gornjeg i srednjeg gangliona su jednostruke a između srednjeg i donjeg gangliona su dvostruke, tj. postoje i sa prednje i sa zadnje strane (Marinković i sar., 2016).

Donji vratni ganglion (*ganglion cervicale inferius*) je obično spojen sa prvim ganglionom grudnog dela simpatičkog lanca (*truncus sympathicus, pars thoracica*) i zajedno formiraju zvezdasti ganglion (*ganglion stellatum*). Nalazi se u nivou poprečnog nastavka VII

vratnog pršljena, ispred glave prvog rebra (*caput costae prima*), u blizini *m. longus cervicis*, tj. njegove spoljašnje ivice. Ispred ganglion se nalaze *a. et v. vertebralis*. *Membrana suprapleuralis* ga odvaja od vrha pluća, tj. od *cupulae pleurae* (Standring i sar., 2016). Od ganglion se odvajaju:

-*N. cardiacus cervicalis inferior*, jaka grana za srce, spušta se naniže, ispod potključne arterije (*a. subclavia*), potom ispred dušnika, ulazi u grudnu duplju kroz *aperturu thoracis superior* i donosi postganglijska simpatička vlakna za *plexus cardiacus*.

-*N. vertebralis*, obavlja *a. vertebralis*, gradeći *plexus vertebralis*. U izgradnji spleta učestvuju i spinalni živci, tako da su vlakna i somatskog i spinalnog tipa. *Plexus vertebralis* se produžava na *plexus basilaris* a potom na spletove koji obavijaju zadnje moždane arterije (*a. cerebri posterior dextra et sinistra*).

-*Nn. thyroidei*, živci koje prate *a. thyroideu inferior*, dolaze do štitaste i paraštitastih žlezda i donose im simpatička postganglijska vlakna (Standring i sar., 2016).

Srednji vratni ganglion (*ganglion cervicale medius*) je značajno slabije razvijen u odnosu na gornji vratni ganglion. Može da nedostaje, može biti predstavljen sa nekoliko manjih ganglion a opisani su slučajevi da je spojen sa donjim vratnim ganglionom. Ukoliko postoji, nalazi se u nivou poprečnog nastavka VI vratnog pršljena, u blizini donje štitaste arterije (*a. thyroidea inferior*) (Standring i sar., 2016). Od ganglion se odvajaju:

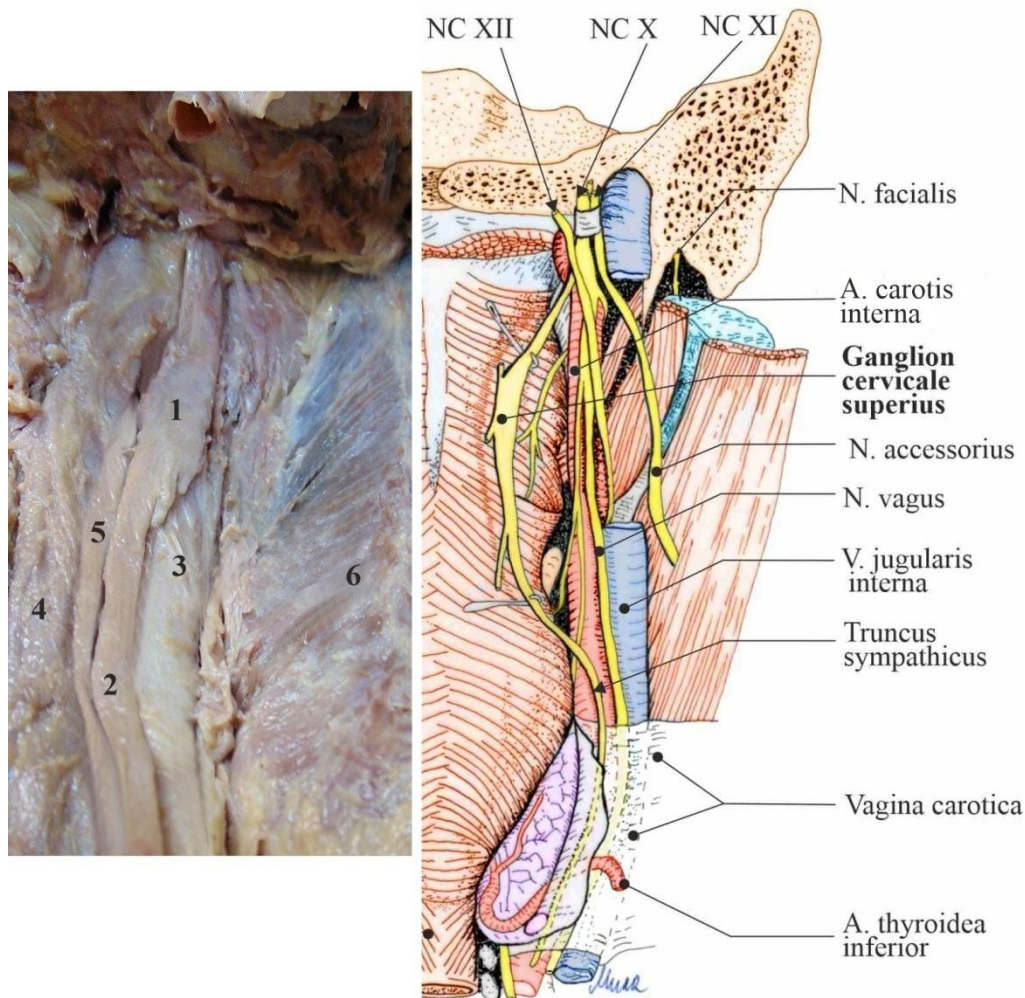
-*Plexus caroticus communis*) koji prati i inerviše zajedničku karotidnu arteriju (*a. carotis communis*).

-*N. cardiacus cervicalis medius*, spušta se naniže, ulazi u grudnu duplju kroz *aperturu thoracis superior* gde zajedno sa ostalim simpatičkim i parasimpatičkim granama *n. vagus*-a formira *plexus cardiacus*.

-Grane za štitastu i paraštitaste žlezde, ova simpatička vlakna do žlezda dolaze direktno ili preko periarterijskih spletova koji obavijaju *a. thyroideu superior et inferior*. Vlakna su vazomotorna, tj. dovode do vazokonstrikcije, što će smanjiti dotok krvi u žlezde. Vlakna ne utiču na lučenje hormona jer je hormonska aktivnost pod kontrolom hipofize (Waschke i sar., 2019).

### **1.1.3. Anatomske karakteristike gornjeg vratnog simpatičkog ganglion**

Gornji vratni simpatički ganglion (GVSG) (*ganglion cervicale superius, GCS*) je najveći od svih simpatičkih ganglion, dužine 10-30 mm, širine 5-8 mm, često sa suženjem u sredini. Može imati vretenasti, ovalni ili cilindrični oblik. Najčešće se nalazi se ispred poprečnih nastavaka drugog i trećeg vratnog pršljena (C2, C3), između dva lista pretkičmene fascije (*fascia prevertebralis*). Međutim, opisani su slučajevi lokalizacije u nivou poprečnih nastavaka prvih 5 vratnih pršljenova. Pozicioniran je iza *n. vagus*-a, dorzokranijalno od larinksa a ispred pretkičmenih mišića (*m. longus capitis*), unutrašnje karotidne arteije (*a. carotis interna*) i retrofaringealnih limfnih nodusa (Fazliogullari i sar., 2016; Loke i sar., 2016). U bliskom je odnosu i sa ostalim elementima laterofaringealnog prostora (Slika 1.). Najveći deo simpatičke inervacije glave i vrati potiče upravo od ovog ganglion. GVSG je embrionalno ektodermalnog porekla, potiče od nervne kreste, kao i većina delova perifernog nervnog sistema (Fazliogullari i sar., 2016).



**Slika 1.** Položaj i odnosi GVSG. Leva slika- disekcija leve polovine vrata; Desna slika- crtež desne polovine vrata (pogled otpozadi na ždrelo po uklanjanju kičmenog stuba).

U odnosu na anatomske položaje, grane gornjeg vratnog ganglion se dele na lateralne, medijalne i prednje. Sadrže postganglijska simpatička vlakna.

Lateralne grane odlaze u prvih četiri spinalna živca za simpatičku inervaciju kože vrata (znojne žlezde, mišići podizači dlaka i krvne sudove kože. Označavaju se kao sive spojnice grane (*rr. communicantes grisei*). Odlaze i u neke kranijalne živce. *N. jugularis* se penje naviše ka bazi lobanje i deli na dve grane, jedna odlazi u donji ganglion IX kranijalnog živca (*ganglion inferius nervi glossopharyngei*) a druga u gornji ganglion X kranijalnog živca (*ganglion superius nervi vagi*) (Standring i sar., 2016).

Medijalne grane čine:

a) laringofaringealne grane (*rr. laryngopharyngei*) – ima ih 2-3, ove graničice prate gornju grkljansku arteriju (*a. laryngea superior*) i zajedno sa *rr. pharyngei n. glossopharyngeus*-a i *rr. pharyngei n. vagus*-a formiraju faringealni splet (*plexus pharyngeus*). *Plexus pharyngeus* sadrži motorna, senzitivna i parasimpatička vlakna. Motornim vlaknima inervišu većinu mišića mekog nepca i ždrelo, somatosenzitivnim vlaknima inervišu sluznicu orofarinksa a parasimpatičkim vlaknima faringealne žlezde (Standring i sar., 2016).

b) gornji vratni srčani živac (*n. cardiacus cervicalis superior*) – odvaja se iz distalnog dela ganglion, spušta se naniže, ulazi u grudnu duplju preko *aperturae cervicalis superior* i



donosi simpatička postganglijska vlakna za inervaciju srca. Ova vlakna zajedno za ostalim simpatičkim živcima za srce i sa parasimpatičkim vlaknima lutajućeg živca (*n. vagus*) formiraju kardijačni splet (*plexus cardiacus*).

Prednje grane gornjeg vratnog gangliona grade živce ili spletove oko spoljašnje i unutrašnje karotidne arterije (*a. carotis externa et interna*) i njihovih grana: (Standring i sar., 2016).

a) Unutrašnji karotidni živac (*n. caroticus internus*) se pruža zadnjom stranom unutrašnje karotidne arterije (*a. carotis interna*), deli se na dve grane, spoljašnju i unutrašnju koje se međusobno bogato anastomoziraju gradeći oko arterije veoma razgranat simpatički unutrašnji karotidni splet (*plexus caroticus internus*). *Plexus caroticus internus* inerviše mišićni sloj ove arterije (*tunica muscularis*), prati je na njenom putu, pruža se zajedno sa arterijom kroz *canalis caroticus*, napušta ga u vrhu piramide temporalne kosti, potom ulazi u *sinus cavernosus*. Po napuštanju kavernoznog sinusa deli se na svoje završne grane, splet koji obavlja *a. cerebri medii* i splet koji obavlja *a. cerebri anterior* (Standring i sar., 2016).

Bočne grane *n. caroticus internus*-a su:

-*Plexus ophthalmicus* – obavlja oftalmičnu arteriju (*a. ophthalmica*) i simpatički inerviše njen mišićni sloj (*tunica muscularis*) (Standring i sar., 2016.)

-Karotidotimpanični živci (*nn. caroticotympanici*) – opisuju se dve grančice koje se najčešće odvajaju od *n. caroticus internus*-a unutar karotidnog kanala (*canalis caroticus*), potom ulaze u bubnu duplju (*cavitas tympani*) kroz istoimene kanale (*canaliculi caroticotympanici*). Na unutrašnjem zidu bubne duplje, na promontorijumu puža (*cochlea*) dolazi do spajanja sa *n. tympanicusom*, parasimpatičkom granom *n. glossopharyngeus*-a i na taj način formiraju timpanički pleksus (*plexus tympanicus*) koji inerviše bubnu duplju. *Plexus tympanicus* sadrži simpatička, parasimpatička i viscerosenzitivna vlakna. Viscerosenzitivna vlakna su poreklom od receptora za bol koji su raspoređeni unutar sluznice bubne duplje. (Standring i sar., 2016.)

-Duboki petrozni živac (*n. petrosus profundus*) odvaja se od *n. caroticus internus*-a u intrakranijalnom delu, neposredno nakon ulaska unutrašnje karotidne arterije u srednju lobanjsku jamu, iznad proderanog otvora (*foramen lacerum-a*), potom probija njegovu bazilarnu hrskavicu, dolazi na donju stranu lobanje gde se spaja sa velikim petroznim živcem (*n. petrosus major*), parasimpatičkom granom *n. facialis*-a i formiraju živac krilastog kanala (*n. canalis pterygoidei*, Vidiusov živac). *N. canalis pterygoidei* ulazi u pterigoidni kanal, napušta ga kroz njegov prednji otvor i dospeva u krilastonepčanu jamu (*fossa pterygopalatina*) i krilastonepčanom ganglionu (*ganglion pterygoopalatinum*) donosi simpatička postganglijska i parasimpatička preganglijska vlakna za inervaciju suzne žlezde, žlezda sluznice nosne duplje, tvrdog i mekog nepca i nazalnog dela ždrele (Standring i sar., 2016).

-Simpatička grana za cilijarni ganglion (*radix sympathica ganglii ciliaris*), odvaja se od *n. caroticus internus*-a u nivou prednjeg dela *sinus cavernosus*-a, potom ulazi u orbitu kroz gornju očnu pukotinu (*fissura orbitalis superior*) i ulazi u *ganglion ciliare* direktno ili preko *n. ophthalmicus*-a ili njegove završne grane, *n. nasociliaris*-a. Ulazi u ganglion bez prekidanja i donosi mu simpatička postganglijska vlakna za inervaciju mišića dilatatora zenice (*m. dilatator pupillae*), tarzalne mišiće (*m. tarsalis superior et inferior*) i mišić pokosnice (*m. orbitalis*). Kontrakcijom *m. dilatator pupillae* dolazi do širenje zenice (*mydriasis*), kontrakcijom tarzalnih mišića se održava normalna širina međukapačnog otvora, a kontrakcijom *m. orbitalis*-a se održava fiziološka pozicija očne jabučice u orbiti (Standring i sar., 2016).

-Anastomotične grane sa kranijalnim živcima III, IV, V i VI odvajaju se od *n. caroticus internus*-a u kavernoznom sinusu i odlaze u navedene kranijalne živce (Moriyama i sar., 1995).

-Živac epifize (*n. pinealis*), donosi simpatička vlakna pinealnoj žlezdi koja omogućuju da pinealociti, tj. ćelije epifize luče hormon melatonin koji ima ulogu u regulisanju osnovnog dvadeset-četvoročasovnog bioritma čoveka, tj. cirkadijalnom ritmu. Ključnu ulogu u cirkadijalnom ritmu ima jedro *nc. suprachiasmaticus hypothalami* koje preko *tractus retinohypothalamicus*-a prima informacije o količini svetlosti spolja. Aksoni ovog jedra potom odlaze preko *fasciculus longitudinalis dorsalis*-a u spinalni simpatički centar (segment T1), a odavde u *ganglion cervicale superius*, a od njega se odvaja *n. pinealis* koji stimuliše epifizu da luči melatonin koji krvotokom dospeva do ciljnih tkiva. Melatonin utiče na sekreciju odgovarajućih hormona, na promenu telesne temperature i slično (Standring i sar., 2016).

c) *N. carotici externi* su grane za spoljašnji karotidni splet (*plexus caroticus externus*) koji obavlja spoljašnju karotidnu arteriju (*a. carotis externa*) i inerviše mišićni sloj arterije. Od spoljašnjeg karotidnog spleta se odvajaju grane koje grade spletove oko grana spoljašnje karotidne arterije. *Plexus facialis* (splet oko *a. facialis*) daje postganglijska simpatička vlakna *ganglionu submandibulare* za inervaciju *glandulae submandibularis et sublingualis*. *Plexus meingeus medius* (splet oko *a. meningae mediae*) daje postganglijska simpatička vlakna za *ganglion oticum*, za simpatičku inervaciju parotidne pljuvačne žlezde (Standring i sar., 2016).

GVSG je vaskularizovan od strane grana ushodne ždrelna arterije (*a. pharyngea ascendens*), prvom i najmanjom granom spoljašnje karotidne arterije. *A. pharyngea ascendens* se pruža između ždrela i unutrašnje karotidne arterije i daje grane za *truncus sympathicus*, ždrelo, prevertebralne mišiće, bubnu duplju i jedan deo tvrde moždane opne. Smatra se da postoji nešto slabija vaskularizacija na spoju gornje i donje dve trećine gangliona. Vene gangliona su direktne zadnje pritoke unutrašnje jugularne vene (Tubbs i sar., 2002). Oštećenje vaskularne mreže gangliona moguće je tokom otvorenih pristupa prednjoj strani vratne kičme, naročito kod diskus hernije vratnih pršljenova i tumora ovog predela, što može da dovede do simptoma sličnih Hornerovom sindromu (Yokota i sar., 2018). Optimalna distribucija krvnih sudova unutar gangliona je od presudnog značaja za stabilnost ove specifične neuronske mreže. Nepravilnosti u obrascu grananja intraganglijskih malih krvnih sudova mogu da dovedu do promena u satelitskim glijalnim ćelijama. Aktivacija satelitskih glijalnih ćelija zbog komunikacije sa neuronima GVSG dovodi do neuronske disfunkcije. Ovo može izazavati nedostatak kontrole sinaptičke transmisije od strane satelitskih glijalnih ćelija i hiperekscitabilnosti tela simpatičkih neurona uzrokujući bol kao rezultat pojačane neuronske aktivnosti (Hanani i Spray, 2020). Za sada nije poznata distribucija malih krvnih sudova unutar GVSG u poređenju sa *ganglionom trigeminale* i *ganglion geniculi* (Smoliar i sar., 1998; Dožić i sar., 2014; Četković i sar., 2020; Mirčić i sar., 2021).

Neuroni u GVSG su multipolarni sa postganglijskim nemijelinizovanim aksonima. Mikromorfološka specifičnost GVSG se ogleda u podeli ganglijskih simpatičkih neurona u dve zone: proksimalnu i distalnu. *N. caroticus internus* polazi iz gornjeg dela i pretežno inerviše gornji deo glave i intrakranijalne strukture. *N. caroticus externus* polazi iz donjeg dela gangliona i inerviše organe u vratu i donjim delovima glave (Headley i sar., 2005; Standring i sar., 2016).

GVSG može biti potencijalni izvor neuropatskog bola u slučajevima postherpetičke i trigeminalne neuralgije, pa se u njegovu blizinu injicira anestetik kao terapija (Tepper i sar., 2017; Siegenthaler i sar., 2013). Poznavanje anatomskog položaja i morfometrijskih karakteristika gangliona od značaja je za bezbedno injiciranje terapije da bi se izbeglo povređivanje okolnih nerava, a naročito unutrašnje karotidne arterije (Mitsuoka i sar., 2017; Ünsal i sar., 2021). Tokom procedure za vizualizaciju gangliona koristi se ultrazvučno vođenje plasiranja igle. Oštećenje ćelija GVSG ili prekid simpatičkih nervnih vlakana dovodi do Hornerovog sindroma, sa simptomima koji se ogledaju u miozi (suženje zenica), anhidrozi lica (nedostatak znojenja), enoftalmusu oka, i delimičnoj ptozi (padu gornjeg kapka). Suženje

zenice nastaje zbog nemogućnosti kontrakcije *m. dilatator pupillae*, semiptoza zbog nemogućnosti kontrakcije tarzalnih mišića a enoftalmus zbog nemogućnosti kontrakcije *m. orbitalis*-a (Standring i sar., 2016). Iako je opisan ranije, sindrom je formalno nazvan 1869. godine po švajcarskom oftalmologu Johann Friedrich Horner-u. Put inervacije navedenih mišića oka počinje u posterolateralnom hipotalamusu odakle aksoni dolaze do *nc. intermediolateralis* bočnih rogova sive mase kičmene moždine gde se nalazi Badžov centar (*centrum ciliospinale* Budge). U ovom jedru su smeštena tela preganglijskih neurona. Aksoni preganglijskih neurona dolaze do GVSG gde se prekidaju. Aksoni postganglijskih neurona se pružaju u sastavu *plexus caroticus internus*-a i dolaze do *gangliona ciliare* i potom preko *nn. ciliares breves* do ciljnih organa u očnoj duplji (Fazliogullari i sar., 2016; Dafereras i sar. 2020). GVSG se nalazi ispred retrofaringealnih limfnih čvorova što može otežati diferencijaciju stadijuma neoplazmi vrata. Karcinomi nazofarinksa, orofarinksa i štitaste žlezde obično metastaziraju u retrofaringealne limfne čvorove pa je jako važno njihovo razgraničenje u odnosu na GVSG. U tu svrhu se koristi magnetna rezonanca, da bi se napravila razlika između navedenih struktura. Uloga simpatičkog sistema u nastanku glavobolja još uvek nije utvrđena ali autonomne reakcije u određenim organima (zenice, znojne žlezde, srce itd) koje prati bol mogu biti posledica simpatičke aktivnosti. Tokom dilatacije unutrašnje karotidne arterije može doći do kompresije *n. caroticus internus*-a pa mogu nastati znaci simpatičke lezije (Hoffmann i sar., 2019). Norepinefrin iz simpatičkih nerava zajedno sa senzornim neuronima učestvuje u stimulaciji ili senzibilizaciji nociceptivnih nerava što je poznato kao „simpatički održavan bol“ (Jänig, 2003).

#### **1.1.4. Mikromorfološka organizacija nervnog sistema**

U histološkom smislu, nervni sistem čine dve grupe ćelija, neuroni i potporne, tj. glija ćelije. Neuron predstavlja osnovnu jedinicu građe nervnog sistema. Neuroni stvaraju i sprovode nervne impulse. Međusobno komuniciraju preko sinapsi čime se omogućuje primanje, integracija i transport elekto-hemijskih informacija. Nervni sistem koristi neurotransmitere i neuropeptide koji se sintetišu u različitim delovima tela i mozga kao signale za komunikaciju. Neuroni imaju tri osnovne uloge: 1) senzorna, kojom se omogućuje registrovanje različitih promena u telu 2) integrativna, omogućuje tumačenje promena i 3) motorna, omogućuje pokretanje akcije u formi dejstva na druge neurone. Putem sinapsi neuroni komuniciraju i sa nervnim i žlezdanim ćelijama čime se omogućuje usklađenost mišićnih kontrakcija i sekrecija žlezdi (Marinković i sar. 2016). Klasifikacija neurona je izvršena na osnovu oblika some, dužine aksona, broja nastavaka, funkcije i neurotransmitera koje oslobađaju. Na osnovu broja nastavaka dele se na pseudounipolarne, unipolarne, bipolarne i multipolarne neurone. Unipolarni neuroni nemaju dendrite a imaju jedan akson, bipolarni imaju jedan dendrit i jedan akson, multipolarni imaju jedan akson i dva ili više dendrita a pseudounipolarni predstavljaju posebnu vrstu unipolarnih neurona čiji se nastavak deli na jedan centralni i jedan periferni produžetak pri čemu nervni impuls zaobilazi telo i direktno prelazi sa perifernog na centralni produžetak. Pseudounipolarni neuroni se nalaze u senzitivnim ganglionima kranijalnih i spinalnih živaca, bipolarni u retini, jedru *n. vestibulocochlearis*-a, sluznici nosne duplje i kori velikog mozga, multipolarni su najčešći i ima ih u raznim delovima nervnog sistema (Sapio i sar., 2020; Standring i sar., 2021).

Glijalne ćelije su uključene u mnoge aktivnosti koje su od značaja za pravilno funkcionisanje organizma kao celine. Ima ih nekoliko puta više nego nervnih ćelija. Omogućuju embrionalni razvoj nervnog sistema, komunikaciju između ćelija i razmenu informacija, kontrolu zapaljenskih procesa, imuni odgovor. Imaju ulogu u inflamaciji nervnog tkiva, nastajanju stanja koja su praćena bolom, borbi protiv štetnih materija, u senzitivizaciji organizma itd. Dele se na astrocite, oligodendocite, mikroglijalne ćelije i endimne ćelije, nalaze se u centralnom nervnom sistemu. U perifernom nervnom sistemu

se nalaze Švanove (Schwann) i glijalne satelitske ćelije (Sapio i sar., 2020; Standring i sar., 2016).

Astrociti predstavljaju najveće i najbrojnije glijalne ćelije, zvezdastog oblika. Nalaze se i u sivoj i u beloj masi. Razlikuju se protoplazmastični astrociti koji se pretežno nalaze u sivoj masi i fibrozni astrociti koji se nalaze u beloj masi. Imaju potpurnu ulogu, homeostatsku ulogu, metaboličku ulogu, tokom procesa diferencijacije određuju pravac kretanja neurona, služe kao depo glikogena, učestvuju u formiranju krvno-moždane barijere, regulišu transport materija iz likvora u nervne ćelije, ulogu u regulaciji ekscitabilnosti, u regulaciji ekstracelularnog jonskog sadržaja, u klirensu i metabolizmu neurotransmitera (Sofroniew i Vinters, 2009).

Oligodendociti se u manjoj količini nalaze u sivoj masi centralnog nervnog sistema gde se označavaju kao satelitske ćelije neurona. Brojniji su u beloj masi gde njihovi produžeci učestvuju u izgradnji mijelinskog omotača. Mijelinski omotač obavlja aksonski produžetak a grade ga oligodendrociti iz centralnog nervnog sistema i Švanove ćelije iz perifernog nervnog sistema (Milisavljević i sar., 2004).

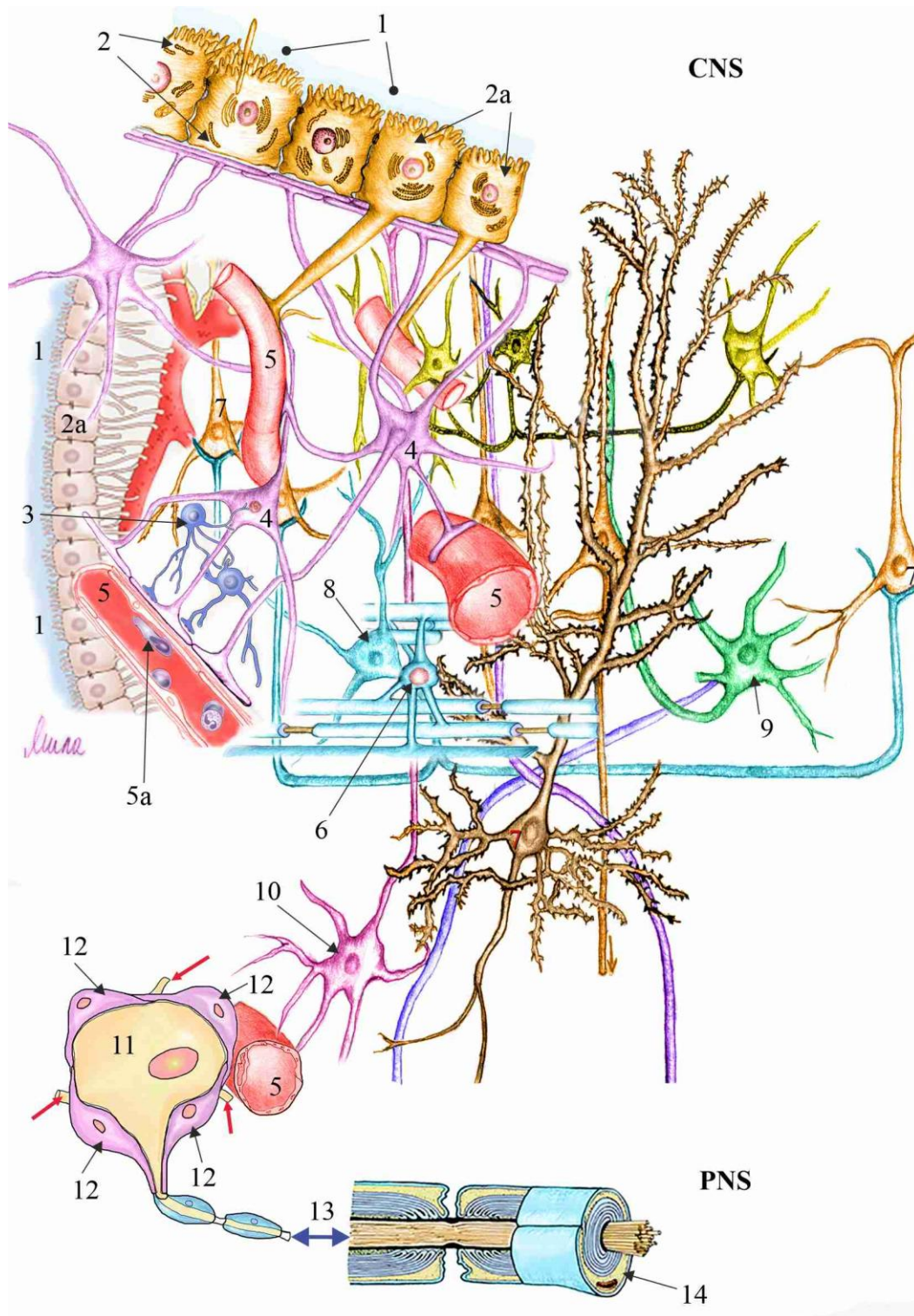
Mikroglijalne ćelije su najmanje glijalne i uopšte najmanje ćelije u centralnom nervnom sistemu. Imaju ulogu u fagocitozi, tj. imaju ulogu makrofaga u zapaljenskim i degenerativnim procesima u CNS-u. Vode poreklo od monocita krvi (Milisavljević i sar., 2004).

Ependimne ćelije su epitelne ćelije koje oblažu moždane komore i *canalis centralis medullae spinalis*. Jako su im slične horoidne ćelije, koje u komorama oblažu horoidni splet (*plexus choroideus*). Njihova funkcija je uprkos mnogobrojnim istraživanjima ostala nejasna. Smatra se da učestvuju u stvaranju cerebrospinalne tečnosti. Imaju cilije koje pomažu protok cerebrospinalne tečnosti. Broj cilija zavisi od veličine kičmene moždine i kičmenog kanala. Moguće je da pružaju metaboličku podršku drugim glijalnim ćelijama. Uključene su u metabolizam glukoze i fruktoze (Slika 2.) (Standring i sar., 2016).

U perifernom nervnom sistemu se nalaze dve vrste gangliona: autonomni i senzorni. Sadrže tela neurona sa omotačem od satelitskih glijalnih ćelija. Simpatički, parasimpatički i senzorni ganglioni sadrže funkcionalno i morfološki različite ganglione. Senzorni ganglioni sadrže tela neurona sa dovodnim ( aferentnim) nervnim vlaknima a autonomni ganglioni sadrže tela autonomnih neurona čiji aksoni predstavljaju odvodna ( eferentna) vlakna. Autonomnim ganglionima pripadaju simpatički ganglioni, sadrže ganglijske nervne ćelije (GNĆ) i glijalne satelitske ćelije (GŚĆ) (Andreeva i sar., 2022). Sinapse između autonomnih postganglijskih neurona i efektor a se razlikuju u odnosu na sinapse između neurona. Oni oslobađaju neurotransmitere duž značajnog dela aksona i samim tim kroz veliki deo samog efektor a. Neurotransmitter potom procesom difuzije odlazi kroz intersticijsku tečnost do receptora koji se nalaze u tkivu. Neurotransmitter se oslobađa difuzno tako da istovremeno utiče na veći broj ćelija u tkivu. Na ovaj način se omogućuje širenje električne aktivnosti iz jedne ćelije u drugu što može uticati na aktivnost celog tela (McCorry i sar., 2007).

## 1.2. Mikromorfološka struktura gornjeg vratnog simpatičkog gangliona

Ganglijske nervne ćelije (GNĆ) i glijalne satelitske ćelije (GŚĆ) su dva glavna tipa ćelija gornjeg vratnog gangliona, kao i ostalih autonomnih gangliona. Ganglijske nervne ćelije su histološki multipolarne. Njihovi dendriti su mesta formiranja najbrojnijih aksodendritskih sinapsi sa preganglijskim aksonima. Aksosomatske sinapse su ređe. Glijalne satelitske ćelije u potpunosti prekrivaju tela nervnih ćelija i sinapse dovodnih vlakana sa telima multipolarnih neurona (kakvih nema u senzornim ganglionima gde su nervne ćelije pseudounipolarne), pa mogu imati značajnu ulogu u interakciji sa njima (Standring i sar., 2016).

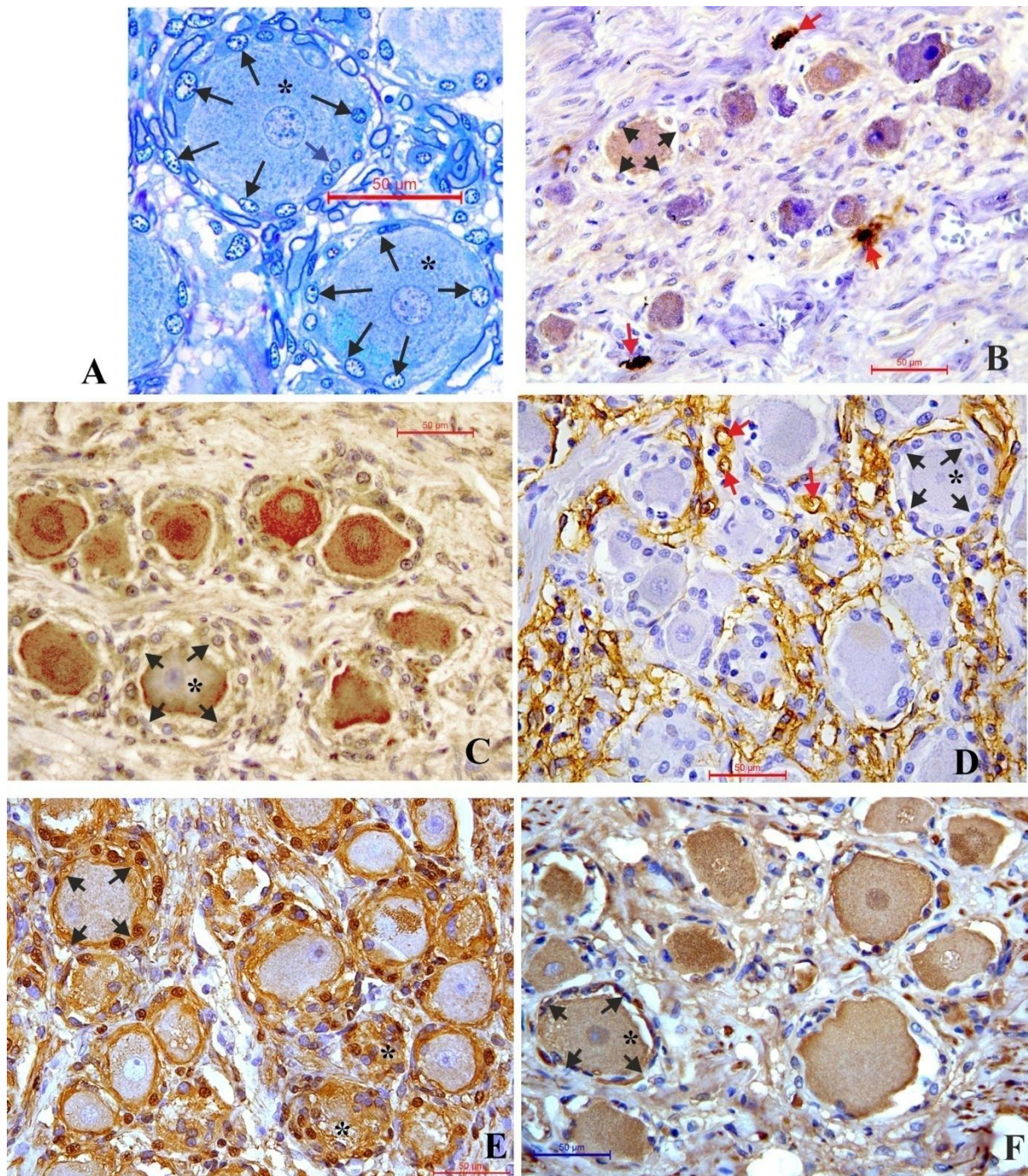


**Slika 2.** Neuroglijske i nerve ćelije CNS-a i PNS-a: 1- cerebrospinalni likvor, 2- ependimne ćelije, 2a- taniciti, 3- mikroglija, 4- astrociti, 5- kapilari, 5a- makrofag, 6- oligodendrocit, 7- piramidni neuroni, 8- korpasti interneuron, 9- stelatni interneuron, 10- Martinotijev interneuron, 11- simpatička multipolarna ganglijska nervna ćelija, 12- satelitske glijalne ćelije, crvene strelice- dendriti, 13- akson, 14- Švanova ćelija koja formira slojeve mijelina oko aksona.

### 1.2.1. Glijalne satelitske ćelije (GŚĆ)

Glijalne satelitske ćelije (GŚĆ) su specijalizovane ćelije koje formiraju morfološki i funkcionalni perineuronski omotač oko neurona u ganglijama perifernog nervnog sistema i održavaju normalnu neuronsku homeostazu. Postoje u senzornim i autonomnim ganglionima PNS (Milosavljević i sar., 2021; Zdora i sar., 2022). Postavljene su tako da formiraju kompletan omotač oko tela neurona sa međusobnim ekstracelularnim prostorom od 20 nm, pa se zajedno označavaju kao morfološka i funkcionalna jedinica (Hanani i sar., 2020). Površinski krvni sudovi mozga i tvrde moždane opne dobijaju inervaciju od ganglijskih ćelija unutar ganglionu PNS-a. Simpatički perivaskularni nervi koji polaze od GVSG oslobađaju neuropeptid Y, adenozin trifosfat (ATP), norepinefrin i izazivaju vazokonstrikciju. Parasimpatička vlakna dolaze od *ganglion pterygopalatinum* i *ganglion oticum* i sadrže vazoaktivni intestinalni peptid (VIP), azot-oksidi (NO) i acetyl-holin (ACh) i deluju kao vazodilatatori. Senzorni nervi predstavljaju periferne produžetke pseudounipolarnih ćelija *ganglion trigeminale* sa supstancom P i peptidom povezanim sa kalcitoninским genom (CGRP) (Hamel, 2006; Agarwal i Carare, 2021). GŚĆ su iregularnog oblika sa nepravilnim produžecima koji se međusobno preklapaju sa susednim istoimenim ćelijama. Sa druge strane ganglijske ćelije stvaraju iregularne izvrate ćelijske membrane koje stupaju u kontakt sa uvučenom površinom satelitske ćelije. Na ovaj način se uspostavlja neka vrsta kontakta između GŚĆ i GNC (Andreeva i sar., 2022). Procena broja GŚĆ po telu humane GNC još uvek se ne zna. Očigledno je da manje ganglijske ćelije imaju manji broj satelitskih ćelija (Milosavljević i sar., 2021).

GŚĆ u potpunosti prekrivaju telo nervne ganglijske ćelije i čuvaju homeostazu ove mikrosredine, što odgovara glijalno neuralnoj jedinici u perifernom nervnom sistemu. Ekscitacija GŚĆ povredom ili inflamacijom dovodi do oslobađanja molekula zapaljenja sa nociceptivnim efektom što izaziva senzitivaciju i aktivaciju neurona. Pokazano je da su adenozin trifosfat (ATP), citokini (faktor alfa nekroze tumora - TNF-  $\alpha$ ; interleukin 1beta - IL-1 $\beta$ ) i hemokini transmiteri komunikacije između neurona i GŚĆ. Aktivacija funkcionalnih jedinica neurona i GŚĆ stvara inflamatornu kaskadu koja uključuje i druge neurone i GŚĆ. Ovaj fenomen je uočen kod razvoja bolnih sindroma i takođe može da bude u osnovi razvoja hroničnih bolnih stanja (Blum i sar., 2014; Mirčić i sar., 2021). GŚĆ formiraju mozaični prekrivač koji u potpunosti prekriva tela ganglijskih neurona. Same GŚĆ se svojim plazmalemama međusobno preklapaju, ali i međusobnim čvrstim vezama ojačavaju povezivanje. Prisutne su dve vrste veza: okludentne veze i neksusi. Okludentne (engl. *tight junction*) su čvrste veze tipa barijere koje sprečavaju prolazak molekula i jona kroz intercelularni prostor između plazmalema, dok neksusne veze (engl. *gap junction*) sadrže kanaliće (oko 2 nm u prečniku) koji dozvoljavaju prolazak molekula i jona kroz intercelularni prostor između GŚĆ, ali i kroz njih prema prostoru oko ganglijske nervne ćelije (Hanani i sar., 2021) (Slika 3.).



**Slika 3.** Histološke karakteristike ganglijskih i satelitskih ćelija. **A-** Polutanki isečak trigeminalnog gangliona pacova; ganglijske nervne ćelije (zvezdice), GSC (strelice) (bojenje toluidin plavim). **B-** MT pozitivna imunoreaktivnost u mastocitima humanog gornjeg vratnog simpatičkog gangliona, GSC (crne strelice), mastociti (crvene strelice). **C-** CGRP imunoreaktivnost malih i srednjih ćelija humanog spinalnog gangliona, GSC su negativne kao i ćelija označena zvezdicom. **D-** CD34 imunoreaktivnost endotelnih ćelija kapilara (crvene strelice) oko GSC (crne strelice) koje prekrivaju neurone (zvezdica) humanog trigeminalnog gangliona. **E-** S-100 protein imunoreaktivnost svih GSC i nekih neurona (zvezdice) humanog trigeminalnog gangliona. **F-** NFP (protein neurofilamenata) imunoreaktivnost neurona humanog spinalnog gangliona (zvezdica), GSC (strelice) su negativne (preparati iz kolekcije Laboratorije za vaskularnu morfologiju).

Održavanje homeostaze u međućelijskoj sredini između neurona u ganglionima je zadatak GSC. Povećanje vanćelijske koncentracije kalijuma (K<sup>+</sup>) nastaje kao rezultat nervne aktivnosti. GSC na svojoj površini imaju kalijumske kanale Kir4.1 koji imaju centralnu ulogu u preuzimanju kalijuma. Neksusne veze između GSC omogućavaju brzu preraspodelu jona kalijuma među susjednim ćelijama što uspostavlja perineuralnu homeostazu. Na sličan način se u perineuralnoj mikrosredini održava koncentracija gama amino buterne kiseline (GABA) i tako štite sami neuroni od njene prevelike koncentracije (Hanani i sar., 2020).

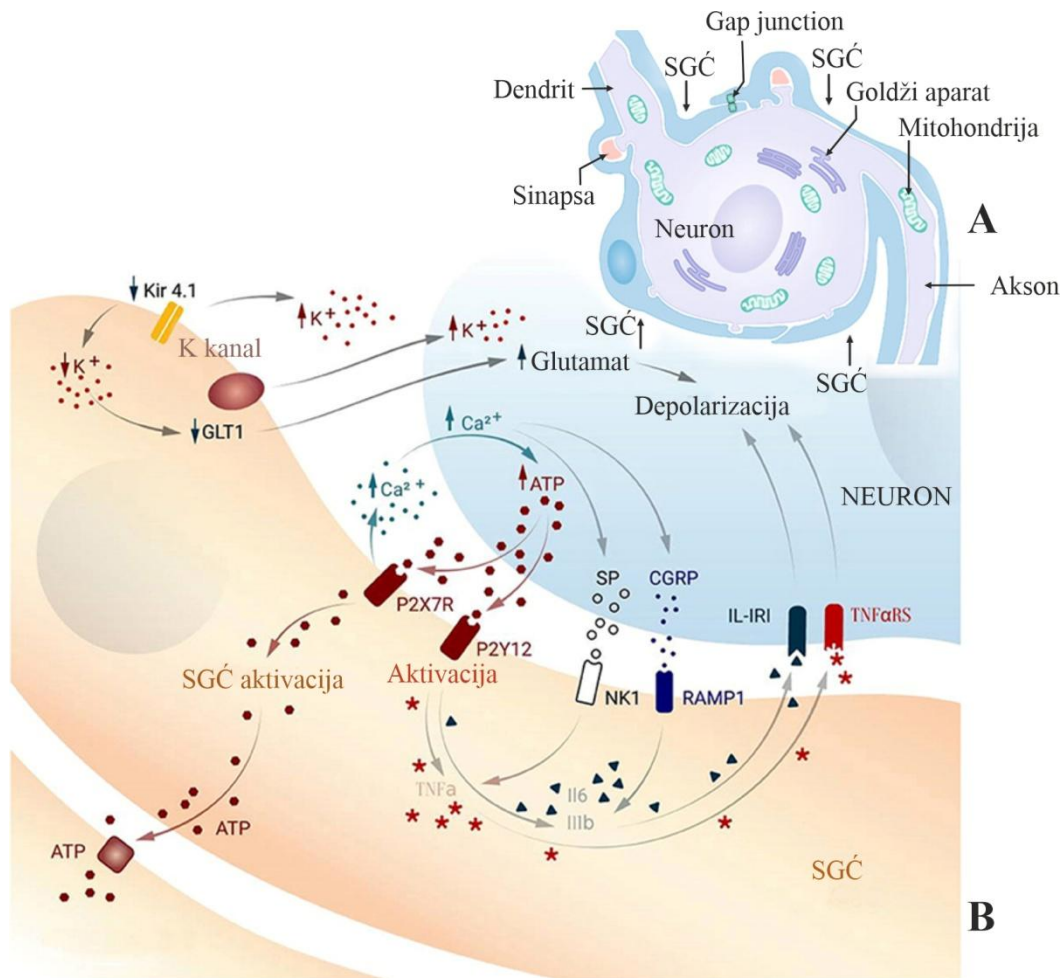
Koncentracija glutamata, ekscitatornog neurotransmitera u centralnom i perifernom nervnom sistemu, se u ganglionima pažljivo kontroliše na nivou GSC. Smatra se da autonomne GSC u GVSG, zbog bliskog odnosa sa ganglijskim neuronima, mogu potencijalno da utiču na sinaptičku transmisiju. Ukoliko nervna ćelija oslobađa preveliku količinu glutamata u sinaptičku pukotinu dolazi do njene hiperekscitabilnosti i neurotoksičnosti, što se manifestuje bolnim stanjem (Pereira i sar., 2019). U perifernom nervnom sistemu ne postoji drugi način za uklanjanje glutamata već neposredno GSC unose ekstracelularni glutamat i svojim enzimom glutamin sintetazom pretvaraju glutamat u glutamin i ne dozvoljavaju povišenje njegovog nivoa i hiperekscitabilnost ganglijskih ćelija. Glutamin ostaje u neuronima, pretvara se u glutamat i važan je transmiter u sinapsnoj transmisiji. Na taj način normalna aktivnost nervnih ganglijskih ćelija je kontrolisana odgovarajućim GSC (Slika 4.) (Zhao i sar., 2018).

GSC simpatičkih gangliona tek treba da postanu predmet proučavanja jer se malo zna o njihovoj ulozi u kontroli sinaptičke transmisije ganglijskih nervnih ćelija (Hanani i sar., 2020). One su iste histološke građe kao satelitske ćelije u senzornim ganglionima, uključujući ulogu u razvoju i preživljavanju ganglijskih nervnih ćelija (Hanani i sar., 2021). Ključna razlika je u drugom morfološkom tipu ganglijske nervne ćelije, koja je kod simpatičkih gangliona multipolarna, za razliku od pseudounipolarne nervne ćelije senzornih gangliona. Multipolarne nervne ćelije se karakterišu postojanjem jednog aksona i dva ili više dendrita koji se odvajaju od tela ćelije. Osnovna razlika simpatičkog i senzornog gangliona, nastala postojanjem multipolarnih ganglijskih ćelija, je postojanje brojnih sinapsi, kako na dendritima tako i na telu ganglijske nervne ćelije. GSC simpatičkog gangliona pored tela ganglijske ćelije prekrivaju i navedene sinapse i imaju uticaj na prenos informacija kroz sinapse. Acetil holin (AH) je glavni neurotransmiter u simpatičkim ganglionima, pa su i GSC u gornjem vratnom ganglionu osetljive na AH, za razliku od GSC senzornih gangliona (Feldman-Goriachniki sar., 2018).

### **1.2.2. Mastociti u GVSG**

Rezultati proučavanja mehanizma razvoja različitih tipova glavobolja ukazuju da mastociti imaju važnu ulogu za njihov nastanak. Mastociti su prisutni u periganglijskom vezivnom tkivu ali i u blizini GSC i GNC u samom GVSG. Podataka u nama dostupnoj literaturi koji se odnose na mikromorfološke karakteristike mastocita u GVSG nema što može da bude dobar povod za naša buduća istraživanja. Oštećenje GNC i ekscitacija GSC uzrokuje oslobađanje ATP što može da dovede do degranulacije mastocita i oslobađanje vazoaktivnih supstanci: histamina, serotoninina, citokina i dr., koji doprinose aktivaciji simpatičkih neurona i vlakana i napadu glavobolje (Koroleva i sar., 2019).





**Slika 3. A** - Šematski prikaz simpatičke ganglijske nervne ćelije GVSG. SGĆ u potpunosti prekrivaju telo neurona i sinapse (adaptirano iz: Hanani M, Spray D. Emerging importance of satellite glia in nervous system function and dysfunction. *Nature Rev Neurosci.* 2020; 21:485–498). **B** - Šematski prikaz aktivacije SGĆ i GNĆ tokom nastajanja bolne reakcije; Kir4.1 – kalijumski kanal, GLUT1 – nosač glutamata, P2X7R - P2X purinoreceptor 7, P2Y12 – P2Y purinergički receptor, NK1 – neurokinin 1, RAMP1 – protein 1 koji modifikuje aktivnost receptora, IL-1 $\beta$  - interleukin 1 beta, TNF- $\alpha$  - faktor alfa nekroze tumora, TNF $\alpha$ RS - receptor faktora alfa nekroze tumora, SP – supstanca P, CGRP - peptid povezan sa kalcitoninskim genom (adaptirano iz: Andreeva D, Murashova L, Burzak N and Dyachuk V. Satellite glial cells: morphology, functional heterogeneity, and role in pain. *Front Cell Neurosci.* 2022; 16:1019449).

Mastociti i nervni završeci senzornih neurona se nalaze u onim delovima tela koji su izloženi spoljašnjoj sredini. Obe vrste ćelija su zadužene za registrovanje oštećenja prouzrokovanog povredom ili patogenim organizmima, potom signale šalju nervnom i imunom sistemu da bi došlo do zaštite organizma. Najvažnija funkcija mastocita je u sekreciji proinflatornih medijatora koji se nalaze deponovani u granulama kao što su histamin, serotonin, adenzin-trifosfat (ATP), proteaze, tumor faktor nekroze alfa (TNF alfa), hemokini, peptidi, de novo sintetisani citokini, faktori rasta, lipidni medijatori. Kontakt između mastocita i neurona je povećan tokom infekcija, alergijskih i inflamatornih stanja što je u korelaciji sa bolom. Mastocitni medijatori i citokini direktno doprinose signalizaciji bola.

Mastociti su normalno prisutni u simpatičkim i senzornim ganglionima, u periganglionarnim fibroznim tkivima i u bliskom su odnosu i sa krvnim sudovima i sa nervnim vlaknima. Istraživanja su pokazala da u slučaju oštećenja ganglijskih neurona može doći do aktivacije i degranulacije mastocita i oslobađanja supstanci kao što su serotonin, histamin i proinflamatorni citokini i nastanku migrene i patološkog bola (Koyuncu Irmak i sar., 2019; Koroleva i sar., 2019; Hanani i Spray, 2020; Cho i sar., 2023).

### **1.2.3. Ganglijske nervne ćelije (GNĆ) u gornjem vratnom ganglionu**

Ganglijske nervne ćelije u gornjem vratnom simpatičkom ganglionu slične su drugim simpatičkim ganglijskim neuronima, u paravertebralnim i prevertebralnim simpatičkim ganglionima. Najčešće su njihove some dijametra 25-50  $\mu\text{m}$ . Spadaju u grupu multipolarnih neurona, za razliku od pseudounipolarnih neurona senzornih ganglija. Veliki broj ganglijskih neurona GVSG pokazuje ekspresiju neuropeptida (Slika 4.) (Kabak i sar., 2019).

Ganglijske ćelije u GVSG slične su drugim simpatičkim ganglijskim neuronima, npr. onima u paravertebralnim simpatičkim ganglionima. Najčešće njihove some su dijametra 25-50  $\mu\text{m}$ . Spadaju u grupu multipolarnih neurona, za razliku od unipolarnih neurona senzornih ganglija. Autonomne satelitske glijalne ćelije (SGĆ), zbog bliskog odnosa sa ganglijskim neuronima, smatra se da mogu potencijalno da utiču na sinaptičku transmisiju (Benn i sar., 2001).

Što se tiče neuropeptida, zapaženo je da veliki broj ganglijskih neurona GCS pokazuje ekspresiju neuropeptida Y (NPY). Ekspresiju NPY u GVSG pokazuje 59,1% neurona, dok samo 16,4% neurona je VIP (vazoaktivni intestinalni polipeptid) imunoreaktivno (Tubbs i sar., 2002).

#### **1.2.3.1. Neuropeptid Y**

Neuropeptid Y (NPY) je polipeptid sačinjen od 36 aminokiselina prisutan u centralnom i perifernom nervnom sistemu. Prvi put je otkriven u svinjskom mozgu. Pripada porodici koja sadrži polypeptide YY i pankreasne polipeptide. Vezuje se za NPYRs receptore koji pripadaju klasi A, odnosno grupi receptora vezanih za G protein, sličan rodopsinu. Može da utiče na različite receptore u različitim ćelijama. Poznato je da pet NPYRs receptora postoji kod sisara (Y1R, Y2R, Y4R, Y5R, i Y6R) od čega četiri postoje kod čoveka (Y1R, Y2R, Y4R i Y5R). Kod ljudi, Y1R se nalazi u epitelu debelog creva, srcu, bubrezima, nadbubrežnoj žlezdi, placenti. Y2R je najrasprostranjeniji od svih receptora. Uglavnom se nalazi u nervnom sistemu, na presinaptičkim neuronima i utiče na oslobađanje neurotransmitera. Y4R se nalazi se epidermu kože, prostati, gastrointestinalnom traktu ali i delovima mozga, najviše hipokampusu i hipotalamusu. Y5R je najrasprostranjeniji u nervnom sistemu, najviše u kori temporalnog režnja, talamusu, hipotalamusu i amigdalama (Zhang i sar., 2021).

Pokazano je da simpatički neuroni oslobađaju NPY sa noradrenalinom u toku usaglašavanja simpatičke i parasimpatičke aktivnosti. NPYR receptori su visoko eksprimirani u makrofakima, endotelnim ćelijama i osteoblastima, tako da NPY utiče na remodelovanje kostiju i homeostazu. Istraživanja pokazuju da NPY ima neuroprotektivno dejstvo i posebno deluje na kostnu srž gde usklađuje njenu funkciju i reguliše normalne funkcionalne veze delujući na razne receptore i ćelije. NPY je snažan vazokonstriktor, aktivna je supstanca neurona gornjeg vratnog simpatičkog ganglionu koja učestvuje u regulaciji aktivnosti vratnog dela jednjaka. NPY postoji u oko 30% neurona koji inervišu jednjak (Rytel i sar. 2019). NPY aktivira kalijumske kanale, inhibira kalcijumske kanale i inhibira glutamatske receptore i oslobađanje glutamata (Zhang i sar., 2021). NPY pozitivni vazokonstriktorni neuroni inervišu krvne sudove glave i imaju vazomotornu funkciju i inervišu dužicu i epifizu. Takođe učestvuju u regulaciji krvnog pritiska i srčanog ritma, dok vazokonstrikcijom krvnih sudova žlezda indirektno regulišu sekreciju pljuvačke (Zhang i sar., 2021).

NPY reguliše aktivnost mozga, otpornost na stres, varenje, metabolizam i funkcije imunog sistema. Utiče i na sintezu i oslobađanje citokina, potom na ćelijsku migraciju na monocitno makrofagnu fagocitozu tako da ima ulogu i u zapaljenskim procesima. Stimulišu makrofage na sintezu IL-4, IL-12, TNF alfa. Od svih NPY receptora, Y1R ima najvažniju ulogu u regulaciji upalnih procesa. U slučaju zapaljenskih procesa u organizmu simpatički neuroni luče NPY i na taj način se omogućuje sekrecija citokina. NPY ima neuroprotektivnu ulogu koju ostvaruje kroz smanjenje inflamacije nervnog sistema, povećanja količine mikronutrijenata, stimulaciju procesa autofagije, smanjenje oksidativnog stresa. Potom ulogu u stimulaciji angiogeneze i integriteta structure nerava (Zhang i sar., 2021). Studije retrogradnog obeležavanja GNĆ u gornjem vratnom ganglionu posebnim trejserima i korišćenjem metoda imunofluorescencije donose podatke da ekspresiju NPY u gornjem vratnom ganglionu pokazuje 59,1% neurona (Kokubun i sar., 2019).

### 1.2.3.2. Supstanca P

Supstanca P (SP) spada u visoko neuroaktivne peptide. Otkrivena je 1931. godine. Otkrili su je Von Euler i Gaddum u preparatima konjskog mozga i creva. Kasnije je identifikovana kod miševa, zečeva i potom kod ljudi. Očišćena i prerađena je u obliku praha po čemu je i dobila naziv supstanca P (eng. *powder*). Sastavljena je iz 11 aminokiselina i pripada grupi tahikinin peptidnih hormona (u ovu grupu se ubrajaju neurokinin A, neuropeptid K i neuropeptid Y). Endogeni receptor za supstancu P je neurokinin 1 (NK1 receptor). Stabilna je u plazmi a ima kratak poluživot u tkivima. Poluvreme eliminacije je od nekoliko sekundi do nekoliko desetina minuta u tkivima i krvi a u ekstrahovanoj krvnoj plazmi nekoliko časova (Mashaghi i sar., 2016).

SP i NK1 su prisutni u različitim delovima mozga. Nalaze se u *ganglionu spinale*, *ganglionu trigeminale*, potom u jedrima pojedinih kranijalnih živaca (*nc. nevi facialis*, *nc. solitarius*, *nuclei accessorii nervi oculomotorii*), jedrima moždanog stabla (*nc. olivaris superior*, *locus coeruleus*, *nuclei parabrachiales*, *nuclei raphe magnus*), periakvedutnoj sivoj masi, *colliculus superior*-u, jedrima talamusa (*nc. anterior dorsalis*, *nuclei ventrales*), metatalamusu (*corpus geniculatum laterale*), suptalamusu (*nc. subthalamicus*), epitalamusu (*nuclei habenulae*), jedrima hipotalamusa (*nuclei preoptici*, *nc. paraventricularis*, *nc. supraopticus*, *nc. arcuatus*, *nc. dorsomedialis*, *nuclei laterales hypothalami*) „medial forebrain bundle“, hipofizi (*lobus posterior*), olfaktivnom i limbičkom sistemu (*corpus amygdaloideum*, *area septalis*, *tuberculum olfactorium*), bazalnim ganglijama (*globus pallidus*), kori velikog mozga (posebno lamine V i VI). Pojedine grupe neurona sa SP se projektuju i u kičmenu moždinu (*medulla spinalis*). *Pars reticulata substantiae nigrae* sadrži najveću količinu SP u centralnom nervnom sistemu a njena količina je značajno redukovana kod osoba koje boluju od Huntington-ove horee. *Pars reticulata* se povezuje sa neuronima neokorteksa preko strionigralnog snopa (Marinković i sar., 1998).

Supstanca P je uključena u nociceptivni sistem, potom u prenos informacija iz baroreceptora i hemoreceptora. Eksperimentalni tretman nikotinom dovodi do povećanja SP imunoreaktivnosti u gornjem vratnom simpatičkom ganglionu što je direktno povezano sa inervacijom krvnih sudova i povišenim krvnim pritiskom. Ekspresija SP postoji u neuronima, epitelnim i endotelnim ćelijama, imunim ćelijama (T limfociti), makrofagima, eozinofilima, imunomodulatornim mezenhimalnim matičnim ćelijama. NK1 transmembranski receptori se nalaze u okviru neurona, glija ćelija, endotelnih ćelija kapilara i limfnih sudova. SP ima ekscitatorno dejstvo. Koegzistira sa ekscitatornim neurotransmiterom glutamatom u odgovoru senzitivnih spinalnih neurona na nociceptivne stimulacije. SP se oslobađa u perifernom nervnom sistemu, na krajevima nerava i ima ulogu u antidromnoj ekstravazaciji plazme i vazodilataciji. Reguliše aktivnost simpatičkih gangliona. SP je uključena u širok

spektar fizioloških i patofizioloških procesa. Mnoga SP imunoreaktivna nervna vlakna sa varikozitetima se opisuju u GVSG, ali ne i SP + neuroni (Mashaghi i sar., 2016).

### 1.2.3.3. Vazoaktivni intestinalni peptid

Vazoaktivni intestinalni peptid (VIP) se takođe ubraja u neuroaktivne peptide. Sastoji se iz 28 aminokiselina. Nalazi se u gastrointestinalnom traktu, imunom, endokrinom sistemu ali i brojnim regionima centralnog nervnog sistema. Prisutan je u moždanom stablu, najvećim delom u periakveduktnoj sivoj masi (ventralnom delu) ali i u *colliculi superiores* i *nc. solitarius*. Velika količina je prisutna u eminenciji medijani i jedrima hipotalamusa (*nc. paraventricularis*, *nc. suprachiasmaticus*, *nc. ventromedialis*, *nc. dorsomedialis*, *nuclei premammillares*), potom u metotalamusu (*corpus geniculatum laterale*), kičmenoj moždini, u olfaktivnom i limbičkom sistemu (*corpus amygdaloideum*, *formatio hippocampi*, *area enthorinalis*, *regio septalis*, *gyrus cinguli*, prepiriformnom korteksu. Najveća količina vazoaktivnog intestinalnog peptida se nalazi u interneuronima neokorteksa, posebno u laminama II, III i IV (Marinković i sar., 1998). VIP je ekscitatorni neurotransmiter i neuromodulator. Učestvuje u nocicepciji, neurosekreciji a ima i energetske uloge, tako što povećava količinu cikličnog AMP-a. Učestvuje u sistemskoj vazodilataciji i bronhodilataciji zahvaljujući izazivanju relaksacije glatke muskulature. Izaziva hiperglikemiju. Ima uticaj na učenje i ponašanje, reguliše metabolizam kostiju, sekreciju pljuvačke, cirkadijalni ritam i embrionalni razvoj, ima neurotrofični efekat. Subpopulacija neurona male i srednje veličine, njih 13.8% je imunoreaktivno u gornjem vratnom simpatičkom ganglionu (Kokubun i sar., 2019).

### 1.2.3.4. Peptid povezan sa kalcitoninskim genom (calcitonin gene-related peptide - CGRP)

Imunoreaktivnost na najšire rasprostranjen peptid povezan sa kalcitoninskim genom (calcitonin gene-related peptide - CGRP) je nađena u GVSG i drugim simpatičkim ganglionima. Uključen je u regulaciju cirkulacije i kontrolu sekrecije. CGRP je glavni neuropeptid u neuronima trigeminalnog gangliona sa značajnom ulogom u nastajanju migrene. CGRP deluje i na koru velikog mozga dovodeći do depolarizacije neurona i glijalnih ćelija dovodeći do ekstravazacije plazme i neurogene inflamacije. CGRP antagonisti se koriste u terapiji migrene ali i Alchajmerove bolesti blokiranjem njegovog uticaja na neuroinflamaciju (Happola i sar., 1993; Shah i sar., 2023).

### 1.2.3.5. Somatostatin (SOM)

Somatostatin (SOM) ima endokrinu i imunomodulatornu ulogu. Endokrina uloga se ogleda u inhibiciji lučenja hormona rasta, tj. somatotropnog hormona i u inhibiciji oslobađanja tirotropnog hormona i prolaktina iz hipofize. Somatostatin se nalazi u brojnim regionima nervnog sistema a najveća količina je u hipotalamusu, u *nc. anterior*, *nc. arcuatus* in *nc. ventromedialis*-u. Aksoni ovih jedara se projektuju ka ostalim jedrima hipotalamusa, amigdalama, hipokampusu, *regio septalis*, habenulama, delovima olfaktivnog sistema, *nc. interpeduncularis*-u, itd. Deo vlakana se pruža u sastavu *fasciculus longitudinalis dorsalis*-a i dolazi do jedara kranijalnih živaca (*nc. spinalis nervi trigemini*, *nc. dorsalis nervi vagi*, *nc. tractus solitarii*, *nuclei cochleares*), potom do relejnih jedara (*nc. Darkschewitch*, *nc. prepositus hypoglossi*, *nuclei colliculi inferioris*), jedara retikularne formacije (*nc. parabrachialis lateralis*) (Marinković i sar., 1998). Somatostatin se nalazi i u drugim delovima hipotalamusa, kao što su *regio preoptica*, *nc. paraventricularis*, *nc. suprachiasmaticus*, *nc. anterior hypothalami*. Potom u piriformnom korteksu velikog mozga, hipokampusu, amigdaloidnom kompleksu, *gyrus cinguli*, *nc. accumbens*, *regio septalis*, *rhinencephalonu*, u moždanom stablu (periakveduktnoj sivoj masi, retikularnoj formaciji, jedrima kranijalnih živaca, relejnim jedrima), u kičmenoj moždini (oko *canalis centralis*-a,

zadnjim rogovima sive mase, sakralnom parasimpatičkom centru). Kada je u pitanju kora velikog mozga, najveća količina somatostatina je uočena u laminama V i VI (Marinković i sar., 1998). Imunoreaktivni neuroni postoje u do 10% ganglijskih ćelija u GVSG. SOM pacova verovatno ima ulogu u modulaciji neurotransmisije, dok njegova uloga u lučenju pljuvačke tek treba da se pokaže. SOM-IR neuroni su rasprostranjeni u CNS-u i PNS-u i mnogim perifernim organima. U gastrointestinalnom traktu SOM ćelije su takođe i enteroendokrine ćelije u mukozi. Ultrastruktorno, guste sekretorne granule su karakteristično okrugle u citoplazmi neurona (Happola i sar., 1993).

#### **1.2.3.6. $\beta$ -triptaza**

$\beta$ -triptaza je proteaza koja je najsnažniji medijator skladišten u sekretornim granulama mastocita. Ima važnu ulogu u zapaljenju i služi kao marker aktivacije mastocita iz kojih se oslobađa 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% slučajeva) i stimuliše oslobađanje SP i CGRP iz njih (koji se eksprimiraju u 40% aksona) (Koroleva i sar., 2019).

#### **1.2.3.7. CD34**

CD34 je transmembranski glikoprotein koji eksprimiraju endotelne ćelije. Imunohistohemijsko bojenje pokazuje jaku imunoreaktivnost vaskularnih endotelnih ćelija, kako u embrionalnom tako i tkivu odraslih (Mirčić i sar., 2021; Dožić i sar., 2014).

### **1.2.4. Topografska organizacija neurona i značaj GVSG u kliničkoj praksi**

Informacije o subpopulacijama neurona GVSG koji inervišu specifične ciljne organe iznete su u studijama koje su koristile retrogradnu aplikaciju trejsera i pokazale topografiju gangliona. Neuroni koji se projektuju na rostralne ciljne organe; oko, čelo, moždane arterije i pinealnu žlezdu, nalaze se u rostralnom delu GVSG, dok oni koji se projektuju na kaudalne ciljne organe; usta, pljuvačne žlezde i vrat, nalaze se u kaudalnom delu GVSG. Struktura je ključna za funkciju. Morfološke razlike i razlike u sadržaju pojedinih neuropeptida mogu da budu uzrok posebnih funkcionalnih karakteristika pojedinih potklasa neurona u GVSG (Miyachi i sar., 2021).

GVSG, kako neuroni tako i GSC utiču na rad srca, na frekveciju i snagu kontrakcije. Anatomija opisuje postojanje simpatičkih aksona medijalnih grana iz GVSG koje učestvuju u izgradnji srčanog autonomnog nervnog spleta. Pokazano je da postoji mogućnost da stimulacija GSC u GVSG aktivira simpatičke neurone u ganglionu koji inervišu srčani mišić (Xie AX i sar., 2017).

Postojanje nejasnoća usled nedostataka informacija nameće posebne teme koje mogu da budu od interesa za buduća naučna proučavanja. Procena broja GSC na somi humane GNC još uvek nije navedena i bilo bi od posebnog značaja da to bude predmet daljih analiza. Mrežasti kapilarni pokrivač naleže na GSC i u potpunosti okružuju svaku ganglijsku nervnu ćeliju i formira vrstu krv-nervno tkivo barijere u PNS-u. Nepostojanje podataka koji u dostupnoj literaturi opisuju intraganglijsku mikrovaskularizaciju GVSG pruža priliku za istraživanja ovog problema. Razumevanje morfologije ćelija gangliona, GNC i GSC, je važno za razumevanje hroničnih bolnih stanja i drugih neurodegenerativnih bolesti, kao i za terapiju supresije bola i kontrolu kardiovaskularnih funkcija. Pažnja bi potencijalno mogla da bude usmerena na GSC, što do sada nije dovoljno istraživano, a bilo bi od originalnog naučnog značaja i omogućilo novu terapijsku strategiju. Nema nama dostupnih podataka u literaturi koji se odnose na mikromorfološke karakteristike mastocita u GVSG, što je moguća smer daljih istraživanja gangliona i moguće terapije bolnih sindroma u ovom predelu. Topografska podela GVSG na gornji i donji deo čija je osnova vazomotorno ili sekretomotorno dejstvo i

različito područje inervacije aksona neurona nameće dalja istraživanja koja bi se odnosila na pokazivanje da li postoje mikromorfološke razlike veličine i broja GNC, mikrovaskularne gustine i broja mastocita gornjeg i donjeg dela GVSG, kao i razlike u ekspresiji neuropeptida u neuronima ova dva topografska dela GVSG.

Ovim radom se želi doprineti saznavanju i rasvetljavanju eventualnih dilema koje se odnose na mikromorfološke i imunohistohemijske karakteristike neurona gornjeg vratnog simpatičkog gangliona, kao najvećeg simpatičkog gangliona čoveka. Dokazivanje postojanja NPY, CGRP, SOM, VIP u telima ganglijskih ćelija dokazuje da igraju funkcionalnu ulogu u modulaciji neurotransmisije u organima inervisanim ovim ćelijama. Nadamo se da će ovo istraživanje doprineti otklanjanju nedoumica i rasvetljavanju postojećih dilema.

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Nepotpuni opisi koji nameću dileme u vezi sa mikromorfološkim karakteristikama vaskularizacije, histološke organizacije ćelijskih elemenata gornjeg vratnog simpatičkog gangliona (GVSG) čoveka, kao i ekspresije neuropeptida u ganglijskim nervnim ćelijama, bili su ideja vodilja u proučavanjima primenjenim u ovoj doktorskoj tezi. Usvojili smo sledeće ciljeve ovog istraživanja:

1) ispitati mikromorfološke karakteristike periganglijske arterijske vaskularizacije i karakteristike intraganglijske vaskularne mreže (poreklo arterija, kalibri, odnosi sa ganglionom i simpatičkim stablom, način grananja i anastomoze grana) primenom mikroanatomskih metoda;

2) ispitati karakteristike kapilarne mreže i broj mastocita u gornjem (proksimalnom) i donjem (distalnom) segmentu GVSG praćenjem imunoreaktivnosti na vaskularni endotelni marker CD34 i mastocitnu triptazu (MCTrip);

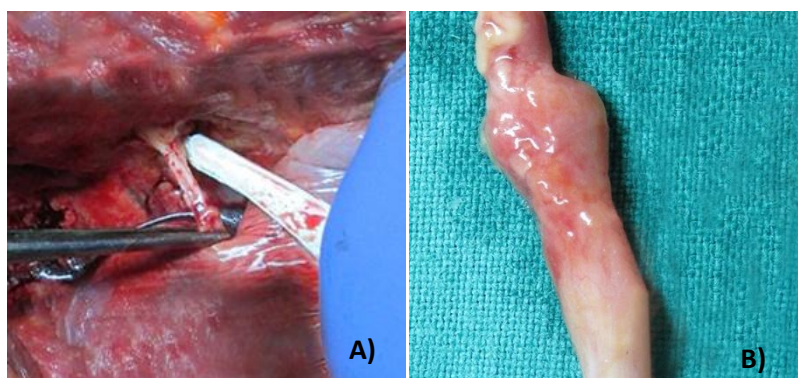
3) ispitati broj i morfološke karakteristike ganglijskih i satelitskih ćelija i način njihovog grupisanja u GVSG histohemijskim bojenjem hematoksilinom i eozinom, Gomori metodom rastvorom srebra i Masson trihromnim bojenjem;

4) ispitati broj i morfološke karakteristike ćelija koje pokazuju imunoreaktivnost na neuropeptide: NPY, VIP, SP, SOM i CGRP u gornjoj i donjoj polovini gangliona.

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Uzorak istraživanja

Istraživanje je obavljeno na 20 izdvojenih simpatičkih gornjih vratnih gangliona (GVSG) odraslih osoba oba pola. Uzorci 5 gangliona su uzeti na Institutu za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta u Beogradu uz saglasnost upravnika Instituta. Navedeno istraživanje se isključivo odnosi na poređenje struktura gornjeg i donjeg segmenta gangliona tako da godine, pol, oboljenja i dr. nisu od značaja za određivanje sa kog slučaja je uzet uzorak. Odabir slučajeva je izvršen u odnosu na neophodne obdukcione tehnike, odnosno u istraživanje su uključeni oni slučajevi gde je sudsko medicinski indikovano preparirati meko tkivo vrata, pa su uzeti isecci gangliona za dalju histološku analizu (Slika 3.1.). Uzorci 15 gangliona su uzeti na Institutu za anatomiju uz saglasnost upravnika Instituta. Osobe čije tkivo GVSG je korišćeno za dalje morfološke i histološke analize su za života potpisale Izjavu o zaveštanju tela za naučni i pedagoški rad na Institutu za anatomiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Naučne analize su obavljene u skladu sa principima Helsinške deklaracije, gde su izneti medicinsko pravni i etički aspekti medicinskih istraživanja na ljudima. Etička komisija Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu dala je saglasnost za izradu doktorske teze pod brojem 1322/VII-23 od 07.07.2022. godine.



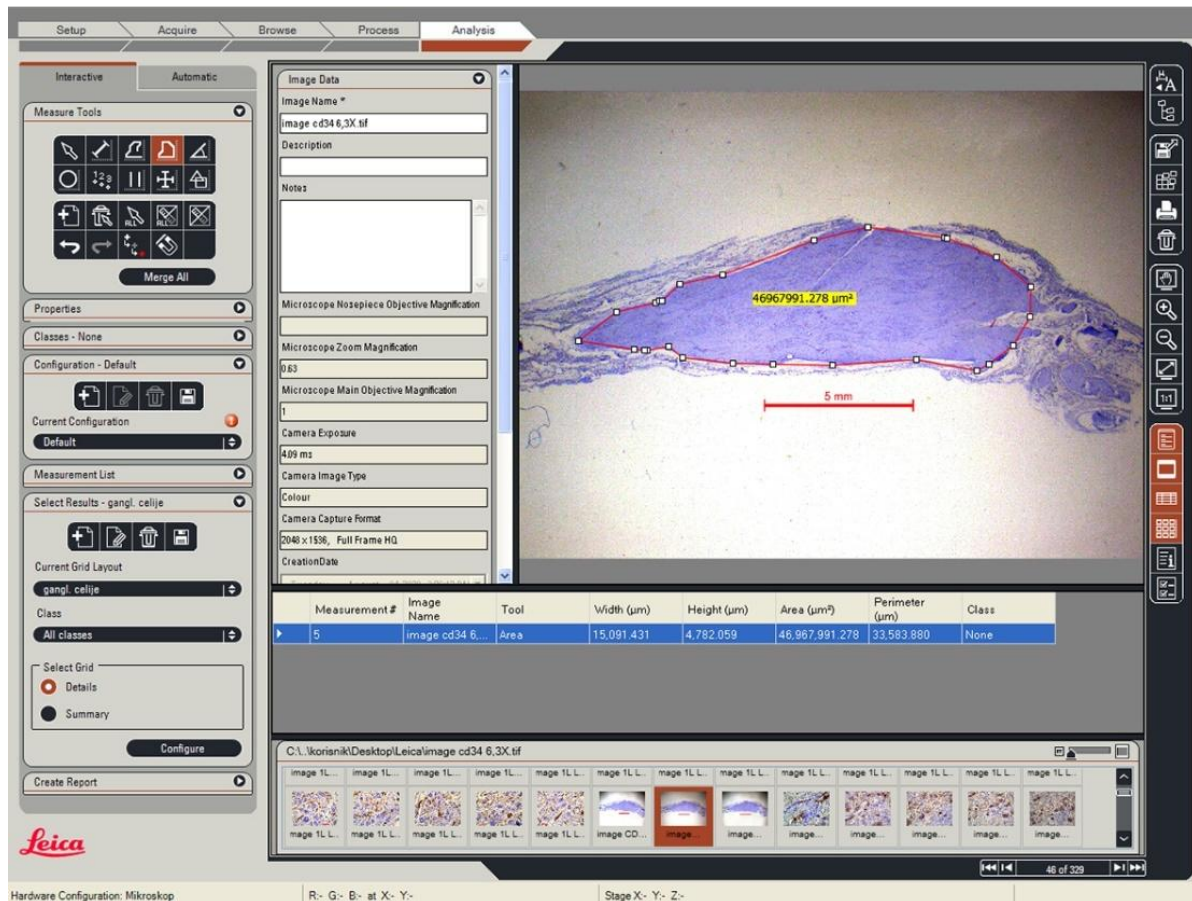
Slika 3.1. A) Uzimanje uzorka GVSG. B) Izgled izdvojenog gangliona.

#### 3.2. Ispitivanje periganglijske arterijske vaskularizacije GVSG

Mikromorfološke karakteristike periganglijske arterijske vaskularizacije analizirane su na celim disekcionim preparatima predela vrata. Arterijski sistem sliva spoljašnje karotidne arterije ispran je infuzijom 4% neutralnog puferisanog rastvora formaldehida a posle toga injiciranje je završeno 10% rastvorom rastopljenog želatina i tuša u boji. Po fiksiranju tkiva pristup GVSG bio je moguć zahvaljujući pažljivoj disekciji okolnih struktura vrata. Finalni stadijum pristupa ganglionu sastojao se u dezartikulaciji oba atlantookcipitalna zgloba i odizanju kičmenog stuba sa mišićima zadnje strane vrata. Neurovaskularni elementi latero i retrofaringealnih prostora ostajali su u prednjem delu preparata u bloku sa ždrelom i grkljanom. Mikrodisekcija krvnih sudova i samog gangliona obavljena je u Laboratoriji za vaskularnu anatomiju Instituta za anatomiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Određivanje



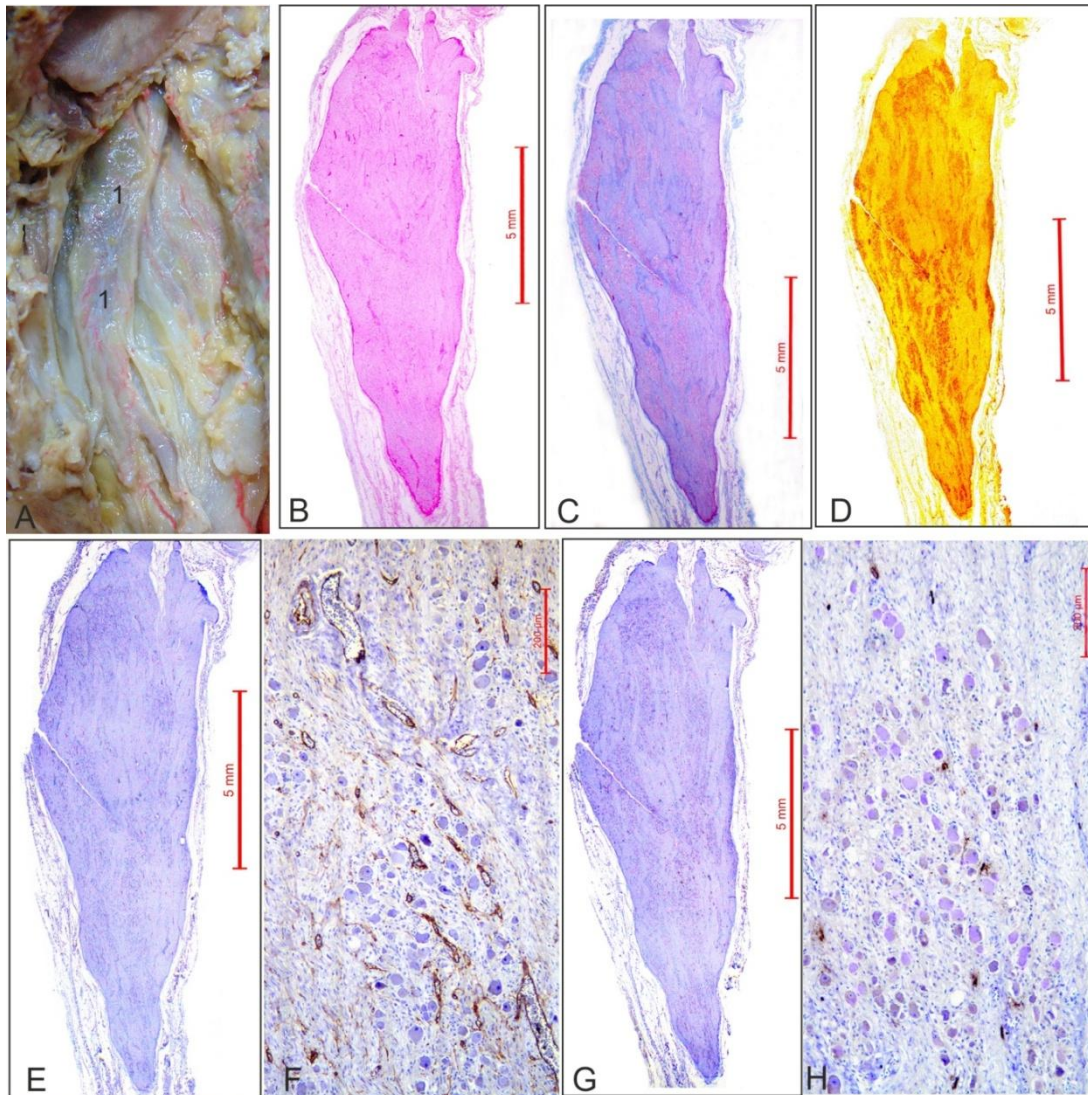
mernih karakteristika GVSG, kao i proučavanja sudova obavljeno je pod Leica DM mikroskopom, preparati su snimljeni Leica digitalnom kamerom, a svi rezultati dobijeni su analizom digitalnih snimaka korišćenjem alatki programa Leica Interactive Measurements i upisani u prethodno pripremljene šeme i tabele (Slike 3.2., 3.3. A). Dobijani podaci se odnose na merne karakteristike GVSG, kao i na poreklo ganglijskih arterija, kalibre, odnose sa ganglionom i simpatičkim stablom, način grananja i moguće anastomoze grana.



Slika 3.2. Upotreba programa „Leica Interactive Measurements“ za morfometrijsku analizu mernih karakteristika GVSG (histološki preparat celog gangliona).

### 3.3. Ispitivanje intraganglijske arterijske vaskularizacije GVSG

Mikromorfološke karakteristike intraganglijske vaskularne mreže izučavane su na histološkim preparatima GVSG bojenih primenom histoheimijskih metoda bojenja hematoksilin-eozinom, trihromskim bojenjem po Massonu i, na Institutu za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, kao i praćenjem imunoreaktivnosti na vaskularni endotelni marker CD34 (Slika 3.3.). Navedena imunohistoheimijska istraživanja su obavljena u Laboratoriji za imunohistohemiju Instituta za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu.



Slika 3.3. A) GVSG (1) injiciran nativan preparat neposredno pre uvođenja u proceduru; B) GVSG, preparat obojen histohemijskom metodom bojenja hematoksilin-eozinom (H&E); C) GVSG, preparat obojen trihromskim bojenjem po Massonu; D) GVSG, preparat obojen Gomori metodom rastvorom srebra; E) GVSG, ceo preparat i F) detalj preparata koji pokazuju intraganglijsku vaskularizaciju (IHH, CD34); G) GVSG, ceo preparat i H) detalj preparata koji pokazuju intraganglijsku distribuciju mastocita (IHH, MCTrip).

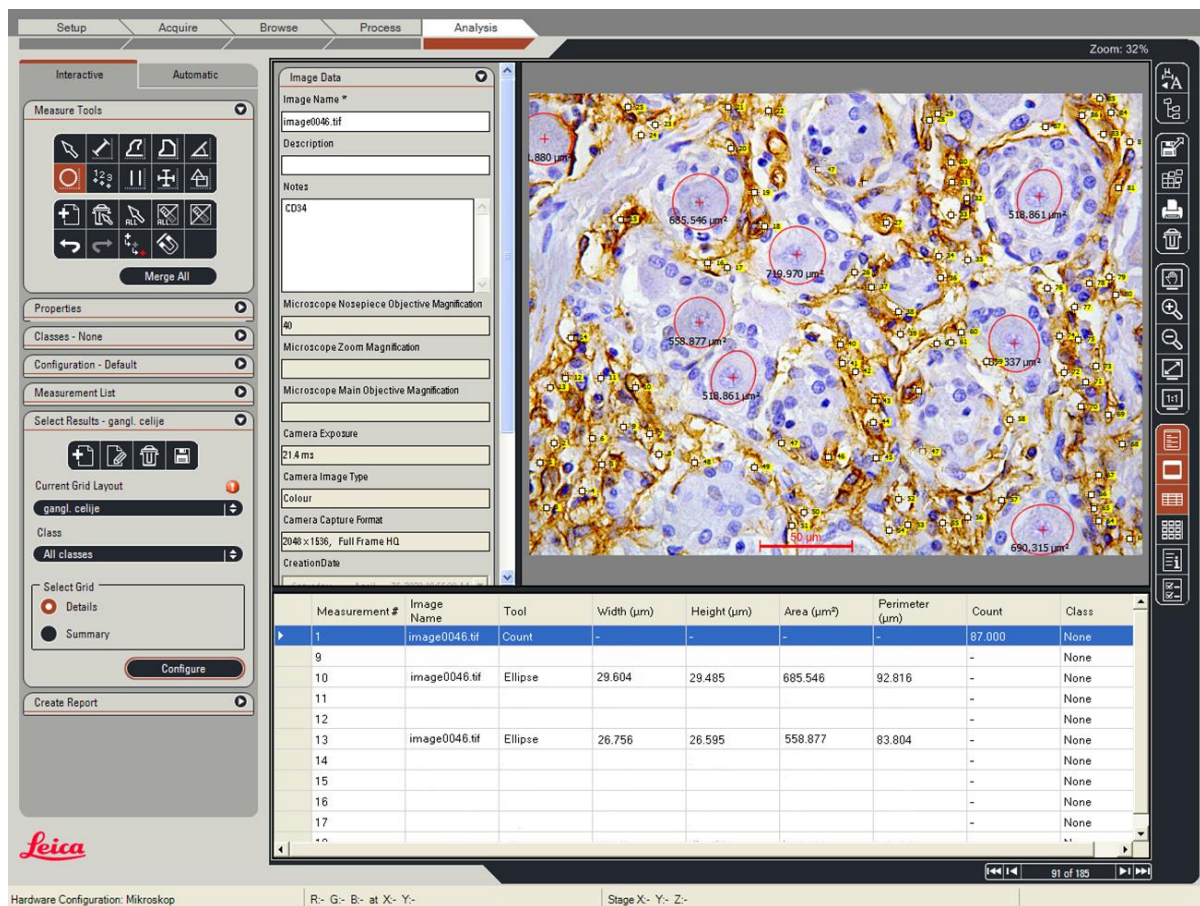
Oštrim skalpelom odsecani su segmenti proksimalnog (gornjeg) i distalnog (donjeg) dela ganglionia i odmah su potapani i fiksirani u 4% neutralnom pufersanom rastvoru formaldehida tokom 24 časa, u volumenu 20 puta većem od volumena tkiva koje se fiksira. Zatim su uzorci daljom procedurom uobičajeno pripremani kroz faze koje obuhvataju dehidrataciju, prosvetljavanje, impregnaciju i kalupljenje u parafinu / paraplastu (Bio-Plast plus, BioOptica, Italy). Svaki uzorak ganglionia ukalupljen u parafinu sečen je uzdužno, serijski, na mikrotomu (RM 2125, Leica Microsystems GmbH, Frankfurt am Main, Germany) sve do potpunog nestajanja tkiva ganglionia kompletnim sečenjem. Tkivni preseći debljine 5  $\mu$ m su montirani na specijalne visokoadhezivne staklene pločice (SuperFrost Plus, DAKO, Denmark), sušeni 60 minuta u termostatu na 56°C, a potom bojeni. Redosled preseka svakog preparata ganglionia je pažljivo obeležen i ređan u posebne kutije. Za precizno prikazivanje malih krvnih sudova i kapilara, da bi merenja bila egzaktna, korišćeno je

imunohistohemijsko bojenje na vaskularni endotelni marker CD34 (CD34, Dako Denmark, M 7165).

Mikromorfološka proučavanja vaskularizacije segmenata GVSG su vršena na blokovima preparata ganglionia. Histološki preseki su korišćeni za imunohistohemijsko bojenje na endotelni marker CD34 (Tabela 3.1.). Ova metoda bojenja sprovedena je na po dva tkivna preseka, udaljena jedan od drugog 25  $\mu\text{m}$ . Broj krvnih sudova u okviru mikrovaskulature GVSG određivan je na mikroskopskom uvećanju x400 (objektiv 40x, okular 10x), na 50 polja merenja sa 5 preparata, veličine polja 341,7  $\mu\text{m}$  x 250,0  $\mu\text{m}$ , odnosno površine 85425  $\mu\text{m}^2$  (0.085  $\text{mm}^2$ ) po polju.

Gustina mikrosudova (GMS) je definisana kao prosečan broj vidljivih mikrosudova u definisanom mikroskopskom polju. Zavisno od preseka imunohistohemijsko bojenje je označavalo zid mikrosudova, pretežno kapilara i prekapilara, prečnika od 5,5  $\mu\text{m}$  do 8,5  $\mu\text{m}$ , u raznim ravnima preseka, od transverzalno presečenih okruglih, do koso tubularnih ili koso zahvaćenih samo segmenata zida. GMS je određivan u mikroskopskim poljima dva dela GVSG, u gornjem (proksimalnom) i donjem (distalnom) delu ganglionia.

Svi preparati su analizirani pod Leica DM mikroskopom, snimljeni su Leica digitalnom kamerom, a za morfometrijsku analizu korišćen je softver Leica Interactive Measurements (Slika 3.4.).



Slika 3.4. Upotreba programa „Leica Interactive Measurements“ za morfometrijsku analizu broja mikrosudova i odnosa sa ganglijskim neuronima GVSG (x400, IHH, CD34).

Tabela 3.1. Primarni antiserum CD34 korišćen u imunohistohemijskoj analizi.

Primarni antiserum i klon	Imunogen	Proizvođač/ Kataloški broj	Razblaženje antitela
CD34 (mišji monoklonski anti-humani CD34)	Membrane endotelnih ćelija dobijene iz humane placente	Dako Denmark A/S M 7165	1:25

### 3.4. Određivanje karakteristika distribucija mastocita u tkivu GVSG

Tkivni preseki iz iste kolekcije preseka debljine 5  $\mu\text{m}$ , takođe postavljeni na specijalne visokoadhezivne staklene pločice (SuperFrost Plus, DAKO, Denmark), upotrebljeni su i za prikazivanje mastocita. Primenjeno je imunohistohemijsko bojenje na mastocitnu triptazu (MCTrip, DAKO A/S, Denmark M 7052) (Tabela 3.2.). Pločice sa presecima tkiva gangliona su deparafinizovane, zatim termički obrađivane u mikrotalasnoj pećnici 20 minuta u puferisanom rastvoru natrijum citrata da bi se demaskirao antigen, a zatim 5 minuta izlagane rastvoru 3% vodonik peroksida zbog blokiranja endogene peroksidaze. Pločice sa presecima su preko noći izlagane reakciji sa primarnim antitelom. Po vezivanju antitela sledećeg dana je nastavljeno imunohistohemijsko bojenje njihovom vizualizacijom korišćenjem Mouse/Rabbit PolyDetector DAB HRP Brown (Bio SB) detekcionog sistema. Preparati na pločicama su zatim bojani Mayer-ovim hematoksilinom, dehidrisani i pokriveni pokrovnim ljupticama (Slika 3.3. G, H). Navedena imunohistohemijska istraživanja su obavljena u Laboratoriji za imunohistohemiju Instituta za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Tabela 3.2. Primarni antiserum MCTrip korišćen u imunohistohemijskoj analizi.

Primarni antiserum i klon	Imunogen	Proizvođač/ Kataloški broj	Razblaženje antitela
Mastocitna triptaza (mo mišja anti-humana MCTrip)	Mastocitna triptaza izolovana iz humanih pluća	Dako Denmark A/S M 7052	1:100

Broj mastocita u tkivu GVSG određivan je na mikroskopskom uvećanju x400 (objektiv 40x, okular 10x), na 50 polja merenja sa 5 preparata, veličine polja 341,7  $\mu\text{m}$  x 250,0  $\mu\text{m}$ , odnosno površine 85425  $\mu\text{m}^2$  (0,085  $\text{mm}^2$ ) po polju.

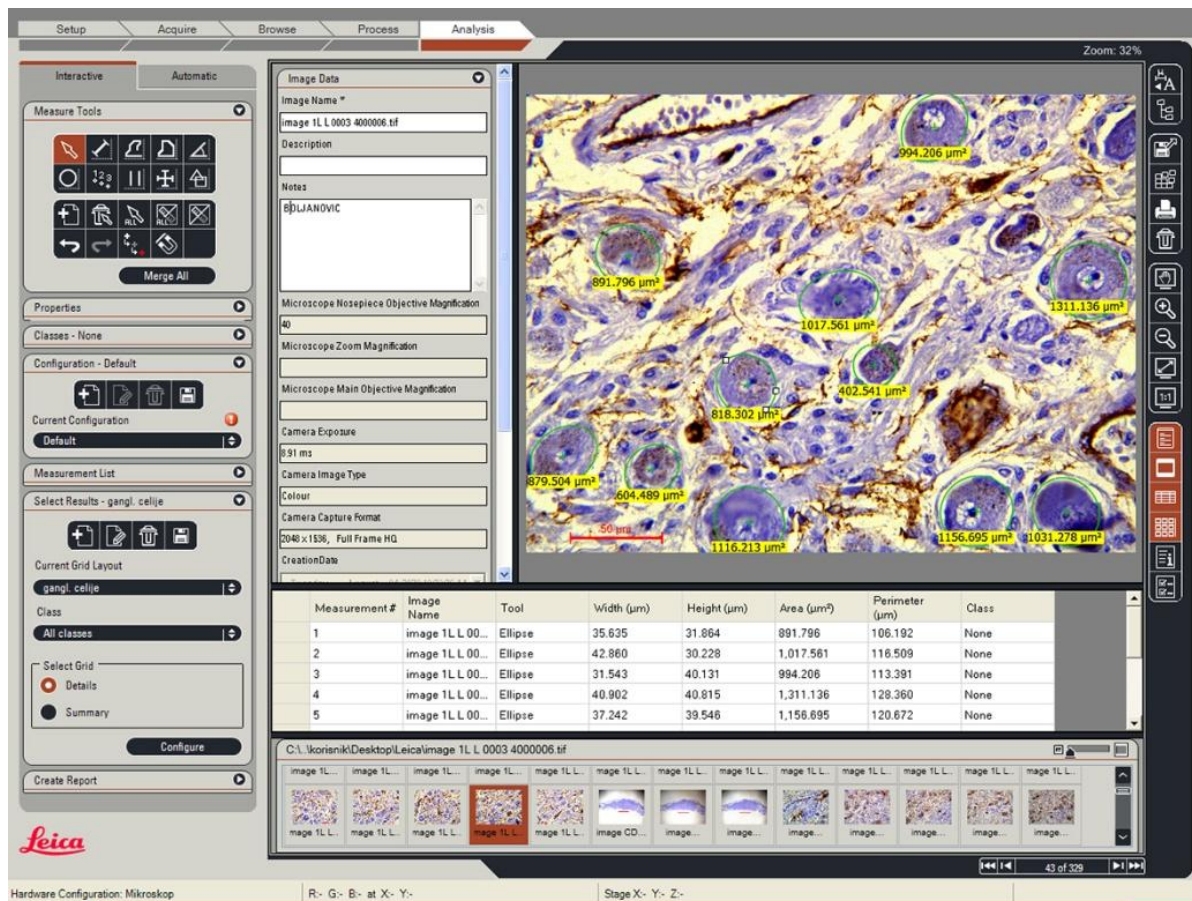
Gustina mastocita (GMA) je opisana kao prosečan broj vidljivih mastocita u definisanom mikroskopskom polju. GMA je određivana u mikroskopskim poljima dva dela GVSG, u gornjem (proksimalnom) i donjem (distalnom) delu gangliona.

Svi preparati su analizirani pod Leica DM mikroskopom, snimljeni su Leica digitalnom kamerom, a za morfometrijsku analizu korišćen je softver Leica Interactive Measurements.

### 3.5. Određivanje broja i morfoloških mernih karakteristika ganglijskih i satelitskih ćelija u GVSG

Materijal za histohemijske metode bojenja je pripremljen na standardan način. Izolovani ganglioni, nakon fiksiranja u 4% neutralnom puferisanom rastvoru formaldehida tokom 48 časova i obavljanja standardne procedure do nivoa parafinskih kalupa (dehidratacije, prosvetljavanja, impregnacije), su serijski sečeni na mikrotomu do debljine od 5  $\mu\text{m}$ . Na svakom 1., 2. i 3. isečku primenjene su klasične histološke metode, tj. bojenje

hematoksilinom i eozinom, Gomori metodom rastvorom srebra i Masson trihromsko bojenje, što je omogućilo morfolometrijsko ispitivanje ganglijskih i satelitskih ćelija i način njihovog grupisanja u ganglionu. Rastvori za bojenje pripremani su po poznatoj recepturi. Histoheimijska bojenja obavljena su na Institutu za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu.



Slika 3.5. Upotreba programa „Leica Interactive Measurements“ za morfolometrijsku analizu mernih karakteristika ganglijskih neurona GVSG (x400, IHH, CD34).

Brojanje ganglijskih ćelija obavljeno je manuelno označavanjem struktura pod Leica DM mikroskopom, snimljenih Leica digitalnom kamerom, na fotografijama preseka korišćenjem alatki programa Leica Interactive Measurements, na po 10 slučajno izabranih vidnih polja svakog preseka na uvećanju x 400 (objektiv 40x, okular 10x), veličina polja  $341,7 \mu\text{m} \times 250,0 \mu\text{m}$ , odnosno površine  $85425 \mu\text{m}^2$  ( $0,085 \text{ mm}^2$ ) po polju. Brojane su i glijalne satelitske ćelije na svakoj od ganglijskih ćelija koju smo merili.

Morfometrijska analiza vršena je na ganglijskim ćelijama koje su presečene kroz jasno vidljivo jedro sa jedarcetom. Smatra se da je jedro centralno postavljeno u ganglijskoj ćeliji tako da presek kroz jedro označava i presek kroz najširi deo ćelije. Korišćena je alatka programa Leica Interactive Measurements kojom je na digitalnoj slici označen obim ganglijske ćelije i dobijeni su podaci površine i dužeg i kraćeg prečnika, a iz ovih podataka računali smo prosečan prečnik ćelije (Slike 3.4., 3.5.).

### 3.6. Određivanje broja i morfoloških mernih karakteristika ganglijskih ćelija u GVSG koje pokazuju imunoreaktivnost na neuropeptide: NPY, VIP, SP, SOM i CGRP



Slika 3.6. A) Ulaganje preparata u parafinski kalup (gornji pol ganglion „J1L“ koji se kalupi je zbog identifikacije označen omčicom, detalj). B) Serijsko sečenje kalupa preparata na poluautomatskom rotacionom mikrotomu (Leica HistoCore Multicut). C) Formiranje kolekcije preparata više kalupa gde su primenjena različita imuno bojenja. D) Fotografisanje preparata i analiza metrijskih podataka korišćenjem posebnog softvera Leica.

Materijal za imunohistohemijske metode bojenja je pripremljen na standardan način. Segmenti gornjih (proksimalnih) i donjih (distalnih) delova ganglion su najpre fiksirani u 4% neutralnom puferisanom rastvoru formaldehida tokom 48 časova. Zatim su iseći preparata prolazili kroz standardne procedure do nivoa parafinskih kalupa: dehidracija, prosvetljavanje i impregnacija. Završna faza je pristupanje serijskom sečenju na poluautomatskom rotacionom mikrotomu (Leica HistoCore Multicut) do debljine od 5  $\mu\text{m}$  (Slika 3.6.). Na svakom 4. i sledećem isečku primenjene su imunohistohemijske (IHH) reakcije aplikacijom određenih primarnih antitela (Tabela 3.3.). Bio je primenjen bazični imunohistohemijski protokol. Demaskiranje određenih antigena detektovanih ovom procedurom sprovedeno je nakon uobičajenog postupka deparafinizacije preparata, zagrevanjem preseka u rastvoru 0,01M citratnog pufera pH 6 (Novocastra Epitope Retrieval Solution RE7113, Novocastra, UK), u mikrotalasnoj pećnici od 780 W, u toku 20 minuta. Nakon izvršene deparafinizacije i postupka demaskiranja antigena, blokirana je endogena peroksidaza sa 3% vodenim rastvorom  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 5 min., na sobnoj temperaturi. Preseci su se zatim hladili na sobnoj temperaturi 20 min., ispirali destilovanom vodom 5 min., i izložili

Tris puferisanom rastvoru (TBS) pH 7,6. Zatim su tkivni preseći inkubirani sa primarnim antitelom sa odgovarajućim razblaženjem. Imunska reakcija je razvijena i detektovana korišćenjem senzitivnog detekcionog sistema po uputstvu proizvođača (Thermo Fisher Scientific, Lab Vision Ultra Vision LP Detection System: HRP PolymerDAB Plus Chromogen, Waltham, Massachusetts, USA). Pločice sa presećima su pokrivene pokrovnim staklima u tečnom medijumu (Permount, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Imunohistohemijska istraživanja su obavljena u Beo-lab Laboratoriji za imunohistohemiju u Beogradu (Slika 3.6.).

Tabela 3.3. Pregled primarnih antiseruma korišćenih u imunohistohemijskoj analizi.

<b>Primarni antiserum i klon</b>	<b>Imunogen</b>	<b>Proizvođač/ Kataloški broj</b>	<b>Razblaženje antitela</b>
NPY (po zečji anti-NPY)	Sintetski NPY	Abcam, UK Ab43824	1:400
VIP (po zečji anti-VIP)	VIP humanog porekla	Abcam, UK Ab8556	1:20
SP (mo mišji anti-SP)	Sintetska SP	Abcam, UK Ab10353	1:1000
Somatostatin (po zečji anti-SOM)	Sintetski ciklični (1-14) somatostatin	Dako Denmark A/S A 0566	1:200
CGRP (po zečji anti-CGRP)	Sintetski CGRP	Abcam, UK Ab189786	1:50

Imunohistohemijska bojenja vršena su uz kontrolu kvaliteta i specifičnosti bojenja primenom “pozitivnih” i “negativnih” kontrola. Kao kontrolni uzorci korišćeni su normalni uzorci zida kolona i apendiksa kao i mozga čoveka, a kao “negativna” kontrola u toku imunohistohemijskog bojenja služili su tkivni preseći uzoraka gangliona kojima se dokazuje ekspresija markera, ali su u toku procedure bojenja tretirani neimunskim serumom umesto primarnim antitelom.

Intenzitet imunske reakcije određivali su semikvantitativno dva nezavisna istraživača kao jak (+++), umeren (++) , slab (+) ili negativan (-). Analizirani su preparati na uvećanju x400.

### 3.7. Statistička obrada rezultata

U radu su korišćene metode deskriptivne i inferencijalne statistike. Od metoda deskriptivne statistike koristili smo mere centralne tendencije i mere varijabiliteta i to: aritmetičku sredinu sa standardnom devijacijom, minimalne i maksimalne vrednosti, kao i relativne brojeve za kategorijalne varijable. Od metoda inferencijalne statistike koristili smo metode za procenu značajnosti razlike i to: Student-ov t test za nezavisne uzorke i numeričku jednofaktorsku analizu varijanse (ANOVA) sa Bonferonni korekturom, kao i metode za procenu značajnosti povezanosti – Pearson-ov koeficijent linearne korelacije. Koristili smo Kolmogorov-Smirnov test za pokazivanje normalne distribucije podataka svih merenih parametara. Svi dobijeni rezultati prikazani su tabelarno, grafički ili putem histograma. Svi rezultati su izraženi kao srednja vrednost  $\pm$  SD. Minimalni nivo statističke značajnosti ustanovljen je na  $p < 0,05$ . Statistička analiza je uradjena korišćenjem statističkog programa SPSS (SPSS for Windows, IBM SPSS Statistics Version 25).

## 4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

### 4.1. Gornji vratni simpatički ganglion (GVSG), mikromorfološka analiza

Istraživanje koje je obavljeno na 20 izdvojenih gornjih vratnih simpatičkih gangliona (GVSG) odraslih osoba oba pola pokazalo je prisustvo gangliona u svim slučajevima (100%). Ganglion je imao stalan položaj, ispred pretkičmenih mišića (*m. longus capitis*) i poprečnih nastavaka drugog i trećeg vratnog pršljena (C3, C4), pretkičmenom fascijom razdvojen od *nervusa vagus*-a i unutrašnje karotidne arterije, koji su ispred njega.

Morfološki smo izdvojili dva oblika gangliona: valjkasto ovalni i pljosnato cilindrični (Slike 4.1, 4.2.). Ovalni GVSG bio je prisutan u 12 (60%) slučajeva, dok je cilindričan ganglion postojao u 8 (40%) slučajeva. Merenjem obima svih gangliona, dobili smo podatke za površinu, dužinu i širinu gangliona, a zatim smo sve morfometrijske podatke uneli u Tabelu 4.1., i Tabelu 4.2.

Tabela 4.1. Merni parametri ovalnih gornjih vratnih simpatičkih gangliona.

<b>GVSG ovalni 12 (60%)</b>	<b>M (mm)</b>	<b>SD (<math>\pm</math> mm)</b>	<b>SE (<math>\pm</math> mm)</b>	<b>Min (mm)</b>	<b>Max (mm)</b>
<b>Širina</b>	6,83	0,93	0,23	4,78	8,20
<b>Dužina</b>	18,96	1,73	0,5	15,09	20,53
<b>Obim</b>	43,91	4,63	1,34	33,58	49,72
	<b>M (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>SD (<math>\pm</math> mm<sup>2</sup>)</b>	<b>SE (<math>\pm</math> mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Min (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Max (mm<sup>2</sup>)</b>
<b>Površina</b>	97155,09	23554,38	6799,56	46967,99	134094,94

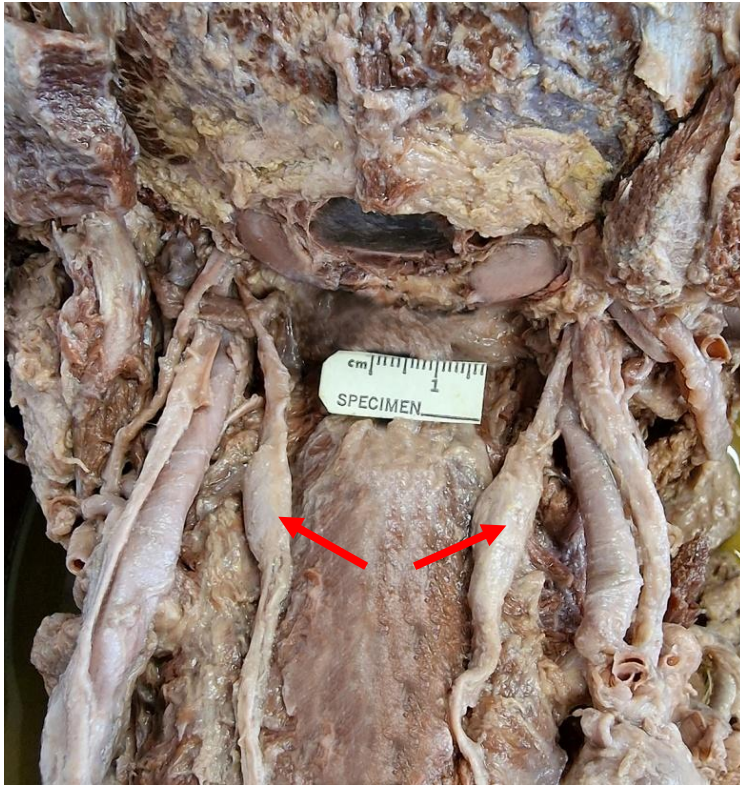
M-srednja vrednost, SD-standardna devijacija; SE-standardna greška

Tabela 4.2. Merni parametri cilindričnih gornjih vratnih simpatičkih gangliona.

<b>GVSG cilind. 8 (40%)</b>	<b>M (mm)</b>	<b>SD (<math>\pm</math> mm)</b>	<b>SE (<math>\pm</math> mm)</b>	<b>Min (mm)</b>	<b>Max (mm)</b>
<b>Širina</b>	7,09	0,94	0,33	5,25	8,55
<b>Dužina</b>	20,79	0,81	0,29	20,18	22,74
<b>Obim</b>	52,32	4,59	1,62	45,96	62,23
	<b>M (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>SD (<math>\pm</math> mm<sup>2</sup>)</b>	<b>SE (<math>\pm</math> mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Min (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Max (mm<sup>2</sup>)</b>
<b>Površina</b>	129106,34	29150,90	10306,40	86745,36	190532,79

M-srednja vrednost, SD-standardna devijacija; SE-standardna greška



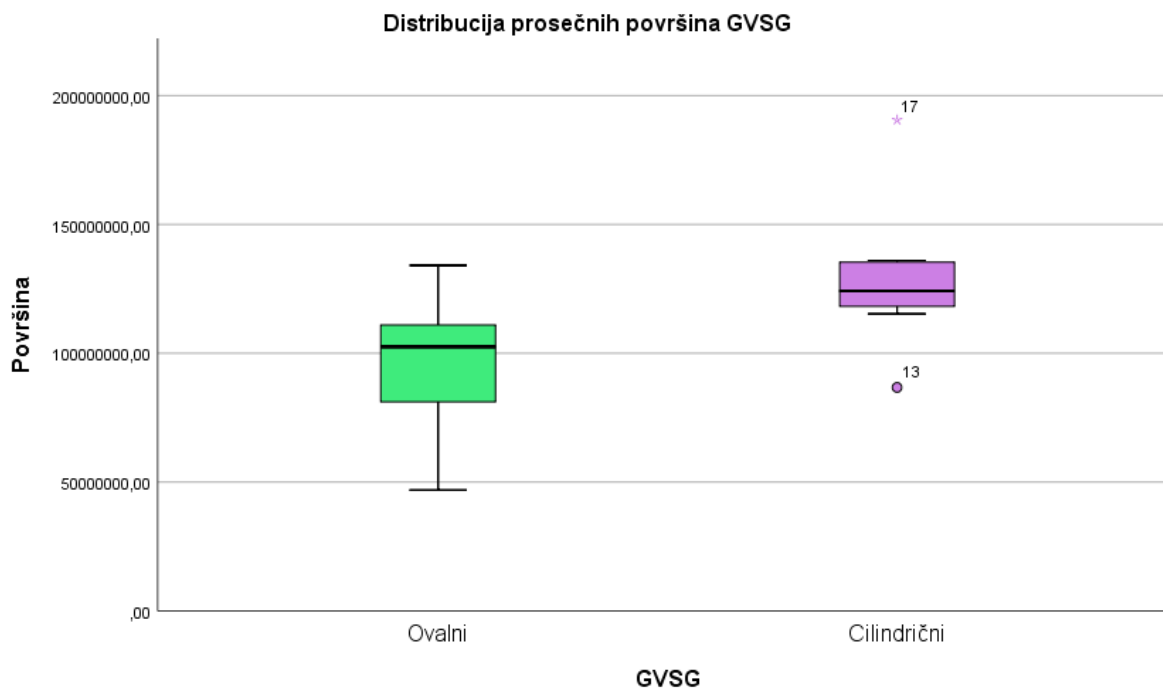


Slika 4.1. Preparat glave i vrata sa obostranim ovalnim GVSG (strelice, disekcija).



Slika 4.2. Preparat glave i vrata sa ovalnim i cilindričnim GVSG (strelice, disekcija).

Analizom dobijenih vrednosti merenja pokazali smo da su ovalni GVSG prosečno kraći, dužine od 18,96 mm, u odnosu na duže cilindrične ganglione, 20,79 mm. Ovalni GVSG su neznatno prosečno uži, širine od 6,83 mm, u odnosu na šire cilindrične ganglione, 7,09 mm. Takođe, prosečna površina ovalnih GVSG, koja je iznosila 97155,09 mm<sup>2</sup> je statistički značajno manja od prosečne površine cilindričnih gangliona koja je bila 129106,34 mm<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,014$ ) (Slika 4.3.).



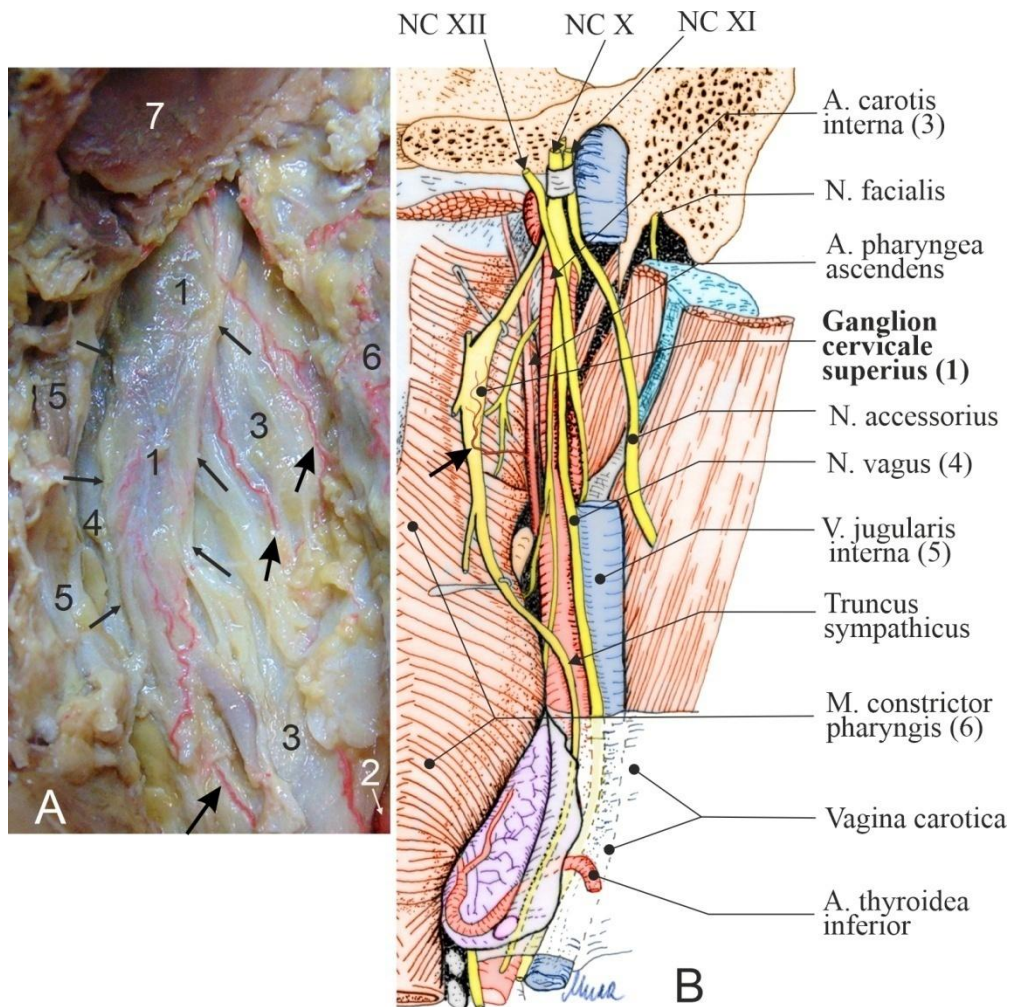
Slika 4.3. Poređenje prosečnih površina ovalnih i cilindričnih GVSG. Postoji statistički značajna razlika između dve grupe podataka ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,014$ ).

## 4.2. Ispitivanje periganglijske arterijske vaskularizacije GVSG

Periganglijska arterijska vaskularizacija je proučavana preciznom disekcijom laterofaringealnog predela vrata 20 celih preparata glave i vrata. Ushodna ždrelna arterija (*a. pharyngea ascendens*, APHA) je postojala na svim preparatima (20, 100%). APHA se pružala ushodno, duboko postavljena između stabla *a. carotis internae* i bočnog zida ždrelna, usmerena prema bazi lobanje (Slika 4.4.). Od nje se odvajalo 2 do 4 grane, prosečno 2,85, prečnika od 0,25 do 0,5 mm, prosečnog kalibra 0,32 mm (Tabela 4.3.). Ganglijske grane su prolazile kroz međucelijsko tkivo, prilazile su ganglionu sa prednje i zadnje strane, i vijugavo se pružale površinom gangliona. Penetrantne arteriole su se odvajale od ganglijskih arterija i kontinuirano su ulazile u stromu gangliona. Nismo uočili bilo kakve anastomotične sudove koji su učestvovali u formiranju spoljašnjih međuarterijskih anastomoza, niti između ganglijskih sudova, niti sa okolnim ždrelnim arterijama i njihovim granama.

Tabela 4.3. Merni parametri ganglijskih grana gornjih vratnih simpatičkih gangliona.

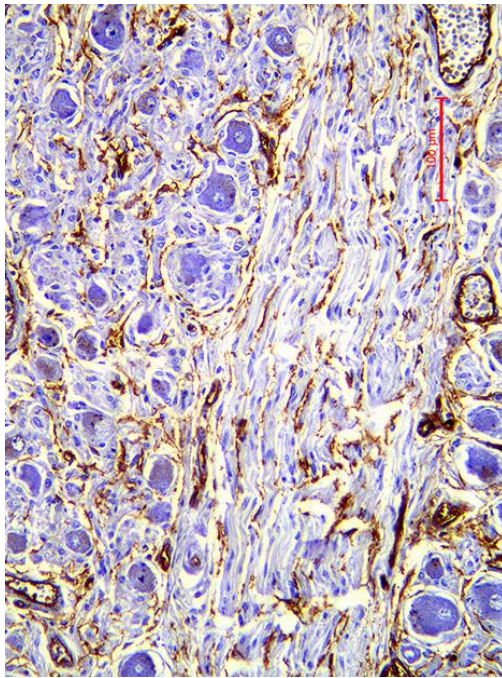
GVSG broj	Broj grana min–max (M ± SD)	Prečnici grana (mm) min–max (M ± SD)
20	2-4 (2,85 ± 0,75)	0,25-0,5 (0,32 ± 0,67)



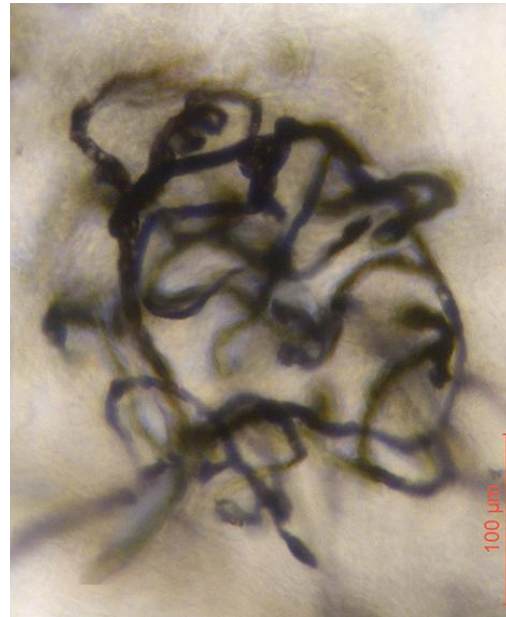
Slika 4.4. A) GVSG (1), označen malim strelicama, vaskularizovan je sa tri grane (velike strelice) koje se odvajaju od *a. pharyngeae ascendens* (2), neposredno iza *a. carotis intena*e (3), *n. vagus*-a (4), i *venae jugularis interna*e (5); zadnji zid ždrela (6); *condylus occipitalis* (7) (pogled sa zadnje strane po dezartikulaciji glave i odizanju kičmenog stuba unazad). B) Crtež desne polovine vrata sa elementima laterofaringealnog prostora (pogled otopozadi na zadnji zid ždrela po uklanjaju kičmenog stuba).

### 4.3. Ispitivanje intraganglijske arterijske vaskularizacije GVSG

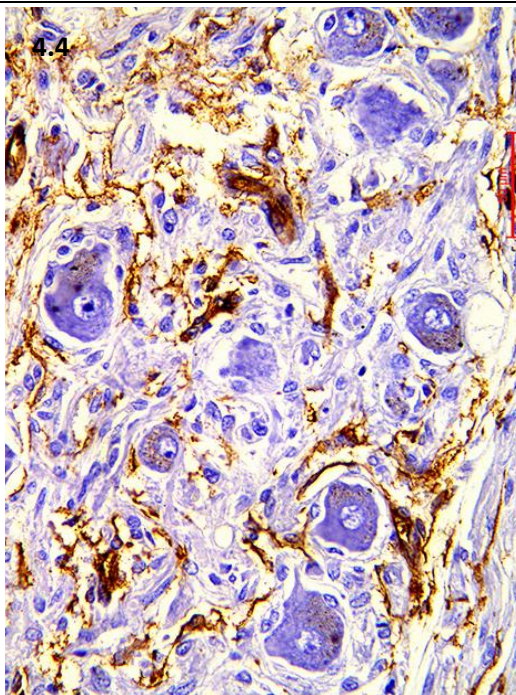
Intraganglijska arterijska vaskularna mreža, prikazana i na histološkim preparatima GVSG bojenim trihromskom metodom po Massonu, analizirana je na mikroskopskim poljima preparata ganglionu posle imunske reakcije na vaskularni endotelni marker CD34. Endotel krvnih sudova do nivoa kapilara pokazivao je jaku imunsku reakciju. Uzdužni preseki celog ganglionu su korišćeni za analizu gustine mikrosudova (GMS) u gornjem i donjem delu GVSG (Slike 4.5-4.8.). Prosečan broj mikrosudova u mikroskopskom polju na uvećenju x400 u gornjem delu GVSG iznosio je 67 do 104 (prosečno  $83 \pm 11,97$ ), dok je u donjem delu GVSG iznosio prosečno  $82,7 \pm 10,2$  (od 68 do 98). Nema statistički značajne razlike GMS između dva dela GVSG ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,953$ ), distribucija mikrosudova u gornjem i donjem delu GVSG bila je uniformna, bez pokazanih mikromorfoloških razlika (Tabele 4.4., 4.9.) (Slike 4.5-4.8.).



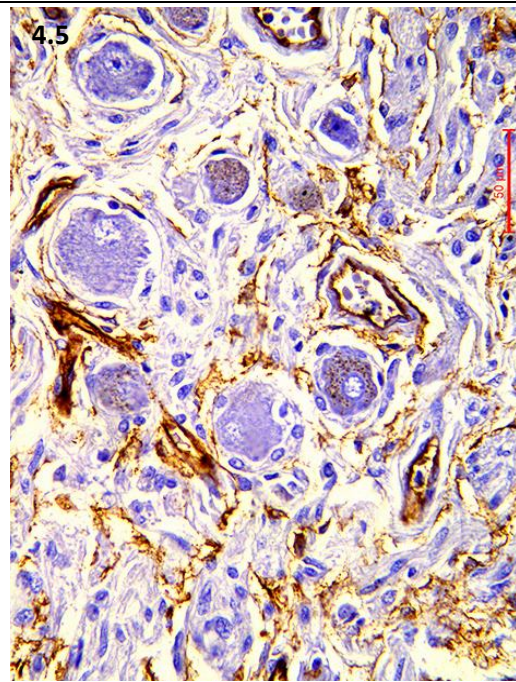
4.5.



4.6.



4.7.

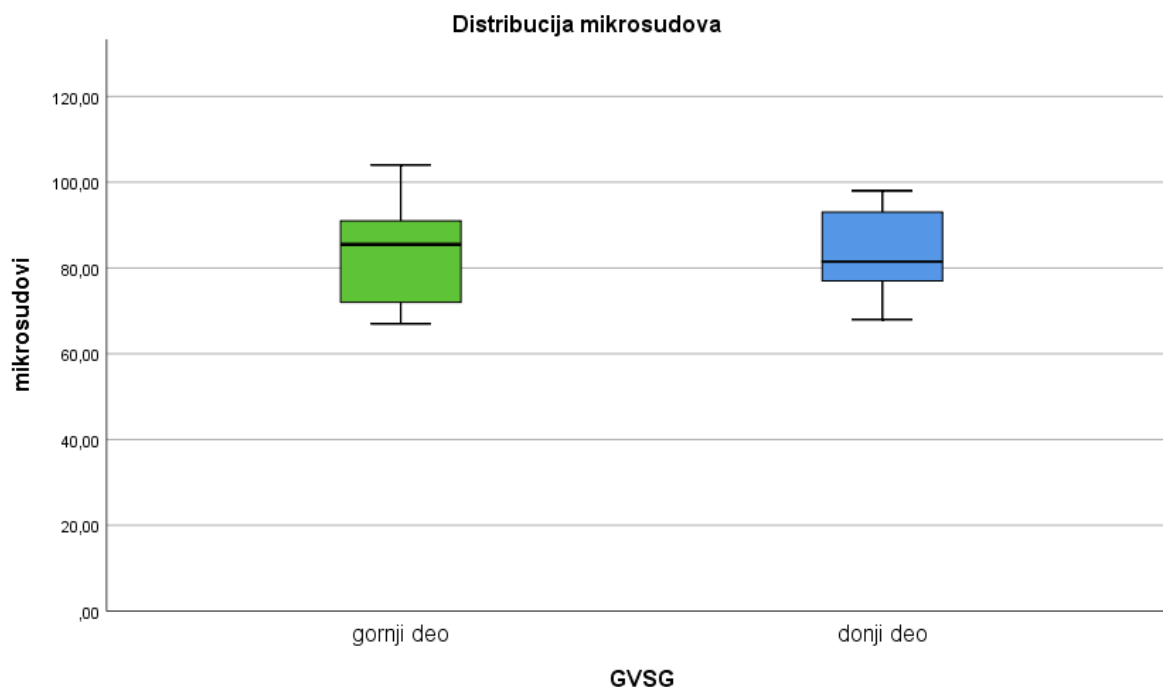


4.8.

Slike 4.5-4.8. Fini intraganglijski mikrosudovi (zlatno braon) koji okružuju ganglijske neurone GVSG, kao i kapilari koji se pružaju paralelno aksonima u samom ganglionu (IHH, CD34) (4.5.). Detalj intraganglijske kapilarne mreže injiciranja tušem i želatinom (prosvetljen preparat) (4.6.). Detalj preparata gornjeg dela GVSG sa obojenim (braon) finim mikrosudovima u blizini neurona (IHH, CD34) (4.7.). Detalj preparata donjeg dela GVSG sa obojenom mrežom mikrosudova u blizini neurona (IHH, CD34) (4.8.).

Tabela 4.4. Gustina mikrosudova (GMS) gornjih vratnih simpatičkih gangliona.

GVSG	Gornji deo	Donji deo
<b>Broj mikrosudova po mikroskopskom polju: min–max (M ± SD)</b>	67-104 (83 ± 11,97)	68-98 (82,7 ± 10,2)

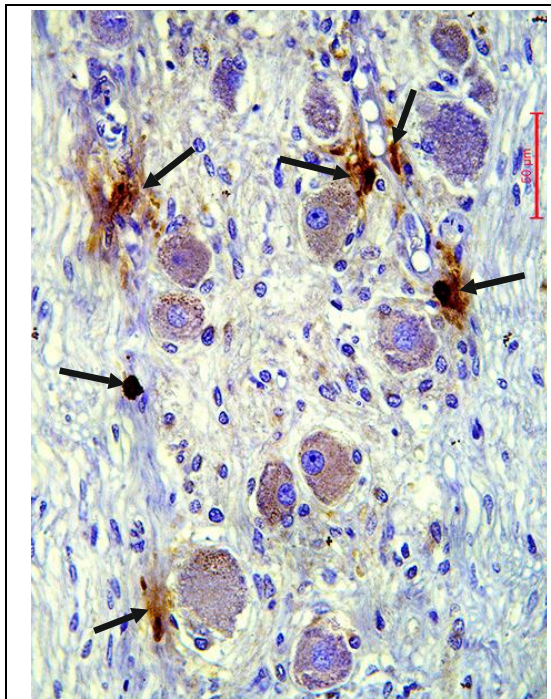


Slika 4.9. Poređenje gustine mikrosudova (GMS) dva dela GVSG: gornjeg i donjeg. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,953$ ).

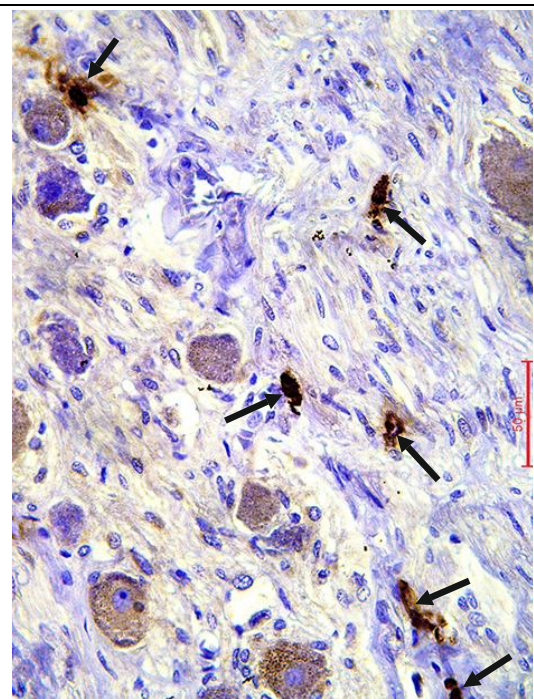
#### 4.4. Određivanje karakteristika distribucije mastocita u tkivu GVSG

Gustina mastocita (GMA), koja je opisana kao prosečan broj vidljivih mastocita u definisanom mikroskopskom polju na uvećanju x400, određivana je u dva dela GVSG, u gornjem (proksimalnom) i donjem (distalnom) delu gangliona. Triptaza pozitivni mastociti (MCTrip) braon boje, različite veličine, u gornjem delu GVSG varirali su u broju od 2-6, prosečno  $4,5 \pm 1,43$ , dok je njihov broj u donjem delu GVSG iznosio od 3 do 6, prosečno  $4,7 \pm 0,95$ . Nema statistički značajne razlike GMA između dva dela GVSG ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,717$ ), raspored mastocita u gornjem i donjem delu GVSG bio je uniforman, bez pokazanih razlika u rasporedu (Tabele 4.5., 4.9.), Slike 4.10-4.14).

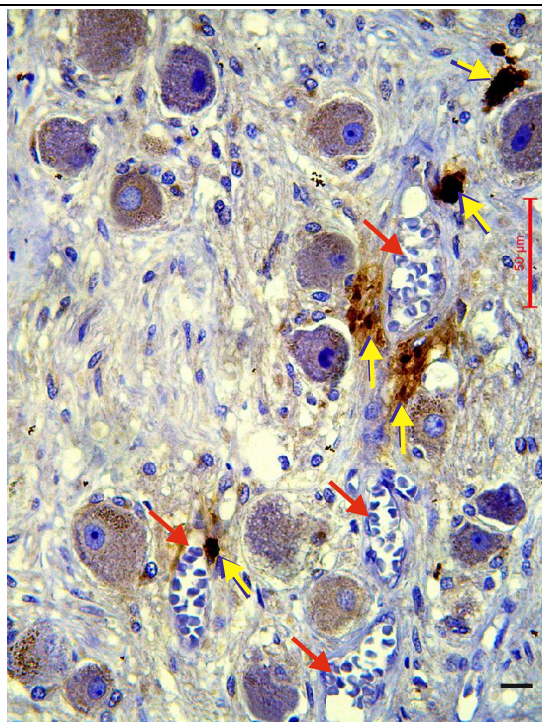
Triptaza pozitivne mastocite smo registrovali uvek u blizini krvnih sudova (Slika 4.12.), ali takođe i u periganglijskom vezivnom tkivu, kao i između aksona simpatičkih nerava, grana koje izlaze iz gangliona (Slika 4.13.).



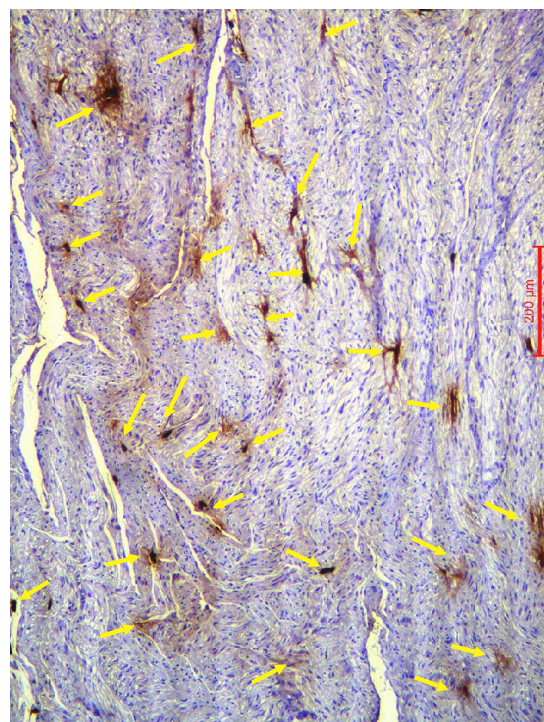
4.10.



4.11.



4.12.

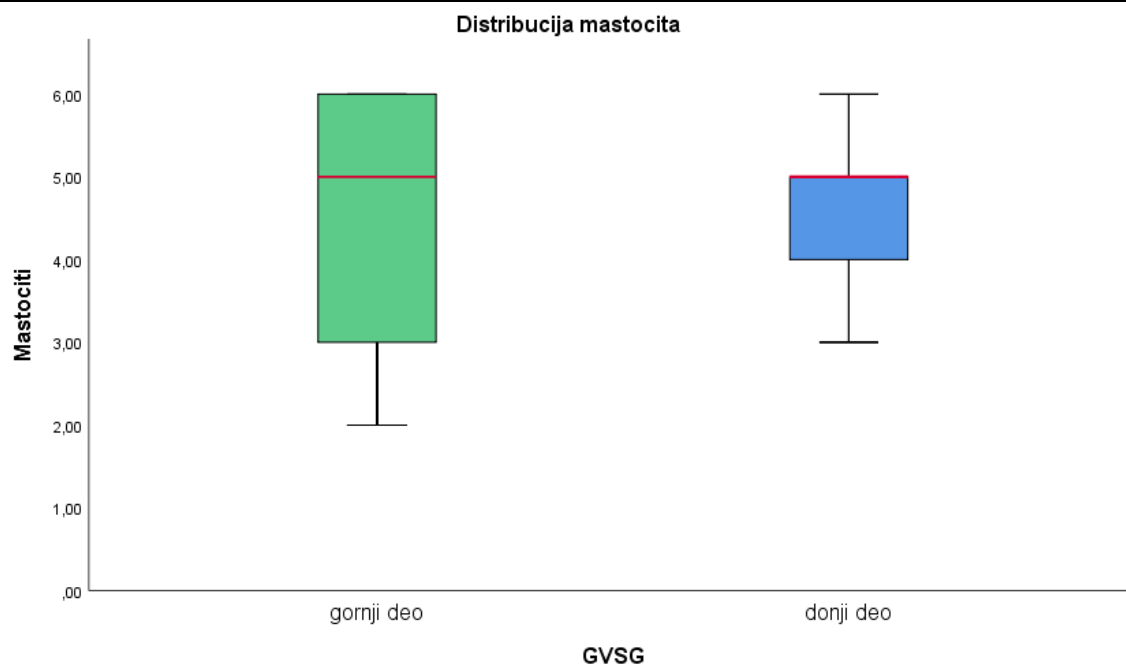


4.13.

Slike 4.10-4.13. Detalj preparata gornjeg dela GVSG sa obojenim mastocitima (strelice) u blizini neurona (IHH, MCTrip) (4.10.). Detalj preparata donjeg dela GVSG sa obojenim mastocitima (strelice) u blizini neurona (IHH, MCTrip) (4.11.). Triptaza pozitivni mastociti (žute strelice) u blizini krvnih sudova (crvene strelice) (4.12.). Brojni triptaza pozitivni mastociti (žute strelice) u između aksona *n. caroticus internus*-a (4.13.).

Tabela 4.5. Gustina mastocita (GMA) gornjih vratnih simpatičkih gangliona.

GVSG	Gornji deo	Donji deo
Broj mastocita po mikroskopskom polju: min–max (M ± SD)	2-6 (4,5 ± 1,43)	3-6 (4,7 ± 0,95)

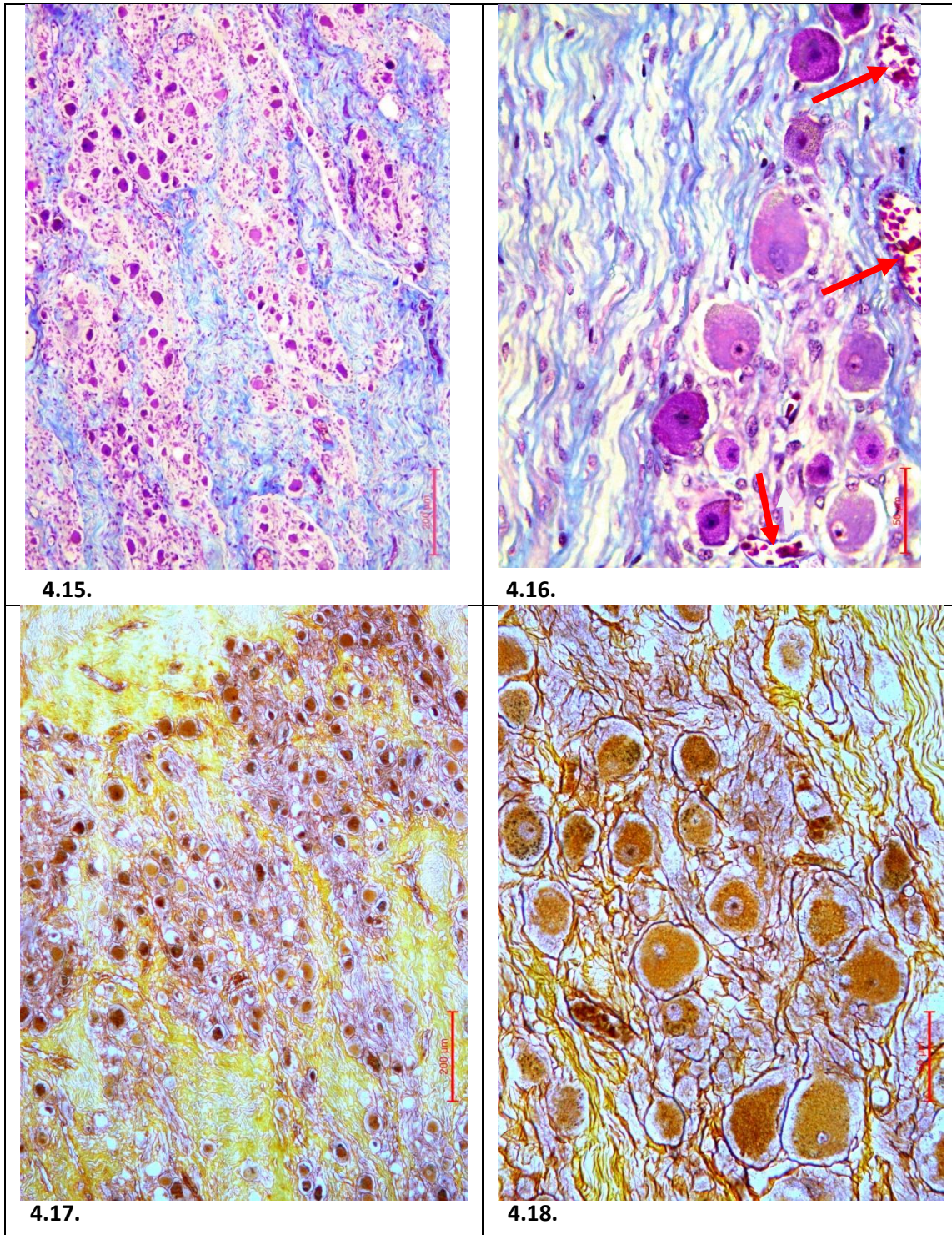


Slika 4.14. Poređenje gustine mastocita (GMA) dva dela GVSG: gornjeg i donjeg. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,717$ ).

#### 4.5. Određivanje broja i morfoloških mernih karakteristika ganglijskih i satelitskih ćelija u GVSG

Brojanje ganglijskih nervnih ćelija (GNĆ) obavljeno je u slučajno izabranim vidnim poljima preseka na uvećanju x400, na ganglijskim ćelijama koje su presečene kroz jasno vidljivo jedro sa jedarcetom, kroz najširi deo ćelije (Slike 4.15. do 4.18.). Broj neurona varirao je od 13 do 24 (prosečno  $19,5 \pm 3,14$ ) u gornjim delovima GVSG, odnosno od 12 do 24 (prosečno  $19,8 \pm 3,65$ ) u donjim delovima gangliona (Tabela 4.6.) (Slike 4.7., 4.8., 4.10., 4.11.). Statistička analiza je pokazala da nije bilo značajne razlike u distribuciji neurona u gornjim i donjim delovima gangliona ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,846$ ) (Slika 4.19.) (Tabela 4.9.). Takođe, nema statistički značajne razlike u distribuciji neurona, npr. srednje veličine u gornjim i donjim delovima gangliona ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,237$ ) (Slika 4.20.) (Tabela 4.9.).

Naše istraživanje je obuhvatilo i merenja dužih i kraćih prečnika ganglijskih neurona, kao i izračunavanje njihovih prosečnih prečnika. Dužine prosečnih prečnika ganglijskih neurona GVSG varirale su od 25,04  $\mu\text{m}$  u gornjim delovima gangliona do 25,58  $\mu\text{m}$  u njihovim donjim delovima. Poređenjem prosečnih prečnika 195 neurona gornjih delova GVSG sa prosečnim dijametrima 198 neurona donjih delova gangliona nismo našli statistički značajnu razliku u ovim delovima gangliona ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,333$ ) (Tabele 4.7., i 4.8.) (Slika 4.21.). Takođe, poređenjem prosečnih površina 195 neurona gornjih delova GVSG sa prosečnim površinama 198 neurona donjih delova gangliona nismo pokazali postojanje statistički značajnih razlika ovih vrednosti ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,431$ ) (Tabele 4.7., 4.8., i 4.9.) (Slika 4.22.).



Slike 4.15-4.18. Histološke karakteristike GVSG, nervnih i glijalnih satelitskih ćelija (GŠĆ). Trihromsko bojenje po Masson-u boji u crveno neurone, aksone i GŠĆ, dok su kolagena vlakna plavo obojena na manjem (4.15.) i većem uvećanju, crvene strelice označavaju krvne sudove (4.16.). Gomori metodom rastvorom srebra za retikulinska vlakna boje se retikulinska vezivna vlakna u GVSG i nespecifično i neuroni dok se GŠĆ ne boje, na manjem (4.17.) i većem uvećanju (4.18.).



Tabela 4.6. Broj i morfometrijska klasifikacija neurona GVSG.

GVSG	Gornji deo			Donji deo		
<b>Broj neurona po mikroskopskom polju: min-max (M ± SD)</b>	13-24 (19,5 ± 3,14)			12-24 (19,8 ± 3,65)		
<b>Prečnik tela neurona (µm)</b>	<b>Mali (15-30)</b>	<b>Srednji (30,1-40)</b>	<b>Veliki (40,1-55)</b>	<b>Mali (15-30)</b>	<b>Srednji (30,1-40)</b>	<b>Veliki (40,1-55)</b>
<b>Broj neurona u mikroskopskim poljima (M) %</b>	166 85,1%	29 14,9%	0 0%	162 81,8%	36 18,2%	0 0%
<b>Total</b>	195 (100%)			198 (100%)		

S obzirom na veličinu, koristeći prosečni prečnik kao kriterijum, izdvojili smo tri glavne grupe neurona u GVSG: male (15-30 µm), srednje (30,1-40 µm) i velike neurone (40,1-55 µm). Mali neuroni su bili dominantna populacija u GVSG, 85,1% u gornjim delovima i 81,8% prisutnih ćelija u donjim delovima gangliona. Ređe zastupljeni su bili neuroni srednje veličine, 14,9% u gornjim delovima i 18,2% prisutnih ćelija u donjim delovima gangliona (Tabela 4.6.) (Slike 4.15. do 4.18.). Velikih ćelija nije bilo na preparatima.

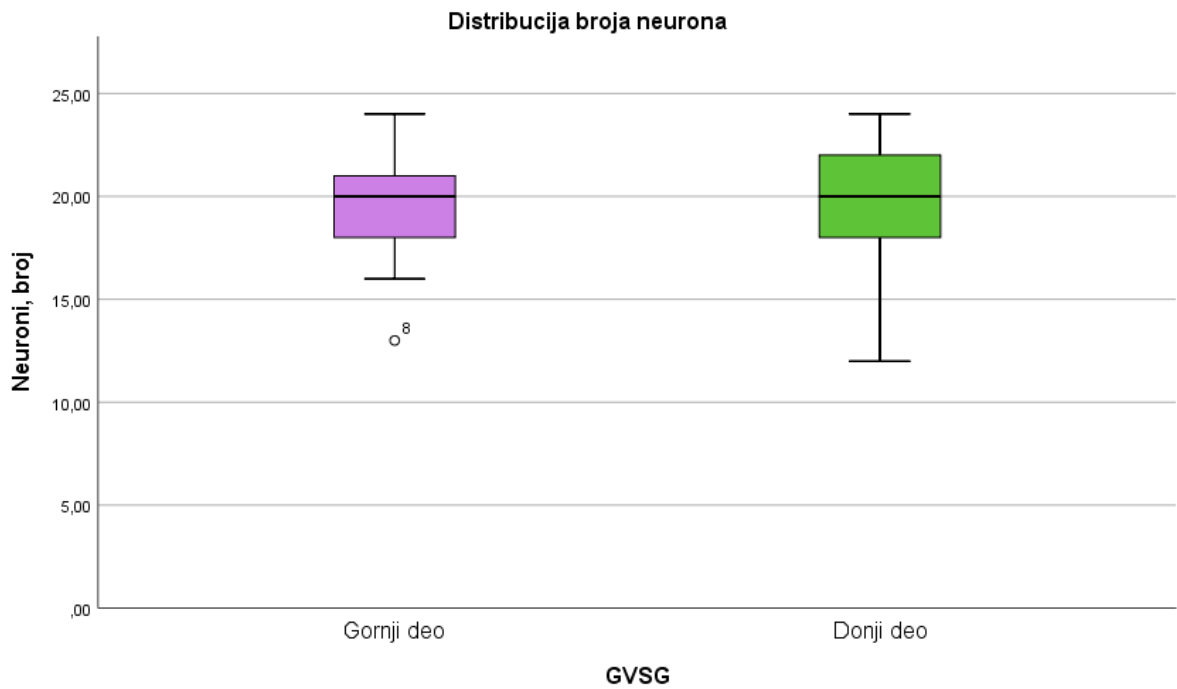
Tabela 4.7. Merne karakteristike neurona u gornjem delu GVSG.

NEURONI Gornji deo	M (µm)	SD (± µm)	SE (± µm)	Min (µm)	Max (µm)
<b>R2</b>	24,37	5,73	0,41	12,23	43,76
<b>R1</b>	25,7	8,08	0,58	12,86	72,24
<b>RM</b>	25,04	5,98	0,43	14,79	52,32
<b>Obim</b>	79,29	19,67	1,41	47,13	175,88
	<b>M (µm<sup>2</sup>)</b>	<b>SD (± µm<sup>2</sup>)</b>	<b>SE (± µm<sup>2</sup>)</b>	<b>Min (µm<sup>2</sup>)</b>	<b>Max (µm<sup>2</sup>)</b>
<b>Površina</b>	509,5	246,2	17,63	166,542	1838,886

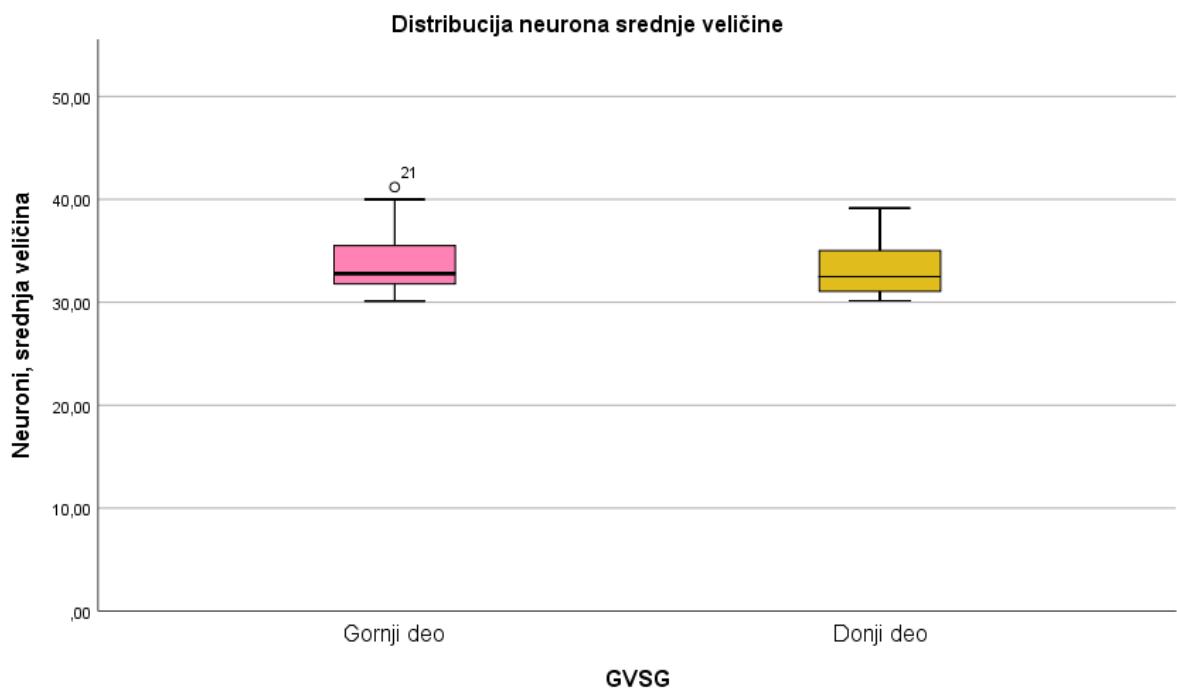
Tabela 4.8. Merne karakteristike neurona u donjem delu GVSG.

NEURONI Donji deo	M (µm)	SD (± µm)	SE (± µm)	Min (µm)	Max (µm)
<b>R2</b>	24,24	6,25	0,44	11,76	48,97
<b>R1</b>	26,33	5,35	0,38	12,15	39,82
<b>RM</b>	25,58	5,10	0,36	13,71	39,16
<b>Obim</b>	79,36	16,15	1,15	43,08	124,68
	<b>M (µm<sup>2</sup>)</b>	<b>SD (± µm<sup>2</sup>)</b>	<b>SE (± µm<sup>2</sup>)</b>	<b>Min (µm<sup>2</sup>)</b>	<b>Max (µm<sup>2</sup>)</b>
<b>Površina</b>	527,62	208,64	14,83	147,484	1172,155

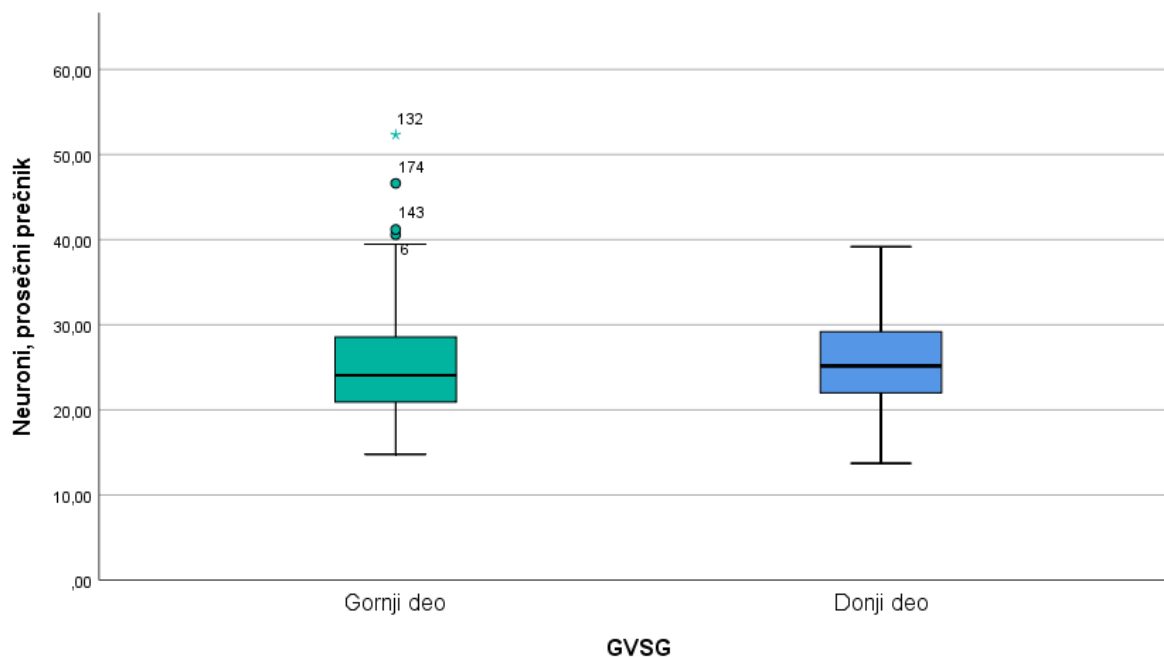
R2-kraći prečnik; R1-duži prečnik; RM-prosečni prečnik; M-srednja vrednost, SD-standardna devijacija; SE-standardna greška



Slika 4.19. Poređenje prosečnog broja neurona dva dela GVSG: gornjeg i donjeg. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,846$ ).



Slika 4.20. Poređenje prosečnog broja neurona srednje veličine dva dela GVSG: gornjeg i donjeg. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,237$ ).



Slika 4.21. Poređenje prosečnih prečnika neurona dva dela GVSG: gornjeg i donjeg. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,333$ ).

Tabela 4.8. Korišćenje Kolmogorov-Smirnovog testa za pokazivanje normalne distribucije podataka prosečnih prečnika (i ostalih parametara) svih merenih neurona ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,073$ ).

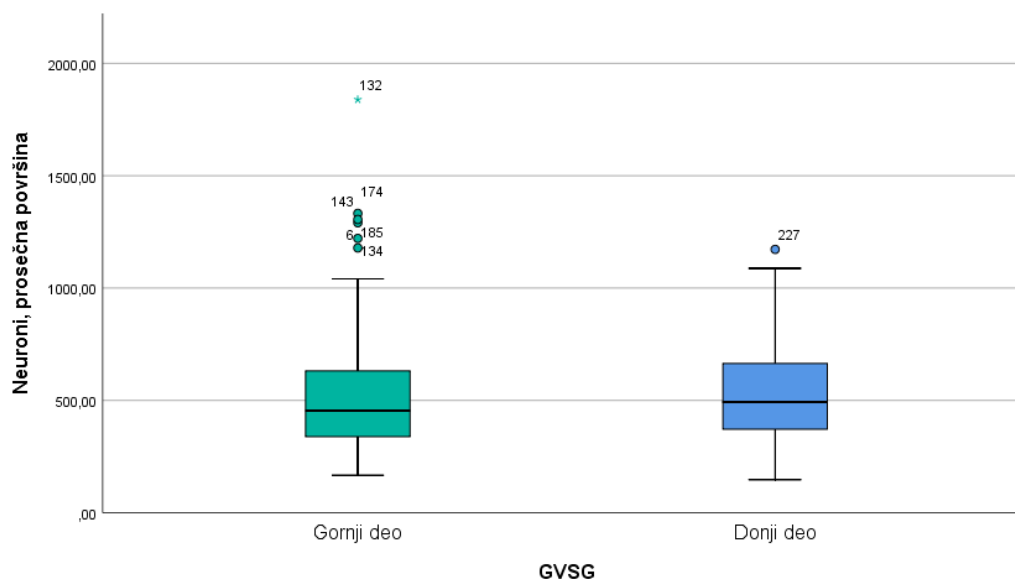
#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		M prečnik
N		393
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	25,2580
	Std. Deviation	5,39626
Most Extreme Differences	Absolute	,043
	Positive	,043
	Negative	-,028
Test Statistic		,043
Asymp. Sig. (2-tailed)		,073 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.



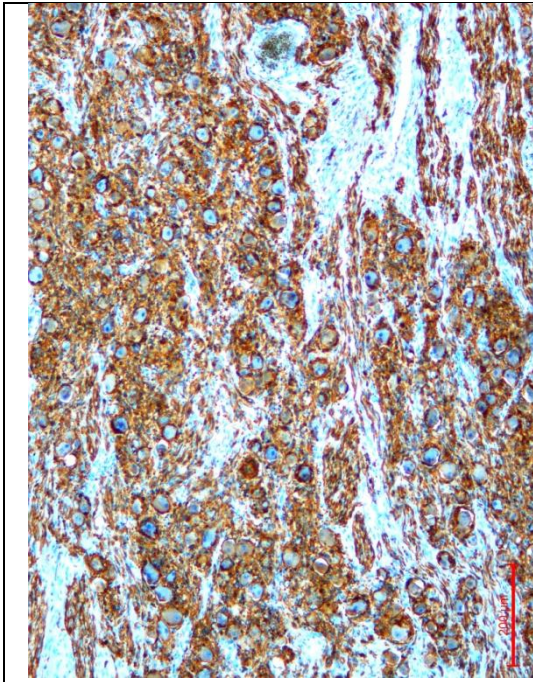
Slika 4.22. Poređenje prosečnih površina neurona dva dela GVSG: gornjeg i donjeg. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,431$ ).

Tabela 4.9. Korišćenjem t-testa pokazano je da nema statistički značajne razlike distribucije između dve grupe (gornje i donje) navedenih mernih parametara ( $p > 0,05$ ), osim kod analize površine celog GVSG ( $p < 0,05$ ).

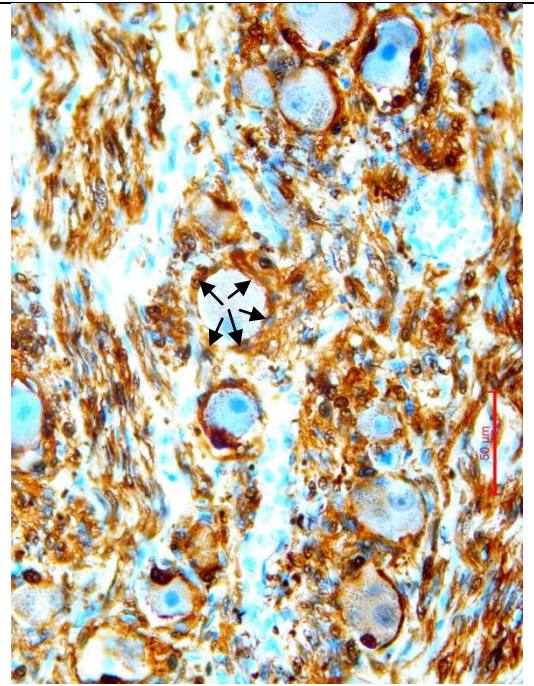
	t-test for equality of means	
	t	Sig. (2-tailed)
GVSG, površina	-2,705	<b>,014</b>
Neuroni, broj	-,197	,846
Neuroni, srednje veličina	,988	,237
RM	-1,187	,333
Površina	-1,055	,431
Mikrosudovi	,060	,953
Mastociti	-,368	,717

Određivanje broja ganglijskih ćelija kao i gustine mikrosudova (GMS) obavljeno je u slučajno izabranim vidnim poljima preseka na uvećanju x400, u gornjem i donjem delu GVSG. Ustanovili smo prosečan odnos neuroni/mikrosudovi koji je za gornji deo ganglionia iznosio 1:4,26, a za donji deo ganglionia 1:4,18. Svaki ganglijski neuron u gornjem delu ganglionia bio je okružen sa 4,3 mikrosuda, dok je u donjem delu ganglionia oko svakog neurona bilo prosečno 4,2 mikrosuda.

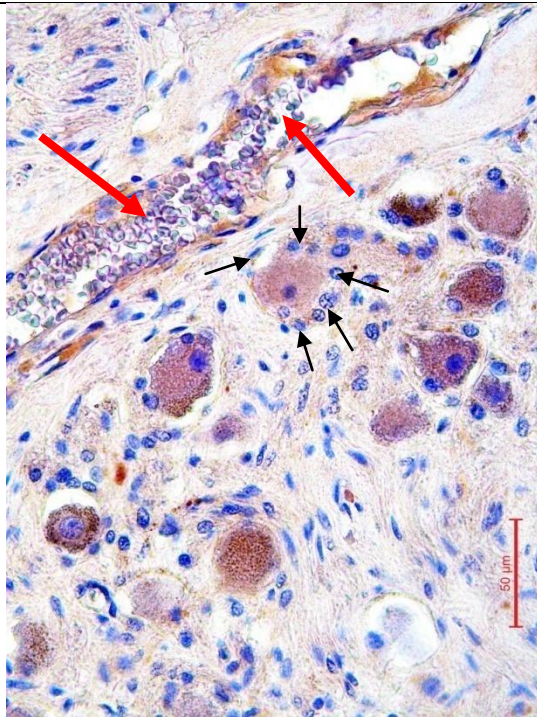
Glijalne satelitske ćelije (GSC) su bile prisutne na svim ganglijskim neuronima (Slike 4.23. do 4.26.). Njihov broj je na presecima ganglionia iznosio od 3 do 7, prosečno  $4,39 \pm 0,28$  po neuronu.



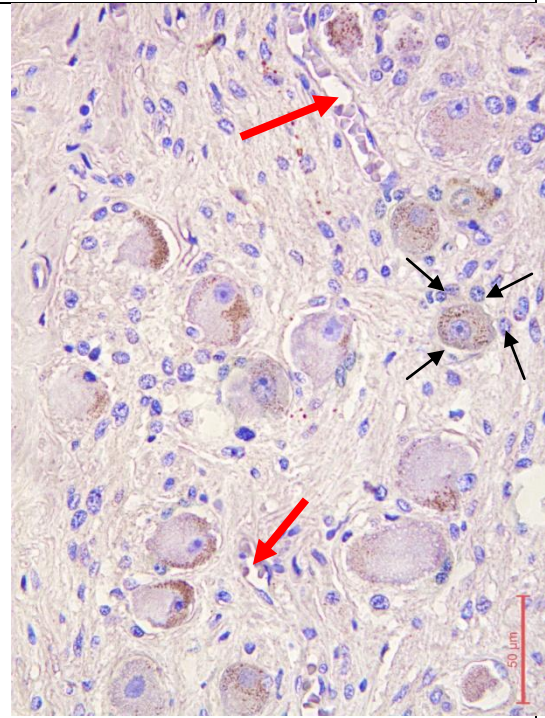
4.23.



4.24.



4.25.



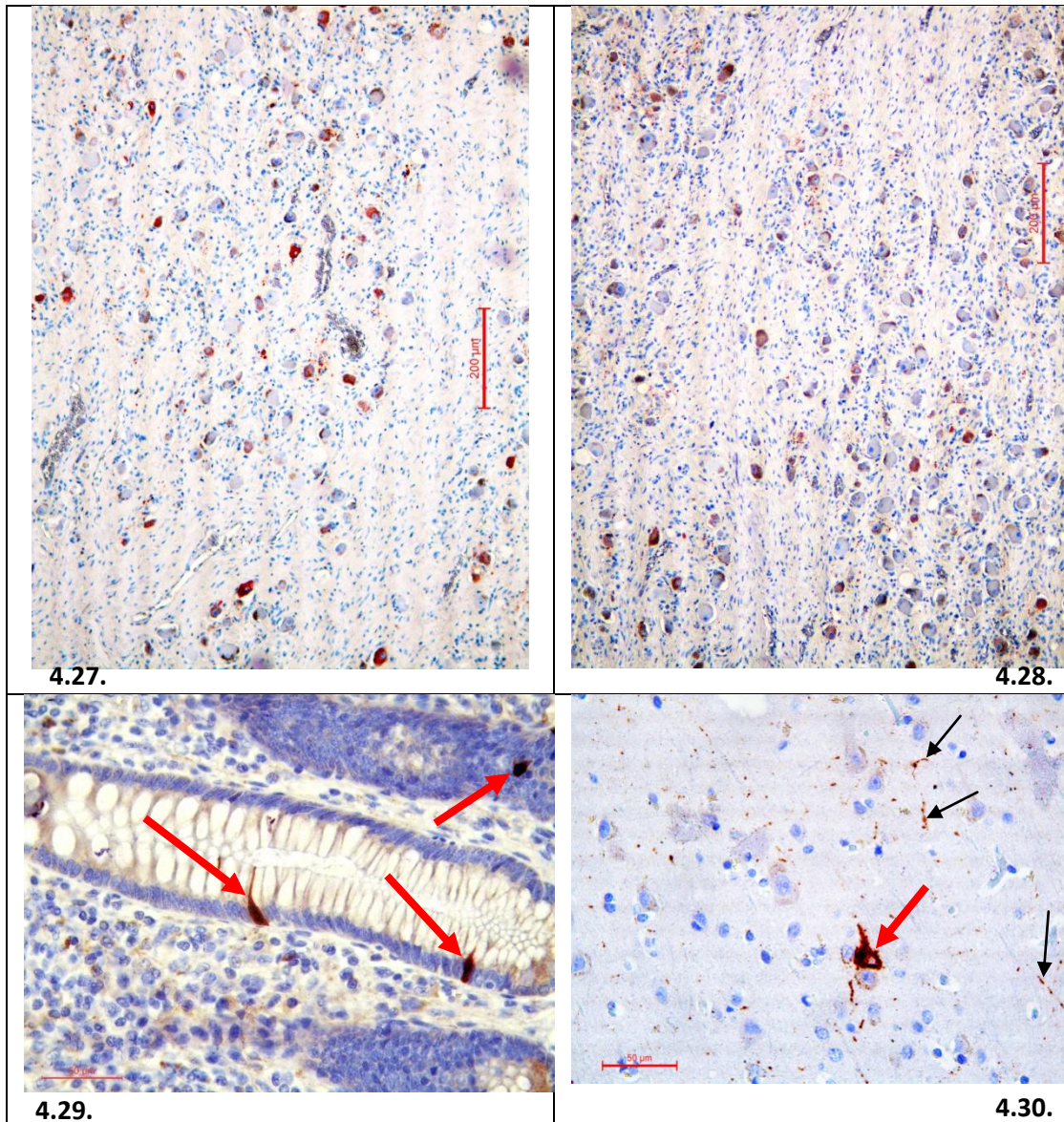
4.26.

Slike 4.23-4.26. Histološke karakteristike GVSG, nervnih i glijalnih satelitskih ćelija (GSC). S-100 protein imunoreaktivnost nekin neurona i svih GSC (male strelice) i aksona na manjem (4.23.) i većem uvećanju (4.24). CGRP imunoreaktivnost malih i srednjih ćelija humanog GVSG, GSC (strelice) su negativne, crvene strelice označavaju krvni sud (4.25.). SP negativna imunoreaktivnost ćelija humanog GVSG, kako neurona tako i GSC (male strelice), crvene strelice označavaju krvne sudove (4.26.).

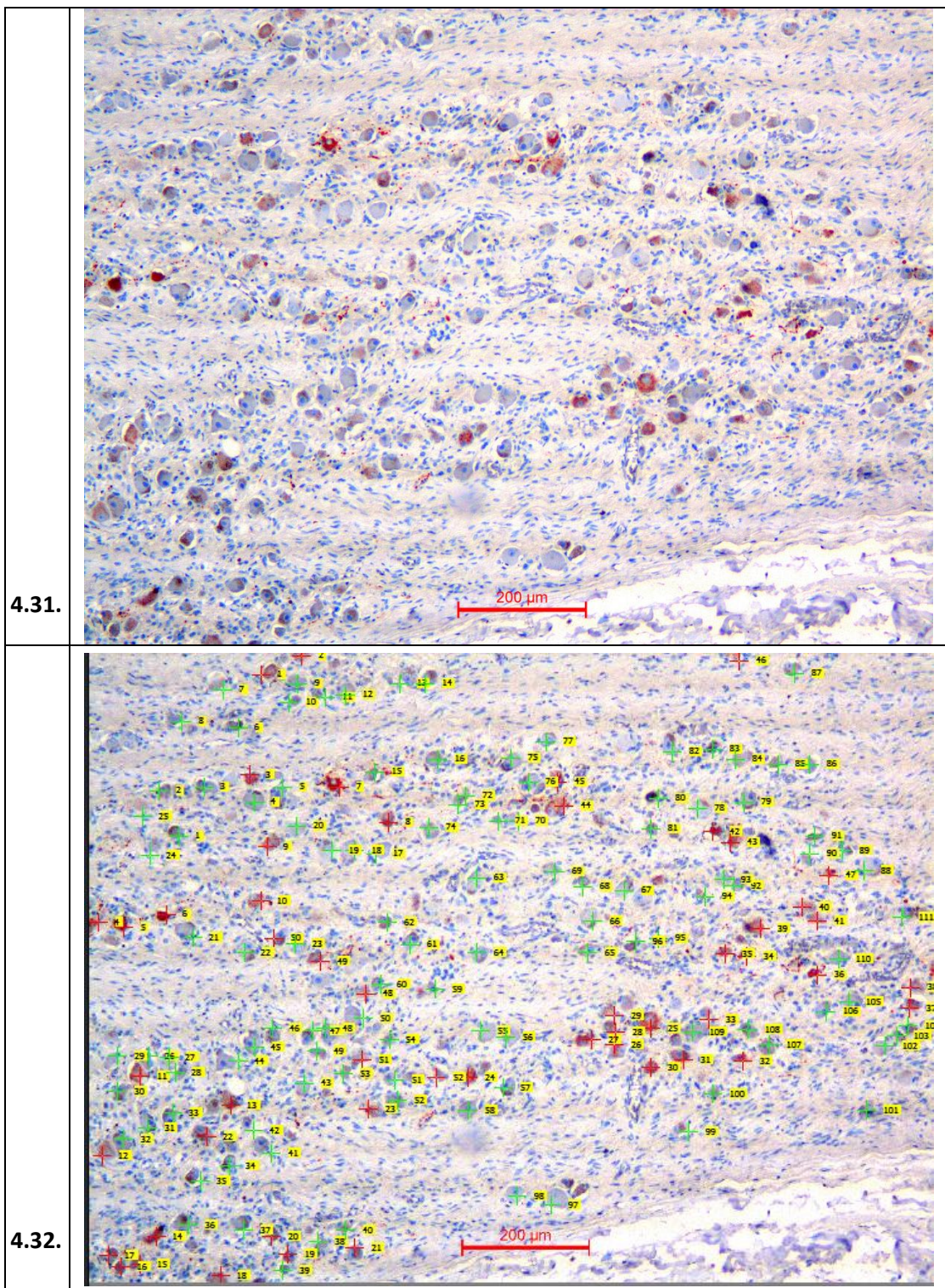
## 4.6. Određivanje broja i morfoloških mernih karakteristika ganglijskih ćelija u GVSG koje pokazuju imunoreaktivnost na neuropeptide: NPY, VIP, SP, SOM i CGRP

### 4.6.1. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na neuropeptid Y (NPY)

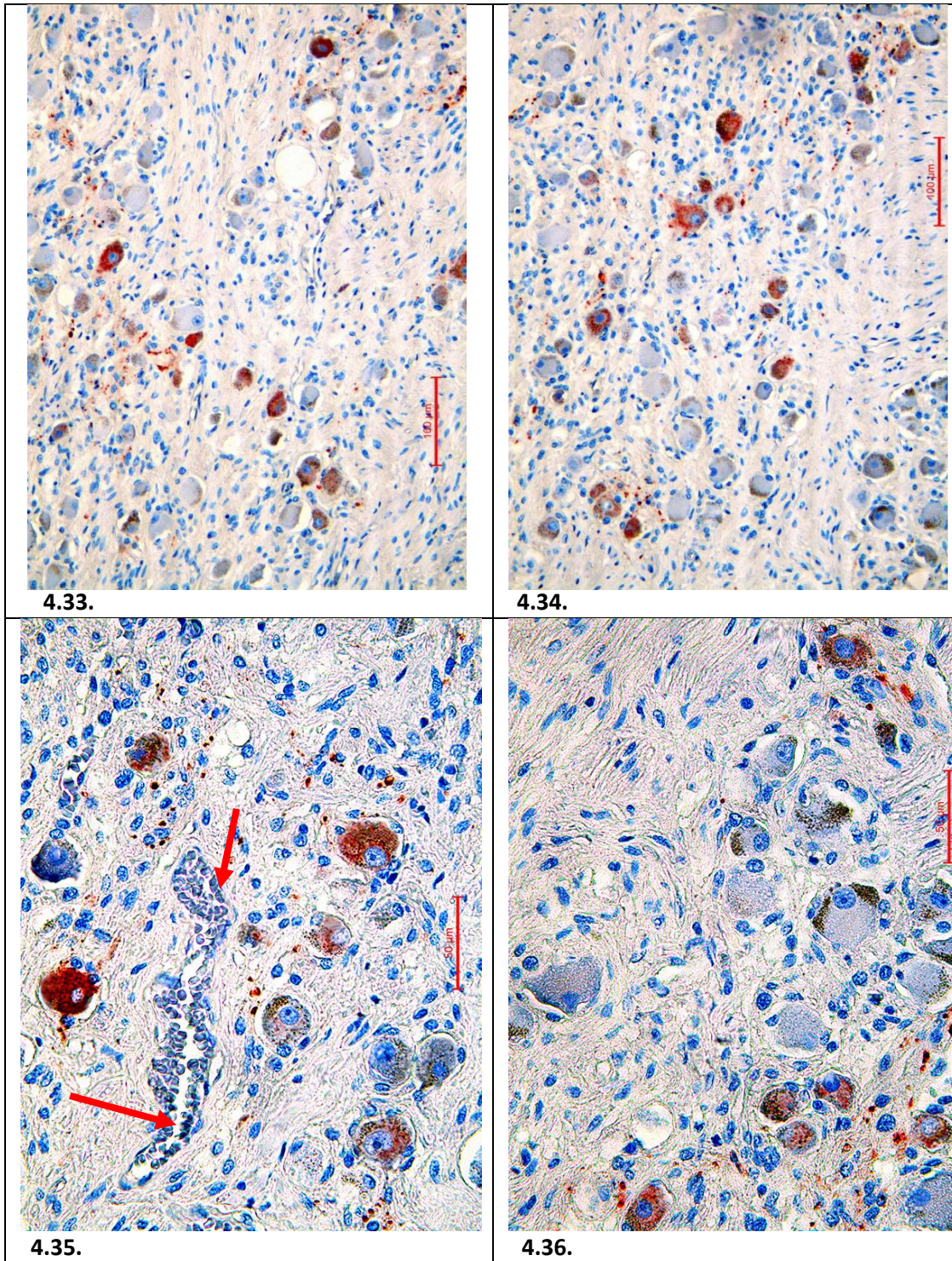
Mnoge ganglijske ćelije u GVSG pokazuju pozitivnu NPY imunoreaktivnost. Imunohistohemijsko bojenje prikazalo je označene ćelije. Brojanjem smo utvrdili da je slučajno izabrano mikroskopsko polje ganglionna na malom uvećanju x100 sadržalo 103 NPY- i 33 NPY+, odnosno 24,3% NPY+ neurona u svom gornjem delu, dok je u donjem delu bilo 111 NPY- i 52 NPY+, odnosno 32% NPY+ neurona (Slike 4.27., 4.28., 4.31., do 4.36.).



Slike 4.27-4.30. NPY imunoreaktivnost neurona GVSG, obojeni neuroni su crvenkasto braon boje, neobojene ćelije su plavičaste. Gornji deo GVSG na manjem uvećanju, x100 (4.27.). Donji deo GVSG na manjem uvećanju, x100 (4.28.). Kontrolni uzorak zida apendiksa pokazuje imunoreaktivnost enteroendokrinih ćelija (crvene strelice) (4.29). Kontrolni uzorak tkiva velikog mozga pokazuje NPY+ neuron (crvena strelica) i brojna NPY+ pozitivna nervna vlakna (male strelice) (4.30.)



Slike 4.31, 4.32. NPY imunoreaktivnost neurona donjeg dela GVSG, obojeni neuroni su crvenkasto braon boje, neobojene ćelije su plavičaste, na manjem uvećanju x100 (4.31.). Isti snimak je korišćen za brojanje NPY+ ćelija označenih crvenim krstićima i NPY- ćelija obeleženih zelenim krstićem, odnos je bio 52 :111 (32% NPY+) (4.32.).



Slike 4.33-4.36. NPY + simpatički neuroni GVSG, crvenkasto braon boje, nebojene ćelije su plavičaste. Gornji deo GVSG na srednjem uvećanju, x200 (4.33.). Donji deo GVSG na srednjem uvećanju, x200 (4.34.). Ganglijske ćelije različitog intenziteta bojenja u blizini većeg krvnog suda (strelice) u gornjem delu GVSG (4.35.). NPY+ neuroni donjeg dela GVSG izgledaju manji nego u gornjem delu, uočite nebojene ganglijske ćelije koje izgledaju veće od NPY- neurona gornjeg dela gangliona (4.36.)



Tabela 4.10. Merne karakteristike **NPY+** neurona u **gornjem delu** GVSG.

<b>NEURONI</b> <b>Gornji deo</b>	<b>M (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>SD (<math>\pm \mu\text{m}</math>)</b>	<b>SE (<math>\pm \mu\text{m}</math>)</b>	<b>Min (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Max (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
<b>R2</b>	24,00	5,28	1,1	17,18	32,83
<b>R1</b>	24,7	5,94	1,24	13,42	37,92
<b>RM</b>	24,35	5,38	1,12	15,84	35,12
<b>Obim</b>	76,70	16,82	3,51	50,32	110,7
	<b>M (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>SD (<math>\pm \mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>SE (<math>\pm \mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Min (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Max (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
<b>Površina</b>	485,42	217,38	45,33	192,39	962,96

Tabela 4.11. Merne karakteristike **NPY-** neurona u **gornjem delu** GVSG.

<b>NEURONI</b> <b>Donji deo</b>	<b>M (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>SD (<math>\pm \mu\text{m}</math>)</b>	<b>SE (<math>\pm \mu\text{m}</math>)</b>	<b>Min (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Max (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
<b>R2</b>	26,31	4,38	0,83	19,01	34,41
<b>R1</b>	27,87	5,01	0,95	20,42	39,42
<b>RM</b>	27,09	4,49	0,85	20,05	36,27
<b>Obim</b>	85,24	14,19	2,68	62,99	114,38
	<b>M (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>SD (<math>\pm \mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>SE (<math>\pm \mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Min (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Max (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
<b>Površina</b>	589,68	194,53	36,76	315,51	1025,56

Tabela 4.12. Merne karakteristike **NPY+** neurona u **donjem delu** GVSG.

<b>NEURONI</b> <b>Gornji deo</b>	<b>M (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>SD (<math>\pm \mu\text{m}</math>)</b>	<b>SE (<math>\pm \mu\text{m}</math>)</b>	<b>Min (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Max (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
<b>R2</b>	20,07	3,38	0,57	15,54	29,75
<b>R1</b>	20,47	4,04	0,68	12,46	30,67
<b>RM</b>	20,02	3,40	0,58	14,00	28,92
<b>Obim</b>	63,15	10,69	1,81	44,24	90,87
	<b>M (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>SD (<math>\pm \mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>SE (<math>\pm \mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Min (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Max (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
<b>Površina</b>	340,67	116,83	19,77	152,01	657,04

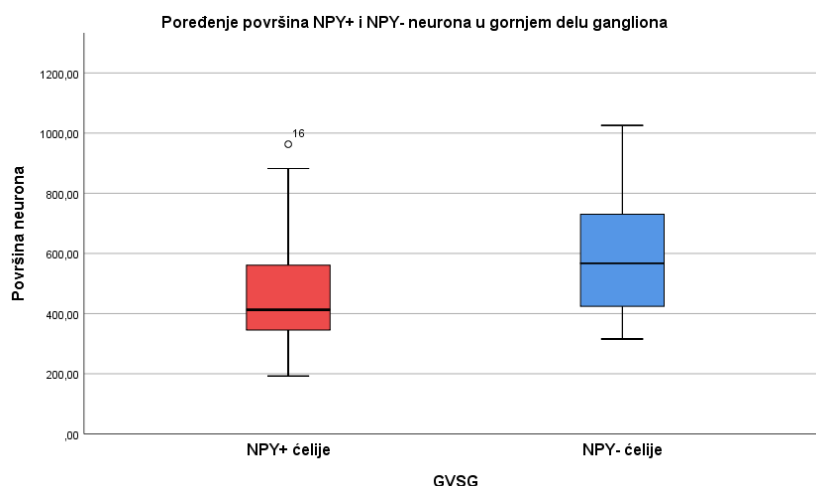
Tabela 4.13. Merne karakteristike **NPY-** neurona u **donjem delu** GVSG.

<b>NEURONI</b> <b>Donji deo</b>	<b>M (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>SD (<math>\pm \mu\text{m}</math>)</b>	<b>SE (<math>\pm \mu\text{m}</math>)</b>	<b>Min (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Max (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
<b>R2</b>	24,63	4,21	0,53	17,76	35,50
<b>R1</b>	26,51	5,29	0,67	17,66	43,67
<b>RM</b>	25,38	4,46	0,56	18,28	37,67
<b>Obim</b>	80,22	14,107	1,77	57,44	119,83
	<b>M (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>SD (<math>\pm \mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>SE (<math>\pm \mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Min (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Max (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
<b>Površina</b>	500,19	191,91	24,18	262,13	1085,91

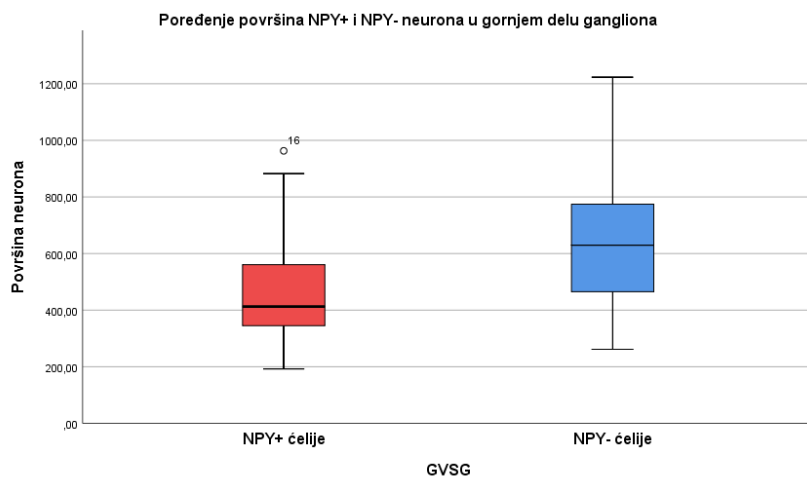
R2-kraći prečnik; R1-duži prečnik; RM-prosečni prečnik; M-srednja vrednost, SD-standardna devijacija; SE-standardna greška

Određivanje mernih karakteristika imunoreaktivnih NPY+, kao i NPY- ganglijskih nervnih ćelija (GNC) obavljeno je u slučajno izabranim vidnim poljima preseka na uvećanju x400, na ganglijskim ćelijama koje su presečene kroz jasno vidljivo jedro sa jedarcetom, što označava najširi deo ćelije (Slike 4.27., 4.28., 4.31., do 4.36.). Merenja su se najpre odnosila na međusobna poređenja neurona unutar gornjih i donjih delova GVSG, a u drugoj fazi istraživanja poredili smo neurone gornjih sa donjim delovima gangliona.

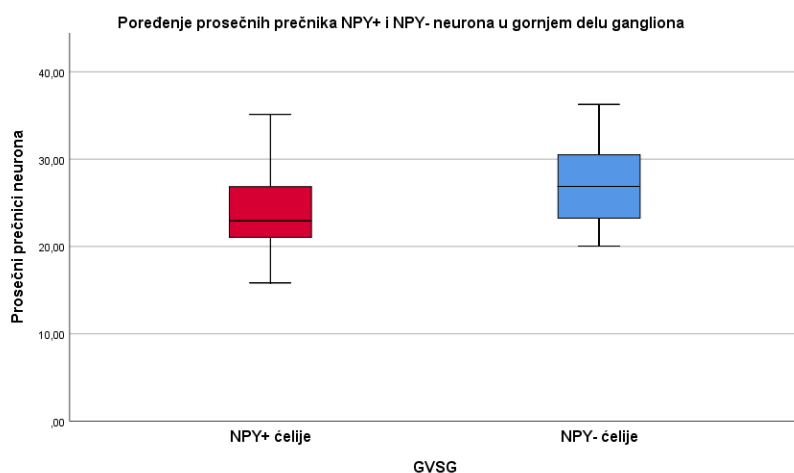
**1A) U gornjim delovima gangliona** identifikovali smo od 4 do 8 (prosečno  $5,5 \pm 1,35$ ) NPY+ ganglijskih ćelija. Na istim mikroskopskim poljima postojalo je i 6 do 8 (prosečno  $7,1 \pm 0,74$ ) NPY negativnih GNC. Ukupan broj neurona po posmatranim mikroskopskim poljima uvećanja x400 iznosio je od 10 do 16 (prosečno  $12,6 \pm 1,84$ ). NPY+ neuroni su najvećim delom bili male veličine, 78,3%, dok je ćelija srednje veličine bilo 21,7% (Slike 4.33., do 4.35.). Vrlo slično su se raspoređivali i NPY- neuroni, opisali smo 67,9% malih neurona i 32,1% neurona srednje veličine. Svim neuronima smo određivali merne parametre korišćenjem Leica softvera. Merili smo duži i kraći prečnik ćelija i računali prosečni prečnik, a takođe smo merili i obim i površine svih, kako NPY+ tako i NPY- ćelija (Tabele 4.10., 4.11.). Poređenjem prosečnih površina NPY+ ( $485,42 \mu\text{m}^2$ ) i NPY- ( $589,68 \mu\text{m}^2$ ) neurona nismo našli statističku značajnu razliku, iako je vrednost bila na granici značajnosti ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,07$ ) (Slika 4.37.). Međutim, proširivanjem uzorka uključivanjem izmerenih površina NPY- ćelija iz polja gde nije bilo NPY+ ćelija pojavila se i statistička značajnost razlike površina ćelija, odnosno nova prosečna površina NPY- ( $634,34 \mu\text{m}^2$ ) ćelija je postala značajno veća od površine NPY+ ćelija ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,005$ ) (Slika 4.38.). Naše istraživanje je obuhvatilo i poređenja prosečnih prečnika NPY+ ( $25,04 \mu\text{m}$ ) i NPY- ( $27,09 \mu\text{m}$ ) neurona u gornjim delovima GVSG. Rezultati su bili slični rezultatima poređenja prosečnih površina. Nije bilo statistički značajne razlike u prosečnim prečnicima dve testirane grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,053$ ) (Slika 4.39.). Međutim, takođe proširivanjem uzorka uključivanjem izmerenih prečnika NPY- ( $28,07 \mu\text{m}$ ) ćelija iz polja gde nije bilo NPY+ ćelija uočena je i statistička značajnost razlike prosečnog prečnika ćelija, odnosno novi prosečni prečnik NPY- ćelija je postao značajno veći od prosečnog prečnika NPY+ ćelija ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,003$ ) (Slika 4.40.).



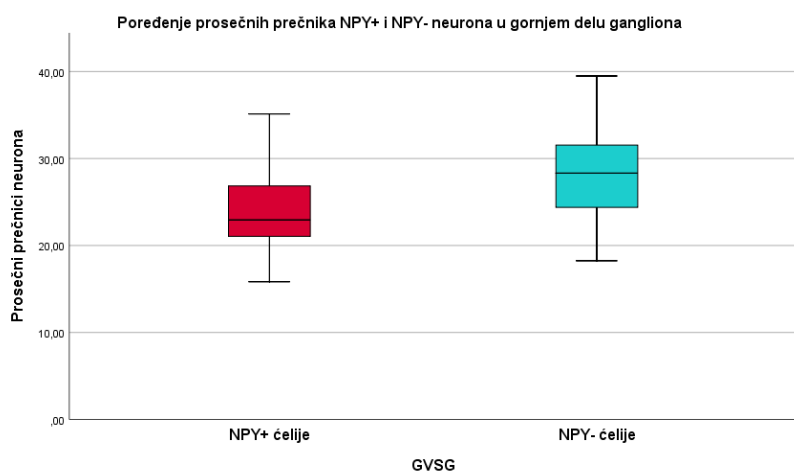
Slika 4.37. Poređenje prosečnih površina NPY+ i NPY- neurona gornjeg dela GVSG. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,07$ ).



Slika 4.38. Poređenje prosečnih površina proširenog uzorka NPY+ i NPY- neurona gornjeg dela GVSG. Postoji statistički značajna razlika između dve grupe podataka ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,005$ ).

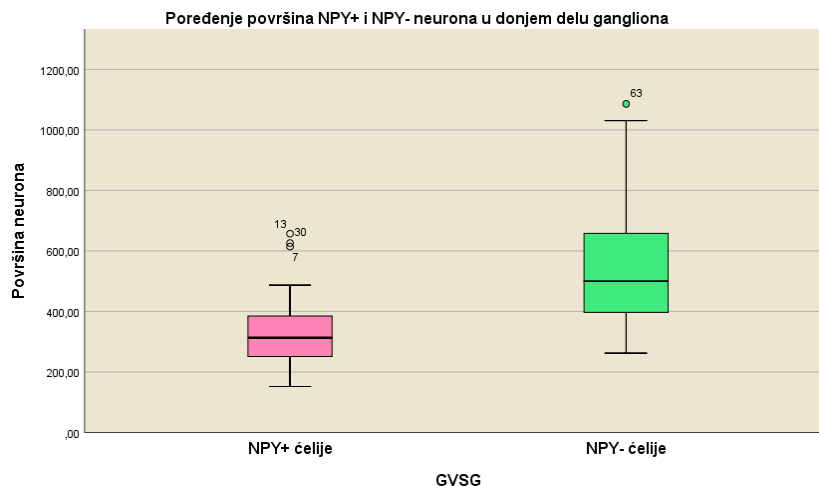


Slika 4.39. Poređenje prosečnih prečnika NPY+ i NPY- neurona gornjeg dela GVSG. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,053$ ).

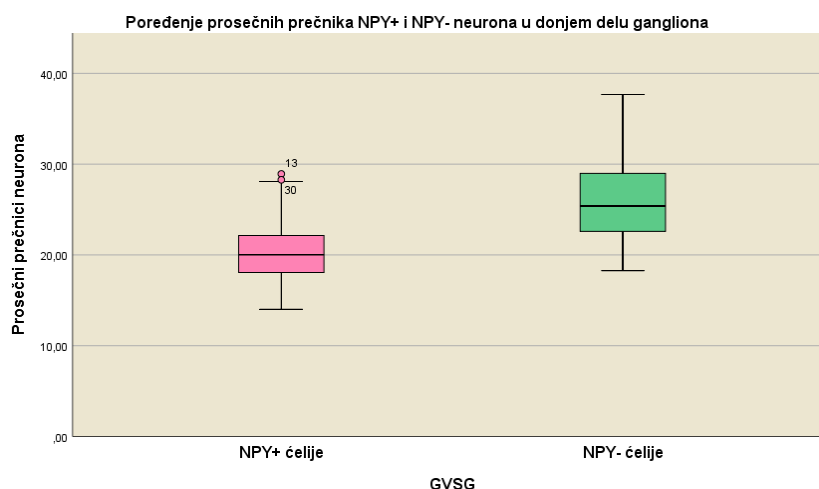


Slika 4.40. Poređenje prosečnih prečnika proširenog uzorka NPY+ i NPY- neurona gornjeg dela GVSG. Postoji statistički značajna razlika između dve grupe podataka ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,003$ ).

**1B) U donjim delovima gangliona** broj NPY+ ganglijskih neurona varirao je od 3 do 7 (prosečno  $6 \pm 1,25$ ). Na istim mikroskopskim poljima identifikovali smo i 5 do 14 (prosečno  $7 \pm 3,14$ ) NPY negativnih GNC. Zbirno, broj imuno pozitivnih i negativnih neurona po posmatranim mikroskopskim poljima uvećanja x400 iznosio je od 9 do 21 (prosečno  $12,5 \pm 3,93$ ). NPY+ neuroni su bili isključivo male veličine, 100% (Slike 4.33., do 4.35.). Vrlo slično su se raspoređivali i NPY- neuroni, opisali smo 82,54% malih neurona i 17,46% neurona srednje veličine. Na isti način smo svim neuronima određivali merne parametre korišćenjem Leica softvera. Merili smo duži i kraći prečnik ćelija i računali prosečni prečnik, a takođe smo merili i obim i površine svih, kako NPY+ tako i NPY- ćelija (Tabele 4.12., 4.13.). Poređenjem prosečnih površina NPY+ ( $340,67 \mu\text{m}^2$ ) i NPY- ( $500,19 \mu\text{m}^2$ ) neurona u donjim delovima gangliona bila je očigledna statistička značajnost razlike površina ćelija, odnosno prosečna površina NPY- ćelija je značajno veća od površine NPY+ ćelija ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,000$ ) (Slika 4.41.). Naše istraživanje je obuhvatilo i poređenja prosečnih prečnika NPY+ ( $20,02 \mu\text{m}$ ) i NPY- ( $25,38 \mu\text{m}$ ) neurona u donjim delovima GVSG. Rezultati su bili slični rezultatima poređenja prosečnih površina. Uočena je statistička značajnost razlike prosečnih prečnika ćelija, odnosno prosečni prečnik NPY- ćelija je značajno veći od prosečnog prečnika NPY+ ćelija ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,000$ ) (Slika 4.42.).

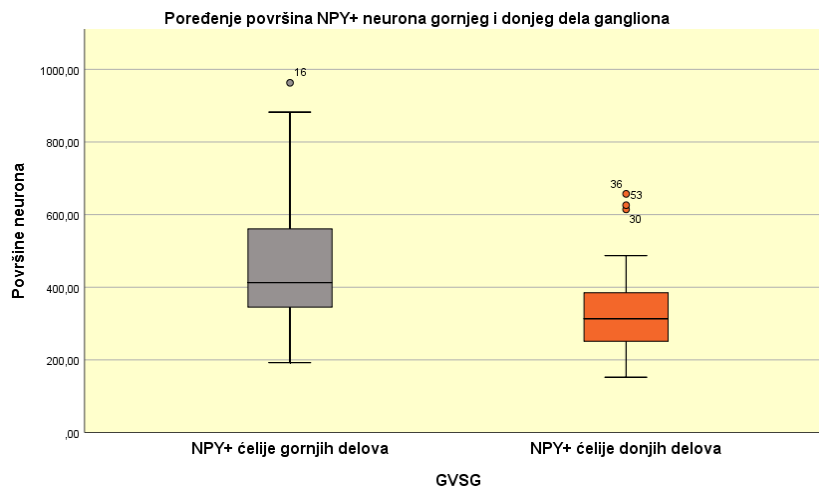


Slika 4.41. Poređenje prosečnih površina uzoraka NPY+ i NPY- neurona donjeg dela GVSG. Postoji statistički značajna razlika između dve grupe podataka ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,000$ ).

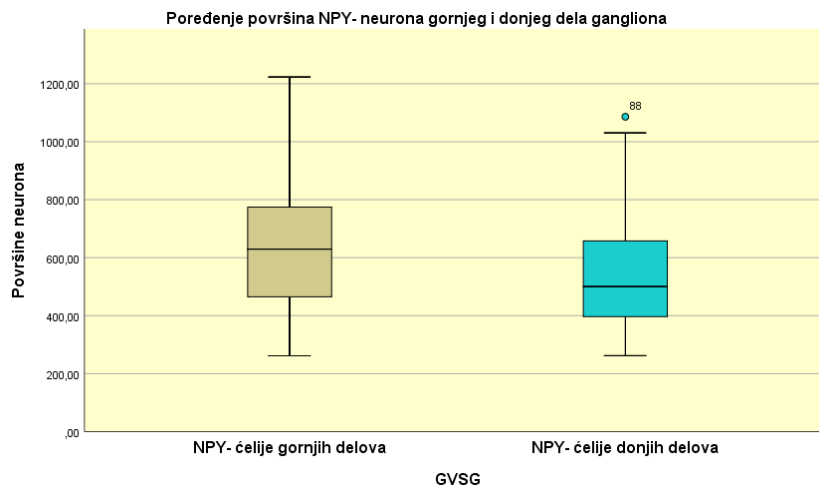


Slika 4.42. Poređenje prosečnih prečnika uzoraka NPY+ i NPY- neurona donjeg dela GVSG. Postoji statistički značajna razlika između dve grupe podataka ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,000$ ).

2) Poređenje mernih karakteristika NPY+ i NPY- ganglijskih nervnih ćelija gornjih sa donjim delovima gangliona obuhvatilo je prosečne površine i prosečne prečnike ćelija. Statistička analiza je pokazala da postoji statistički značajna razlika između prosečnih površina NPY+ ( $485,42 \mu\text{m}^2$ ) ćelija u gornjim delovima gangliona i NPY+ ( $340,67 \mu\text{m}^2$ ) neurona u donjim delovima gangliona ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,002$ ) (Slika 4.43.). Takođe, poređenje prosečnih površina NPY- ( $634,34 \mu\text{m}^2$ ) ćelija u gornjim delovima gangliona i NPY- ( $549,24 \mu\text{m}^2$ ) neurona u donjim delovima gangliona pokazalo je statističku značajnost razlike prosečnih površina ćelija, ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,020$ ).



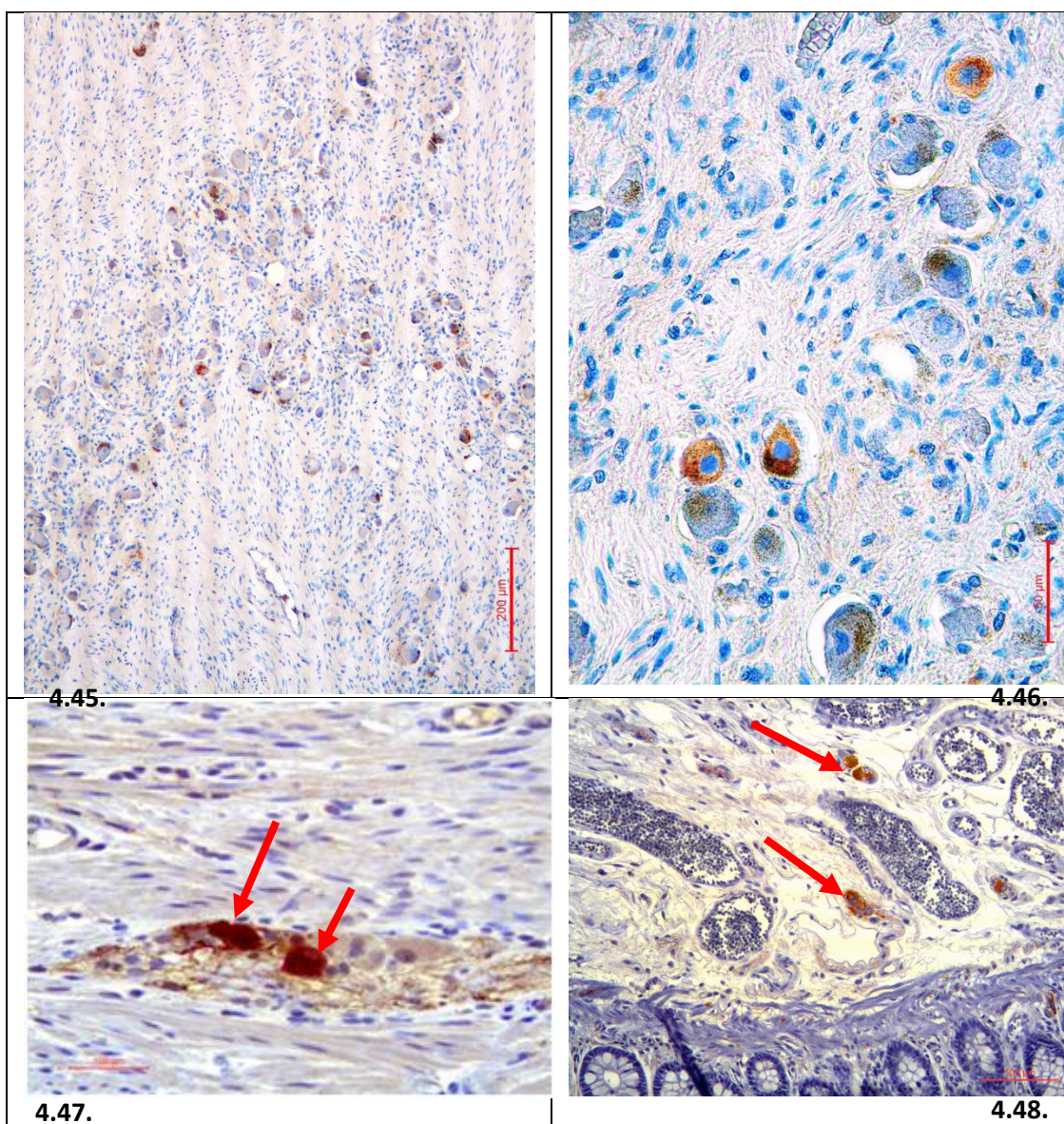
Slika 4.43. Poređenje prosečnih površina uzoraka NPY+ nervnih ćelija gornjeg dela i NPY+ neurona donjeg dela GVSG. Postoji statistički značajna razlika između dve grupe podataka ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,002$ ).



Slika 4.44. Poređenje prosečnih površina uzoraka NPY- nervnih ćelija gornjeg dela i NPY- neurona donjeg dela GVSG. Postoji statistički značajna razlika između dve grupe podataka ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,020$ ).

#### 4.6.2. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na vazoaktivni intestinalni peptid (VIP)

Mali broj ganglijskih ćelija u GVSG pokazuju pozitivnu VIP imunoreaktivnost. Imunohistohemijsko bojenje prikazalo je označene ćelije. Brojanjem smo utvrdili da je u svom gornjem delu slučajno izabrano mikroskopsko polje ganglion na malom uvećanju x100 sadržalo 108 VIP- i 18 VIP+, odnosno 16,6% VIP+ neurona, dok je u donjem delu bilo 112 VIP- i 22 VIP+, odnosno 16,4% VIP+ neurona (Slike 4.45., 4.46.).



Slike 4.45-4.48. VIP imunoreaktivnost neurona GVSG, retki obojeni neuroni su crvenkasto braon boje, neobojene ćelije su plavičaste. Gornji deo GVSG na manjem uvećanju, x100 (4.45.). Donji deo GVSG na većem uvećanju, x400 (4.46.). Kontrolni uzorak zida apendiksa pokazuje imunoreaktivnost ganglijskih ćelija mienteričkog spleta (crvene strelice) (4.47.). Kontrolni uzorak zida kolona pokazuje VIP+ ganglijske ćelije submukoznog spleta (crvene strelice) (4.48.)

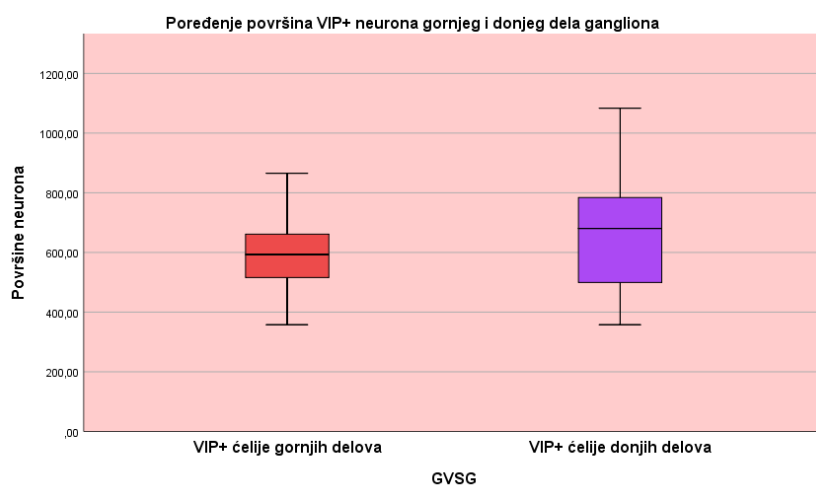
Tabela 4.14. Merne karakteristike **VIP+** neurona u **gornjem delu** GVSG.

NEURONI Gornji deo	M ( $\mu\text{m}$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}$ )	Min ( $\mu\text{m}$ )	Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>R2</b>	24,59	3,15	0,74	18,80	31,65
<b>R1</b>	29,79	3,64	0,86	23,33	34,81
<b>RM</b>	27,19	2,95	0,69	21,42	33,23
<b>Obim</b>	85,97	9,32	2,20	67,57	104,53
	M ( $\mu\text{m}^2$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	Min ( $\mu\text{m}^2$ )	Max ( $\mu\text{m}^2$ )
<b>Površina</b>	579,81	124,07	29,24	357,60	865,50

Tabela 4.15. Merne karakteristike **VIP+** neurona u **donjem delu** GVSG.

NEURONI Donji deo	M ( $\mu\text{m}$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}$ )	Min ( $\mu\text{m}$ )	Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>R2</b>	26,14	4,37	0,93	18,8	34,34
<b>R1</b>	32,11	6,03	1,29	20,83	45,35
<b>RM</b>	29,12	4,69	0,99	21,38	37,88
<b>Obim</b>	92,23	14,94	3,18	67,18	121,30
	M ( $\mu\text{m}^2$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	Min ( $\mu\text{m}^2$ )	Max ( $\mu\text{m}^2$ )
<b>Površina</b>	671,27	210,06	44,78	357,60	1083,42

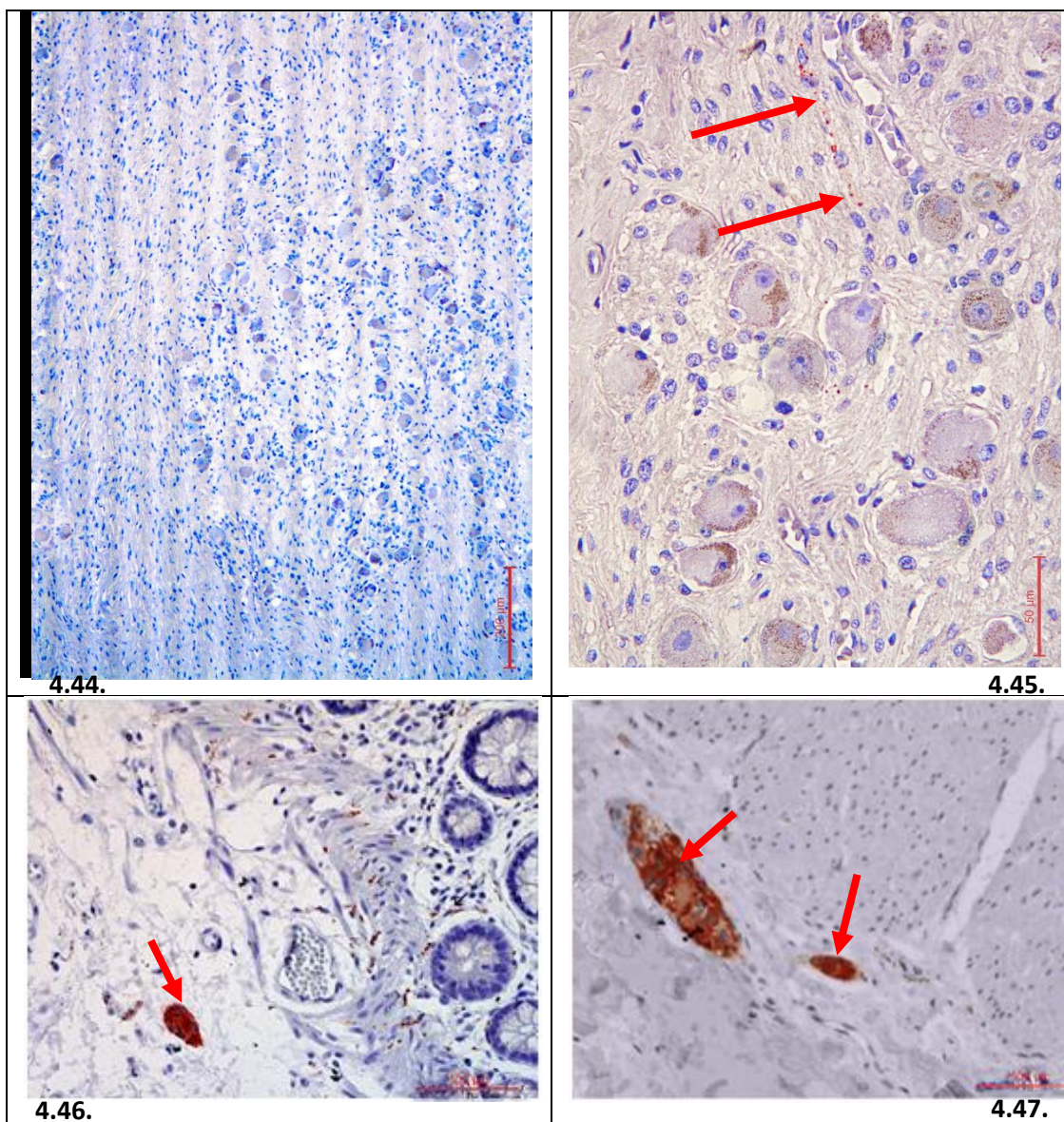
R2-kraći prečnik; R1-duži prečnik; RM-prosečni prečnik; M-srednja vrednost, SD-standardna devijacija; SE-standardna greška



Slika 4.43. Poređenje prosečnih površina uzoraka **VIP+** nervnih ćelija gornjih delova i **VIP+** neurona donjih delova GVSG. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,112$ ).

**VIP+** neuroni su najvećim delom bili male veličine, 67,5%, dok je ćelija srednje veličine bilo 32,5% (Slike 4.45., 4.46.). Svim neuronima smo određivali merne parametre korišćenjem Leica softvera. Merili smo duži i kraći prečnik ćelija i računali prosečni prečnik, a takođe smo merili i obim i površine svih **VIP+** ćelija (Tabele 4.14., 4.15.). Poređenjem prosečnih površina **VIP+** ( $579,81 \mu\text{m}^2$ ) ćelija gornjih delova i **VIP+** ( $671,27 \mu\text{m}^2$ ) neurona donjih delova gangliona nismo našli statističku značajnu razliku između merenih površina ćelija ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,112$ ) (Slika 4.43.).

### 4.6.3. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na supstancu P (SP)



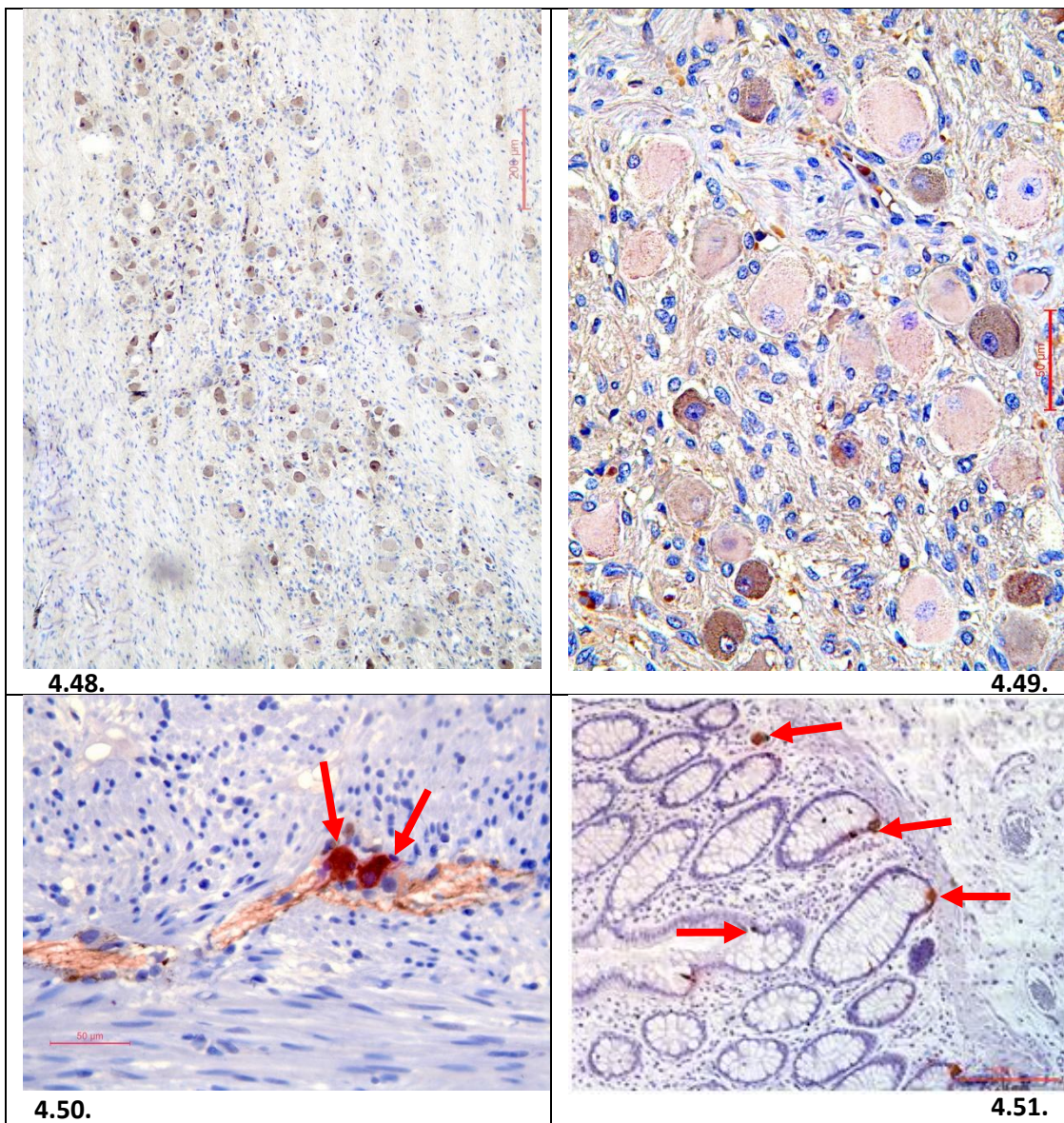
Slike 4.44-4.47. SP- imunoreaktivnost neurona GVSG, ćelije su plavičaste. Gornji deo GVSG na manjem uvećanju, x100 (4.44.). Gornji deo GVSG na većem uvećanju, x400, uočite SP+ nervna vlakna (crvene strelice) i SP- ganglijske ćelije (4.45.). Kontrolni uzorak zida kolona pokazuje SP+ imunoreaktivnost submukoznih ganglijskih ćelija (crvena strelica) (4.46). Kontrolni uzorak zida kolona pokazuje SP+ ganglijske ćelije submukoznog spleta (crvene strelice) (4.47.)

Ganglijske nervne ćelije GVSG su pokazale SP nereaktivnost, osim nekih SP+ nervnih vlakana. Jasno uočljiva SP imunoreaktivnost bila je prisutna u kontrolnim uzorcima.



#### 4.6.4. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na somatostatin (SOM)

Manji broj ganglijskih ćelija u GVSG pokazuju pozitivnu SOM imunoreaktivnost. Imunohistohemijsko bojenje prikazalo je označene ćelije. Brojanjem smo utvrdili da je u gornjim delovima slučajno izabranih mikroskopskih polja ganglionna na malom uvećanju x100 sadržalo 111 SOM- i 17 SOM+, odnosno 13,28% SOM+ neurona, dok je u donjem delu bilo 114 SOM- i 19 SOM+, odnosno 14,29% SOM+ neurona (Slike 4.45., 4.46.).



Slike 4.48-4.51. SOM imunoreaktivnost neurona GVSG, retki obojeni neuroni su crvenkasto braon boje, neobojene ćelije su plavičaste. Gornji deo GVSG na manjem uvećanju, x100 (4.48.). Donji deo GVSG na većem uvećanju, x400 (4.49.). Kontrolni uzorak zida apendiksa pokazuje imunoreaktivnost ganglijskih ćelija mienteričkog spleta (crvene strelice) (4.50). Kontrolni uzorak zida kolona pokazuje SOM+ enteroendokrine ćelije u kriptama (crvene strelice) (4.51.)

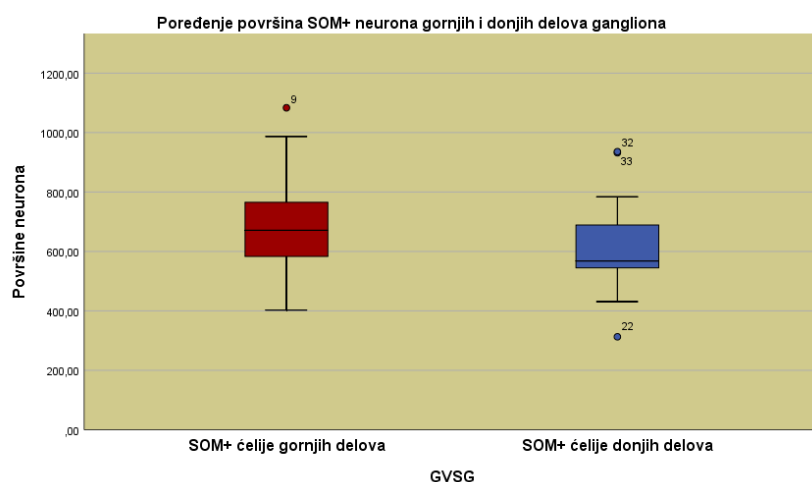
Tabela 4.16. Merne karakteristike **SOM+** neurona u **gornjem delu** GVSG.

NEURONI Gornji deo	M ( $\mu\text{m}$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}$ )	Min ( $\mu\text{m}$ )	Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>R2</b>	27,50	3,19	0,77	21,73	32,93
<b>R1</b>	31,79	5,7	1,40	21,41	45,35
<b>RM</b>	29,64	3,95	0,96	22,67	37,88
<b>Obim</b>	93,65	12,71	3,08	71,27	121,30
	M ( $\mu\text{m}^2$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	Min ( $\mu\text{m}^2$ )	Max ( $\mu\text{m}^2$ )
<b>Površina</b>	693,74	182,69	44,30	402,89	1083,42

Tabela 4.17. Merne karakteristike **SOM+** neurona u **donjem delu** GVSG.

NEURONI Donji deo	M ( $\mu\text{m}$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}$ )	Min ( $\mu\text{m}$ )	Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>R2</b>	24,83	3,49	0,85	18,62	35,34
<b>R1</b>	30,81	4,98	1,21	21,10	41,23
<b>RM</b>	27,82	3,82	0,93	19,99	35,01
<b>Obim</b>	88,07	12,29	2,98	62,90	111,70
	M ( $\mu\text{m}^2$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	Min ( $\mu\text{m}^2$ )	Max ( $\mu\text{m}^2$ )
<b>Površina</b>	608,86	164,57	39,91	312,84	935,85

R2-kraći prečnik; R1-duži prečnik; RM-prosečni prečnik; M-srednja vrednost, SD-standardna devijacija; SE-standardna greška

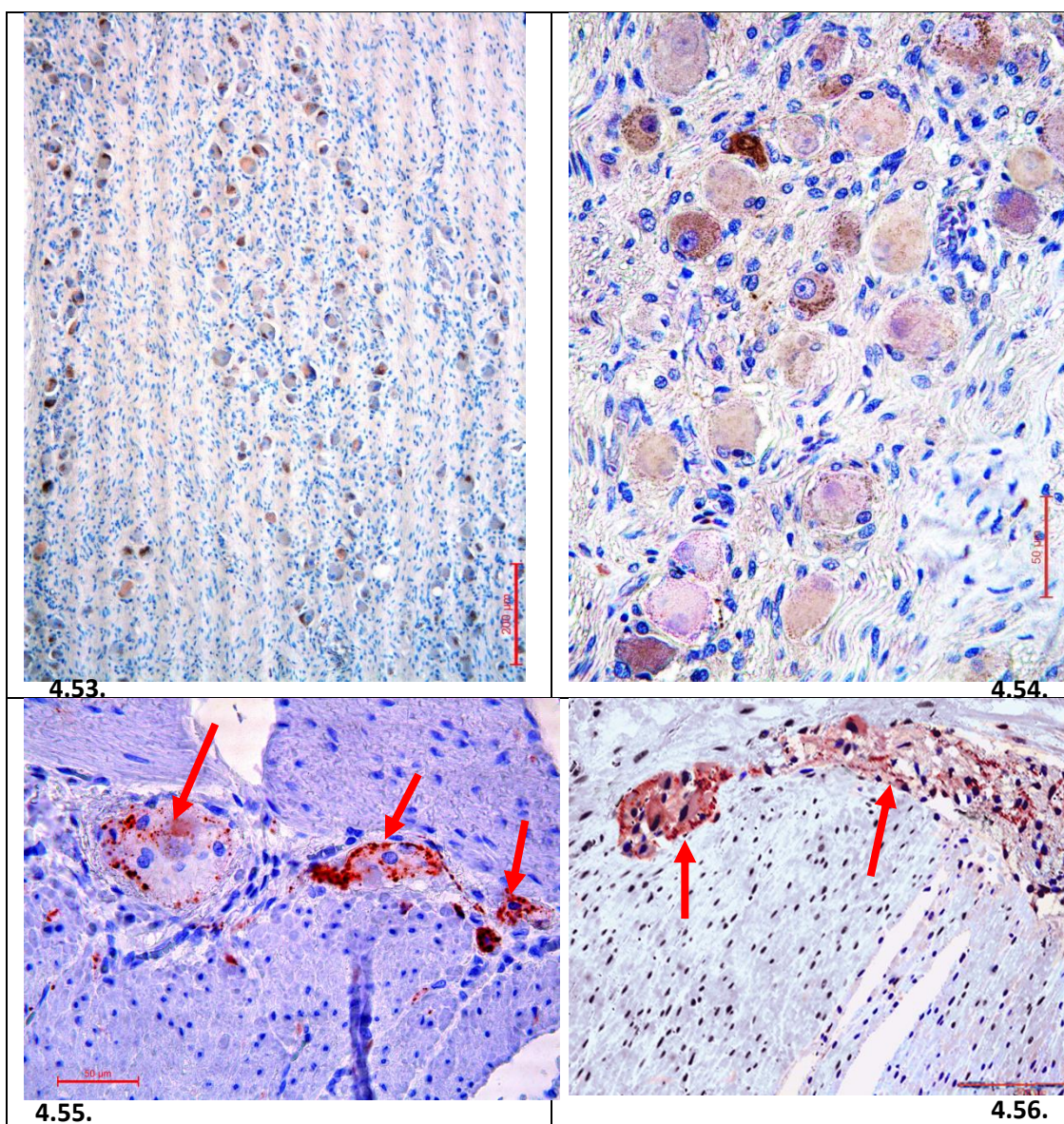


Slika 4.52. Poređenje prosečnih površina uzoraka **SOM+** nervnih ćelija gornjih delova i **SOM+** neurona donjih delova GVSG. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,164$ ).

**SOM+** neuroni su najvećim delom bili male veličine, 61,8%, dok je ćelija srednje veličine bilo 38,2% (Slike 4.48., 4.49.). Svim neuronima smo određivali merne parametre korišćenjem Leica softvera. Merili smo duži i kraći prečnik ćelija i računali prosečni prečnik, a takođe smo merili i obim i površine svih **SOM+** ćelija (Tabele 4.14., 4.15.). Poređenjem prosečnih površina **SOM+** ( $693,74 \mu\text{m}^2$ ) ćelija gornjih delova i **SOM+** ( $608,86 \mu\text{m}^2$ ) neurona donjih delova gangliona nismo našli statističku značajnu razliku između merenih površina ćelija ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,164$ ) (Slika 4.52.).

#### 4.6.5. Imunoreaktivnost ćelija u GVSG na peptid povezan sa kalcitoninskim genom (CGRP)

Mali broj ganglijskih ćelija u GVSG pokazuju pozitivnu CGRP imunoreaktivnost. Imunohistohemijsko bojenje prikazalo je označene ćelije. Brojanjem smo utvrdili da je u gornjim delovima slučajno izabranih mikroskopskih polja ganglion na malom uvećanju x100 sadržalo 101 CGRP- i 14 CGRP+, odnosno 12,17% CGRP+ neurona, dok je u donjem delu bilo 96 CGRP- i 15 CGRP+, odnosno 13,51% CGRP+ neurona (Slike 4.53., 4.54.).



Slike 4.53-4.56. CGRP imunoreaktivnost neurona GVSG, retki obojeni neuroni su crvenkasto braon boje, neobojene ćelije su plavičaste. Gornji deo GVSG na manjem uvećanju, x100 (4.53.). Donji deo GVSG na većem uvećanju, x400 (4.54.). Kontrolni uzorak zida kolona pokazuje imunoreaktivnost ganglijskih ćelija mienteričkog spleta (crvene strelice) (4.55). Kontrolni uzorak zida kolona pokazuje CGRP+ ganglijske ćelije mienteričkog spleta (crvene strelice) (4.56.)

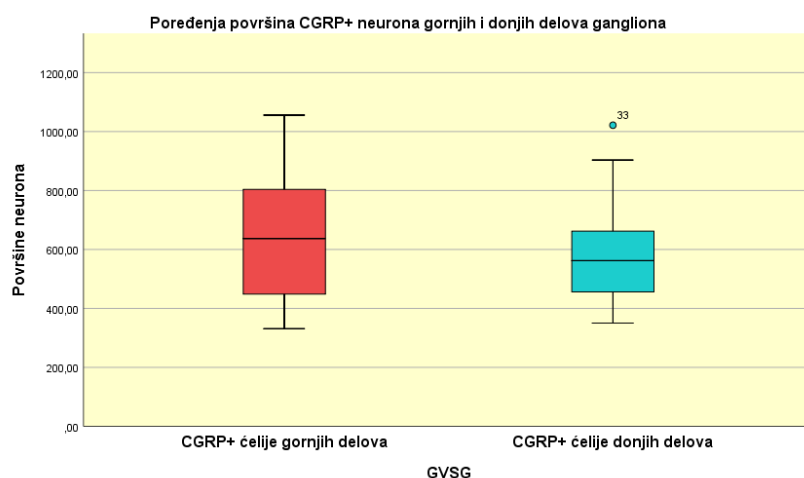
Tabela 4.18. Merne karakteristike **CGRP+** neurona u **gornjem delu** GVSG.

NEURONI Gornji deo	M ( $\mu\text{m}$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}$ )	Min ( $\mu\text{m}$ )	Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>R2</b>	26,09	5,00	1,04	18,30	34,13
<b>R1</b>	30,76	5,44	1,13	21,82	40,50
<b>RM</b>	28,43	5,03	1,05	20,58	36,85
<b>Obim</b>	89,72	15,78	3,30	64,76	116,32
	M ( $\mu\text{m}^2$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	Min ( $\mu\text{m}^2$ )	Max ( $\mu\text{m}^2$ )
<b>Površina</b>	647,86	223,94	46,69	331,28	1055,87

Tabela 4.19. Merne karakteristike **CGRP+** neurona u **donjem delu** GVSG.

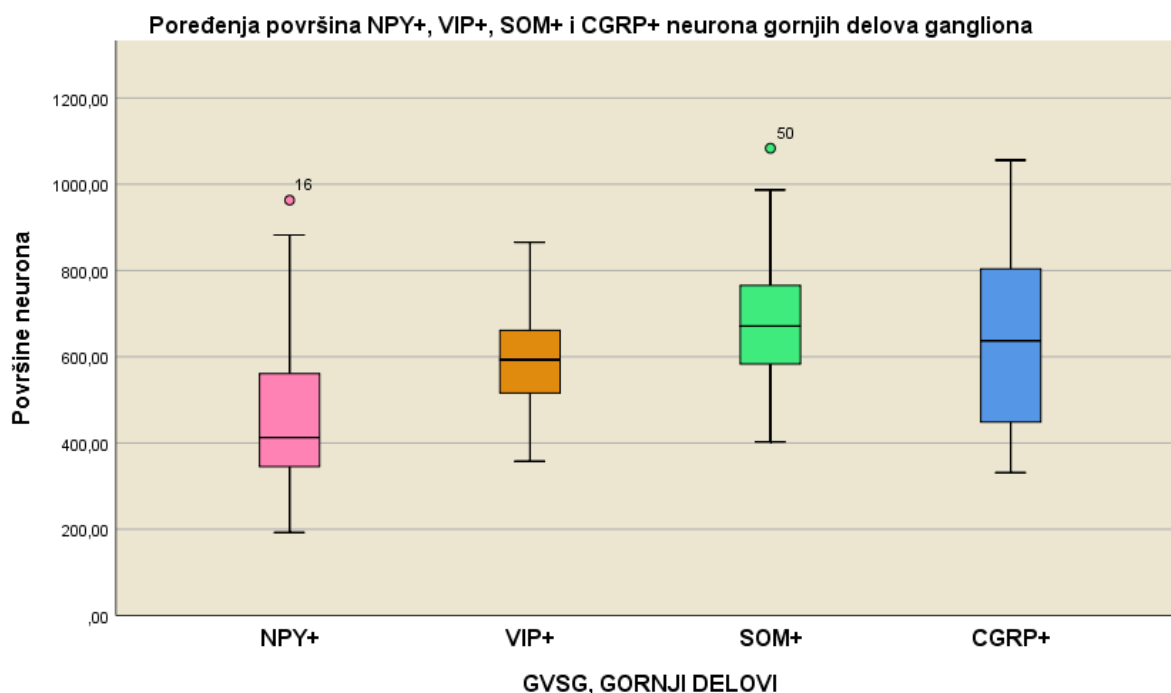
NEURONI Donji deo	M ( $\mu\text{m}$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}$ )	Min ( $\mu\text{m}$ )	Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>R2</b>	24,42	4,17	0,89	19,16	35,06
<b>R1</b>	29,70	4,71	1,00	21,92	37,09
<b>RM</b>	27,06	4,07	0,87	21,21	36,08
<b>Obim</b>	85,59	12,84	2,74	66,78	113,39
	M ( $\mu\text{m}^2$ )	SD ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	SE ( $\pm \mu\text{m}^2$ )	Min ( $\mu\text{m}^2$ )	Max ( $\mu\text{m}^2$ )
<b>Površina</b>	579,76	178,82	38,12	350,07	1021,49

R2-kraći prečnik; R1-duži prečnik; RM-prosečni prečnik; M-srednja vrednost, SD-standardna devijacija; SE-standardna greška



Slika 4.57. Poređenje prosečnih površina uzoraka **CGRP+** nervnih ćelija gornjih delova i **CGRP+** neurona donjih delova GVSG. Nema statistički značajne razlike između dve grupe podataka ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,267$ ).

**CGRP+** neuroni su najvećim delom bili male veličine, 75,6%, dok je ćelija srednje veličine bilo 24,4% (Slike 4.53., 4.54.). Svim neuronima smo određivali merne parametre korišćenjem Leica softvera. Merili smo duži i kraći prečnik ćelija i računali prosečni prečnik, a takođe smo merili i obim i površine svih **CGRP+** ćelija (Tabele 4.18., 4.19.). Poređenjem prosečnih površina **CGRP+** ( $647,86 \mu\text{m}^2$ ) ćelija gornjih delova i **CGRP+** ( $579,76 \mu\text{m}^2$ ) neurona donjih delova gangliona nismo našli statističku značajnu razliku između merenih površina ćelija ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,267$ ) (Slika 4.57.).



Slika 4.58. Objedinjeno poređenje prosečnih površina uzoraka NPY+, VIP+, SOM+ i CGRP+ nervnih ćelija gornjih delova GVSG. Statistički značajne razlike postoje između NPY+ površina i SOM+ i CGRP+ grupe podataka ( $p > 0,05$ ; vidi tabelu 4.20).

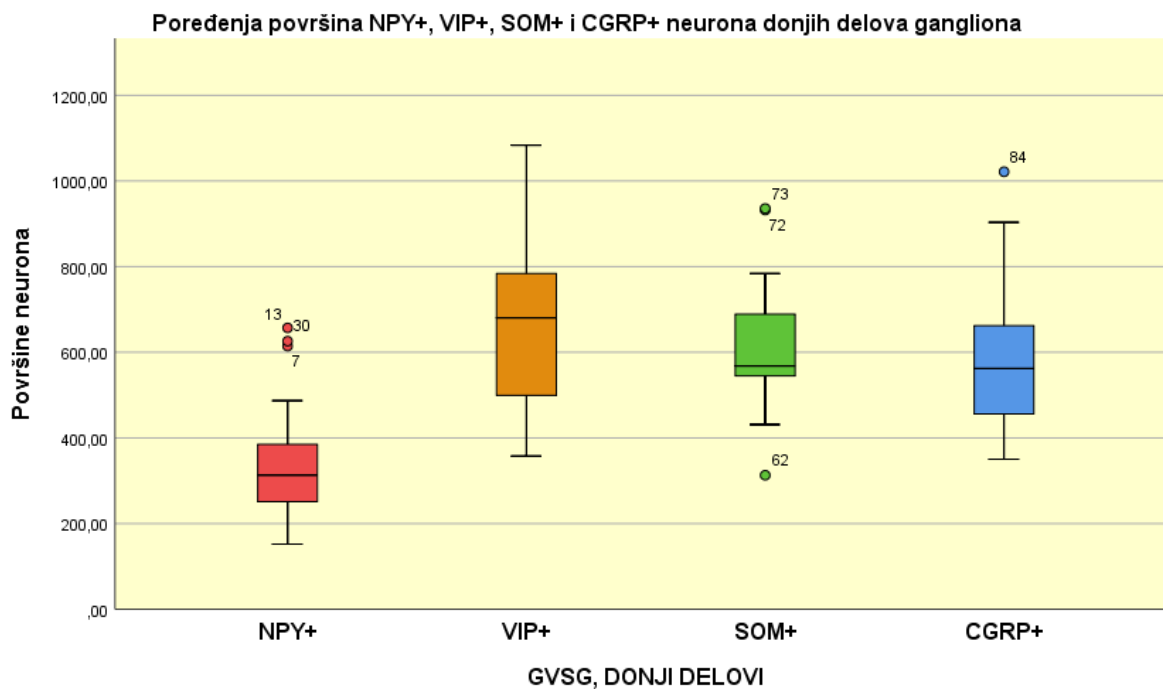
Tabela 4.20. Međusobno poređenje površina neurona u **gornjem delu** GVSG.

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAR00017  
Bonferroni

(I) VAR00018	(J) VAR00018	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,00	2,00	-94,38857	61,47716	,773	-260,8766	72,0995
	3,00	-208,32407*	62,48325	,008	-377,5367	-39,1114
	4,00	-162,44235*	57,60671	,037	-318,4487	-6,4360
2,00	1,00	94,38857	61,47716	,773	-72,0995	260,8766
	3,00	-113,93551	66,06863	,532	-292,8578	64,9868
	4,00	-68,05378	61,47716	1,000	-234,5418	98,4342
3,00	1,00	208,32407*	62,48325	,008	39,1114	377,5367
	2,00	113,93551	66,06863	,532	-64,9868	292,8578
	4,00	45,88173	62,48325	1,000	-123,3309	215,0944
4,00	1,00	162,44235*	57,60671	,037	6,4360	318,4487
	2,00	68,05378	61,47716	1,000	-98,4342	234,5418
	3,00	-45,88173	62,48325	1,000	-215,0944	123,3309

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Slika 4.59. Objedinjeno poređenje prosečnih površina uzoraka NPY+, VIP+, SOM+ i CGRP+ nervnih ćelija donjih delova GVSG. Statistički značajne razlike postoje između NPY+ površina i VIP+, SOM+ i CGRP+ grupe podataka ( $p > 0,05$ ; vidi tabelu 4.21).

Tabela 4.21. Međusobno poređenje površina neurona u **donjem delu** GVSG.

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAR00017  
Bonferroni

(I) VAR00018	(J) VAR00018	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,00	2,00	-330,59466*	44,81064	,000	-451,4267	-209,7627
	3,00	-268,19010*	48,68915	,000	-399,4805	-136,8997
	4,00	-239,08794*	44,81064	,000	-359,9199	-118,2559
2,00	1,00	330,59466*	44,81064	,000	209,7627	451,4267
	3,00	62,40456	53,18456	1,000	-81,0077	205,8169
	4,00	91,50673	49,65840	,412	-42,3973	225,4107
3,00	1,00	268,19010*	48,68915	,000	136,8997	399,4805
	2,00	-62,40456	53,18456	1,000	-205,8169	81,0077
	4,00	29,10217	53,18456	1,000	-114,3101	172,5145
4,00	1,00	239,08794*	44,81064	,000	118,2559	359,9199
	2,00	-91,50673	49,65840	,412	-225,4107	42,3973
	3,00	-29,10217	53,18456	1,000	-172,5145	114,3101

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## 5. DISKUSIJA

Istraživanje koje je obavljeno na 20 izdvojenih gornjih vratnih simpatičkih gangliona (GVSG) odraslih osoba oba pola pokazalo je prisustvo gangliona u svim slučajevima (100%). Ganglion je imao stalan položaj i konstantne topografske odnose. Morfološki smo izdvojili dva oblika gangliona: valjkasto ovalni, prisutan u 12 (60%) slučajeva i pljosnato cilindrični ganglion koji je postojao u 8 (40%) slučajeva. Naši podaci o uobičajenom anatomskom položaju GVSG su u saglasnosti sa tradicionalnim opisima morfoloških i topografskih karakteristika gangliona (Fazliogullari i sar., 2016; Loke i sar., 2016; Standring i sar., 2021). Gornji vratni simpatički ganglion je najveći od svih simpatičkih gangliona, dužine 10-30 mm, širine 5-8 mm, često sa suženjem u sredini. Grupa autora navodi da je GVSG prosečnih dimenzija 15,18 mm, dužine, a 4,62 mm širine (Fazliogullari i sar., 2016). Rezultati drugih autora imaju veće vrednosti, prosečna dužina gangliona bila je 33 mm, a širina 8,1 mm (Saylam i sar., 2009). Naša merenja prečnika i površine gangliona pokazala su da su ovalni GVSG prosečne dužine od 18,96 mm kraći u odnosu na duže cilindrične ganglione čije su prosečne vrednosti bile 20,79 mm. Takođe, ovalni GVSG su neznatno prosečno užji, širine od 6,83 mm, u odnosu na šire cilindrične ganglione, 7,09 mm. Takođe, prosečna površina ovalnih GVSG, koja je iznosila 97155,09 mm<sup>2</sup> je statistički značajno manja od prosečne površine cilindričnih gangliona koja je bila 129106,34 mm<sup>2</sup>. Ovaj rezultat može da se objasni dodatnim podatkom da su ovalni ganglioni zbog svog valjkastog izgleda i deblji nego pljosnati cilindrični ganglioni koji su tanji. Naše je mišljenje da u celini statistički značajna veća površina cilindričnih gangliona na preseku ne znači da su oni i veći jer bi trebalo uraditi i dodatnu volumetrijsku analizu i porediti zapremine gangliona, što mi ovim projektom nismo obuhvatili. Korišćenje naprednih radioloških tehnika za identifikaciju GVSG kod karcinoma glave i vrata može da dovede do zabune da se identifikuje udvojeni ganglion, a da disekcija i histološka analiza pokažu da se radi o retrofaringealnom limfnom nodusu u blizini stvarnog GVSG (Yakota i sar., 2018; Mansour i Kulesza, 2021).

Podaci u dostupnoj literaturi koji opisuju morfološke i topografske karakteristike vaskularizacije GVSG su retki, nekompletni i zapostavljaju sam ganglion na račun opisa vaskularizacije simpatičkog stabla (Tubbs i sar., 2002). Okvirno, istraživači su saglasni da GVSG dobija arterijsku vaskularizaciju od grana ushodne ždrelne arterije, *a. pharyngeae ascendens* (APhA), bočne grane spoljašnje karotidne arterije, *a. carotis externa* (Calvacanti i sar., 2009). Naši rezultati koji se odnose na položaj i topografske odnose GVSG, kao i na poreklo krvnih sudova su u potpunosti u saglasnosti sa navodima u tradicionalnoj anatomskoj literaturi (Fazliogullari i sar., 2016; Standring i sar., 2021). Naši nalazi pokazuju da ganglion vaskularizuje 2 do 4, prosečno 2,85 arterijskih grančica poreklom iz APhA. Arterije prilaze ganglionu i krivudavo se pružaju njegovom kako prednjom tako i zadnjom stranom, a zatim penetriraju u stromu gangliona i granaju se na poseban način. Intraganglijska vaskularna mreža svojim kapilarima, prema navodima grupe autora, na nivou nervnih ćelija formira tzv.

mikrocirkulatorni krevetac "*microcirculatory bed*". Izuvijani kapilari oblikuju prostorne petlje i omče oko tela ganglijskih ćelija (Smoliar i sar., 1998). Tako je mreža kapilara korpasto postavljena preko sloja satelitskih glijalnih ćelija koje u potpunosti prekrivaju some neurona. Na taj način se formira jedinstvena "krv-nervno tkivo barijera perifernog nervnog sistema" koja odgovara krvno-moždanoj barijeri centralnog nervnog sistema (Ćetković i sar., 2020; Hanani i Spray, 2020; Milosavljević i sar., 2021). Naša prethodna istraživanja mikromorfoloških karakteristika mikrosudova trigeminalnog ganglionu pokazala su postojanje guste, krivudave i uniformne intraganglijske kapilarne mreže unutar ganglionu (Mirčić i sar., 2021). Ova imunohistohemijska analiza mikrosudova unutar nervnog tkiva GVSG je potvrdila postojanje vaskularnih petlji koje su činili uglavnom prekapilari i kapilari prečnika 5,5  $\mu\text{m}$  to 8,5  $\mu\text{m}$ . Pošto smo u našem istraživanju poredili razne merne parametre struktura u gornjem i donjem delu ganglionu, nalazi o mikrovaskularnoj gustini su pokazali da je prosečan broj CD34 pozitivnih mikrosudova u gornjim delovima proučavanih ganglionu iznosio 83 a u donjim delovima 82,7. Nije bilo statistički značajne razlike, odnosno pokazali smo da je mikrovaskularizacija uniformna unutar GVSG, a posredno i da su ganglijske ćelije unutar ganglionu funkcionalno podjednako aktivne. Naši dobijeni podaci o gustini mikrosudova u humanom GVSG su prvi o kojim smo mi informisani analizirajući dostupnu literaturu, za razliku od vrlo malo postojećih analiza intraganglijske vaskularizacije trigeminalnog i genikulatnog ganglionu (Smoliar i sar., 1998; Dožić i sar., 2014; Ćetković i sar., 2020; Mirčić i sar., 2021). Poredeći ove vrednosti sa prosečnom gustinom mikrosudova (GMS) trigeminalnog ganglionu pokazali smo da je GMS u trigeminalnom ganglionu veća, iznosila je 192,86, što verovatno ukazuje na bolju prokrvljenost i veće metaboličke zahteve senzornih ganglijskih ćelija u odnosu na simpatičke ćelije u GVSG (Mirčić i sar., 2021). Značaj ovih nalaza je činjenica da je ravnomeran raspored intraganglijskih krvnih sudova od velike važnosti za normalno i stabilno funkcionisanje neurona kao i glijalnih satelitskih ćelija (GSC). Postojanje nepravilnosti u rasporedu mikrosudova u samom ganglionu može najpre da dovede do promena u funkcionisanju GSC. Aktivacija GSC, zbog karakterističnog položaja preko površine ganglijskih nervnih ćelija (GNC) sa pukotinastim razmakom od samo 20 nm, kao i usled stalne komunikacije sa multipolarnim neuronima i sinapsama na njihovoj površini, može da dovede i do disfunkcije GNC. Posledica ovakvih poremećaja je svakako gubitak kontrole GSC nad sinaptičkom transmisijom GNC, odnosno dolazi do povećane osetljivosti neurona i njihove preterane aktivnosti, čiji je rezultat bolno stanje (Hanani and Spray, 2020).

Rezultati proučavanja mehanizma razvoja različitih tipova glavobolja ukazuju da mastociti imaju važnu ulogu za njihov nastanak. Mastociti su prisutni u periganglijskom vezivnom tkivu ali i u blizini GSC i GNC u samom GVSG. Podataka u nama dostupnoj literaturi koji se odnose na mikromorfološke karakteristike mastocita u GVSG nema što može da bude dobar povod za naša buduća istraživanja. Oštećenje GNC i ekscitacija GSC uzrokuje oslobađanje ATP što može da dovede do degranulacije mastocita i oslobađanje vazoaktivnih supstanci: histamina, serotoninina, citokina i dr., koji doprinose aktivaciji simpatičkih neurona i vlakana i napadu glavobolje (Koroleva i sar., 2019). Podaci naše studije dobijeni imunohistohemijskim označavanjem intraganglijskih mastocita govore o njihovoj uniformnoj raspodeli unutar ganglijskog tkiva. Poređenjem gustine mastocita (GMA) u gornjem i donjem delu GVSG pokazali smo da je njihov broj iznosio 4,5 odnosno 4,7 i da nije bilo statistički značajne razlike u njihovoj distribuciji. Naš nalaz je potvrdio da su mastociti uniformno raspoređeni intraganglijski u blizini krvnih sudova, ali i između ganglijskih ćelija, takođe i u periganglijskom vezivnom tkivu, kao i između aksona simpatičkih nerava, grana koje izlaze iz ganglionu. Možemo da poredimo naše rezultate sa nalazima grupe autora o gustini mastocita u trigeminalnom ganglionu koja je bila značajno niža, GMA je iznosila 1,35



(Mirčić i sar., 2021). To govori da tokom odgovora na fiziološki stres i oslobađanja hormona stresa postoji mogućnost da je aktivacija mastocita važna za stimulaciju simpatičkih ganglijskih neurona u GVSG (van der Kleij i Bienenstock, 2005). Mastociti, kao ćelije uključene u imunske reakcije organizma, su prisutni u blizini krvnih sudova i nervnih završetaka u svim delovima tela, pa i u senzornim, parasimpatičkim i simpatičkim ganglionima. Oštećenje ganglijskih neurona (tokom infekcija, alergijskih i inflamatornih stanja ili povreda) i aktivacija satelitskih ćelija deluje na aktivaciju i degranulaciju mastocita u ganglionima i do oslobađanja supstanci (serotonin, histamin, citokini ...) koje stimulišu nervna vlakna kako u duri kod trigeminalnog gangliona i izazivanja napada migrene, tako i vazomotornih simpatičkih vlakana, što deluje na razvoj bolnih sindroma uzrokovanih vazokonstrikcijom (Koyuncu Irmak i sar., 2019; Koroleva i sar., 2019; Hanani and Spray, 2020; Cho i sar., 2023).

Prihvatili smo uz izmene klasifikaciju kojom se ganglijske ćelije trigeminalnog gangliona mačke i pacova uobičajeno svrstavaju u tri grupe: male (20-30  $\mu\text{m}$ ), srednje veličine (30-50  $\mu\text{m}$ ), i velike neurone (50-80  $\mu\text{m}$ ) (Lazarov, 2002). Izdvojili smo tri glavne grupe neurona u GVSG: male (15-30  $\mu\text{m}$ ), srednje (30,1-40  $\mu\text{m}$ ) i velike neurone (40,1-55  $\mu\text{m}$ ). Naša mikromorfološka analiza i klasifikacija tela ganglijskih nervnih ćelija GVSG pokazala je da je dominantna grupa neurona male some u celom proučavanom ganglionu. Pošto smo poredili podatke gornjeg i donjeg dela GVSG, utvrdili smo 85.1% odnosno 81.8% malih nervnih ćelija u ovim delovima. Preostale ćelije su pripadale grupi ganglijskih ćelija srednje veličine, 14,9%, odnosno 18,2%. Velikih ganglijskih ćelija nije bilo ni u jednom delu GVSG. U poređenju sa prvom navedenom klasifikacijom, iako smo gornju granicu srednje grupe neurona smanjili za 10  $\mu\text{m}$ , ustanovili smo da su humane simpatičke ganglijske ćelije značajno manje veličine od senzornih ganglijskih ćelija. Ukupan broj ganglijskih nervnih ćelija (GNĆ) brojan je u slučajno izabranim vidnim mikroskopskim poljima preseka na uvećanju x400, isključivo na ganglijskim ćelijama koje su presečene kroz jasno vidljivo jedro sa jedarcetom, odnosno kroz najširi deo ćelije. Tako smo dobili 195 neurona u gornjem delu GVSG i 198 ćelija u donjem delu gangliona. Poređenjem broja neurona u gornjem i donjem delu GVSG, kao i broja malih i ćelija srednje veličine u oba dela gangliona, ustanovili smo da nema statistički značajne razlike u distribuciji neurona u oba dela gangliona. Korišćenje indeksa vaskularizacije (IV), koji predstavlja prosečan odnos neuroni/mikrosudovi dobili smo da je za gornji deo gangliona iznosio 1:4,26, dok je za donji deo gangliona bio 1:4,18. Prema ovim nalazima svaki ganglijski neuron u gornjem delu gangliona bio je okružen sa 4,3 mikrosuda, dok je u donjem delu gangliona oko svakog neurona bilo prosečno 4,2 mikrosuda. Poređenjem sa rezultatima autora koji su analizom mikrovaskularizacije kolenastog senzornog gangliona, *ganglion-a geniculi* facijalnog nerva odredili IV od 1:3,6, uočavamo slične rezultate. IV simpatičkih ganglijskih ćelija je sličan odgovarajućem odnosu gustativnih senzornih ćelija genikulatnog gangliona (Dožić i sar., 2014). Glijalne satelitske ćelije (GSC) postoje u senzornim i autonomnim ganglionima PNS (Milosavljević i sar., 2021; Zdora i sar., 2022). Postavljene su tako da formiraju kompletan omotač oko tela neurona sa međusobnim ekstracelularnim prostorom od 20 nm, pa se zajedno označavaju kao morfološka i funkcionalna jedinica (Hanani i sar., 2020). GSC su iregularnog oblika sa nepravilnim produžecima koji se međusobno preklapaju sa susednim istoimenim ćelijama. Sa druge strane ganglijske ćelije stvaraju iregularne izvrate ćelijske membrane koje stupaju u kontakt sa uvučenom površinom satelitske ćelije. Na ovaj način se uspostavlja neka vrsta kontakta između GSC i GNĆ (Andreeva i sar., 2022). Procena broja GSC po telu humane GNĆ još uvek se ne zna. Očigledno je da manje ganglijske ćelije imaju manji broj satelitskih ćelija (Milosavljević i sar., 2021). Naši nalazi pokazuju da su glijalne satelitske ćelije bile prisutne na svim ganglijskim neuronima. Njihov broj je na presecima ganliona iznosio od 3 do 7,

prosečno 4,39 po preseku neurona, što su nalazi koji se ne navode u dostupnoj literaturi (Hanani i Spray, 2020; Milosavljević i sar., 2021).

Ganglijske nervne ćelije GVSG su svojim aksonima zadužene za simpatičku inervaciju struktura glave i vrata: krvnih sudova, dure mater, *glandulae pinealis*, organa očne duplje, pljuvačnih kao i štitaste žlezde, karotidnog tela i srca (Sapio i sar., 2020; Standring i sar., 2021). Injiciranjem supstanci (eng. *tracer*) u inervisani organ glave i vrata, koje potom migriraju kroz aksone (npr. *fast blue*) do samog GVSG, analizom retrogradno označenih neurona ustanovljena je relativno precizna topografska distribucija neurona u odnosu na rostro kaudalnu osovinu gangliona. Gornji deo glave sa krvnim sudovima mozga, pinealna žlezda, čelo i oči su inervisani aksonima poreklom iz gornjeg (rostralnog) dela GVSG. Usta sa pljuvačnim žlezdama i strukture vrata dobijaju simpatičku inervaciju iz donjeg (kaudalnog) dela gangliona (Flett i Bell, 1991). Nismo potvrdili bilo kakvu razliku u morfometrijskim karakteristikama neurona gornjih i donjih delova GVSG. Da bi smo dobili što preciznije merne rezultate koji se odnose na ganglijske ćelije gornjih i donjih delova GVSG poredili smo i središnje prečnike i površine 195 neurona gornjih delova GVSG i 198 ćelija u donjim delovima gangliona. Nismo pokazali postojanje statistički značajnih razlika ovih vrednosti. Naše analize mernih karakteristika nervnih ganglijskih ćelija pokazala su da su površine 195 neurona gornjih delova GVSG iznosile od 166,5 do 1838,9  $\mu\text{m}^2$ , prosečno 509,5, dok su površine 198 neurona donjih delova GVSG imale vrednosti od 147,5 do 1172,2  $\mu\text{m}^2$ , prosečno 527,6  $\mu\text{m}^2$ . U istraživanjima navedene vrednosti površina neurona GVSG bile su od 101,5-1777,6  $\mu\text{m}^2$ , prosečno 466,2  $\mu\text{m}^2$ , što su vrednosti nešto niže od naših (Kokubun i sar., 2019). Ovi autori su takođe klasifikovali ganglijske ćelije u dve grupe velike i male u odnosu na graničnu vrednost površine ćelije od 600  $\mu\text{m}^2$ . Kao rezultat su naveli da je 67,2% od ukupnog broja bilo malih ćelija. Mi smo u našim istraživanjima, poštujući ranije navedene klasifikacije neurona, kao kriterijum računali prosečni prečnik ćelija, pa je granična vrednost između malih i ćelija srednje veličine bila 30  $\mu\text{m}$  i dobijeni broj malih ćelija je iznosio 85,1% za gornji, odnosno 81,8%, za donji deo GVSG. Da bismo uporedili dobijene rezultate trebalo bi da granična vrednost prosečnog prečnika bude oko 25  $\mu\text{m}$ , što bi naše rezultate koji se odnose na procenat zastupljenosti malih ćelija vrlo približilo rezultatima navedenih autora. Navedeni autori navode i značajan nalaz da nema statistički značajne razlike između mernih nalaza ganglijskih ćelija GVSG sa nalazima u srednjem i donjem (stelatnom) vratnom simpatičkom ganglionu (Kokubun i sar., 2019). To takođe znači da su svi naši nalazi primenljivi i na srednji i donji (stelatni) vratni simpatički ganglion.

Neuroni humanog GVSG, različite veličine i broja, sadrže različite neuropeptide: neuropeptid Y (NPY), vazoaaktivni intestinalni peptid (VIP), somatostatin (SOM) i peptid povezan sa calcitoninskim genom (calcitonin gene-related peptide - CGRP) itd. (Baffi i sar., 1992; Miyauchi i sar., 2001). NPY aktivira kalijumske kanale, inhibira kalcijumske kanale i inhibira glutamatske receptore i oslobađanje glutamata (Zhang i sar., 2021). NPY pozitivni vazokonstriktorni neuroni inervišu krvne sudove glave i imaju vazomotornu funkciju i inervišu dužicu i epifizu. Takođe učestvuju u regulaciji krvnog pritiska i srčanog ritma, dok vazokonstrikcijom krvnih sudova žlezda indirektno regulišu sekreciju pljuvačke (Zhang i sar., 2021). NPY ima neuroprotektivnu ulogu koju ostvaruje kroz smanjenje inflamacije nervnog sistema, povećanja količine mikronutrijenata, stimulaciju procesa autofagije, smanjenje oksidativnog stresa. Potom ulogu u stimulaciji angiogeneze i integriteta structure nerava (Zhang i sar., 2021). Istraživanja su pokazala da NPY pozitivni neuroni imaju vazomotorno dejstvo i inervišu krvne sudove, pre svega u lobanji. NPY negativni neuroni imaju sekretomotorno dejstvo i inervišu pljuvačne žlezde (Chiba i Tanaka, 1998). Studije retrogradnog obeležavanja GNC u gornjem vratnom ganglionu čoveka posebnim trejserima i

korišćenjem metoda imunofluorescencije donose podatke da ekspresiju NPY u gornjem vratnom ganglionu pokazuje 59,1% neurona (Kokubun i sar., 2019). Druga grupa istraživača navodi da je procenat NPY+ neurona u GVSG kod sisara između 50 i 65% i da su to vazomotorni neuroni koji inervišu kranijalne sudove (Headley i sar., 2005). Navode se i podaci da je kod miša opisano 40% NPY+ neurona u GVSG (Masliukov i sar., 2012). NPY je snažan vazokonstriktor, aktivna je supstanca neurona gornjeg vratnog simpatičkog gangliona koja učestvuje u regulaciji aktivnosti vratnog dela jednjaka. NPY postoji u oko 30% neurona koji inervišu jednjak (Rytel i sar. 2019). Naši rezultati pokazuju da je bilo 24,3% NPY+ neurona u gornjem delu GVSG, dok je u donjem delu bilo 32% NPY+ neurona. Objedinjeni rezultati za ceo ganglion prikazuju da je 28,4% ćelija pokazivalo NPY+ imunoreaktivnost, što je manje nego u gornjim navedenim nalazima a približno nalazu poslednje grupe istraživača. Razlog je verovatno što mi u našim istraživanjima nismo primenili metodu fluorescentne imunohistohemije koja je preciznija od klasične imunohistohemijske analize. Zbog toga su granični slučajevi bojenja koje smo mi eliminisali kod njih ulazili u završni skor. Analiza i poređenje NPY imunoreaktivnosti u GVSG pacova pokazalo je da su NPY pozitivne ganglijske nervne ćelije manje površine some od NPY negativnih neurona i postavljene su u distalnom delu gangliona, u blizini mesta izlaska *n. caroticus externus*-a (Headley i sar., 2005). Sa druge strane kako smo već rekli nismo potvrdili bilo kakvu razliku u morfometrijskim karakteristikama neurona gornjih i donjih delova GVSG. Naša detaljna ispitivanja preparata imunohistohemijski bojenih na detekciju NPY antigena na ganglijskim ćelijama bila su sprovedena sa ciljem da se utvrdi veza između položaja neurona u GVSG, njihove veličine i imunoreaktivnosti. U našim analizama pošli smo od nalaza grupe autora da je ustanovljena relativno precizna topografska distribucija neurona u odnosu na rostrum kaudalnu osovinu GVSG. Gornji deo glave sa krvnim sudovima mozga, pinealna žlezda, čelo i oči su inervisani aksonima poreklom iz gornjeg (rostralnog) dela GVSG, dok usta sa pljuvačnim žlezdama i strukture vrata dobijaju simpatičku inervaciju iz donjeg (kaudalnog) dela gangliona (Flett i Bell, 1991). Naša istraživanja su poredila merne podatke ganglijskih ćelija različite imunoreaktivnosti, NPY+ i NPY-, unutar gornjeg i donjeg dela GVSG, kao i neurone gornjeg dela sa neuronima donjeg dela gangliona. U nama dostupnoj literaturi retki su podaci koji se odnose na merne karakteristike neurona u GVSG, a gotovo da ih nema urađenih na humanom materijalu, što daje posebnu težinu našim proučavanjima ali i veliku odgovornost da se u naučnu javnost po prvi put iznose takvi rezultati. Headley i sar., (2005) u svom opširnom prikazu eksperimentalno na pacovima pokazuju da položaj neurona u GVSG, duž rostrum kaudalne osovine, može da bude od značaja za područje inervacije neurona ali njihove morfometrijske karakteristike i imunoreaktivnost (Flett i Bell, 1991). Ćelije gornjih delova gangliona namenjene su inervaciji krvnih sudova mozga, očne duplje i kože gornjeg dela glave, odnosno to su NPY pozitivni neuroni sa vazokonstrikcijom kao rezultatom stimulacije. Ćelije donjih delova gangliona inervišu krvne sudove usta, lica i zadnjeg dela glave, kao i pljuvačne žlezde. Vazomotorni neuroni su NPY pozitivni, a sekretorni neuroni su NPY negativni (Headley i sar., 2005; Kokubun i sar., 2019). Rezultat grupe autora da su prosečno NPY+ neuroni 4  $\mu\text{m}$  manjeg prečnika od NPY- neurona možemo da poredimo sa našim nalazima. Takođe, ovi autori navode da rostralno-kaudalno posmatrano razlike prečnika NPY- i NPY+ neurona su u gornjem delu manje, oko 1  $\mu\text{m}$ , dok su donjem delu razlike veće, prosečno 6  $\mu\text{m}$  (Headley i sar., 2005). Rezultati našeg istraživanja potvrđuju navedene nalaze, naime NPY+ neuroni gornjeg dela gangliona, prosečnog prečnika  $RM=24,35 \mu\text{m}$ , su 2,74  $\mu\text{m}$  manjeg prečnika od NPY- neurona gornjeg dela gangliona, prosečnog prečnika  $RM=27,09 \mu\text{m}$ . Donji deo gangliona je pokazivao nešto drugačiju razliku ekspresije NPY. Naime, NPY+ neuroni donjeg dela gangliona, prosečnog prečnika  $RM=20,02 \mu\text{m}$ , su 5,36  $\mu\text{m}$  manjeg prečnika od NPY- neurona donjeg dela gangliona, prosečnog prečnika  $RM=25,38 \mu\text{m}$ . Razlike prosečnih prečnika NPY- i NPY+ neurona u

gornjim i donjim delovima GVSG su statistički značajne. Razlog ove distribucije veličina ganglijskih ćelija po navodima citiranih autora je u povećanju veličine distalnih NPY-neurona u odnosu na proksimalne NPY- neurone za 4,4  $\mu\text{m}$ . Prema našim nalazima distalni NPY negativni neuroni prosečne veličine 25,38  $\mu\text{m}$ , u odnosu na proksimalne NPY negativne neurone prosečne veličine 27,09  $\mu\text{m}$ , su za 1,71  $\mu\text{m}$  manjeg prosečnog prečnika. Poređenjem izmerenih navedenih prosečnih prečnika NPY- i NPY+ neurona u gornjim i donjim delovima GVSG zaključujemo da je uzrok smanjenja razlike u prosečnim prečnicima u gornjim i donjim delovima gangliona, zapravo smanjenje prosečnog prečnika NPY+ neurona za 4,33  $\mu\text{m}$ , od 24,35  $\mu\text{m}$  u gornjim delovima, na 20,02  $\mu\text{m}$  u donjim delovima gangliona. Veličina smanjenja prosečnog prečnika NPY+ neurona za 4,33  $\mu\text{m}$  odgovara u potpunosti opisanom povećanju prosečnog prečnika NPY- neurona za 4,4  $\mu\text{m}$ , vrednost je ista ali tip ćelija koji trpi promene je drugi od opisanog. Funkcionalan razlog za značajno smanjenje veličine vazokonstriktorskih NPY+ vazomotornih neurona u donjem delu gangliona je verovatno smanjeno područje vaskularne inervacije u predelu lica i potiljka u odnosu na vaskularizaciju intrakranijalnih i intraorbitalnih struktura, koje dobijaju inervaciju od simpatičkih ćelija u gornjem delu gangliona. Sa druge strane razlog malog smanjenja veličine sekretomotornih NPY- ćelija u donjem delu gangliona su velike i male pljuvačne žlezde usne duplje koje dobijaju inervaciju od njih, nasuprot značajnoj sekretomotornoj inervaciji suzne i parotidne pljuvačne žlezde čiji krvni sudovi su inervisani aksonima iz gornjeg dela gangliona (Arciszewski i Wasowicz, 2006). Da bismo potvrdili ove nalaze poredili smo prosečne površine NPY+ sa NPY- ganglijskih nervnih ćelija gornjih sa donjim delovima gangliona. Statistička analiza je pokazala da postoji statistički značajna razlika između prosečnih površina NPY+ (485,42  $\mu\text{m}^2$ ) ćelija u gornjim delovima gangliona i NPY+ (340,67  $\mu\text{m}^2$ ) neurona u donjim delovima gangliona, odnosno površine distalnih ćelija su značajno manje. Takođe, poređenje prosečnih površina NPY- (634,34  $\mu\text{m}^2$ ) ćelija u gornjim delovima gangliona sa NPY- (549,24  $\mu\text{m}^2$ ) neuronima u donjim delovima gangliona pokazalo je statističku značajnost razlike prosečnih površina ćelija, odnosno površine distalnih ćelija su značajno manje. Navodi autora koji su poredili morfometrijske parametre ganglijskih ćelija gornjeg, srednjeg i donjeg vratnog gangliona da nema statistički značajne razlike u veličini ćelija ova tri simpatička gangliona govori o istom embrionalnom poreklu simpatičkog stabla i gangliona kao i o zajedničkoj funkciji u inervaciji krvnih sudova pre svega. Prema njihovim nalazima prosečna površina NPY pozitivnih ganglijskih ćelija iznosila je  $465,7 \pm 139,8 \mu\text{m}^2$ , što odgovara našim nalazima od  $485 \pm 217,38 \mu\text{m}^2$  (Kokubun i sar., 2019).

Vazoaktivni intestinalni peptid (VIP) je ekscitatorni neurotransmiter i neuromodulator. Učestvuje u nocicepciji, neurosekreciji a ima i energetske uloge, tako što povećava količinu cikličnog AMP-a. Učestvuje u sistemskoj vazodilataciji i bronhodilataciji zahvaljujući izazivanju relaksacije glatke muskulature. Izaziva hiperglikemiju. Ima uticaj na učenje i ponašanje, reguliše metabolizam kostiju, sekreciju pljuvačke, cirkadijalni ritam i embrionalni razvoj, ima neurotrofični efekat. Subpopulacija neurona male i srednje veličine, njih 13.8% je imunoreaktivno u gornjem vratnom simpatičkom ganglionu (Kokubun i sar., 2019). Naši rezultati pokazuju da smo na preparatima identifikovali 16,6% VIP+ neurona u gornjem delu GVSG, dok je u donjem delu gangliona bilo 16,4% VIP+ neurona, što odgovara nalazima prethodne grupe autora koji svoje istraživanje takođe obavili na humanom materijalu. Oni su takođe pokazali da je prosečna površina VIP+ ganglijskih neurona bila  $731,1 \pm 180,8 \mu\text{m}^2$ , što je nešto veća vrednost od našeg nalaza za prosečnu vrednost površine neurona u donjem delu gangliona od  $671,27 \pm 210,06 \mu\text{m}^2$  (Kokubun i sar., 2019). VIP+ neuroni su najvećim delom, 67,5%, bili ćelije male veličine, dok je ćelija srednje veličine bilo 32,5%. Poređenjem prosečnih površina VIP+ (579,81  $\mu\text{m}^2$ ) ćelija gornjih delova i VIP+ (671,27  $\mu\text{m}^2$ ) neurona

donjih delova gangliona nismo našli statističku značajnu razliku između merenih površina ćelija ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,112$ ). Ćelije se uniformno raspoređuju kako u gornjem tako i u donjem delu gangliona. VIP imunoreaktivni neuroni zajedno sa NPY neuronima svoje aksone projektuju u velike pljuvačne žlezde i terminalno obuhvataju njihove acinuse, ali se i dalje postavlja pitanje da li su poreklom iz GVSG (Miyachi i sar., 2001). Smatra se da VIP pozitivna vlakna regulišu salivaciju modulacijom ćelijskog membranskog potencijala acinusa (Wojtkiewicz i sar., 2011).

Supstanca P (SP) je uključena u nociceptivni sistem, potom u prenos informacija iz baroreceptora i hemoreceptora. Eksperimentalni tretman nikotinom dovodi do povećanja SP imunoreaktivnosti u gornjem vratnom simpatičkom ganglionu što je direktno povezano sa inervacijom krvnih sudova i povišenim krvnim pritiskom. Mnoga SP imunoreaktivna nervna vlakna sa varikozitetima se opisuju u GVSG, ali ne i SP+ neuroni (Mashaghi i sar., 2016). Analiza naših preparata potvrdila je ne postojanje imuno reaktivnosti ćelija GVSG, dok smo uočili retka SP+ nervna vlakna.

Somatostatin (SOM) imunoreaktivni neuroni postoje u do 10% ganglijskih ćelija u GVSG. SOM pacova verovatno ima ulogu u modulaciji neurotransmisije, dok njegova uloga u lučenju pljuvačke tek treba da se pokaže (Wojtkiewicz i sar., 2011). SOM-IR neuroni su rasprostranjeni u CNS-u i PNS-u i mnogim perifernim organima. U gastrointestinalnom traktu SOM ćelije su takođe i enteroendokrine ćelije u mukozi. Ultrastruktorno, guste sekretorne granule su karakteristično okrugle u citoplazmi neurona (Happola i sar., 1993). Reguliše gotovo sve funkcije creva, gotovo nezavisno od centralnog nervnog sistema (Gonkowski i Rytel, 2019). Utvrdili smo da SOM+ ganglijske ćelije u gornjim delovima gangliona postoje u 13,28%, dok je u donjem delu bilo 14,29% SOM+ neurona. Naši rezultati pokazuju da su SOM+ neuroni najvećim delom bili male veličine, 61,8%, dok je ćelija srednje veličine bilo 38,2%. Poređenjem prosečnih površina SOM+ ( $693,74 \mu\text{m}^2$ ) ćelija gornjih delova i SOM+ ( $608,86 \mu\text{m}^2$ ) neurona donjih delova gangliona nismo našli statističku značajnu razliku između merenih površina ćelija ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,164$ ).

Peptid povezan sa kalcitoninskim genom (CGRP) je nađen u GVSG i drugim simpatičkim ganglionima. Uključen je u regulaciju cirkulacije i kontrolu sekrecije. CGRP antagonisti se koriste u terapiji migrene ali i Alchajmerove bolesti blokiranjem njegovog uticaja na neuroinflamaciju (Happola i sar., 1993; Shah i sar., 2023). Naši rezultati pokazuju prisustvo CGRP+ neurona u 12,17% u gornjim delovima gangliona, dok je u donjim delovima bilo 13,51% CGRP+ neurona. CGRP+ neuroni su najvećim delom bili male veličine, 75,6%, dok je ćelija srednje veličine bilo 24,4%. Poređenjem prosečnih površina CGRP+ ( $647,86 \mu\text{m}^2$ ) ćelija gornjih delova i CGRP+ ( $579,76 \mu\text{m}^2$ ) neurona donjih delova gangliona nismo našli statističku značajnu razliku između merenih površina ćelija ( $p > 0,05$ ;  $p = 0,267$ ). Vrlo malo podataka u dostupnoj literaturi je posvećeno izučavanju mikromorfoloških karakteristika ćelija gornjeg vratnog simpatičkog gangliona. Nema nama pristupačnih rezultata istraživanja koje bismo mogli da poredimo sa našim nalazima. U završnom delu analize svih podataka međusobno smo poredili površine prikazanih imunopozitivnih neurona u gornjim i donjim delovima proučavanih GVSG. Rezultati su pokazali da je prosečna površina NPY+ neurona u gornjim delovima gangliona bila statistički značajno manja od prosečnih površina SOM+ ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,008$ ) i CGRP+ ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,037$ ) neurona. Takođe, u donjim delovima gangliona prosečna površina NPY+ neurona bila je statistički značajno manja od prosečnih površina VIP+ ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,000$ ), SOM+ ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,000$ ) i CGRP+ ( $p < 0,05$ ;  $p = 0,000$ ) neurona.

## 6. ZAKLJUČCI

Postavljeni ciljevi doktorske teze vodili su istraživanje do brojnih rezultata sabranih u zaključke koje navodimo:

- ✚ Gornji vratni simpatički ganglion (GVSG), najčešće ovalnog oblika (60%), vaskularizovan je sa prosečno 2,85 grane poreklom iz *a. pharyngeae ascendens*, prosečnog prečnika grana 0,32 mm.
- ✚ Utvrdili smo da nije bilo statistički značajne razlike gustine mikrosudova između dva dela GVSG, distribucija mikrosudova u gornjem i donjem delu GVSG bila je uniformna, bez pokazanih mikromorfoloških razlika.
- ✚ Utvrdili smo da nije bilo statistički značajne razlike gustine mastocita između dva dela GVSG, raspored mastocita u gornjem i donjem delu GVSG bio je uniforman, bez pokazanih razlika u rasporedu.
- ✚ Statistička analiza je pokazala da nije bilo značajne razlike u distribuciji neurona malih i srednjih veličina (površina i prečnika) u gornjim i donjim delovima ganglionu.
- ✚ Utvrdili smo postojanje statistički značajne razlike između prosečnih površina NPY+ neurona gornjeg dela i NPY+ neurona donjeg dela GVSG, kao i između prosečnih površina NPY- neurona gornjeg dela i NPY- neurona donjeg dela GVSG, imunoreaktivne ćelije donjeg dela ganglionu su manje veličine.
- ✚ Utvrdili smo da nije bilo statistički značajne razlike između prosečnih površina VIP+ neurona gornjeg dela i VIP+ neurona donjeg dela GVSG.
- ✚ Utvrdili smo da nije bilo SP imunoreaktivnosti ganglijskih ćelija u GVSG.
- ✚ Utvrdili smo da nije bilo statistički značajne razlike između prosečnih površina SOM+ neurona gornjeg dela i SOM+ neurona donjeg dela GVSG.
- ✚ Utvrdili smo da nije bilo statistički značajne razlike između prosečnih površina CGRP+ neurona gornjeg dela i CGRP+ neurona donjeg dela GVSG.

## 7. LITERATURA

Agarwal N, Carare RO. Cerebral Vessels: An Overview of Anatomy, Physiology, and Role in the Drainage of Fluids and Solutes. *Front Neurol.* 2021; 11: 611485.

Andreeva D, Murashova L, Burzak N, Dyachuk V. Satellite Glial Cells: Morphology, functional heterogeneity, and role in pain. *Front Cell Neurosci.* 2022; 16: 1019449.

Arciszewski MB, Wasowicz K. Neurochemical properties of the middle cervical

Baffi J, Gorcs T, Slowik F, Horvath M, Lekka N, Pasztor E, et al. Neuropeptides in the human superior cervical ganglion. *Brain Res.* 1992; 570: 272-278.

Benn T, Halfpenny C, Scolding N. Glial cells as targets for cytotoxic immune mediators. *Glia* 2001; 36:200–11.

Blagojević V, Milisavljević M, Miloš M, Laketić D, Đorović Đ. Anatomija Karlice. CIBID, Beograd. 2021.

Blum E, Procacci P, Conte V et al. Systematic inflammation alters satellite glial cell function structure. A possible contribution to pain. *Neuroscience.* 2014; 274: 209-17.

Cavalcanti DD, Reis CVC, Hanel R, Safavi-Abbasi S, Deshmukh P, Spetzler RF, et al. The ascending pharyngeal artery and its relevance for neurosurgical and endovascular procedures. *Neurosurg.* 2009; 65: 114-120.

Ćetković M, Štimec V, Mucić D, Dožić A, Ćetković D, Reçi V, et al. Arterial supply of the trigeminal ganglion, a micromorphological study. *Folia Morphol.* 2020; 79: 58-64.

Chiba T, Tanaka K. A target specific pathway from nitric oxide synthase immunoreactive preganglionic sympathetic to superior cervical ganglion neurons innervating the submandibular salivary gland. *J Auton Nerv Syst.* 1998; 71: 139–147.

Cho YS, Mah W, Youn DH, Kim, YS, Ko H-G, Bae JY, et al. Increase of glutamate in satellite glial cells of the trigeminal ganglion in a rat model of craniofacial neuropathic pain. *Front Neuroanat.* 2023; 17: 1302373. doi: 10.3389/fnana.2023.1302373

Dafereras M, Sapouridis H, Laios K, Chrysikos D, Mavrommatis E, Troupis T. The pioneer ophthalmologist Johann Friedrich Horner (1831-1886) and the clinical anatomy of the homonymous syndrome. *Acta Chir Belg.* 2020; 120(5): 363-365.

Dožić A, Ćetković M, Marinković S, Mitrović D, Grujičić M, Mićović M, et al. Vascularisation of the geniculate ganglion. *Folia Morphol.* 2014; 73: 414-421.

Fazliogullari Z, Kilic C, Karabulut AK, Yazar F. A morphometric analysis of the superior cervical ganglion and its surrounding structures. *Surg Radiol Anat.* 2016; 38: 299-302.

Feldman-Goriachnik R, Wu B, Hanani M. Cholinergic responses of satellite glial cells in the superior cervical ganglia. *Neurosci Lett.* 2018; 671: 19–24.

Filipović B, Đulejić V. Bazična i primenjena neuronatomija. Donus, Beograd. 2018.

Flett DL, Bell C. Topography of functional subpopulations of neurons in the superior cervical ganglion of the rat. *J. Anat.* 1991; 177: 55-66.

ganglion in the sheep. *Ann Anat.* 2006; 188: 75–83.

Gonkowski S, Rytel L. Somatostatin as an Active Substance in the Mammalian Enteric Nervous System. *Int J Mol Sci.* 2019; 20: 4461.

Hamel E. Perivascular nerves and the regulation of cerebrovascular tone. *J. Appl. Physiol.* 2006; 100: 1059–1064.

Hanani M, Spray D. Emerging importance of satellite glia in nervous system function and dysfunction. *Nature Rev Neurosci.* 2020; 21: 485–498.

Happola O, Lakomy M, Majewski M, Wasowicz K, Yanaihara N. Distribution of neuropeptides in the porcine stellate ganglion. *Cell Tissue Res.* 1993; 274: 181-7.

Headley DB, Suhan NM, Horn JP. Rostro-caudal variations in neuronal size reflect the topography of cellular phenotypes in the rat superior cervical sympathetic ganglion. *Brain Res.* 2005; 1057: 98-104.

Hoffmann J, Baca SM, Akerman S. Neurovascular mechanisms of migraine and cluster headache. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2019; 39: 573-594.

Jänig, W. Relationship between pain and autonomic phenomena in headache and other pain conditions. *Cephalalgia.* 2003; 23: 43–48.

Kabak M, Onuk B, Selviler Sizer S, Kabak YB. The anatomy of cervical sympathetic ganglia in Saanen goats. *Ankara Univ Vet Fak Derg.* 2019; 66: 177-83.

Kokubun S, Sato T, Yajima T, Ichikawa H.  $\beta$ -hydroxylase, tyrosine hydroxylase, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide in the human middle cervical ganglion. *Tissue and Cell.* 2019; 58: 42-50.

Koroleva K, Gafurov O, Guselnikova V, Nurkhametova D, Giniatullina R, Sitdikova G, et al. Meningeal Mast Cells Contribute to ATP-Induced Nociceptive Firing in Trigeminal Nerve Terminals: Direct and Indirect Purinergic Mechanisms Triggering Migraine Pain. *Front. Cell. Neurosci.* 2019; 13: 195. doi: 10.3389/fncel.2019.00195

Koyuncu Irmak D, Kilinc E, Tore F. Shared Fate of Meningeal Mast Cells and Sensory Neurons in Migraine. *Front Cell Neurosci.* 2019; 13: 136.

Laurie Kelly McCorry. Physiology of the Autonomic Nervous System. *Am. J Pharm Educ.* 2007; Aug 15; 71(4): 78.

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

Loke SC, Karandikar A, Ravanelli M, Farina D, Goh JP, Ling EA, Maroldi R, Tan TY. Superior cervical ganglion mimicking retropharyngeal adenopathy in head and neck cancer patients: MRI features with anatomic, histologic, and surgical correlation. *Neuroradiology* 2016; 58(1): 45-50.

Mansour Y, Kulesza R. A case of mistaken identity: doubled superior cervical ganglia. *Int J Anat Var.* 202; 14(4): 74-76.

Marinković S, Filipović B, Puškaš L. Anatomija čoveka. Planeta Print, Beograd. 2016.

Marinković S, Milisavljević M, Kostić V. Funkcionalna i topografska neuroanatomija. IP Nauka, Beograd. 1998.

Marinković S, Milisavljević M. Neuronatomija. Tipografic Plus, Beograd. 2001.



Mashaghi A, Marmalidou A, Tehrani M, Grace PM, Pathoulakis C, Dana R. Neuropeptide Substance P and the Immune Response. *Cell Mol Life Sci.* 2016; 73(22): 4249-64.

Masliukov PM, Konovalov VV, Emanuilov AI, Nozdrachev AD. Development of neuropeptide Y-containing neurons in sympathetic ganglia of rats. *Neuropeptides* 2012; 46: 345–352.

Milislavljević M i saradnici. *Klinička anatomija*. Tipografic plus, Beograd. 2004.

Miloslavljević A, Jančić J, Mirčić A, Dožić A, Boljanović J, Milislavljević M, et al. Morphological and functional characteristics of satellite glial cells in the peripheral nervous system. *Folia Morphol.* 2021; 80: 745-55.

Mirčić A, Maliković A, Štimec B, Miloslavljević A, Četković D, Dožić A, Boljanović A, Četković M. Immunohistochemical analysis of the arterial supply and mast cells of the trigeminal ganglion. *Arch Biol Sci.* 2021; 73: 215-222.

Mitsuoka K, Kikutani T, Sato I. Morphological relationship between the superior cervical ganglion and cervical nerves in Japanese cadaver donors. *Brain Behav.* 2017; 7(2): e00619.

Miyauchi K, Asamoto K, Nojyo Y, Kitagawa Y, Yamada T, Sano K. Differences in morphology and neuropeptide immunoreactivity of superior cervical ganglion neurons that innervate the major salivary glands in rats. *Acta Histochem Cytoshem.* 2001; 34: 423-430.

Moriyama H, Shimada K, Goto N. Morphometric analysis of neurons in ganglia: geniculate, submandibular, cervical spinal and superior cervical. *Okajimas Folia Anat Jpn.* 1995; 72(4): 185-190.

Mtui E, Gruener G, Dockery P. *Fitzgerald's Clinical Neuroanatomy and Neuroscience*. Elsevier. 2004.

Patrick Dougherty. *Central Control of the Autonomic Nervous System and thermoregulation*. Neuroscience online. UTHealth. 2020.

Pereira V, Goudet C. Emerging trends in pain modulation by metabotropic glutamate receptors. *Front Mol Neurosci.* 2019; 11: 464.

Rytel L, Snarska A, Gonkowski S, Wojtkiewicz J, Szenci O, Sobiech P. Identification of neuropeptide Y in superior cervical ganglion neurons that project to the oesophagus – a combined immunohistochemical labelling and retrograde tracing study in pigs. *Acta Vet Hung.* 2019; 67(1): 98-105.

Sapio MR, Vazquez FA, Loydpierson AJ, Maric D, Kim JJ, LaPaglia DM, et al. Comparative Analysis of Dorsal Root, Nodose and Sympathetic Ganglia for the Development of New Analgesics. *Front. Neurosci.* 2020; 14: 615362. doi: 10.3389/fnins.2020.615362

Saylam CY, Ozgiray E, Orhan M, Cagli S, Zileli M. Neuroanatomy of cervical sympathetic trunk: a cadaveric study. *Clin Anat.* 2009; 22(3): 324–330.

Shah T, Bedrin K, Tinsley A. Calcitonin gene relating peptide inhibitors in combination for migraine treatment: A mini-review. *Front Pain Res.* 2023; 4: 1130239.

Siegenthaler A, Haug M, Eichenberger U, Suter MR, Moriggl B. Block of the superior cervical ganglion, description of a novel ultrasound-guided technique in human cadavers. *Pain Med.* 2013; 14(5): 646-649.

Smoliar E, Smoliar A, Sorkin L, Belkin V. Microcirculatory bed of the human trigeminal nerve. *Anat Rec.* 1998; 250: 245-249.

Sofroniew M, Vinters H. Astrocytes: biology and pathology *Acta Neuropathol.* 2010; 119(1): 7–35.

Standring S, Anand N, Birch R, Collins P, Crossman A, Gleeson M, Jawaheer G, Smith A, Spratt J, Stringer M, Tubbs S, Tunstall R, Wein A, Wigley C. *Gray's Anatomy. The anatomical basis of clinical practice.* New York: Elsevier. 2016.

Standring S. (ed). *Gray's anatomy. The anatomical basis of clinical practice.* New York: Elsevier. 2021; 60-61, 600-601.

Tepper SJ, Caparso A. Sphenopalatine Ganglion (SPG): Stimulation Mechanism, Safety, and Efficacy. *Headache* 2017; 57: Suppl 1: 14-28.

Tubbs, R. S., Salter, G., Wellons, J. C. 3rd., Oakes, W. J. Blood supply of the human cervical sympathetic chain and ganglia. *Eur J Morph.* 2002; 40: 283-288.

Ünsal ÜÜ, Şentürk S, Aygün S. Radiological evaluation of the localization of sympathetic ganglia in the cervical region. *Surg Radiol Anat* 2021; 43(8): 1249-1258.

Van der Kleij HPM, Bienenstock, J. Significance of Conversation between Mast Cells and Nerves. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2005; 1: 65-80.

Waschke J, Bockers T, Paulsen F. *Sobotta Anatomy Textbook.* Elsevier. 2019.

Wojtkiewicz J, Juranek JK, Kowalski I, Bladowski M, Całka J, Majewski M. Immunohistochemical characterization of superior cervical ganglion neurons supplying porcine parotid salivary gland. *Neurosci Lett.* 2011; 500(1): 57-62.

Xie AX, Lee JJ, McCarthy KD. Ganglionic GFAP+ glial Gq-GPCR signaling enhances heart functions in vivo. *J C I Insight.* 2017; 2(2): e90565.

Yokota H, Mukai H, Hattori S, Yamada K, Anzai Y, Uno T. MR maging of the superior cervical ganglion and inferior ganglion of the vagus nerve: structures that can mimic pathologic retropharyngeal lymph nodes. *Am J Neuroradiol.* 2018; 39: 170-176.

Zdora I, Jubran L, Allnoch L, Hansman F, Baumgärtner W, Leitzen E. Morphological and phenotypical characteristics of porcine satellite glial cells of the dorsal root ganglia. *Front. Neuroanat.* 2022; 16: 1015281. doi: 10.3389/fnana.2022.1015281

Zhang Y, Liu CY, Chen WC, Shi YC, Wang CM, Lin S, He HF. Regulation of neuropeptide Y in body microenvironments and its potential application in therapies: a review. *Cell Biosci.* 2021; 11: 151.

Zhao Z, Hiraoka Y, Ogawa H, Tanaka K. Region-specific deletions of the glutamate transporter GLT1 differentially affect nerve injury-induced neuropathic pain in mice. *Glia* 2018; 66: 1988–98.

**Publikovani radovi iz ove doktorske disertacije:**

**Boljanović J**, Milisavljević M, Latas M, Puškaš L, Bogosavljević N, Vujačić M, Aleksandrić D, Četković D, Branković N, Dožić A, Četković M. Arterial supply and morphological characteristics of sympathetic neurons in the human superior cervical ganglion. *Frontiers in Neuroanatomy*. 2024;18:1372180. doi: 10.3389/fnana.2024.1372180. **M21a IF 2,9**.

**Boljanović J**, Latas M, Milisavljević M. Sympathetic superior cervical ganglion, glial satellite and ganglionic nerve cells. *Medicinski podmladak*. 2024; 76(1). doi: 10.5937/mp76-48303. **M52**.

### **Kratka biografija autora:**

Dr Jelena Boljanović je rođena 8. februara 1989. godine u Trebinju gde je i završila gimnaziju „Jovan Dučić“. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu je upisala 2008. a završila 13. juna 2014. godine sa prosečnom ocenom 9,14.

Školske 2015/2016. godine je upisala doktorske studije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. U maju 2019. je izabrana u zvanje saradnik u nastavi a 2021. u zvanje asistent na Katedri za užu naučnu oblast Anatomija. Autor je i koautor u više naučnih radova publikovanih u časopisima indeksiranim u Journal Citation Reports (JCR) listi. Dr Boljanović je specijalizant psihijatrije. Dobitnik je zahvalnice Centra za stručni i naučno-istraživački rad studenata Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu za podršku aktivnostima organizacije i unapređenje naučno-istraživačkog rada studenata 2023. godine i zahvalnice Studentskog parlamenta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu za posvećenost u rešavanju studentskih pitanja i izuzetnu saradnju sa studentima 2022. godine.

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Jelena Boljanović

Broj indeksa: NN04/15

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

**ANALIZA MIKROMORFOLOŠKIH I IMUNOHISTOHEMIJSKIH  
KARAKTERISTIKA GORNJEG VRATNOG SIMPATIČKOG GANGLIONA  
ČOVEKA**

- Rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- Da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- Da su rezultati korektno navedeni i
- Da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica

**Potpis autora**

---

U Beogradu, 15. 03. 2024.

Prilog 2.

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada**

Ime i prezime autora: Jelena Boljanović

Broj indeksa: NN04/15

Studijski program: Neuronauke

Naslov rada: Analiza mikromorfoloških i imunohistohemijskih karakteristika gornjeg vratnog simpatičkog gangliona čoveka

Mentori: Prof. dr Milan Milisavljević i prof. dr Milan Latas

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja, i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

---

U Beogradu, 15. 03. 2024.

Prilog 3.

### Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**ANALIZA MIKROMORFOLOŠKIH I IMUNOHISTOHEMIJSKIH  
KARAKTERISTIKA GORNJEG VRATNOG SIMPATIČKOG GANGLIONA  
ČOVEKA**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)

2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)

**3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)**

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

Potpis autora

---

U Beogradu, 15. 03. 2024.