

*Originalni rad/
Original article*

HOROIDNI PLEKSUS I STARENJE
CHOROID PLEXUS AND AGEING

Bojana Andrejić Višnjić¹, Stefan Janičić¹,
Matilda Đolai^{1,2}, Jelena Amidžić^{1,2}, Sandra Trivunić
Dajko^{2,3}, Golub Samardžija³

Correspondence to:

Doc.dr Andrejić Višnjić Bojana
Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski
fakultet, Katedra za histologiju i embriologiju
Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Srbija
e-mail: bojana.andrejic-visnjic@mf.uns.ac.rs
Tel: +381631669300

¹ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski Fakultet, Katedra za histologiju i embriologiju.

² Klinički centar Vojvodine, Centar za patologiju i histologiju.

³ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za patologiju.

Ključne reči

Horoidni pleksus; starenje; psamozna telašca, morfometrija.

Key words

Choroid plexus; ageing; psammoma bodies; morphometry

Sažetak

Uvod: Horoidni pleksus je lokalizovan u komorskom sistemu mozga, a jedna od osnovnih funkcija je produkcija cerebrospinalne tečnosti. **Cilj:** Cilj rada je bio da se ustanovi da li kod mladih, osoba srednje i starije životne dobi postoje razlike u prosečnom broju psamomskih telašaca, zastupljenosti zrelih i nezrelih telašaca. Upoređivane su i razlike u površinskoj zastupljenosti, površini i dijametru psamoznih telašaca. **Materijal i metode:** Istraživanje je obuhvaćeno 30 parafinskih kalupa horoidnog pleksusa bočnih moždanih komora odraslih osoba starosti od 18-84 godine, podeljenih u tri starosne grupe sa po 10 osoba: mlade osobe (mlađe od 40 godina), osobe srednje dobi (40-65 godina) i stare osobe (starije od 65 godina). Histološki rezovi su bojeni standardnom HE metodom. Korišćenjem kompjuterskog softvera *Fiji – Image J* morfometrijski je analiziran ukupan broj i broj zrelih i nezrelih telašaca, površinska zastupljenost, površina i perimetar psamoznih telašaca. **Rezultati:** Psamomska telašca uočena su kod osoba svih starosnih grupa, u svakom od analiziranih uzoraka. Utvrđeno je statistički značajan porast ukupnog broja telašaca, zastupljenosti nezrelih telašaca i površinske zastupljenosti telašaca kod osoba srednje i starije dobi u odnosu na mlade osobe, dok nema razlika između osoba srednje i starije dobi. Dijametar i površina psamoznih telašaca ne razlikuju se statistički značajno među starosnim grupama. **Zaključak:** U srednjoj dobi dolazi do najintenzivnijeg formiranja novih telašaca, ali sa starenjem se ona ne smanjuju ili povećavaju. Kako se ne razlikuje zastupljenost nezrelih formi telašaca kod osoba srednje i starije dobi, postavlja se pitanje da li je opravdana podela na tzv zrele i nezrele forme, odnosno da li se u osnovi njihovog različitog izgleda nalazi sasrevanje ili neki drugi razlog

UVOD

Horoidni pleksus je visoko specijalizovan organ, formiran od strane razgranatih izdanaka i produžetaka meke moždanice, a lokalizovan je u komorskom sistemu mozga⁽¹⁾.

Histološki, horoidni pleksus je izgrađen od lamine proprije (koja predstavlja vezivo meke moždanice) i od jednog sloja epitelnih ćelija (*lamina epithelialis*). Vezivo lamine proprije je izuzetno dobro vaskularizovano rastresito tkivo sa kapilarima fenestrovano tipa sa dijafragmom, što omogućava brzu razmenu materija između krvi i veziva horoidnog pleksusa⁽¹⁾. Epitelne ćelije su po svojim morfološkim karakteristikama najslabije epindimocitima, sa razlikom postojanja okludentnih veza na bočnim stranama. Na površini epitela horoidnog pleksusa nalaze se

makrofagi (tzv. Kolmerove ili epipleksusne ćelije), za koje se smatra da uklanjaju otpadne materije iz cerebrospinalne tečnosti, kao i da imaju značajnu ulogu u stečenom imunom odgovoru kao antigen-prezentujuće ćelije^(1,2). Histološkom analizom horoidnog pleksusa gotovo uvek se uočavaju acelularne, laminarne strukture u vezivu, takozvana psamozna telašca. Priroda i mehanizam njihovog nastanka nisu u potpunosti rasvetljeni, a predstavljaju distrofične kalcifikacije koje se mogu naći i u drugim zdravim ili obolelim tkivima⁽³⁻⁶⁾. Pojedini autori navode čak dve forme psamoznih telašaca: nezrela i zrela telašca⁽⁵⁾.

Osnovna uloga horoidnog pleksusa je stvaranje cerebrospinalne tečnosti (likvora). Upravo zbog važnosti likvora i funkcija koje mu se pripisuju (zaštita mozga i

kičmene moždine od mehaničkih trauma, dopremanje hranljivih materija i eliminisanje završnih produkata metabolizma, prenos hormona i faktora rasta^(1,2), horodni pleksus je često tema istraživanja. Značaj istraživanja HP potenciran je činjenicom da između likvora i krvi u nervnom sistemu ne postoji direktna komunikacija, već da se uspostavlja krv-likvor barijera, čiji su najvažniji elementi upravo zid krvnih sudova i tkivo HP.

Primetno je da u literaturi postoje brojni radovi o patološki izmenjenom horoidnom pleksusu, dok je ograničen broj radova koji utvrđuju specifičnosti zdravog horoidnog pleksusa i preciznije određuju kako histološki izgleda proces starenja horoidnog pleksusa. Najčešće pominjane promene HP koje se povezuju sa starenjem su: pojava psamoznih telašaca, promene u vaskularizaciji, smanjenje površinske gustine epitela horoidnog pleksusa i drugo^(7,8). Šta više, smatra se da poremećaji poput demencije, Alchajmerove bolesti i drugih, započinju promenama u tkivu mozga i krv-likvor barijere mnogo ranije nego što se klinički ispolje. Stoga je akcenat u ovom istraživanju stavljen na histološke promene u horoidnom pleksusu koje se zapažaju tokom starenja, pre svega vezano za psamozna telašca^(9,10).

MATERIJAL I METODE

Poreklo materijala i podela na ispitivane grupe

Retrospektivno je analizirano 70 parafinskih kalupa horoidnog pleksusa bočnih moždanih komora kadavera koji su u periodu od 1. oktobra 2018. do 01. februara 2019. podvrgnuti obdukciji i patohistološkoj dijagnostici u Centru za patologiju i histologiju Kliničkog centra Vojvodine.

Od ukupno pregledanih, za istraživanje je odabrano 30 uzoraka, na osnovu sledećih kriterijuma za uključivanje u istraživanje:

a) u istoriji bolesti nije navedeno da je pacijent bolovao od bilo koje vrste neurološkog ili psihijatrijskog oboljenja;

b) u patohistološkom nalazu obdukcije nije ustanovljeno prisustvo patoloških promena u tkivu horoidnog pleksusa;

c) u analiziranim uzorcima nalazi se tehnički dobro obrađeno i očuvano tkivo horoidnog pleksusa, pogodno za dalju histološku i imunohistohemijsku obradu.

Odabranih 30 uzoraka je podeljeno u 3 grupe, u skladu sa starošću pacijenata:

Mlade osobe: osobe ≤ 40 godina ($n=10$);

Osobe srednje dobi, radno sposobni: osobe starosti od 41-64,9 godina ($n=10$);

Stare osobe: osobe starosti ≥ 65 godina ($n=10$).

Prihvaćene su smernice Svetstke Zdravstvene Organizacije koje sugerišu da se hronološka dob od 65 godina smatra starošću, iako postoje tendencije u naučnoj javnosti da se izmene i uredi trenutne smernice⁽¹¹⁾.

Histološka obrada tkiva

Nakon uzorkovanja, tkivo je fiksirano u 4% pufersanom formalinu tokom 24h i nakon standardne histološke obrade, ukalupljeno u parafinske kalupe, a potom sečeno na rezove debljine 5 mikrometara. Rezovi su bojeni hematoksilin-eozin (HE) bojenjem.

Stereološka merenja

Preparati su analizirani na svetlosnom mikroskopu marke Leica DMLB 100T pod uvećanjem 100x. Svaki od preparata fotografisan je kamerom Leica MC190 HD na 5 nasumičnih vidnih polja.

Korišćenjem kompjuterskog stereološkog programa *Fiji-Image J* određeno je:

površina HP na svakoj fotografiji (Php), izraženo u kvadratnim milimetrima,

broj svih psamoznih telašaca (PT), odnosno broj zrelih (PTz) i broj nezrelih (PTnz) psamoznih telašaca,

površina (Ppt), kao i dijametar svih telašaca na svakoj analiziranoj fotografiji.

Nakon obavljenih merenja izračunat je:

broj psamoznih telašaca (PTbr) po jedinici površine HP površinska zastupljenost psamoznih telašaca u horoidnom pleksusu (PT%), primenom proporcije $Php : Ppt = 100 : PT\%$ odakle sledi da je $PT\% = (Ppt * 100) / Php$

procentualna zastupljenost zrelih, odnosno nezrelih psamoznih telašaca.

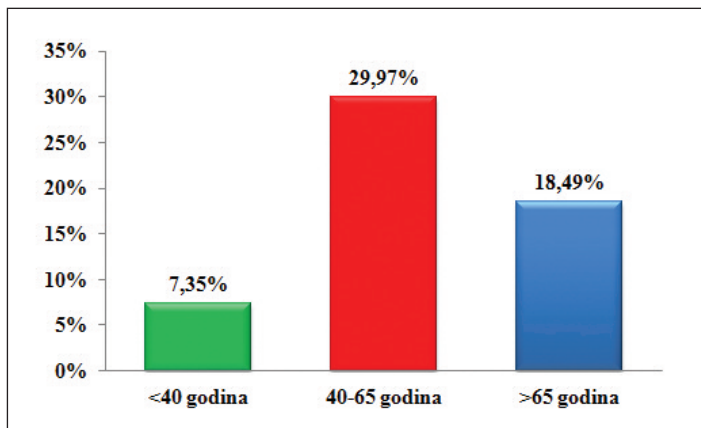
Statistička analiza podataka

Podaci su analizirani programom *IBM SPSS Statistics 23*, izračunate su srednje vrednosti (\bar{x}), standardna devijacija (SD), a za utvrđivanje statistički značajne razlike među grupama upotrebljen je *ANOVA* test. Posmatrane su statistički značajne vrednosti na nivou $p < 0,05$ i $p < 0,01$.

REZULTATI

Broj psamoznih telašaca (PT) i zastupljenost nezrelih formi

Najveći broj psamoznih telašaca po jedinici površine horoidnog pleksusa izbrojan je kod osoba srednje životne dobi, grupa II, a najmanji kod mladih osoba tj u grupi I (Grafikon 1).

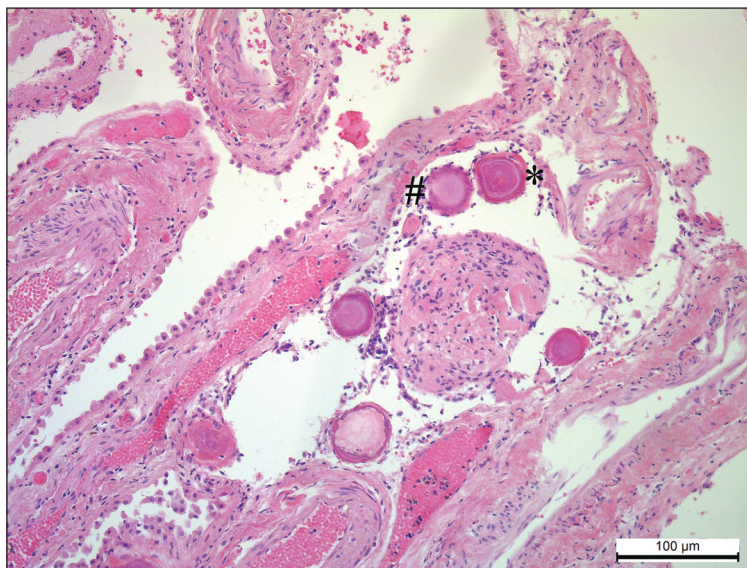


Grafikon 1. Prosečan broj psamoznih telašaca (* $p < 0,05$)

Analizom dobijenih podataka, utvrđeno je da osobe mlađe od 40 godina (I grupa) imaju statistički značajno manji broj psamoznih telašaca po jedinici površine u odnosu na osobe srednje i starije životne dobi (grupe II i III) ($p < 0,05$).

Analizom procentualne zastupljenosti zrelih i nezrelih psamoznih telašaca (Slika 1), utvrđeno je da je zastupljenost nezrelih psamoznih telašaca najniža kod mladih osoba (55.58%), te da naglo raste kod osoba srednje dobi (II grupa) gde iznosi (67.07%), a potom ta zastupljenost ostaje na

sličnom nivou kod starih osoba (62.84%). Razlika u zastupljenosti nezrelih psamoznih telašaca izmedju mladih osoba i osoba srednje i starije dobi je statistički značajna ($p < 0,05$), dok razlika između II i III grupe ne pokazuje statističku značajnost.



Slika 1. Horoidni pleksus sa zrelim i nezrelim psamoznim telašcima; H&E; 100x. (# - nezrelo psamozno telašće, * - zrelo psamozno telašće)

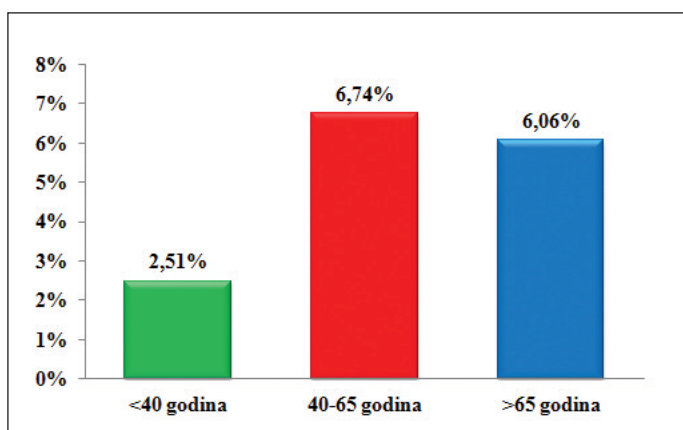
Površina i dijametar psamoznih telašaca

Tabela 1. Prikaz prosečne površine i dijametra psamoznih telašaca po starosnim grupama

Grupe:	Površina (x±SD)	Dijametar x±SD)
Mlade osobe	1528,94 ± 153, 45 μm ²	141.84 ± 35,47 μm
Osobe srednje dobi	1597,85 ± 363.37 μm ²	142.2 ± 71.41 μm
Stare osobe	1325,36 ± 43,51 μm ²	128,29 ± 16,89 μm

Vrednosti oba analizirana parametra su najveće u II grupi, a najmanje u III grupi (Tabela 1), a primenom statističkih metoda nije utvrđena statistički značajna razlika među posmatranim starosnim kategorijama ($p > 0,05$).

Površinska zastupljenost psamoznih telašaca u horoidnom pleksusu



Grafikon 2. Površinska zastupljenost psamoznih telašaca u horoidnom pleksusu (* - $p < 0,05$)

Nakon merenja površine horoidnog pleksusa i površine psamoznih telašaca, izračunate su procentualne vrednosti površinske zastupljenosti telašaca u horoidnom pleksusu (Grafikon 2).

Utvrđeno je da je površinska zastupljenost telašaca najmanja kod mladih osoba, statistički značajno manja u poređenju sa osobama srednje i starije dobi ($p < 0,05$).

DISKUSIJA

Psamozna telašca spadaju u grupu distrofičnih kalcifikacija, lamelarne su građe i mogu biti prisutna kako u zdravim tkivima (horoidni pleksus, arahnoidne granulacije, leptomeningealni omotač epifize), tako i u nekim tumorima (papilarni karcinom štitaste žlezde, meningeomi) (3-6). Mehanizam njihovog nastanka nije u potpunosti i sa sigurnošću poznat, ni u zdravom ni u tumorskom tkivu, ali ako se porede karakteristike strome malignih tumora i horoidnog pleksusa zapažaju se neke zajedničke karakteristike i moguć razlog nastanka psamoznih telašaca: fenestrirani kapilari, koji stromu horoidnog pleksusa čine izloženom agensima iz cirkulacije, i prisustvo inflamatornih ćelija kao što su makrofagi, dendritske ćelije i T limfociti (3,6,12).

Jovanović i saradnici ukazuju da zrelije forme psamoznih telašaca dovode do destrukcije resica horoidnog pleksusa i degeneracije njegove papilarne strukture uz atrofiju epitela, što može implicirati da psamozna telašca nisu samo posledica, nego možda i uzrok degenerativnih procesa koji se dešavaju u starenju (6,8). Dugo vremena smatrana za inertne i neaktivne formacije, psamozna telašca, prema tvrdnjama nekih autora možda imaju značajno veću biološku aktivnost i funkciju od dosad dodeljene. *Das et al* naglašavaju značaj njihovog prisustva u papilarnom karcinomu štitaste žlezde i njihovu aktivnu ulogu, jer na kraju dovode do smrti ćelija i sporijeg rasta neoplazme (13).

Najveći broj autora u svojim studijama dovode u vezu starenje sa porastom broja psamoznih telašaca (5,6,14). Jovanović i saradnici u svom istraživanju pokazuju da se ukupan broj psamoznih telašaca povećava sa starenjem, ali taj rast nije linearan (15). U našem istraživanju, psamozna telašca su uočena čak i u uzorcima osoba starosti 18 i 19 godina. U pogledu broja psamoznih telašaca u zavisnosti od starosti osoba, rezultati našeg istraživanja u skladu su sa literaturnim podacima, sa statistički značajno većim brojem telašaca kod osoba srednje i starije dobi u odnosu na osobe mlađe od 40 godina. I u našem, kao i u istraživanju Jovanovića i saradnika, inicijalno je ispitivan ukupan broj psamoznih telašaca bez obzira na njihovu strukturu.

Živković i saradnici navode dve forme psamoznih telašaca: nezrela telašca sa amorfnim jezgrom i zrela koja imaju jezgra laminarne građe(5). Kvantifikacija broja psamoznih telašaca u našoj studiji vršena je odvojeno za zrela i odvojeno za nezrela, kako bi se razmotrila i utvrdila procentualna zastupljenost svake forme telašaca. Ustanovili smo da broj nezrelih telašaca naglo i statistički značajno raste kod osoba srednje i starije dobi u odnosu na

mlade osobe. Ovaj podatak navodi na zaključak da iako su telašca prisutna i kod vrlo mladih osoba, njihovo formiranje se intenzivira u srednjoj životnoj dobi.

Određivanje površine i dijametra psamoznih telašaca nije pokazalo statistički značajnu razliku među poređenim starosnim grupama. Možemo zaključiti da sa starenjem dolazi u većoj meri do kvalitativnih promena tj. sazrevanja psamoznih telašaca. U pogledu ovih parametara, podaci u literaturi su neusaglašeni. Iste parametre određivali su i u svom radu Jovanović i saradnici, i dobili su rezultate koji ukazuju na porast ovih parametara telašaca sa starenjem osoba ⁽¹⁶⁾. Nasuprot tome, Živković i saradnici su sa starenjem osoba, u trećoj moždanoj komori, utvrdili smanjenje dijametra psamoznih telašaca ⁽⁵⁾.

Nepostojanje statistički značajne razlike u površini i perimetru psamoznih telašaca u našem istraživanju može se objasniti u većoj meri kvalitativnim sazrevanjem psamoznih telašaca sa starenjem, nego kvantitativnim promenama (rast ili smanjenje telašaca).

Ako posmatramo međusobni odnos površinske zastupljenosti psamoznih telašaca (procenat tkiva horoidnog plexusa koji zauzimaju psamozna telašca) i prosečnog broja psamoznih telašaca, primećujemo sličnost distribucije vrednosti ova dva parametra. Površinska zastupljenost, kao i broj telašaca, najveća je kod osoba srednje i starije životne dobi,

a najmanja kod mlađih od 40 godina, a razlike pokazuju i statističku značajnost.

Posmatrajući sve dobijene rezultate, možemo osnovano zaključiti da formiranje telašaca počinje u najranijoj mladosti, da njihov broj raste u srednjoj životnoj dobi i potom se ne menja značajno u starosti. Kako nema značajnosti u razlikama površine i dijametra telašaca kod mladih osoba, i osoba srednje i starije dobi, može se pretpostaviti da se ona nakon stvaranja ne uvećavaju i ne smanjuju. Iako su dve forme telašaca (sa amorfnim i laminiranim izgledom jezgra) sugestivno nazvane zrela i nezrela telašca, nismo sigurni da je naziv u potpunosti opravdan. Zastupljenost nezrelih telašaca raste kod osoba srednje dobi, ali su nezrela telašca u istoj meri prisutna i kod starih osoba. Kako broj telašaca ne raste kod starih u odnosu na srednju dob, znači da nije došlo do nastanka novih nezrelih telašaca. Da se pretpostavi na osnovu naziva, da nezrela telašca vremenom sazrevaju i prelaze u zrela telašca. U tom kontekstu bi se očekivalo da kod starih osoba opadne zastupljenost nezrelih telašaca, što ovde nije slučaj. Stoga, iako nesumnjivo postoje dve forme telašaca, dovodimo u pitanje da li se radi o nezrelim i zrelim formama telašaca, ili je u pitanju neka drugačija priroda različitosti ovih formi.

Abstract

Introduction: The choroid plexus is located in the ventricular system of the brain and its main function is production of cerebrospinal fluid. **Goal:** The aim of our study was to determine the average number of psammoma bodies, presence of mature and immature forms, areal density, area and perimeter of psammoma bodies in every age group. **Material and methods:** The study included 30 choroid plexuses of the lateral ventricles of adults, that were divided into three age groups: young persons (<40 years), middle aged persons (40-65 years) and old persons (>65 years). The histological sections were stained with H&E method. With the help of Fiji-Image J computer software, we morphometricaly analyzed the total number, number of mature and immature forms, areal density, area and perimeter of psammoma bodies, and also number and areal density of blood vessels. The collected data were statistically processed. **Results:** The psammoma bodies are noticed in every person's plexus. There was a statistically significant increase in number, part of immature forms and areal density in the groups of old and middle aged persons in comparasion with the group of young people, while there wasn't difference between middle aged and old persons. There was no statistically significant difference between the age groups in the results of the area and perimeter of psammoma bodies ($p>0,05$). **Conclusion:** In middle age formation of new bodies is most intense, but with age they are not enlarging or downsizing. Lack of differences, when it comes to representation of immature forms of bodies among people of middle and old age brings up the question if the terminology and division on so called mature and immature forms is justified, or to put it differently, shall we seek for the reason that lays beyond their different look in the process of maturing, or should we seek for some other reasons.

LITERATURA

1. Anđelković Z, Petrović A. Nervni sistem U: Anđelković, Z urednik. Histologija. Niš:Impressum; 2009; p. 281-94.
2. Lun MP, Monuki ES, Lehtinen MK. Development and functions of the choroid plexus cerebrospinal fluid system. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(8):445-57.
3. Lipper S, Dalzell JC, Watkins PJ. Ultrastructure of psammoma bodies of meningioma in tissue culture. *Arch Pathol Lab Med* 1979;103:670-5.
4. Cvejin B, Vučković Lj. Morfologija ćelijskog oštećenja U: Budakov P, Eri Ž. Patologija. Novi Sad:Medicinski fakultet Novi Sad; 2017. p. 10-18.
5. Živković VS, Stanojković MM, Antić MM. Psammoma bodies as signs of choroid plexus ageing – a morphometric analysis. *Vojnosanit Pregl*. 2017;74(11):1054-9.
6. Jovanović I, Ugrenović S, Vasović Lj, Petrović D, Cekić S. Psammoma bodies – Friends or foes of the aging choroid plexus. *Med Hypotheses*. 2010;74:1017-20.
7. Serot JM, Béné MC, Faure GC. Choroid plexus, ageing of the brain, and Alzheimer's disease. *Front Biosci*. 2003;8:515-21.
8. Jovanović I, Ugrenović S, Vasović L, Cukuranović R, Stojiljković N. Morphometric characteristics of choroid plexus epithelial cells in cases with significantly different psammoma bodies' presence. *Micros Res Tech*. 2009; 72(1):32-41.
9. Jandelidze S, Hertze J, Nägga K, Nilsson K, Nilsson C et al. Increased blood-brain barrier permeability is associated with dementia and diabetes but not amyloid pathology or APOE genotype. *Neurobiol Aging*. 2017;51:104-12.
10. Stopa EG, Berzin TM, Kim S, Song P, Kuo-LeBlanc V, Rodriguez Wolf et al. Human Choroid Plexus Growth Factors: What are the implications for CSF Dynamics in Alzheimer's Disease?. *Exp Neurol*. 2001;167(1):40-7.
11. Naja S et al. *Int J Community Med Public Health*. 2017;4(12):4363-9.
12. Levine S. Choroid plexus: target for systematic disease and pathway to the brain. *Lab Invest*. 1987;56(3):231-3.
13. Das DK. Psammoma body: a product of dystrophic calcification or of biologically active process that aims at limiting the growth and spread of tumor? *Diagn Cytopathol* 2009;37(7):534-41.
14. Modic MT, Weinstein MA, Rothner AD, Erenberg G, Duchesneau PM, Kaufman B. Calcification of the choroid plexus visualized by computed tomography. *Radiology* 1980;135(2):369-72.
15. Jovanović I, Ugrenović S, Antić S, Stefanović N, Mihajlović D. Morphometric and some immunohistochemical characteristics of human choroids plexus stroma and psammoma bodies. *Micros Res Tech*. 2007;70(7):616-27.
16. Jovanović I, Stefanović N, Antić S, Ugrenović S, Djindjic B, Vidović N. Morphological and morphometric characteristic of choroid plexus psammoma bodies during the human aging. *Ital J Anat Embryol*. 2004;109(1):19-33.

■ The paper was received / Rad primljen: 22.10.2019.
Accepted / Rad prihvaćen: 02.12.2019.